

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

Projet de fin d'Etudes

En vue de l'obtention Du diplôme de Master Académique En
Sciences De La Nature Et De La Vie

Option : **Biologie Des Interactions Plantes Microorganismes**

Pathogénéicité et Phylogénie des espèces de *Botryosphaeriaceae*
associées au dépérissement du pêcher (*Prunus persica* L.)
Dans la wilaya de Tipaza

Présenté par : KERMIA SOUMIA

Soutenu devant le jury composé de :

Mme CHAOUIA C.	MCA	U.S.D.Blida	Présidente
Mme BERRAF A.	MCA	U.S.D.Blida	Promotrice
Mme BOUCHENAK.F	MCB	U.S.D Blida	Examinatrice

Année universitaire : 2015 / 2016

REMERCIEMENT

*Louange à **DIEU**, seigneur de l'univers, qui m'a comblé de ses bienfaits, m'a guidé toutes les années d'études et m'a donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.*

*Mes chers **parents** Je n'ai sûrement pas les mots suffisants ni le vocabulaire assez étoffé pour vous témoigner tous mes remerciements pour vos encouragements, votre amour, patience et présence.*

*Je désire alors exprimer ma profonde gratitude accompagnée de l'expression de mon respect à Mm **BERRAF A**. Je lui suis reconnaissante pour son soutien constant dans les moments les plus difficiles, pour ses conseils, sa disponibilité, ses multiples corrections et critiques judicieuses ainsi que pour ses qualités humaines, je ne la remercierai jamais assez.*

Je voudrais remercier chaleureusement chacun des membres du jury qui me font le grand honneur de juger ce travail.

*J'adresse ma gratitude à Mm **CHAOUIA H** d'avoir accepté de présider le jury de mon mémoire.*

*Je remercie vivement Mme **BOUCHENAK F** d'avoir accepté de juger mon travail.*

Un grand merci à l'ingénieur du laboratoire de microbiologie du département de biotechnologie qui nous a assuré de bonnes conditions pour achever ce travail.

*Mille mercis à mes **frères** et **sœurs**, qui ont toujours été là pour moi, qui m'ont encouragé en tout temps et qui m'ont donné leur amour tout au long de mon cheminement.*

*Je tiens à remercier mon cousin **SOFIEN** qui m'a accompagné et aidé lors de mes prospections.*

Je remercie également le propriétaire de l'exploitation agricole de nous avoir permis de réaliser les prélèvements au sein de ses vergers.

*Ma vive reconnaissance à ma collègue **MOUNIA** pour son aide, son soutien constant et son amitié.*

*Milles merci à ma copine **AMINA** qui a partagé avec moi tout les moments de ce travail.*

*Mes remerciements s'adressent à tous mes **amis** grâce auxquels ces années resteront pour moi plus qu'une aventure scientifique.*

*Je remercie également tous les **enseignants** qui ont contribué à ma formation.*

Dédicaces

Le présent travail est dédié à

A la mémoire de mon père paix sur son âme

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi ,pour exprimer ce que tu mérites, pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance, et jusqu'au jour où tu nous a quitté.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, t'accorder sa miséricorde, et t'accueille dans son vaste paradis.

Repose en paix mon cher papa

A ma source de bonheur et de tendresse ma chère maman

*Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence,
l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier
pour moi.*

*Tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour
mener à bien mes études.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer ce que tu mérites, tu as fait
plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin
dans leur vie et leurs études.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour
Que Dieu, le tout puissant, te préserve et t'accorde santé, bonheur et
longue vie.*

Pathogénécité et Phylogénie des espèces de *Botryosphaeriaceae* associées au dépérissement du pêcher (*Prunus persica* L.) dans la wilaya de Tipaza

RESUMÉ

De nos jours, les maladies du bois constituent une affection très redoutable qui touche les espèces ligneuses. Parmi celles-ci la vigne, les agrumes et les arbres forestiers. Afin d'apporter une contribution à la compréhension du problème de dépérissement qui touche l'arboriculture fruitière nous avons ciblé la culture du pêcher.

Une étude a été menée dans deux vergers, où le bois de 40 arbres a été examiné et a révélée la présence de plusieurs types de nécroses. La nécrose brune et dure en position centrale est la plus rencontrée avec 22 nécroses, suivie par la nécrose brune et dure en position sectorielle avec 10 nécroses dans les deux vergers.

Un total de 32 isolats appartenant à la famille des *Botryosphaeriaceae* a été isolé à partir des buchettes découpées dans les différentes zones des lésions vasculaires. Ainsi, 15 isolats ont été obtenus à partir du verger I et 17 isolats, à partir du verger II. La caractérisation morphologique et moléculaire par séquençage des ITS, a mis en évidence deux espèces appartenant à deux genres différents de la famille des *Botryosphaeriaceae* à savoir *Neofusicoccum algeriense* et *Diplodia malorum*.

Une relation existe entre les nécroses du bois et les agents fongiques identifiés; *Neofusicoccum algeriense* a été isolé à partir de tous les types de nécroses, et plus particulièrement de la nécrose brune et dure en position sectorielle avec une fréquence d'isolement de 71,9%. *Diplodia malorum* a été faiblement isolée à partir de toutes les nécroses, alors qu'elles sont absentes au niveau des nécroses brunes et dures en position centrale et celle claire et tendre toujours en position centrale avec une fréquence de 28,1%.

Le test de pathogénécité effectué sur des branches asymptomatiques de pêcher, a montré que les isolats de *Neofusicoccum algériense* et ceux de *Diplodia malorum* ont produits des lésions nécrotiques sur le bois après inoculation et incubation d'un mois. Après ré-isolement le postulat de *Koch* a été confirmé pour les deux espèces testées.

Mots clés : dépérissement ; pêcher ; nécrose ; *Botryosphaeriaceae* ; *Neofusicoccum algeriense* ; *Diplodia malorum*.

Pathogenicity and phylogeny of species *Botryosphaeriaceae* associated with decline of peach (*Prunus persica* L.) in the province of Tipaza

Abstract

Nowadays, wood diseases are a very serious problem that affects ligneous species. These include grapes, citrus fruit and forest trees. To contribute to understand the problem of decline that occurs on fruit trees we focused on the culture of peach.

A study was conducted in two orchards where wood from 40 trees was reviewed and revealed the presence of several types of necrosis. The brown hard necrosis in the central position was the most encountered with 22 necrosis, followed by brown hard necrosis in a sectorial position with 10 necrosis in both orchards in in both orchards.

A total of 32 isolates belonging to the family of Botryosphaeriaceae was isolated from buchettes cut in different areas of vascular lesions. Thus, 15 isolates were obtained from the orchard I and 17 isolates from the orchard II. Morphological and molecular characterization by sequencing the ITS, highlighted two species belonging to two different genera of the family Botryosphaeriaceae namely *Neofusicoccum algeriense* and *Diplodia malorum*.

A relationship exists between necrosis wood and fungal agents; *Neofusicoccum algeriense* is isolated from all types of necrosis and especially from the brown hard necrosis in a sectorial position with an isolation frequency of 71,9%. *Diplodia malorum* was slightly isolated from all necrosis, whereas they are absent in brown and hard necrosis in the central position and clear and soft center position with an isolation frequency of 28,1%.

The pathogenicity test performed on asymptomatic branches of peach, showed that both species *Neofusicoccum algeriense* and *Diplodia malorum* produced necrotic lesions on wood after inoculation and incubation of one month. After re-isolation, Koch's postulates, was confirmed for both species tested.

Keywords: decline; peach; necrosis; Botryosphaeriaceae; *Neofusicoccum algeriense*; *Diplodia malorum*.

ملخص

في الوقت الحاضر، تعد امراض جذوع الاخشاب من الأمراض التي تهدد الأنواع الخشبية من بينها الكروم , الحمضيات وأشجار الغابات. من اجل الإسهام في فهم مشكلة الاضمحلال الذي يحدث في زراعة الفاكهة تم اختيار شجرة الخوخ لإجراء الدراسة.

وقد أجريت دراسة في بستانين حيث تم فحص الخشب من 40 شجرة وكشف وجود عدة أنواع من النخر. نخر بني صلب مركزي المتواجد بكثرة حيث تم استخراج 22 نخر يليها النخر البني الصلب الجانبي ب 10 نخر في كل من البستانين. كما تم اجراء عزلات من مختلف أنواع النخر و تم الحصول على 32 عزلة تنتمي الي عائلة *Botryosphaeriaceae*. تم الحصول على 15 عزلة من البستان الاول و 17 عزلة من البستان الثانى

توجد علاقة بين نخر الخشب و الفطريات. تم عزل النوع *Neofusicoccum algeriense* من جميع أنواع النخر بتردد 71,9% عزلة *Diplodia malorum*. تم عزله من النخر البني الصلب الجانبي بتردد 28.1%. كما تم اجراء اختبار المرضية على فروع من الخوخ بدون اعراض وأظهر أن النوين. أنتج آفات نخرية على الخشب بعد شهر من التلقيح. بعد إعادة العزلة تم تأكيد مسلمات *Koch*.

الكلمات المفتاحية:

الاضمحلال; *Diplodia malorum*; نخر , شجرة الخوخ ; *Neofusicoccum algeriense*

Liste des figures

Figure 1 : Feuilles du pêcher.....	04
Figure 2 : Fleur du pêche.....	04
Figure 3 : Les productions du pêcher	08
Figure 4 : Taille de fructification.....	09
Figure 5 : Attaque de Taphrina deformans sur feuilles de pêcher.....	12
Figure 6 : Symptôme de moniliose sur fruit	12
Figure 7 : Symptôme de l'oïdium sur fruit.....	12
Figure 8 : Attaque du Botrytis sur fruit	12
Figure 9(C) : Symptôme de coryneum sur fruit.....	13
Figure 9(D) : Symptôme de coryneum sur feuille.....	13
Figure 10 : Dégâts de la maladie des taches bactériennes.....	14
Figure 11 : Exsudation de gomme.....	14
Figure 12(H) : Décoloration diffuse par plage sur feuille.....	15
Figure 12(I) : Anneaux décolorés sur fruit.....	15
Figure 13 : Schéma des étapes de la caractérisation morphologique et moléculaire des isolats.....	28
Figure 14 : Segments de branches asymptomatiques.....	36
Figure 15 : : Incision faite à l'aide d'un scalpel.....	36
Figure 16 : Incisions scellées avec du parafilm.....	36
Figure 17 : Pastilles de <i>Neofusicoccum algeriense</i>.....	37
Figure 18 : Pastilles de <i>Diplodia malorum</i>.....	37
Figure 19 : Branches en incubation.....	37

Figure 20(A) : Arbre complètement dépéris.....	38
Figure 20(B) : Feuilles jaunâtres et rabougries.....	38
Figure 21 : Arbres partiellement dépéris.....	39
Figure 22(E) : Rameau dépéri.....	40
Figure 22 (F) : Arbre absent.....	40
Figure 23 : Arbre d'apparence saine.....	40
Figure 24 : Nécrose brune et dure en position sectorielle.....	42
Figure 25 : Nécrose brune et tendre en position centrale.....	42
Figure 26 : Nécrose claire et tendre en position centrale.....	42
Figure 27 : Nécrose brune et dure en position centrale.....	42
Figure 28 : Un des 448 arbres phylogénétiques obtenu par un maximum de parcimonie à partir des séquences ITS (TL=344 pas, CI=0,727, RI=0,901, HI=0,273). Les espèces de la présente étude sont représentées en gras. <i>Botryosphaeria dothidea</i> et <i>Botryosphaeria corticis</i> ont été utilisées comme outgroup.....	45
Figure 29 : Un des 64 arbres phylogénétiques obtenu par un maximum de parcimonie à partir des séquences ITS (TL=307 pas, CI=0,752, RI=0,917, HI=0,248). Les espèces de la présente étude sont représentées en gras. <i>Lasiodiplodia theobromae</i> a été utilisée comme outgroup.....	47
Figure 30 : Résultat de l'inoculation de <i>Neofusicoccum algeriense</i>.....	50
Figure 31 : Résultat de l'inoculation de <i>Diplodia malorum</i>.....	51
Figure 32 : Bouture témoin.....	51
Figure 33 : Colonies de <i>Neofusicoccum algeriense</i> ré-isolées à partir des nécroses.....	52
Figure 34 : Colonies de <i>Diplodia malorum</i> ré-isolées à partir des nécroses.....	52

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales maladies du pêcher et leurs agents causals.....10

Tableau 2 : Principaux ravageurs du pêcher et leurs dégâts.....16

Tableau 3 : Numéros d'accèsion à GenBank et données des espèces de *Neofusicoccum* utilisées pour la construction des arbres phylogénétiques.....31

Tableau 4 : Numéros d'accèsion à GenBank et données des espèces de *Diplodia* utilisées pour la construction des arbres phylogénétiques.....33

Tableau 5 : Données chiffrées des types de nécroses dans les deux vergers.....43

Tableau 6 : Fréquence d'isolement des agents fongiques.....48

Tableau 7 : Localisation des espèces dans les nécroses.....49

TABLES DES MATIERES

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION

CHAPITRE I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

I.L'arboriculture fruitière.....	01
I.1.L'arboriculture fruitière en Algérie.....	01
I.2.Présentation du pêcher.....	03
I.3.Caractéristiques taxonomiques et génétiques.....	03
I.4.Caractéristiques morphologiques et phénologiques.....	04
I.5.Exigences pédoclimatiques.....	04
I.5.1.Température.....	04
I.5.2.Besoin en eau.....	05
I.5.3.Sol.....	06
I.5.4.Variétés.....	06
I.6.Techniques culturales.....	06
I.6.1.Fumure.....	06
I.6.2.Taille et forme et de conduite.....	07
I.6.2.1.Production de pêcher.....	07
I.6.2.2.Taille de fructification.....	08
I.6.2.3.Interventions hivernales.....	08
I.6.2.4.Taille en vert.....	09
I.6.2.5.Eclaircissage manuel.....	10
II. Les principales maladies du pêcher.....	10
II.1.Maladies fongiques.....	11
II.1.1.La cloque du pêcher.....	11
II.1.2.La moniliose.....	11
II.1.3.L'oidium.....	11
II.1.4.La pourriture grise.....	11
II.1.5.La maladie criblée.....	11
II.2.Maladies bactériennes.....	13
II.2.1.Maladies des taches bactériennes.....	13
II.2.2.Le chancre bactérien.....	13
II.3.Maladie virale.....	14
II.3.1.La sharka.....	14

II.4. Ravageur.....	15
III. Généralité sur les maladies du bois.....	17
III.1. Agents fongiques impliqués dans le dépérissement.....	17
III.2. Généralité sur les <i>Botryosphaeriaceae</i>	18
III.2.1. Caractéristiques des <i>Botryosphaeriaceae</i>	18
III.2.2. Les espèces des <i>Botryosphaeriaceae</i> associées aux maladies du bois des arbres fruitiers à pépins et à noyaux.....	19
III.2.3. Taxonomie et phylogénie.....	19
III.3. Facteurs favorisant le développement des maladies du bois.....	21
III.3.1. Facteurs cultureux et environnementaux.....	21
III.3.1.1. Le mode de conduite.....	21
III.3.1.2. La taille.....	22
III.3.1.3. Le sol.....	22
III.3.1.4. Le climat.....	22
III.3.1.5. Les stress cultureux.....	23
IV. Méthodes de lutte.....	23
IV.1. Mesures prophylactiques.....	23
CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES	
I. Objectif de l'étude	24
II. Localisation du site d'étude	24
III. Diagnostic sur le terrain.....	25
III.1. Caractéristiques des vergers étudiés.....	25
III.2. Diagnostic symptomatique et échantillonnage.....	25
IV. Diagnostic au laboratoire.....	25
IV.1. Désinfection des buchettes.....	26
IV. 2. Isolement des agents fongiques.....	26
IV.3. Observation et repiquage.....	26
IV. 4. Purification et conservation des isolats.....	26
V. Techniques d'identification des isolats.....	27
V.1. Identification macromorphologique.....	27
V.2. Identification moléculaire des isolats.....	27
V.2.1. Traitement des séquences.....	29
V.2.2. Alignement des séquences.....	29
V.2.3. Construction des arbres phylogénétique.....	30
V.2.4. Visualisation des arbres phylogénétiques	35
VI. Test de pathogénéicité.....	35
VI.1. Méthodologie.....	35
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION	
I. Diagnostic symptomatique.....	38
I.1. Description des symptômes externes.....	38
II. Diagnostic au laboratoire.....	41
II.1. Description des symptômes internes... ..	41

II.1.1. Taux des différentes nécroses observées dans le bois.....	43
II.2. Isolement et identification des Botryosphaeriaceae associés au	
dépérissement du pêcher	44
II.2.1. Fréquences d'isolement des agents fongiques.....	48
II.2.2. Localisation des deux espèces par rapport aux nécroses.....	49
III. Test de pathogénéicité.....	50
III.1. Test de pathogénéicité de l'espèce <i>Neofusicoccum algeriense</i>.....	50
III.2. Test de pathogénéicité de l'espèce <i>Diplodia malorum</i>.....	50
III.3. Ré-isolement des agents pathogènes.....	52
CONCLUSION.....	53
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	
ANNEXES	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'arboriculture fruitière fait partie intégrante de la vie économique et sociale de l'Algérie. Ce vaste pays, de par sa position géographique privilégiée et ses diverses conditions pédoclimatiques, a en effet le privilège de mettre en culture plusieurs espèces fruitières (Benettayeb, 1993).

Durant la période coloniale il y a eu une introduction massive de variétés de rosacées (poirier, pommier, abricotier, pêcher, cerisier, amandier, grenadier, néflier) et depuis 2000, le ministère de l'agriculture et du développement rural a initié un Plan National de Développement Agricole (PNDA) qui a permis d'amorcer une période de croissance marquée par une stabilité relative malgré les conditions climatiques difficiles (INRAA, 2006).

L'arboriculture fruitière est très diversifiée en Algérie. Elle est constituée essentiellement, de l'olivier (383 444 ha), de la vigne (70 753 ha), des agrumes (66 017 ha), et du figuier (44 395 ha), qui sont les espèces les plus importantes sur le plan économique et social (M.A.D.R 2014).

La superficie totale de plantation fruitière est estimée selon les statistiques de 2014 à 898 930 ha (vigne non incluse) ; et le verger arboricole fruitier, représenté par les rosacées à noyaux et à pépins, occupe une superficie estimée à 240 356 ha. La superficie totale de la culture du pêcher est estimée à 23 590 ha, avec une production de 1 751 740 qx (M.A.D.R 2014).

Comme toute plante, le pêcher est sujet à de nombreuses attaques d'agents pathogènes d'origines virales, bactériennes et fongiques. Ces derniers peuvent pénétrer par différentes voies tels que les plaies de taille, ainsi que par les autres blessures accidentelles et se développent lentement dans le bois et par conséquent, causer des dommages à la plante (Galet, 1995 ; Dubos, 2002).

Les maladies du bois existent dans le monde depuis toujours, mai depuis les années 2000 qu'elles sont considérées comme faisant partie des problèmes sanitaires les plus préoccupants des plantes et plus particulièrement des vignobles. Elles sont causées par des champignons lignicoles pénétrant par des blessures, en particulier lors de la taille (Larignon, 2012).

Des champignons pionniers qui progressent dans le bois, obstruent les vaisseaux, produisent des toxines et contribuent à la formation de nécroses.

Plusieurs facteurs semblent être impliqués dans ces maladies qui engendrent un stress vasculaire pouvant conduire à la mort de la plante. Plusieurs complexes fongiques ont été mis en cause et associés à ces différentes maladies du bois (Dubos, 2002).

Les maladies du bois font l'objet de plusieurs études à l'échelle mondiale, elles sont surtout étudiées sur la vigne (Chiarappa, 1959; Larignon and Dubos, 1997; Mugnai *et al.*, 1999; Pascoe and Cottral, 2000; Armengol *et al.*, 2001; Rumbos and Rumbou, 2001; Fischer and Kassemeyer, 2003; Sofia *et al.*, 2006, Berraf et Peros, 2005), ainsi que sur d'autres cultures :

L'amandier (Gramaje *et al.*, 2012), l'olivier (Moral *et al.*, 2010 ; Ismail *et al.*, 2013 ; Carlucci *et al.*, 2013), les agrumes (Elena *et al.* 2006), le Kiwi Elena et Paplomatas, 2002 ; Di Marco *et al.*, 2004) ainsi que sur les arbres fruitiers à pépins (Cloete, 2010 ; Sessa *et al.* 2016).

Plusieurs champignons sont incriminés dans les maladies du bois et sont étudiés par plusieurs chercheurs ; les espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae*, celles des *Diatrypaceae*, les *Phaeomoniella* spp., les *Phaeoacremonium* spp., les *Fomitiporia* spp..

