REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

en Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Phytopathologie.

Thème :

Etude de l'effet des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L, *Eucalyptus Globulus* et *Syzggium aromaticum* sur deux souches bactériennes *Erwinia amylovora* et *Pectobacteruim carotovorum*

Présenté par :

- ABDERRAHMANE Zoubida.
- ALI TURKI Nada.
- BOUKHALKHEL Ihssane.

Soutenue le : 20/06/02018

Devant le jury composé de :

Dr. Nabi F.	MCB	U. de Médéa	(Présidente)
Mme Chaouati K.	MAB	U. de Médéa	(Examinateur)
Mr. Licir M.	MAB	U. de Médéa	(Examinateur)
Dr. Chaouch A.	MCB	U. de Médéa	(Encadreur)

Année universitaire 2017/2018

Remerciements

Nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons nos plus vifs et sincères remerciements à notre encadreur DR.CHAOUCH Abderrezak.

On lui exprime notre immense reconnaissance et nos gratitudes pour son aide précieuse, le partage de ses connaissances, son expérience et son enthousiasme.

Nous tenons vivement à remercier les membres de jury : Dr. Nabi F, Mme Chaouati K , Mr. Licir M.

Nous remercions énormément Monsieur BRADA.k (responsable des laboratoires de université Djilali Bounaama Khemis Miliana) n'a pas hésité un moment de nous aider et guider avec ses précieux conseils .nous lui souhaite une carrière brillante.

Nos remerciement également :

Madame ABBABCIA Amel directrice de la SRPV Boufarik.

Mademoiselle SADEK Dounia responsable du laboratoire de bactériologie de nous avoir accueilli dans son laboratoire et d'avoir mis en disposition les conditions matérielles nécessaires à l'achèvement de ce modeste travail.

Madame BENCHIKH Khadidja responsable du laboratoire de mycologie pour son aide et ses conseils.

Un grand merci Pour Monsieur BABAALI Djaafer, Madame FERGANI Radia , mademoiselle BOUCHNAFA Hadjer .

Nous remercions enfin toute personne ayant aidé de près ou de loin, peu ou prou à la réalisation de notre projet.

DÉDICACES

Je dédié ce travail à Ma famille **Boukhelkhal** et aux personnes les plus chères au monde mes chers

PARENTS ;

A ma très chère mère **;**

Tu es l'exemple de dévouement qui' n pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder

Santé, longue vie et bonheur.

A mon père **;**

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes sœurs :**Moufida .Amina .Hayat**

A mes frère : **RIAD .MOHAMED**

A ma grand-mères.

A mes chére amies **NADA ET ZOUBIDA** qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et son famille.

Sans oublier mes amies et a tous ceux qui ont connus.

IHSSANE

Dédicace

Je dédie ce modeste travail comme preuve d'amour :

A mes chers parents Sidahmed et Souhila auxquels je souhaite que dieu leur prête le plus longtemps possible.

Au meilleur des pères, A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, je t'aime mon père.

A ma très chère maman la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la femme la plus merveilleuse au monde, tu as pris soin de moi, tu m'as comblé d'amour et de tendresse, depuis naissance et c'est grâce à toi que j'ai pu devenir ce je suis, je te remercie maman, je t'aime et que Dieu te garde pour moi.

À Mes très chère frères Moncef et Mahdi qui ont beaucoup fait pour moi. Dieu me les gardé heureux et à mes coté.

À ma très chère et adorable sœur Lilia que j'adore de tout mon cœur.

A mon cher mari Omar qui m'a tellement soutenu je t'aime très fort. Ainsi que sa famille.

A mes chères Ihssane et Zoubida qu'avec elles j'ai passé des moments agréable pendant et en dehors cette étude sans oublier leurs parents.

A ma tante Saliha et sa fille fella merci pour tous.

A tous les membres de ma promotion Phytopathologie . A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

À toute ma famille :ALITURKI.

« Nada » ☺

Dédicace

Je dédie cette thèse...

A mon très cher père... Aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur tout l'amour, le respect, l'attachement et la reconnaissance que je te porte. Tu m'as enseigné la droiture, le respect et la conscience du devoir. Puisse Dieu, le tout puissant, te procurer santé, bonheur et longue vie

A ma très chère mère... A la plus merveilleuse des mères. J'espère réaliser, en ce jour, l'un de tes rêves. Aucun mot ne saurait exprimer mon respect, ma considération et l'amour que je te porte. Puisse Dieu le tout puissant te donner santé et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour...

À mes frères

Soumia, Yamina , Mohamed et ma belle sœur Ikram , Pour leurs encouragements, l'intérêt constant qu'ils ont montré envers mon travail, pour avoir été toujours à mes côtés sans réserve et avec amour.

À mes très chers nieces Ranime et ritadje

À mes mes très chers neveux Youcef ,Bilal et Younes

A mes chers amies ***Ihssane et Nada*** *qu'avec elles j'ai partagé des moments inoubliables pendant et en dehors de travail.*

A tous les membres de ma promotion. A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

Zoubida

Sommaire

Introduction Générale **1**

Chapitre I : Synthèse bibliographique **3**

I.1- Généralités sur les huiles essentielles **3**

I.1.1- Les huiles essentielles **3**

I.1.2- Répartition et localisation des huiles essentielles **3**

I.1.3- Propriétés physiques des huiles essentielles **3**

I. 1.4- Composition chimique des huiles essentielle **4**

I. 1.5- Rôles des huiles essentielles **4**

I. 1.6- La conservation des huiles essentielles **4**

I.1.7- Les procédés d'obtention des huiles essentielles **4**

I.1.8- Les domaines d'utilisation **6**

I.1.8.1- Propriétés pharmacologique des huiles essentielles **6**

I.2- Généralités sur Laurie noble **7**

I.2.1- Historique **7**

I.2.2- Répartition géographique **7**

I.2.3 -Systématique de *Laurus nobilis L* **7**

I.2.4 - Morphologie générales de *Laurus nobilis L* **8**

I.2.5- Huile essentielle de *Laurus nobilis L* **9**

I.2.5.1 L'usage des extraits de *Laurus nobilis* L. en agriculture **10**

I.2.5.2 Effets biologique des extraits des feuilles de *Laurus nobilis L* **10**

I.3- Généralités sur L'Eucalyptus globulus labillardière **11**

I.3.1- Historique **11**

I. 3.2- Répartition géographique **11**

I. 3.3- Systématique d'*Eucalyptus globulus labillardière* **12**

I.1.3.4- Morphologie générales *d'Eucalyptus globulus labillardière* **12**

I .1.3.5- Huile essentielle d' *Eucalyptus globulus labillardière* **13**

I.3.6- domaine d'application des huiles essentielles *d' Eucalyptus globulus labillardière*……..…..**14**

I.3.6.1- Usage des huiles essentielles *d'Eucalyptus globulus labillardière* en agriculture **14**

I.4-Généralités sur le giroflier (*syzggium aromaticum)*..... **14**

I.4.1- Historique **14**

I.4.2- Répartition géographiques..... **15**

I.1.4.3 Systématique de Giroflier (*syzggium aromaticum*)..... **15**

I.4.4 - Morphologie générales de *syzggium aromaticum*..... **15**

I.4.5 -L'huile essentielle du Giroflier **17**

I.4.6- Usage de giroflier en agriculture..... **17**

I.5- Plantes hôtes **18**

I.5.1- Généralités sur la culture de la pomme de terre..... **18**

I.5.1.1- Description botanique..... **18**

I.5.1.2- Taxonomie de pomme de terre **19**

I.5.2 -*Pectobacteruim carotovora* spp. agent de la macération des tissus végétaux..... **19**

I.5.2.1- La maladie de Pourriture molle..... **19**

I.5.2.2- Symptomatologie de la pourriture molle et de la jambe noire sur la pomme de terre **20**

I.5.2.3- Facteurs favorisant l'infection **21**

I.5.2.4 -Cycle biologique de la maladie.....**21**

I I.5.2.5 -Agent causale.....**22**

I.5.2.6- Processus infectieux de *Pectobacteruim carotovora* **23**

I.5.2.7- Moyens de contrôle de la pourriture moll **23**

I.6.1- Généralités sur le poirier **24**

I.6.1.1- Description botanique.....**24**

I.6.1.2- Taxonomie de poirier **24**

I.6.2 -Généralités sur la maladie du feu bactérien.....**24**

I.6.2.1- La maladie « feu bactérien » **24**

I.6.2.2- Symptomatologie **25**

I.6.2.3- Cycle biologique de la maladie du feu bactérien.....**26**

I.6.2.4- Agent causal « Erwinia amylovora » **27**

I.6.2.5- Classification.....**28**

I.6.2.6- Morphologie.....**28**

I.6.2.7-Les composants cellulaires **28**

I.6.2.8- Lutte contre le feu bactérien…….....**29**

Chapitre II : Matériels et Méthodes.....**35**

II .1- Présentation de région d'étude **35**

II .2-Matériel et méthode **40**

II .2.1- Lieu de travail.....**40**

II.3- Matériel biologique.....**40**

II.3.1- Matériel microbiologique.....**41**

II.3.2 -Matériel végétal **41**

II.3.3 Matériel de laboratoire **41**

II.4-Méthodes de travails **41**

II.4.1 -Diagnostic au laboratoire **41**

II.4.1.1 -Isolement et identification des isolats phytopathogéne **41**

II.5 -Méthodes d'extraction des l'huiles essentiels **46**

II.5.1- Extraction des huiles essentiels de *Laurus nobilis* L, *Eucalyptus globulus labillardière* et Clou de giroflier **46**

II.6- Activité antagoniste *in vitro* des isolats des bactéries **48**

II.6.1- Méthode de contact directe **48**

II .7 -Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE *de Laurus nobilis L, Eucalyptus globulus labillardière* et Clou de giroflier **48**

II .7 .1- Analyse statistique **52**

Chapitre III : Résultats et discussions **53**

III. 1-Résultats **53**

III. 1.1 -Résultats du diagnostic *d'Erwinia amylovora* au laboratoire **53**

III. 1.1.1- Descriptions morphologiques *d'Erwinia amylovora* **53**

III .1.1.2 - Identification d'*Erwinia amylovora* **53**

III .1.1.2.1- Tests Biochimique **53**

III 1.1. 2.2 -Test biologique *d'Erwinia amylovora* **57**

III .1.2.1- Descriptions morphologiques *de Pectobacteruim carotovorum* **58**

III. 1.2.2.1 -Tests Biochimiques **59**

III. 1.2.2.2 -Test biologique de la bactérie *Pectobacteruim carotovorum* **61**

III.1.3 - Etude de l'effet antagoniste in vitro d'huile essentiel de *Laurus nobilis* et caractères organoleptique **61**

III.1.3.1- Rendement en huile essentielles de *Laurus nobilis* et caractères organoleptiq **61**

III. 1.3.2 -Evaluation de l'activité d'huile essentielle *Laurus nobilis L sur la bactérie d'Erwinia amylovora* **62**

III.1.3.3- Evaluation de l'activité d'huile essentielle *Laurus nobilis L sur la bactérie de Pectobacteruim carotovorum* **64**

III.1.4 Etude de l'effet antagoniste in vitro d'huile essentiel d' *Eucalyptus globulus* sur le développement *d'Erwinia amylovora* **66**

III .1.4.1- Rendement en huile essentielles *d'Ecalyptus globulus* et caractères organoleptique **66**

III.1.4.2- Evaluation de l'activité d'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus sur la bactérie d'Erwinia amylovora* **66**

III.1.4.3 -Evaluation de l'activité d'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus sur la bactérie de Pectobacteruim carotovorum* **68**

III .1.5 -Etude de l'effet antagoniste in vitro d'huile essentiel de *Syzygium aromaticum* sur le développement *d'Erwinia amylovora* **70**

III.1.5.1- Rendement en huile essentielles de *Syzygium aromaticum* et caractères organoleptique **70**

III .1.5.2 -Evaluation de l'activité d'huile essentielle *Syzygium aromaticum sur la bactérie d'Erwinia amylovora* **71**

III.1.5.3 -Evaluation de l'activité d'huile essentielle *Syzygium aromaticum sur la bactérie de Pectobacteruim carotovorum* **73**

III.1.6- Comparaison entre les différents effets des huiles essentielles **76**

III.1.7- Analyse statistique **76**

III.2 Discussion générale **79**

III.2.1- Identification des isolats d*'Erwinia amylovora* **79**

III.2.2- Identification des isolats de *Pectobacétruim carotovorum* **79**

III.2.3 -Rendement des huiles essentielles **80**

III.2.4- Effet d'huiles essentiel sur *Erwinia amylovora* et *Pectobacteruim carotovorum* **81**

Cocnclusion Générale **83**

Annexe 1

Planche. 01 :






Photo 1 : Des chancres, ceinturant parfois une branche attaquée.
Photo 2 : Ecoulement d'exsudat d'un chancre.
Photos 3 et 4 : Décoloration brune rougeâtre sous l'écorce des parties malades.

Planche. 02




Annexe



Photo 1 : Bouquet floral desséché présentant des pédoncules noircis et nécrosé
Photo 2 : Des gouttelettes d'exsudat sur un pédoncule floral.
Photo 3 : Filament d'exsudat cotonneux sur une fleur avec un pédoncule noire.

Planche. 03 :







Photo 1 : jeune pousse attaquée, aspect courbé en crosse.
Photo 2 : une brindille avec des exsudats recourbée en crosse.
Photo 3 : pousse desséchée, noircie aspect courbée en crosse, feuilles momifiées et fixées sur les rameaux.

Annexe

Planche. 04





Photo 1 : flétrissement de touts les secteurs atteints de l'arbre.
Photo 2 : rameau recourbé avec des feuilles desséchées et fixées.
Photo 3 : Des jeunes fruits noircis.

Planche. 05





Photo 1 : Une pousse avec des feuilles et des jeunes fruits desséchés et momifiés.
Photo 2 : Présence des gouttelettes d'exsudat sur la surface de fruit atteint.
Photo 3 : Un tronc d'arbre avec des chancres et l'écoulement des exsudats.

Annexe 2

Annexe 2 : « Le matériel utilisé lors de notre expérimentation » :

1-L'appareillage		
Balance de précision.	Une hotte	Agitateur Ping Ponge
Autoclave.	Une étuve.	Un réfrigérateur.
Agitateur de tubes vortex.	Four pasteur.	Clevenger
Centrifugeuse.	Hydro distillateur.	Plaque chauffante.
Une balance électrique.		

2- Verrerie :		
- Seringues stériles.	Papier aluminium.	Flacons.
Pince de laboratoire.	Anse stérile.	Pipette pasteur.
Des boites de Pétri.	Coton.	Des tubes à essai.
Un scalpel.	Une gaze.	Crayon.
Couvercle.	Papier filtre.	Les fioles.
Un bec Bunsen.	Pipettes graduées.	Erlenmeyer de 1000 ml et de 500 ml.
Spatule.	Etiquettes.	Portoir pour tubes.
Fioles.	Béchers.	Tubes à essai en verre.
tube eppendorf.	Disque en papier.	film alimentaire.

3-Réactifs et préparations :		
l'eau distillée.	Extrait de levure.	Na Cl
Agar bactériologique.	huile de vaseline stérile.	Saccharose.
Gélose (Agar agar).	Glucose.	solution de lugol.
Bactopeptone (Difco).	eau physiologique stérile (0.85 %).	huile immersion.
tween 80.	violet de gentiane.	réactif de Kovac.
NaH_2PO_4 (02 H_2O).	peroxyde d'hydrogène (3%).	solution de fuschine basique.
-oxalate de N,N, diméthyle paraphénylène diamine.	le milieu Urée-indole liquide en tube	jeune feuille de tabac.
d'alcool (éthanol à 70°)	Na_2HPO_4 (12 H_2O).	solution aqueuse à 3% de KOH.

Annexe 3



Autoclave



La hotte



Etuve de bactériologie



Agitateur ping ponge

Annexe



Agitateur vortex a tube.



Agitateur et plaque chauffante



Ballon de appareil Clevenger.



Plante de Tabac.

Annexe 4

- **Milieu levane (NAS) (Anonymous, 2004)**

  - Extrait de levure ..... 2,0 g
  - Bactopeptone (Difco) ..... 5,0 g
  - Saccharose..... 50,0 g
  - Chlorure de sodium ..... 5,0 g
  - Agar bactériologique ..... 20,0 g

Ajuster le pH à 7,2. Après autoclavage à une température >à 121°C pendant environ 20 minutes, le milieu est laissé à refroidir suffisamment pour pouvoir le couler en boîtes de Petri.

- **Milieu King B (King et *al.*. 1954)** :

  - Protéose - peptone n°3 (Difco)..... 20,0 g
  - Glycérol..... 10,0 g
  - Phosphate de potassium dibasique ..... 1,50 g
  - Sulfate de magnésium heptahydraté..... 1,50 g
  - Agar bactériologique ..... 15,0 g

Après autoclavage à une température >à 121°C pendant environ 20 minutes, le milieu est laissé à refroidir suffisamment pour pouvoir être coulé en boîtes de Petri. Avant de couler le milieu, incorporer 0,05 g de cycloheximide dissout dans de l'éthanol et stérilisé par filtration.

Introduction générale

Les maladies des plantes peuvent être causées par des conditions environnementales défavorables liées au climat, à la nutrition et à la pollution ou par des agents parasitaires. Ces derniers sont par exemple les virus, les bactéries, les oomycètes, les champignons et les nématodes. L'ensemble de ces stress est responsable de lourdes pertes agronomiques ; il est estimé que les maladies des plantes sont à l'origine de la perte de 14% des cultures mondiales (Agrios, 2005).

Parmi ces maladies, on peut citer les maladies causées par les bactéries phytopathogènes qui sont capables d'induire des différents types de symptômes. On compte environ 100 espèces bactériennes phytopathogènes, réparties parmi les bactéries à gram-positif et négatif.

Les bactéries du genre *Pectobacterium* sont classées parmi les agents pathogènes les plus importants économiquement pour la culture de pommes de terre (Hélia, 2008).

La pourriture molle causée par *Pectobacterium carotovorum* est une des plus importantes maladies bactériennes de la pomme de terre à l'échelle mondiale (Chibane, 1999).

Erwinia amylovora est l'une des bactéries phypathogènes les plus destructives causant le feu bactérien et d'importantes pertes économiques pour la production de poires, de cognasse et de pommes au niveau mondial (Vanneste et Eden-Green, 2000).

Actuellement, ce sont essentiellement des pesticides de synthèse qui sont utilisés pour lutter contre ces agents ravageurs. Ces produits chimiques sont considérés comme l´arme la plus efficace pour faire face à ces problèmes, mais ces substances ont des conséquences néfastes (Kouassi 2001; Thakore 2006) sur l´environnement comme l´accumulation de résidus et la pollution des sols, le déséquilibre écologique, dû au fait que beaucoup de ces composés de synthèse ont un large spectre d´action, détruisant non seulement les agents nuisibles, mais également les autres populations de l´écosystème.

Au regard de ces inconvénients, il est important de trouver des solutions alternatives qui permettront de continuer à lutter contre les phytopathogènes tout en diminuant l´emploi de produits chimiques. Celles-ci peuvent faire appel à la rationalisation des pratiques agricoles, à l´utilisation de variétés végétales résistantes ou au développement des biopesticides (lutte biologique).

Introduction générale

Les huiles essentielles détiennent actuellement une place importante dans les systèmes de lutte, leur rôle dans la recherche phytopharmaceutique dans certains pays du monde n'est plus à démontrer (Lahlou, 2004), les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux**.**

Le patrimoine végétale en Algérie est connu par sa richesse et diversité, notamment en plantes médicinales qui en plus de leurs propriétés thérapeutiques, possèdent des activités bactéricides et fongicides. Dans ce contexte, notre choix s'est porté sur deux plantes de la famille de Myrtacea : *Eucalyptus globulus* et *Syzggium aromaticum* et une plante de la famille de Lauraceae ; *Laurus nobilis.*

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de diverses concentrations des huiles essentielles de *Eucalyptus globulus* , *Syzggium aromaticum* et *Laurus nobilis*, sur la bactérie responsable de la pourriture molle de pomme de terre et le feu bactérien de poirier, comme substances naturelles alternatives à la lutte chimique utilisée en agriculture.

La présente étude s'articule autour de trois chapitres, le premier chapitre est une synthèse bibliographique sur : généralité sur les huiles essentielles, les plantes et les bactéries phytopathogène *Erwinia amylovora* et *Pectobactérium carotovoru* et les cultures infectées. La seconde portera sur l'étude de la région, les méthodes et les techniques utilisées pour mener ce travail. Les résultats obtenus ainsi que leurs discussions sont présentés dans le troisième chapitre et on termine par une conclusion générale.

II Matériels et méthodes :

II .1 Présentation de région d'étude :

Le présent travail a été réalisé dans la Commune de Médéa située à 90 km au sud d'Alger, sur les hauts plateaux qui ferment la vallée de la Mitidja. Elle est à 950 m d'altitude. C'est le chef lieu de la Wilaya de Médéa qui est située au cœur de l'atlas tellien, caractérisée par une altitude élevée et un relief mouvementé enserrant quelques plaines assez fertiles mais de faible extension pour s'estomper ensuite aux confins des hautes plaines steppiques, en une série de collines mollement ondulées.



Figure 12 : Carte géographique de la Wilaya de Médéa. (site web)

La Wilaya de Médéa s'étend sur une superficie cadastrale de 8700 Km2 regroupant 64 communes et 19 Dairates. Elle est limitée au nord par la wilaya de Blida, l'ouest par la wilaya de Ain Defla et Tissemsilt, au sud par la wilaya de Djelfa, et à l'Est par les wilayas de M'sila et Bouira.

La superficie totale de la Wilaya de Médéa répartie en :

- Agricole (culture associées aux parcours et arboriculture fruitière en sec) couvrent 630 104 ha soit 72% de la superficie totale de la wilaya.
- Terre de parcours occupent 292 507ha.
- Terre forestiéres (foret,maquis et reboisement) occupent 142 588 ha correspondant a un taux de boisement 18%.
- Terre impoductives occupent sur supeficie de 23 054 ha

(Rapport de la direction des services agricoles DSA Médéa, 2016.)

2. Le climat :

Le climat est composante directe déterminante de la distribution des organismes vivants et le facteur primordial influant l'activité des biocénoses.

Il est impératif de signaler que les données climatiques utilisées dans cette étude relèvent de la période 2006-2015. Ces données météorologiques proviennent de la station météorologique de dar El Bidah (Alger).

Le climat de Médéa se distingue par des caractéristiques dues à de nombreux facteurs qui sont entre autres :

- Son altitude qui atteint 950 m au dessus du niveau de la mer.
- Sa position sur les monts de l'Atlas tellien.
- Son exposition aux vents et aux vagues de courants venant de l'Ouest.

Le climat de la région est semi continentale, froid et humide en hiver, tempéré au printemps chaud et sec en été .une pluviométrie qui dépasse les 500 mm par an.

2.1 Températures :

La température est l'un des éléments importants pour la caractérisation du climat (Ramade, 1984 ; Dajoz,1985).

2 .1.1 Température moyenne mensuelle :

Les températures de la zone d'étude collectées durant la période 2006-2015 sont récapitulées dans le Tableau 11 elle éprouvent d'énormes balancement au cours ses mois de l'année.(Tableau 5,Figure 13)

Tableau 5 : Température mensuelles maximale (M) minimales(m) Moyenne (moy) de Médéa (2006-2015)

Mois	Jan	Fev	Mars	Avrl	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nove	Dece
Max (C°)	9,2	9	11	15,8	20,1	26	29	29,9	24	21,2	13,5	11,1
Min (C°)	4,6	2,7	8	9,6	14,2	19,7	25,5	24,6	19,5	15,8	8,7	5,6
Moy (C°)	6,9	6,3	9,6	13,4	17,3	22,4	27,2	26,8	21,7	17,7	11,1	7,8

Avec :

Max : Moyenne des températures maximales en degré Celsius.

Min : Moyenne des températures minimales en degré Celsius.

Moy : max+min/2 moyenne des températures en degré Celsius.

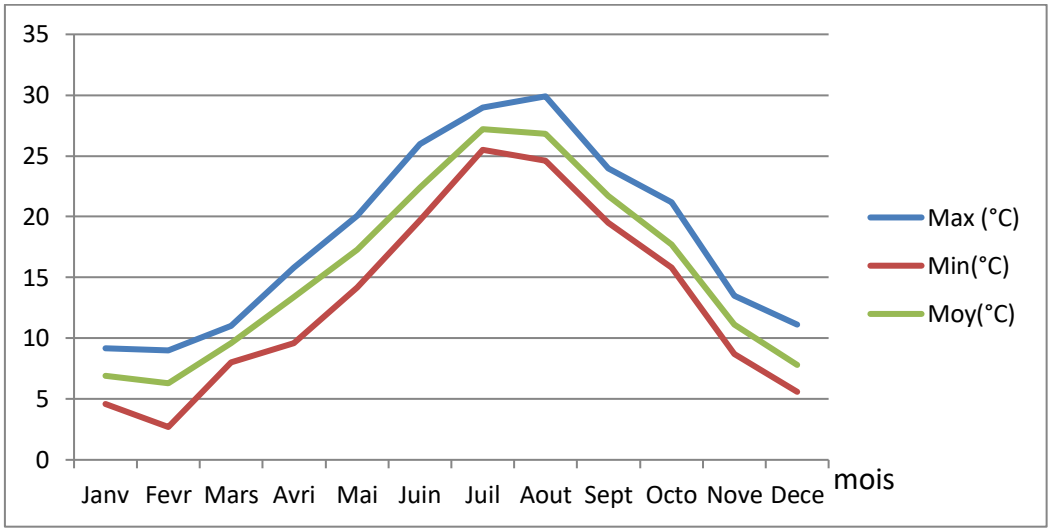


Figure 13 : Températures mensuelles maximales (Max) ,Minimales(Min) ,moyennes (moy) de la wilaya de MEDEA (2006-2015).

D'après ces données nous relevons que dans la zone d'étude le mois février est le mois le plus froid avec une température moyenne de 6,3 °C au contraire le mois le plus chaud est celui de juillet avec une moyenne de 27,7 °C.

2 .2. Précipitation :

2.2.1 La précipitation mensuelle :

Les mois les plus pluvieux s'étalent du mois de novembre au mois de février la saison pluvieuse commence en mois de novembre les pluies d'hiver sont parfois torrentielles et plus ou moins catastrophique. Quintaux pluies d'automne elle sont moins violentes (Tableau 6, Figure 14).

Tableau 6 : Précipitation mensuelles de Médéa (2006-2015).

Stations	**Statistiques**	**Jan**	**Fév**	**Mars**	**Avri**	**Mai**	**Juin**	**Juillet**	**Aout**	**Sept**	**Oct**	**Nov**	**Dec**	Total
MEDEA	**Précipitation mensuelles**	96,6	125,64	107,6	75,8	74,6	12,7	4,5	9,3	45,1	51,3	106,8	93,7	803,6

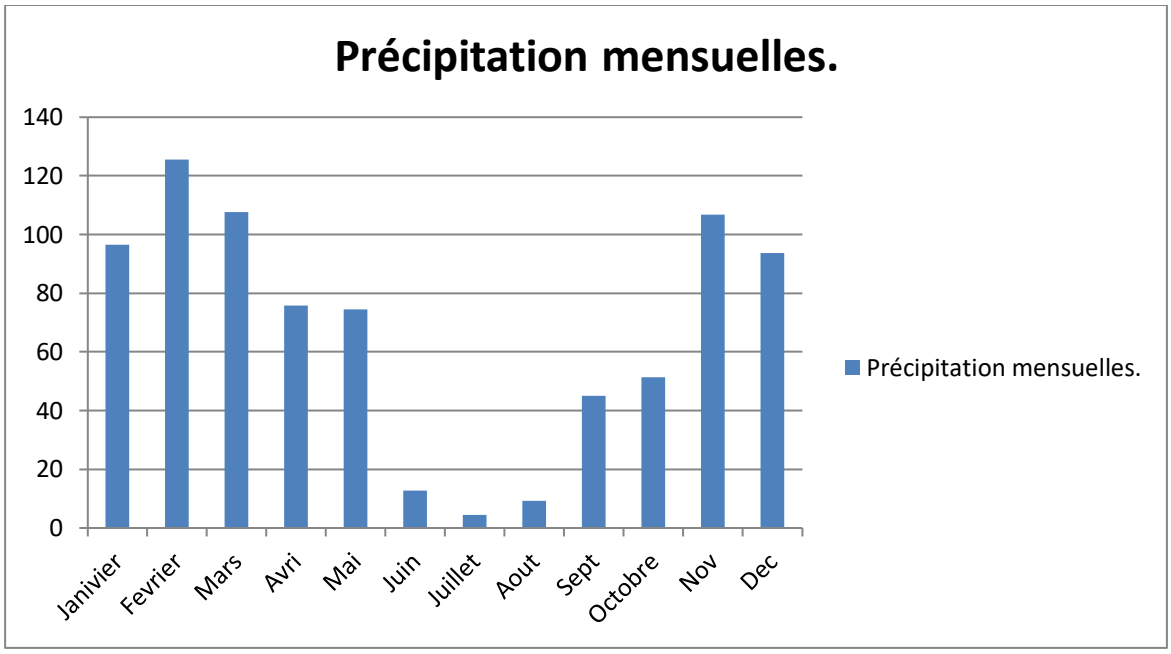


Figure 14: la précipitation mensuelles de Médéa (2006 -2015)

L'analyse des données pluviométriques reflètes irrégularité des précipitations qui connaissent de grandes fluctuations d'un mois a un autre durant la période retenue pour cette étude (2006-2015).

La zone d'étude connait une période de précipitation au moment de hiver et automne.

3. Synthèse climatique :

Afin de caractériser d'une manière objective le climat de notre zone d'étude nous avons utilisé le diagramme ombrothermique de Gaussen et climagramme d'EMBERGER.

3.1 Diagramme ombrothermique :

Permet d'estimer les éléments du climat d'une région du point de vue précipitation et températures pendant une période donnée et permet également de préciser la période sèches et humide (Djaoz ,1985).

D'après Djaoz (1975) la sécheresse s'établit lorsque la pluviosité mensuelle (P) exprimée (P(mm) <2T(c°)). A cet effet, nous pouvons constater, en se référant aux données météorologique de 10 ans (2006-2015) que la région de Médéa subit une période sèche de 4 mois qui s'étale de juin a septembre et qui culmine au mois de

Juillet. La période humide couvre les huit mois de l'année entre octobre et mai. (Figure 15)

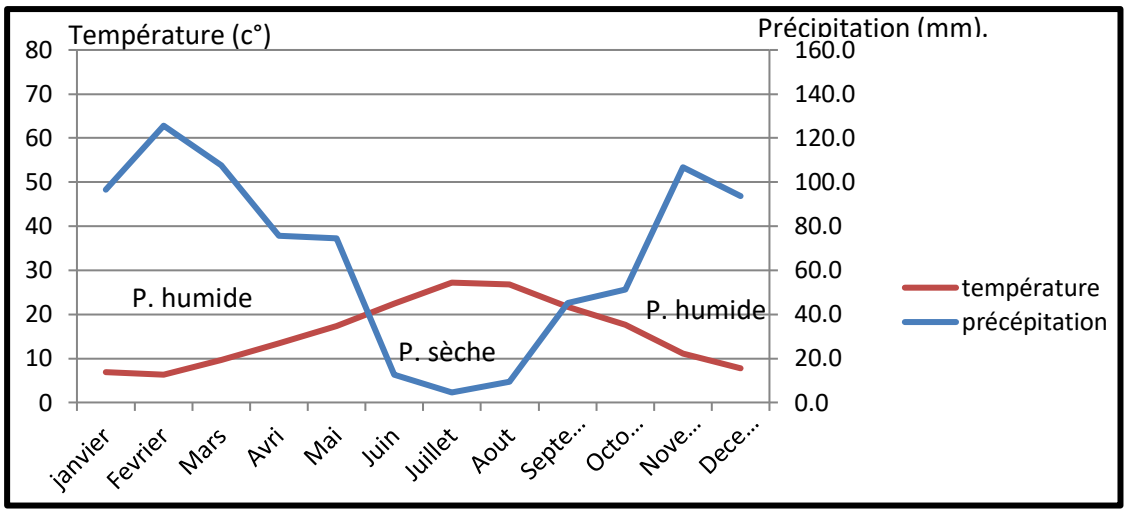


Figure 15: Diagramme ombrothermique de GAUSSEN de la zone d'étude (Médéa) (2006-2015)

4. Climagramme D'EMBERGER :

Le quotient pluviothermique d'EMBERGER (Q2) permet de déterminer l'étage bioclimatique d'une région méditerranéenne et de la situe dans le climagramme D'EMBERGER.

C'est un quotient qui est fonction de la température moyenne maximale (max) du mois le plus chaud, de la moyenne minimale (min) du mois le plus froid en degrés Celsius et de la pluviosité moyenne annuelle (P) en mm. Ce quotient est d'autant plus élevé que le climat de la région est humide. Il est calculé par la formule suivante :

Ce quotient a été simplifié par STEWART :

$Q2 = 3.43\ P / M - m$

Avec :

P : Pluviométrie annuelle.

M : Température maximale du mois le plus chaud en °C .

m : Température minimale du mois le plus froid en °C .

On a :

m=4,6 C°.

M=29,9 C°.

P=803,6 mm.

Q2=87,58 K

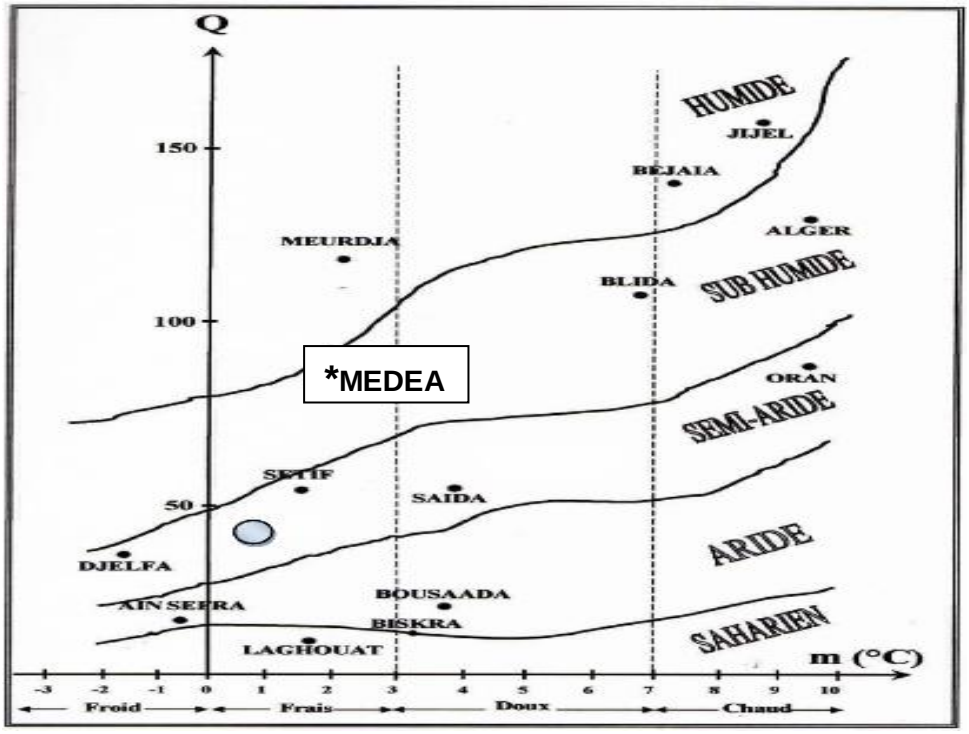


Figure 16 : climato-gramme d'Emberger.