Les espèces de *Botryosphaeriaceae* sont des pathogènes très redoutables affectant les plantes ligneuses tels que les arbres fruitiers à pépins et à noyau provoquant plusieurs symptômes ; la pourriture des fruits, des taches foliaires, des chancre des tiges et des branches, de la gommose, des dépérissements et, dans certains cas, la mort de l'arbre (Weaver, 1974; Brown & Britton, 1986; Britton *et al.*, 1990; Pusey, 1993; Parker & Sutton, 1993a). L'infection s'effectue soit par des blessures ou directement à travers les stomates et d'autres ouvertures (Brown & Hendrix, 1981; Smith & Hendrix, 1984; Britton & Hendrix, 1989; Kim *et al.*, 2001). Ces champignons peuvent alors persister dans les tissus sains. La réussite de l'infection et la susceptibilité des arbres infectés est étroitement liée aux conditions environnementales, où les températures élevées, l'asphyxie racinaire et d'autres formes de stress favorisent l'infection (Holmes & Rich, 1969; Wene & Schoeneweiss, 1980; McGlohon, 1982; Arauz & Sutton, 1989, 1990a; Ahimera *et al.*, 2003).

Aujourd'hui, aucune méthode de lutte n'a été identifiée comme pleinement efficace pour faire face à ces agents pathogènes.

Le travail mené dans la présente étude a comme objectif d'acquérir des connaissances sur l'importance des dépérissements du pêcher et contribuer à l'identification morphologique et moléculaire des espèces de *Botryosphaeriaceae* inféodées aux dépérissements.

Notre travail a été réalisé en plusieurs étapes à savoir :

- La première étape a été réalisée sur le terrain sous forme d'une enquête comprenant des observations directes des symptômes de dépérissement et un échantillonnage qui consiste à prélever des branches à partir des arbres symptomatiques.
- La seconde étape a été réalisée au laboratoire, où nous avons recherché et isolé les champignons appartenant à la famille des *Botryosphaeriaceae* inféodés au dépérissement du pêcher.
- La troisième étape a comporté l'identification moléculaire des *Botryosphaeriaceae* ; par une analyse phylogénétique des isolats obtenus, afin de les positionner dans leur taxon correspondant.
- Enfin un test de pathogénécité a été réalisé afin de confirmer la pathogénécité des espèces identifiées dans notre étude.

CHAPITRE I.

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

I. L'arboriculture fruitière

L'arboriculture fruitière revête une grande importance agronomique et socio-économique. En effet, elle constitue une source des revenus tant pour les producteurs individuels que pour les pays producteurs. L'arboriculture fruitière soutient ceux qui la pratiquent par la vente de ses produits, pouvant facilement améliorer leurs conditions de vie tout en augmentant les niveaux des revenus. De même elle contribue à l'autosuffisance en matière de fruits frais et transformés, au développement du secteur agro-industriel, à la valorisation et la mise en valeur des zones de montagnes et des régions à microclimat, aux exportations agricoles, à la conservation des sols, à la lutte contre l'érosion, et aux transferts des technologies (Bouattoura, 1988).

Sur le plan alimentaire, les fruits sont utiles à plus d'un titre : ils peuvent être consommés frais ou après transformation en jus, en confitures et en liqueurs (Jamin., *et al* 2003).

I.1. L'arboriculture fruitière en Algérie

L'arboriculture est une branche professionnelle de l'agriculture consacrée à la production intensive de fruits pour l'alimentation, elle est caractérisée par la diversité de ses fruits. Cette branche de notre agriculture n'arrive plus à répondre à la demande de la population dont le nombre et les besoins grandissent de manière progressive.

Le secteur de l'arboriculture fruitière et de la viticulture occupe une place prépondérante dans le programme national de développement agricole, grâce à la nouvelle démarche d'adaptation des systèmes de production aux vocations pédoclimatiques des zones, visant une meilleure efficacité technico-économique (Kerboua, 2002).

En analysant l'évolution de l'arboriculture fruitière en Algérie, Chaouia *et al.* (2003) ont retenu 4 étapes :

- l'agriculture coloniale a favorisé le développement de productions destinées à l'exportation vers la métropole, c'est le développement de la vigne de cuve, des agrumes, des dattes, des figues sèches, des olives de table et huile d'olive. Ces cultures permettaient de valoriser différents terroirs comme les zones de montagne humides, les zones marginales semi-arides de l'ouest, les plaines irriguées et les systèmes oasiens. Ce développement a été possible grâce à l'introduction et à la sélection de

variétés adaptées. Ce travail a permis d'imposer sur les marchés internationaux des produits spécifiques qui disposaient d'un label reconnu.

- Après l'indépendance, nous avons assisté à la régression des productions coloniales et au développement des espèces fruitières à noyaux et à pépins, avec l'arrachage des cépages de vigne de cuve, du vieillissement des vergers d'agrumes, du recul de la palmeraie dans les oasis, et de la dégradation des périmètres irrigués pour l'oléiculture de table. Ce choix stratégique a conduit à la perte des marchés à l'exportation et a permis de réorienter la production vers le marché intérieur.
- La réorganisation du secteur public agricole de 1987, a accentué la déstructuration des productions coloniales. Il ya eu parallèlement la hausse des prix de l'équipement, des intrants agricoles, de la levée des subventions de l'Etat au secteur et de la restriction des crédits bancaires. La restriction a touché le sous secteur de la production de plants, et l'absence de programme a conduit à l'abandon des parcs à bois et des champs pieds mères (CPM), et à la réduction du nombre de pépiniéristes. Parallèlement, le manque de moyens des exploitations agricoles a conduit à l'absence d'entretien des plantations.
- La relance du secteur a été envisagée dès 1985, avec l'adoption par le gouvernement du programme de développement de l'arboriculture fruitière, de la viticulture et de la phoeniciculture. Le programme sectoriel n'a eu en fait connu un début d'application qu'avec la mise en place des fonds de développement en 1995, C'est surtout le lancement du PNDA, en 2000, que les réalisations ont été significatives, mais le programme se heurte à l'insuffisance de la production nationale, et il fait appel aux importations.

I.2. Présentation du pêcher

Le pêcher, (*Prunus persica*) est une espèce d'arbres fruitiers de la famille des *Rosaceae*, cultivée pour son fruit comestible, la pêche.

Le pêcher est un petit arbre cultivé depuis l'Antiquité dans le bassin méditerranéen. En se fondant sur la littérature classique, Herdick (1919) avait conclu que le pêcher était arrivé en Grèce au IV^e siècle avant notre ère, en provenance de Perse. Toutefois, une découverte récente de restes de pêche datant du VII^e siècle avant notre ère, dans l'île de Samos, indique que le pêcher pourrait être arrivé plusieurs siècles plus tôt. Les romains cultivaient cinq variétés de pêchers qu'ils dénommaient *malum persicum* 'pomme de Perse'. Le latin *persicum* a donné l'italien *pesca*, le français pêche et l'anglais *peach*. L'origine supposée persane explique aussi le nom spécifique donné par Linné, *Prunus persica*.

Étant un fruit périssable, la pêche ne peut être que consommée en frais ou transformée, d'où la nécessité de planter dans un même verger une gamme variétale permettant d'étaler la maturité aussi bien pour faciliter l'opération de la cueillette que pour valoriser le produit au niveau du marché. Le nombre élevé de variétés disponible facilite ce choix. D'autre part, étant une culture bien développée en Europe, l'exportation de la production n'est envisageable que par l'intermédiaire de variétés à maturité super précoce (Anonyme 2008).

I. 3. Caractéristiques taxonomique et génétique

Le pêcher (*Prunus persicae* L.) appartient à la famille des *Rosaceae* (*Prunoidea*), au genre *Prunus* L et au sous- genre *Amygdalus*, celui-ci regroupe des espèces fruitières et des espèces ornementales. Les *Rosaceae* est la famille la plus importante pour la production de fruits et le genre *Prunus* regroupe les fruits à noyaux tels que l'amandier (*P. dulcis*), le cerisier (*P. avium* et *P.cerasus*), l'abricotier (*P.armeniaca* L.) et le prunier (*P. domestica* et *P. salicina*). Le pêcher est une espèce **diploïde** avec (**2n=16**) et possède un génome de petite taille, de **295 mégabases** (Mb), caractéristique des *Rosaceae* (Arumuganathan et Earle., 1991).

Sur le plan génétique, le génome du pêcher est le mieux caractérisé à ce jour parmi les *Prunus* et l'un des mieux connus de tous les arbres feuillus ; sa séquence a récemment été publiée (Verde *et al.*, 2013).

I.4. Caractéristiques morphologiques et phénologiques

Le pêcher est un arbre fruitier à écorce lisse, haut de 2 à 7 mètres, à port étalé et à croissance rapide. Ses feuilles caduques acuminées sont vert franc (**Fig.1**) et dégagent une légère odeur d'amande. Elles sont longues de 8 à 15 centimètres sur 2 ou 3 centimètres de large avec un court pétiole pourvu de part et d'autre de deux ou trois nectaires à la base du limbe. Ses fleurs roses (**Fig.2**) apparaissent avant les feuilles à la fin de l'hiver ou début du printemps, voir en été pour les variétés plus tardives. Elles sont hermaphrodites, à cinq pétales, vingt à vingt-cinq étamines et un style. Le pêcher est une espèce à autogamie préférentielle, avec 5 % de fécondations allogames observées en conditions naturelles. Les autofécondations se réalisent facilement (Gilman et Watson, 1994).



Fig.1 : Feuilles du pêcher



Fig.2 : Fleur du pêcher

<http://www.florum.fr/prunus-persica/69397/pecher-zp.html#descriptionProduit>

I.4. Exigences pédoclimatiques

I.4.1. Température

Les besoins en froid, chez les variétés de pêcher, varient entre 250 et 900 UF. Des variétés à très faibles besoins en froid et des variétés originaires d'Afrique du Sud peuvent être cultivées dans des milieux à hiver doux et printemps précoce.

Les variétés ayant des besoins en froid entre 350 et 500 UF, peuvent être cultivées dans des milieux à moyenne altitude. Quant aux variétés à besoins en froid élevés, elles pourraient être destinées aux hautes altitudes.

Ce type de variétés gagnerait au niveau de la qualité du fruit dans la mesure où le nombre de jours entre la floraison et la maturité est suffisamment élevé pour permettre l'acquisition d'un gros calibre et de bonnes qualités gustatives (Mamouni, 2006)

Une fois les besoins en froid sont satisfaits, le bourgeon a besoin de températures de croissance pour débourrer. C'est l'effet combiné de ces deux types de températures qui conditionne la période de floraison.

Le pêcher est une espèce préférentiellement autogame et donc l'association de variétés pollinisatrice n'est conseillée que dans de rares cas de variétés mâle -stérile, ce qui permettrait une bonne pollinisation même en absence d'agents vecteurs (abeille). Le retour des basses températures, pendant la floraison, peut gêner la pollinisation en défavorisant le processus de la croissance du tube pollinique et la fécondation. Elles causeraient aussi la chute de fruit quand elles surviennent juste après la fécondation.

Des températures situées entre -2°C et -5°C peuvent causer d'importants dégâts entre le stade bouton rose et la nouaison. La création d'un écran de fumée, au moment du risque de gelée, constitue une méthode de lutte appropriée. La méthode consiste à mettre le feu dans des tas de fumier ou des pneus éparpillés dans le verger au cours des nuits à risque de gel (ciel dégagé, absence de vents, pleine lune, temps secs) (Benettayeb, 1993).

I.4.2. Besoins en eau

Le pêcher est classé parmi les espèces exigeantes en eau. On estime ses besoins, pendant la phase active du cycle (Avril à septembre), entre 500 et 700 mm. Plus la variété est tardive plus ses besoins en eau sont élevés. La nature du sol, les conditions climatiques (températures, humidité relative, vents) et le mode d'irrigation (gravitaire ou au goutte à goutte) conditionnent aussi la quantité d'eau exigée. Les irrigations doivent être plus soutenues au cours de la période située entre le durcissement des noyaux et la mi-juillet. Cette période coïncide avec la croissance des rameaux porteurs de la future production. Pour les variétés précoces, ces irrigations sont également nécessaires même après la récolte pour assurer une bonne induction florale (Mamouni, 2006).

1.4.3. Sol

Le système racinaire semi-pivotant du pêcher nécessite sa plantation dans des sols assez profonds. Les sols perméables et aérés lui sont favorables alors que les sols lourds et mal drainés sont à l'origine de l'asphyxie racinaire. Dans ce cas, il est conseillé d'installer un système de drainage qui permettra d'éviter des situations d'hydromorphie qui peuvent compromettre la vie des arbres. Les sols trop calcaires lui sont également défavorables. Une teneur en calcaire actif supérieur à 7% provoque la chlorose qui se traduit par le jaunissement des feuilles et le dessèchement des jeunes pousses. L'utilisation d'un porte greffe adéquat permet cependant au pêcher de s'adapter aux différents types de sol (Benettayeb, 1993).

1.4.4. Variétés

Le pêcher, par sa nature diploïde à faible nombre de chromosomes ($2n=16$), à cycle sexuel relativement court et à polymorphisme prononcé (couleur de la chair, différents types de fruits), se prête facilement à l'amélioration génétique. Le nombre d'hybrides créés dans le monde, par les institutions publiques et les créateurs privés, est estimé à plus de 100.000 par an. Cette évolution rapide ne traduit cependant pas une vraie révolution dans les variétés créées. Les objectifs d'amélioration concernant la qualité gustative du fruit, la résistance aux maladies et parasites et aux stress ne peuvent être abordés que dans le cadre de projets ambitieux et de longue durée. La large gamme variétale disponible, sa variabilité au niveau des exigences en froid, ses caractéristiques pomologiques (date de maturité, forme du fruit, couleur de l'épiderme et de la chair) (Gautier., 1987).

I.5. Techniques culturales

I.5.1. Fumure

Une fumure bien raisonnée suppose une étude de la nature du sol et de son niveau de fertilité, de la densité de plantation et du niveau de production à atteindre.

En plus de la fumure organique (30 à 60T/ha), on doit doter le sol d'un minimum de réserve en phosphore et en potasse en apportant de 250 à 300 Unités de chacun des éléments au moment de la préparation du sol.

On peut également localiser les apports au niveau du trou de plantation, à condition de ne pas les mettre au niveau des racines du jeune plant. On peut également apporter 150 Unités d'azote sous forme de sulfate d'ammoniaque. (Bertschinger, *et al*, 2003).

En l'absence d'analyse du sol, on propose d'apporter annuellement une fumure d'entretien de l'ordre de 75 Unités de phosphore et 94 Unités de potasse. Les engrais sont enfouis à 20 cm de profondeur durant l'hiver. La fumure azotée est fractionnée en 2 apports: Le premier est effectué avant floraison à raison de 65 Unités par ha, le second (même dose) est effectué lors du grossissement des fruits (Bertschinger, *et al*, 2003).

I.5.2. Taille et formes de conduite

I.5.2.1. Productions du pêcher

Le pêcher produit prioritairement sur le bois d'un an. Les rameaux supports de production du pêcher sont:

Rameaux à bois: de vigueur moyenne, il porte exclusivement des bourgeons à bois. En position verticale, il prend une grande vigueur et devient un gourmand.

Rameau mixte: Plus ou moins vigoureux (10 à 40 cm), il porte à la fois des bourgeons à bois et des boutons floraux. On y trouve des yeux de différentes constitutions (1 à bois - 2 boutons, 3 boutons, 3 à bois, 2 à bois - 1 bouton). Il constitue, chez le pêcher, le principal support de production.

Chiffonne: Relativement grêle (5 à 15 cm), elle ne porte généralement que des boutons à fleurs sauf à son extrémité. Il y a des cas où on trouve également un ou deux bourgeons à bois au niveau de sa base.

Bouquet de Mai: une petite production (1 à 5 cm) portant 2 à 5 boutons floraux, avec au centre, un œil à bois. Il se dessèche et disparaît après un cycle de végétation (Gautier., 1987).

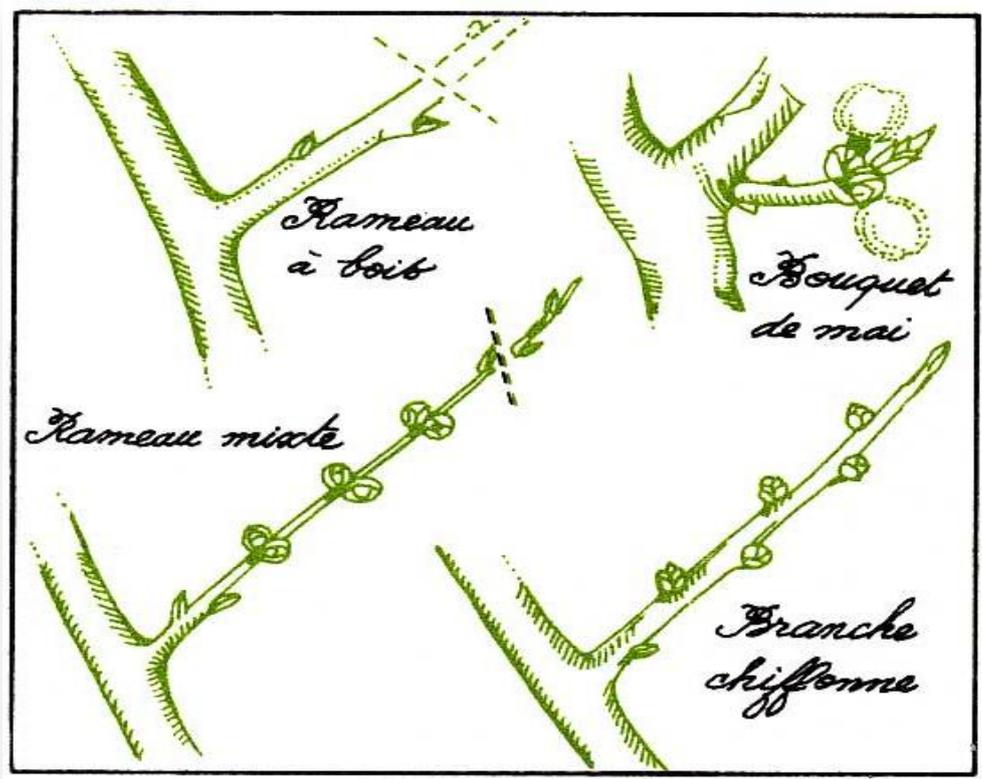


Fig.3 : les productions du pêcher

<http://lesbeauxjardins.com/jardinons/fruitiers/arbres/pechers/peche.htm>

I.5.2.2. Taille de fructification

Etant donné le mode de fructification du pêcher, la taille de fructification doit répondre aux impératifs suivants:

- Assurer un équilibre entre la végétation et la fructification;
- Eclaircir la fructification de l'année en cours;
- Préparer le remplacement pour l'année suivante;
- Assurer une aération et une luminosité suffisantes des différentes parties de l'arbre.

I.5.2.3. Interventions hivernales

Rameau à bois: tailler à 2 yeux afin d'obtenir l'année suivante deux remplacements,

Rameau vigoureux ou gourmand : rabattre sur empâtement.

Rameau mixte: on le taille à deux yeux pour préparer des remplacements, conserver une partie de sa production (taille courte) ou le conserver entièrement (taille longue). Quand leur densité est élevée sur une même branche, on doit en éliminer certains entièrement (éclaircissage de la production).

Chiffonne: Ou bien on la conserve entièrement ou on l'ampute à sa base. On ne doit pas prévoir de remplacements à partir de la chiffonne.

Bouquets de mai: On ne pratique aucune taille sur le bouquet (Vilarem, 2009).

I.5.2.4. Taille en vert

La taille en vert consiste à éliminer les pousses mal placées et celles en surplus pour permettre un bon développement de celles qu'on veut conserver et permettre aussi une bonne aération. C'est une anticipation de la taille de l'hiver suivant. Les interventions précoces permettent d'enlever entièrement ces pousses pendant que celles tardives consistent plutôt à un pincement pour arrêter leur croissance (Vilarem, 2009).

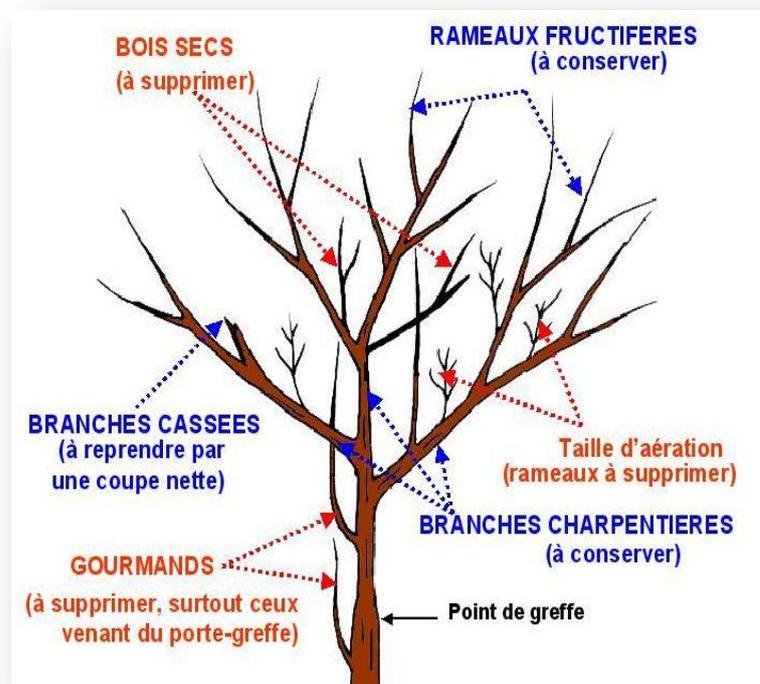


Fig.4 : taille de fructification

<http://www.rustica.fr/articles-jardin/tailler-pecher-palisse,1595.html>

I.5.2.5. Eclaircissage manuel

Il est pratiqué lorsque le fruit a la grosseur d'une noix, soit environ 5 semaines après la pleine floraison. On laisse un fruit tous les 10 à 12 cm ou un fruit pour 15 à 20 feuilles ou encore de 4 à 6 fruits par rameau mixte, deux fruits par chiffonne et un fruit par bouquet de Mai. Les fruits défavorisés sont les premiers à éliminer. Ceci se traduit, sur un arbre adulte, par la suppression de 70 à 80% des petits fruits présents.

II. Les principales maladies du pêcher

Comme toute plante cultivée, le pêcher n'est pas à l'abri des attaques d'agents pathogènes, tels que les champignons, les bactéries, et les virus. Le tableau 1 récapitule les différentes maladies touchant cette culture ainsi que les agents causals.

Tableau 1 : Principales maladies du pêcher et leurs agents causals.

	La maladie	Agent causal
Maladies fongiques	Moniliose	<i>Monilia laxa</i>
	La cloque du pêcher	<i>Taphrina deformans</i>
	La pourriture grise	<i>Botrytis cinerea</i>
	L'oïdium	<i>Podosphaera pannosa</i>
	La maladie criblée	<i>Coryneum beijerinchii</i>
	Maladies bactériennes	Le chancre bactérien
Le dépérissement bactérien		<i>Pseudomonas syringae pv. persicae</i>
Maladie des taches bactériennes		<i>Xanthomonas arboricola pv. Pruni</i>
Maladies Virales	La Sharka	<i>Plum Pox Virus (PPV)</i>

II.1. Maladies fongiques :

II.1.1. La cloque du pêcher : il s'agit d'une maladie due au champignon ascomycète *Taphrina deformans*. Au printemps les feuilles s'épaississent, se cloquent, s'enroulent **Fig.5 (A)** et deviennent jaunâtres puis rouge puis rouge violacé **Fig.5(B)** avant de tomber prématurément. Déformation des jeunes rameaux avec écoulement de gomme. Le champignon hiverne sous les écailles des jeunes bourgeons, puis infeste les jeunes feuilles (Meudec *et al.*, 1997).

II.1.2. La moniliose : causée par le champignon *Monilia laxa*. Les bouquets floraux se dessèchent et restent sur l'arbre, à la surface des fruits se développent une sorte de poudre placée en cercle concentrique ou beige (**Fig.6**), les rameaux contaminés sont à l'origine de chancre et de gomme (Meudec *et al.*, 1997).

II.1.3. L'oïdium : causée par *Podosphaera pannosa*, le champignon hiverne dans les bourgeons ou sur les rameaux attaqués pendant l'été précédent. Il contamine ensuite les feuilles puis les rameaux et les fruits. A partir du fin Mai, apparition de taches circulaires blanchâtres sur l'épiderme des fruits (**Fig.7**), les fruits se déforment et tombent prématurément (Meudec *et al.*, 1997).

II.1.4. La pourriture grise : l'installation de cette maladie est favorisée par l'éclatement de l'épiderme et les attaques d'insectes. Le champignon causal est le *Botrytis cinerea*, le symptôme typique caractéristique du Botrytis est le duvet gris sur les boutons floraux et sur les fruits (**Fig.8**), brunissement des feuilles et flétrissement des fruits.

II.1.5. La maladie criblée : appelée également coryneum du pêcher causée par le champignon *Coryneum beijerinckii*, ce dernier hiverne dans les lésions, sur les rameaux et les bourgeons. Il se développe au printemps et contamine ensuite les feuilles et les fruits. Les symptômes apparaissent sur l'épiderme des fruits, sous forme de taches rougeâtres **Fig.9 (C)**. Sur les feuilles les taches sont perforées **Fig.9 (D)** (Meudec *et al.*, 1997)



Fig. 5 (A), (B) :Attaque de *Taphrina deformans* sur feuilles de pêcher



Fig.6:Symptôme de moniliose sur fruit



Fig.7 : Symptôme de l'oïdium sur fruit



Fig. 8 : Attaque du *Botrytis* sur fruit

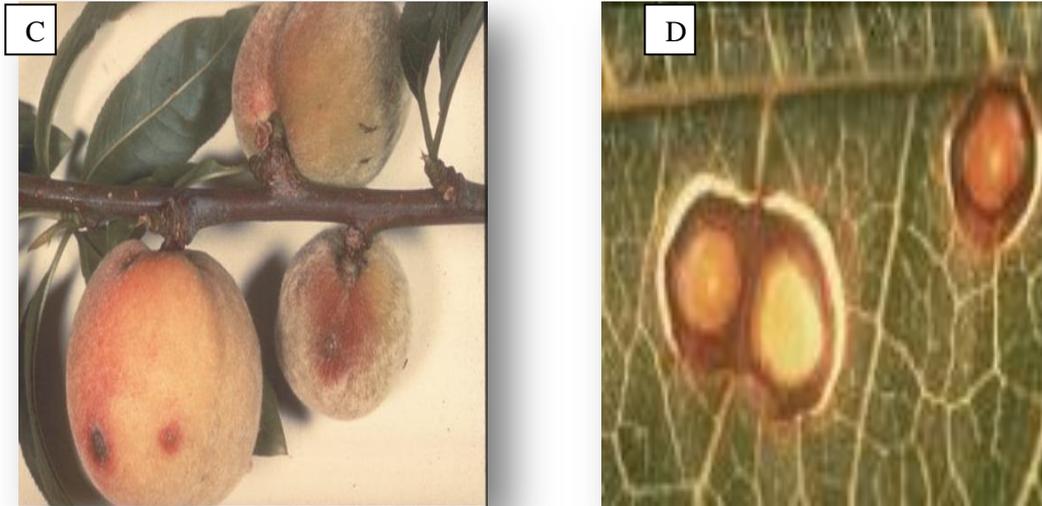


Fig. 9(C) : Symptôme de coryneum sur fruit, **(D) :** Symptôme de coryneum sur feuille

<http://www.itab.asso.fr/downloads/fiches-techniques>

II.2. Maladies bactériennes

II.2.1. Maladie des taches bactériennes : cette maladie est provoquée par la bactérie *Xanthomonas arboricola pv. Pruni* qui peut provoquer de dégâts aussi bien sur feuilles, que sur fruit et sur rameau. Les premiers symptômes sur les feuilles sont des taches verdâtres anguleuses sur leur face inférieure, développement des nécroses inter-nervure entourées d'un halo jaune **Fig.10 (E)**, par la suite les feuilles jaunissent **Fig.10 (F)** et tombent. Sur les fruits apparition de taches vert claire, qui brunissent et finissent par se craqueler **Fig.10 (G)**.

II.2.2. Le chancre bactérien : il est causé par la bactérie *Pseudomonas syringae pv. persicae* qui provoque un noircissement des bourgeons puis des jeunes pousses entraînant un dessèchement et un débourrement difficile, au printemps les symptômes sur feuilles sont des taches rouge clair entourées d'un halo translucide, exudation de gomme à partir des rameaux (**Fig.11**).



Fig.10 :(E),(F),(G) Dégâts de la maladie des taches bactériennes **Fig.11 :** Exsudation de gomme

http://www.espaces-verts-hortion.fr/Maladies-du-pecher_a213.html

II.3. Maladie virale

II.3.1. La Sharka : elle est causée par le virus *Plum Pox Virus (PPV)*. La Sharka se manifeste d'abord par des stries rosées sur les pétales. La gravité des symptômes est aussi influencée, dans une moindre mesure, par le climat, la nutrition et la croissance des arbres, et leur âge. Sur feuilles **Fig. 12(H)** : décoloration ; diffuse par plage et/ou en anneaux, non limitée par les nervures ; sur les fruits apparition d'anneaux décolorés **Fig. 12(I)**.

La Sharka est transmise par de nombreux pucerons communs dont *Aphis spiraecola* et *Myzus persicae*, selon le mode non persistant, essentiellement entre Mars et Juin. Ces insectes itinérants acquièrent le virus dans leur stylet lors d'une piqûre et l'injectent dans une autre feuille, pousse ou plant, lors de la piqûre suivante, qui peut être très proche ou distante.

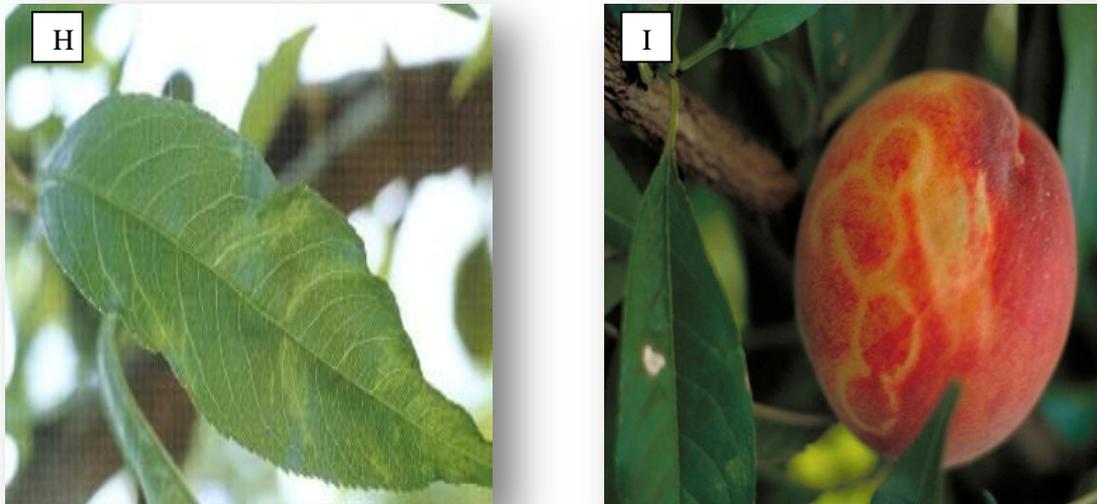


Fig. 12 : (H) Décoloration diffuse par plage sur feuille (I): Anneaux décolorés sur fruit

<http://www.cliniquedesplantes.fr/fiches.html?page=37&full=1>

II.4. Ravageurs

Le pêcher est également menacé par de nombreux ravageur tels que :

La mouche méditerranéenne (*Ceratitis capitata*), le puceron cigarier du pêcher (*Myzus varians davidson*), le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*), et la capnode du pêcher (*Capnodis tenebrionis*) (Tableau 2).

Tableau 2 : Principaux ravageurs du pêcher et leurs dégâts.

Ravageurs	Dégâts
<p>La mouche méditerranéenne (<i>Ceratitis capitata</i>),</p>	<p>Les dégâts de la Cératite sont très importants surtout en été et en automne.</p> <p>L'infestation est visible sur le fruit par une petite tache entourant le point de piquûre, tache qui s'agrandit par la suite. Une dépression se creuse en dessous, du fait de la pourriture des tissus. Le fruit tombe prématurément.</p> <p>Un fruit seulement piqué est absolument invendable.</p>
<p>Le puceron vert du pêcher (<i>Mysus persicae</i>),</p>	<p><i>Mysus Persica</i> est le plus dangereux. En effet cette espèce est très polyphage, c'est-à-dire qu'elle utilise, pour son cycle biologique, plusieurs plantes hôtes. Leurs piqûres provoquent le dessèchement et la chute des fleurs, puis la déformation des jeunes fruits. Les pucerons verts du pêcher sont vecteurs de la Sharka.</p>
<p>Le puceron cigarier du pêcher (<i>Myzus varians davidson</i>)</p>	<p>Enroulement du limbe des feuilles de chaque coté de la nervure principale en formant un cigare. Les feuilles deviennent rougeâtres. Les fleurs ne sont pas attaquées. Ce puceron est également vecteur de la Sharka.</p>
<p>La capnode du pêcher (<i>Capnodis tenebrionis</i>).</p>	<p>Les larves creusent des galeries sinueuses assez larges, dans les racines et à la base du tronc, sectionnant ainsi les vaisseaux conducteurs, ce qui entraîne progressivement la mort de l'arbre. Elles provoquent des dégâts importants sur les jeunes plantations qui peuvent être détruites en peu de temps.</p>

III. Généralité sur les maladies du bois

Le dépérissement est un phénomène qui affaiblit les arbres, leur vitalité et leur santé et qui peut aboutir à leur détérioration. Les agents en cause attaquent principalement le tronc et les branches des arbres touchant ainsi la pérennité de ces derniers. Les étapes de ces dépérissements sont encore mal connues ; des champignons pionniers qui progressent dans le bois, obstruent les vaisseaux, produisent des toxines et contribuent à la formation de nécroses. Ces dernières, situées en général dans le prolongement des plaies de taille, sont plutôt basipètes et plus importantes au niveau des bras (Galet, 1995 ; Dubos, 2002 ; Abdollahzadeh, 2013).

III.1. Agents fongiques impliqués dans le dépérissement

Plusieurs champignons sont associés aux dépérissements du bois et se répartissent en plusieurs séquences dans le processus menant à la dégradation du bois. Une colonisation primaire par *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch) et *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal) semble être une étape nécessaire pour l'installation secondaire de *Fomitiporia mediterranea*, responsable de la dégradation du bois caractéristique de l'esca. Un autre champignon, *Eutypa lata*, agent de l'eutypiose, est également considéré comme pionnier dans ce processus. Le rôle exact de ces champignons n'est cependant pas connu, notamment sur leur responsabilité dans l'expression des symptômes (Larignon, 2012).

Plusieurs espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* sont connues pour se produire dans le monde entier, provoquant le dépérissement de plusieurs plantes hôtes annuelles ou pérennes. Cette famille comprend une gamme de diverses espèces qui sont soit des agents pathogènes, des endophytes ou des saprobes, principalement sur les hôtes ligneux (Phillips *et al.*, 2013). Les *Botryosphaeriaceae* sont associés à différentes symptomatologies : formes lentes (tigrures de feuilles), formes défoliatrices (apoplexie lent), apoplexie, végétation affaiblie sur les coursons encore vivants, absence de débourrement ou celui-ci reste limité, mort de coursons ou de bras, des chloroses, des blanchiments de sarments, des symptômes sur fruits, des échecs de soudure. Dans le bois, les symptômes sont des nécroses sectorielles, des décolorations vasculaires ou encore des bandes brunes. Le caractère pathogène des *Botryosphaeriaceae* est bien documenté. Les tests montrent que les champignons sont capables individuellement de provoquer les décolorations vasculaires, des chancre, des décolorations foliaires ou encore des flétrissements de la partie herbacée. Les différences

d'agressivité observées pour certains champignons sont dues à la grande variabilité de la virulence des souches (Urbez-Torres *et al.*, 2006 et Luque *et al.* 2009), aussi à une grande variabilité du matériel végétal utilisé pour les tests (cépage), ainsi que les méthodes d'inoculation, et la durée de l'expérimentation (Larignon 2010).

III.2. Généralité sur les *Botryosphaeriaceae*

La famille des *Botryosphaeriaceae* englobe une gamme de champignons morphologiquement divers qui sont soit des agents pathogènes, des endophytes ou saprophytes, principalement sur les hôtes ligneux. Ils se développent dans toutes les zones géographiques et climatiques du monde, à l'exception des régions polaires (Blancard et lecomte, 2014).

Les espèces appartenant à cette famille sont pathogènes des arbres fruitiers à pépins et à noyaux. L'infection s'effectue soit par des blessures, ou directement par les stomates et d'autres ouvertures (Brown & Hendrix, 1981; Smith & Hendrix, 1984; Britton & Hendrix, 1989; Kim *et al.*, 2001). Ces champignons peuvent alors persister dans les tissus sains.

Les *Botryosphaeriaceae* ont été introduits par Thiessen & Sydow (1918) comme étant une sous-famille des *Pseudosphaeriaceae*. Bien que Thiessen (1916) avait déjà attribué les *Pseudosphaeriaceae* aux *Myriangiales*. Thiessen & Sydow (1917) ont estimé que la *Pseudosphaeriaceae* devrait être unifiée avec les *Dothideaceae* (Luttrell 1951). Thiessen & Sydow (1918) ont établi la sous-classe de *Dothideineae* pour accueillir l'ordre *Pseudosphaeriales*, famille *Botryosphaeriaceae*, et le genre *Botryosphaeria*. Petrak (1923) a rejeté la classification de Thiessen & Sydow (1918) et a placé *Botryosphaeria* dans la sous-famille *Pseudosphaerieae*, qu'il plaça dans le *Pleosporaceae* (*Sphaeriales*).

III.2.1. Caractéristiques des *Botryosphaeriaceae*

Des descriptions détaillées de la famille des *Botryosphaeriaceae* ont été présentées par plusieurs auteurs (von Arx & Müller 1954, 1975, Hawksworth *et al.* 1995, Eriksson 1981, Sivanesan 1984, Barr 1987).

Les *Botryosphaeriaceae* ont été caractérisées principalement sur la base de leurs ascospores cloisonnées, ovoïdes et hyalines. (Luttrell 1973, Eriksson 1981, Sivanesan 1984, Barr 1987).

Au moins six lignées de la famille ont été reconnues comme ayant des ascospores pigmentées, et dont trois de ces genres ayant des ascospores cloisonnées (Phillips *et al.* 2008). Liu *et al.* (2012) ont fourni une définition exhaustive de la famille dans laquelle ils ont considéré les ascospores comme étant hyalines et aseptées, mais qui pourrait devenir pigmentées et cloisonnées avec l'âge.

III.2.2. Les espèces des *Botryosphaeriaceae* associées aux maladies du bois des arbres fruitiers à pépins et à noyaux.

Les espèces des *Botryosphaeriaceae* sont connues comme étant des agents causaux de plusieurs symptômes de maladie du bois des arbres fruitiers à pépins incluant le dépérissement, les chancres des brindilles, des branches et des troncs, et dans certains cas, la mort de l'arbre entier (Pusey *et al.* 1995; Slippers *et al.* 2007; van Niekerk *et al.* 2011). Dans le monde entier, le chancre due aux *Botryosphaeriaceae* affecte le pommier, causé par *Botryosphaeria dothidea* et *Diplodia seriata*, *B. dothidea* affecte les troncs, les brindilles et également les fruits. Le cortex externe du chancre devient orange ou marron et présente une texture papyracée. *Botryosphaeria dothidea*, *D. seriata* ainsi que *Lasiodyplodia theobromae* peuvent également causer du Chancre sur le pêcher. (Britton and Hendrix 1989; Crous *et al.* 2006; Pusey 1993).

Diplodia seriata est une espèce commune sur le pêcher dans le monde entier et a également été trouvé sur l'abricotier aux Etats-Unis, ainsi que sur le pêcher et le bois de prunier en Afrique du Sud (Slippers *et al.* 2007). En outre, Slippers *et al.* (2007) ont constaté que *Neofusicoccum australe* était associée aux symptômes de dépérissement des arbres fruitiers à noyaux chez d'autres espèces décrites de *Prunus* spp. tels que l'abricotier et le pêcher,

N. vitifusiforme chez le pêcher et le prunier, *Dothiorella viticola* chez le pêcher var. *nucipersica* et *Diplodia pinea* chez le pêcher en Afrique du sud (Damm *et al.* 2007), *Neofusicoccum parvum* a été retrouvé sur poiriers en Taiwan montrant des chancres et des dépérissements (Shen *et al.* 2010) et *Diplodia mutila* a été trouvé sur le bois de prunier nécrotique en Afrique de sud (Damm *et al.* 2007).

III.2.3. Taxonomie et phylogénie

A partir des années 2000, la taxonomie des *Botryosphaeriaceae* a été revue et de nouvelles espèces ont été créées. Les études réalisées au cours de ces années ont porté surtout

sur l'identification des espèces, leur répartition géographique, ainsi que les tests de leurs pathogénéicité : en Algérie (Berraf, et Peros, 2005 ; Berraf-tebbal, 2013 ; Berraf-tebbal et al. 2014 ; Ammad et al. 2014 ; Linaldeddu et al. 2014). en Afrique du Sud (van Niekerk et al. 2004, 2010), en Australie (Castillo-Pando 2001, Wood & Wood 2005, Taylor et al., 2005, Savocchia et al. 2007, Qiu et al. 2008, Pitt et al. 2010), en Nouvelle-Zélande (Amponsah et al., 2009, Billones et al. 2010), aux Etats-Unis et au Mexique (Urbez-Torrès et al., 2006, 2007, 2008, 2009, Urbez-Torres & Gubler 2008), au Brésil (Gava et al. 2010), en Italie (Carlucci et al., 2008, Natalini & Tosi (2008), en Espagne (Martin & Cobos 2007, Luque et al. 2009), et au Portugal (Rego et al. 2008). Les études concernaient aussi leur cycle biologique, les méthodes de détection, les méthodes de lutte, la recherche d'enzymes et de toxines, et de la protéomique.