II .2.Matériel et méthode :

II .2.1 Lieu de travail :

Notre expérimentation s'est déroulée au niveau de la station regionale de la protection des végétaux (SRPV) de Boufarik (Wilaya de Blida) et université de khemis meliana . Elle nécessite l'utilisation d'un matériel biologique et le suivi d'une méthodologie comportant :

II.3.Matériel biologique :

Le matériel biologique utilise regroupe le matériel végétal représente les feuilles de *Laurus nobilis L*. et *d'Eucalyptus globulus* et Clou de giroflier et les souches bactériennes.

II.3.1 Matériel microbiologique :

Deux isolats bactérienne purifie de *Pectobacteruim carotovorum* et *Erwinia amylovora* ; sujet de traitement par les huiles essentielles des trois plantes cultives.

II.3.2 Matériel végétal :

-feuilles de *laurus nobilis l* .

-feuilles *d'eucalyptus globulus labillardiere* .

-clou de giroflier *(syzygium aromaticum)* .

II.3.3 Matériel de laboratoire :

Le matériel utilisé durant notre étude verrerie réactifs alcool les appareils (Annexe 2 et 3).

II.4. Méthodes de travails :

II.4.1 Diagnostic au laboratoire :

II.4.1.1 Isolement et identification des isolats phytopathogéne :

1) Milieu de culture :

Le milieu de culture utilisé lors de notre travail et le milieu LEVANE semi sélectif *d'Erwinia amylovora* et *pectobacteruim carotovorum* (composition, Annexe 4**). (King et *al,* 1954).**

2) Technique d'isolement :

La première étape du diagnostic au laboratoire consiste à isoler les bactéries à partir des tissus végétaux présentant des symptômes soupçonnés d'être attaqués par le feu bactérien et la pourriture molle. Les échantillons doivent comporter une partie malade et une autre saine, puis coupés à la frange des deux parties pour permettre d'isoler l'organisme phytopathogène responsable de la maladie qui se trouve dans la partie saine.

Une partie du tissu infecté, est prélevée, morcelée puis stérilisée à l'alcool pur à 95° pour but d'éliminer les agents saprophytes. Par la suite, ces échantillons sont découpés et mis dans un flacon stérile, une quantité sufisante d'eau physiologique est additionnée à ces fragements symptomatique (**Gehring et Geider, 2012**). A l'aide

d'un pilon en plastique stérile, la macération est pratiquée pendant 20 à 30 minutes. 1 µl de la solution obtenue est étalé en boites de Pétri par la technique d'étalement en nappe à l'aide des billes en verre stériles.

3) Purification :

Après incubation d'une semaine à 27°C, Les colonies obtenues sont purifiées sur le milieu de levane (NAS), Cette opération a été répétée trois à quatre fois jusqu'à l'obtention d'une culture pure pour commencer les tests d'identification (**Jones et Geider, 2001**).

Pour cela, nous avons réalisé une série de tests biochimiques avec un témoin positif (souche de référence *Erwinia amylovora* et *perctobacteruim carotovorum*) et un témoin négatif (des tubes à essai non ensemencé), pour le test biologique un témoin positif (souche de référence *Erwinia amylovora* et *pectobacteruim carotovorum*) et un témoin négatif (infiltration de l'eau distillée stérile).

4) Repiquage et identification :

Les colonies présentant des caractéristiques macroscopiques typiques *d'Erwinia amylovora et Pectobacteruim carotovorum* ont été repiquées dans des boites contenant le milieu sur LEVAN. Pour compléter leurs identifications.

4.1 Caractéristiques et identifications des agents pathogènes :

❖ **Test à la potasse indicateur de GRAM :**

D'apes (**Reed 1977),** Cette méthode met en évidence des différences de structure, de composition chimique des parois bactériennes et leur réactivité vis-à-vis des colorants de GRAM. Elle consiste à mélanger une crème bactérienne de l'isolat à tester avec une goutte de KOH à 3 %. Lorsqu'un filet visqueux est observé, alors la bactérie est considérée Gram négatif.

❖ **Test coloration de Gram :**

Cette méthode met en évidence des différences de structure, de composition chimique des parois bactériennes et leur réactivité vis-à-vis des colorants de GRAM.

La fixation de la bactérie à tester est réalisée à la chaleur et en présence d'une goutte d'eau distillée stérile après la préparation du frottis par étalement d'une culture bactérienne âgée de 24 heures sur une lame. Les frottis fixées sont d'abord colorés au violet de gentiane, suivi par l'application d'une solution de lugol. La décoloration est effectuée par un lavage des lames à l'alcool 95°.

Après un lavage abondant avec un jet d'eau distillée stérile, le frottis subit une deuxième coloration à l'aide d'une solution de fuschine basique.

On a réalisé ensuite une observation des frottis au microscope optique grossissement 1000 X. Les isolats ayant une coloration violette sont Gram positif tandis que ceux présentant une coloration rose sont Gram-négatifs (**Hildbrand et al., 1988**).

- **Test de fluorescence sur King B :**

Une colonie âgée de 24 à 72 heures a été ensemencée en stries dans une boite de Pétri contenant du milieu King B. Ensuite Incubée pendant environ 48 heures à 27°C permettant de révéler l'éventuelle fluorescence en éclairant la boite avec la lampe à ultra-violet (UV) dans une pièce noire.

Le test est positif si apparition de fluorescence allant du vert au bleu. Il est négatif en l'absence de fluorescence (**Schaad et al., 2001**).

- **Test d'activité Levane sucrase :**

Le test levane sert à déterminer la polymérisation du fructose en polyfructose. Une culture bactérienne âgée de 24 heures est ensemencée en stries sur le milieu levane à l'aide d'une anse stérile.

Une réaction négative indique la présence de stries prostrées. Dans le cas d'une réaction positive, les stries apparaissent bombées et brillantes (**Hildbrand et al., 1988**).

- **Test d'activité cytochrome oxydase :**

Le test oxydase permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme cytochrome C oxydase. Nous avons utilisé une goutte de réactif de N, N, diméthylparaphénylène diamine sur un papier buvard, pour réaliser une émulsion immédiate à l'aide de l'anse de culture sur le buvard imbibé. Le test est considéré positif si une couleur rose

violacée est apparue, Le test est négatif en l'absence de coloration (**Klement et al., 1990**).

❖ **Test catalase :**

Le test catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'oxygène (H2O2). Sur une lame en verre stérile, une goutte de peroxyde d'hydrogène (3%) est déposée à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Les isolats bactériens âgés de 24 heures sont déposés dans la solution de peroxyde d'hydrogène à l'aide d'une anse à ensemencer en plastique stérile. Après 2 minutes, la présence de bulles révèle le dégagement d'oxygène et par conséquent une réaction positive (**Dickey, 1988**).

❖ **Fermentation du glucose (oxydation /fermentation) :**

Une culture bactérienne âgée de 24 heures est ensemencée sur le milieu Hugh and Leifson (**Hugh et Leifson, 1953**). Ce milieu semi solide est utilisé pour différencier entre la voie fermentative et la voie oxydative des bactéries phytopathogénes (**Schaad et al., 1988**).

Pour le test fermentation, une couche environ 1 cm d'huile de vaseline stérile est additionnée à la surface du tube à l'aide d'une seringue et un filtre stérile pour éviter tout contact avec l'air. Pour le test d'oxydation, seulement les bouchons des tubes à essai ne sont pas serrés puis, sont incubés pendant 48 à 72 heures à 27°C. La présence d'une coloration jaunâtre indique la fermentation du glucose par la bactérie. Une réaction négative pas changement de couleur le milieu reste bleu.

❖ **Test de transformation du sucrose :**

Le test sucrose sert à déterminer si la bactérie transforme le sucrose en une substance réductrice. Une culture bactérienne âgée de 24 heures est déposée à l'aide d'une anse stérile sur le milieu de culture liquide RS (**Schaad et al., 1988**).

Ces tubes sont incubés pendant 24 à 72 heures à 27°C, et à la suite de l'incubation on a ajouté 2.5 ml du réactif de Bénédict (**Schaad et al., 1988**), ensuite en mis les tubes dans un bécher contenant de l'eau pour faire bouillir sur une plaque chauffante. Une réaction positive le milieu devient jaune et une réaction négative le milieu reste bleu-vert.

❖ **Test de production d'indole :**

Une culture bactérienne âgée de 24 heures est déposée à l'aide d'une anse à ensemencer sur le milieu Indole liquide. A la suite de l'incubation, trois gouttes de réactif de Kovac's sont ajoutées, la lecture est immédiate, la présence d'un anneau rouge en surface indique une production de l'indole par la bactérie à partir d'un acide aminé qui est le tryptophane, une réaction négatif montre un anneau jaune à la surface (**Schaad et al., 1988**).

❖ **Test de liquéfaction de la gélatine :**

Les isolats bactériens sont ensemencés sur un milieu à base de gélatine Après 7 jours d'incubation à 27°C. Les tubes sont placés dans un réfrigérateur à 4°C pendant 30 minutes. Un résultat positif est indiqué par l'hydrolyse de la gélatine le milieu devient liquide, un résultat négatif le milieu reste solide (**Schaad et al., 1988**).

❖ **Test de croissance à 39°C :**

A partir d'une culture bactérienne âgée de 24 à 72 heures, est ensemencée dans le milieu liquide 523 (**Schaad et al., 1992**), ces tubes sont Incubés pendant environ 24 à 72 heures à 39°C. Le test est positif si un développement de la bactérie est observé (Apparition d'un trouble, à l'inverse, il est négatif) (**Schaad et al., 2001**).

❖ **Test biologique (hypersensibilité sur tabac) :**

Le test d'hypersensibilité sur tabac (Nicotiana tabacum var. White burley au stade 5 feuilles) permet de mettre en évidence le pouvoir pathogène d'une bactérie par le dessèchement (nécrose) des zones d'inoculation (**Jones et Geider, 2001**).

Ce test se réalise par infiltration sous épidermique d'une suspension bactérienne d'une culture jeune de 24 à 48 heures sur le limbe foliaire de tabac d'une densité optique (DO) environ 0, 37, ce qui correspond à une concentration cellulaire de107 cfu/ml (**Mabagala et Saettler, 1992**).

La mesure de la croissance bactérienne est réalisée par la lecture de l'absorbance après 24h et 48h d'incubation à l'aide d'un spectrophotomètre (prolabo, Paris) réglé à une longueur d'onde de 600 nm.

Le témoin négatif consiste à injecter de l'eau distillée stérile au niveau du limbe foliaire.

Le test est considéré positif s'il apparaît au bout de 24 heures une plage nécrotique correspondant à la zone infiltrée, et il est négatif si aucune réaction n'est observée.

II.5 Méthodes d'extraction des l'huiles essentiels :

II.5.1 Extraction des huiles essentiels de *Laurus nobilis* L, *Eucalyptus globulus labillardière* et *Syzygium aromaticum*:

Durant notre travail expérimental, nous avons utilisé l'appareil Clevenger pour effectuer notre hydro distillation. les matériels essentiels et la verrerie utilisés dans le tableau (voir l'annexe). Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un ballon rempli d'eau distillée qui est ensuite porté à ébullition.

Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**BRUNETON, 1999**). Après 2 heures d'ébullition, l'huile émergée est récupérée. La distillation est répétée 3fois et le volume global du distillat obtenu est estimé en (ml).

a) Mode opératoire :

L'hydrodistillation La partie aérienne de la plante (feuilles) a été récoltées dans la région de Médéa au mois d'avril (2018) sauf clou de Giroflier. Les huiles essentielles (HE) ont été isolées par hydrodistillation. En utilisant un appareillage de type Clevenger (Fiure 17). L'extraction a duré 2 à 3 heures pour un mélange de 150g de matériel végétal avec 750ml d'eau distillée, l'ensemble est ensuite porté à ébullition dans un ballon d'un litre surmonte d'une colonne de 60cm de longueur reliée à un réfrigérant, on observe ensuite petit à petit, la condensation au niveau du réfrigérant et la formation de gouttelettes transparente, jaune pale selon la plante utilisé. Qui est d'abord plus légère que l'eau. Ceci qui permit à l'huile de descendra au-dessous de l'eau lors de l'extraction et nous oblige de la récupérer rapidement afin de ne pas la perdre et l'huile essentielle des plantes sera par la suite récupérée et stockée à 4° C à l'obscurité dans un flacon en verre approprié, hermétiquement fermé et couvert d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière. La quantité d'essence

obtenue est pesée pour le calcul du rendement (**BOUGERRA, 2012; MAWUSSI, 2008**).



Figure 17 : Extraction des huiles essentielles par appareil type Clevenger. (Original)

b) Calcul de rendement :

Le rendement de l'huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante, évalué à partir de 3 échantillons de 1g séchés jusqu'au poids constant pendent 48 heures à l'étuve à 105°C. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$T\% = (M' / M) \times 100$$

T : pourcentage de l'huile essentielle.

M' : poids de l'huile essentielle obtenue en gramme (g)

M : poids du matériel sec (g)

Nous avons effectué trois répétitions. La moyenne de ces trois répétitions a été calculée.

c) Préparation de dilution d'huile essentielle de *Laurus nobilis* L, *Eucalyptus globulus labillardière* et *Syzygium aromaticum* :

L'huile essentielle de n'est pas miscible à l'eau, elle flotte au-dessus du bouillon de culture et le contact avec les bactéries n'est pas bon. Pour remédier à cela, nous avons utilisé un émulsifiant : le Tween 80. Les huiles essentielles ont été diluées en série allant de C1 = 100%, , C2 = 50% et C3 = 25% dans le tween 80.

II.6- Activité antagoniste *in vitro* des isolats des bactéries :

II.6.1- Préparation des crème bactérienne :

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, la crème bactérienne a été ensemencée par des stries dans des boites contenant le milieu Levane ainsi que les extraits comme décrit préalablement. L'incubation des boites ainsi préparées se fait dans l'étuve réglée à la température de 27°C pour évaluer le développement bactérien pendant 72 heures.

II.7 - Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE *de Laurus nobilis* L, *Eucalyptus globulus labillardière* et *Syzygium aromaticum*:

a) Méthode de diffusion en milieu gélosé :

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des H.ES, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose: appelée aromatogramme. Le principe de la méthode est tiré à partir du titrage des antibiotiques **(Benjelali et al; 1986**).

b) Principe :

Le principe consiste à estimer l'inhibition de la croissance des bactéries. Soumis au contact de l'huile essentielle et ceci par méthode de diffusion en milieu gélosé. Ce test est effectué par dépôt des disques en papier buvard stériles de 6mm imprégnés d'une quantité de 25 µl de l'huile essentielle sur un milieu gélosé préalablement ensemencé par étalement pour les bactérie et repiquage pour les champignon **(Chao et al, 2000).**

c) Préparation des disques :

Les disques sont préparées à partir du papier wattman N3 de 6 mm de diamètre, ensuite elles sont mises dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 20 minutes à

120°C, puis stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).

d) Préparation de l'inoculum :

A partir d'une jeune culture de 18 heures pour les bactéries (*Erwinia amylovora* , *Pectobacteruim carotovorum*) , en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 1ml d'eau physiologique stérile, on agite au vortex pendant quelques seconde. (Figure 18 A,B,C).

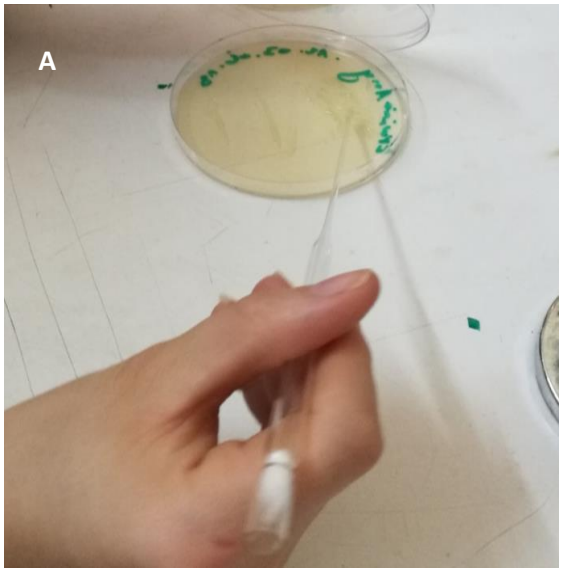




Figure 18 A : Prélévement des colonies bactériennes **Figure 18 B :** Préparation de l'inoculum.



Figure 18 C : Agitation de l'inoculum au vortex (Original).

e) Ensemencement et repiquage des boites de Pétri:

On à prend 100 µl de la suspension d'*Erwinia amylovora* et de *Pectobacteruim carotovorum* puis on étale par le rato sur une boite de Pétri stérile en strie. (Figure 19 .20)

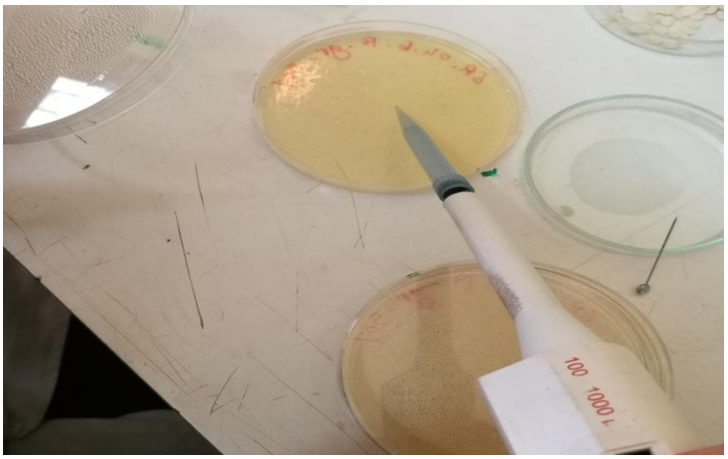


Figure 19: ensemencement et repiquage de la bactérie dans des boites de pétri(Original).

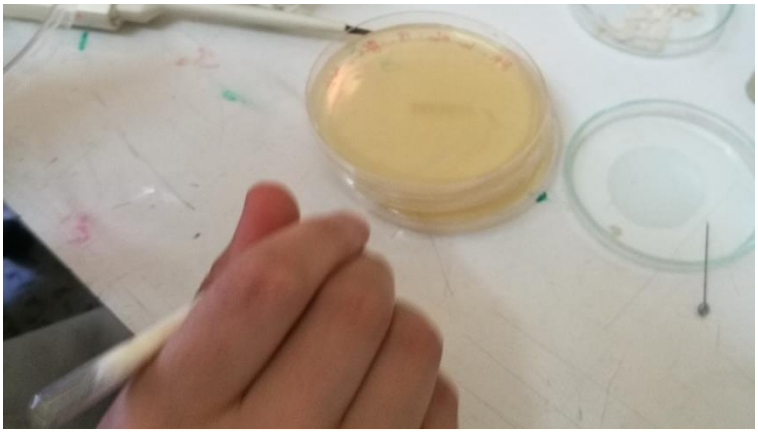


Figure 20 : étalement par le rato la suspension bactérienne (original).

f) dépôt de disques :

Les disques absorbants stériles d'environ 6mm de diamètre sont imprégnés d'huile essentielle puis déposés à l'aide d'une pince stérile à raison de 3 disques par boite de Pétri (figure21). Le témoin correspond aux disques imprégnés tween 80 à 30%.

Les trois disques/boite correspondent à des répétitions. Les boites de Pétri sont ensuite fermées par parafilme à l'étuve à température de 27 – 28°C pendant 24 à 48 heures pour les bactéries (Figure 22,23)

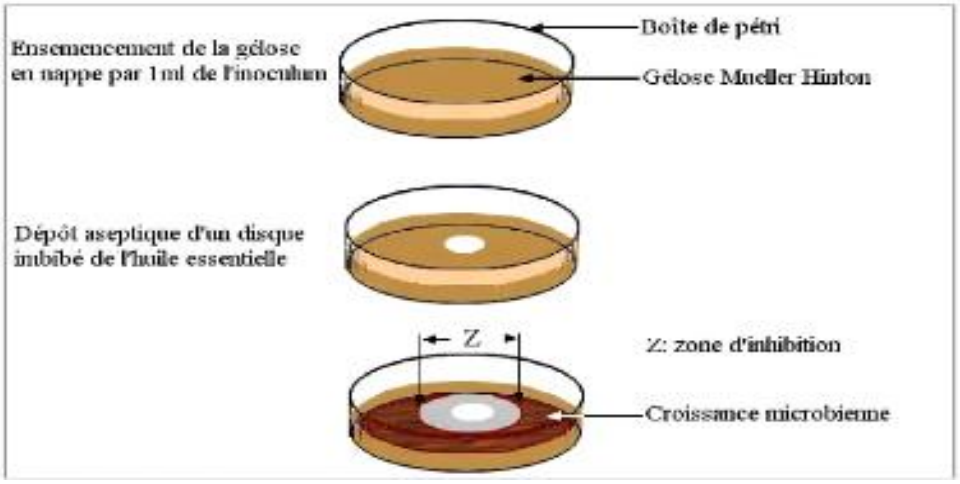


Figure 21: Principe de la méthode de diffusion par disque (site web).

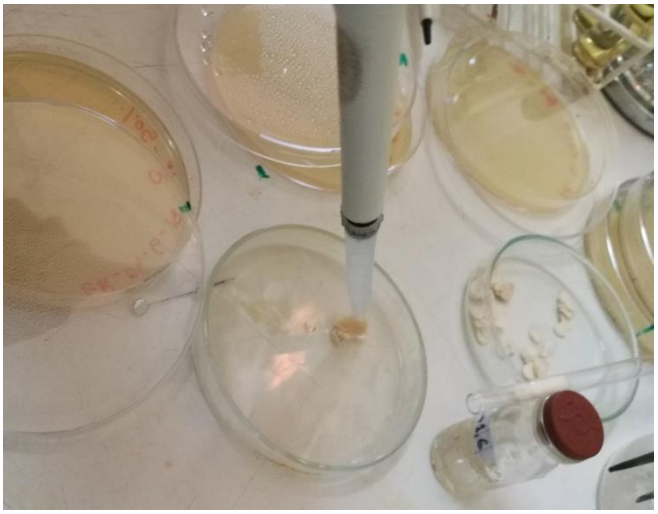


Figure 22: les disques absorbants imprégnés d'huile essentielle(Original).

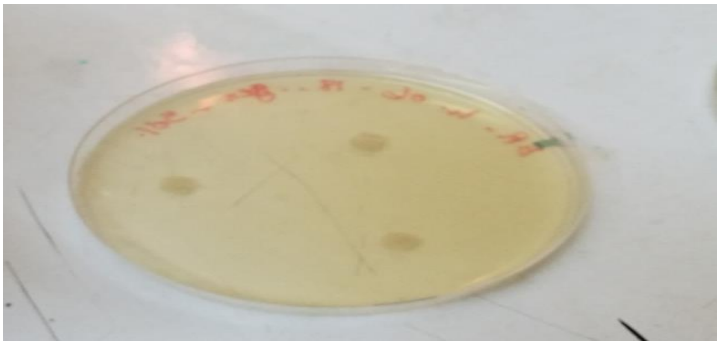


Figure 23: diffusion par disque des huiles essentielles (Original).

g) Lecture :

La lecture de l'activité antibactérienne se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être

symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis à vis des huiles essentielles. **(Ponce et al .2003).**

Le diamètre des zones d'inhibition (ZI), nous permet d'estimer la résistance ou la sensibilité des différents germes testés par l'HE, pour classer les germes nous avons utilisé les normes établies par (**Ponce et al. 2003**).

Le classement des bactéries et des champignons se fait dans l'une des catégories : sensible ou résistante.

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des croix (tableau 7).

Tableau 7 : Les diamètres d'inhibition et leurs degrés de sensibilités Ponce et al (2003).

Diamètre de la zone d'inhibition	Le dégrée de la résistance
D'<5mm	Souche résistante (-).
6mm ≤ D'≤ 11mm	Souche sensible (+).
12mm ≤ D'≤ 16mm	Souche très sensible (++).
D'>17 mm	Souche extrêmement sensible (+++).

II.7. 1. Analyse statistique :

Pour faire les analyses statistiques, nous avons utilisé ANOVA par le logiciel SYSTAT ver.12, en déterminant la variance à l'aide du GLM (General Linear Model), les différences ont été considérées significatives à $P \leq 0,05$ **(Philippeau, 1989).**

Liste des figures

Figure 1	poches sécrétrices chez les végétaux (Bendriss,2003)…….....	3
Figure 2	Schéma du dispositif expérimental pour distillation (Boukhatem, 2010)…….....	5
Figure 3	Feuilles de *Laurus nobilis L.*, (Site web)……	8
Figure 4	Fruits, graines, feuille, Fleurs et étamines *d'E. globulus* **(Albert, 2015)**……	12
Figure 5	Arbre de giroflier.(site web)…….....	16
Figure 6	Structure du Giroflier ……..	16
Figure 7	Fleur de giroflier……	16
Figure 8	Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne (**HOWARD et al 1994)**…….	22
Figure 9	Le Cycle biologique de la maladie le feu bactérie……	27
Figure 10	La cellule de la bactérie *E. amylovora* au microscope électronique GX 1 8.000 **(Agrios, 2004)**…….....	26
Figure 11	schéma de La structure de l'enveloppe de la cellule d'une bactérie Gram Négative **(Linda et *al.*, 2010)**……..	31
Figure 12	Carte géographique de la Wilaya de Médéa. (site web)…….....	35
Figure 13	Températures mensuelles maximales (Max) ,Minimales(Min) ,moyennes (moy) de la wilaya de MEDEA……	37
Figure 14	précipitation mensuelles de Médéa (2006 - 2015)…….	38

Figure 15 Diagramme ombrothermique de GAUSSEN de la zone d'étude (Médéa) (2006-2015)……..... 39

Figure 16 climato-gramme d'Emberger ……..... 40

Figure 17 Extraction des huiles essentielles par appareil type Clevenger. (Original)..... 47

Figure 18 A Prélévement des colonies bactériennes …… 49

Figure 18 B Préparation de l'inoculum……. 49

Figure 18 C Agitation de l'inoculum au vortex (Original)……..... 49

Figure 19 ensemencement et repiquage de la bactérie dans des boites de pétri(Original)…….. 50

Figure 20 étalement par le rato la suspension bactérienne (original)……. 50

Figure 21 Principe de la méthode de diffusion par disque……..... 51

Figure 22 les disques absorbants imprégnés d'huile essentielle(Original)…… 51

Figure 23 diffusion par disque des huiles essentielles (Original)…….. 51

Figure 24 Aspect des colonies *d'Erwinia amylovora* sur milieu Levane(Original)…… 53

Figure 25 Formation de filament en soulèvent l'anse avec le test potasse (KOH 3%) (Original)…….. 54

Figure 26 Forme un filament mucoïde avec le test coloration *d'Erwinia amylovora*. (Original)…….. 54

Figure 27 Production d'indole par *Erwinia amylovora*.(Original)……..... 54

Figure 28 Absence de coloration suite à l'activité cytochrome oxydase(Original)…....... 55

Figure 29 Développement de la bactérie sur le milieu Levane.(Original)……. 55

Figure 30 Croissance de la bactérie a 39° (A) et croissance à 25C° (B). (Original)……..... 56

Figure 31 Changent de couleurs vers le jaune suite aux test du métabolisme du glucose (Original)…….. 56

Figure 32 Observation de fluorescence sur King B. (Original)……..... 57

Figure 33 Hypersensibilité sur tabac (A) par rapport au témoin négatif inoculée à l'eau distillée stérile (B) après 72 h d'inoculation. (Original)……..... 58

Figure 34 Aspect des colonies **de *Pectobacteruim carotovorum*** sur milieu Levane ; (A) : après 48h d'incubation, (B) : après 2h d'incubation(Original)……..…….. 58

Figure 35 Formation de filament en soulèvent l'anse suite au test de potasse (KOH) 3% (Original)…… 59

Figure 36 Forme de bâtonnet et de couleur violette suite au test de coloration de Gram+ *Pectobacterum carotovorum.* (Original)…….. 59

Figure 37 Présence de bulles suite au test catalase. (Original)…… 60

Figure 38 Production d'indole par les bactéries. (Original)…….. 60

Figure 39 Réaction d'hypersensibilité sur feuilles de tabac 72 h après l'inoculation (Original)…….. 61

Figure 40 Huile essentiel de ***Laurus nobilis L***(Original)……..... 61

Figure 41 Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) de l'HE de *Laurus nobilis* et (D=Témoin) sur le développement d' *Erwinia amylovora*..... 63

Figure 42 Effet de déférente concentration (*100%*), (50%), (25%) de l'HE de *Laurus nobilis* et Témoin sur le développement d'*Erwinia amylovora*…….. 63

Figure 43 Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) de l'HE de *L.nobilis* et (D=Témoin) sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum*…….. 65

Figure 44 Effet de déférente concentration (*100%) ,(*50%), (25%),de l'HE de *Laurus nobilis* et le Témoin sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum*……. 65

Figure 45 Huile essentiel ***d'Eucalyptus globulus*** (Original)……. 66

Figure 46 Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) de l'HE ***d'E.globulus*** et (D=Témoin) sur le développement d' *Erwinia amylovora*..... 67

Figure 47 Effet de déférente concentration (*100%) ,(*50%), (25%) de l'HE *d'E.globulus et* Témoin, sur le développement d' *Erwinia amylovora*…… 68

Figure 48 Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) l'HE *d'E.globulus* et (D=Témoin) sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum*…….. 69

Figure 49 Effet de déférente concentration (*100%) ,(*50%), (25%),de l'HE *d'E.globulus* et Témoin sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum* …….. 70

Figure 50 Huile essentiel *Syzygium aromaticum* (Original)…….. 71

Figure 51 Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) de l'HE de *Syzygium aromaticum* et (D=Témoin) sur le développement d' *Erwinia amylovora.* …… 72

Figure 52 Effet de déférente concentration (*100%) ,(*50%), (25%) de l'HE de *Syzygium aromaticum* et Témoin sur le développement d' *Erwinia amylovora*…… 73

Figure 53 Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) de l'HE de *Syzygium aromaticum* et (D=Témoin) sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum*…… 74

Figure 54 Effet de déférente concentration *(*100%), (50%), (25%) de l'HE de *Syzygium aromaticum* et C4=Témoin sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum*…… 75

Conclusion générale

L'actuelle étude s'intéresse à l'évaluation de l'effet des huiles essentielles de quelques végétaux dans le but de rechercher de nouvelles substances naturelles pour la protection des plantes dans le cadre d'une lutte biologique.

Le présent travail est pour but de mettre en évidence les propriétés biologiques des huiles essentielles extraites par hydrodistillation de trois plantes *Eucalyptus globulus*, *Syzggium aromaticum* et *Laurus nobilis* récoltées dans la région de Médéa, contre deux souches bactérienne *Erwinia amylovora et Pectobacteruim carotovorum*, par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (LEVANE).

L'extraction des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* a permis d'obtenir un rendement important de 10,60% en comparaison avec le rendement des huiles essentielles de *Laurus nobilis* qui compris entre 0,5 et 1, 5% et un rendement de 1.17% d' huile essentielle *d'Eucalyptus globulus*.

L'étude de pouvoir antibactérien d' HE de *L. noblus*, a montré que l'huile essentielle de cette dernière présent un effet positif sur la souche bactérienne *Erwinia amylovora* étudiées avec des zones d'inhibition de 7,7 mm, 9mm et 6,6 mm respectivement pour les différentes concentrations C1 (100%), C2 (75%) et C3 (25%) par rapport au témoin, alors que l'HE de *L. noblus* qui présent un effet positif sur la souche bactérienne *Pectobacteruim carotovorum* avec des zones d'inhibition de 7,2 mm pour la forte concentration (C1) et 6 mm pour la moyenne et faible concentrations (C2 et C3). Elle a montré que les concentrations C1 et C2 étaient similaire pour les deux bactéries alors que C2 pour *P. carotovorum* est plus forte par rapport à la première bactérie.

Les résultats de l'effet d'huile essentielle *d'E. globulus*, a montré la présent un effet positif sur la souche bactérienne *E. amylovora* avec des zones d'inhibition de 14,33 mm, 10,33 mm et 7,1 mm respectivement pour les différentes concentrations C1, C2, C3 par rapport au témoin, concernant leurs effet sur *P. carotovorum*, l'étude a enregistré des zones d'inhibition de 7,9 mm pour C1, 6 mm pour C2 et 7.2 mm pour C3.

Conclusion générale

L'étude *in vitro* de pouvoir antibactérien d'HE de *Syzygium aromaticum*, a montré que cette huile présent un effet positif sur la souche bactérienne *E. amylovora* avec des zones d'inhibition de 8 mm, 8 ,6 mm et 8,7 mm respectivement pour les différentes concentrations C1, C2, C3, et La souche *Erwinia carotovora* donnée un diamètre de 9,1 mm avec C1 et une zone de 6,4 mm avec C2 et une zone de 6,1 mm avec C3. Donc on peut constater que les trois concentrations présentent des zones similaires pour les deux souches bactériennes.

On peut conclure que l'*Eucalyptus globulus* présente une activité plus importante sur l'*E.amylovora* notamment par l'application de la dose la plus élevé avec une zone d'inhibition de 14.33mm (100%) et la moyenne dose (25%) avec des zones d'inhibition de 10.33. Alors que pour l'activité la plus faible est enregistrée chez *P. carotovorum* par l'application de C2 et C3 de *L. nobilis* et par l'application de la moyenne dose C2 de *L. nobilis* et *E. globulus* soit 6mm.

Cette étude constitue une première étape dans la recherche de molécules bio-pesticides des huiles essentielles de *Eucalyptus globulus* et *Syzggium aromaticum*; *Laurus nobilis* afin de développer des nouvelles stratégies de lutte.

La continuité de ce travail s'avère primordial et plusieurs axes de recherche sont ouverts. En perspectives, il serait donc intéressant de mener une étude plus approfondie sur ces huiles et de tester sons effets sur d'autres agents phytopathogènes. Ainsi que de rechercher et caractériser les molécules bioactives existantes dans ces huiles essentielles. Afin de les inscrire à l'avenir dans un projet d'utilisation de « Bio pesticides » en agriculture en vue de préserver la santé humaine et contribuer à la protection de l'environnement.

Liste des tableaux

Tableau 1	Avantages et inconvénients des procédés d'extraction (Richard et Multon 1992) .	5
Tableau 2	Composition principale de l'huile essentielle de Laurus nobilis L., cultivé en BAlgérie (Yakhlef, 2010)……	9
Tableau 3	Composition chimique des huiles essentielles de feuilles de l'*Eucalyptus globulus* (Amakura e*t al.*,2002) , (Wichtl , 2003) ,(Bruneton, 2009)…….....	13
Tableau 4	Les principaux Constituants chimiques de *s.aromaticum* (Goetz et al., 2012)…..	17
Tableau 5	Température mensuelles maximale (M) minimales(m) Moyenne (moy) de Médéa (2006-2015)…….	36
Tableau 6	Précipitation mensuelles de Médéa (2006-2015)……..	37
Tableau 7	Les diamètres d'inhibition et leurs degrés de sensibilités Ponce et al (2003).....	52
Tableau 8	Résultats des testes biochimique de la bactéries *Erwinia amylovora*……..	57
Tableau 9	Résultats des testes biochimique de la bactéries *Pectobacteruim carotovorum*……	60
Tableau 10	Les crétaires des huiles essentielles de *L. nobilis*…….	62
Tableau 11	Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions d'huile essentielle *L.nobilis* pour *Erwinia amylovora*……	62

Tableau 12 Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions d'huile essentielle de *L.nobilis* pour *Pectobacteruim carotovorum*…… 64

Tableau 13 Les crétaires des huiles essentielles ***d'E.globulus***…….. 66

Tableau 14 Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions d'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus pour Erwinia amylovora*…… 67

Tableau 15 Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions d'huile essentielle *d'E.globulus* pour *Pectobacteruim carotovorum*…… 69

Tableau 16 Les crétaires des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum*…… 71

Tableau 17 Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions de huile essentielle de *Syzygium aromaticum* pour *Erwinia amylovora*…… 71

Tableau 18 Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions de huile essentielle *Syzygium aromaticum* pour *Pectobacteruim carotovorum*…… 74

Tableau 19 Tableau comparatif entre l'activités antibactérienne des HE de *L. nobilis, E. globulus* et *S. aromaticum* sur *E. amylovora* et *P.carotovarum* …… 76

Tableau 20 Coefficients d'ajustement (les huiles essentielles d' *E. globulus, S. aromaticum, L. nobilis sur Erwina amylovora…)* …… 77

Tableau 21 Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables [H_0 = Y = Moy(Y)]. (les huiles essentielles d' *E. globulus, S. aromaticum, L. nobilis sur Erwina amylovora…)*…….. 77

Tableau 22 Tukey (HSD)/ Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance de 95,00% (les huiles essentielles d'*E. globulus, S. aromaticum, L. nobilis* sur *Erwina amylovora*…)…… 78

Tableau 23 Coefficients d'ajustement (les huiles essentielles d'*E. globulus, S. aromaticum, L. nobilis sur Pectobacterium sp* …… 78

Tableau 24 Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables (H0 = Y=Moy(Y)) (les huiles essentielles d'*E. globulus, S. aromaticum, L. nobilis sur Pectobacterium sp)*…….. 78

Tableau 25 Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (les huiles essentielles *d' E. globulus, S. aromaticum, L. nobilis sur Pectobacterium sp …*)…… 79



Références bibliographiques



1- AGRIOS G N., 2004- Plant pathology, Elsevier Academic Press. ISBN 0-12-044565-4. Ed 05. p 641-647.

2-AGRIOS G., 2005- *Plant Pathology*. Fifth edition.

3-AHARONI Y., E. FALLIK, A. COPEL, M. GIL, S. GRINBERG, ET J. D. KLEIN. 1997- Sodium bicarbonate reduces postharvest decay development on melons. Post harvest Biol. Technol. **10:**201-206.

4-ALICE D., 2011- Faisabilité de la mise en place d'une Indication Géographique Sur le Clou de girofle à Madagascar Ecole supérieure d'Agro-Développement International ISTOM ; Thése P 65 72.

5-AMAKURA Y., UMINO Y., TSUJI S. et *al.* 2002- Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a natural food additive. original research article food

chemistry .77(1) :47-56

6-ANONYME, 2001- La pomme de terre : www.objectif_forme.com

7-ANONYME, 2008 : Maladies, ravageurs et désordres de la pomme de terre. Guide d'identification et fiches descriptives. Co-edition: Fnpppt, Gnis et Arvalis : 192 p.

8-ANONYME, 2012- Salon international de la pomme de terre Mosta batatis spécial quatrième édition : 4-6 p.

9-ATANDA, ???, 2007 - Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, 522 p.

10-BAMOUH A., 2003 : Fiche technique, l'abricotier, le prunier, le poirier et le pommier. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, Transfère de technologie en agriculture, n° 107 Arboriculture., Ministère de l'agriculture et de développement rural, Maroc : 4 p.

11-BAKER K. F., 1971- Fire blight of pome fruits : the genesis of the concept that bacteria can be pathogenic to plants. Halgadia, 40: 603-633.

12-BARLA A., TOPÇU G., ÖKSÜZ S., TÜMEN G., KINGSTON D.G.I., 2007- Identification of cytotoxique sesquiterpènes from *Laurus nobilis* L., *Food chemistry* 104: 1487-1484.

13-BARLIER L., 2014 - Etat des lieux de l'utilisation des huiles essentielles au CHU d'Angers université Anger UFR sciences pharmaceutique; P 8 /15.

14-BASSET F., 1995 - Huile essentielle : un marché et une problématique mondiale, parfums cosmétiques, Arômes, 1995, 121, p.51-58

15-BATISH, DAIZY R., SINGH, HARMINDER PAL, KOHLI, RAVINDER KUMAR ET KAUR, SHALINDER., 2008 - Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. Forest Ecology and Management. Vol. 256, n° 12, pp. 2166-2174.

16-BEER S. V., 1979-Fireblight inoculums : sources and dissemination. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 9, 13-25.

17-BEKHCHI., 2014. Les huiles essentielles. Ed. 40p.

18- BELOUED A., 1998 - Les plantes médicinales d'Algérie, Edit BORDAS, Paris : 118p.

19-BELOUED A., 2005 - Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger : 124 p.

20-BENDRISS H., 2003 - *BENDRISS Houari thèse de magister en génie chimique ;* valorisation des extraits de plantes aromatiques et medicinales de « *Ruta chalepensis*, et *Marrubium vulgare* » ; Université Hassiba BEN BOUALI –CHLEF. 133p

21-BENJILALI B, TANTAOUI-ELARAKI A, ISMAÏLI-ALAOUI M, AYADI A 1986- Méthode d'études des propriétés antiseptiques des huiles essntielles par contact direct en milieu gélosé. Plant Médicinal Phytotherapy .20: 155-167.

22-BENNADJA S., TLILI AIT KAKI Y., DJAHOUDI A., HADEF Y. AND CHEFROUR A., 2013- Antibiotic activity of the essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) on eight bacterial strains.*Journal of Life Sciences.* **7(8):** 814-819.

23-BENNET . R. A., BILLING. E, 1978 - Capsulation and virulence in Erwinia amylovora. Annals of applied biology 89: 41-45.

24-BENSEMMANE A ., 2008 : Union des opérateurs économiques pour le Renouveau du Monde Agricole et Rural – Revu ٭DITORIAL : l'Algérie célèbre l'année internationale de la pomme de terre _ Etat des lieux de la filière de la pomme de terre et recommandations N° 3.

25-BERESWILL S; PAHL A; BELLEMANN P; ZELLER W; GEIDER K, 1992- Sensitive and species-specific detection of Erwinia amylovora by PCR-analysis. Applied and Environmental Microbiology 58, 3522–3526.

26-BERNHARDS U. (1998). La pomme de terre Solanum tuberosum L. Monographie. Institut National Agronomique Paris – Grignon : 301–305

27-Biallo D., Sanogo R., Yasambou H. et autre (2004) Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae). *C. R.* Chimie. : 1073-1080p.

28-BIGENDAKO J., 2004- Identification et zonage des *Eucalyptus globulus* au rwanda.chemonics international inc. projet adar. p01.
29-BILLERBECK V-G., 2007. Huile essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques – phytothérapie ; vol 5 ; Pages 249-253.

30-BOER S. H., ET M. SASSER. 1986. Differentiation of Erwinia carotovora ssp. carotovora and E. carotovora ssp. atroseptica on the basis of cellular fatty acid composition. Can. J. Microbiol. 32:796-800

31-BOREJSZA-WYSOCKA EE, MALNOY M, BEER SV, ALDWINCKLE HS., 2006-

Increased resistance to fire blight in apple plants by silencing DspE-interacting proteins.

Phytopathology 96:S176

32-BOUAMER A .BELLAGHIT M ET MOLLAY A.,2004- Etude comparative entre l'huile essentielle de la Menthe vert et la Menthe poivrée de la région de ouargla ; mémoire des.unive. ouargla, p 2-5 ; 10 ; 19 ; 21-22

33-BOUDY P., 1952- *Guide du forestier en Afrique*, du Maroc, *de Tunisie. Ed librarie agricole.Horticole forestier et Ménagére, Paris*, 496p.

34-BOUGUERRA A., 2012- Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de Foeniculum vulgare Mill, en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine, 120 p.

35-BOUKHATEM M-N., HAMAIDI M-S., HAKIM Y., SAIDI F., 2010- Extraction,composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Nature et technologie, Blida ; Algérie. 37-38-39p.

36-BRUNETON J., 1993- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales,

2ème édition :Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 915p.

37-BRUNETON J., 1999- Pharmacognosie- Phytochimie-Plantes médicinales. 3ième edition.Techniques & documentation :1120p-560 p.

38-BRUNETON J.,2009 -Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales (4

Ed.) Tech et doc/Lavoisier, Paris, P. 661-4

39-BÜNTER.M., POPOW. G., STRICKHOF., LINDAU .Z.H., HOLLIGER.E., VOGELSANGER.J., SCHOCH.B.,2003- *Feu bactérien: contrôlez vos arbres*. pp 2.

40-BURILL TJ ., 1882-*New species of Micrococcus. Am. Naturaliste*, 17: 319-320.

41-CALVET R., 2005- *Les pesticides dans le sol:* conséquences agronomiques et environnementales, Edition France agricole, Paris, 637p.

42-CASTILHO P.C., COSTA M.D., RODRIGUES A., PARTIDARIO A., 2005- *Characterization of laurel fruit oil from Madeira Island, Portugal. J. Am. Oil Chem.* Soc : 82 - 83.

43-CATCHPOLE, A.H. & HILLMAN, J., 1969- *Effect of ethylene on tuber initiation in Solanum tuberosum L.* Nature 223 : 1387-1388.

44-CHAIEB K., HAJLAOUI H., ZMANTAR T., KAHLA-NAKBI A.B., ROUABHIA M., MAH-DOUANI K. AND BAKHROUF A., 2007- *The chemical composition and biological activity of clove essential oil, Eugenia caryophyllata (Syzigium aromaticum L.Myrtaceae): a* short review. *Phytother. Res.*; 21: 501–506.

45-CHIBANE A.,1999- *Techniques de Production de la pomme de terre au Maroc. Transfert de technologie en agriculture, PNTTA, Bull. Transfert de technologie*: 52:1-4.

46-CHANGINS,W. ET RECKENHOLZ, T .,2008 -*La Pomme de terre – Journée Information Agriculture La pomme de terre dans la coopération au développement*.

47-CHAO.S.C,YOUNG.D.G,OBERG.G.J.,2000- *screening for inhibitory activity of alimentaire.http://www.lemagrabdz.com/admin/floder01/une.pdf*

48-CHEHAT, F., 2008 - *Revue Agricole* ; La filière pomme de terre Algérienne : une situation précaire. Journée d'étude sur la filiére pomme de terre : Situation actuelle et perspectives. I.N.A. El Harrach, le 18 Juin 2008, Alger : 1-11 p.

49-CLARYS L., 2005 - *La pomme de terre de contre saison dans le Sud Est Malgache. Inter aide, Programme Agricole MANAKARA* : 3p

50-COUSIN S ., 2006- *Arômes alimentaires. Techniques de l'ingénieur, F 4 100, Paris.*

51-CZAJKOWSKI, R., PEROMBELON, M.C.M., VAN VEEN, J.A., AND VAN DER WOLF, J.M., 2011- *Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by Pectobacterium and Dickeya species: a review. Plant Pathology* 60:999-1013.

52-CURADO M.A. ET AL., 2006- Environmental factors influence on chemical polymorphism of the essential oils of Lychnophora ericoides. *Phytotherapy*, 67: 2363-2369.

53-DARPOUX R E DEBELLEY M., 1967- Les plantes sarclées. Edition. J.B. Baillère et fils france. Collection d"Enseignement Agricole. 307p.

54-DAVET P ROUXEL F., 1997- Détection et isolement des champignons du sol, Paris. cedex07, p147

55-DAYAN F. E ., CANTRELL C. L ., DUKE S. O ., 2009 - *Bioorganic & Medicinal Chemistry*.

56-DE BOER, S. H., 1994- *Prospects for control of potato diseases caused by pectolytic Erwinias. In : Zehnder GW, Powelson ML, Jansson RK, Raman KV, eds. Advances in potato pest biology and management. Saint-Paul,*

57-DELAQUIS. ,2002-*Microbial dynamics an dinteractions in the sperm sphere. Ann. Rev. Phytopathol.*, 42 , 271-309

58-DEMIR V., GUHAN T., YAGCIOGLU A.K., DDEGIRMENCIOGLU A., 2004 - Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering.* 88 (3): 325-335.

59-DJAOZ R.,1975- Précis d'écologie. Ed.Dunod ,Paris.434p.

60-DJAOZ R.,1985-Précis d'écologie. Ed.Dunod ,Paris.505p.

61-DONNELLY D.J., COLEMAN W.K., COLEMAN S.E., 2003- Potato microtube production and performance : A review . *American journal of potato research*, vol 80: 103-115.

62-DORMAN HJD. AND DEANS SG., 2000- Antimicrobial agents from plants : antibacterial

activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology.* **88(3):** 308-316.

63-DOW JM; OSBOURN AE; WILSON TJG; DANIELS MJ., 1995-A locus determining pathogenicity of Xanthomonas campestris is involved in lipopolysaccharide biosynthesis. Mol Plant-*Microbe Interact* 8:768-777.

64-DURAFFOURD C., ET LAPRAZ J.C., 2002 - Traité de phytothérapie clinique, médecine et endobiogénie, édition Masson, Paris,827p

65-DÜRING K, PORSCH P, FLADUNG M, ET AL., **1993-**Transgenic potato plants resistant to the phytopathogenic bacterium Erwinia carotovora. Plant J 1993 ; 3 : 587-98. Ducatillion C., 2010 : Les Plantes aromatiques *Laurus nobilis* L., 22 – 23 p.

66-EUROPEAN SCIENTIFIC COOPERATIVE ON PHYTOTHERAPY. ESCOP

Monographs Second Edition. Second Edition 2009. ESCOP, 2009.

67-FALKESTEIN H; BELLEMAN P; WALTER S; ZELLER W; GEIDER K., 1988-

Identification of Erwinia amylovora, the fire blight pathogen, by colony hybridization with DNA from plasmid pEA29. Applied and Environmental Microbiology 54: 2798-2802.

68-FERREIRA A., PROENÇA C., SERRALHEIRO M.L.M., ARAÚJO M.E.M ., 2006 - the *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J.Ethnopharmacology.* 108: 31-37.

69-Flamini G., Tebano M., Cioni L., Ceccarini L., Ricci A.S., Longo I ., 2007- Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. *J. Chromatogr. A* 1143 : 36-40.

70-FRANCESCO SPINELLI., 2002- changes in plant metabolism induced by dioxygenase

inhibitors and their effect on the epiphytic microbial community and fire blight

(erwinia amylovora) control, Università degliStudi di Bologna thèse de doctorat : 1128.

71-FRENEY, J., RENAUD, F., HANSEN, W. & BOLLET, C.,1992- *Manuel de bactériologie clinique ELSEVIER Collection Option Bio* Volume 1,79-143.

72-GARIBALDI J.A., GREENLAW J., CHOI J. AND FOTOVATJAH M., 1995- Treatment of post-operative pain. *CDA Journal*; 23:71-72.

73-GARNERO J., 1985 - Abrégé de phytochimie, Edition Masson, Paris, 217p.

74-GAUSSEN H., LEROY J.F ET OZENDA P., 1982- Précis de Botanique. Ed. Masson,

Paris, Tome II, 579 p.

75-GAUTIER MICHEL., 1988- La culture fruitière: *les production fruitièrs,* 01947.Vol.2:156157.

76-GEIDER. K., GEIER. G., BERNHARD. F., BELLEMAN. P., BUGERT. P., SCMIDT. A., CHANG. J. R., METZGER. M., 1992- Exopolysaccharides in pathogenicity of *Erwinia amylovora* in *Plant Pathogenic Bacteria*, Verrsailles (France), June 9-12, 1992 Ed. INRA, Paris 1994 (Les Colloques, n° 66): 485-489.

77-GEORGETTI, S.R., CASAGRANDE, R., DI MAMBRO, V.M., AZZOLINI ANA, E.C.S., FONSECA MARIA, J.V., 2003- Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the Chemiluminescence Methode. AAPS Pharm Sci, 5 (2) : P1-5

78-GOETZ P. AND LE JEUNE R., 2010-Syzygium Aromaticum (L.) Merr.& Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie* 8:37-43.

79-GODRON H., 1990- *Reproduction du Laurus nobilis sous le climat de Rouen - laurus, nobilis, laurier.*

80-HARTMANS, K.J. & VAN LOON, C.D.,1987- *Effect of physiological age on growth vigour of seed potatoes of two cultivars. I. Influence of storage period*.

81-HARTMANN U; SAGASSER M; MEHRTENS F; STRACKE R ET WEISSHAAR B., 1996-Differential combinatorial interactions of cis- acting elements recognized byR2R3-MYB, bZIP and BHLH factors control light- responsive and tissue- *specificactivation of phenylpropanoid biosynthesis genes.* Plant Mol. Biol., 57:155- 171.

82-HAUBEN L., SWINGS J., 1999-*Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology,* TheProteobacteria, Port B the Gammaproteobacteria, edSpinger N°2, Vol. 2:670-677.

83-HELIA V., 2008- Pectobacterium spp. et Dickeya spp.de la pomme de terre : nouvelle nomenclature pour Erwinia spp., symptomatologie, *épidémiologie et prophylaxie, C. Agricultures*,4:349-354.

84-Hernandez-Ochoa L R., 2005- Subttution de solvants et matier actives de synthése par une combine solvent/actif d'origine végétale. Thése de doctorat, institut nationnal plytechnique de toulouse. 250 p.

85-HERVIEUX V., E. S. YAGANZA, J. ARUL, ET R. J. TWEDDELL., 2002- Effect of organic and inorganic salts on the development of *Helminthosporium solani*, the causal agent of potato silver scurf. Plant Dis **86:**1014-1018.

86-HORST R. K., S. O. KAWAMOTO, ET L. L. PORTER., 1992.-Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. Plant Dis. **76:**247

87-HOSTTETMAN K ., 1997-Tout savoir sur le pouvoir des plantes. Ed. Favre. S.A. Lausanne. Suisse

88-HUGH R. AND LEIFSON E., 1953- the taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *Journal of bacteriology* 66, 24-26.

89-Inva ., 2007- La culture de la pomme de terre. Agriculture et développement n°08.

90-ISERIN P., 2001- Encyclopédie des plantes médicinales. *2ème Ed. Larousse. Londres* : 143 et 225-226 p.

91-JADHAV B.K., KHANDELWAL K.R., KETKAR A.R. AND PISAL S.S., 2004- Formulation and Evaluation of Mucoadhesive Tablets Containing Eugenol for the Treatment of Periodontal Disease. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*; 30: 195-203.

92-JEAN-PIERRE W., 2002- Les huiles essentielles : médecine d'avenir. Ed du Dauphin. Paris.

93-JEFFERIES, R.A. & LAWSON, H.M., 1991- A key for the stages of development of potato (Solanum tuberosum). *Annals of Applied Biology*. 119: 387-399.

94-JOCK S; VÖLKSCH B; MANSVELT L; GEIDER K., 2002-*Characterization of Bacillus strains from apple and pear trees in south africa antagonistic to Erwinia amylovora. FEMS MicrobiolLett* 211:247-252

95-JUERGENS UR; DETHLEFSEN U., 2003- Anti-inflammatory activity of a 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. respir. Med . 97: 250, 256.

96-KAROUSOU R., KOUREASD.N. &KOKKINI S., 20056 Essential oil composition is related to the natural habitats:Corido thymus capitatus and Saturejathymbra in NATURA 2000 sites of *Crete.Phytochemistry*,66, 2668-2673.

97-KINGSLEY MT; GABRIEL DW; MARLOW GC; ROBERTS PD., 1993-The opsX locus of amylovora, their interaction with plants and for quorum sensing. Environ. Microbiol(submitted for publication).

98-KAMYSZ W, KROLICKA A, BOGUCKA K, ET AL., 2005- Antibacterial activity of synthetic peptides against plant pathogenic Pectobacterium species. J Pathol 2005 ; 153 : 313-7.

99-KING, E.O., WARD, M.K. & RANEY, D.E.,1954- two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine:* 44, 301-307

100-KLOS E.J ., ISHAMRU. C., 1984- New medium for detecting *Erwinia amylovora* and its use in epidemiological studies. Phytopathology vol. 74: 1342-1345.

101-KOROCH A., RANARIVELO L., BEHRA O., JULIANI H.R., AND SIMON J.E., ANNee « *Quality Attributes of Ginger and Cinnamon Essential Oils from Madagascar* » in : Issues in new crops and new uses. Ed by Janick and A. Whipkey. ASHS Press, Alexandria, VA,2007 pp 338-341,

102-KOSKI. R.D ., JACOBI. W.R., 2009- Diseases: *Fire Blight*. Gardening & series no.

2.907.pp7.

103-KOUASSI, M., 2001-La lutte biologique: une alternative viable à l´utilsation des pesticides? *VertigO*. **2**(2). Numero de page

104-KOZAM G., 1977- The effect of eugenol on nerve transmission. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol.*; 44: 799-805.

105-KUMAR, PEEYUSH, MISHRA, SAPNA, MALIK, ANUSHREE ET SATYA, SANTOSH., 2012- Compositional analysis and insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* (family:Myrtaceae) essential oil against housefly (*Musca domestica*). Acta Tropica. Vol. 122, n° 2, pp. 212-218

106-LAEKEMAN S.M., HOOF V.L., HAEMERS A., BERGHE V.A.D., HERMAN A.G. AND VLIETINK A.K.,1990- Eugenol, a valuable compound for in-vitro experimental research and Worthwhile for further invivo investigation. *Phytother. Res.*; 4: 90-96.

107-LAHLOU M., 2004- Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils.Phytoth. Res.18 :435-448

108- LAHRECH. K., 2010- extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha pulegium L.* ET DE *Saccocalyx satureioide*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister, Université d' Oran Es-Sénia, 88 p.

109-LAIB I., 2011- Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de Lavandula officinalis sur les moisissures des légumes secs. Thèse de Magister. Université de Mentouri de Constantine, faculté des sciences exactes, département de chimie, Algérie, pages 122.

110-LAURENT J; BARNY MA; KOTOUJANSKY A; DUFRICHE P; VANNESTE JL, 1989- *Characterization of an ubiquitous plasmid Erwinia amylovora. Molecular Plant-*

Microbe Interaction 2: 160-164.

111-LECOMTE P; MANCEAU C;, PAULIN JP; KECK M., 1997-*Identification by PCR analysis on plasmid pEA29 of isolates of Erwinia amylovora responsible for an outbreak in*

Central Europe. European Journal of Plant Pathology 103, 91–98.

112- LIAN Y., DONG H.R., JIN L.P., JI Y.B., Lin H., Zou Y., 1998- Effect of inductive stimulus on the changes of endohormones during microtuber formation in vitro in Solanum tuberosum L. Adv Hort 2:494-498.

113-LINDA M; SHERWOOD; JOANNE M; WILLEY; CHRISTOPHER J; WOOLVERTON., 2010- Microbiologie 59 :578.

114-LOZIENE K. AND VENSKUTONIS P.R., 2005- Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of Thymus pulegioides. Biochem. Syst. Ecol., 33,517-525.

115-MABAGALA R.B ET SAETTLER A.W., 1992-An improved semi selective medium of recovery of *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli*. Plant Dis. 76:443-446.

116-MADR., 2011 - Services de statistiques des cultures, ministère d'agriculture et de développement rural .

117-MAILHEBIAU P., 1994 - La nouvelle aromathérapie, caractérologie des essences et tempéraments humains, 2éme édition Jakin, Paris. 635p.

118-MALNOY M, FAIZE M, VENISSE JS, GEIDER K, CHEVREAU E .,2005- Expression of viral EPS-depolymerase reduces fire blight susceptibility in transgenic pear. Plant Cell Rep 23:632-638

119-MANN C.M.,COX S . D.ET AL., 2000- The outer membrane of pseudomonas aeruginosa NCTC 6749 contributes ta its tolerance to the essential ail of Melaleuca alternifolia (tea tree ail) Lett Appi Microbiol 30-4 : (294 -297).

120-MAP., 2008-*Agro-économiste -INA d'El Harrach* . Fiches pratiques En Agriculture biologique, BSTITUT Valoriser l'Expérience Transfrontalière en Agriculture Biologique.

121-MARTINI ET SEILLER . ,1999 - Actifs et additifs ; Edition Lavoisier, technique et documentation, Paris . 244p.

122-MASSERON ALAIN; TRILLOT MICHEL.,1991-*Le poirier, Centre TechniqueInterprofessionnel des fruits et légumes : p100.*

123-MCGHEE C. GAYLE AND ALAN L. JONES., 2000- Complete Nucleotide Sequence of Ubiquitous Plasmid pEA29 from Erwinia amylovora Strain Ea88: Gene Organizationand Intraspecies Variation. Department of Botany and Plant Pathology, Michigan State University, East Lansing, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 66, No. 11: 4897-4907.

124-MCMANUS P.S., HEIMANN M.F., 1997-Apple, pear, and related trees disorder : Fire blight. University of Wisconsin-Extension, Cooperative Extension, Copyright, A1616. pp 4.

125-MECTEAU M. R., J. ARUL, ET R. J. TWEDDELL.,2002- Effect of organic and inorganic salts on the growth and development of Fusarium sambucinum, a causal agent of potato dry rot. Mycol Res **106:**688-696.

126-MEHANI M., 2006- Diagnostic sur les essais d'introduction de quelques essences.

MERKAERT C; THIRY ME; THIRY GC; LEDOUX L., 1982-*Characterization of plasmids present in Erwinia amylovora. Archives of International Journal Physiology And Biochememistry 90: pp54.*

127-MÉTRO A .,1955- Eucalypts for planting. FAO Forestry and Forest Products Studies II. Rome : FAO.

128-MILLENIUM CHALLENGE ACCOUNT (MCA) MADAGASCAR., 2000 - «Opportunités de marché- Filière Huiles Essentielles Région Atsinana »,

129-MODESTE LAMBERT SAMEZA ; MARIE AMPERE BEDINE BOAT ; SEVERIN TCHAMENI NGUEMEZI ; LILE CHRISTERE NGUEMNANG MABOU ; PIERRE MICHEL JAZET DONGMO ; FABRICE FEKAM BOYOM ET CHANTAL MENUT., 2004-.Potential use of Eucalyptus globulus essential oil against Phytophthora colocasiae the causal agent of taro leaf blight, Eur J Plant Pathol DOI 10.1007/s10658-014-0457-y . 2014

130-MOLLER WJ; BEUTEL JA; REIL WO; ZOLLER BG., 1972-*Fire blight resistance to streptomycin in California. Phytopathology 62:779.*

131-MOMOL MT; MOMOL EA; LAMBOY WF; NORELLI JL; BEER SV; ALDWINCKLE HS., 1997-*Characterization of Erwinia amylovora strains using random amplified polymorphic DNA fragments (RAPDs). Journal of Applied Microbiology 82, 389–398.*

132-MORIN J., MALHURET R. AND BASTIDE P., 1983-Aromathérapie. Exemples de la réalisation pratique de l'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique. ISSN 0992-9406.

133-MOREAU M, FEUILLOLEY MGJ, ORANGE N., 2005- Lethal effect of the gliding arc discharges on Erwina spp. J Appl Microbiol; 98 : 1039-46.

134-MOREAU, M., ORANGE, N., AND BRISSET, J.L., 2005- Application of electric discharges atmospheric pressure and ambient temperature for bio-decontamination. Ozone-

Science & Engineering 27:469-473.

135-MOTEKI, HIROYUKI, HIBASAMI, HIROSHIGE, YAMADA, YAYOI, KATSUZAKI, HIROTAKA, IMAI, KUNIO ET KOMIYA, TAKASHI.,2002- Specific induction of apoptosis by 1,8cineole in two human leukemia cell lines, but not a in human stomach cancer cell line. Oncology Reports. Vol.9,n°4,pp.757-760.PMID: 12066204

136-MOURGUES F, BRISSET MN, CHEVREAU E .,1998- First evidence for improved

resistance to fire blight in transgenic pear expressing the attacin E gene from Hyalophora cecropia. Trends Biotech 16:203-210

137-MURATA, SOICHIRO, SHIRAGAMI, RISA, KOSUGI, CHIHIRO, TEZUKA, TOHRU,YAMAZAKI, MASATO, HIRANO, ATSUSHI, YOSHIMURA, YUKINO, SUZUKI, MASATO, SHUTO, KIYOHIKO, OHKOHCHI, NOBUHIRO ET KODA., 2013- Keiji. Antitumor effect of 1, 8cineole against colon cancer. Oncology Reports. Vol. 30,n°6,pp. 2647-2652. PMID: 24085263

138-NEENO-ECKWALL, E.C., KINKEL, L.L., AND SCHOTTEL, J.L.,2001- Competition and antibiosis in the biological control of potato scab. Canadian Journal of Microbiology 47:332-340.

139-NEVES, H.C, VALENTE, A.V. CONHEC.A ., 1992 - Parque Natural da Madeira. Parque Natural da Madeira, Funchal. Pariente L., 2001 : Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologique. *2ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris* 1643 p.

140-NISHIJIMA H., UCHIDA R., KAWAKAMI N., SHIMAMURA K. AND KITAMURA K., 1998- Role of endothelium and adventitia on eugenol induced relaxation of rabbit ear artery precontracted by histamine. *J. Smooth. Muscle. Res.*; 34: 123-137.

141-OEPP/EPPO Global Data base., 2012-*Erwinia amylovora* (ERWIAM) distribution for *Erwinia amylovora*.

142-OEPP/EPPO., 2013- 43 (1), 21–45, PM 7/20 (2) *Erwinia amylovora*

143-OHKUBO T. AND SHIBATA M., 1997- The selective capsaicin antagonist capsazepine abolishes the antinociceptive action of eugenol and guaiacol. *J. Dent. Res.*; 76:848-851.

144-OKAZAWA Y.,1967- Physiological studies on the tuberization of potato plants.Journal of Faculty of Agriculture Hokkaido university. 55 : 267-347.

145-OLIVIER C., D. E. HALSETH, E. S. G. MIZUBUTI, ET R. LORIA., 1998- Postharvest application of organic and inorganic salts for suppression of silver scurf on potato tubers. Plant Dis. **82:**213-217.

146-OZCAN, M ET J. CHALCHAT., 2008 - Effet de différents endroits sur la composition chimique de l'essentiel .Les huiles de la baie *(Laurus nobilis* L.) laisse à l'état sauvage en Turquie. J. Med. Alimentair

147-PATRICIA B., 2005 -l'utilisation des huiles essentielles dans les affections Inflammatoires en complément du traitement ostéopathique. Mémoire du diplôme ostéopathie animal, European School of Animal Osteopathy. p 10,11

148-PAULI A. , 2006- Anticandidal low molecular compounds from higher plants with special reference to compounds from essential oils. *Med.Res. Rev.* 26: 223–268.

149-PAULIN JP., 1996-*Control of fire blight in European pome fruits. Outlook Agricu25:49-55.*

150-PAULIN JP., 2000- *Erwinia amylovora :*general characteristics .In : Vanneste JL (ed) Fire bilght . The disease and its causative agent . CABI Publishing , Wallingford, pp 87- 115.

151-PELLECUER J; JACOB M; SIMEON DE BUECHBERG M; ALLEGRINI J .,1980- Therapeutic value of cultivated mountain savory (*Satureia montana L*).

152-PEYRON L., 1970- Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques, Chapitre 10, 217 – 238 p. *Cité* In : Les arômes alimentaires. Coordinayeurs H. Pharmacopée Européenne, 2010).

153-PIBIRI M.C.,2005- Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation
au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorale. Ecole poly technique fédé râle, EPFL. Lausanne(Suisse)

154-PINTORE G., USAI M., BRADESI P., JULIANO C., BOATTO G., TOMI F., CHESSA M., CERRI R. AND CASANOVA J., 2002- Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*. **17:** 15-19.

155-PONCE G.,2003- mining the essential oils of the anthemideae African journal of biotechnology, 3 (12) , 706-720.

156-PRIOU S, JOUAN B., 1996_ Les maladies provoquées par les bactéries pathogènes du genre Erwinia. In : Rousselle P, Robert Y, Crosnier JC, eds. Mieux comprendre la pomme de terre. Paris (France : Inra éditions, 1996.

157-PRUSKI, K., ASTATKIE T., NOWAK J. ,2002- Jasmonate effects on in vitro tuberization and tuber bulking in two potato cultivars (*Solanum tuberosum L.*) under different media and photoperiod conditions. (Society for In Vitro Biology). In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant 38: 203-209.