La taxonomie des espèces des *Botryosphaeriaceae* est généralement basée sur la morphologie des formes anamorphes des champignons, qui sont le plus fréquemment rencontré dans la nature. Cependant, les caractéristiques morphologiques qui se chevauchent ont souligné l'utilité d'appliquer des comparaisons de séquences d'ADN pour résoudre les espèces (DeWet et al. 2008). Des changements considérables ont eu lieu récemment dans la taxonomie des *Botryosphaeriaceae* (Liu et al. 2012). Historiquement, plus de 18 genres anamorphes ont été associés à *Botryosphaeria* Ces. & De Not. Dans une étude phylogénétique basée sur l'ADN ribosomal du 28S conjointement avec des caractères morphologiques ont révélé que *Botryosphaeria* est constituée de plusieurs lignées distinctes qui correspondent à des genres individuels (Crous et al. 2006). Seulement *B. dothidea* (Moug. : Fr.) Ces. & De Not. Et *B. corticis* (Demaree & M.S. Wilcox) Arx & E. Müll. ont été retenus chez *Botryosphaeria*, alors que d'autres espèces tels que *Fusicoccum Corda* ont été transférés à *Neofusicoccum Crous*, (Slippers & A.J.L Phillips).

L'utilisation d'outils moléculaires a apporté une contribution significative à la reconnaissance des espèces des *Botryosphaeriaceae* et de nombreuses espèces ont été décrites au cours des dernières années, chez diverses cultures d'importance économique (Phillips et al. 2002; Slippers et al. 2004a, b; Luque et al. 2005; Phillips et al. 2005; Liu et al. 2012). Pavlic et al. (2008) ont identifié sept nouvelles espèces en Australie. Sur la base de données de séquences d'ADN pour cinq locus nucléaires Pavlic et al. (2009a, b) ont identifié trois nouvelles espèces de *Neofusicoccum* au sein de *N. parvum* / *N. ribis* un complexe d'espèces en Afrique du Sud. En 2010, deux nouvelles espèces, *N. batangarum* (Begoude, Jol. Roux, Slippers) et *Lasiodiplodia mahajangana* (Begoude, Jol. Roux, Slippers) ont été décrites à partir de *Terminalia catappa* L. (Begoude et al. 2010). Plus récemment *Fusicoccum ramosum*

(Pavlic, Burgess, M.J. Wingfield) (Pavlic *et al.* 2008), *Fusicoccum atrovirens* (J.W.M. Mehl & B. Slippers) (Mehl *et al.* 2011), *Fusicoccum fabicercianum* (S.F. Chen, D. Pavlic, M.J.Wingf. & X.D. Zhou) (Chen *et al.* 2011), ont été décrites dans la *Botryosphaeria*. En ce qui concerne le genre *Lasiodiplodia*, 16 nouvelles espèces ont été signalées depuis 2004. (Pavlic *et al.* 2004, 2008; Burgess *et al.* 2006; Damm *et al.* 2007; Alves *et al.* 2008; Begoude *et al.* 2010; Abdollahzadeh *et al.* 2010; Ismail *et al.* 2012; Úrbez-Torres *et al.* 2012). L'augmentation du nombre de nouvelles espèces introduites est essentiellement en raison de l'utilisation très répandue des données de séquence d'ADN mais est également due à l'exploration de nouvelles régions et habitats géographiques.

III. 3. Facteurs favorisant le développement des maladies du bois

III.3.1. Facteurs cultureux et environnementaux

Plusieurs facteurs cultureux (système de conduite et de taille, porte-greffe...) ou environnementaux (sol, climat), contribuant au développement des « maladies du bois » ont déjà été cités dans la littérature, principalement française.

En particulier, Jean-Pierre Péros est l'un des premiers, en s'inspirant des études sur les dépérissements forestiers, à avoir distingué des facteurs favorisant, déclenchant ou contributifs (Péros, 1995).

III.3.1.1. Le mode de conduite

Le mode de conduite a sans doute été le premier facteur désigné pour expliquer des différences dans l'expression des maladies du bois.

Il est donc vraisemblable que le rôle exact du mode de conduite ne pourra pas s'étudier indépendamment des autres facteurs cultureux, en particulier sans considérer la vigueur (Dubos, 2002) ou l'état physiologique des plantes.

Si la plupart des auteurs ont pressenti que le nombre, l'importance et la position des plaies de taille les unes par rapport aux autres favorisent la formation et la convergence de nécroses ou des cônes de cicatrisation, il semble bien que les décisions qui conduisent à réaliser de grosses plaies de taille soient souvent très favorables (Boubals et Mur 1990 ; Dubos, 2002).

III.3.1.2. La taille

Le système de taille en lui-même est un facteur qui a été moins bien abordé. Prenant comme exemple en viticulture, le mode de conduite et le mode de taille sont très liés. Plus qu'un mode de conduite ou qu'un système de taille précis, il semble bien que ce soit la combinaison des deux qui prédisposent la vigne aux maladies du bois.

Geoffrion et Renaudin en 2002, ont mentionné l'intérêt des chicots de taille pour une meilleure cicatrisation.

Une relation possible entre la position des plaies de taille et la localisation d'une proportion de bandes brunes associées au faciès « Bda-esca », faciès dominant en vignoble, a également été signalée par Lecomte et al. en 2005. Il réalise un parallèle avec l'arboriculture fruitière, car dans ce domaine, on cherche souvent à respecter le port naturel des arbres pour le meilleur équilibre vigueur/mise à fruit.

III.3.1.3. Le sol

Le facteur sol est également prometteur d'informations. Concernant les types de sol, plusieurs éléments complémentaires ont déjà été signalés. Plusieurs auteurs (Viala, 1926 ; Geoffrion, 1977) indiquent que les sols argileux et compacts favorisaient l'apoplexie. Lecomte et al. (2008) ont observé des symptômes importants d'esca dans une parcelle implantée sur un sol à dominante sableuse mais très humide au printemps (nappe phréatique haute en hiver).

III.3.1.4. Le climat

Les informations concernant le rôle du climat semblent encore fragmentaires. Ainsi l'apoplexie est souvent citée comme se manifestant par temps chaud après une pluie (Galet, 1995 ; Dubos, 2002). Surico et al. (2000) estiment que les étés chauds et secs sont plus favorables à l'expression des formes apoplectiques.

Une hypothèse au sujet d'un éventuel dysfonctionnement de la transpiration a été émise (Galet, 1995) en rapprochant l'apoplexie du folletage.

Le vent pourrait aussi contribuer au phénomène. Une autre hypothèse, plus simple, n'a encore jamais été évoquée : l'apport d'eau généré par une forte pluie peut imbiber suffisamment tous les tissus nécrosés, augmenter la disponibilité en eau, dynamiser les mycéliums des champignons, accroître la production de toxines et augmenter soudainement la

pression parasitaire et générer une situation particulière de stress à l'origine des symptômes foliaires.

III.3.1.5. Les stress cultureux

Toujours en relation avec le climat, les périodes de stress associées aux conditions de culture, contribuent certainement à la progression des champignons endophytes. Dans le cas de la

vigne, Ferreira a observé en 1999 que des jeunes plants de Chenin blanc inoculés par *P.chlamydospora* dépérissaient en nombre plus important s'ils étaient soumis à des stress hydriques et que le développement de ce champignon dans le bois était nettement favorisé dans ces conditions.

IV. Méthodes de lutte

Le problème majeur des maladies du bois réside en l'absence totale de traitement curatif. L'application de mesures prophylactiques est recommandée, même si leur efficacité est discutée. De nombreuses études visant à la mise au point de traitements phytosanitaires pour lutter contre les maladies du bois de la vigne sont en cours : recherche d'antagonistes naturels, de composés antifongiques systémiques de synthèse, et de molécules naturelles possédant des propriétés fongicides ou stimulant les réactions de défense des plantes.

Actuellement, l'emploi de fongicides n'exerce que des effets préventifs. Il n'existe aucun produit curatif contre ces champignons. Les moyens de lutte font surtout appel à une gestion des pratiques culturales (Weber *et al.*, 2007).

Diminuer l'inoculum disponible par des techniques prophylactiques et optimiser la protection des plaies de taille par des produits chimiques

V.1. Mesures prophylactiques

- Eviter les tailles trop sévères pour limiter la surface de pénétration des champignons.
- Pratiquer une taille tardive pour réduire la fenêtre de contamination.
- Eliminer et incinérer les bois morts.

CHAPITRE II.
MATERIEL ET METHODES

I. Objectif de l'étude

Le travail que nous menons dans cette étude est le suivie de celui réalisé en mémoire d'ingénieur (2014), celui-ci relatif aux dépérissements constatés au niveau des vergers du pêcher dans la région de la Mitidja a été réalisé en deux étapes:

- La première étape comprend le prélèvement d'échantillons symptomatiques sur le terrain,
- La seconde étape comprend la recherche, l'isolement et l'identification des espèces des *Botryosphaeriaceae* inféodés au dépérissement du pêcher.

Les prospections ont été effectuées en mois d'avril- mai (2014), où une enquête a été menée sur le terrain avant de commencé l'échantillonnage, comportant des observations des différentes anomalies sur l'ensemble des arbres.

Des isolats de la famille des *Botryosphaeriaceae* ont été isolés et conservés pour des études ultérieures, et également pour notre actuelle étude qui consiste à l'identification morphologique et moléculaire des espèces de *Botryosphaeriaceae* associées au dépérissement du pêcher et la confirmation de la pathogénéicité des espèces identifiées par un test de pathogénéicité.

Nous avons adopté la même méthodologie des travaux réalisés sur le dépérissement de la vigne en Algérie (Berraf, et Peros, 2005 ; Berraf-tebbal, 2011; 2013).

II. Localisation du site d'étude

Notre travail a été réalisé dans la wilaya de *Tipaza*, et plus précisément dans la commune de *Chaiba*. Cette dernière est située au nord-est du chef lieu de la wilaya, à environ 30 km à l'est de *Tipaza* ; délimitée au nord par la commune de *Fouka*, à l'ouest par *Khemisti*, et au sud par *Oued El Alleug* ; elle est composée de deux plaines, une haute sur le *sahel* et une seconde basse au niveau de la *Mitidja*.

La wilaya de *Tipaza* est une wilaya à vocation agricole avec une superficie arboricole de 15 663 ha et une superficie occupée par la culture du pêcher de 1532 ha avec une production de 141 493 qx (M.A.D.R, 2014).

III. Diagnostic sur le terrain

III.1. Caractéristiques des vergers étudiés

L'étude a été menée dans une exploitation agricole privée de 50 ha, comportant des vergers de pêcher, de pommier, de prunier, et d'agrumes. Deux vergers de pêcher variété *Rend* (tardive) âgés de 9 ans ont été choisis pour le prélèvement des échantillons, de superficie de 6ha, et de densité de plantation de 4x4 m pour chacun des deux vergers.

La culture du pêcher dans les deux vergers prospectés était en intercalaire avec les agrumes. La taille a été réalisée au mois de Janvier. La conduite d'irrigation suivie dans les deux vergers est le goutte à goutte. Concernant les traitements appliqués dans les deux vergers, un fongicide organique de synthèse, un correcteur de carence en Bore, et un fertilisant biologique liquide ont été utilisés.

III.2. Diagnostic symptomatique et échantillonnage

Les prospections sur le terrain ont été réalisées sous forme d'enquête comportant des observations directes des différents symptômes et anomalies portant sur l'ensemble des arbres au niveau des deux vergers prospectés.

L'échantillonnage a été réalisé aléatoirement, d'après certains auteurs les dépérissements n'obéissent à aucune loi apparente de répartition dans le verger (Mimmiague et le gall, 1994 ; Dubos, 2002 et Berraf-Tebbal, 2013).

Les échantillons ont été prélevés à partir des arbres présentant des symptômes de dépérissement. Dans chaque verger vingt arbres soit un total de quarante arbres. Pour nos observations et prélèvements d'échantillons, nous avons évité les arbres de bordure.

IV. Diagnostic au laboratoire

Les échantillons prélevés ont été examinés au laboratoire avec des descriptions des différentes nécroses observées à l'intérieur du bois. Des buchettes ont été coupées à la limite du bois sain et du bois nécrosé. Ces buchettes sont ensuite mises dans des piluliers, où chaque pilulier comprend un seul type de nécrose. Des codes ont été donnés pour chaque type de nécrose selon la couleur, la forme et la consistance du bois.

IV.1. Désinfection des buchettes

La désinfection s'est déroulée en conditions stériles autour d'un bec benzène. Une solution d'hypochlorite de sodium à 8° est versée dans les piluliers contenant les buchettes, pendant 15 minutes afin d'éliminer la microflore de surface. Les buchettes subissent trois rinçages consécutifs à l'eau stérile suivie par un séchage sur du papier buvard stérile.

IV.2. Isolement des agents fongiques

Les isollements ont été réalisés en conditions stériles sous une hotte à flux laminaire selon la technique décrite par Péros et Berger (1994) et Berraf-Tebbal (2013). À l'aide d'un scalpel stérile, nous avons rafraîchis les différentes faces des buchettes, puis coupé des fragments de bois de façon à avoir une partie saine et une autre nécrosée. Les buchettes sont ensuite disposées par cinq dans des boîtes de Pétri contenant le milieu **PDA** (Potato Dextrose Agar) (**Annexe 2**). Les boîtes sont ensuite scellées avec du film plastique et mises à incuber à une température ambiante.

IV.3. Observations et repiquages

Une observation permanente des boîtes de Pétri doit être faite quotidiennement. Dès qu'il y aura développement d'un mycélium, celui-ci est repiqué sur le milieu **PDA** pour être purifié. Les buchettes stériles sont transférées dans d'autres boîtes de Pétri pour éviter l'envahissement par le mycélium à croissance rapide des autres buchettes.

IV.4. Purification et conservation des isolats

Une fois la période d'incubation est achevée, seules les colonies de champignons appartenant aux *Botryosphaeriaceae* sont retenues. Nous avons procédé à leur purification par des repiquages successifs sur milieu PDA. Une fois purifiés, les isolats sont mis dans des eppendorfs stériles, puis conservées à basse température à environ 4°C.

V. Techniques d'identification des isolats

Afin d'identifier les espèces des *Botryosphaeriaceae* inféodés au dépérissement du pêcher, nous avons adopté la même méthodologie du laboratoire de microbiologie de l'université Nova de Lisboa (Portugal). Les différentes étapes sont récapitulées dans la figure (Fig 13).

V.1. Identification macromorphologique

La description des colonies obtenues a été faite sur des cultures pures âgées d'une semaine à quinzaine de jours sur le milieu PDA, sur la base de la clé de détermination décrite par Phillips et al (2013). Ont été pris en considération, le type de croissance, la couleur et la texture du mycélium, ainsi que la pigmentation du substrat. Les colonies sont ensuite comparées aux isolats types ayant servi à la description des genres de la famille *Botryosphaeriaceae* inféodés aux dépérissements. Cette famille se caractérise par un mycélium aérien blanchâtre à croissance rapide virant avec l'âge, vers le gris au vert foncé sur le milieu PDA (Phillips *et al.* 2005 ; 2007 et 2013). Les Pycnides sont de couleur noire, solitaires ou groupées avec une grande diversité des conidies qui peuvent être hyalines ou pigmentées, cloisonnées ou aseptées (Urbez-Torres *et al.* 2006 et Phillips *et al.* 2013).

V.2. Identification moléculaire des isolats

Afin d'identifier, sans équivoque notre collection d'isolats des *Botryosphaeriaceae* déjà groupés en morphotypes, ceux-ci ont été purifiés et conservés, puis envoyés au *Laboratoire de Microbiologie de L'université Nova de Lisboa- Portugal* afin de réaliser les tests moléculaires nécessaires pour l'identification.

Les étapes réalisées au *Laboratoire de Microbiologie de L'université Nova* sont comme suit:

- Extraction de l'ADN de l'ensemble de la collection selon la méthode décrite par Santos et Phillips (2009) et évaluation quantitative et qualitative de l'ADN.
- Amplification de la région ITS (Internal Transcribed Spacer). Des amorces oligonucléotidiques ITS1 et ITS4 (White *et al.*, 1990) sont utilisées tel que décrit par Alves et al., (2004).
- Purification des produits de la PCR en utilisant le kit commercial Spin® Nucleo Extract II (Macherey-Nagel, Düren, Germany).
- Séquençage par la société STAB Vida, Lda (Oeiras, Portugal).

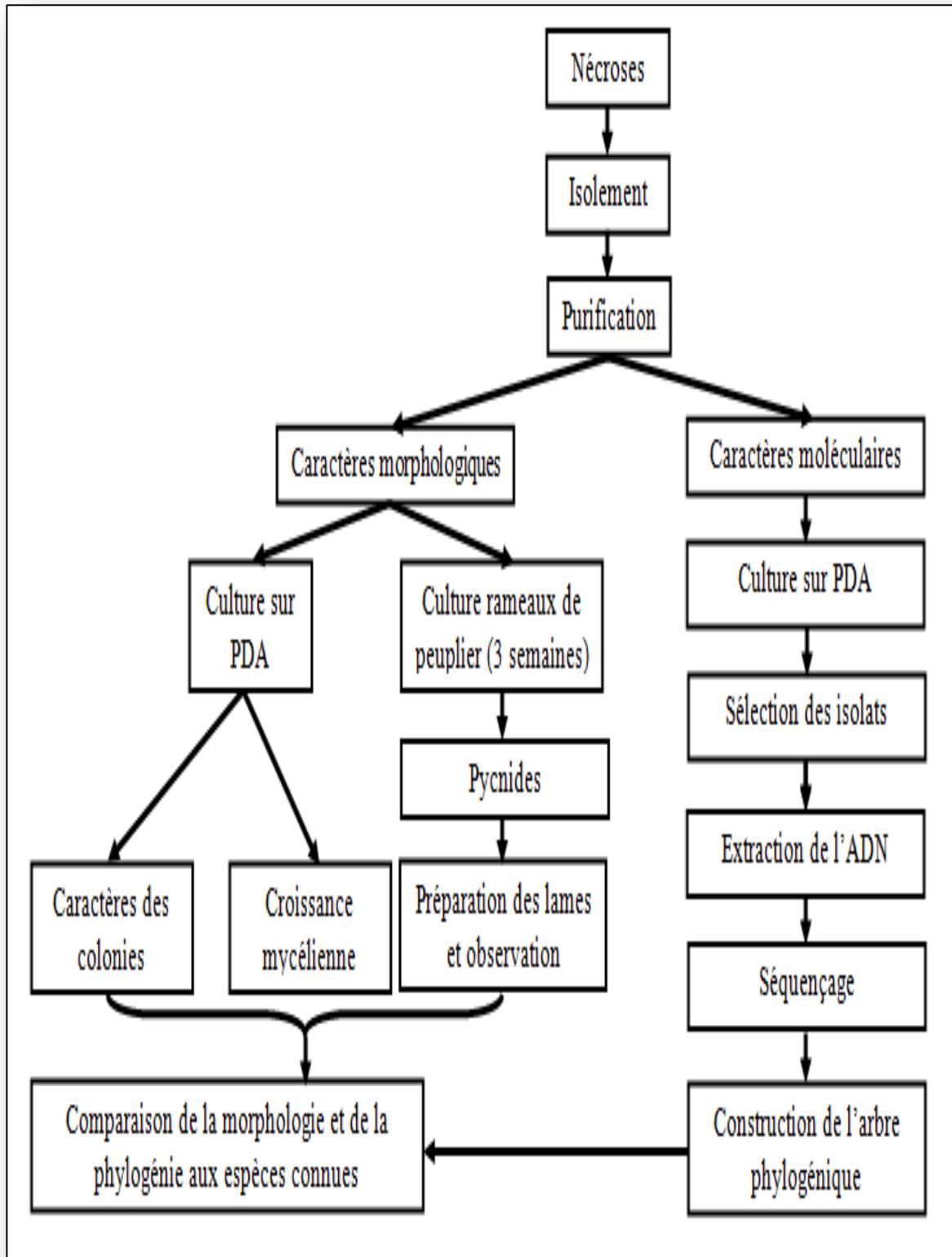


Fig 13 : Schéma des étapes de la caractérisation morphologique et moléculaire des isolats.

Les étapes qui suivent ont été réalisées au laboratoire de microbiologie du département des Biotechnologies à l'Université de Blida I.