158-PSALLIDAS, P.G., 1990- Fireblight of pomaceous trees in Greece - Evolution of the

disease and characteristics of the pathogen Erwinia amylovora. Acta Horticulturae

No. 273, 25-32.

158-PSALLIDAS; TSIANTOS ., 2000- *Chemical control of fire blight. In: Vanneste J (ed)Fire blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora. CABI Publishing, Oxon, pp199-234*

159-QUEZEL P ET SANTA S., 1963 - Nouvelle flore d'Algérie et Régions désertiques

méridionales .Tome II.

160-RAETZ CRH; WHITFIELD C., 2002-*Lipopolysaccharide endotoxins. Annu Rev*

*Biochem*71:635-700.

161-RAKOTOATIMANANA B.V. ET AL., 1999 -« Contribution à l'optimisation d'une unité de production d'huiles essentielles », mémoire de fin d'études,Département Génie Chimique, Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo ESPA, Université d'Antananarivo,

162-RAMOS C., TEIXEIRA B., BATISTA I., MATOS O., SERRANO C., NENG N.R., NOGUEIRA JMF.,NUNES ML., & MARQUES M., 2012-Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay leave *Laurus nobilis* Linnaeus (Lauraceae) from Portugal. *Natural Product Research.* **6:** 518-529.
Rapport de la direction des services agricoles DSA Médéa, 2016. Rapport de la direction de planification et aménagement de territoire,2016.

163-RICHARD ET MULTON., 1992- la fabrication des extraits : extraction par le dioxyde carbure, in Epices et Aromates, Tech et Doc, Lavoisier, Paris, 193-153pp Rousselle P; Robert Y& Grosnier J.C. 1996 : La pomme de terre, amélioration, ennemis, maladie et utilisation. I.N.R.A. Paris : 607 p.

164-RODRIGUEZ-SAONA L. E., ET R. E. WROLSTAD., 1997- Influence of potato composition on chip color quality. Am. Potato J. 74**:**87-106.

165-ROUSSELLE P.,ROBERT Y.,CROSNIER J.-C., 1996- La pomme de terre – Production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. 1 éd. Paris :INRA Editions :362

166-ROUX D., CARTIER O., 2007- Cahier du préparateur en pharmacie, botanique,pharmacognosie, et phytothérapie, Tome 3, Edit Wolters Khumer, Paris, 141p.

167-RUSSO M., GALLETI G., BOCCHINI P. &GARNACINI A., 1998- Essentialoilchemical composition of wild populations of Italian oregano spice (Origanum vulgares sp. Hirtum (Link) letswaart): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. Inflorescences. J. Agric. Food Chem.,46,3741-3746.

168-SAGE., 2012-Ouvrage Patrimoine : 224 p.

169-SALLE J., 1991 -les huiles essentielles. Edition Frison-Roche. Paris, 166p.

170-SANDRINE ., 2006-Warot préparatrice en pharmacie. Les Eucalyptus utilisés en aromathérapie, Mémoire de fin de formation en phyto-aromathérapie.P8-9.

171-SCHAAD N.W., HILDEBRAND D.C., SCHOTH M.N., SANDS D.C., 1988- In plant pathologic bacteria, laboratory guide for identification. ed N°02. N. W. APS Minnesota. USA. 37- 53.

172-SCHAAD, N. W., JONES, J. B. AND CHUN, W., 2001- *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria.* APS Press. Third edition 373p. St Paul, Minnesota (US).

173-SCHNITZLER, P., SCHÖN, K. ET REICHLING, J. AVRIL., 2001-Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. Die Pharmazie. Vol. 56, n° 4, pp. 343-347. PMID: 11338678

174-SEEMULLER EA; BEER SV., 1976-*Absence of cell wall polysaccharide degradation by Erwinia amylovora. Phytopathology 66: 433-436.*

175-SIMI F., ARNOLD NA ., PIOZZI F., 2003- Chemical composition of the essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl. var. *simplicifolia* Boiss. growing wild in Lebanon *J Chromatogr A.* 1052 : 237-240.

176-SIMIC A., SOKOVIC M. D., RISTIC M., GRUJIC-JOVANOVIC S., VUKOJEVIC J., AND SKOOG D.A., HOLLER F.J. & NIEMAN T.A., 2003- Principes d'analyse instrumentale. Boeck Université : 945 p.

177-SINGH A.K., DHAMANIGI S.S. AND ASAD M., 2009- Anti-stress activity of hydro-alcoholic extract of *Eugenia caryophyllus* buds (clove). *Indian. J. Pharmacol.*; 41(1): 28-31.

178-SOLTNER D., 1988- Les grandes productions végétales. Collection Scientifique des Téchnologies Agricoles. 16ème édition : 494.

179-SOPHIE DELAUNAY-CESBRON., 2009- Interaction entre des mutants hrp d'erwinia amylovora, agent du feu bacterien, le parent pathogene et la plante hôte : recherche de mecanismes modulant la compatibilite, Université d'Angers. Thèse doct.N°d'ordre 931 : 3-15.

180-SOYLU E. M., SOYLU S., AND KURT S., 2006- Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans.* Mycopathologia 161.

181-SPOONER D. M., MC LEAN K., RAMSAY G., 2005 - A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. Proc. Natl. Acad. Sci. 102 : 14694-14699 p.

182-SROKA Z .,2005- Antioxidative and Antiradical properties of plant phenolics. Z. naturforsch C 60, (11-12): 833-843.

183-STARR MP; CHATTERJEE AK., 1972-*The genus Erwinia :Enterobacteria pathogenic to plants and animals, Annual Review of Microbiology, 26:389-526.*

184-TEUSCHER E. ET ANTON R ET LOBSTEIN A., 2005-Plantes aromatiques épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Edit. LAVOISIER, Paris: 522p.

185-STEVENSON W. A., R. LORIA, G. D. FRANC, ET D. P. WEINGARTNER., 2001-Compendium of potato diseases. American Phytopathological Society. 2e éd. St-Paul, Minnesota. 106p

186-SUGUMAR, SARANYA, GHOSH, VIJAYALAKSHMI, NIRMALA, M. JOYCE, MUKHERJEE, AMITAVA ET CHANDRASEKARAN, NATARAJAN.,2014-Ultrasonic emulsification of eucalyptus oil nanoemulsion: Antibacterial activity against Staphylococcus aureus and wound healing activity in Wistar rats. Ultrasonics Sonochemistry. Vol. 21, n° 3, pp. 1044-1049.

187-SUTTLE J .,1998-Magnesium Disorders In Sheep And Cattle. ed:The Moredun Foundation News Sheet Vol. 2, No. 19.

188-TATJANA M.,KRSTEV., DRAGAN R., DUŠANKA K., 2010_ Antimicrobial activity of Satureja L. essential oils against phytopathogenic bacteria Erwinia amylovora, Biologica Nyssana, N° 8. 95-98.

189-TESCHE, S; METTERNICH F.,2008- The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. results of a double-blind, randomised, controlled trial. arch. otorhinolaryngo. l265 (11):1355-1359.

190-THAKORE, Y., **2006-** The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology*. **2**(3):294-208.

191-THOMSON. V SHERMAN., OCKEY.C SCOTT., 2000- Fire Blight of Pears and Apples, Utah State University, Utah Plant Disease Control No. 27, pp 5.

192-VALNET J., 1982 : Traitement des maladies par les légumes, les fruits et les céréales,8éme édition, Editeur Maloine, Paris.: 275, 350, 351, 352,353p.

193-VAN DAMME P., 2001-*production in tropical Africa.Brussels,Belgium:*DGIC, 1155-1166

194-VAN DER ZWET T; BEER SV., 1995-Fire Blight – Its Nature, Prevention, and Control. A Practical Guide to Integrated Disease Management, US Department of Agriculture,Agriculture Information Bulletin No. 631, Washington DC, 97 pp.

195-VAN DER ZWET .T., KEIL. H.L., 1979- Fire blight . a bacterial disease of rosacuous plants.U.S. Dept. Agr. Handb. 510. 200p.

196-VANNESTE. J.L., 1995-Erwinia amylovora. In: Singh U.S., Singh R.P. and Kohomoto K. (eds.) Pathogenesis and Host Specificity in Plant Disease: Histopahological, Biochemical, Genetic and Molecular Basis,Vol.1, Prokaryotes, Pergammon Press, Oxford and London, pp:21-46.

197-VANNESTE J.L.ET EDEN-GREEN S.J., 2000-Migration of *erwinia amylovora* in host plant tissues.pp73-83in : vanneste J.L.(ed)Fire blight the disease and its causative agent *erwinia amylovora* .CAB International,wallingford 370pp.ISBN 0 85 199 2943

198-VANNESTE. J.L., 1983- Etude du plasmide d'Erwinia amylovora. son rôle dans le pouvoir pathogène D.E.A, Faculté des sciences de paris XI. pp18.

199-VILELA, GEORGIA ROCHA, DE ALMEIDA, GUSTAVO STEFFEN, D'ARCE, MARISAAPARECIDA BISMARA REGITANO, MORAES, MARIA HELOISA DUARTE, BRITO, JOSE OTAVIO, DA SILVA, MARIA FATIMA DAS G.F., SILVA, SEBASTIÃO CRUZ, DE STEFANO PIEDADE, SONIA MARIA, CALORI-DOMINGUES, MARIA ANTONIA ET DA GLORIA, EDUARDO MICOTTI. ,2009- Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus Labill*., against the storage fungi *Aspergillus flavus Link* and *Aspergillus parasiticus Speare*. Journal of Stored Products Research. Vol. 45, n° 2, pp. 108-111.

200-VERDONCK. L., MARGAERT. J., RIJCKAERT. C., SWINGS. J., KESTERS. K., DE LEY J.,1987-Genus Erwinia, numerical analysis of phenotypic features. International Journal of Systematic Bacteriology 37: 4-18.

201-VILELA, GEORGIA ROCHA, DE ALMEIDA, GUSTAVO STEFFEN, D'ARCE, MARISAAPARECIDA BISMARA REGITANO, MORAES, MARIA HELOISA DUARTE, BRITO, JOSÉ OTÁVIO, DA SILVA, MARIA FÁTIMA DAS G.F., SILVA, SEBASTIÃO CRUZ, DE STEFANO PIEDADE, SÔNIA MARIA, CALORI-DOMINGUES, MARIA ANTONIA ET DA GLORIA, EDUARDO MICOTTI.,2009- Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus Labill*., against the storage fungi *Aspergillus flavus Link* and *Aspergillus parasiticus Speare*. Journal of Stored Products Research. Vol. 45, n° 2, pp. 108-111.

201-VOKOU D., KOKKINI S., BRESSIER J.M., 1988- Origanum onites (Lamiaceae) in Grec Distribution, Volatile oil yield, and composition Econmy botanic.42, issue 3, P407-412.

202-VREUGDENHIL D., STRUIK P.C., 1989- An integrated view of the hormonal regulation of tuber formation in potato (*Solanum tuberosum*). Physiologia

203-WENQIANG GUAN; SHUFEN LI; RUIXIANG YAN; SHAOKUN TANGAND CAN QUAN.,2006- Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. China.

204-WICHTL M, ANTON R ., 2003- Plantes Thérapeutiques, Emi/Tec & Doc, Paris, P 200-2.

205-WIE M.B., WON M.H., LEE K.H., SHIN J.H., LEE J.C., SUH H.W., SONG D.K. AND KIM Y.H.,1997- Eugenol protects neuronal cells from excitotoxic and oxidative injury in primary cortical cultures. *Neurosci. Lett.*; 225: 93-96

206-WILKINSON JM., HIPWELL M., RYAN T., AND CAVANAGH HMA.,2003- Bioactivity of *Backhousia citriodora*: Antibacterial and antifungal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51:**76-81.

207-WILSON M AND LINDOW SE .,1993. Interactions between the biological control agent Pseudomonas fluorescens A506 and Erwinia amylovora in pear blossoms. Phytopathology 83:117-123

208-WINSLOW CEA; BROADHURST J; BUCHANAN RE; KRUMWIEDE CJR; ROGERS LA; SMITH GH.,1920- *The families and genera of the bacteria, Erwinia journale of bactériology5:191-229.*

209-WIZELIS ., 2011- Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales Paris. Lavoisier : 563p.

210-WODZINSKI RS AND PAULIN JP .,1994- Frequency and diversity of antibiotic

production by putative Erwinia herbicola strains. J Appl Microbiol 76:603-607

211-WRIGHT SA, ZUMOFF CH, SCHNEIDER L, BEER SV .,2001-Pantoea agglomerans strain EH318 produces two antibiotics that inhibit Erwinia amylovora in vitro. Appl Environ Microbiol 67:284-292

212-YAGANZA ES, RIOUX D, SIMARD M, ET AL., 2004- Ultrastructural alterations of Erwinia carotovora subsp. atroseptica caused by treatment with aluminum chloride and sodium metabisulfite. Appl Environ Microbiol 2004 ; 70 : 6800-8.

213-ZHENG G.Q., KENNY P.M. AND LAM K.T.,1992- Sesquiterpenes from clove (*Eugenita caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents. *J. Nat.Prod.*; 55: 999–1003.

214-ZRIRA S & BENJILALI B .,1991-Effect of drying on leaf oil production of Moroccan *Eucalyptus camaldulensis*. j .ess.oil res. 3: 117-119.

215-ZRIRA S ET BENJILALI B.,1991- Essential oils of twenty seven eucalyptus species

grown in morocco. j.ess. oil res. 4: 259-264. http://www.sdc.dz/spip.php?article104

Référence site web :

http://www.sdc.dz/spip.php? article104

https://fr.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus

https://fr.depositphotos.com/53773809/stock-photo-eucalyptus-leaves.html

https://www.herboristerieduvalmont.com/plantes-medicinales-en-vrac/1363-eucalyptus-feuille-entiere-bio-5425021002300.html

https://www.les-bois-flotte.com/fr/elements-de-la-nature/34-fruits-d-eucalyptus.html

http://bleunwennature.canalblog.com

III.1. Résultats :

III. 1.1 Diagnostic *d'Erwinia amylovora* au laboratoire :

III. 1.1.1 Descriptions morphologiques *d'Erwinia amylovora*:

Nous avons obtenu une collection d'isolats bactériens à partir des déférents endroits puis nous avons réalisé les tests d'identification.

Paulin (2000) a noté que les souches *d'Erwinia amylovora* varient selon la virulence, la morphologie de colonie, et la sensibilité aux antibiotiques, dans notre étude nous n'avons pas sélectionné les colonies qui ont les caractères *d'Erwinia amylovora* : couleur blanche, circulaires, bombées, lisses, muqueuses, brillantes (**Klos et Ishimaru, 1984; OEPP, 2013**) parmi les isolats obtenus, il existe ceux qui ont les caractères suivants: couleur jaunâtre orangé, bombées, circulaires, luisantes. (Figure 24).

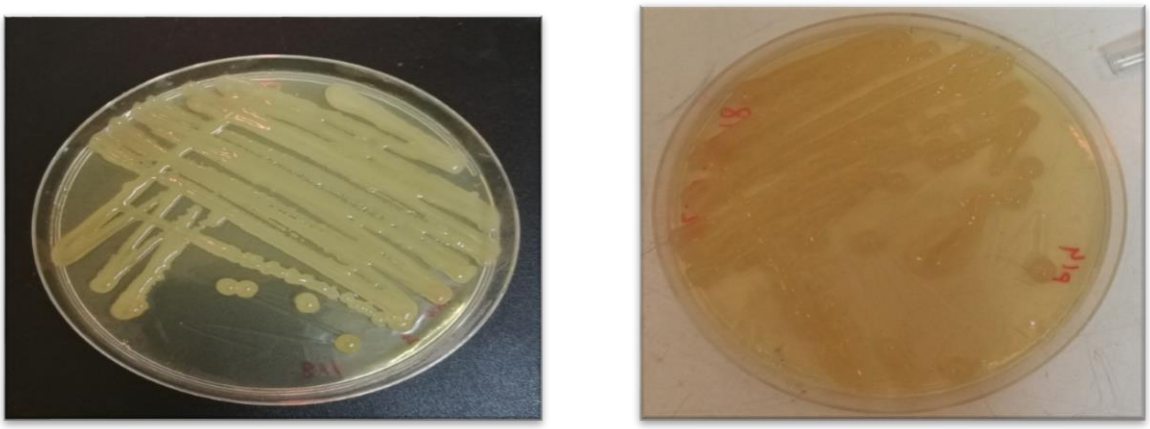


Figure 24 : Aspect des colonies *d'Erwinia amylovora* sur milieu Levane(Original)

III.1.1.2 Identification d'*Erwinia amylovora :*

III.1.1.2.1 Tests Biochimique :

- **Test à la potasse indicateur du GRAM :**

Le test coloration de Gram et test de potasse KOH 3%, ont permis de sélectionner les isolats Gram négatif car il y a formation de filament en soulèvent l'anse. Toutes les colonies forment un filet visqueux. (Figure25). La coloration de Gram aide dans le procédé initial d'identification (**Schaad, 1994**).

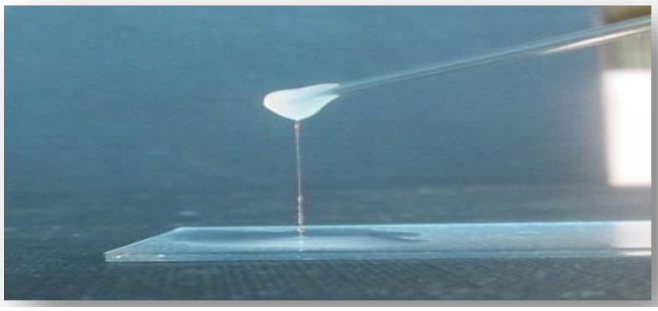


Figure 25 : Formation de filament en soulèvent l'anse avec le test potasse (KOH 3%) (Original)

❖ **Test de coloration de Gram :**

Les frottis ont été observés au microscope optique grossissement 1000 X. Les Gram - négatifs et apparaissent de couleur rose en forme de bâtonnet confirmant à l'identification de **Hauben et Swings (1999**) et pour le teste de potasse les bactéries à Gram – provoquent une augmentation de la viscosité de KOH et forme un filament mucoïde. (Figure 26).

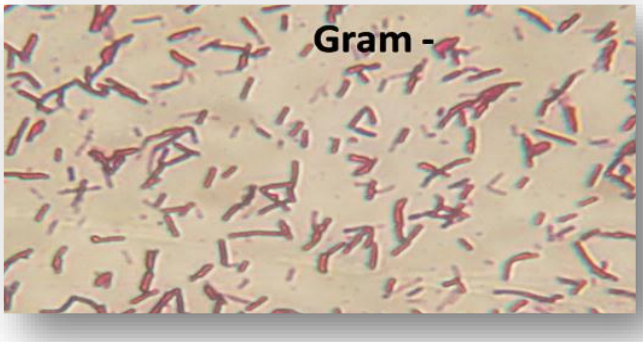


Figure 26 : Forme un filament mucoïde avec le test coloration *d'Erwinia amylovora*. (Original)

❖ **Production d'indole :**

Les résultats obtenus d'après le test de production d'indole à partir de l'acide aminé Tryptophane ont révélé que toutes les souches et suite de l'incubation et après l'ajustement des gouttes de réactif de Kovacs ne montrent pas la formation d'anneaux rouges sur la surface des tubes. (Figure27).



Figure 27 : Production d'indole par *Erwinia amylovora*.(Original)

❖ **Test de mise en évidence de l'activité cytochrome C oxydase :**

Concernant les résultats du test de production de cytochrome oxydase par nos bactéries, ils se sont révélés négatives (absence de coloration) (Figure28).



Figure28: Absence de coloration suite à l'activité cytochrome oxydase(Original)

❖ **Activité Levane sucrase :**

Nous avons remarqué sur le milieu LEVANE, que les colonies sont plus développées avec des marges opaques, cette croissance due à la polymérisation du fructose en polyfructose par les bactéries que le milieu Levane en contient (Figure29).



Figure 29 : Développement de la bactérie sur le milieu Levane.(Original)

❖ **Croissance à une température de 39 °C :**

absence de croissance des colonies, manifestées à une température de 39°C pendant trois jours indique également un caractère physiologique d'*Erwinia amylovora* une fois la bactérie revient sur une température optimale elle croit normalement. (Figure30).



Figure 30: Croissance de la bactérie a 39° (A) et croissance à 25C° (B). (Original)

- **Test de mise en évidence du métabolisme oxydatif/fermentatif du glucose :**

Les résultats du test de mise en évidence du métabolisme oxydatif et fermentatif montrent que les tubes testés, des différents isolats, soumis aux conditions d'aérobioses et d'anaérobioses changent tous leurs couleurs vers le jaune. Ceci prouve que les tests sont tous positifs **(Hugh et Leifson, 1953)** et que nos bactéries sont toutes fermentatives.

Le test d'oxydation/fermentation, ont montré une réaction positive pour l'ensemble des tubes testés. Les bactéries métabolisent le glucose par voie fermentative.

Toutes les souches testées révélés qui sont des bactéries anaérobies facultatives. (Figure 31).

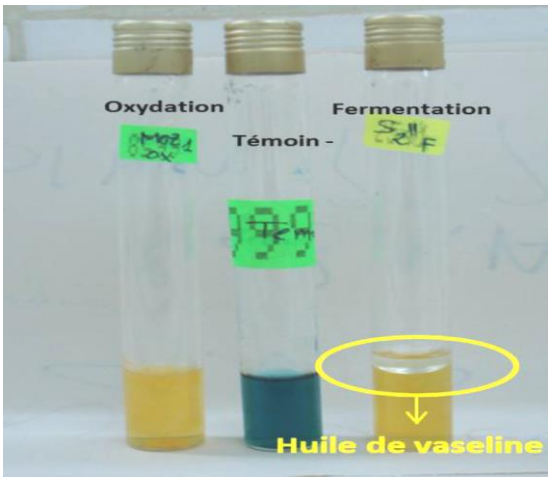


Figure 31 : Changent de couleurs vers le jaune suite aux test du métabolisme du glucose (Original)

- **Test de fluorescence sur KB :**

Le test de fluorescence sur milieu King B est négatif pour l'ensemble des isolats, ce qui traduit par l'absence de florescence.

Toutes les colonies n'ont pas émis e pigment fluorescent sous lumière Ultra -Violet. (Figure 32).



Figure 32: Observation de fluorescence sur King B. (Original)

Tableau 8 : Résultats des testes biochimique de la bactérie *Erwinia amylovora*.

Les tests	Gram	oxydase	catalase	Fermentation	sucrose	indole	Croissance a 39°c
Les résultats	-	-	+	+	+	-	-

+ : réaction positive au test
- : réaction négative au test.

III.1.1. 2.2 Test biologique *d'Erwinia amylovora* :

- **Test d'hypersensibilité sur tabac :**

Le test biologique a été réalisé sur les isolats à Gram négatif et après 72 et 120 heures d'inoculation des nécroses ont été observés (Figure 33). Donc les isolats à Gram négatif sont phytopathogènes. *Erwinia amylovora* induit une réaction d'hypersensibilité (RH) chez les plantes non hôte ou résistance comme le tabac. La RH est une réaction rapide de défense de la plante induisant la mort programmée des cellules et la production de divers agents antimicrobiennes bloquant ainsi la progression du pathogène le test RH a été effectué sur des feuilles de tabac.

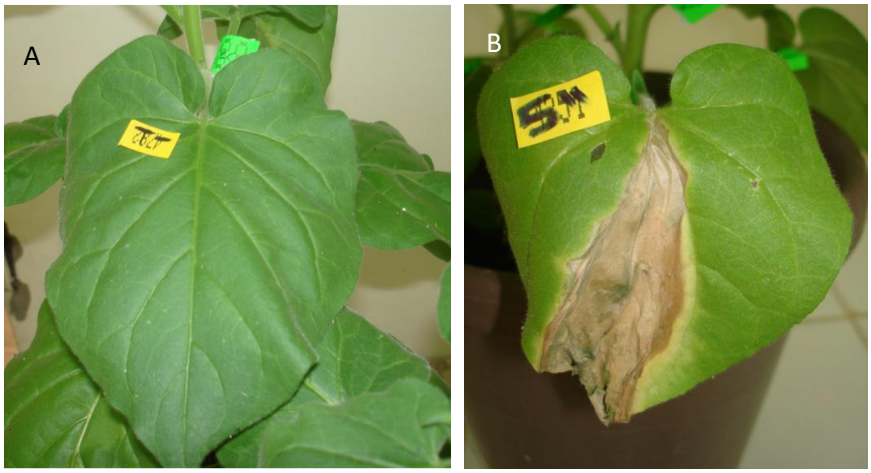


Figure 33 : Hypersensibilité sur tabac (A) par rapport au témoin négatif inoculée à l'eau distillée stérile (B) après 72 h d'inoculation. (Original)

III.1.2.1 Descriptions morphologiques *de Pectobacteruim carotovorum* :

D'après les observations macroscopiques, les colonies typiques ont les caractères décrits ci-après.

- **Sur LEVANE :** les colonies apparaissent après 48 heures, Couleur blanchâtre avec une consistance crémeuse, surface lisse avec bords réguliers ; Forme sont bombées à semi-bombée ; Aspect irisé et translucide ; Diamètre des colonies situé entre 2 à 8 mm ; Certaines d'entre elles dégagent une odeur nauséabonde. (Figure34).

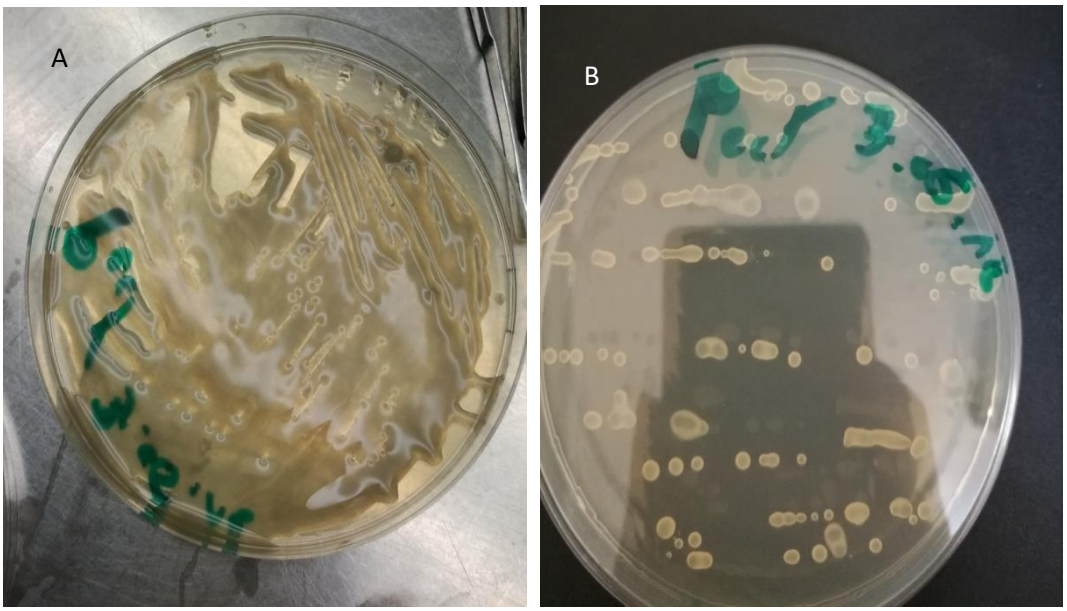


Figure 34: Aspect des colonies **de *Pectobacteruim carotovorum*** sur milieu Levane ; (A) : après 48h d'incubation, (B) : après 2h d'incubation(Original)

III.1.2.2.1 Tests Biochimiques :

❖ **Test à la potasse indicatrice du GRAM :**

Le gram est considéré Positif car il y a pas une formation de filament en soulèvent l'anse. (Figure35)



Figure 35 : Formation de filament en soulèvent l'anse suite au test de potasse (KOH) 3% (Original)

❖ **Test coloration de Gram :**

Les grams de ***Pectobacteruim carotovorum*** se forme de bâtonnet et de couleur violette (Figure36).

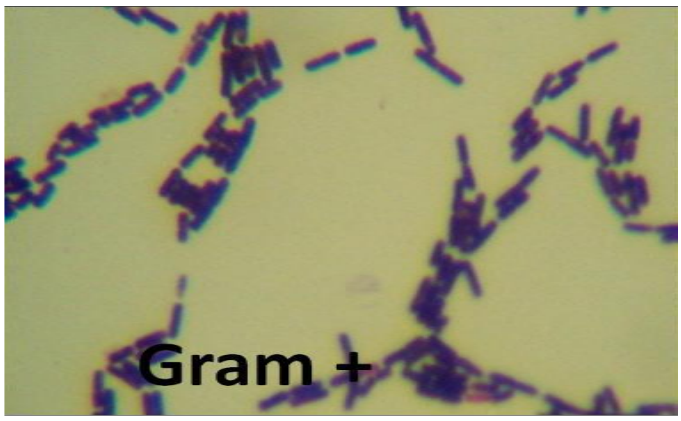


Figure 36: Forme de bâtonnet et de couleur violette suite au test de coloration de Gram+ *Pectobacterum carotovorum.* (Original)

❖ **Test catalase :**

La présence de bulles (Effervescence) révèle le dégagement d'oxygène et par conséquent une réaction positive (Figure 37).

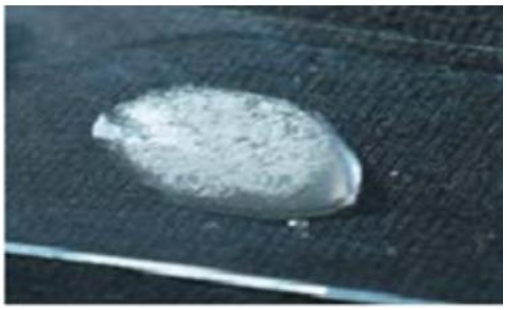


Figure37: Présence de bulles suite au test catalase. (Original)

❖ **Production d'Indole par les bactéries :**

Une réaction positive nous indique qu'il y a eu une production d'indole à partir de tryptophane (un acide aminé) Les résultats obtenus pour la souche à la suite de l'incubation et après l'ajustement des gouttes de réactif de Kovac ne montrent pas la formation d'anneaux rouges sur la surface des tubes. (Figure38).



Figure 38 : Production d'indole par les bactéries. (Original)

Le tableau 9, montre les résultats biochimiques de la bactérie *Pectobacteruim carotovorum*.

Tableau 9 : Résultats des testes biochimique de la bactéries *Pectobacteruim carotovorum* .

Les tests	Gram	Oxydase	catalase	Fermentation	sucrose	indole	Croissance a 35°c
Les résultats	+	-	+	+	-	-	+

+ : réaction positive au test - : réaction négative au test.

III. 1.2.2.2 Test biologique de la bactérie *Pectobacteruim carotovorum :*

❖ **Test d'hypersensibilité sur tabac :**

Pectobacteruim carotovorum induit une réaction d'hypersensibilité (RH) chez les plantes non hôte ou résistance comme le tabac (Figure 39).

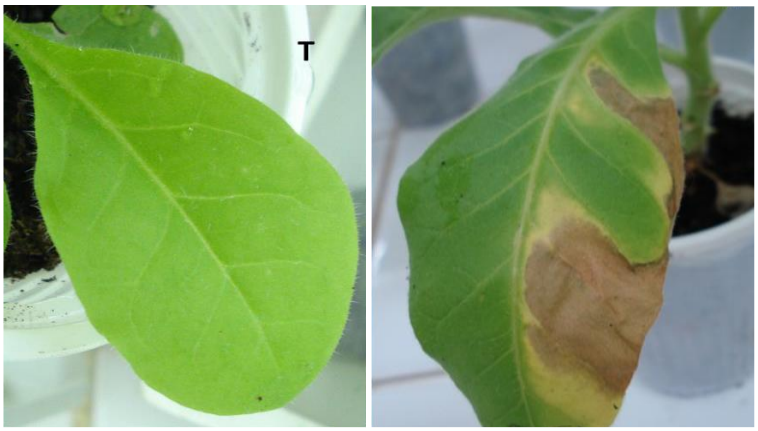


Figure39 : Réaction d'hypersensibilité sur feuilles de tabac 72 h après l'inoculation (Original)

III.1.3 Etude de l'effet antagoniste in vitro d'huile essentiel de *Laurus nobilis* et caractères organoleptique :

III.1.3.1 Rendement en huile essentielles de *Laurus nobilis* et caractères organoleptique :

L'extraction des huiles essentielles de ***Laurus nobilis L*** a permis d'obtenir un rendement en huile essentielle des feuilles compris entre 0,5 et 1, 5%.

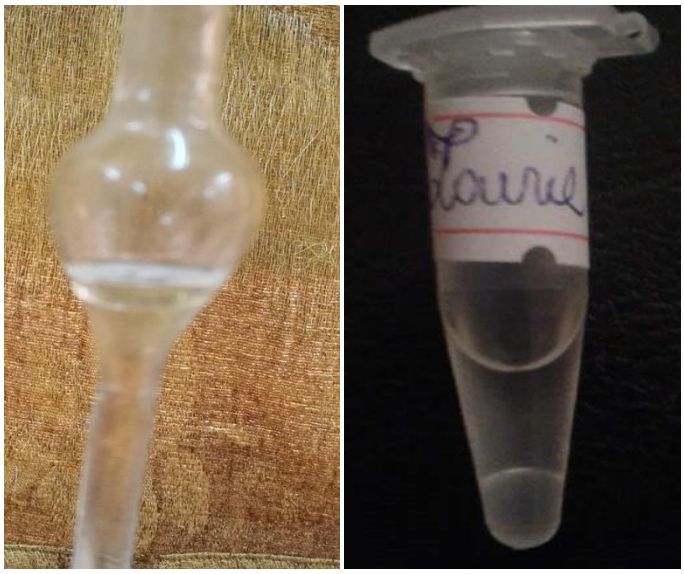


Figure 40 : Huile essentiel de ***Laurus nobilis L***(Original)

Tableau10 : Les critères des huiles essentielles de *L.nobilis*

Origine d'huile essentielle	Couleur	Odeur	Aspect
Laurus nobilis	Transparente	Forte odeur	Liquide

III. 1.3.2 Evaluation de l'activité d'huile essentielle *Laurus nobilis* L sur la bactérie d'*Erwinia amylovora* :

L'étude *in vitro* de pouvoir antibactérien des HE de *L. noblus* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (LEVANE), a montré que l'huile essentielle de *L. nobilis* présent un effet positif sur la souche bactérienne étudiées (Tableau 11), avec des zones d'inhibition de 7,7 mm, 9mm et 6,6 mm respectivement pour les différentes concentrations C1, C2, C3.

Tableau 11 : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions d'huile essentielle *L.nobilis* pour *Erwinia amylovora*.

Dilution	C1=100%	C2=50%	C3=25%	Témoin
Zone d'inhibition	7,7	9	6,6	0
Le dégrée de la résistance.	Souche sensible (+)	Souche sensible (+)	Souche sensible (+)	/

L'activité d'huile essentielle varie d'une concentration à une autre, cette variation peut être observée dans les diamètres des zones d'inhibition qui montre que certaines concentrations sont plus efficaces que d'autres (Figure 41 .42).

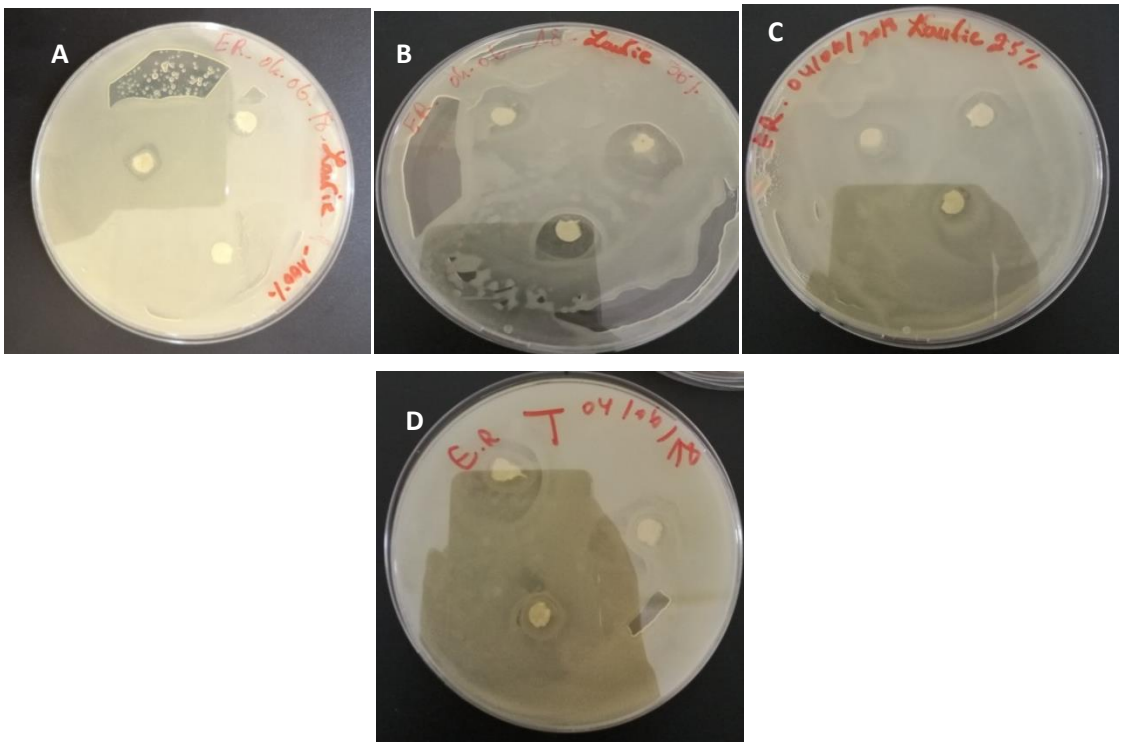


Figure 41 : Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) de l'HE de *Laurus nobilis* et (D=Témoin) sur le développement d' *Erwinia amylovora.*

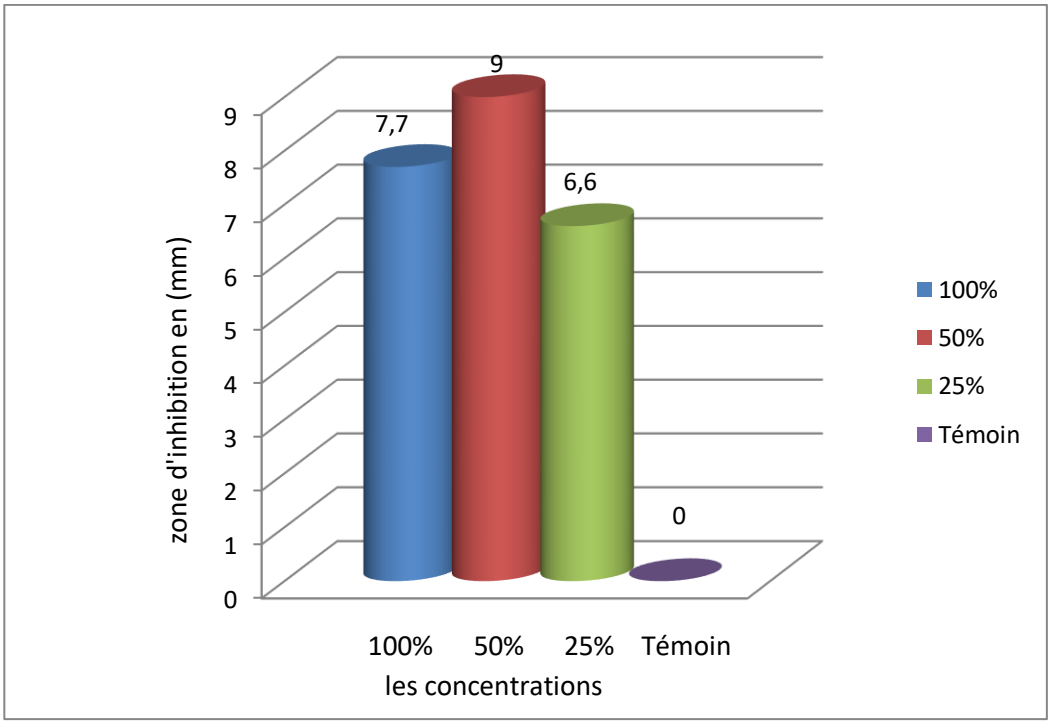


Figure 42 : Effet de déférente concentration (*100%*), (50%), (25%) de l'HE de *Laurus nobilis* et Témoin sur le développement d'*Erwinia amylovora.*

L'étude de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles de *L. nobilis* sur *Erwinia amylovora* montre que ces huiles possèdent une activité antibactérienne surtout pour la concentration (50%).

On peut constater que *Erwinia amylovora* est sensible pour toutes les concentrations de l'huile de Laurie noble.

- **La concentration minimale inhibitrice d'huile de *Laurus nobilis :***

D'après les résultats découverts, la bactérie *Erwinia amylovora* ayant présenté une sensibilité vis-à-vis toutes les dilutions de l'extrait. On marque un diamètre d'inhibition qui variée de 6 à 9 mm, la concentration minimale (CMI) obtenue suite à la dilution de l'extrait est 25%.

III.1.3.3 Evaluation de l'activité d'huile essentielle de *Laurus nobilis L sur la bactérie de Pectobacteruim carotovorum*:

Le tableau n° 12 a montré que l'huile essentielle de *L. nobilis* présent un effet positif sur la souche bactérienne *Pectobacteruim carotovorum* avec les trois concentration, des zones d'inhibition de 7,2 mm, 6 mm et 6 mm respectivement pour les différentes concentrations C1, C2, C3, L'étude *in vitro* de pouvoir antibactérien des HE de *L. nobilis* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (LEVANE),après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°c°.

Tableau 12: Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions d'huile essentielle de *L.nobilis* pour *Pectobacteruim carotovorum*.

Dilution	C1=100%	C2=50%	C3=25%	Témoin
Zone d'inhibition	7,2	6	6	0
Le dégrée de la résistance.	Souche sensible (+)	Souche sensible (+)	Souche sensible (+)	/

L'activité d'huile essentielle varie d'une concentration à une autre, cette variation peut être observée dans les diamètres des zones d'inhibition qui montre que certaines concentrations sont plus efficaces que d'autres. (Figure 43 et 44)

La souche *Pectobacteruim carotovorum* donne un diamètre de 7,9 mm avec C1 et une zone de 6 mm avec C2 et une zone de 6mm avec C3 donc on peut dire que *Pectobacteruim*

carotovorum est sensible pour toutes les concentrations de l'huile de Laurie noble notamment pour la concentration (100 %).

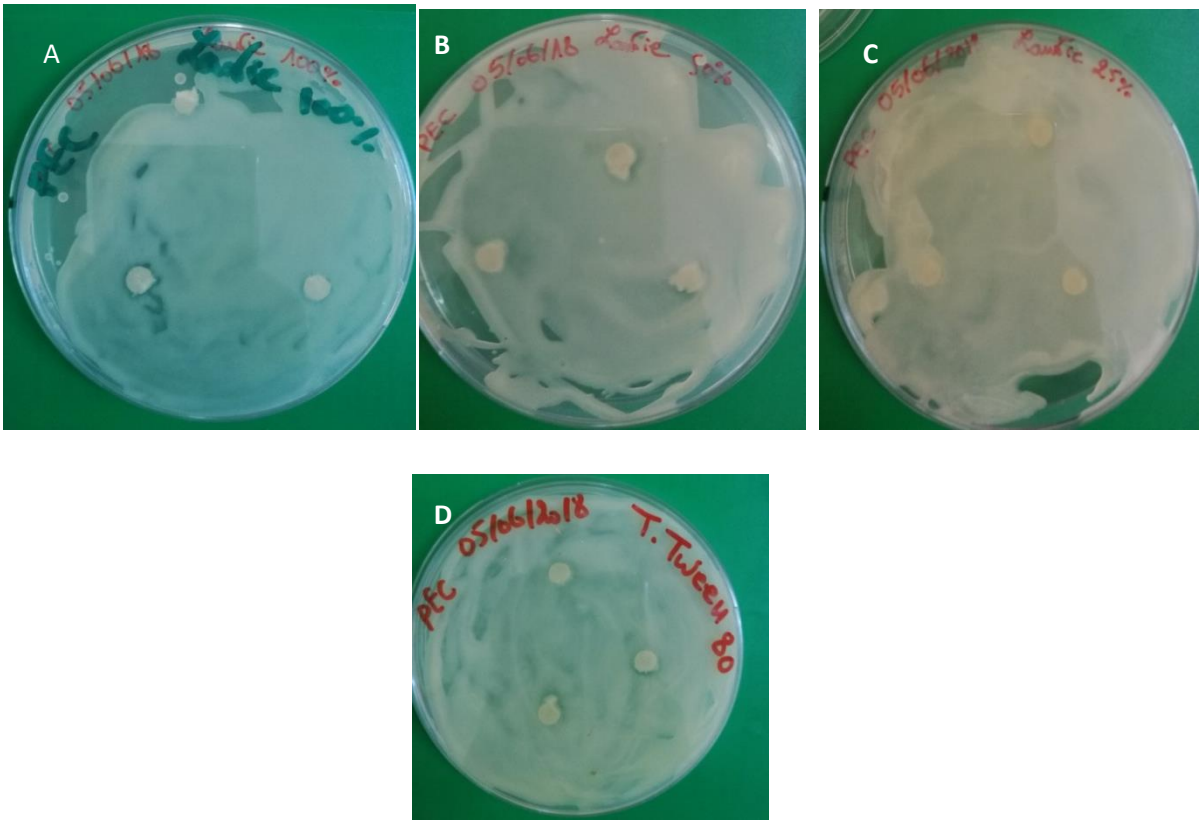


Figure 43 : Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) de l'HE de *L.nobilis* et (D=Témoin) sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum.*

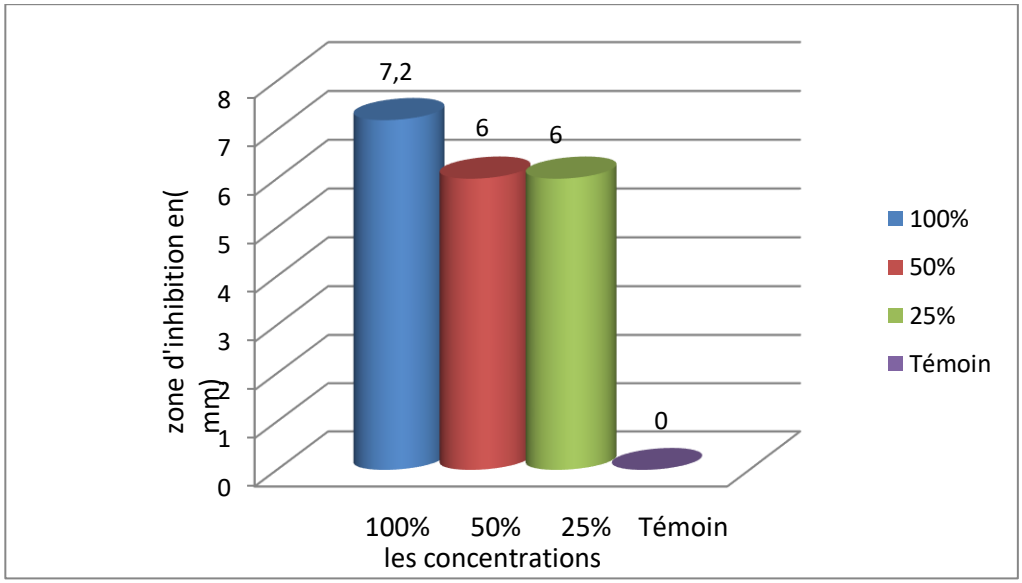


Figure 44: Effet de déférente concentration *(100%)* ,(50%), (25%),de l'HE de *Laurus nobilis* et le Témoin sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum.*

❖ **La concentration minimale inhibitrice d'huile de *Laurus nobilis:***

D'après nos résultats, la bactérie *Pectobacteruim carotovorum* présente une sensibilité vis-à-vis toutes les dilutions de l'extrait de *L.nobilis*. On marque un diamètre d'inhibition qui variée de 6 à 7 mm, la concentration minimale (CMI) obtenue suite à la dilution de l'extrait est 50% et 25%.

III.1.4 Etude de l'effet antagoniste in vitro d'huile essentiel d'*Eucalyptus globulus* sur le développement *d'Erwinia amylovora* :

III.1.4.1 Rendement en huile essentielles *d'Ecalyptus globulus* et caractères organoleptique :

L'extraction des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* a permis d'obtenir un rendement en huile essentielle des feuilles compris 1,17%.



Figure 45 : Huile essentiel ***d'Eucalyptus globulus*** (Original).

Tableau 13 : Les critères des huiles essentielles ***d'E.globulus.***

Origine d'huile essentielle	Couleur	Odeur	Aspect
Eucalyptus globulus	Jaune clair	Forte odeur (agréable)	Liquide limpide

IV.1.4.2 Evaluation de l'activité d'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus sur la bactérie d'Erwinia amylovora*:

La lecture des résultats concernant l'effet de l'activité d'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus sur la bactérie d'Erwinia amylovora*, a montré que l'HE présent un effet positif sur la souche bactérienne étudiées avec des zones d'inhibition de 14,33 mm pour la forte concentration, 10,33 mm pour la concentration moyenne et 7,1 mm pour la faible concentration. (Tableau14)

Tableau 14: Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions d'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus pour Erwinia amylovora*.

Dilution	100%	50%	25%	C 4=Témoin
Zone d'inhibition	14,33	10,33	7,1	0
Le dégrée de la résistance.	Souchetrès sensible(+)	Souche sensible (+)	Souche sensible (+)	/

L'activité d'huile essentielle varie d'une concentration à une autre, cette variation peut être observée dans les diamètres des zones d'inhibition qui montre que certaines concentrations sont plus efficaces que d'autres. (Figure 46 .47)

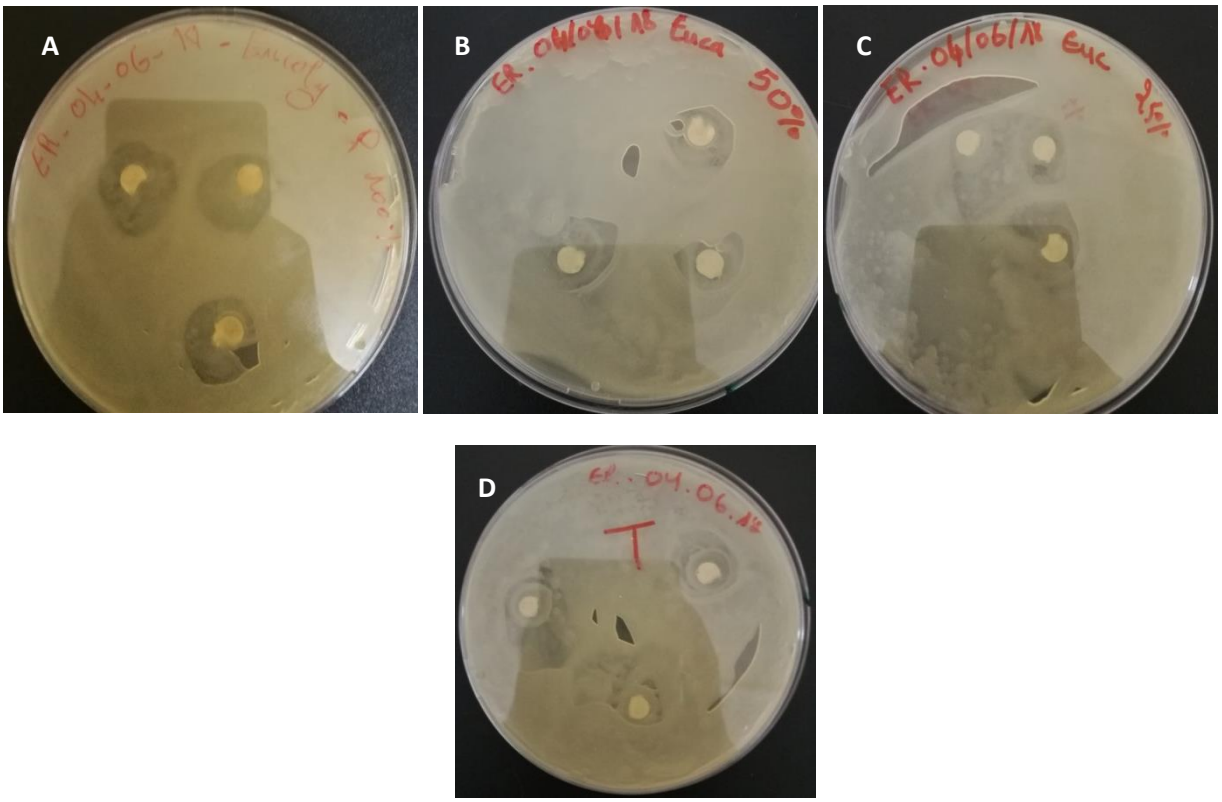


Figure 46 : Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) de l'HE ***d'E.globulus*** et (D=Témoin) sur le développement d' *Erwinia amylovora.*

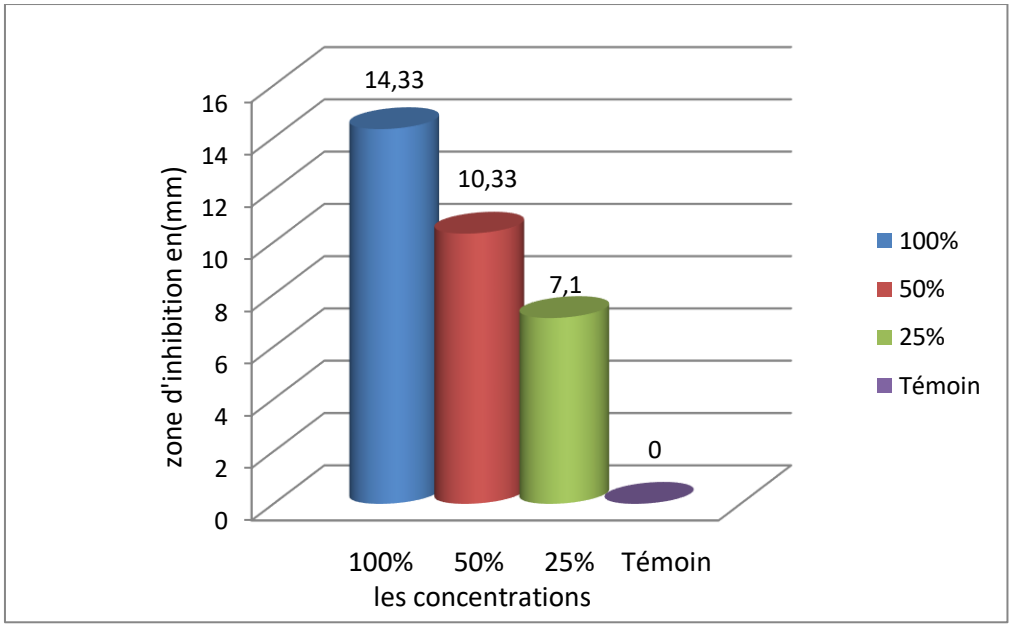


Figure 47: Effet de déférente concentration (*100%)* ,(50%), (25%) de l'HE *d'E.globulus et* Témoin, sur le développement d' *Erwinia amylovora.*

L'étude de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles *d'E.globulus* sur erwinia amylovora montre que ces huiles possèdent une activité antibactérienne surtout pour la concentration pure (100%).

❖ **La concentration minimale inhibitrice d'huile *d'Eucalyptus globulus:***

D'après les résultats enregistrés, la bactérie *Erwinia amylovora* ayant présenté une sensibilité vis-à-vis toutes les dilutions de l'extrait. On a obtenue un diamètre d'inhibition qui variée de 14 à 7 mm, la concentration minimale (CMI) obtenue suite à la dilution de l'extrait est 25%.

III.1.4.3 Evaluation de l'activité d'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus sur la bactérie de Pectobacteruim carotovorum*:

Les résultats de l'effet de l'activité d'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus sur la bactérie de Pectobacteruim carotovorum* sont portés sur le tableau 20 et illustrés par les figures 48 et 49. ont montré que l'huile essentielle *d'E.globulus* présent un effet positif sur la souche bactérienne étudiées avec des zones d'inhibition de 7,9 mm, 6 mm et 7,2 mm respectivement pour les différentes concentrations C1, C2, C3.(Tableau 15)

Tableau 15 : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions d'huile essentielle *d'E.globulus* pour *Pectobacteruim carotovorum.*

Dilution	C1=100%	C2=50%	C3=25%	Témoin
Zone d'inhibition	7,9	6	7,2	0
Le dégrée de la résistance.	Souche sensible (+)	Souche sensible (+)	Souche sensible (+)	

L'activité d'huile essentielle varie d'une concentration à une autre, cette variation peut être observée dans les diamètres des zones d'inhibition qui montre que certaines concentrations sont plus efficaces que d'autres. (Figure 48 ,49)

L'étude de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles *d'E.globulus* sur cette bactérie montre que ces huiles possèdent une activité antibactérienne surtout pour la concentration pure (100%).

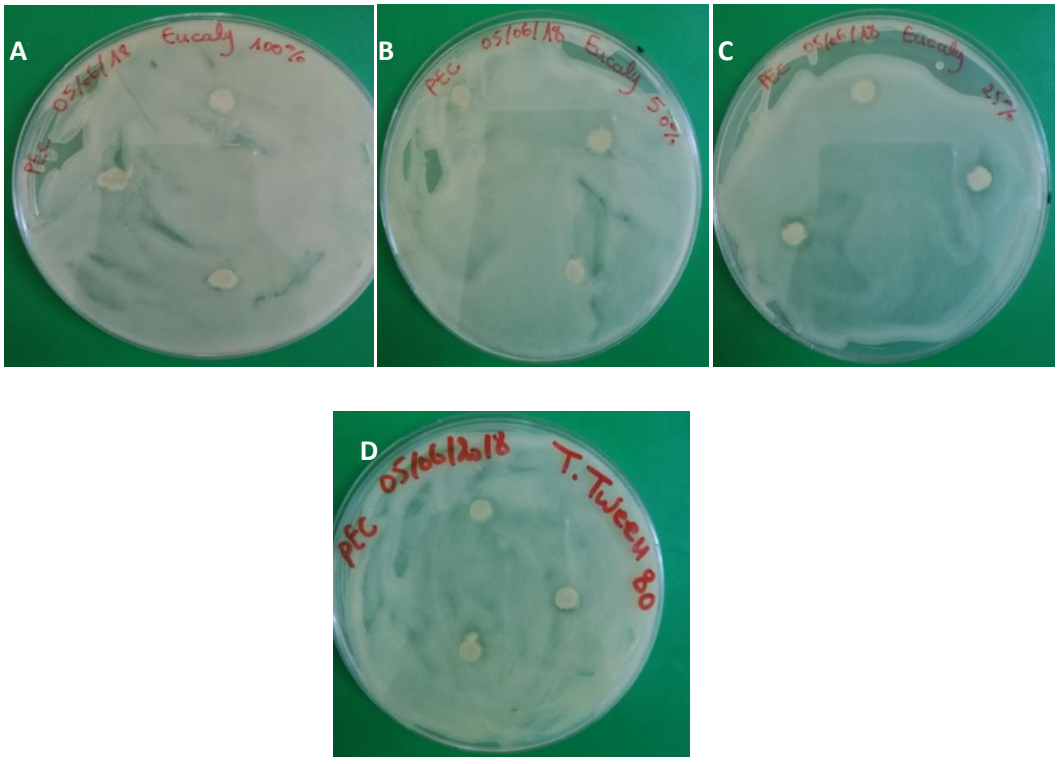


Figure48: Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) l'HE *d'E.globulus* et (D=Témoin) sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum.*

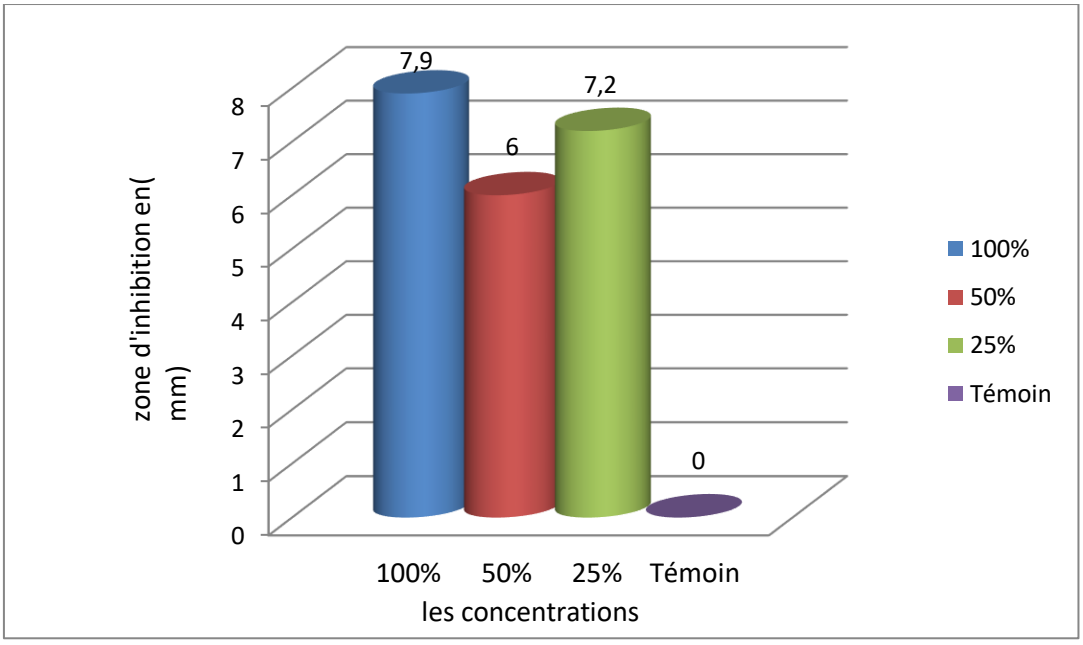


Figure 49 : Effet de déférente concentration (*100%)* ,*(*50%), (25%),de l'HE *d'E.globulus* et Témoin sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum* .

❖ **La concentration minimale inhibitrice d'huile *d'Eucalyptus globulus:***

D'après les résultats enregistrés, la bactérie *Pectobacteruim carotovorum* ayant présenté une sensibilité vis-à-vis toutes les dilutions d'huile *d'Eucalyptus globulus*. Nous avons enregistré un diamètre d'inhibition qui variée de 6 mm à 7 mm, la concentration minimale (CMI) obtenue suite à la dilution de l'extrait est 50%.

III.1.5 Etude de l'effet antagoniste in vitro d'huile essentiel de *Syzygium aromaticum* sur le développement *d'Erwinia amylovora* :

III.1.5.1 Rendement en huile essentielles de *Syzygium aromaticum* et caractères organoleptique :

L'extraction des huiles essentielles *Syzygium aromaticum* a permis d'obtenir un rendement en huile essentielle des feuilles compris 10,60%



Figure 50 : Huile essentiel *Syzygium aromaticum* (Original).

Tableau 16 : Les critères des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum.*

Origine d'huile essentielle	Couleur	Odeur	Aspect
Syzygium aromaticum	Jaune clair	Forte odeur	Liquide limpide

III.1.5.2 Evaluation de l'activité d'huile essentielle *Syzygium aromaticum sur la bactérie d'Erwinia amylovora* :

L'étude *in vitro* de pouvoir antibactérien des HE de *Syzygium aromaticum* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (LEVANE),après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°c, a montré que l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* présent un effet positif sur la souche bactérienne étudiées avec des zones d'inhibition de 8 mm, 8 ,6 mm et 8,9 mm respectivement pour les différentes concentrations C1, C2, C3 (Tableau17)

Tableau 17: Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions de huile essentielle de *Syzygium aromaticum* pour *Erwinia amylovora.*

Dilution	100%	50%	25%	Témoin
Zone d'inhibition	8	8,6	8,9	0
Le dégrée de la résistance.	Souche sensible(+)	Souche sensible (+)	Souche sensible (+)	/

L'activité d'huile essentielle varie d'une concentration à une autre, cette variation peut être observée dans les diamètres des zones d'inhibition qui montre que certaines concentrations sont plus efficaces que d'autres. (Figure 51,52)

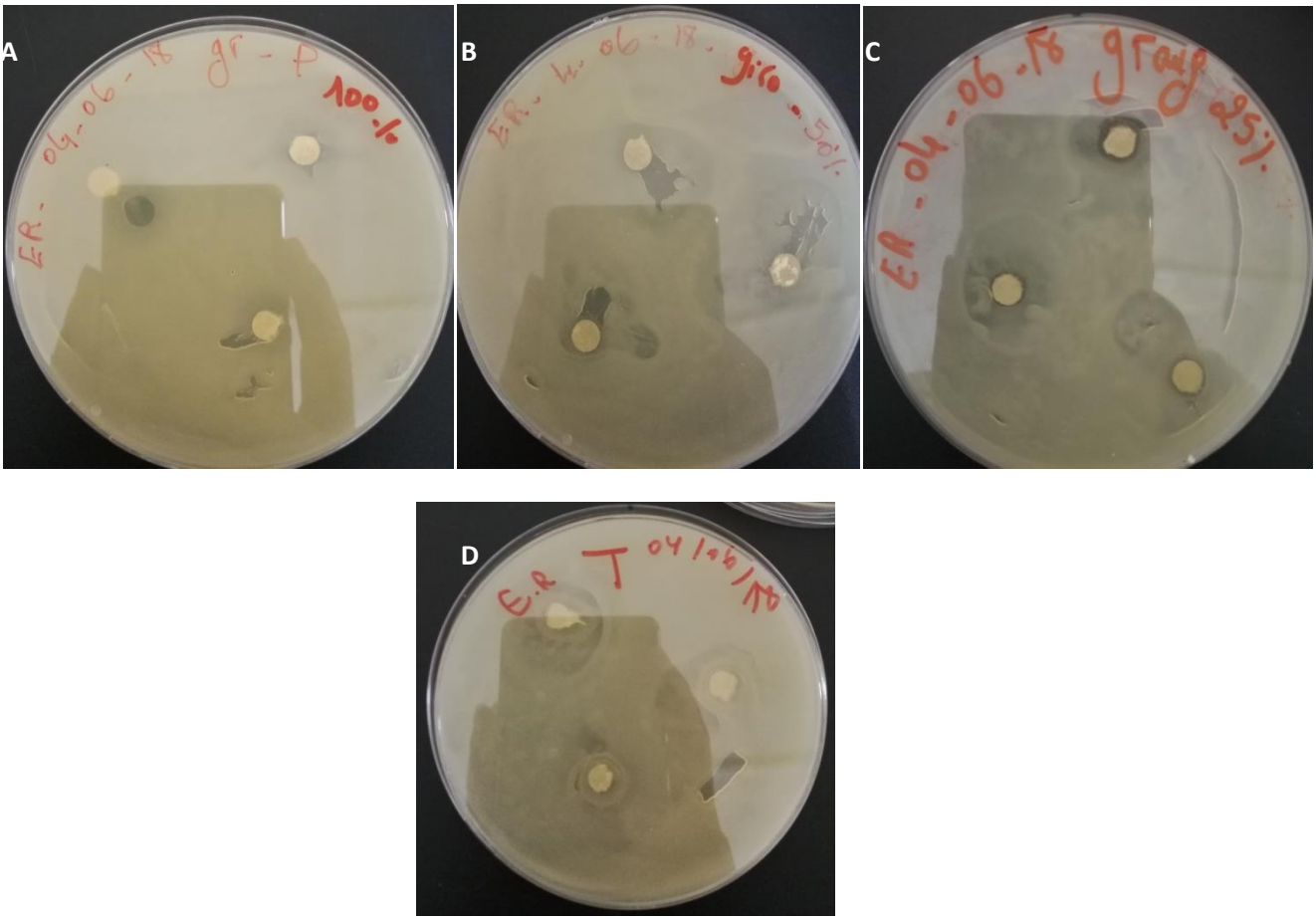


Figure 51 : Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) de l'HE de *Syzygium aromaticum* et (D=Témoin) sur le développement d' *Erwinia amylovora.*

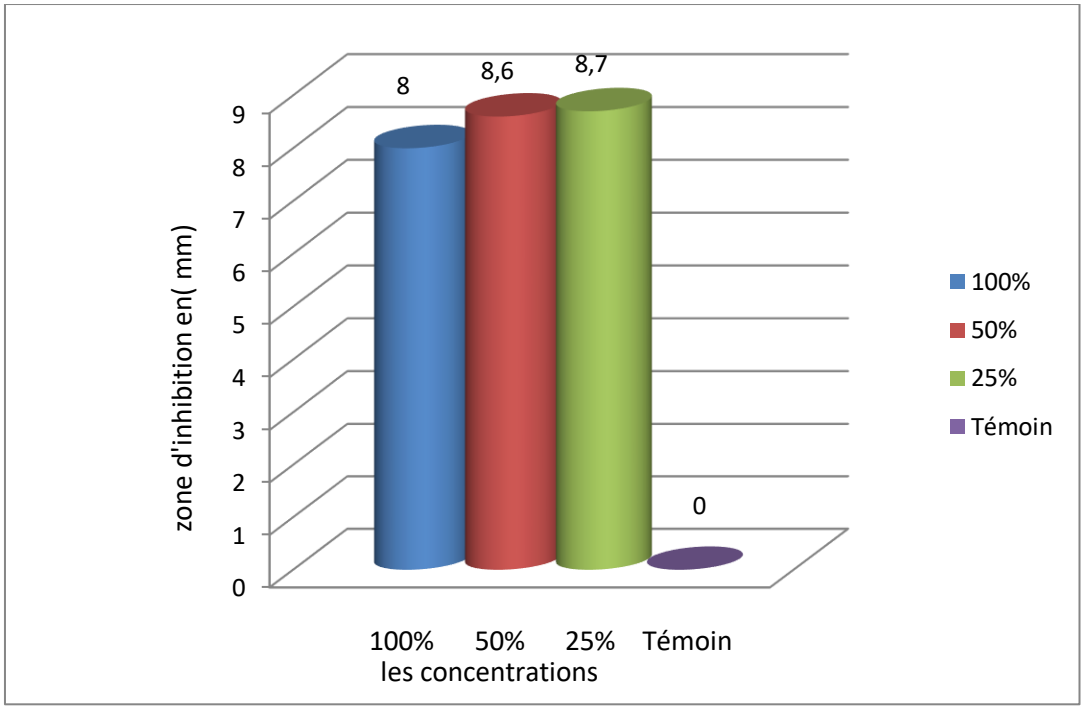


Figure 52 : Effet de déférente concentration (*100%) ,(*50%), (25%) de l'HE de *Syzygium aromaticum* et Témoin sur le développement d' *Erwinia amylovora.*

La souche *Erwinia amylovora* donnée un diamètre de 8 mm avec C1 et une zone de 8,6 mm avec C2 et une zone de 8,7 mm avec C3 donc on peut constater que *Erwinia amylovora* est sensible pour toutes les concentrations de l'huile de giroflier.