V.2.1. Traitement des séquences

Après avoir reçu les séquences de la région ITS de la société de séquençage STAB Vida, Lda (Oeiras, Portugal), celles-ci sont lues et éditées. Une séquence consensus est faite à partir des séquences sens "forward" et anti-sens "reverse" en utilisant l'éditeur d'alignement des séquences **BioEdit Version 7.0.9.0**. Toutes les séquences ont été vérifiées manuellement avec des arrangements de nucléotides.

Les séquences ainsi obtenues sont comparées aux séquences référence des espèces disponibles dans la banque publique **GenBank** (**NCBI = National Center for Biotechnology Information**) en utilisant l'algorithme **BLASTn** (**Basic Local Alignment Search Tool**) (Altschul *et al.* 1990). Ce dernier permet de déterminer la similarité entre deux séquences. La nouvelle séquence est comparée par la suite avec des séquences préexistantes dans la base de données **GenBank**.

Aussi, des séquences de références représentant les espèces les plus pertinentes pour les *Botryosphaeriaceae* (Crous *et al.*, 2006; Damm *et al.*, 2007; Phillips *et al.*, 2008), ont été ajoutées à l'analyse. A cet égard, il sera possible de positionner les espèces que nous avons isolées parmi celles déjà décrites par différents auteurs de par le monde. Les différentes séquences nucléotidiques de la région ITS sont listées dans les tableaux (3,4).

V.2.2. Alignement des séquences

Les séquences ont été alignées en utilisant le logiciel **ClustalX 1.83** (Thompson *et al.*, 1997). Ayant comme principe de faire correspondre deux bases identiques à un même site tout en minimisant les mésappariement (Association de deux bases différentes). Des modifications manuelles ont été réalisées sur les séquences lorsque cela était nécessaire. L'alignement influe sur la qualité de l'arbre final voir plus, que la méthode de construction employée (Wu et Eisen, 2008). Les séquences alignées constituent une matrice de caractères où les lignes correspondent aux espèces et les colonnes aux caractères.

V.2.3. Construction des arbres phylogénétiques

Les arbres phylogénétiques ont été construits sur la base des séquences nucléotidiques des ITS à l'aide du programme PAUP* (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) version 4.0b10 (Swofford, 2003), en utilisant deux méthodes : la méthode de maximum de parcimonie (MP) (méthode basée sur les caractères) et la méthode du Neighbour-Joining (NJ) (méthode du plus proche voisin basée sur la ressemblance globale entre les séquences).

Plusieurs paramètres ont été inclus dans la construction de l'arbre comme l'indice de cohérence (IC), l'indice de rétention (RI) et l'indice d'homoplasie (HI). Les trous (*gaps*) étant traités comme des données manquantes. La robustesse des topologies (des nœuds) de MP est estimée par les procédures de "bootstrap" en utilisant 1000 répétitions (full heuristic search) (Hillis and Bull, 1993).

La construction de ces arbres phylogénétiques est réalisée contre un groupe externe (outgroup). Le choix de l'outgroup est important, le groupe externe doit être une séquence primitive au groupe étudié et qui ne doit être ni trop proche (afin d'augmenter la résolution de l'analyse), ni trop éloignée des autres séquences. Les taxons outgroups sélectionnés pour l'enracinement des arbres sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 3 : Numéros d'accèsion à GenBank et données des espèces de *Neofusicoccum* utilisées pour la construction des arbres phylogénétiques.

Espèce	Numéro d'isolat	Origine	Plante hôte	Collecteur	Numéro d'accèsion à GenBank
					ITS
<i>Neofusicoccum parvum</i>	CBS 110301	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	AY259098
	CAP247	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	EF638786
	CMW 994	New Zealand	<i>Malus sylvestris</i>	G.J. Samuels	AF243395
<i>Neofusicoccum kwambonambiense</i>	CBS 123643	South Africa	<i>S. cordatum</i>	D. Pavlic	EU821894
	CBS 123639	South Africa	<i>S. cordatum</i>	D. Pavlic	EU821900
<i>N. australe</i>	CBS 119046	Portugal	<i>Rubus sp.</i>	E. Diogo	DQ299244
	CAP 252	Italy	<i>Olive</i>	Unknown	EF638777
	CAP 221	Italy	<i>Olive</i>	Unknown	EF638773
	CMW 9072	Australia	<i>Acacia sp.</i>	J. Roux	AY339260
<i>N. lutea</i>	CBS 110299	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	Unknown	AY259091
	CMW 9076	New Zeland	<i>Malus domestica</i>	S.R. Pennycook	AY339257
<i>N. mediterraneum</i>	CAP 253	Italy	<i>Olive</i>	Unknown	EF638787
	CAA 002	USA	<i>Pistacia vera</i>	T.J. Michailides	EU017537
<i>Neofusicoccum vitifusiforme</i>	CBS 110887	South Africa	<i>Vitis vinifera</i>	J. Van Niekerk	AY343383

	CBS 110880	South Africa	<i>Vitis vinifera</i>	J. Van Niekerk	AY343382
<i>B. dothidea</i>	CBS 110302	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	AY259092
	CBS 115476	Switzerland	<i>Prunus</i> sp.	B. Slippers	AY236949
	CAP288	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	EF638755
	CAP246	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	EF638766
<i>Neofusicoccum umdonicola</i>	CBS 123645	South Africa	<i>cordatum Kosi Bay</i>	D. Pavlic	EU821904
	CBS 123648	South Africa	<i>cordatum Kosi Bay</i>	D. Pavlic	EU821926
<i>Fusicoccum fabicercianum</i>	CBS 127194	China	<i>Eucalyptus</i> sp.	M.J. Wingfield	HQ332198
	CBS 127193	China	<i>Eucalyptus</i> sp.	M.J. Wingfield	HQ332197
<i>Botryosphaeria corticis</i>	CBS 119047	USA	<i>Vaccinium corymbosum</i>	P.V. Oudemans	DQ299245
<i>Fusicoccum ramosum</i>	CBS 122069	Australia	<i>E. camaldulensis</i>	T. Burgess	EU144055
<i>Fusicoccum atrovirens</i>	CBS 124934	South Africa	<i>Pterocarpus angolensis</i>	J. Mehl & J. Roux	FJ888473
	CBS 124935	South Africa	<i>Pterocarpus angolensis</i>	J. Mehl & J. Roux	FJ888476
<i>Botryosphaeria mamane</i>	CBS 117445	Venezuela	<i>Acacia mangium</i>	S. Mohali	EF118046
	CBS 117446	Venezuela	<i>Acacia mangium</i>	S. Mohali	EF118048
<i>Neofusicoccum mangiferum</i>	CBS 118531	Australia	<i>Mangifera indica</i>	G.I. Johnson	AY615185
<i>Neofusicoccum cordaticola</i>	CBS 123637	South Africa	<i>S. cordatum Sabi</i>	D. Pavlic	EU821922
	CMW14056	South Africa	<i>S. cordatum Sabi</i>	D. Pavlic	EU821903

<i>Neofusicoccum ribis</i>	CMW 7772	USA	<i>Ribes sp.</i>	B. Slippers & G. Hudler	AY236935
	CMW 7773	USA	<i>Ribes sp.</i>	B. Slippers & G. Hudler	AY236936

Tableau 4 : Numéros d'accèsion à GenBank et données des espèces de *Diplodia* utilisées pour la construction des arbres phylogénétiques.

Espèces	Numéro d'isolat	Origine	Plante hôte	Collecteur	Numéros d'accèsion à GenBank
					ITS
<i>Diplodia mutila</i>	CBS 112553	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	AY259093
<i>Diplodia mutila</i>	CBS 230.30	U.S.A	<i>Phoenix dactylifera</i>	L.L. Huillier	DQ458886
<i>D. corticola</i>	CBS 112547	Spain	<i>Qercus ilex</i>	M.E. Sanchez	AY259110
<i>D. corticola</i>	CBS 112549	Portugal	<i>Quercus suber</i>	A. Alves	AY259100
<i>D. seriata</i>	CBS 112555	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	AY259094
<i>D. seriata</i>	CBS 119049	Italy	<i>Vitis sp.</i>	L. Mugnai	DQ458889
<i>D. seriata</i>	CAP 220	Italy	<i>Olea europaea</i>	S. Frisullo	EU392294
<i>D. pinea</i>	CBS 393.84	Netherlands	<i>Pinus nigra</i>	H.A. van der Aa	DQ458895
<i>D. pinea</i>	CBS 109943	Indonesia	<i>Pinus patula</i>	M.J. Wingfield	DQ458898
<i>D. scrobiculata</i>	CBS 109944	Mexico	<i>Pinus greggii</i>	M.J. Wingfield	DQ458899
<i>D. scrobiculata</i>	CBS 113423	Mexico	<i>Pinus greggii</i>	M.J. Wingfield	DQ458900

<i>D. cupressi</i>	CBS 168.87	Israel	<i>Cupressus</i> <i>sempervirens</i>	Z. Solel	DQ458893
<i>D. cupressi</i>	CBS 261.85	Israel	<i>Cupressus</i> <i>sempervirens</i>	Z. Solel	DQ458894
<i>Diplodia alatafructa</i>	CBS124931	S. Africa	<i>Pterocarpus</i>	J Mehl & J Roux	FJ888460
<i>Diplodia alatafructa</i>	CBS124932	S. Africa	<i>Pterocarpus</i>	J Mehl & J Roux	FJ888461
<i>Diplodia malorum</i>	CBS112554	Portugal	<i>Malus sylvestris</i>	A.J.L. Phillips	
<i>Diplodia malorum</i>	CAP 266	Portugal	<i>Malus sylvestris</i>	A.J.L. Phillips	GQ923860
<i>Diplodia malorum</i>	CAP 265	Portugal	<i>Malus sylvestris</i>	A.J.L. Phillips	GQ923859
<i>Diplodia rosulata</i>	CBS116470	Ethiopia	<i>Prunus africana</i>	A Gure	EU430265
<i>Diplodia rosulata</i>	CBS116472	Ethiopia	<i>Prunus africana</i>	A Gure	EU430266
<i>Diplodia africana</i>	CBS120835	S. Africa	<i>Prunus persica</i>	U Damm	EF445343
<i>Diplodia africana</i>	CBS121104	S. Africa	<i>Prunus persica</i>	U Damm	EF445344
<i>Diplodia olivarum</i>	CAP235	Italy	<i>Olea europaea</i>	S.Frisullo	EU392301
<i>Diplodia olivarum</i>	CAP 257	Italy	<i>Olea europaea</i>	S.Frisullo	
<i>Diplodia bulgarica</i>	CAP 331	Bulgaria	<i>Malus sylvestris</i>	S. Bobev	
<i>Diplodia bulgarica</i>	CAP 332	Bulgaria	<i>Malus sylvestris</i>	S. Bobev	
<i>Diplodia tsugae</i>	CBS 418.64	Canada	<i>Tsuga heterophylla</i>	A. Funk	DQ458888
<i>L. theobromae</i>	CBS 289.56	New Guinea	<i>Sail-Cloth</i>	M.B. Schwartz	EF622070
<i>L. theobromae</i>	CBS 112874	South Africa	<i>Vitis vinifera</i>	F. Halleen	EF622075

V.2.4. Visualisation des arbres phylogénétiques

Les arbres phylogénétiques ont été visualisés avec le logiciel TreeView quel que soit la méthode de construction (Page, 1996). Seul l'arbre issu de la méthode MP est visualisé dans notre étude et les nœuds communs aux deux méthodes sont indiqués par un astérisque. Seuls les bootstraps d'une valeur supérieure à 50% sont indiqués.

VI. Test de pathogénéicité

Afin de confirmer la pathogénéicité des isolats obtenus des *Botryosphaeriaceae*, et confirmer le postulat de Koch, nous avons effectué le test de pathogénéicité.

La méthodologie utilisée est inspirée de celle utilisée par Moral, *et al.* (2010) pour confirmer la pathogénéicité des *Botryosphaeriaceae* associés au dépérissement de l'olivier.

VI.1. Méthodologie

Un total de 60 segments de branches de 14 à 18 cm de long et de 10 à 15 mm de diamètre (**Fig.14**), a été prélevé à partir des pêchers asymptomatiques. La surface de l'écorce a été désinfectée avec de l'éthanol au point d'inoculation situé au milieu de chaque branche. A l'aide d'un scalpel (**Fig.15**), des incisions assez profondes ont été réalisées pour enlever l'écorce et laisser l'écorce interne intacte.

Deux isolats de chaque espèce identifiée phylogénétiquement ont été inclus dans le test.

Des pastilles de 10 mm de diamètre de mycélium de chaque isolat ont été faites en utilisant une pipette Pasteur puis inoculés au niveau des incisions. Dix répétitions par isolats ont été effectuées.

Après inoculation, les incisions ont été enveloppées avec du coton stérile humide et du papier aluminium puis scellées avec du parafilm (**Fig.16**). Les branches ont été mises à incubées dans des bocaux contenant de l'eau stérile est enveloppé avec des sachets en polyéthylène (**Fig.19**) pendant cinq jours afin de maintenir l'humidité, au bout du cinquième jour les sachets ont été enlevés.

Les témoins ont été inoculés avec des pastilles de gélose stérile.

Les branches ont été examinées après un mois d'incubation. Pour chaque branche, la longueur et la largeur de la lésion ont été mesurées.

Pour ré-isoler l'agent pathogène, des buchettes à 2 et 4 cm à partir du point d'inoculation de chaque branche ont été retirées d'une manière aseptique et mises sur milieu PDA.



Fig.14 : Segments de branches asymptomatiques **Fig.15** : Incision faite à l'aide d'un scalpel



Fig.16 : Incisions scellées avec du parafilm



Fig.17 : Pastilles de *Neofusicoccum algeriense*



Fig.18 : Pastilles de *Diplodia malorum*



Fig.19 : Branches en incubation

CHAPITRE III.
RESULTATS ET DISCUSSION

I. Diagnostic symptomatique

I.1. Description des symptômes externes

Lors de nos prospections réalisées sur le terrain, nous avons observé différents types de symptômes dans les deux vergers. A l'exception des arbres d'apparence saine (**Fig.23**), nous avons pu observer différents types de symptômes tels que des arbres complètement dépéris, des arbres partiellement dépéris, des branches dépourvues de feuillage et des brindilles complètement desséchées (**Fig.20**). Nous avons également constaté l'absence d'un nombre important d'arbres dans les deux vergers **Fig.22 (F)**. Après avoir interrogé le propriétaire, nous avons appris qu'ils étaient arrachés suite à un dépérissement total.

Les symptômes observés lors de notre prospection sont similaires à ceux déjà observés par Mansouri (2012) sur les agrumes de la région de Chiffa, par Belaid (2013) dans les vignobles d'Ain-Benian, et par Arkam (2015) sur les agrumes et quelques Rosaceae dans la plaine de la Mitidja.



Fig.20: (A) Arbre complètement dépéris (B) Feuilles jaunâtres et rabougries

(Kermia., 2014)



Fig.21: (C), (D) Arbres partiellement dépéris. (Kermia., 2014)



Fig. 22 : (E) Rameau dépéri, (F) Arbre absent. (Kermia.,2014)



Fig. 23 : Arbre d'apparence saine

II. Diagnostic au laboratoire

II.1. Description des symptômes internes

L'analyse des échantillons de bois prélevés à partir de 40 arbres présentant des symptômes de dépérissement nous a permis de décrire les différents types de nécroses internes, ces nécroses sont similaires à celle décrites sur l'amandier (Gramaje *et al.*, 2012) ; sur la vigne (Berraf-tebbal 2013) ; sur le manguier (Ismail *et al.*, 2013) ; et sur pommier, pêcher et poirier (Arkam, 2015 et Sessa *et al.*, 2016).

Nécrose brune et dure en position sectorielle (NBDS) : de couleur brun foncé et une consistance dure. (Fig.24).

Nécrose brune et tendre en position centrale (NBTC) : de couleur brun foncé et une consistance tendre. (Fig.25).

Nécrose claire et tendre en position centrale (NCTC) : le bois en position centrale est de consistance tendre, de couleur claire et friable (Fig. 26).

Nécrose brune et dure en position centrale (NBDC) : composé d'une zone brune à consistance dure, entourée par le bois sain (Fig.27).

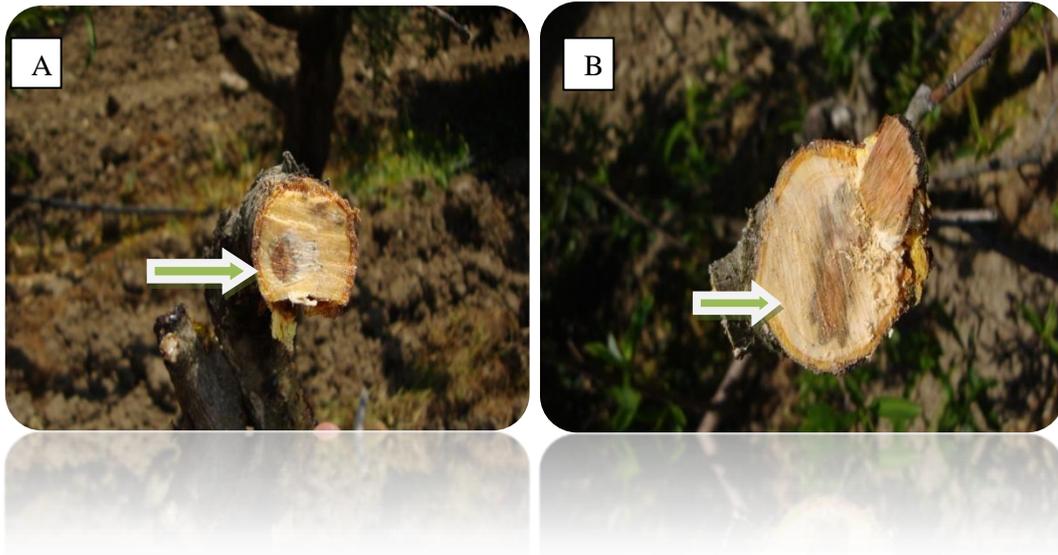


Fig.24 : (A), (B) Nécrose brune et dure en position sectorielle. (Kermia.,2014)



Fig.25 : Nécrose brune et tendre en position centrale. (Kermia.,2014)



Fig.26 : Nécrose claire et tendre en position centrale (Kermia., 2014)



Fig.27 : Nécrose brune et dure en position centrale

II.1.1. Taux des différentes nécroses observées dans le bois

Le bois de 40 arbres examinés a révélé l'existence de 37 nécroses, dont 17 nécroses ont été trouvées au niveau du premier verger, et 20 nécroses au niveau du second.

Le taux des différentes nécroses est récapitulé dans le tableau ci-contre.

Tableau 5 : Données chiffrées des types de nécroses dans les deux vergers

Nécrose	Vergers I	Vergers II	Total
NCTC	2	2	4
NBDS	6	4	10
NBDC	8	14	22
NBTC	1	0	1
Total	17	20	37

NCTC : nécrose claire et tendre en position centrale ; NBDS : nécrose brune et dure en position sectorielle ; NBDC : nécrose brune et dure en position centrale ; NBTC : nécrose brune et tendre en position centrale.

D'après l'estimation et l'analyse des différents types de nécroses présentes à l'intérieur du bois, nous constatons que le type de nécrose le plus rencontré est la nécrose brune et dure en position centrale, suivie par la nécrose brune et dure en position sectorielle avec 22 et 10 nécroses, dans les deux vergers respectivement.

Quant aux nécroses claires et tendres et brunes et tendres en positions centrales, elles sont rencontrées à des fréquences moins importantes avec 4 et 1 nécrose respectivement.

Ce résultat corrobore avec celui obtenu par Arkam (2015), où elle a obtenu 31 nécroses sur pêcher, et dont les nécroses en position centrale prédominent.

La nécrose brune et dure en position centrale est caractéristique de l'esca de la vigne (Larignon et Dubos, 1997 ; Péros *et al.*, 2008 et Mugnai *et al.*, 1999), la nécrose brune et dure en position sectorielle est caractéristique de l'eutypiose de la vigne (Luque *et al.*, 2009 ; Urbez-Torres, 2011a ; Sosnowski *et al.*, 2005).

Nous avons constaté que pour un seul arbre, plusieurs types de nécroses ont été décrits, cela peut être expliqué par la coexistence de plusieurs champignons dans un même arbre.

II.2. Isolement et identification des *Botryosphaeriaceae* associés au dépérissement du pêcher

Un total de 32 isolats appartenant à la famille des *Botryosphaeriaceae* a été isolé à partir des buchettes découpées dans les différentes zones des 37 lésions vasculaires. Ainsi, 15 isolats ont été obtenus à partir du verger I et 17 isolats, à partir du verger II. Parmi ces isolats, il nous a été possible de distinguer deux morphotypes, selon la forme et la couleur des conidies. Le morphotype A qui comporte les isolats avec des conidies fusiformes et hyalines et comprennent 23 isolats. Le morphotype B qui inclut les 09 isolats restants, ont des conidies globuleuses et pigmentées. Ainsi, deux analyses phylogénétiques ont été réalisées séparément.