L'étude de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles *de S.aromaticum* sur cette bactérie montre que ces huiles possèdent une activité antibactérienne surtout pour la concentration pure (25%).

❖ **La concentration minimale inhibitrice d'huile de *Syzygium aromaticum:***

D'après les résultats enregistrés, la bactérie *Erwinia amylovora* ayant présenté une sensibilité vis-à-vis toutes les dilutions de l'extrait. On marque un diamètre de la zone d'inhibition de 8 mm, la concentration minimale (CMI) obtenue suite à la dilution de l'extrait est 100 %.

III.1.5.3 Evaluation de l'activité d'huile essentielle *Syzygium aromaticum sur la bactérie de Pectobacteruim carotovorum*:

Nous avons constaté d'après l'étude *in vitro* de pouvoir antibactérien des HE de *Syzygium aromaticum* que l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* présent un effet positif sur la

Pectobacteruim carotovorum avec des zones d'inhibition pour les différentes concentrations C1, C2, C3 (Tableau18)

Tableau 18: Diamètre (mm) des zones d'inhibition des dilutions de huile essentielle *Syzygium aromaticum* pour *Pectobacteruim carotovorum*.

Dilution	100%	50%	25%	C 4=Témoin
Zone d'inhibition	9,1	6,4	6,1	0
Le dégrée de la résistance.	Souche sensible(+)	Souche sensible (+)	Souche sensible (+)	/

L'activité d'huile essentielle varie d'une concentration à une autre, cette variation peut être observée dans les diamètres des zones d'inhibition qui montre que certaines concentrations sont plus efficaces que d'autres. (Figure 53 et 54)

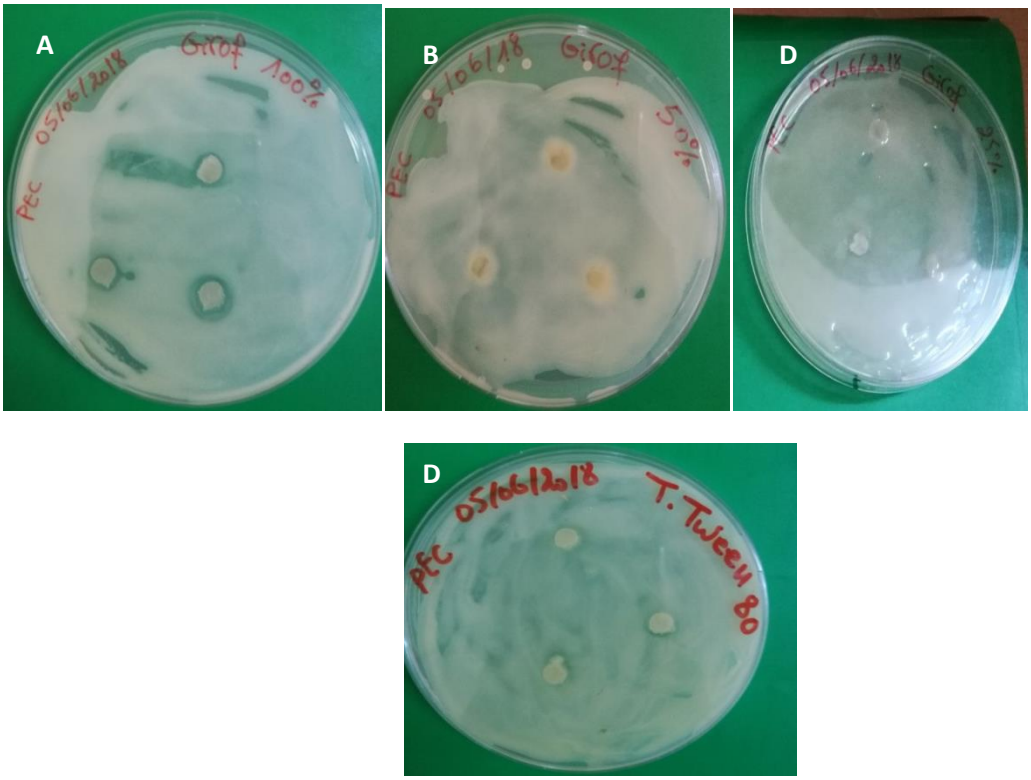


Figure 53 : Effet de déférente concentration *(*A=100%), (B=50%), (C=25%) de l'HE de *Syzygium aromaticum* et (D=Témoin) sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum*

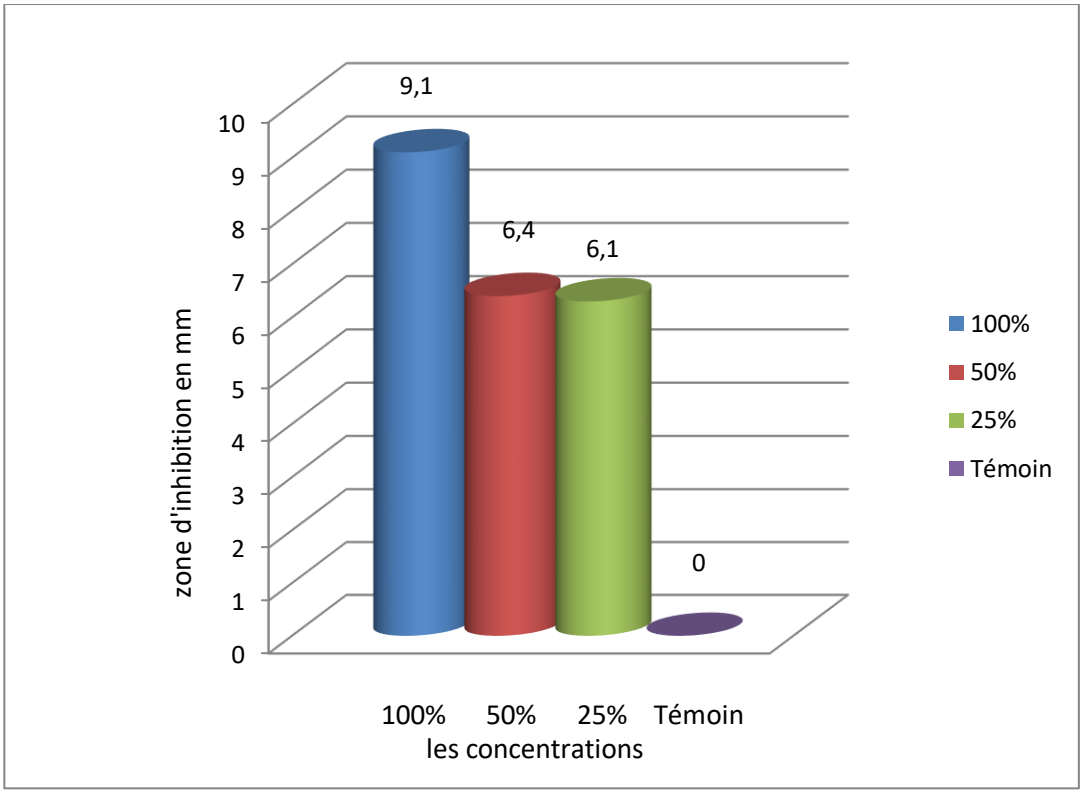


Figure 54 : Effet de déférente concentration *(*100%), (50%), (25%) de l'HE de *Syzygium aromaticum* et C4=Témoin sur le développement de *Pectobacteruim carotovorum.*

La souche *Pectobacteruim carotovorum* donne un diamètre de 9,1 mm avec C1 et une zone de 6,4 mm avec C2 et une zone de 6,1 mm avec C3 donc on peut constater que *Pectobacteruim carotovorum.* est sensible pour toutes les concentrations de l'huile de giroflier.

L'étude de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles *de S.aromaticum* sur cette bactérie montre que ces huiles possèdent une activité antibactérienne surtout pour la concentration pure (100%).

❖ **La concentration minimale inhibitrice d'huile de *Syzygium aromaticum:***

Selon nos résultats , la bactérie *Pectobacteruim carotovorum.* a présenté une sensibilité vis-à-vis toutes les dilutions de l'extrait. On marque un diamètre d'inhibition de 9 mm a 6 mm, la concentration minimale (CMI) obtenue suite à la dilution de l'extrait est 100 %.

III.1.6 Comparaison entre l'effet antibactérien des huiles essentielles de *L. nobilis, E. globulus* et *S. aromaticum* sur *E. amylovora* et *P. carotovarum.* :

Le tableau 19, comparatif des activités antibactérienne des HEs de *L. nobilis, E. globulus* et *S. aromaticum* sur *E. amylovora* et *P. carotovar.* a montré que l'*Eucalyptus globulus* présente une activité plus importante sur l'*E. amylovora* par l'application de la dose la plus élevé C1 avec une zone d'inhibition de 14.33mm et la moyenne dose C2 avec une des zone d'inhibition de 10.33mm. Alors que pour l'activité la plus faible est enregistrée chez *P. carotovorum* par l'application de C2 et C3 de *L. nobilis* et par l'application de la moyenne dose C2 de *L. nobilis* et *E. globulus* soit 6mm.

Pour *Erwinia amylovora,* la plante la plus efficace est l'*Eucalyptus globulus* avec une diamètre d'inhibition de 14,33 mm pour C1=100% et 10 ,33 pour C2=50% suivi par *Laurus nobilis* et *Syzygium aromaticum* avec une zone d'inhibition respectivement 9mm et 8.6 pour la moyenne dose C2. Alors que pour *Pectobacterium carotovarum,* la plante la plus efficace est *Syzygium aromaticum* suivi par *Eucalyptus globulus* et en 3ème position *Laurus nobilis* avec des zones d'inhibition respectivement 9.1mm, 7.9mm et 7.2mm pour C1.

Tableau 19 : Tableau comparatif entre l'activité antibactérienne des HE de *L. nobilis, E. globulus* et *S. aromaticum* sur *E. amylovora* et *P. carotovarum.*

Les HEs	*Laurus nobilis*			*Eucalyptus globulus*			*Syzygium aromaticum*		
	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
Erwinia amylovora	7.7	9	6 .6	14.33	10.33	7.1	8	8,6	8.7
Pectobacterium Carotovarum	7,2	6	6	7.9	6	7,2	9,1	6.4	6.1

III.1.7 Analyse statistique :

A. Analyse de la variance (ANOVA)

L'analyse de la variance est basée sur le test de Tukey réalisée par le logiciel [XL STAT (2016)].

B. Effet de HE de *E. globulus , L. nobilis et S. aromaticum sur Erwinia amylovora*.

Le R^2 (coefficient de détermination) donne une idée du pourcentage de variable à modéliser et expliquer par les variables explicatives. Plus ce coefficient est proche de 1, meilleur est le modèle. Dans notre cas, 77,5 % de la variabilité est expliquée par les doses. Le reste de la variabilité est explicable par des effets qui ne sont ni recensés, ni mesurés dans cette analyse. (Tableau 20)

Tableau 20 : Coefficients d'ajustement (les huiles essentielles d'*E.globulus, S. aromaticum, L. nobilis sur Erwina amylovora*…)

R (coefficient de corrélation)	0,880
R^2 (coefficient de détermination)	0,775
R^2aj. (coefficient de détermination ajusté)	0,668
SCR (somme des carrées résiduels)	72,420

Le test de F de Fisher est utilisé étant donné que la probabilité associée au F est dans ce cas (Pr = 0.000). Cela signifie que l'on prend un risque de 0.00 % en concluant que la différence est très hautement significative. (Tableau 21)

Tableau 21: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables [H_0 = Y = Moy(Y)]. (les huiles essentielles d'*E. globulus, S. aromaticum, L. nobilis sur Erwina amylovora…)*

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	9	249,310	27,701	7,268	0,000
Résidus	19	72,420	3,812		
Total	28	321,730			

Le teste de Tukey va nous permettre de répondre à notre question initiale : y a-t-il une différence significative entre les doses si oui, comment peut-on les classer ? Le test de Tukey est appliqué à l'ensemble des couples de différence possible (comparaison des moyennes deux à deux) montre aucune différence non significative (Tableau 22).

Tableau 22 : Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance de 95,00% (les huiles essentielles d'*E. globulus, S. aromaticum, L. nobilis* sur *Erwina amylovora*…)

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. >Diff	Significatif
Euca ~ Tém	9,538	7,216	2,812	0,000	Oui
Euca ~ Laur	1,660	1,750	2,812	0,327	Non
Euca ~ Sys	1,538	1,621	2,812	0,391	Non
Sys ~ Tém	8,000	6,147	2,812	< 0,0001	Oui
Sys ~ Laur	0,122	0,133	2,812	0,999	Non
Laur ~ Tém	7,878	6,053	2,812	< 0,0001	Oui

C. Effet des HE d'*E. globulus , L. nobilis* et *S. aromaticum* sur *P. carotovorum*

Le R^2 (coefficient de détermination) donne une idée du pourcentage de variable à modéliser et expliquer par les variables explicatives. Plus ce coefficient est proche de 1, meilleur est le modèle. Dans notre cas, 77,5 % de la variabilité est expliquée par les doses. Le reste de la variabilité est explicable par des effets qui ne sont ni recensés, ni mesurés dans cette analyse (Tableau 23).

Tableau 23 : Coefficients d'ajustement (les huiles essentielles d'*E.globulus, S. aromaticum, L. nobilis sur P. carotovorum)*

R (coefficient de corrélation)	0,981
R^2 (coefficient de détermination)	0,962
R^2aj. (coefficient de détermination ajusté)	0,944
SCR (somme des carrées résiduels)	5,598

Le test de F de Fisher est utilisé étant donné que la probabilité associée au F est dans ce cas (Pr < 0.0001). Cela signifie que l'on prend un risque de 0.0001 % en concluant que la différence est très hautement significative (Tableau 24).

Tableau 24: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables (H0 = Y=Moy(Y)) (les huiles essentielles d'*E. globulus, S. aromaticum, L. nobilis sur Pectobacterium sp)*

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	9	142,289	15,810	53,656	< 0,0001
Résidus	19	5,598	0,295		
Total	28	147,887			

Le teste de Tukey va nous permettre de répondre à notre question initiale : y a-t-il une différence significative entre les doses si oui, comment peut-on les classer ? Le test de Tukey est appliqué à l'ensemble des couples de différence possible (comparaison des moyennes deux à deux) (Tableau 25)

Tableau 25 : Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (les huiles essentielles *d' E. globulus, S. aromaticum, L. nobilis sur Pectobacterium sp …*) :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
Sys ~ tém.	7,311	20,203	2,812	< 0,0001	Oui
Sys ~ Laur	1,133	4,429	2,812	0,002	Oui
Sys ~ Eucal	0,699	2,649	2,812	0,069	Non
Eucal ~ tém	6,613	17,994	2,812	< 0,0001	Oui
Eucal ~ Laur	0,435	1,648	2,812	0,377	Non
Laur ~ tém	6,178	17,071	2,812	< 0,0001	Oui

III.2 DISCUSSION GENERALE :

III.2.1 Identification des isolats d'*Erwinia amylovora* :

La série des tests, biochimiques et biologiques que nous avons employés lors de cette étude nous ont renseignés sur les profils des bactéries isolées et sur certaines caractéristiques de leurs métabolismes.

Après la culture pure de bactérie de chaque isolat, des tests d'identification des espèces pour *Erwinia amylovora* : GRAM, oxydation/Fermentation, production du levain, utilisation d'indole. Ces propriétés phénotypiques qui sont universellement présentes ou absentes chez l'espèce d*'E.amylovora* **(Paulin, 2000).**

III.2.2 Identification des isolats de *Pectobacétruim carotovorum* :

Les tests, biochimiques et biologiques réalisés ont montré les profils des bactéries isolées et sur certaines caractéristiques de leur métabolisme.

Les profils des caractéristiques biochimiques des souches bactériennes affiliées aux *Pectobacétruim carotovorum* sont variables selon les biovars. Ces résultats concordent avec ceux des travaux de (**BOER, 1986**)

III.2.3 Rendement des huiles essentielles :

3.2.3.1 Rendement des huiles essentielles de *Laurus nobilis L :*

L'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis L* a permis d'obtenir un rendement en huile essentielle des feuilles compris entre 0,5 et 1, 5%. Ces taux enregistrés sont supérieurs à ceux obtenus par **Richard en 1992** (0,5 à 1%) et **Plaque en 1997** (1%) pour les feuilles de la même espèce qui sont récoltées de différentes régions européennes, mais proches à ceux de **Chaouche et al. (2011)** qui ont trouvé un rendement de 1,80 % lors de sont étude en Algérie.

3.2.3.2 Rendement des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus :*

La plante *Eucalyptus globulus* a fourni un taux d'environ 1,17 % plus élevé que celui obtenu de la même espèce de part de **Modeste et al., (2014)** qui est de 1%. Divers facteurs tels que l'espèce, la période de récolte, l'âge de la plante, la partie soumise à la distillation et la technique d'extraction peuvent influencer sur le rendement (**Zrira et Benjilali, 1991; Zrira et Benjilali, 1992**). Concernant ce dernier, Les travaux qui ont été effectués par **Portugal et *al* ., (2002)** ont montré que le rendement en huile essentielle atteint son maximum pendant la phase de floraison (0,9 à 1,4%) et son minimum pendant la période de dormance (0,15%).

3.2.3.3 Rendement des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* :

Pour l'HE de *Syzygium aromaticum*, le rendement obtenus par hydrodistillation est de 10,60%, ceci est en désaccord avec les travaux de **Wenqiang, Shufen et al., (2006**) qui ont rapporté un rendement de 11,50 %. Cette différence de rendement peut être attribuée à plusieurs facteurs dont essentiellement, l'origine, l'espèce, la période de récolte, la durée de séchage et la technique d'extraction des huiles essentielles (**Russo et al. (1998) ; Van Damme (2001) ; Karousou et al.(2005) ; Loziene et al. (2005) ; Pibiri (2005) et Curado et al. (2006)**.

En effet, plusieurs auteurs (**Pellecuer et *al* .,1980 ; Gergis et *al*.,1990 ; Panizzi .,1993 ; Sivropoulou et *al*., 1996 ; Trombetta et *al*., 2002 ; Satrani et *al*.,2008**) ont montré que les huiles essentielles sont riches en dérivés phénoliques (carvacrol et thymol) qui possèdent une forte activité antimicrobienne.

III.2.4 Effet d'huiles essentiel sur *Erwinia amylovora* et *Pectobacteruim carotovorum* :

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien d'huile essentielle du *L. noblus ; E. globulus et S. aromaticum* vis-à-vis les bactéries testées.

BOUBRIT et BOUSSAD (2007) , ont montré que l'huile essentielle d'Eucalyptus à l'état pure présente une activité antimicrobienne relativement moyenne soit un diamètre de la zone d'inhibition de 11,7 mm vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* qui sont en désaccord avec nos résultats car nous avons obtenue un diamètre de zone d'inhibition qui variée de 14 à 7 mm pour *Erwinia amylovora* et un diamètre de zone d'inhibition de 6 mm à 7 mm pour la *Pectobacterium carotovorum*

D'après les mêmes auteurs, l'huile de clou de girofle a un effet très large sur plusieurs bactéries. *Staphylococcus aureus* est sensible soit un diamètre de zone d'inhibition de 10,29 mm. *Escherchia. Coli, Salmonella paratyphi , Shigella flexneri, Bacillus cereus* sont respectivement sensibles avec des diamètres de zone d'inhibition qui est de 16,3 mm 12,47mm, 12,41mm et 15,34 mm. D'après notre expérimentation nous avons remarqué que la bactérie *Erwinia amylovora* est sensible avec une zone d'inhibition d'un diamètre de 8 mm et un diamètre de la zone d'inhibition 6 a 9 mm pour la bactérie *Pectobactéruim carotovorum.*

Les résultats obtenus dans notre étude concordent aussi avec ceux par **Bennadja & *al.* (2013) et Moghtader & *al.* (2013)** ont démontré l'efficacité de l'HE du Laurier issu de la province du Kerman (Iran) sur plusieurs souches de Gram- et Gram +. Ils ont enregistrées des zones d'inhibition de croissance de 29, 26 et 18 mm sur *S. aureus, S. epidermidis* et *S. faecalis*, respectivement. Egalement, 24, 27, 21, 18, 26 et 28mm sur des bactéries de Gram + ou - qui sont *P. aeruginosa, S. flexneri, K. pneumoniae, S. typhi, S. marcescens* et *E. coli*.

L'effet de l'huile essentielle de *L. nobilis* sur les souches bactériennes était supérieur à celui de la bactérie *Erwinia amylovora* et également supérieur aux valeurs retrouvées dans nos résultats de la bactérie *Pectobacteruim carotovorum*.

De même, l'HE du laurier du Portugal présente une forte activité antibactérienne contre toute détérioration d'origine alimentaire et bactéries pathogènes (**Ramos et al., 2012).**

Le *L.nobilis* s'est montré actif contre toutes les bactéries testées avec une sensibilité prononcée pour *S. aureus* et *P. vulgaris*. Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont la réputation d'être des germes résistants aux agents biocides, cela est lié à leur grande capacité à développer des résistances vis-à-vis de nombreux agents antimicrobiens, leur implication fréquente dans les infections nosocomiales (**Mann et al., 2000**).

Plusieurs auteurs rapportent la faible sensibilité des souches de *P.aeruginosa* vis-à-vis des huiles essentielles, notamment celles de *L. nobilis*, *O. basilicum* et *R. officinalis* **(Moghaddam et al., 2011 ; Pintore et al., 2002, Dorman et al., 2000, Wilkinson et al., 2003).**

Delaquis et *al*, (2002) ont estimé que l'activité antimicrobienne de certaines HEs pourrait être attribuée à la présence des composés mineurs présents à de faibles taux non négligeables tel que carvacrol, myrthénal et géraniol. Connus pour exhiber une activité antibactérienne dans les phénomènes de synergie entre les différents constituants qui peuvent être à l'origine d'une prévisibles par les composés majoritaires.

دراسة تأثير الزيوت العطرية لثلاث نباتات على سلالتين بكتيرية
Pectobacteruim carotovorum* و *Erwinia amylovora

الملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من الزيوت الأساسية من لثلاثة نباتات مع ثلاث تركيزات لكل نبتة (تركيز 1=100%,تركيز 2=50%تركيز,3=25%) : *Eucalyptus globulus, Syzggium aromaticum Laurus nobilis*

استخراج *الزيوت من Laurus nobilis* سمح بالحصول على عائد يتراوح مابين 0,5 و1,5%وعائد1.17.% بالنسبة الى *Eucalyptus globulus* و*10.60 %بالنسبة* الى *Syzggium aromaticum*.

أظهرت الدراسة أن فعالية الزيوت الأساسية تختلف من نبات إلى آخر ومن تركيز إلى آخر ، وتكشف الدراسة ان *Eucalyptus globulus* لديه نشاط أكبر على *Erwinia amylovora* بتطبيق اعلى تركيز (تركيز1) مع منطقة تثبيط 14.33مم والتركيز المتوسط (تركيز2)بمنطقة تثبيط 10.33مم.

بينما يتم تسجيل اقل نشاط بالنسبة *P. carotovorum* بتطبيق تركيز 2و3بالنسبة الى *Laurus nobilis* وتطبيق التركيز المتوسط بالنسبة الى *(*تركيز 2)*من Laurus nobilis* و*Eucalyptus globulus*هو *6مم*

الكلمات المفتاحية : الزيوت الاساسية ,*Eucalyptus globulus, Syzggium aromaticum, Laurus nobilis*,
النشاط المضاد للبيكتيريا,المكافحة البيولوجية .

Etude de l'effet des huiles essentielles de trois plantes sur deux souches bactériennes *Erwinia amylovora* et *Pectobacteruim carotovorum.*

Résumé :

Cette étude a pour objectif d'évaluer au laboratoire l'activité anti-bactérienne des huiles essentielles des trois plantes et avec trois concentrations pour chaque plante (C1=100%, C2=50% et C3=25%) : *Eucalyptus globulus*, *Syzggium aromaticum* et *Laurus nobilis* par la méthode de diffusion sur milieu gélosé sur deux souches bactérienne : *Erwinia amylovora* et *Pectobacteruim carotovorum*.

L'extraction des huiles essentielles de ***Laurus nobilis L*** a permis d'obtenir un rendement en H.E compris entre 0,5 et 1,5%, 1,17% pour l'*Eucalyptus globulus* et un rendement de 10,60% pour *Syzygium aromaticum*.

L'étude a montré que l'efficacité des huiles essentielles varie d'une plante à l'autre et d'une concentration à l'autre, l'étude révèle que l'*Eucalyptus globulus* présente une activité plus importante sur l'*E. amylovora* par l'application de la dose la plus élevé C1 avec une zone d'inhibition de 14.33mm et la moyenne dose C2 avec une des zone d'inhibition de 10.33mm. Alors que pour l'activité la plus faible est enregistrée chez *P. carotovorum* par l'application de C2 et C3 de *L. nobilis* et par l'application de la moyenne dose C2 de *L. nobilis* et *E. globulus* soit 6mm.

Mots clés : huile essentielle, *Eucalyptus globulus, Syzggium aromaticum, Laurus nobilis,* activité antibacterienne, lutte biologique.

Study of the effect of the essential oils of three plants on two bacterial strains *Erwinia amylovora* and *Pectobacteruim carotovorum*.

Abstract :

The objective of this study is to evaluate in the laboratory the antibacterial activity of the essential oils of the three plants and with three concentrations for each plant (C1 = 100%, C2 = 50% and C3 = 25%): Eucalyptus globulus, Syzggium aromaticum and Laurus nobilis by the hydrodistillation method on two bacterial strains: Erwinia amylovora and Pectobacteruim carotovorum. Extraction of the essential oils of Laurus nobilis L made it possible to obtain an HE yield of between 0.5 and 1.5%, 1.17% for Eucalyptus globulus and a yield of 10.60% for Syzygium aromaticum. . The study showed that the effectiveness of essential oils varies from one plant to another and from one concentration to another, the study reveals that Eucalyptus globulus has a greater activity on E. amylovora by the application of the highest dose C1 with an inhibition zone of 14.33mm and the average dose C2 with a zone of inhibition of 10.33mm. While for the lowest activity is recorded in P. carotovorum by the application of C2 and C3 L. nobilis and the application of the average dose C2 of L. nobilis and E. globulus is 6mm.

Key words : essential oil, *Eucalyptus globulus*, *Syzggium aromaticum*, *Laurus nobilis*, antibacterial activity, biological control.

I.1- Généralité sur les huiles essentielles:

I.1.1. Les huiles essentielles :

On appelle huiles essentielles (ou parfois essence végétale) le liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques volatiles d'une plante. Elles sont obtenues par distillation ou extraction chimique, par solvant (eau, alcool). Contrairement à ce que suppose la dénomination, ces extraits ne sont pas forcément huileux **(Paris, 1981 in Lahrech, 2010).**

I.1.2 Répartition et localisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles. **(Bruneton, 1993).** Ces huiles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs (rose, jasmin), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorce (cassia, cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vétiver), rhizomes (acore), fruits (badiane, citron), ou grains (carvi) **(Hernandez-Ochoa, 2005)**

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. On distingue des cellules à huiles essentielles chez les lauracées, des poils sécréteurs chez les lamiacées, des poches sécrétrices chez les myrtacées et les rutacées et les canaux sécréteurs chez les opiacées ou des astéracées **(Bruneton, 1993). (**Figure1)

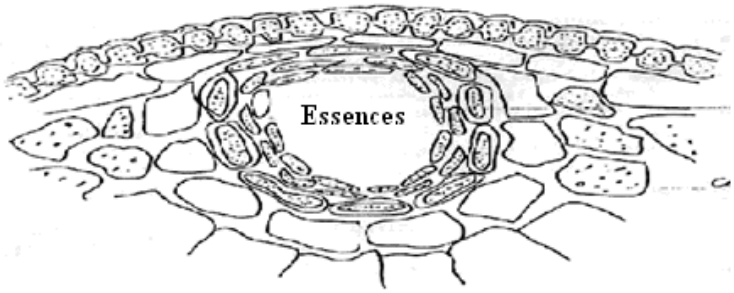


Figure1: poches sécrétrices chez les végétaux **(Bendriss, 2003)**

I.1.3 Propriétés physiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ont un point de fusion et un point de congélation précis **(GARNERO, 1985).** Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C, de densité généralement inferieure à 1 car, la plus dense reste l'huile essentielle de wintergreen à 1,187 **(DURAFOURD et LAPRAZ, 2002)**.**Selon CARTIER et ROUX (2007)**, elles sont :

- Généralement incolores ou jaune pale.
- liquides à température ordinaire.
- volatiles et entrainables à la vapeur d'eau.
- peu solubles dans l'eau mais lui communiquent leur odeur.
- solubles dans la plupart des solvants organiques.
- Sensibles à l'oxydation et donc de conservation limitée.

I.1.4 Composition chimique des huiles essentielles :

La diversité des composés chimiques des huiles essentielles fait intervenir 3000 constituants de structures confondues. À coté des composés majoritaires (de 2 à 6 généralement), on trouve d'autres composés à l'état de traces (BRUNETON, 1999). Tous se répartissent sur deux grands groupes **(CHARPENTIER et *al.*, 2004)** :

- Les composés terpéniques.
- Les composés aromatiques dérivés du phényle propane.

I.1.5 Rôles des huiles essentielles :

Malgré que le rôle physiologique exact des huiles essentielles reste inconnu, Elles demeurent attractifs d'insectes en matière de pollinisation, et protecteurs en étant répulsifs contre prédateurs **(Sallé, 1991)**, antiseptiques et inhibiteurs d'évaporation **(Mainbeau, 1994).**

Des propriétés thérapeutiques sont reconnues à l'usage d'un nombre important d'essences : antiseptiques vis-à-vis des germes pathogènes y compris les plus antibiorésistants, spasmolytiques et sédatives **(Bruneton, 1999)**, antioxydantes en rapport à leur teneur en phénol **(Seiller *et all.*, 2003).**

I.1.6 La conservation des huiles essentielles :

Ce sont des produits très altérables (changement de couleur), qui s'oxydent rapidement (produit devenant acide, donc irritant lors de prise), **(CHARPENTIER et *al.*, 2004)**, ce qui modifie leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons appropriés en acier inoxydable, en verre teinté ou aluminium. a l'abri de la lumière et de la chaleur, ces flacons doivent être secs et propres pour éviter les contaminations **(VALNET, 1983).**

I.1.7 Les procédés d'obtention des huiles essentielles :

On estime plusieurs modes d'extraction des essences naturelles, parmi lesquels :

a) La distillation :

Illustré par Garnier en 1891, elle sert à séparer l'huile essentielle des autres composés naturels selon la divergence de densité, elle demeure un mode d'extraction ancien et efficace malgré la possibilité d'entrainer des molécules indésirables **(Bruneton, 1993).** Elle sépare les principes volatils d'un mélange, de ceux qui ne le sont pas, selon les propriétés de ses vapeurs qui après chauffage à ébullition dans une enceinte d'eau, se condensent sur les parois plus froides d'un récipient relié à cette enceinte **(Duraffourd et Lapraz, 2002)**. On parle d'hydro distillation indirecte quand le végétal baigne à l'eau bouillante, et directe ou « D'entrainement à la vapeur » si le végétal est traversé par un courant de vapeur d'eau. Dans les deux cas l'huile est entrainée vers le haut et récupérée par décantation **(Boukhatem, 2010). (**Figure2)

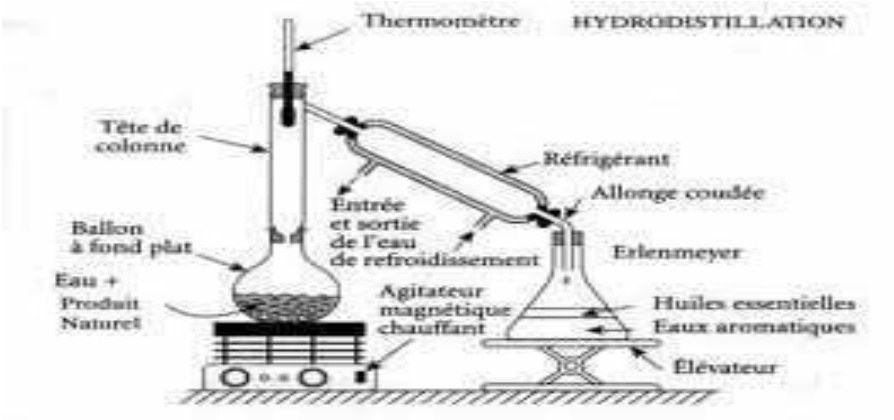


Figure 2 : Schéma du dispositif expérimental pour distillation **(Boukhatem, 2010).**

b) L'extraction par solvant :

Extraction chimique qui consiste à séparer une substance donnée d'un mélange par un solvant où la molécule cible est très soluble. L'espèce à extraire abandonne ce mélange par diffusion pour se dissoudre dans le solvant où sa solubilité est plus grande, ce dernier s'évapore et quitte la solution après passage au rotavapeur ou au Soxhlet **(Bendriss, 1997 ; Biallo *et all,* 2004 ;Yakhlef, 2010).** Le choix du solvant est important car plusieurs facteurs causent la rupture solvant-solution aqueuse : structure moléculaire, composition ionique, température, sélectivité **(Calvet, 2005).**

c) Autres modes d'extraction des essences végétales :

Expression à froid: Procédé mécanique. Par écrasement des péricarpes des fruits, en particulier ceux des Citrus ou en pressant carrément les fruits charnus, l'essence est séparée du produit par centrifugation **(Martini et Seiller, 1999).**

❖ **Enfleurage ou macération à chaud :** Consiste à extraire les principes aromatiques des plantes sur des corps gras jusqu'à saturation, et les récupérer après dissolution à l'alcool **(Duraffourd et Lapraz, 2002)**. Voir tableau …. les avantages inconvénients de ces techniques.

Tableau 1: Avantages et inconvénients des procédés d'extraction (Richard et Multon, 1992).

Procédés	Avantages	Inconvénients
Hydro-distillation	Essence concentré de bonne qualité.	Evaporation.
Expression	Essence non altérables de bonne qualité.	Diffusion lente.
Enfleurage	Pommade gardant la finesse de l'odeur.	Cout très élevé.
Solvant organique	Rendement élevé,essence olfactivement proche du végétal.	Essences impures Evaporation et cyclisation.

I.1.8 Les domaines d'utilisation :

I.1.8.1 Propriétés pharmacologique des huiles essentielles :

Il convient de souligne que l'éventail des propriétés attribuées (et parfois expérimentalement démontré) aux drogues à huiles essentielles et aux huiles essentielles elles même est trop large pour permettre des généralisations simplificatrices **(BRUNETON, 1999).**

1. Activité antimicrobienne:

En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, comme les bactéries endocanalaires ou la microflore vaginale, et d'origine fongiques, comme les dermatophytes, les moisissures allergisantes ou les champignons opportunistes. **(BILLERBECK V-G ,2007)**.

2. Activité antibactérienne :

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire **(LAIB, 2011 in Carson *et al,* 2002)**. De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules **(LAIB, 2011 in Davidson, 1997).**Le mode d'action des huile essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane **(LAIB, 2011) in (Cox *et al*, 2000) (Carson *et al*, 2002)**

3. Activité antifongique :

Dans le domaine phytosanitaire et agro alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire. **(LAIB, 2011 in LIS-BALCHIN, 2002)**. Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : (thym, origan, lavande, menthe, romarin, etc…). Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possible synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de huile essentielle. Ainsi l'activité fongistatique de composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. **(VOKOU et *al.*, 1988).**

I. 2. Généralité sur laurie noble (*Laurus nobilis* L) :

I.2.1 Historique :

Avant d'être Laurier-sauce, il s'appelait Laurier commun, Laurier d'apollon ou Laurier-noble, un arbre vénéré par les romains et béni par les chrétiens, aux jeux pythiques grecs les vainqueurs recevaient une couronne de laurier. On nomme aussi "lauréat", celui qui réussit ses examens : il reçoit une couronne de laurier, non pas avec des feuilles, mais avec des baies (bacca laurea), d'où "baccalauréat", littéralement "baies de laurier" **(Hurtel., 2002).**

I.2.2 Répartition géographique :

Le Laurier noble ou (Laurier sauce) est répandu dans les régions tempérées et subtropicales, en Asie, dans les pays d'Amérique donnant sur l'Atlantique et en Afrique, il a envahi tout le bassin méditerranéen et les régions d'Europe. Le laurier sauce constitue l'espèce dominante des pourtours de la Méditerranée. Il se présente sous forme d'arbrisseaux ou de petits arbres de 3 à 6m de hauteur en formation dense. **(SAGE, 2012).**

En Algérie, Le Laurier noble c'est une espèce spontanée qui pousse dans les lieux humides et ombragés **(Iserin, 2001).** Il est le plus commun dans les forêts à climat caractérisé par des précipitations concentrées pendant la période hivernale, s'étalant du mois d'Octobre au mois d'Avril **(Beloued, 1998).**

C'est une espèce pionnière qui se régénère abondamment dans les vieux jardins. Elle apprécie les terrains relativement fertiles (terre de jardin, terreau de fumier décomposé), et bien drainés exemple : (le Jardin d'Essai d'El Hamma) où elle est cultivée comme plante ornementale **(Iserin, 2001).**

I.2.3 Systématique de *Laurus nobilis L* :

Laurus nobilis L., est le seul arbuste comestible de la famille des Lauracées. Sa classification se réfère à celle proposée par **Quezel et Santa (1962)** synthétisée ci dessous**.**

Classification botanique de *Laurus nobilis L.*

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	Laurus
Espèce	Laurus nobilis L.

En effet, on ne doit pas confondre ce laurier noble avec d'autres espèces ligneuses fâcheusement appelées Laurier-noble. Selon les variétés et les cultivars, on distingue :

 Laurus nobilis 'Aurea' (feuillage doré).

 Laurus nobilis 'Crispa' (feuilles au bord crispé).

 Laurus nobilis 'Bay Junior ' (croissance lente, port compact, petites feuilles : cultivar parfait en topiaire).

 Laurus nobilis 'Sunspot' (feuillage panaché de crème)

I.2.4 Morphologie générales de *Laurus nobilis* L:

Laurus nobilis L., membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces **(Barla et al ., 2007)**. Laurus, nom latin, d'origine celte qui veut dire « toujours vert » allusion au feuillage persistant de la plante **(Pariente, 2001).**

Laurus nobilis L., arbuste à petit arbre mesurant de 2 à 10 mètres de haut **(Ducatillion, 2010)** aromatique, glabre, vert, très rameux, à tige dressé droite grise dans sa partie basse et verte en haut à pollinisation entomogame (**Iserin, 2001 ; Demir et al., 2004 ; Beloued, 2005).**

Il est intéressant de noter que cette plante qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle a, en faite, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications **(Ferreira et al., 2006).**

a. Feuilles de *Laurus nobilis* L :

Les feuilles sont alternées, coriaces et légèrement ondulées sur les bords, lancéolée en court pétiole, à penne innervées, de 16 cm de longueur sur 8 cm de largeur, rigides et persistantes. Elles sont luisantes vert foncées et glacées sur leur face supérieure mais plus pales en dessous **(Demir et al., 2004).**

Elles sont assez touffues, dégageant une forte odeur aromatique agréable si on les froisse, c'est la conséquence de l'existence de grosses cellules sécrétrices éparses dans le mésophile des limbes **(Mitchell, 1993).(**Figure 3)



Figure 3: Feuilles de *Laurus nobilis L*., (Site web).

b. Utilisation des feuilles de *Laurus nobilis* L. :

Les feuilles de *Laurus nobilis L.,* sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays, elles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaire (en potages, ragoûts, sauce,…) et aromatisant en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment un sujet de recherche scientifique intéressant **(Simi et al., 2003),** le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique **(Iserin, 2001)**.L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle en tant qu'anti hémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac **(Kivçak et Mert, 2002)**.L'huile essentielle obtenue des feuilles de cette plante a été employée pour le soulagement d'hémorroïdes et des douleurs rhumatismales **(Sayyah et al., 2002)**. En outre, elle est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants **(Demir et al., 2004 ; Beloued .,2005).**

I.2.5 Huile essentielle de *Laurus nobilis* L :

L'huile essentielle extraite des feuilles de Laurier est d'aspect liquide mobile limpide, de couleur jaune très pâle à jaune foncée, d'odeur aromatique, douce, fine, chaude ou

- **Composition chimique de *Laurus nobilis L* :**

La composition de l'huile essentielle de laurier est exprimée en pourcentage de divers composés des familles des oxydes terpéniques, des monoterpénols, des phénols des monoterpènes, des sesquiterpenes et des esters terpéniques **(Flamini et al., 2007).** L'analyse de l'huile essentielle des feuilles de laurier Algérien **(Yakhlef, 2010)** a identifié la présence d'une trentaine de composés, représentant un pourcentage de 73,24 % du volume total de l'huile essentielle. L'huile essentielle de laurier est riche en 1,8-cinéole (23,2%) et en acétate d'a-terpényl (19,5 %). Cette huile contient, aussi, un pourcentage de terpinène-4-ol (6%) et de limonène (3,6 %) ; Selon le **(Tableau2)**.L'analyse de l'huile essentielle de *Laurus nobilis L.*, en Algérie a révélé que cette huile essentielle a montré une tendance similaire à ceux publiés pour d'autres régions géographiques **(Ozcan, 2005).**

Tableau2: Composition principale de l'huile essentielle de Laurus nobilis L., cultivé en Algérie **(Yakhlef, 2010)**

Temps.Rét	Composant	%*	RI**
13 .87	**α-terpènes**	0.81	1179
14,3	2 , 3Hydro-1,8-cinéole	0.48	1192
14,49	Limonène	3.58	1198
14,96	1,8-cinéole	23.17	1214
25,63	Terpéne-4-ol	6.03	1611
26,27	Myrténal	0.85	1639
26,73	Acétate de terpène	1.51	1659

27,23	**Aterpéniol**	1.43	1680
27,58	Acétate d'**α-Terpènyl**	19.50	1706
27,95	Bornéol	0.34	1712
28,15	Carvone	0.25	1721
28 ,41	Valencène	1.96	1733

*Pourcentage basé sur l'aire normalisée du chromatogramme Moyenne de deux répétitions.

** Indice de rétention.

I.2.5.1 L'usage des extraits de *Laurus nobilis* L. en agriculture :

La volonté de réduire l'utilisation des pesticides de synthèse dans l'agriculture moderne s'est affermie ces dernières années, notamment en Algérie avec l'intervention des politiques de l'Environnement est un bon exemple de la prise de conscience environnementale **(MAP., 2008).**

Dans ce contexte, les pesticides naturels basés, notamment, sur les huiles essentielles et les extraits aqueux des plantes aromatiques dont les extraits de *L. nobilis* représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons **(Dayan., 2009 ; Isman, 2000)** . Outre, leurs activités biologiques, les extraits naturelles présentent d'autres caractéristiques qui en font des produits adaptés dans la lutte contre les nuisibles **(Isman, 2010).** Parmi celles-ci, on peut citer :

- leur prix faible et approvisionnement assurés par une production mondiale importante pour de nombreuses huiles essentielles,

- leurs multiples modes et sites d'action sur les insectes,

- leur faible toxicité pour les mammifères (à quelques rares exceptions près),

- leur faible persistance dans l'environnement due à leur volatilité (temps de demi-vie en extérieur < 24 h sur les surfaces, dans les sols ou l'eau) **(Hernandez et al. , 2001).**

I.2.5.2 Effets biologique des extraits des feuilles de *Laurus nobilis L* :

a) Effets fumigènes et insecticides :

Récemment, il ya un intérêt croissant pour l'utilisation probable des extraits de plantes comme solution de rechange aux insecticides synthétiques. Treize huiles essentielles dont ceux de *Laurus nobilis* L., ont été examinées sous leurs formes de vapeur contre une espèce d'insecte attaquant les produits stockés, *Acanthoscelides obtectus* (bruche du haricot). Les résultats ont indiqués que l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis L.*, a une action répulsive, réduit la fécondité, diminue la couvaison d'oeufs, augmente la mortalité larvaire de nouveau-né et influence défavorablement l'apparition de progéniture. Une étude similaire a été réalisée par Erler et ses collaborateurs en 2006. De même, l'activité fumigène de certains composés qui se produisent naturellement dans les huiles essentielles

des plantes aromatiques dont cinéol, eugénol et linalol, composés principales **(Papachristos et Stamopoulos, 2002).**

b) Effet antifongique :

L'huile essentielle de *Laurus nobilis L.*, a révélé son pouvoir inhibiteur in vitro sur la croissance mycélienne de Phytophtora infestans selon la méthode de contact directe d'une manière dose dépendante. En effet, l'inhibition totale a été enregistrée à 51,2 µg /ml **(Soylu et al., 2006). Simic et al. (2004)** ont affirmé que 1,8 – Cinéole semble être le constituant antifongique dominant de cette huile essentielle. En revanche, cette dernière a plutôt montré son effet stimulateur in vitro sur la croissance mycélienne d'Aspergillus flavus mais a réduit a concentration de son aflatoxine de 55.21% **(Atanda et al., 2007).**

I.3- Généralité sur l'*Eucalyptus Globulus labillardière* :

I.3.1 Historique :

L'Eucalyptus, comme exotique, a déjà une longue histoire **(Métro, 1955).** C'est à partir de 1850 que les Eucalyptus ont été introduits par les Français en Algérie, avec *l'E.camaldulensis* Dehn. Comme espèce pionnière. Mais, la plantation massive de ces arbres a eu lieu, entre 1865 et 1963, au début. Les Eucalyptus ont été plantés à titre exceptionnel pour l'assèchement des marais **(Abdel M in Mehani, 2006).**

L'Eucalyptus globulus Labill. (Du nom de Labillardière le voyageur français qui le découvrit en 1800 lors d'un voyage en Australie) est une espèce très cultivée, prit rapidement une grande extension en Algérie entre 1860 et 1870 **(Boudy, 1952).**

C'est vers les années 1960 et 1970 qu'on commencé le reboisement à base d'Eucalyptus à l'Est du pays (EL-Kala, Annaba, Skikda) au centre (Tizi-ouzou et Bai nem) et à l'Ouest (Mostaganem) dans le but de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et avec un capital d'environ 130 espèces. La plantation d'Eucalyptus a continué jusqu'en 1982 où il a été mis fin à la production des plantes en pépinière et par conséquent à leur plantation **(Meziane, 1996 in Mehani ,2006).**

I. 3.2 Répartition géographique :

Le genre *Eucalyptus* est endémique en Australie et en Tasmanie. Il est cultivé de nos jours dans quelques régions subtropicales d'Afrique, d'Asie (Chine, Inde, Indonésie) et d'Amérique du Sud ainsi qu'en Europe méridionale et aux États-Unis **(Bouamer, 2004).**

Les espèces appartenant à ce genre sont utilisées pour assécher certaines zones marécageuses et se sont acclimatées à la région méditerranéenne, Son introduction en Algérie fut par les français en 1860, Pendant les années 60 à 70, le reboisement à base *d'Eucalyptus* ont concernés notamment l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Bainem) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers ***(BELKOU, 2005; Goetz et al., 2012)***

I. 3.3 Systématique d'*Eucalyptus globulus labillardière* :

classification botanique de **eucalyptus** (**Goetz et al .,2012**).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Dicotylédones
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	*Eucalyptus*
Espèce	*Eucalyptus globulus Labill*

Les noms vernaculaires : Calitouss « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont utilisés dans différentes régions.

I.1.3.4 : Morphologie générales *d'Eucalyptus globulus labillardière* :

L'*Eucalyptus* est un très bel arbre de 30 à 35 m, jusqu'à 100 m dans son milieu naturel. Le tronc comprend une écorce à la base foncée et rugueuse et, en hauteur, lisse, gris cendré laissant s'exfolier son épiderme en longs lambeaux souples et odorants ; il possède également des lenticelles gorgées de gomme balsamique et un bois rouge **(Goetz, 2008).**

a. Feuilles :

Les Eucalyptus portent des feuilles persistantes, glabres mais différentes en fonction de l'âge des rameaux :

- Les jeunes rameaux possèdent des feuilles larges, courtes, avec un vrai limbe nervuré (vignette).

- Les rameaux plus âgés possèdent des feuilles aromatiques, épaisses, vert foncé, courtement pétiolées **(Goetz, 2008**). (Figure 4)



Figure 4 : Fruits, graines, feuille, Fleurs et étamines *d'E. globulus* **(Albert, 2015)**

I .1.3.5 : Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus labillardière* :

La famille *Myrtacées* comme d'autres familles de plantes médicinales, cette famille se caractéristique par l'abondante de production d'huile.

Les Eucalyptus sont aussi extrêmement intéressants pour leurs tanins, résines et huiles essentielles que renferment les feuilles, les tiges et même l'écorce et qui ont des applications très importantes en médecine **(Bigendako, 2004).**

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* contient environ 70% en eucalyptol (1,8-cinéole) et ce dernier considérer comme un composé majoritaire dans plusieurs espèces *d'Eucalyptus* (*E.viridis* et *E. salubris*…etc). **(Sroka, 2005).**

La composition chimique des huiles essentielles de feuilles de l'*Eucalyptus globulus*

est résumée dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Composition chimique des huiles essentielles de feuilles de l'*Eucalyptus globulus* **(Amakura e*t al.*,2002)** , **(Wichtl , 2003)** ,**(Bruneton, 2009)**

Classe de constituants	Exemples de constituants
Huile essentielle : 1 a 3,5 % du poids de la feuille	1,8 cineole (eucalyptol) : 70 a 85 % de l'huile essentielle - monoterpenes : alpha-pinene, s-pinene,d-limonene, para-cymene, camphene, alphaphellandrene, alphafenchene, γ-terpinene, -sesquiterpenes :aromadendrene, ,alloaromadendrene -alcools: eudesmol, alpha-terpineol, globulol, pinocarveol -aldehydes: citral, myrtenal -cetones: carvone, pinocarvone, verbenone -acetate de geranyl
Acides phénols	Acides gallique, cafeique, ferulique,ellagique, gentisique, protocatechique

I.3.6 domaine d'application des huiles essentielles *d'Eucalyptus globulus labillardière* :

L'utilisation des huiles essentielles à base de menthe, de thym et d'Eucalyptus en inhalations ou sous forme de pommade; pour soigner un rhume provoqué par des virus (rhinovirus) **(Sandrine, 2006).**

L'Eucalyptus est parmi les plantes médicinales (la mauve, la réglisse) qui ont montré une efficacité contre la toux. Les gens utilisaient également les feuilles pour aider à soulager la fièvre et divers autres maux. Elles sont également utilisées comme bois d'œuvre et de chauffage. Leurs huiles essentielles sont utilisées dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques pour la fabrication de différents produits **(Sandrine, 2006 ; Goetz et *al*., 2008)**.

I.3.6.1 Usage des huiles essentielles *d'Eucalyptus globulus labillardière* en agriculture :

1. Insecticide :

La présence de 1,8-cinéole dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* va lui conférer des,propriétés répulsives et insecticides. On pourra l'utiliser par exemple en diffusion pour éloigner les moustiques en été (bien qu'on lui préfèrera *Eucalyptus citriodora* qui est beaucoup plus efficace pour cette indication) (**Batish, Daizy R et al 2008).**

Une étude montre également que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est une bonne alternative naturelle contre les mouches domestiques (**Kumar et al 2012)**. ont mis des larves et des pupes de mouche domestique en présence d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*.

2. Antifongique :

En plus de ses propriétés antibactériennes et antivirales, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* présente des propriétés antifongiques. Ces trois propriétés rendent l'usage de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* en diffusion très recommandé. (**Vilela et al.2009)** ont démontré une activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur deux espèces d'aspergillus : *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus.*

I.4 Généralité sur le Giroflier (*Syzggium aromaticum)* :

I.4.1 Historique :

Depuis des décennies, le clou de girofle est utilisé pour ses vertus culinaires et médicinales. Il est beaucoup utilisé en médecine dentaire pour sa propriété d'anesthésique local (**Kozam, 1977; Ohkubo et Shibata, 1997**).

Autrefois on soignait les maux de dents en mâchant un ou deux clous de girofle. Aujourd'hui les techniques se sont améliorées : par le mélange d'oxyde de zinc et d'eugénol on obtient un ciment utilisé en tant que matériau de restauration temporaire

permettant à la fois un excellent scellement et une anesthésie de la pulpe dentaire. Qui plus est, ce ciment est en général très bien toléré par les patients. L'eugénol est aussi utilisé pour soulager la douleur associée à la pose de prothèses dentaires (**Garibaldi et al, 1995**).

I.4.2 Répartition géographiques :

Originaire de Madagascar, la Réunion, les Antilles, le giroflier est également cultivé en Indonésie et en Tanzanie. Les clous de girofle américains sont réputés être de qualité Inférieure à cause de leur plus faible teneur en huile essentielle**.(Alice.D ; 2011)**

La superficie couverte par les girofliers à Madagascar s'élève à environ 37 000 hectares, superficie variant sensiblement d'une année à l'autre.

I.1.4.3 Systématique de *Syzggium aromaticum* :

classification botanique de giroflier (**Goetz et al .,2012**).

Règne	Plantae
Sous –règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta (=Phanérogames)
Sous –embranchement	Magnoliophytina (=Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (=Dicotylédones)
Sous –classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	*Syzigium*
Espèce	*S.aromaticum* (L)Merr.& perry

I.4.4 La Morphologie générale de *Syzggium aromaticum* :

Le giroflier est un grand arbre au tronc gris clair de 12 à 15 mètres de hauteur pouvant Atteindre jusqu'à 20 mètres de haut **(**Figure 5**)** Il présente un port érigé et pyramidal **Davet P Rouxel F., 1997**.Son feuillage est aromatique, coriace, persistant vert sombre et vernissé au revers plus clair. Ses feuilles sont opposées, entières, elliptiques, d'environ 10-12 cm à nervure médian marquée et parsemées de glandes sur le revers.



Figure 5: Arbre de giroflier.(site web)

a. Les fleurs :

Les fleurs sont disposées en cymes terminales **(**Figure 6**)** de 25 fleurs environ, formant 3 Fourches **(**Figure 7**)**. Elle se présente sous la forme d'un long pédoncule, petite fleur à l'extrémité des rameaux, à 4 pétales (blanc-rosé) pompon Duveteux d'étamines blanches saillantes, les fleurs à 4 pétales blanc rosé sont caractérisées par leurs sépales rouges persistants.



Figure 6 : Structure du Giroflier



Figure 7 : Fleur de giroflier

Ce sont les boutons floraux cueillis avant épanouissement que l'on appelle les clous degirofle et l'huile essentielle qui est utilisés pour leurs vertus thérapeutiques ; Les fruits du giroflier sont des baies pourpres comestibles. (**Rakotoatimanana B.V. et al., 1999**)

La récolte des clous de girofle se fait au moment où ils contiennent le plus d'essence

(lorsqu'ils sont roses et les pétales pas encore ouverts). Ces clous sont récoltés, après 6 à 8 ans de culture de l'arbre, 2 fois par an. Ce sont des boutons auxquels on ôte le pédicelle manuellement et que l'on met sécher au soleil jusqu'à ce qu'ils deviennent brun rouge.

Boutons floraux appelés « clous ».Les racines, les rameaux, les feuilles les fleurs et les fruits contiennent tous une HE dont la composition diffère. Par exemple l'HE des feuilles contient seulement 2 à 3 %

d'eugénol. L'huile essentielle de girofle provient de la distillation des boutons de giroflier traités à la vapeur **(A., Ranarivelo L., Behra O., Juliani H.R., and Simon J.E.)**

I.4.5 -L'huile essentielle du Giroflier:

L'huile essentielle de *s.aromaticum* est composé de beaucoup de composés différents, avec les ingrédients primaires qui sont : eugenol (49–87 %), -caryophyllène (4–21 %) et l'acétate d'eugényle (0.5–21 %). D'infimes quantités de -humulène sont également présentes, ainsi que des traces (< 1 %) de 25 à 35 autres constituants. (Tableau 4**)** montre la structure chimique des principaux composants de l'HE de clou de girofle. **(Chaieb et al., 2007)**

Tableau 4: Les principaux Constituants chimiques de *s.aromaticum* (**Goetz et al., 2012)**

Famille de constituants	**Détail des constituants**
Huile essentielle	Eugénol (80 à 90%) Acétate d'Eugénol (5 à 10%), alpha et béta caryophyllène (5 à 12 %), cétones aliphatiques
Tanins (12%)	Tanins galique et ellagique, acide gallique, acide protacatéchique, eugéniine, casuarictine,1,3-di-O-galloyl-4,6-(S)-hexahydroxydiphénoyl-béta-Dglucopyranose, tellimagrandine
Flavonoïdes (0,4%)	Quercétine,kaempférol,rhamnétine, Eugénitine
Chromones	Biflorine, isobiflorine, hétérosides de Chromone
Corps gras	Stérols, glycosides stéroliques, huile grasse (10%)
Autres	Acides phénols, triterpènes

I.4.6 Usage de giroflier en agriculture :

L'huile essentielle possède un effet herbicide et protecteur des cultures contre les insectes et les champignons **(Alice.D ; 2011)** effet insecticide sur les charançons nuisibles des graines en stocks. Les clous de girofle entiers, mais aussi en poudre, servent à aromatiser les conserves de légumes, le chou rouge ou la choucroute, les compotes de pommes et autres fruits. (**Georgetti, S.R.,et al ,2003)**

1. Activité antibactérienne :

Singh et al.,**2009** ont étudié l'effet d'eugénol sur la croissance des bactéries Gram-positives (*Bacillus cereus* ; *B. subtilis* ; *Staphylococcus aureus*) et Gram négatif (*Escherichia coli* ; *Salmonella typhi* ; Les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*) utilisant l'agar bien la méthode de diffusion. À 1 000 ppm, eugénol inhibe la croissance de toutes ces bactéries.

2. Activité Antifongique :

L'huile essentielle de clou de girofle possède une puissante activité antifongique contre les pathogènes fongiques opportunistes, comme le *Candida albicans*, le *Cryptococcus neoformans* ou *l'Aspergillus fumigatus*. Elle a été particulièrement efficace sur un modèle expérimental de vaginite murine sur un modèle animal (**Goetz et al., 2012).**

I.5 Plantes hôtes :

I.5.1 Généralités sur la culture de la pomme de terre :

I.5.1.1 Description botanique :

La pomme de terre est une espèce herbacée, vivace par ses tubercules mais qui est généralement utilisée comme une plante annuelle. Elle se reproduit naturellement par multiplication végétative, grâce à un tubercule dit "mère" qui est planté. Il émet des ramifications à partir de ses bourgeons qui, dans leurs parties aériennes, produisent des feuilles, fleurs, graines et fruits. Les bourgeons souterrains émettent des ramifications appelées stolons au bout desquels se forment des tubercules, renflements où s'accumulent des réserves. Le tubercule mère, les tiges et les stolons émettent aussi des racines pour approvisionner la plante en éléments minéraux. En utilisant ce mode de reproduction, on obtient à chaque fois la même plante du point de vue génétique, que l'on peut appeler un clone. Ce phénomène est naturel chez les végétaux **(Dorothee, 2011).**

La plante comporte à la fois des tiges aériennes et des tiges souterraines **(Darpoux & Debelley, 1967).**

Les feuilles sont caduques, alternes, de forme lancéolée et de taille hétérogène. De toutes petites folioles s'intercalent par paires entre les plus grandes. Leur épiderme est composé de cellules aux parois sinueuses en vue superficielle. Elles présentent des poils ou trichomes à leur surface, en quantité variable selon les cultivars. Les trichomes peuvent être unisériés, glandulaires et à tête pluricellulaire plus ou moins sphérique **(Rousselle et al., 1996).** Les inflorescences sont des cymes axillaires

Les fleurs sont autogames mais, ne contiennent pas de nectar. Elles sont donc peu visitées par les insectes et la fécondation croisée est presque inexistante dans la nature. Aussi, elles sont souvent mâles donc stériles. La production de fruits est généralement rare parfois nulle. On connaît des variétés de pomme de terre qui

fleurissent abondamment mais qui ne fructifient pas **(Daproux & Debelley, 1967 ; Soltner , 1988).** Comme les tiges et les feuilles, le fruit contient une quantité significative de solanine, un alcaloïde toxique caractéristique du genre **(Anonyme, 2001).**

I.5.1.2 Taxonomie de pomme de terre :

Le genre Solanum auquel appartient la pomme de terre, rassemble environ mille espèces dont plus de deux cents sont tubéreuses présent un peu partout dans le monde **(Cousin, 2011).** En effet, la pomme de terre *Solanum tuberosum* L. est classée comme suit :

Classification botanique de *Solanum tuberosum* L**. (Cousin, 2011).**

Règne	Vegetal
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes ou Phanérogames
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Gamopétales ou Métachlamydées
Famille	Solanacées
Genre	Solanum
Genre et espèce	Solanum tuberosum L.

I.5.2 *Pectobacteruim carotovora* spp. agent de la macération des tissus végétaux :

I.5.2.1 La maladie de Pourriture molle :

Les cultures de pomme de terre (*Solanum tuberosum*) et les tubercules récoltés sont sujets à de nombreuses agressions bactériennes. Il s'agit de bactéries appartenant notamment aux genres *Clavibacter*, *Pectobacterium*, *Ralstonia*, et *Streptomyces*. Parmi ces derniers, un regain d'intérêt est accordé aux bactéries macergènes appartenant au genre *Pectobacterium*, plus connues sous le nom d'*Erwinia carotovora*.

Les bactéries *Pectobacterium atrosepticum* et *Pectobacterium carotovorum* (anciennement *E. carotovora* subsp. *atroseptica* et *E. carotovora* subsp. *carotovora*) sont des pathogènes de qualité qui provoquent des pertes au champ et lors de la conservation des tubercules (pourritures molles). En végétation, ces bactéries sont responsables d'attaques précoces du tubercule mère et des germes empêchant la levée, ou d'attaques plus tardives comme la maladie de la jambe noire. (**PRIOU S, JOUAN B. 1996)**

Outre les baisses de rendement des cultures, les tubercules récoltés atteints de pourriture molle peuvent engendrer des pertes importantes lors du stockage par une contamination rapide des tubercules avoisinants.

Les tubercules jouant aussi le rôle de semence, des tubercules contaminés, même sans symptôme visible (porteurs sains), peuvent disséminer la maladie au champ lors des phases de multiplication des plants. Ces maladies affectent donc toutes les étapes de la filière pomme de terre : la production et la certification des plants, comme la production de pomme de terre de consommation ou de transformation alimentaire ou industrielle **.**

Les pertes économiques causées par la recrudescence de ces maladies bactériennes et l'absence de moyens de lutte efficaces motivent aujourd'hui le développement de recherches multidisciplinaires visant à protéger du mieux possible les cultures de la pomme de terre . (**DE BOER, S. H. 1994)**

I.5.2.2 Symptomatologie de la pourriture molle et de la jambe noire sur la pomme de terre :

1. En Végétation :

Les symptômes causés par les *Pectobacterium spp*. s'expriment en végétation et/ou en conservation. L'apparition et la nature des symptômes dépendent essentiellement des conditions environnementales (température, humidité). Les manques à la levée, résultant de la pourriture précoce du tubercule de semence ou de l'attaque des germes avant ou lors de l'émergence peuvent s'observer rapidement après la plantation **(PEROMBELON M. C. M, LOPEZ MM, CARBONELL J, ET AL.1988)**

Le symptôme le plus typique est celui de la jambe noire, variant d'une pourriture humide brun foncé à noire de la base des tiges à des nécroses plus ou moins sèches. Il est provoqué par les bactéries, qui, après avoir attaqué le 23 tubercule mère, envahissent et dégradent une ou plusieurs tiges grâce à leur activité pectinolytique **(PÉROMBELON M. C. M, KELMAN A. 1987)**

1. Sur les tubercules :

Les tubercules peuvent également être atteints de symptômes qui se développent en cours de culture ou de conservation sous la forme de pourritures molles et humides souvent nauséabondes. En conservation, les pourritures molles peuvent entraîner la contamination rapide des tubercules avoisinants. Des bactéries pectinolytiques variées (*Clostridium spp., Bacillus spp., Pseudomonas spp.)* peuvent être impliquées dans la pourriture des tubercules en conservation, particulièrement lorsque les températures sont élevées **(PÉROMBELON M. C. M, KELMAN A. 1987 ; CAMPOS E, MAHER EA, KELMAN A. 1982)**

Mais les *Pectobacterium spp*. restent les agents les plus fréquents et les plus dommageables Dans le cas d'attaques localisées aux lenticelles, les pourritures sont qualifiées de lenticellaires. Un séchage adéquat des tubercules peut toutefois bloquer

leur développement. Les symptômes sont alors qualifiés de pourritures lenticellaires **.(DE BOER, S. H. 1994)**

I.5.2.3 Facteurs favorisant l'infection :

- **Température :**

La progression de la pourriture molle est particulièrement rapide lorsque les températures Sont élevées. La température optimale de croissance de la bactérie est de 28 °C, mais la Croissance, bien que lente, peut se poursuivre à des températures aussi basses que 1 à 2°C. Les dommages causés au champ par le froid peuvent prédisposer les cultures à la colonisation et à la pourriture bactérienne (Richard C Et Boivin G. 1994)

- **Humidité :**

Le principal facteur contribuant à l'essor de la maladie est sans contredit la présence d'humidité sur l'inflorescence. En effet, les maladies causées par les Erwinia spp. pectinolytiques sont fortement Influencées par la présence d'eau libre au site d'infection. Leur survie et reproduction sont favorisées par des surfaces mouillées et la population diminue rapidement lorsque la surface s'assèche. Dans des études aux champs sur la pomme de terre détectent E. carotovora aussi longtemps que la surface demeurait mouillée, mais ne pouvait plus détecter la bactérie 1 à 2 journées après assèchement de la surface **(LUDY RL, POWELSON ML ET HEMPHILL, J. R., D.D., 1997)**

- **Influence du pH :**

Quand les *Erwinia pectinolytiques* infectent les plantes, elles colonisent dans un premier temps le fluide intercellulaire apoplastique dont le pH varie entre 5 et 6.5 Dans les étapes plus avancées de la colonisation, les bactéries induisent la lyse des cellules végétales en provoquant une alcalinisation du milieu. Les feuilles de chicorée passent ainsi d'un pH acide à basique lors de l'infection par Erwinia chrysanthemi. La synthèse des Pels est affectée par le pH qui peut donc jouer un rôle important dans leurs production lors de l'infection **(NACHIN, L., ET BARRAS, F. 2000)**

I.5.2.4 Cycle biologique de la maladie :

En culture, l'infection du tubercule mère favorise la transmission de la maladie aux tubercules fils, lorsque les bactéries sont libérées dans le sol transportées par l'eau et les insectes qui assurent aussi sa transmission. Ainsi les bactéries envahissent la rhizosphère des plantes et infectent d'autres tubercules. **(**Figure **8),** résume les principales étapes du cycle de développement de la maladie.