➤ Analyse phylogénétique du morphotype A

Les séquences ITS ont été obtenues pour 08 isolats représentant le morphotype A. La recherche « BLAST » dans la banque des gènes « GenBank » a montré 99 % de similarité avec le genre *Neofusicoccum* qui appartient à la famille des *Botryosphaeriaceae*.

Afin de positionner les isolats de notre étude dans leur taxon respectif, nous avons réalisé des analyses phylogénétiques basées sur les séquences ITS (annexe 2).

Les séquences des gènes des ITS ont été combinées et alignées avec les séquences de 49 taxa récupérés de GenBank dont deux espèces *Outgroup* (*Botryosphaeria dothidea* et *Botryosphaeria corticis*). L'alignement combiné des 57 taxa se composait de 655 caractères. Parmi eux, 456 ont été constants, 42 ont été variables et peu informatifs pour la phylogénie et 157 ont été informatifs pour l'analyse de parcimonie. L'analyse phylogénétique a produit 448 arbres de parcimonie maximum ayant une longueur de 344 pas, un indice de cohérence (CI) de 0,727, un indice de rétention (RI) de 0,901 et un indice d'homoplasie (HI) de 0,273. La topologie des arbres résultant des analyses de maximum de parcimonie (MP) et Neighbour joining (NJ) était similaire. Un des 448 arbres issus de la méthode MP est présenté dans la figure 28. Nous remarquons que les 08 isolats de cette étude sont regroupés avec l'espèce *Neofusicoccum algeriense*. Ils sont bien supportés statistiquement, que ça soit pour l'analyse de maximum de parcimonie (MP) ou du Neighbour joining (NJ).

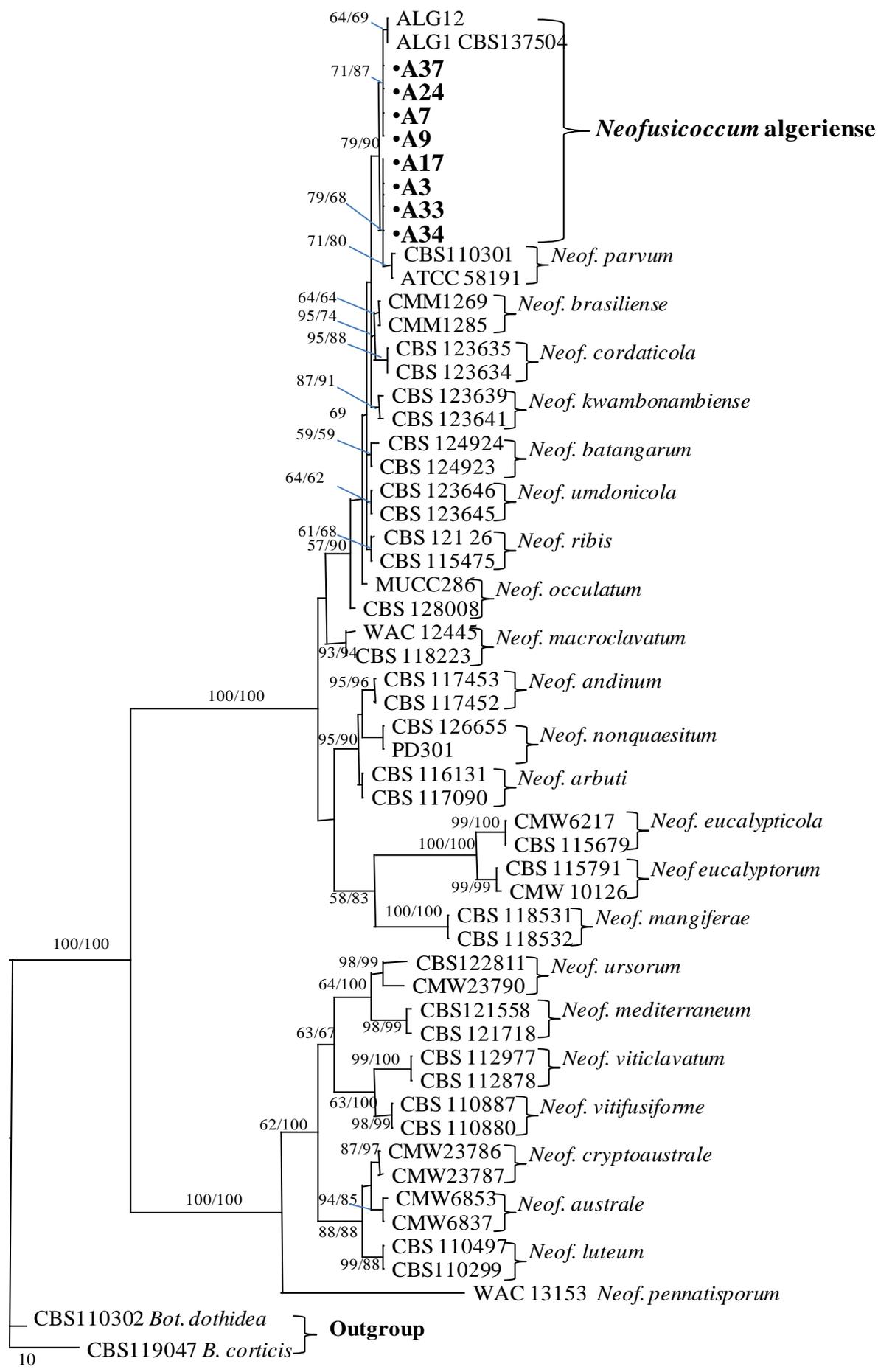


Fig. 28: Un des 448 arbres phylogénétiques obtenu par un maximum de parcimonie à partir des séquences ITS (TL=344 pas, CI=0,727, RI=0,901, HI=0,273). Les espèces de la présente étude sont représentées en gras. *Botryosphaeria dothidea* et *Botryosphaeria corticis* ont été utilisées comme outgroup.

➤ Analyse phylogénétique du morphotype B

Les séquences ITS ont été obtenues pour 06 isolats représentant le morphotype B. La recherche « BLAST » dans la banque des gènes « GenBank » a montré 99 à 100 % de similarité avec le genre *Diplodia* qui appartient aussi à la famille des *Botryosphaeriaceae*. L'alignement des séquences ITS contenait 43 taxa dont 06 appartiennent à cette étude (annexe 2) et 2 taxa outgroups (*Lasiodiplodia theobromae*). Les séquences comprises dans cet alignement incluaient 709 caractères dont 540 étaient constants, 10 étaient variables et 159 ont été informatifs pour la parcimonie. Deux arbres de topologie identique ont été obtenus des analyses de MP et NJ. Un arbre a été choisi parmi les 64 arbres obtenus (Fig.29). Ils possédaient un indice de cohérence (CI) de 0,752, un indice de rétention (RI) de 0,917 et un indice d'homoplasie (HI) de 0,248. L'analyse phylogénétique a montré que les isolats de cette étude appartiennent à l'espèce *Diplodia malorum* avec un support bootstrap de 99% d'homologie, que ça soit pour l'analyse de Maximum de parcimonie ou bien de Neighbour joining.

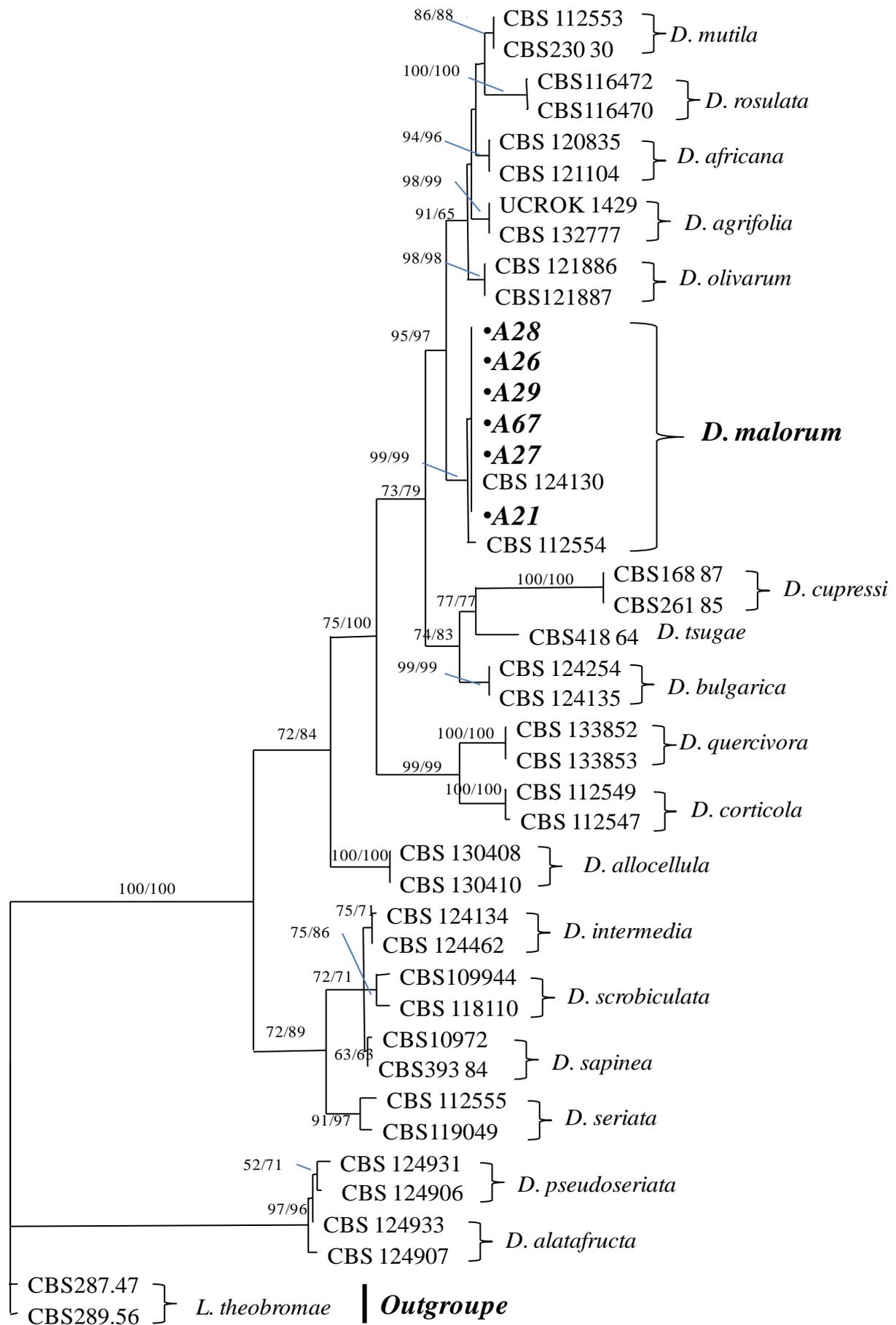


Fig. 29 : Un des 64 arbres phylogénétiques obtenu par un maximum de parcimonie à partir des séquences ITS (TL=307 pas, CI=0,752, RI=0,917, HI=0,248). Les espèces de la présente étude sont représentées en gras. *Lasiodiplodia theobromae* a été utilisée comme outgroup.

II.2.1. Fréquences d'isolement des agents fongiques

Les différents types de nécroses ont permis d'obtenir 32 isolats, appartenant aux espèces *Neofusicoccum algeriens* et *Diplodia malorum*, avec 23 et 9 isolats respectivement.

Les fréquences d'isolement des agents fongiques identifiés sont reportées sur le tableau suivant.

Tableau 6 : Fréquence d'isolement des agents fongiques

Agent fongique	Nombre d'isolement	Fréquence d'isolement %
<i>Neofusicoccum algeriens</i>	23	71,9
<i>Diplodia malorum</i>	9	28,1
Total	32	100

L'examen du tableau nous révèle que *N. algeriense* est l'espèce la plus fréquente ; elle a été isolée avec une fréquence de 71,9%. Celle-ci a été décrite pour la première fois par Berraf-Tebbal *et al.* (2014) sur la vigne, où 4 isolats ont été obtenus sur un total de 67 avec une fréquence de 6%. Arkam (2015) l'a également isolé à partir des *Rosaceae* avec 29 isolats et une fréquence de 29,59%.

Diplodia malorum est faiblement isolée avec une fréquence de 28,1%. Cette espèce a été pendant longtemps confondue avec l'espèce *Diplodia mutila*. Son identité a été confirmée en 2012, suite à une étude réalisée par Phillips *et al.*, sur le dépérissement des *Rosaceae*.

II.2.2. Localisation des deux espèces par rapport aux nécroses

Les 32 isolats ont été obtenus à partir des 4 types de nécroses décrites précédemment. Les deux espèces identifiées ont des localisations différentes par rapport aux nécroses, comme le récapitule le tableau ci-dessous.

Tableau 7: Localisation des espèces dans les nécroses

Espèce	Verger I				Verger II				Total
	A	B	C	D	A	B	C	D	
N. algeriense	2	5	1	2	3	7	1	2	23
D. malorum	1	2	0	1	0	3	1	1	9
Total	3	7	1	3	3	10	2	3	32

A : nécrose claire et tendre en position centrale ; **B** : nécrose brune et dure en position sectorielle ; **C** : nécrose brune et dure en position centrale ; **D** : nécrose brune et tendre en position centrale.

L'analyse du tableau 7, nous révèle que l'espèce *Neofusicoccum algeriense* a été isolée à partir de tous les types de nécroses et plus particulièrement de la nécrose brune et dure en position sectorielle. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Berraf-Tebbal *et al.*, (2014), où les *Neofusicoccum algeriense* sont isolées à partir des nécroses en position sectorielle (48 isolats). Alors qu'Arkam (2015) l'a isolé à partir des nécroses en position centrale.

Quant à *Diplodia malorum*, elle a été faiblement isolée à partir de toutes les nécroses, alors qu'elles sont absentes au niveau des nécroses brunes et dures en position centrale et celle claire et tendre toujours en position centrale.

En ce qui concerne la relation entre les différents types de nécroses et les agents fongiques, nous avons constaté que les deux espèces identifiées appartiennent à la famille des *Botryosphaeriaceae*, ont des localisations différentes dans les nécroses, elles sont surtout isolées à partir des nécroses brunes et dures en position sectorielle, ce résultat est similaire à celui obtenu par Gramaje *et al* (2012) ; Berraf-tebbal., (2013) ; et Sessa *et al.*, (2016) ; qui ont également isolé les *Botryosphaeriaceae* à partir de ce type de nécrose.

III. Test de pathogénécité

L'inoculation des branches de pêcher par les isolats de *Botryosphaeriaceae* identifiés, nous a permis d'avoir des résultats après un mois d'incubation. Les isolats de *Neofusicoccum algeriens* et ceux de *Diplodia malorum* testés dans l'expérience ont produits des lésions nécrotiques dans le bois, les branches témoin n'ont présentés aucun symptôme.

III.1. Test de pathogénécité de l'espèce *Neofusicoccum algeriense*

Après un mois d'incubation, *Neofusicoccum algeriense* a produit des lésions nécrotiques sur la majorité des boutures du pêcher (**Fig.30**), avec une longueur moyenne de 2,76 cm, et une largeur de 0,9 cm.

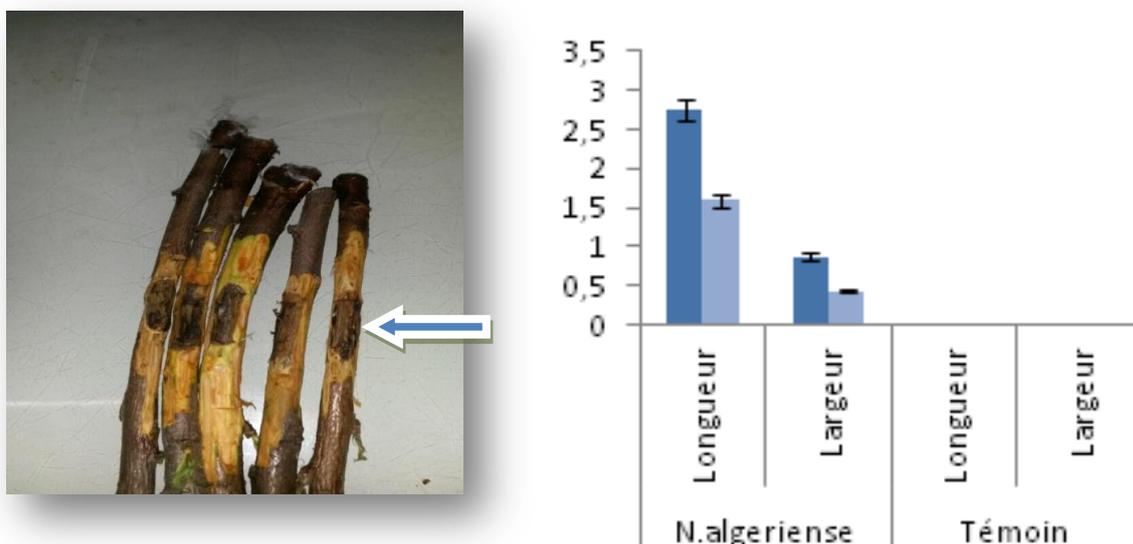


Fig.30 : Résultat de l'inoculation de *Neofusicoccum algeriense*

III.2. Test de pathogénécité de l'espèce *Diplodia malorum*

Les lésions produites par *Diplodia malorum* sur les boutures du pêcher, sont de longueur moyenne de 2,45cm, et de largeur de 0,75cm. Les résultats d'incubation de 4 semaines sont reportés sur la figure (**Fig. 31**).

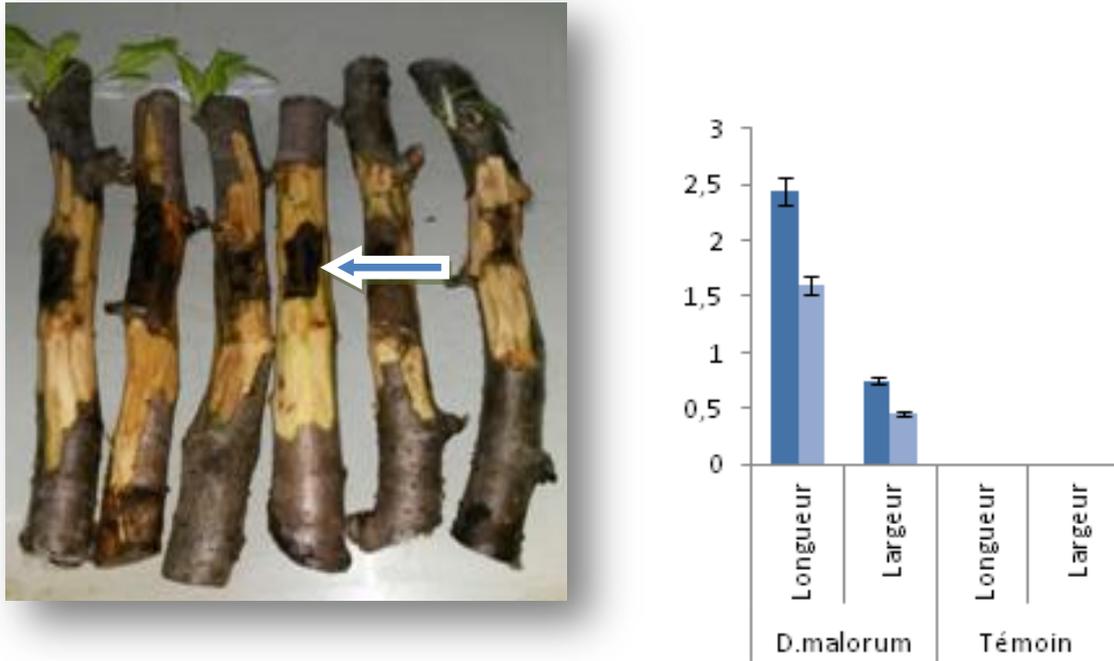


Fig.31 : Résultat de l'inoculation de *Diplodia malorum*



Fig.32: Bouture témoin

Le test de pathogénécité réalisé sur des branches de pêcher asymptomatiques par inoculation et incubation d'un mois, a révélé que les espèces identifiées ont produit de faibles lésions nécrotique dans le bois. Carlucci et *al* (2013) ayant testé la pathogénécité de *Neofusicoccum parvum* sur l'olivier, ont également obtenu des lésions où la moyenne varie de 1,7cm et 2,3cm. Contrairement a Arkam (2015), où les lésions étaient d'une moyenne de 4,52cm et 3,82cm pour *N.algeriense* et *Diplodia* sp. Respectivement.

III.3. Ré-isolément des agents pathogènes

Après avoir ré- isoler les deux agents pathogènes sur milieu PDA, il ya eu développement des deux espèces identifiées a partir de tissu symptomatique. De ce fait les postulats de Koch ont été confirmés.

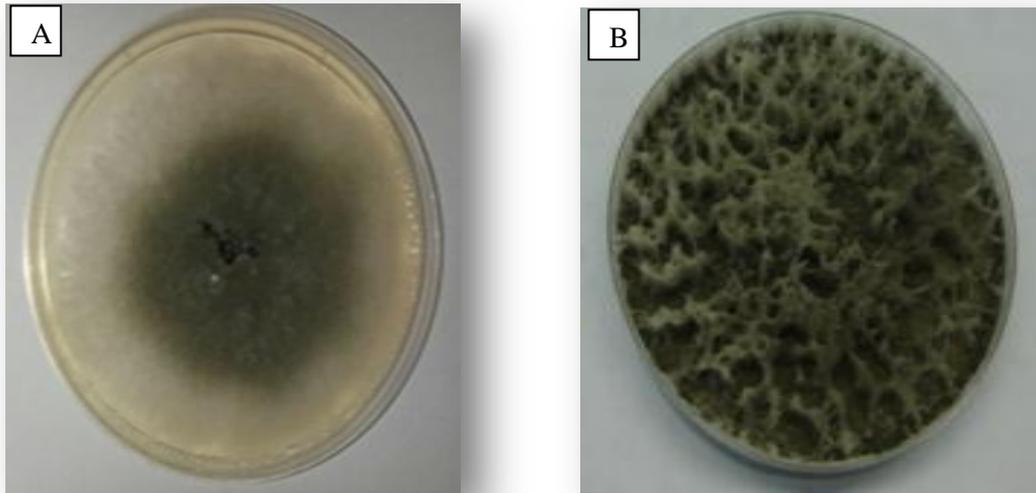


Fig.33 : Colonies de *Neofusicoccum algeriense* ré-isolées à partir des nécroses

(A) : colonies âgées de 5jours (B) : colonies âgées de 10 jours

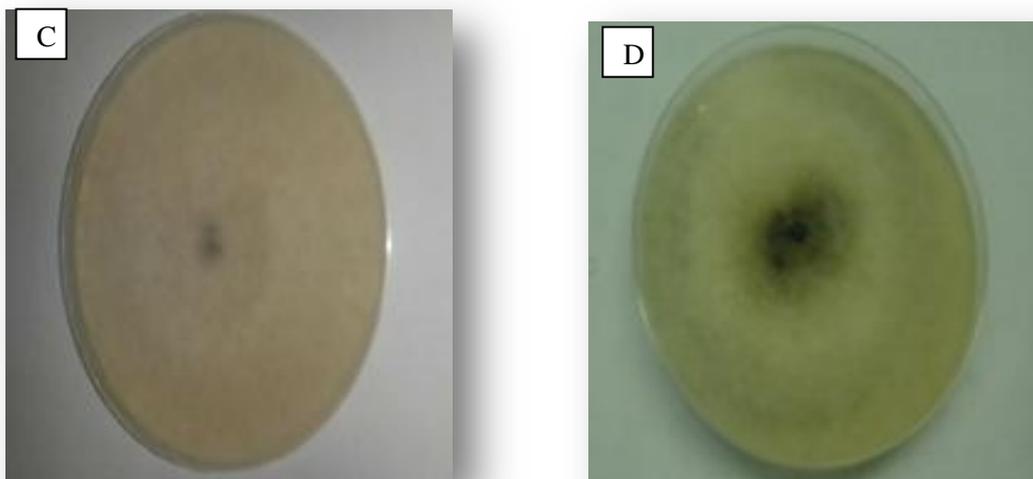


Fig.34 : Colonies de *Diplodia malorum* ré-isolées à partir des nécroses

(C) : colonies âgées de 5jours (D) : colonies âgées de 10 jours

CONCLUSIONS-PERSPECTIVES

Les maladies du bois, sont devenues parmi les affections les plus redoutables touchants les espèces ligneuses. Elles sont causées par des champignons lignivores qui progressent dans le bois, obstruent les vaisseaux, produisent des toxines et contribuent à la formation de nécroses. Parmi les champignons incriminés dans les dépérissements ; les espèces de *Botryosphaeriaceae* qui sont des pathogènes très redoutables affectant les arbres fruitiers et forestiers.

Afin d'apporter une contribution à la compréhension de ces dépérissements qui touchent nos cultures, nous avons ciblé deux vergers de pêcher situés dans la wilaya de Tipaza, présentant des symptômes de dépérissement.

Nous avons eu comme objectifs de rechercher, isoler, et identifier les espèces de *Botryosphaeriaceae* inféodées au dépérissement par leur caractérisation morphologique et moléculaire ainsi que la confirmation de leur pathogénécité par un test de pathogénie.

Le diagnostic symptomatique réalisé sous forme d'une enquête sur le terrain a révélé la présence de plusieurs type de symptômes ; arbres partiellement dépéris, des arbres complètement dépéris, comme il a tiré notre attention l'absence d'un nombre important d'arbre qui ont été arraché suite à un dépérissement total.

L'analyse du bois prélevé à partir de 40 arbres présentant des symptômes de dépérissement a révélée la présence de plusieurs types de nécroses de couleur, de forme et de consistance différente : des nécroses brunes et dures en position centrale, des nécroses claires et tendres en position centrale, des nécroses brunes et dures en position sectorielle, ainsi que des nécroses brunes et tendres en position centrale.

L'étude des interactions entre les nécroses du bois et les agents pathogènes a révélé des localisations différentes des champignons dans les nécroses et nous a permis d'obtenir 32 isolats. La caractérisation morphologique et moléculaire par séquençage des ITS, a mis en évidence deux espèces appartenant à deux genres différents de la famille des *Botryosphaeriaceae* à savoir *Neofusicoccum algeriense* et *Diplodia malorum*.

Le test de pathogénécité a révélé que les deux espèces testées dans l'expérience, ont produit des lésions nécrotiques dans le bois, après ré-isolement le postulat de *Koch* a été confirmé ; de ce fait les deux espèces sont pathogène pour le pêcher.

Les résultats obtenus dans cette étude restent préliminaires et ouvrent des portes à des études ultérieures. Il serait intéressant de suivre une démarche plus élargie telle que :

- mettre en place des enquêtes permettant d'évaluer l'impact des dépérissements,
- augmenter le nombre des échantillons afin d'obtenir un nombre élevé d'isolats,
- suivre les symptômes sur plusieurs années pour permettre un meilleur diagnostic symptomatique,
- prospecter plusieurs vergers arboricoles ainsi que d'autres espèces fruitières afin de rechercher d'autres agents impliqués dans ces maladies,

Il est nécessaire de sensibiliser les arboriculteurs afin de faire face à ces maladies, par l'observation permanente de leurs vergers en absence de moyens de lutte. La prophylaxie reste le seul moyen pour éviter et/ ou minimiser la dissémination de ces maladies, par l'arrachage et l'incinération des rameaux et des arbres atteints afin d'éradiquer toute source d'inoculum, ainsi que la protection des plaies de taille.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdollahzadeh J, Mohammadi Goltapeh E, Javadi A, Shams-bakhsh M, Zare R, Phillips AJL. 2009. *Barriopsis iraniana* and *Phaeobotryon cupressi*: two new species of the *Botryosphaeriaceae* from trees in Iran. *Persoonia* 23: 1–8.

Abdollahzadeh J., Javadi A., Mohammadi Goltapeh E., Zare R. et Phillips A.J.L. 2010. Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. *Persoonia* 25: 1–10.

Abdollahzadeh J., R. Zare and A.J.L. Phillips, 2013. Phylogeny and taxonomy of *Botryosphaeria* and *Neofusicoccum* species in Iran, with description of *Botryosphaeria schafii* sp. nov. *Mycologia* 105, 210-220.

Altschul S.F., Gish W., Miller E.W. and Lipman D.J., 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215, 403–410.

Alves A., Henriques I., Fragoeiro S., Santos C., Phillips A. J. L. and Correia A., 2004.

Applicability of rep-PCR genomic fingerprinting to molecular discrimination of members of the genera *Phaeoacremonium* and *Phaeomoniella*. *Plant Pathology*, 53, 629–634.

Ammad F., Benchabane M., Toumi M., Belkacem N., Guesmi A., Ameer C., Lecomte P. Et Merah O., 2014. Occurrence of *Botryosphaeriaceae* species associated with grapevine dieback in Algeria. *Turk J Agric For*: 38: 865-876.

Anonyme, 2008. <http://lesbeauxjardins.com/jardinons/fruitiers/arbres/pechers/peche.htm>

Arkam M., 2015, Mémoire de magister. Recherche et identification morphologique et moléculaire des *Botryosphaeriaceae* associées au dépérissement des agrumes et de quelques *Rosaceae* dans la plaine de la Mitidja.

Armengol J., Vicent A., Torné L., Figueres F. G. and Jiménez J. G. 2001. Fungi associated with esca and grapevine declines in Spain : a three-year survey. *Phytopathol. Mediterr.*40. supplement, 325-329.

Arumuganathan, K., Earle, E. D. (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 9(3), pp. 208-218. doi:10.1007/BF02672069.

Belaid, M., 2013, Mémoire d'ingénieur. Evaluation de l'importance de l'eutypiose de la vigne dans la région de Ain-benian et identification des agents fongiques associés.

Benettayeb Z., 1993 – Biologie et écologie des arbres fruitiers. Ed. OPU. Alger, 140p.

Berraf A. et Péros J.P., 2005. Importance de l'eutypiose et de l'esca en Algérie et structure de la communauté fongique associée. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 39. 3, 121–128.

Berraf-Tebbal A., 2013. Dynamique spatio-temporelle de l'eutypiose et l'esca de la vigne dans le sahel algérois. Taxonomie et phylogénie des agents pathogènes associés. Doctorat, ENSA El-Harrach.

Bertschinger L., Christian G., Ryser J.P., Häseli A., Neuweiler R., Pfammatter W., Schmid A. et Weibel F., 2003, Données de base pour la fumure en arboriculture fruitière, fruits à pépins, fruits noyaux , Kiwi, baies d'arbuste., Edition : Eidgenössische Forschungsanstalt, Postfach 185, CH-8820 Wädenswi, www.faw.ch., 48P

Bolay A. and Moller W. J., 1977. *Eutypa ameniaca* Hansf et Carter, agent d'un grave dépérissement de vignes en production. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture* **9**, 241-251.

Bouattoura N., 1988 - Les ressources phylogénétiques. Importance-Préservation-Utilisation. Ann. Inst. Nat. Agro. El-Harrach, vol. 12 (1), T. 1, pp. 43-69.

Boubals D. and Mur G., 1990. Influence du mode de taille de la vigne sur l'attaque du tronc des souches par le champignon *Eutypa lata* cas du Cabernet Sauvignon. *Le progrès Agricole et Viticole* 107 : 499-501.

Carlucci, A. Raimondo, M.L. Cibelli, F. Phillips, A.J.L. and Lops F. 2013. *Pleurostomophora richardsiae*, *Neofusicoccum parvum* and *Phaeoacremonium aleophilum* associated with a decline of olives in southern Italy *Phytopathologia Mediterranea*. 52, 3, 517–527.

Carter, M. 1957. *Eutypa armeniaca* Hansf. and Carter, sp. nov., an airborne vascular pathogen of *Prunus armeniaca* L. in Southern Australia. *Australian Journal of Botany* 11: 498.

Castillo-Pando M., Somers A., Green C.D., Priest M. and Sriskanthades M., 2001. Fungi associated with dieback of Semillon grapevines in the Huter Valley of New South Wales. *Australian Plant Pathology*, 30: 59-63.

Chaouia C., Mimouni M., Trabelsi S., Benrebiha F.Z., Boutekrabi T.-F. & Bouchenak F., 2003 – Les espèces fruitières, viticoles et phoenicicoles. In ; Abdelguerfi A. & Ramdane

S.A.- Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires a la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture.

Recueil des communications, Atelier n°3 du 22-23/01/2003, Alger « biodiversité

importante pour l'agriculture » MATE-GEF/PNUD Projet ALG/97/G31. pp.19-28

- Chen S. F., Pavlic D., Roux J., Slippers B., Xieb Y. J., Wingfield M. J. and Zhou X. D. 2011.** Characterization of Botryosphaeriaceae from plantation-grown Eucalyptus species in South China. *Plant Pathology*: 10.1111/j.1365-3059.
- Chiarappa L., 1959.** Wood decay of the grapevine and its relationship with black measles disease. *Phytopathology*, 49: 510-519.
- Cloete, M. 2010.** pome fruit trees as alternative hosts of grapevine trunk disease pathogens. Master degree. South Africa.
- Crous, P.W., Slippers, B., Wingfield, M.J., Rheeder, J., Marasas, W.F.O., Philips, A.J.L., Alves, A., Burgess, T., Barber, P. and Groenewald, J.Z. 2006.** Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *Studies in Mycology* 55: 235-253.
- Damm, U., Crous, P. and Fourie, P. 2007.** *Botryosphaeriaceae* as potential pathogens of *Prunus* species in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. *Mycologia* 99: 664-680.
- Di Marco, S., Calzarano, F., Osti, F. and Mazzullo, A. 2004.** Pathogenicity of fungi associated with a decay of kiwi fruit. *Australasian Plant Pathology*. 33: 337- 342
- Dubos B., 2002.** Les maladies cryptogamiques de la vigne. Champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne. *Edition Ferret*, 200
- Edward F. Gilman and Dennis G. Watson. , 1994.** *Prunus persica* Peach. Fact Sheet ST-513, a series of the Environmental Horticulture Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Galet P., 1995.** Précis de pathologie viticole. *Imp. JF Impression*, Montpellier. 246
- Gautier M., 1987-** La culture fruitière, V 2, les productions fruitières. 2^e Edition, Technique et Documentation Lavoisier, Paris., 665P.
- Gramaje D., Agustí-Brisach C., Pérez-Sierra A., Moralejo E., Olmo D., Mostert L., Damm U., Armengol J.; 2012.** Fungal trunk pathogens associated with wood decay of almond trees on Mallorca (Spain). *Persoonia* 28, 2012: 1–13
- Hawksworth, D.L., Gibson I.A.S and Gams W., 1976.** *Phialophora parasitica* associated with disease conditions in various trees. *Br. Mycol. Soc.*, 66: 427-431.
- Hillis DM. and Bull JJ. 1993.** An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42: 182–192

INRAA, 2006 (b) : deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture en Algérie, Alger, 68P.

Ismail. A.M, Cirvilleri. G, Lombard. L, Crous. P.W, Groenewald. J.Z and Polizzi. G., 2013. Characterisation of *Neofusicoccum* species causing mango dieback in Italy Journal of Plant Pathology , **95** (3), 549-557 Edizioni ETS Pisa, 2013.

Jamin J.Y., Seiny Boukar L., Floret C. (éditeurs scientifiques), 2003. Savanes africaines : des espaces en mutation, des acteurs face à de nouveaux défis. Actes du colloque, mai 2002, Garoua, Cameroun. Prasad, N'Djamena, Tchad - Cirad, Montpellier, France.

Arboriculture fruitière : problématique, enjeux et rôles dans le développement économique des savanes d'Afrique centrale.

Kerboua M., 2002 – L'agrumiculture en Algérie. In : D'Onghia A.M., Djelouah K. & Roistacer C.N. (Eds.) – Proceedings of the Mediterranean research network on certification of citrus (MNCC). CIHEAM-IAMB, Options méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches n°43. Bari, pp. 21-26.

Kermia,S., 2014, Mémoire d'ingénieur. Isolement et identification d'*Eutypa* spp. Et *Fomitiporia* spp. Associés au dépérissement du pêcher dans la wilaya de Tipaza.

Larignon P. and Dubos B., 1997. Fungi associated with esca disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology* 103: 147–157.

Larignon P.,2010, les maladie du bois de la vigne, 16-17 novembre 2010
Villefranche/Saône COMPTE RENDU.

Larignon P., 2012. Maladies cryptogamiques du bois de la vigne : symptomatologie et agents Pathogènes. <http://www.vignevin.com>.

Lecomte P., Darrietort G., Limiñana G.M., Louvet G.,Tandonnet J.-P., Guérin-

Dubrana L., Goutouly J.-P., Gaudillère J.-P. et Blancard D. 2008. Ob s e r v e r Eutypiose et esca : Éléments de réflexion pour mieux appréhender ces phénomènes de dépérissement. *Phytoma*, 615.

Linaldeddu A., Deidda B., Scanu A., Franceschini S., Serra A., Berraf-Tebbal M., Zouaoui Boutiti M., Ben Jamâa L. et Phillips A. J. L. 2014. Diversity of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine and other woody hosts in Italy, Algeria and Tunisia, with descriptions of *Lasiodiplodia exigua* and *Lasiodiplodia mediterranea* sp. Nov. Fungal Diversity. 1-16.

Luque J., Martos M., Aroca A., Raposo R. and Garcia-Figueres F., 2009. Symptoms and fungi associated with declining mature grapevine plants in northeast Spain. *Journal of Plant Pathology* 91: 381–390.

M.A.D.R.2014. Direction des statistiques agricoles et des systèmes d'information. *Ministère de l'agriculture*. Série B.

Mamouni. A.2006 : **Le pêcher: une culture de diversification**, bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA transfert de technologie en agriculture MADRPM/DERD, Mars 2006, PNTTA n°138 Arboriculture.

Mansouri A., 2013. Mémoire d'ingénieur. Identification des agents fongiques associés au dépérissement des agrumes dans la région de CHIFFA (BLIDA).

Mehl J.W.M., Slippers S., Roux J., Wingfield M.J., 2011. Botryosphaeriaceae associated with *Pterocarpus angolensis* (kiaat) in South Africa. *Mycologia*, 103(3), 2011, 534–553.

Meudec G., Prat J.Y., Retournard D. 1997. Soignez tous les arbres fruitiers, espèce par espèce, Edition Rustica, Paris, 279 P.

Moral, J., Muñoz-Díez, C., González, N., Trapero, A., and Michailides, T.J. 2010. Characterization and pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* species collected from olive and other hosts in Spain and California. *Phytopathology* 100:1340-1351

Mugnai L., Graniti A. and Surico G., 1999. Esca (black measles) and brown wood-streaking: two old and elusive diseases of grapevine. *Plant Disease* 83: 404–416.

Page R.D.M., 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12 : 357–358.

Pavlic D, Wingfield M.J., Barber P., Slippers B., Hardy G.E.S.J. and Burgess T.I.. 2008. Seven new species of the Botryosphaeriaceae from baobab and other native trees in Western Australia. *Mycologia* 100: 851–866.

Péros J.P., and Berger G., 1994. A rapid method to assess the aggressiveness of *Eutypa lata* isolates and the susceptibility of grapevine cultivars to *Eutypa* dieback. *Agronomie*, 14: 515-523.

Péros J.P., 1995. Sensibilité des cépages à l'eutypiose: comportement de référence au vignoble. *Prog. Agric. Vitic.*, 112 : 61-67.

Péros J.P., Berger G. and Jamaux-Despreaux I., 2008. Symptoms, wood lesions and fungi

associated with esca in organic vineyards in Languedoc-Rousillon (France). *Journal of Phytopathology* 156: 297–303.

Phillips A.J.L., 2002. *Botryosphaeria* species associated with diseases of grapevines in Portugal. *Phytopathol. Mediterr* 41: 3–18.

Phillips A.J.L., Alves A., Correia A. and Luque J., 2005. Two new species of *Botryosphaeria* with brown, 1-septate ascospores and *Dothiorella* anamorphs. *Mycologia* 97: 513–529.

Phillips A.J.L., Crous P.W. and Alves A., 2007. *Diplodia seriata*, the anamorph of “*Botryosphaeria*” obtusa. *Fungal Diversity* 25: 141–155.

Phillips AJL, Alves A, Pennycook SR, Johnston PR, Ramaley A, Akulov A, and Crous PW. 2008. Resolving the phylogenetic and taxonomic status of dark-spored teleomorph genera in the *Botryosphaeriaceae*. *Persoonia* 21: 29–55.

Phillips A. J. L., A. Alves, J. Abdollahzadeh, B. Slippers, M.J. Wingfield, J.Z. Groenewald and P.W. Crous, 2013. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. *Studies in Mycology* 76, 76–167.

Santos J.M. and Phillips A.J.L., 2009. Resolving the complex of *Diaporthe* (*Phomopsis*) species occurring on *Foeniculum vulgare* in Portugal. *Fungal Diversity* 34: 111–125.

Sessa Lucia & Eduardo Abreo & Lina Bettucci & Sandra Lupo., 2016. *Botryosphaeriaceae* species associated with wood diseases of stone and pome fruits trees: symptoms and virulence across different hosts in Uruguay

Slippers B., and Wingfield M.J., 2007a. *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biology Reviews* 21: 90–106.

Slippers B., Smit W.A., Crous P.W., Coutinho T.A., Wingfield B.D. and Wingfield M.J., 2007b. Taxonomy, phylogeny and identification of *Botryosphaeriaceae* associated with pome and stone fruit trees in South Africa and other regions of the world. *Plant Pathology* 56: 128–139.