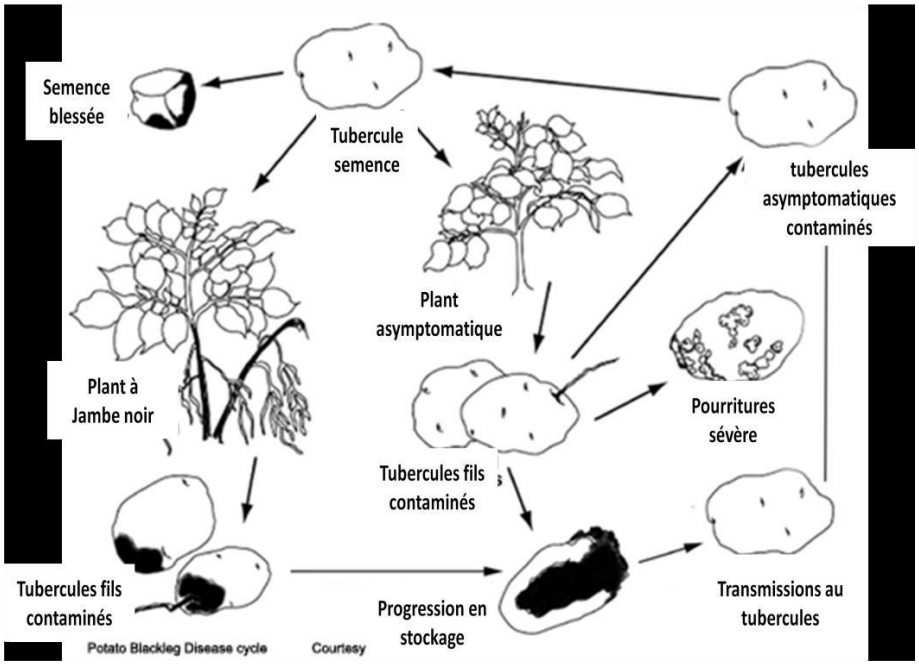


Figure 8 : Cycle de développement de la pourriture molle bactérienne (**HOWARD et al 1994)**

I.5.2.5 Agent causale :

Les *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium carotovorum*) sont des bactéries psychrotrophes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et forment un

groupe d'agents pathogènes des *Solanum tuberosum et* qui se développent à des températures comprises entre 5 et 36 °C avec un optimum entre 27 et 30 °C. Les *E. carotovora* sont des bâtonnets (0,5-1 µm de diamètre sur 1-3 µm de longueur) Gram-négatif, mobiles (flagelles péritriches), anaérobies facultatifs et ayant une forte activité pectinolytique**.(LELLIOT R. A., ET R. DICKEY. 1984 ; STEVENSON et al. 2001)**

Elles utilisent l'acétate, le citrate, le formate, le lactate, le fumarate, le gluconate, le malate et le succinate, mais non le benzoate, le malonate, l'oxalate, le propionate ou le tartrate comme sources de carbone et d'énergie (**Lelliot 1984**). Les *P.carotovorum* sont oxydase négatives, mais catalase positives. Contrairement à *Ecc, Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* est incapable de croître à 36 °C, cette dernière produit de l'acide à partir du maltose et de l'α-méthyle glucoside.

La paroi des bactéries appartenant au groupe *P.carotovorum* est composée d'environ 95% de phosphatidyl éthanolamine ,Leur membrane externe serait principalement composée d'une couche de ce phospholipide (34% du total) recouverte à l'extérieur d'une couche de lipopolysaccharides, alors que la membrane interne serait constituée d'une bicouche du même phospholipide (65% du total) ,La bicouche externe de la paroi de ces bactéries a un ratio protéines/lipides de 1,20, et serait moins fluide que la bicouche interne qui a un ratio protéines/lipides de 0,89. Entre les deux membranes se trouve une mince couche de peptidoglycane **(SHUKLA S. D., et al 1978)**

I.5.2.6 Processus infectieux de *Pectobacteruim carotovora :*

Les *Erwinia* spp. pectinolytiques causent des dégâts importants sur les cultures de nombreux végétaux et lors de la conservation des produits issus des récoltes. L'expression de la maladie est étroitement liée aux conditions climatiques et en particulier à la température environnementale, notamment parce que la multiplication cellulaire et les activités lytiques sont thermorégulées **(LAURENT, P.,et al. 2003)**

Erwinia peut rester en latence pendant plusieurs mois. Après son introduction dans la plante, sous les conditions environnementales optimales, la bactérie pénètre dans l'apoplaste y compris la présence d'eau libre, la disponibilité en oxygène et la température, qui deviennent propices au développement des maladies **(.TOTH,et al. 2003.)**

Le principal facteur environnemental déclenchant le développement de la maladie est la présence d'eau, ce qui conduit à l'anaérobiose et la dépréciation de la résistance des systèmes dépendant de l'oxygène de l'hôte . D'une manière générale, la maladie tend à se développer que lorsque la résistance de l'hôte est affaiblie par d'autres causes.

I.5.2.7 Moyens de contrôle de la pourriture molle :

Les pratiques culturales et sanitaires traditionnellement utilisées pour contrôler le développement des maladies de la pomme de terre consistent à éviter de blesser les tubercules pendant les opérations de récolte et de manutention les blessures étant une porte d'entrée privilégiée pour la pourriture molle, d'autres pratiques notamment la désinfection des résidus de végétaux en entrepôts potentiellement contaminés et des équipements de lavage et de tri (**De boer, 1994**).

Une bonne subérisation des blessures après l'opération de tranchage des semences, l'application de fongicides ainsi qu'une récolte à des températures inférieures à 20 °C et par temps sec sont également recommandées (**De boer, 1994**). L'utilisation des semences saines et un bon espacement des plants au champ, l'assurance d'une bonne régie d'entreposage ainsi que la pratique des rotations de cultures (**Stevenson, 2001**) permettent également de réduire l'incidence de cette maladie.

Actuellement, un contrôle partiel de la pourriture molle est obtenu principalement par l'application de certaines pratiques culturales et sanitaire, et indirectement par l'utilisation de fongicides chimiques, l'utilisation de variétés résistantes demeure encore très expérimentale **(SECOR G. N., M. GUDMESTAD, ET D. RODRIGUEZ. 1996 ; RODRIGUEZ-SAONA L. E., ET R. E. WROLSTAD. 1997)**

1. La lutte chimique :

À ce jour, il n'existe pas de méthode de lutte efficace contre *P. atrosepticum* et *P. carotovorum.* Seules des mesures prophylactiques, basées sur une hygiène générale des exploitations et des semences ainsi que l'utilisation de pratiques culturales raisonnées et peu mécanisées, permettent de limiter les dégâts enregistrés **(Priou S,1996**). En tenant compte des pratiques agronomiques actuelles, notamment des

I.6.1 Généralités sur le poirier :

I.6.1.1 Description botanique :

Le poirier a des feuilles caduques, alternes, simples entièrement dentées sur le bord, velues dans leurs jeunesses, à pétiole plus court**. (Sapin, 1978)**Les fleurs sont d'un blanc mêlé de rose, l'inflorescence est un corymbe portant 5 à 6fleurs. **(Tasei 1978 in Pesson et Louveaux ,1984)**. Chaque fleur est constituée de 5 sépales, 5 pétales, 20 étamines à filet soudés, un ovaire à 5 carpelles renferment chacun 2 ovules, les 5 styles sont soudés à la base. La densité de fleurs est estimée à 5 -10 millions de fleurs par hectar . La formule florale : 5S + 5P + (5nE) + 5C. Le réceptacle floral se développe et donne la partie comestible de fruit qu'est une drupe à mésocarpe charnu contournant cinq loges cartilagineuses. Elle est recouverte d'un épiderme mince renferment dans une pulpe très épaisse des parties cornées (carpelles) sur lesquelles sont fixées les pépins. Le fruita une taille et une couleur diverses selon les variétés (verte, jaune, rouge ou panachée) de gout sucré ou acidulé.

I.6.1.2 Taxonomie de poirier :

classification de poirier selon **Gaussen et al. (1982)**

Phylum	Spermatophytta
Sous phylum	Angiospermatophytina
Ordre	Rosales
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosideae
Famille	Rosaceae
Sous famille	Pomoidaea
Genre	Pyrus
Espèce	Pyrus communis L

I.6.2 Généralités sur la maladie du feu bactérien.

I.6.2.1 La maladie « feu bactérien » :

La dénomination de la maladie « Feu bactérien » ou « Fire blight » évoque déjà l'aspect le plus spectaculaire et caractéristique de cette infection où le feuillage, les branches attaquées paraissent grillées par le feu.

C'est la première maladie qui a été attribuée à une bactérie **(Burrill, 1881).** Après un siècle de son apparition. Plus tard cette bactérie a été isolée, identifiée et nommée *Erwinia amylovora*. Actuellement, le feu bactérien reste une des maladies

bactériennes la plus imprévisible et la plus destructrice contre la quelle la lutte est très difficile.

I.6.2.2 Symptomatologie :

L'apparition des symptômes de la feu bactérie sur les espèces de la famille des rosacées (pommier et poirier) a lieu tout au long de l'année ; de la floraison à la période de repos végétatif. Ces derniers se manifestent par plusieurs types de symptômes ; les chancres à bords dits non délimité et indéterminés, Décoloration brune rougeâtre sous l'écorce des parties malades, nécrose, desséchement de feuillage commençant par les marges et resté fixé sur les branches, recourbement des brindilles en forme de crosse et apparition des exsudats sur différents organes ; pédoncules floraux, brindilles, rameaux, fruits qui vont restés momifies sur l'arbre.

Plusieurs auteurs ont décrit de l'apparition et l'évolution des symptômes **(McManus et Heimann, 1997 ; Thomson et Ockey, 2000 ; Bünter. et al., 2003 ; Olsen, 2011).** Les planches 1, 2, 3, 4 et 5 **(**Annexe 1**)** composées des photos expliquent le développement et l'évolution de la maladie dans le temps.

a. Fin hiver – début printemps :

Les chancres formés en hiver conservant la bactérie vont se réactiver au début du printemps avec le temps chaud et humide suivi d'un écoulement d'exsudat où des gouttelettes d'exsudats peuvent apparaitre constituant la source d'inoculum primaire et qui assureront de nouvelles infections (primaires).(Annexe 1**)**

Au printemps, Juste en-dessous de l'écorce une coloration brun rougeâtre peut s'observer. **(**Annexe 1**)**

b. Au printemps et en été :

Les pédoncules des bouquets floraux atteints prennent une coloration noirâtre et peuvent présenter des gouttelettes d'exsudats ,(source d'inoculum secondaire), aussi peuvent s'observer des filaments cotonneux contenant des bactéries produites au cours d'un climat sec, c'est le symptôme de pourriture sèche (Annexe 1)

Les jeunes pousses (brindilles) atteints ont une extrémité courbée en crosse, qui peuvent porter des gouttelettes d'exsudats sur sa base (Annexe 1).

Les feuilles présentent une couleur brune, ils noircissent rapidement et prennent l'aspect de brulure au feu, nécrosées, desséchées et elles restent fixées sur les rameaux (Annexe 1).

Un desséchement de tous les secteurs des arbres atteints, dont les rameaux entiers, feuilles, fleurs et fruits .Ces organes brunissent, noircissent et se momifient en restant fixés sur les rameaux (Annexe 1).

c. En été

Par temps chaud et humide il y'a une apparition sur les parties malades de gouttelettes d'exsudats. Les fruits attaqués avant maturation noircissent et des gouttelettes

d'exsudats peuvent se former sur la surface des fruits en suite se dessèchent prenant un aspect momifié et restent attachés aux rameaux **(**Annexe1**)**.

d. En hiver

Les parties lignifiées de l'arbre (rameaux et tronc) lors des arrêts de croissance, se développent des chancres dits « indéterminés », Au moment de leur réactivation, des exsudats vont s'écouler par les fissures des chancres et constituer une source d'inoculum primaire le cycle reprend ainsi pour une nouvelle infection au printemps. **(**Annexe 1**)**

I.6.2.3 Cycle biologique de la maladie du feu bactérien :

E. amylovora, la bactérie à l'origine de l'infection hiverne principalement au niveau des marges des vieux chancres à bords dits « indéterminés » dans les tissus de l'écorce formés d'une infection de l'année précédente **(Hartman et Hershman, 1996 ; Thomson et Ockey, 2000 ; Agrios, 2004)**, aussi probablement dans les bourgeons et les tissus en bois apparent sain **(Agrios, 2004).**

Au printemps, les bactéries qui sont dans les marges des chancres deviennent plus actives, cette activité dépend de conditions environnementales, la température entre 21-27°C et l'humidité relative au dessus de 50% sont les conditions optimales de croissance **(Olsen, 2011).**

Quand ces conditions sont optimisées, elles vont favoriser la multiplication et la diffusion de la bactérie dans l'écorce, ces masses bactériennes produisent des exsudats (onze bactériens) gommeux et collants apparaissent par les lenticelles et les fissures des chancres sous forme des gouttelettes de couleur jaune à orange (source d'inoculum primaire) contenant des bactéries **(Draper., Rhoda Burrows., Jerry Mills, 2003 ; Agrios, 2004).**

Ces exsudats sont disséminés par les insectes (les abeilles, les fourmis et les mouches), la rosée et la pluie, par les éclaboussements d'eau et le vent. L'homme aussi peut provoquer la propagation de la maladie par les outils de travail (sécateur, scie) pour contaminer d'autres sites. La bactérie pénètre par conséquent par les ouvertures naturelles (stomates et les hydathodes) les blessures provoquées par les insectes, la grêle et les traces de la taille, les bouquets floraux et les jeunes pousses formées **(Thomson et Ockey, 2000 ; Olsen, 2011**).

Chez un hôte sensible avec un temps humide et chaud, en particulier pendant la floraison, les premiers tissus à devenir infectés sont les fleurs **(Hartman et Hershman, 1996 ; Austin Hagan, 2004)**. Les bactéries se multiplient rapidement en épiphyte sur leurs stigmates ensuite progressent selon le mouvement basipétale (descendant du sommet vers les parties inférieures de la plante-hôte), en masse dans les espaces intercellulaires de l'hôte et ensuite elles gagnent le xylème **(Agrios, 2004).**Les fleurs infectées deviennent vert foncé et noircissent rapidement puis la diffusion à d'autres fleurs et brindilles de l'infection s'opère. Ces organes infectés laissent échapper des gouttelettes d'exsudats (source d'inoculum secondaire) qui

assurent l'infection d'autres fleurs, feuilles et d'autres arbres **(Thomson et Ockey,2000 ; Koski et Jacobi, 2009).**

La multiplication et l'accumulation des bactéries dans les espaces intercellulaires provoquent la mort et l'effondrement des cellules voisines, qui assurent la formation des nouveaux chancres sur les rameaux et le tronc où elles passent l'hiver **(Hartman et Hershman, 1996 ., Agrios, 2004).(**Figure9).

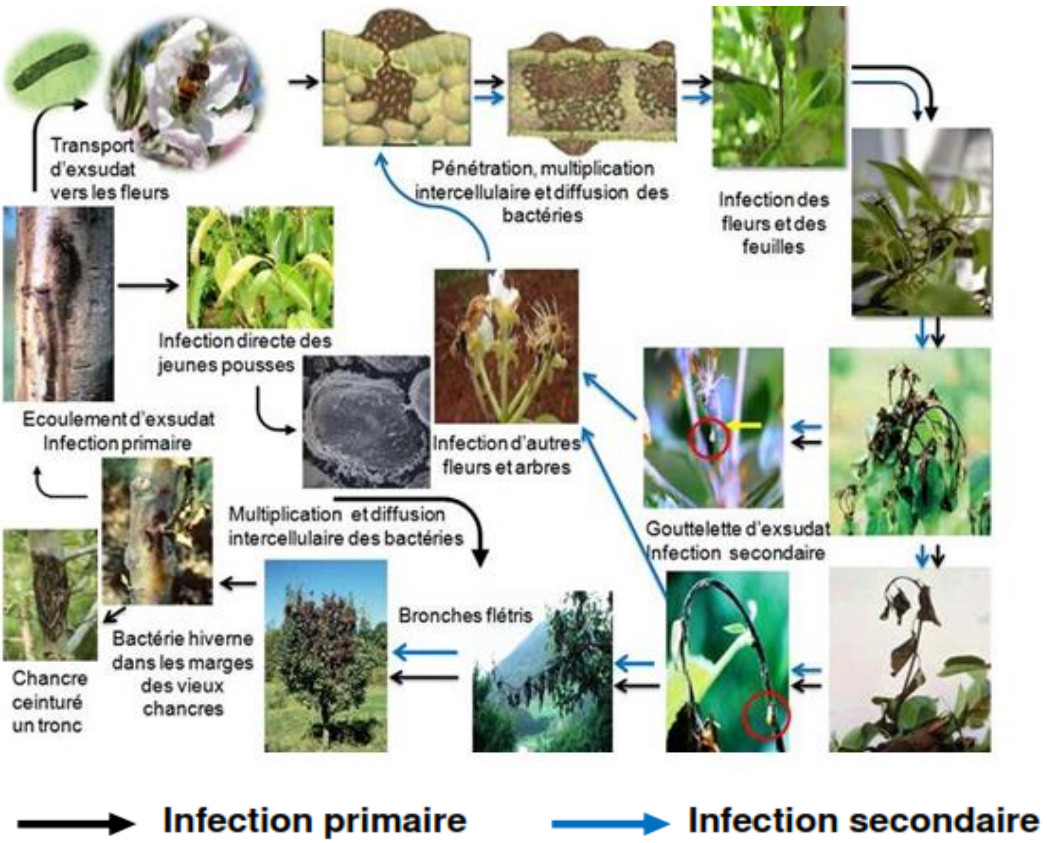


Figure 9 : Le Cycle biologique de la maladie le feu bactérien

I.6.2.4 Agent causal « Erwinia amylovora » :

D'après **Hauben et Swings, 1999** dans la deuxième édition du Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology, *Erwinia amylovora* est une bactérie Gram négative qui appartient à la famille des Enterobacteriaceae.

Synonymes Micrococcus amylovorus **(Burrill,1882)**

Bacillus amylovorus **(OEPP, 2012)**

Baterium amylovorus **(OEPP, 2012)**

Bacterium amylovorum **(OEPP, 2012)**

Erwinia amylovora **(winslow. et al, 1920)**

(Van Der Zwet et Keil, 1979; Hauben et Swings, 1999; Garrity.et al, 2003)

Nom commun Feu bactérien (Français)

Fire blight (Anglais)

Alafha anaria (Arabe)

I.6.2.5 Classification :

La classification de l'agent pathogène du feu bactérien *Erwinia amylovora* est illustrée ci dessous.

La classification d'*Erwinia amylovora* Selon (OEPP, 2012)

Règne	Eubacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacte
Ordre	Entrobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Erwinia
Espèce	*Erwinia amylovora*

I.6.2.6 Morphologie :

La cellule bactérienne d'Erwinia amylovora est un bâtonnet droit de 0.5-1.0 µm de largeur et de 1.0-3.0 µm de longueur **(Hauben et Swings, 1999 ; Agrios, 2004),** avec deux à sept flagelles périthriches, qui assurent la mobilité de la bactérie surtout pendant la période de l'infection **(Bennet et Billing, 1978)** (Figure 10)



Figure 10 : La cellule de la bactérie *E. amylovora* au microscope électronique GX 1 8.000 **(Agrios, 2004)**

I.6.2.7 Les composants cellulaires :

1-Lipopolysaccharides (LPS)

Les LPS sont les composés majoritaire de surface chez les bactéries à Gram négatif, il s'agit de macromolécules tripartites composées d'un lipide (le lipide A) ancré dans la membrane externe, d'un oligosaccharide (ou « core ») et d'un polysaccharide appelé antigène-O (ou chaine O) **(Raetz et *al.*, 2002).**(Figure11)

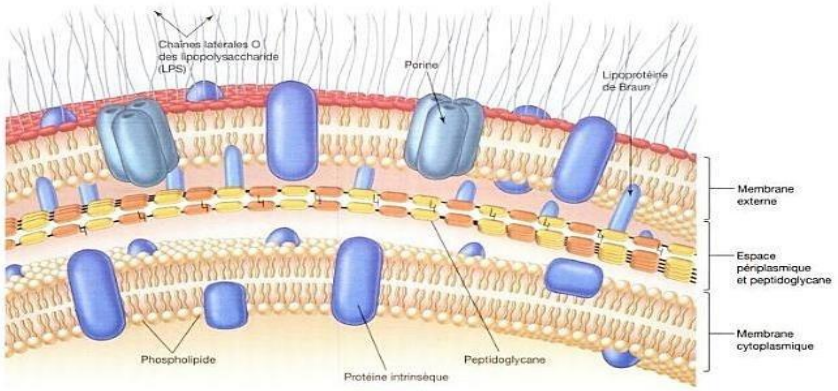


Figure 11: schéma de La structure de l'enveloppe de la cellule d'une bactérie Gram Négative **(Linda et *al.*, 2010)**

2- Plasmide

Erwinia amylovora héberge un plasmide circulaire de 29 kb appelé pEA29, qui est prése nt presque chez toutes les so uches d' *E.amylovora* **(Merckaert et *al.*, 1982; Vanneste, 1983; Falkenstein et *al.*, 1988; Laurent et *al.*, 1989).** Ce plasmide ne peut pas être transmis par conjugaison **(Verdonck et *al.*, 1987)** et particulièrement stable et résistant aux traitements physiques et chimiques **(Laurent et *al.*, 1989).**

I.6.2.8- Lutte contre le feu bactérien :

Toute méthode de lutte contre cette maladie doit s'accompagner de mesures d'éradication (suppression manuelle de pousses voire arrachage des arbres malades) et le préjudice financier est important compte tenu de l'importance économique de poirier.

Les méthodes de lutte actuelles sont diverses mais chacune est d'efficacité limitée. La lutte chimique est appliquée à titre préventif et est considérée comme peu respectueuse de l'environnement. C'est pourquoi de nombreux travaux portent sur la recherche d'agents de lutte, écologiquement plus acceptables, tels que des microorganismes antagonistes, La sélection par rapport à la résistante, les pratique culturales, mais la meilleure méthode pour protéger nos cultures c'est la lutte intégrée qui englobe toutes les méthodes de lutte **(Psallidas et Tsiantos, 2000).**

1. La lutte chimique :

Les produits utilisables en traitement phytosanitaire contre les bactérioses sont les produits cupriques (par exemple la bouillie bordelaise), et n'ont d'efficacité que s'ils sont appliqués en préventif **(Psallidas et Tsiantos, 2000).**

Ce métal ne se dégrade pas dans le sol et se lessive peu, une utilisation répétée peut donc conduire à une accumulation du cuivre à des concentrations toxiques pour la flore du sol et pour la plante elle-même **(Sophie Delaunay-Cesbron, 2009).**

Dans les vergers menacés, la lutte chimique doit prévenir la contamination, par ce que ces produits éliminent ou inactivent la bactérie avant sa pénétration dans les tissus ce qui rend la surface de la plante défavorable pour l'établissement de nouvelles infections. Ainsi, pour obtenir le maximum de la protection de la plante devrait être traité par le cuivre dans trois périodes différentes ; pendant la période de dormance et/ou au début de débourrement, au cours de la période de croissance active de la végétation et durant la période estivale **(Gautier, 1988 ; Francesco Spinelli, 2002).**

Il existe d'autres produits chimiques utiliser contre le feu bactérien comme :

- OXYCHLORURE DE CUIVRE et PHOSETHYL d'ALUMINIUM **(Masseron et Trillot, 1991).**

- Le FLUMEQUINE est un bactéricide de synthèse utilisable pendant la période active de la végétation **(Gautier, 1988)**

2. La lutte biologique :

Les organes les plus sensibles à l'infection par *E. amylovora* étant les fleurs, le contrôle biologique du feu bactérien cherche à établir des bactéries antagonistes au niveau de ces organes avant l'arrivée du pathogène. Il s'agit donc d'un moyen préventif.

Différents microorganismes ont été expérimentés comme :

Pantoea agglomerans (anciennement *Erwinia herbicola*) par exemple, produit des composés inhibant la croissance d'E. amylovora **(Wodzinski et Paulin, 1994).**

Deux antibiotiques (pantocines A et B) ont été caractérisés chez certaines souches et les gènes impliqués dans leur production ont été déterminés. Pantoea agglomerans C9-1 commercialisé au Canada sous le nom BlightBan C9-1 **(Wright et al., 2001).**

Une autre espèce, Pseudomonas fluorescens, a été largement étudiée. Elle agirait par compétition nutritive. La souche A506 de cette espèce est commercialisée aux USA sous le nom de BlightBan A506TM **(Wilson et Lindow, 1993).**

Des espèces de Bacillus, microorganismes de la rhizosphère présents aussi en surface des plantes, peuvent également inhiber la croissance d'E. amylovora. Serenade WPO renferme la souche QST 713 de Bacillus subtilis et est commercialisé dans divers pays **(Jock et al., 2002).**

3. La lutte génétique :

Les Etats-Unis et le canada, confrontés au feu bactérien depuis long temps, ont développé des programmes de sélection de variétés résistantes. Les premières recherches ont mis en œuvre des croisements entre le poirier européen et le poirier oriental : pyrus serotina, pyrus calleryana, pyrus ussurensis. Il en est résulté des

hybrides résistants certes, mais de qualités gustatives ou agronomiques incertaines **(Gautier, 1988).**

L'utilisation de la transgénèse visant à introduire un gène d'intérêt dans un fond génétique connu peut être une alternative intéressante.

Différentes approches sont explorées, elles consistent à faire produire à la plante :

- des substances antibactériennes **(Mourgues et al., 1998)**

- des substances inhibitrices de facteurs du pouvoir pathogène **(Malnoy et al., 2005)**

- des protéines-cibles d'effecteurs modifiés **(Borejsza-Wysocka et al., 2006).**

- des réactions de défense surexprimées **(Malnoy et al., 2007)**

4. Les pratiques culturales :

Les pratiques culturales peuvent jouées un rôle important dans la prévention au feu bactérien. Il est nécessaire de surveiller régulièrement et générale surtout pendant les périodes de risques, non seulement les vergers des arbres fruitiers, mais aussi les espèces ornementales et spontanées (aubépine, sorbier) sensibles au feu bactérien à la proximité des vergers qui doivent les supprimer et incinérer **(Gautier, 1988 ; Paulin et al., 1996).**

Il faut tailler avant mars par temps sec en commençant par les vergers sains et en terminant par les vergers contaminés, et il faut enlever et incinérer les branches malades ou qui portes les chancres comme source d'inoculum primaire, en taillant à 70 Cm au-dessous des symptômes, avec une désinfection des outils de taille avec l'alcool ou de l'eau de javel (trempage prolongé) ou passage par la flamme **(Giraud et al, 1996., Francesco Spinelli, 2002).**

Il est très important de respecter un bon équilibre de l'arbre sans excès de vigueur, et d'éviter les applications tardives d'azote qui prolongent la croissance des pousses et retardent l'aoûtement, aussi la suppression des secondes floraisons pour limiter les attaques de feu bactérien **(Masseron et Trillot, 1991 ; Giraud et al, 1996).**

Il faut éviter l'introduction de la maladie par les importations du matériel végétale contaminé qui peut-être en phase d'incubation sans symptômes apparent **(Bretaudeau et Yves Faure, 1991).**

cultures utilisées lors de la rotation et d'études épidémiologiques réalisées récemment au champ, il est possible de limiter les pertes sur pieds dues à ces pathogènes (**NACHIN, L, 2000)**.

Des mesures visant à limiter la présence des pathogènes sur le tubercule après récolte et leur dissémination dans l'environnement sont à l'étude. Par exemple, l'utilisation de réacteurs de décontamination dont la technologie est basée sur l'émission de plasmas froids est envisagée pour traiter les eaux de lavage des tubercules après récolte (**Moreau M, 2005**).

Au champ, les traitements chimiques des cultures à base de cuivre ou d'organomercure demeurent peu efficaces et sont déconseillés pour des raisons de protection de l'environnement (**Priou S, 1996)**. De nouveaux composés capables d'altérer l'intégrité cellulaire bactérienne ou d'inhiber la croissance des Pectobacteria ont montré, au contraire, une réelle efficacité lors d'essais au laboratoire : il s'agit de solutions salées de chlorure d'aluminium et de méta bisulfite de sodium (**Yaganza ES, 2004)** ou de peptides de synthèses (**Kamysz W, 2005**). Si ces composés peuvent sembler très intéressants grâce à leur large spectre d'hôte (fongique et bactérien), le risque écologique d'altération des équilibres microbiens apparaît très important.

2. Les cultivars résistants :

L'utilisation de cultivars résistants à la pourriture molle de la pomme de terre, bien que prometteuse grâce aux progrès de la biotechnologie, demeure une pratique difficile, les bases biochimiques (contrôle des allergènes par exemple) et génétiques (complexité génétique de la pomme de terre et ses agents pathogènes) de la résistance étant encore mal comprises (**DE BOER, S. H. 1994**). Actuellement, tous les cultivars commerciaux sont reconnus plus ou moins sensibles à la pourriture molle (**STEVENSON**, **2001; RODRIGUEZ-SAONA , 1997**).

Ce constat a amené certains généticiens à proposer d'autres voies de sélection. L'une d'elles passe par la création de variétés transgéniques, c'est-à-dire de pomme de terre ayant intégré un ou plusieurs gènes issus d'une autre espèce microbienne, végétale ou animale. L'une des premières constructions réalisées a consisté à intégrer dans le génome de la pomme de terre un gène originaire d'un bactériophage codant pour la production de lysozyme qui dégrade la membrane de certaines bactéries. La plante modifiée fabrique du lysozyme qui est transporté vers les espaces intercellulaires des tissus végétaux. Cette opération diminue significativement la sensibilité de la variété étudiée aux attaques de *P. atrosepticum*, que ce soit lors d'essais sur tubercules ou sur plantules cultivées en serres. Ces effets bénéfiques sont attribués à la production du lysozyme qui inhiberait la multiplication des bactéries et maintiendrait leur densité en dessous du niveau de virulence (**DÜRING K, 1993**).

3. L'utilisation des sels

Les résultats de nombreux travaux utilisant divers composés antimicrobiens pour lutter contre les agents pathogènes des plantes (**HERVIEUX Vet al, 2002** ; **MECTEAU M.et al, 2002**). Ces travaux suggèrent que les sels organiques et inorganiques peuvent constituer une alternative intéressante pour contrôler les maladies des tubercules entreposés. De plus, la biocompatibilité des sels (**HORST R., et al, 1992**°, leur faible coût et le fait qu'ils possèdent un large spectre antimicrobien, les rendent intéressants en vue d'une utilisation pour lutter contre les maladies végétales (**OLIVIER C,et al, 1998)**. Ils sont en outre simples d'utilisation et requièrent relativement peu d'exigence de la part des instances de réglementation en vue de leur acceptation comme agents antimicrobiens (**AHARONI Y.et al, 1997**).

4. La lutte physique

Si la manipulation soigneuse des plantes pendant la récolte et le stockage permet de réduire les blessures et limiter ainsi les possibilités d'infection par le pathogène, d'autres moyens de lutte physique permettent de lutter contre les Pectobacterium **(Czajkowski et al., 2011).**

Différents moyens peuvent être mises en oeuvre tels que : La ventilation d'air extérieur pendant le transport et les contrôles de température et d'humidité pendant le stockage sont des pratiques supplémentaires qui peuvent limiter l'infection ou la propagation du pathogène.

Lesproducteurs ont aussi les moyens de limiter la pourriture molle pendant le stockage en éliminant les tubercules endommagées ou malades. De plus, des mesures sont à l'étude, visant à limiter la présence des pathogènes sur le tubercule après récolte et leur dissémination dans l'environnement. **Moreau et al., (2005)** envisagent l'utilisation de réacteurs de décontamination dont la technologie est basée sur l'émission de plasmas froids pour traiter les eaux de lavage des tubercules après récolte.

5. Lutte biologique

La lutte biologique est définie classiquement comme l'utilisation d'agents biologiques (virus,bactéries, champignon, nématodes…), pour lutter contre les organismes pathogènes et les ravageurs des plantes. Cette technique repose essentiellement sur l'exploitation des relations dynamiques entre la plante et son environnement. Différentes approches de base de la lutte biologique ont ainsi été définis : la compétition, le parasitisme, l'antibiose et l'induction des systèmes de défense chez la plante.

- **La compétition** entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments

nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour la croissance **(Neeno-Eckwall et al., 2001).**

-Le parasitisme ou l'utilisation d'organismes vivants (appelés auxiliaires) pour empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés par des organismes nuisibles. Plus d'une centaine d'espèces d'auxiliaires sont utilisées dans le monde mais la très grande majorité est représentée par des insectes parasitoïdes. Aucun traitement de lutte efficace contre les *Pectobacterium* basé sur ce mécanisme n'est disponible actuellement.

- **L'antibiose** ou l'inhibition d'un microorganisme par le produit métabolique d'un autre est proposé par certains auteurs comme une approche de lutte biologique efficace contre les *Pectobacterium* sp. **Baz et al (2012)** montrent que l'utilisation des actinomycètes, connues pour produire des substances antibiotiques, inhibe le développement de la pourriture molle de quatre cultivars différents de pomme de terre causé par Pcc et Pa.

D'autres microorganismes modèles, appartenant au genre *Pseudomonas,* ont été principalement étudiés au laboratoire en tant que biopesticides potentiels pour leur

capacité à former des sidérophores de type pseudobactin ou pyoverdine. Cependant, l'efficacité de ces isolats n'a jamais été démontrée au champ. Cela pourrait être attribué aux différences de caractéristiques biotiques et abiotiques des sols, qui ne

permettent pas à ces souches de maintenir dans le temps une population suffisamment élevée pour être efficace **(Duffy et al., 2003; Latour et al., 2008).**

Liste des abréviations

ANOVA : Analysis of variance.

C : concentration
CAT : Catalase.

CLG: Clou de girofle

CMI: Concentration minimale d'inhibition

CMB: Concentration minimale Bactéricide

D : Dose

DO : Densité optique

DSA : direction des services agricoles

EUC: Eucalyptus globulus

Fig. : Figure

HE : huile essentielle

HR : Hypersensibilité

KB : King B

KOH : hydroxyde de potassium

Lau *:* *laurie nobilis*

LPGA: milieu Levure-Peptone-Glucose-Agar

LPS: Lipopolysaccharides

P.c.c: Pectobacterium carotovorum subsp.carotovorum

Sys : *Syzggium aromaticum*

SRPV : station régionale de protection des végétaux

T: Témoin

UV : Ultra violet

ZI : zone d'inhibition