Sofia J., Gonçalves M.T. and Oliveira H. 2006: Spatial distribution of esca symptomatic plants in Dão vineyards (Centre Portugal) and isolation of associated fungi. *Phytopathol. Mediterr.* 45, S87–S9

Surico G., Marchi G., Braccini P. and Mugnai L., 2000a. Epydemiology of esca in some vineyards in Tuscany (Italy). *Phytopathol. Mediterr.* 39, 1, 190-205

Swofford D.L., 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods) v4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Taylor K., Barber P.A., Hardy G. and Burgess T.I., 2009. *Botryosphaeriaceae* from tuart (*Eucalyptus gomphocephala*) woodland, including the description of four new species. *Mycological Research* 113: 337–353.

Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D.G., 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25: 4876–4882.

Trouillas, F. P., Pitt W.M., Sosnowski M.R., Huang R., Peduto F., Loschiavo A., Scott E.S. and Gubler, W. D. 2011. Taxonomy and DNA phylogeny of Diatrypaceae associated with *Vitis vinifera* and other woody plants in Australia. *Fungal Diversity*. 13225-011-0094-0.

Úrbez-Torres, J.R., Leavitt, G.M., Voegel, T.M. and Gubler, W.D. 2006. Identification and distribution of *Botryosphaeria* spp. associated with grapevine cankers in California. *Plant Disease* 90 (12): 1490- 1503.

Urbez-Torres J. R., 2011a. The status of *Botryosphaeriaceae* species infecting grapevines. *Phytopathol. Mediterr.* (2011) 50 (Supplement), S5–S45

Van niekerk J.M., Bester W., Halleen F., Crous W., and. Fourie P., 2011. The distribution and symptomatology of grapevine trunk disease pathogens are influenced by climate *Phytopathol. mediterr.* 50 (supplement), 98–111

Verde, I., Abbott, A. G., Scalabrin, S., Jung, S., Shu, S., Marroni, F., Cattonaro, F. (2013). The high-quality draft genome of peach (*Prunus persica*) identifies unique patterns of genetic diversity, domestication and genome evolution. *Nature Genetics*, 45(5), pp. 487-494. doi:10.1038/ng.2586

Viala P., 1926. Recherche sur les maladies de la vigne: esca. *Annales des Epiphyties* 12 : 1 108. **Vilarem I., 2009 :** Planter et entretenir les arbres fruitiers : guide technique. Parc naturel régional oise- Pays de France., 32P.

Vilarem I., 2009 : Planter et entretenir les arbres fruitiers : guide technique. Parc naturel régional oise- Pays de France., 32P.

Viret O., Siegfried W., 2004. Esca. Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture. 36,55 -56.

Weber E.A., Trouillas F.P., and Gubler W.D., 2007. Double Pruning of Grapevines: A Cultural Practice to Reduce Infections by *Eutypa lata*, *Am. J. Enol. Vitic.* 58(1).

White T.J., Bruns T., Lee S. and Taylor J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) PCR Protocols, A guide to methods and applications. *Academic Press*, San Diego, 315–322

Wu M., and Eisen J. A., 2008. A simple, fast, and accurate method of phylogenomic inference. *Genome Biol.* 9:R151.

ANNEXES

Annexe 1

Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) :

- Pomme de terre 200g
- Glucose 20g
- Agar 20g
- Eau distillée 1000ml

Mode opératoire :

Faire bouillir la pomme de terre

Filtrer et récupérer le jus

Incorporer l'agar et le glucose

Ajuster jusqu'à 1000 ml avec de l'eau distillée

Remuer jusqu'à dissolution total des composants

Stériliser pendant 20mn à 120°C

Annexe 2**Les séquences ITS des Botryosphaeriaceae****>A3 N. algeriense**

TGGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGCCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGG
 GGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCATAAAACTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTG
 A
 AAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAA
 GAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
 TGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAA
 CCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGG
 CGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGC
 CCGCCGGACGAACCTTTGAATTATTTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCC
 GCTGAAGTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTA
 A
 CGGCGAGTGAAGCGGCAATAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGT
 AATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGCTCCCGTCTAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCAT
 AGAGGGTGAGAATCCCGTATGTGATGGGCTGCCTTAGCCATGTGAATCTCCTTCGACGAG
 TCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAGGTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATACC
 GGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAG
 A
 GAGTTAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGCAGCCAGACTTGTCCGCA
 G
 TTGCTCAGCTTGTCTCCTGACAGGCGTACTCTTCTGCGGCCAGGCCAGCATCAGTTCGGG
 CGGTCCGATAAAGACCTGGGGAATGTAGCTCCTCTCGGGGAGTGTTATAGCCCTGGGTGC
 AATGCGGCCAGCCTGGACTG~AGGATCTCGCTTCGGC

>A17 N. algeriense

TGGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGCCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGG
 GGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCATAAAACTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTG
 A
 AAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAA
 GAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
 TGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAA

CCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGG
CGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCCG
CCGCCGGACGAACCTTTGAATTATTTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCC
GCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTA
A
CGGCGAGTGAAGCGGCAATAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGT
AATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGCTCCCGTCTAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCAT
AGAGGGTGAGAATCCCGTATGTGATGGGCTGCCTTAGCCATGTGAATCTCCTTCGACGAG
TCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAGGTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATACC
GGCCAGAGACCGATAGCGCACAAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAG
A
GAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGCAGCCAGACTTGTCCGCA
G
TTGCTCAGCTTGTCTCCTGACAGGCGTACTCTTCTGCGGCCAGGCCAGCATCAGTTCGGG
CGGTCCGATAAAGACCTGGGGAATGTAGCTCCTCTCGGGGAGTGTTATAGCCCTGGGTGC
AATGCGGCCAGCCTGGACTG~AGGATCTCGCTTCGGC

>A7 N. algeriense

GTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGCCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGC
TGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCATAAACTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAA
A
CAAGTTAATAAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAAC
GCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAA
CGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCT
CAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGT
GGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCCGCCG
CGGACGAACCTTTGAATTATTTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTG
AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAACGG
C
GAGTGAAGCGGCAATAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGTAATT
TG TAGAGGATGATTCGGCGAGGGCTCCCGTCTAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCATAGAG
GGTGAGAATCCCGTATGTGATGGGCTGCCTTAGCCATGTGAATCTCCTTCGACGAGTCGA
GTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAGGTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCC
AGAGACCGATAGCGCACAAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAGAGA
GT

TAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGCAGCCAGACTTGTCCGCAGTTGC
TCAGCTTGTCTCCTGACAGGCGTACTCTTCTGCGGCCAGGCCAGCATCAGTTCGGGCGGT
CGGATAAAGACCTGGGGAATGTAGCTCCTCTCGGGGAGTGTTATAGCCCTGGGTGCAATG
CGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCGCTCGGCTAGGATGC

>A9 *N. algeriense*

TGATTCGAGCTCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGG
GCCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCAT
AAACTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAA
CAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTG
AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTGGTATTCC
GAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTC
GTCCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGA
AAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCCCGGACGAACCTTTGAATTATTTCTC
AAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGA
G

GAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAATAGCTCAAAT
T

TGAAAGCTGGCCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGCT
CCCGTCTAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGTGATGGGC
TGCCTTAGCCATGTGAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAAT
GGGAGGTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGA
G

TGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAA
A

GGGAAGCGCTTGCAGCCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCTTGTCTCCTGACAGGCGTAC
TCTTCTGCGGCCAGGCCAGCATCAGTTCGGGCGGTTCGGATAAAGACCTGGGGAATGTAGC
TCCTCTCGGGGAGTGTTATAGCCCTGGGTGCAATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCG
CT

>A23 *N. algeriense*

TGGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGCCGCGGTCCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGG
GGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCATAAACTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTG
A

AAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAA

GAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
TGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAA
CCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGG
CGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGC
CCGCCGGACGAACCTTTGAATTATTTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCC
GCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTA
A

CGGCGAGTGAAGCGGCAATAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGT
AATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGCTCCCGTCTAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCAT
AGAGGGTGAGAATCCCGTATGTGATGGGCTGCCTTAGCCATGTGAATCTCCTTCGACGAG
TCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAGGTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATACC
GGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAG
A

GAGTTAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGCAGCCAGACTTGTCCGCA
G

TTGCTCAGCTTGTCTCCTGACAGGCGTACTCTTCTGCGGCCAGGCCAGCATCAGTTCGGG
CGGTCCGATAAAGACCTGGGGAATGTAGCTCCTCTCGGGGAGTGTTATAGCCCTGGGTGC
AATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCGCTTCGGC

>A24 N. algeriense

TGATTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCG
GGCCGCGGTCCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCAGAGGACC
A

TAAAACCTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTTCA
ACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGT
GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTC
CGAGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTT
CGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAG
AAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCC GCCGGACGAACCTTTGAATTATTTCT
CAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGG
A

GGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAATAGCTCAAA
T

TTGAAAGCTGGCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGC
TCCCGTCTAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGTGATGGG

CTGCCTTAGCCATGTGAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAA
TGGGAGGTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAG
A
GTGATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGA
A
AGGGAAGCGCTTGCAGCCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCTTGTCTCCTGACAGGCGTA
CTCTTCTGCGGCCAGGCCAGCATCAGTTCGGGCGGTTCGGATAAAGACCTGGGGAATGTAG
CTCCTCTCGGGGAGTGTTATAGCCCTGGGTGCAATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTC
GCTTCGGCTAGGATGCTGGCGTAATGGCTGTAAGCGG

>A33 N. algeriense

CGAGCTCGGCTCGACTCTCCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGCCGC
GGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCATAAAA
C
TCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTCAACAACG
GATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGG
GCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGTCCT
CCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACA
CCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCC GCCGACGAACCTTTGAATTATTTCTCAAGGT
TGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAA
A
GAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAATAGCTCAAATTTGAA
A
GCTGGCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCCGGCGAGGGCTCCCCT
CTAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGTGATGGGCTGCCT
TAGCCATGTGAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAG
GTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATC
GAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGA
A
GCGCTTGCAGCCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCTTGTCTCCTGACAGGCGTACTCTTC
TGCGGCCAGGCCAGCATCAGTTCGGGCGGTTCGGATAAAGACCTGGGGAATGTAGCTCCTC
TCGGGGAGTGTTATAGCCCTGGGTGCAATGCGGCCAGCCTGGACTGAAGATCTCGCTT

>A34 N. algeriense

CGAGCTCGGCTCGACTCTCCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGCCGC
GGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCATAAAA
C
TCCAGTCAGTGA ACTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAA ACTTTCAACAACG
GATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGG
GCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGTCCT
CCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACA
CCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCC GCCGGACGAACCTTTGAATTATTTCTCAAGGT
TGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAA
A
GAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAATAGCTCAAATTTGAA
A
GCTGGCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGCTCCCGT
CTAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGTGATGGGCTGCCT
TAGCCATGTGAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAG
GTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATC
GAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGA
A
GCGCTTGCAGCCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCTTGTCTCCTGACAGGCGTACTCTTC
TGCGGCCAGGCCAGCATCAGTTCGGGCGGTTCGGATAAAGACCTGGGGAATGTAGCTCCTC
TCGGGGAGTGTTATAGCCCTGGGTGCAATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCGCTTCC
GCTAAGATGCTGGCGTAATGGCTGTAAGCGGC

>A37 *N. algeriense*

CGAGCTCGGCTCGACTCTCCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGCCGC
GGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCATAAAA
C
TCCAGTCAGTGA ACTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAA ACTTTCAACAACG
GATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGG
GCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGTCCT
CCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACA
CCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCC GCCGGACGAACCTTTGAATTATTTCTCAAGGT

TGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAA
A

GAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAATAGCTCAAATTTGAA
A

GCTGGCCCCTTCGGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCCGGCGAGGGCTCCCGT
CTAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGTGATGGGCTGCCT
TAGCCATGTGAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAG
GTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATC
GAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGA
A

GCGCTTGCAGCCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCTTGTCTCCTGACAGGGCTACTCTTC
TGCGGCCAGGCCAGCATCAGTTCGGGCGGTCCGATAAAGACCTGGGGAATGTAGCTCCTC
TCGGGGAGTGTTATAGCCCTGGGTGCAATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCGTTCC
GCTAAGATGCTGGCGTAATGGCTGTAAGCGGC

>A27 malorum

TCCCACCCTTTGTGAACATACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTCTTGCCGCGCGGAGGCCCCC
AAAGGCCAACCCCCCGCGCGCTTCCGCCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAAC
GTCGACGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCT
GGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
A

TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGCATTCCGAGGGGCATGCCTGTTCGA
GCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGC
CTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTG
GAGCGGTTGGCGTCGCCC GCCGACGAACCTTCTGAACTTTTTCTCAAGGTTGACCTCGG
ATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAA
C

AGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCCC
T

TTTAGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCCGGCGAGGGCTCCCGCCTAAGTCCC
CTGGAACGGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGCGGTGGGCTGCCTTAGCCATGT
GAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAGGTAAATTC
TTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATG
A

AAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGC
A

ACCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCCGGTCTCCTGACCGGCGTACTCTTCTGCGGCCAG
GCCAGCATCAGTTCGGGGCGGTCCGATAAAGACCTCGGGAATGTAGCTCCTCTCGGGGAGT
GTTATAGCCCGGGGTGGAATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCGCTCGG

>A28 malorum

CTCGGCTCGATCTCCACCCTTTGTGAACATACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTCTTGCCGC
GCGGAGGCCCCCAAAGGCCAACCCCCCGCGCGCTTCCGCCAGAGGACCTTCAAACCTC
CAGTCAGTAAACGTCGACGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTTCAACAACGG
A

TCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCA
GAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGCATTCCGAGGGGC
ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCT
CTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTACGCCCTCAAGCGTAGTAGAATA
CACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCC GCCGACGAACCTTCTGAACTTTTTCTCAA
GGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATAACCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGG
A

AAAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTT
G

AAAGCTGGCCCTTTTAGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGCTCC
CGCCTAAGTCCCCTGGAACGGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGCGGTGGGCT
G

CCTTAGCCATGTGAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGG
GAGGTAAATTTCTTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGT
G

ATCGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAG
G

GAAGCGCTTGCAACCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCCGGTCTCCTGACCGGCGTACTC
TTCTGCGGCCAGGCCAGCATCAGTTCGGGGCGGTCCGATAAAGACCTCGGGAATGTAGCTC
CTCTCGGGGAGTGTTATAGCCCGGGGTGGAATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCGCT
C

>A29 malorum

TCCACCCTTTGTGAACATACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTCTTGCCGCGCGGAGGCCCC
AAAGGCCAACCCCCCGCGCGCTTCCGCCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAAC

GTCGACGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCT
GGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
A

TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGCATTCCGAGGGGCATGCCTGTTCTGA
GCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGC
CTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTG
GAGCGGTTGGCGTCGCCC GCCGACGAACCTTCTGAACTTTTTCTCAAGGTTGACCTCGG
ATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAA
C

AGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCCC
T

TTTAGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGCTCCCGCCTAAGTCCC
CTGGAACGGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGCGGTGGGCTGCCTTAGCCATGT
GAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAGGTAAATTC
TTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATG
A

AAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGC
A

ACCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCCGGTCTCCTGACCGGCGTACTCTTCTGCGGCCAG
GCCAGCATCAGTTCGGGCGGTCCGATAAAGACCTCGGGAATGTAGCTCCTCTCGGGGAGT
GTTATAGCCCGGGGTGGAATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCGCTCGG

>A67 malorum

TCCCACCCTTTGTGAACATACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTCTTGCCGCGCGGAGGCCCCC
AAAGGCCAACCCCCCGCGCGCTTCCGCCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAAC
GTCGACGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCT
GGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
A

TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGCATTCCGAGGGGCATGCCTGTTCTGA
GCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGC
CTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTG
GAGCGGTTGGCGTCGCCC GCCGACGAACCTTCTGAACTTTTTCTCAAGGTTGACCTCGG
ATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAA
C

AGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCCC
T

TTTAGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGCTCCCGCCTAAGTCCC
CTGGAACGGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGCGGTGGGCTGCCTTAGCCATGT
GAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAGGTAAATTC
TTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATG
A

AAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGC
A

ACCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCCGGTCTCCTGACCGGCGTACTCTTCTGCGGCCAG
GCCAGCATCAGTTCGGGCGGTTCGGATAAAGACCTCGGGAATGTAGCTCCTCTCGGGGAGT
GTTATAGCCCGGGGTGGAATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCGCTCGG

>A26 malorum

TCCCACCCTTTGTGAACATACTCTGTTGCTTTGGCGGCTCTTGCCGCGCGGAGGCCCCC
AAAGGCCAACCCCCCGCGCGCTTCCGCCAGAGGACCTTCAAACCTCAGTCAGTAAAC
GTCGACGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCT
GGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
A

TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGCATTCCGAGGGGCATGCCTGTTCGA
GCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGC
CTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTG
GAGCGGTTGGCGTCGCCC GCCGACGAACCTTCTGAACTTTTTCTCAAGGTTGACCTCGG
ATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAA
C

AGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCCC
T

TTTAGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGCTCCCGCCTAAGTCCC
CTGGAACGGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGCGGTGGGCTGCCTTAGCCATGT
GAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAGGTAAATTC
TTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATG
A

AAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGC
A

ACCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCCGGTCTCCTGACCGGCGTACTCTTCTGCGGCCAG

GCCAGCATCAGTTCGGGCGGTTCGGATAAAGACCTCGGGAATGTAGCTCCTCTCGGGGAGT
GTTATAGCCCGGGGTGGAATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCGCTCGG

>A21 malorum

TCCCACCCTTTGTGAACATACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTCTTGCCGCGCGGAGGCCCCC
AAAGGCCAACCCCCCGCGCGCTTCCGCCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAAC
GTCGACGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCT
GGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
A

TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGCATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTGA
GCGTCATTACAACCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGC
CTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAAGCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTG
GAGCGGTTGGCGTCGCCC GCCGACGAACCTTCTGAACTTTTTCTCAAGGTTGACCTCGG
ATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAA
C

AGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCCC
T

TTTAGGGTCCGCGTTGTAATTTGTAGAGGATGATTCGGCGAGGGCTCCCGCCTAAGTCCC
CTGGAACGGGGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTATGCGGTGGGCTGCCTTAGCCATGT
GAATCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAATGGGAGGTAAATTC
TTCTAAAGCTAAATACCGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATG
A

AAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCTTGC
A

ACCAGACTTGTCCGCAGTTGCTCAGCCGGTCTCCTGACCGGCGTACTCTTCTGCGGCCAG
GCCAGCATCAGTTCGGGCGGTTCGGATAAAGACCTCGGGAATGTAGCTCCTCTCGGGGAGT
GTTATAGCCCGGGGTGGAATGCGGCCAGCCTGGACTGAGGATCTCGCTCGG

>D_malorum_CBS_124130_GQ923865

GATCATTACCGAGTTCTCGAGCTCCGGCTCGAATCTCCCACCCTTTGTGAACATACCTCT
GTTGCTTTGGCGGCTCTTGCCGCGCGGAGGCCCCCAAAGGCCAACCCCCCGCGCGCT
TCCGCCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAACGTCGACGTCTGAAAAACAAGTTAAT
AAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAA
TGCATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTG
CGCCCCTTGGCATTCCGAGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTACAACCTCAAGCTCTG

CTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTT
CAGCCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCCCGCCGGAC
GAACCTTCTGAACTTTTTCTCAAGGTTGACCTCGGAT

>D_malorum_CBS_112554_AY259095

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTCTCGAGCTCCGGCTCGAATCTCC
CACCCCTTTGTGAACATACTCTGTTGCTTTGGCGGCTTTGCCGCGCGGAGGCCCCCAA
GGCCAACCCCCCGCGCGCCTTCGCCAGAGGACCTTCAAACCTCAGTCAGTAAACGTC
GACGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGC
ATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATC
A

TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGCATTCCGAGGGGCATGCCTGTTGAGCG
TCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGCCTC
AAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTGAGCCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTGGAG
CGGTTGGCGTCGCCCCGCCGGACGAACCTTCTGAACTTTTTCTCAAGGTTGACCTCGGATCA
GGTAGGGATAACCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

>A27 EF

GAGGATTTTTCCCGTTCCCGCACGTGTGCAGTGCTGCTGCGCTTATCTGCCGCCTTGGTG
AGGGGCATTTTTCGTGGTGGGGTTTGGCCCGCGCTAAACCTCGTCTGAGCTCGGCAAAC
GGCCGCACTTGGTTTTTTCGACCGGCGTGAGGCCGATGCGCCCCCTACTAGCGAAAAAT
GCCCCGACCACTCATGTGCTCTCGTACGACCCCGGGCTAACGCGCGCCACAACAGGAAGC
CGCTGAGCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCCTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGA
GCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATCGCCCTCTGGAAGTTCGAGACCCCGAAGTACTA
TGTCACCGTCATCGACGCCCCCGGTCACCGTGACTTCATCAAGAACATGATCACTGGTAC
CTCGCAGGCCGACTGCGCCATTCTCATCATTGCCGCCGGTACTG