

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ DE BLIDA 1
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention
du diplôme de Master 2 en Sciences de la nature et de la vie
Spécialité : Phytopharmacie appliquée

Thème

**Evaluation de l'état de dépérissement de quelques vergers
arboricoles dans la région de Médéa et Blida**

Réalisé par :

M^{lle} HABIRECHE YASMINE & M^{lle} KHEDDAOUI SOUMIA

Devant le jury composé de :

M^{me} SABRI K.	M.A.A	U.S.D.B.1	Présidente
M^{me} AMMAD F	M.C.B	U.S.D.B.1	Promotrice
M^{me} BERRAF A.	M.C.A	U.S.D.B.1	Examinatrice
M^{me} BENSALF.	M.A.A	U.S.D.B .1	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014/20015

TABLES DES MATIERES

Résumé	
Summary	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviations	
Introduction.....	01
Chapitre I Synthèse bibliographique	
1. Arboriculture fruitière.....	04
1.1 Classification des arbres fruitiers.....	05
1.2 Importance de l'arboriculture fruitière	06
1.2.1 Dans le monde.....	06
1.2.2 En Algérie	06
2. Présentation de la plante hôte- Abricotier-.....	07
2.1 Données générales sur l'abricotier.....	07
2.2 Taxonomie	08
2.3 Répartition géographique	08
2.4 Importance économique de la culture d'abricots.....	08
2.4.1 Au Niveau Mondiale.....	08
2.4.2 Au niveau national.....	09
3. Présentation de la plante hôte- cerisier-.....	10
3.1 Données générales sur le cerisier.....	10
3.2 Taxonomie	11
3.3 Répartition géographique du cerisier.....	11
3.4 Considération économique du cerisier	11
3.4.1 Au niveau mondial	11
3.4.2 Au niveau national	12
4. Les principales ravageurs et maladies de dépérissement des arbres fruitiers à Noyaux.....	13
5. Les principales maladies de dépérissements.....	16
5.1 L'eutypiose.....	18
5.1.1 Historique	18
5.1.2 Symptomatologie	19
➤ Sur la partie végétative	19
➤ Au niveau du bois	20
5.1.3 Agent causal de l'eutypiose: <i>Eutypalata</i>	21
5.1.4 Mode d'action	21
5.2 L'esca.....	22
5.2.1 Historique.....	22
5.2.2 Symptomatologie.....	23
5.2.2.1 Forme lente.....	23
5.2.2.2 Forme apoplectique.....	23

5.2.3	Principaux agents pathogènes associés.....	24
5.3	Black Dead Arm (Le BDA.).....	26
5.3.1	Historique	26
5.3.2	Symptomatologie.....	27
5.3.2.1	Forme lente	27
5.3.2.2	Forme sévère du BDA	27
5.3.3	Principaux agents fongiques associés	28
6.	Méthodes de lutte.....	28
6.1	Lutte chimique.....	28
6.2	Mesures préventives.....	29
6.3	Lutte biologique.....	30
6.3.1	Recherche des microorganismes antagonistes.....	30
6.3.1.1.	Le genre <i>Bacillus</i> spp.....	31
6.3.1.2.	Mode d'action des bactéries	31
6.3.1.3.	Présentation de <i>Bacillus subtilis</i>	32

Chapitre II Matériels et Méthodes

I.	ENQUETE ÉPIDÉMIOLOGIQUE.....	33
1.	Situation géographique et climatique des régions étudiées	33
1.1	Médéa	33
1.2	Blida	33
2.	Enquête épidémiologique de dépérissements.....	34
2.1	Echelle d'évaluation	35
2.2	Paramètres épidémiologiques des dépérissements	35
2.2.1	Gravité de la maladie.....	35
2.2.2	Indice de McKinney.....	35
2.3	Analyse statistique	36
II.	ENQUETE ÉTIOLOGIQUE.....	36
1.	Méthodologie d'échantillonnage.....	36
1.1	Prélèvement des échantillons de bois.....	36
2.	Diagnostic au laboratoire.....	37
2.1	Isolement et recherche des agents causals.....	37
2.2	Observation et purification des cultures	37
2.3	Etude microbiologique.....	38
2.3.1	Caractérisation culturale.....	38
2.3.2	Caractères micro-morphologiques.....	38
2.4	Recherche des fructifications des agents causals	38
III.	ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE.....	38
1.	Étude <i>in vitro</i> du pouvoir antifongique de <i>Bacillus subtilis</i> ...39	
1.1	Origine des souches fongique.....	39
1.2	Origine de la souche microbienne <i>Bacillus subtilis</i>	39
1.3	Activité antifongique de la bactérie.....	40
2.	Analyse statistique	41

Chapitre III Résultats

I.	ENQUETE ÉPIDÉMIOLOGIQUE.....	44
1.	Diagnostic symptomatologique.....	44
1.1	État des vergers.....	44
1.2	Symptomatologie	46
1.2.1	Sur la partie herbacée	46
1.2.2	Sur Bois	48
2.	Répartition spatiales cas de dépérissement	49
3.	Dépérissements au niveau des verges.....	52
3.1	Estimation des paramètres épidémiologiques	52
3.2	Variabilité épidémiologiques dans les différentes régions.....	53
➤	Indice de sévérité.....	53
II.	ENQUETE ETIOLOGIQUES.....	56
1.	Caractérisation et identification des agents fongiques.....	56
1.1	Aspect quantitatif et qualitatif des isoléments fongiques.....	56
1.2	Caractérisation morphologiques et micromorphologiques.....	57
1.2.1	<i>Eutypa sp</i>	57
1.2.2	<i>Botryosphaeria sp</i>	59
1.3	Fructifications sexuées et asexuées.....	60
III.	RESULTATS ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE.....	61
1.	Évaluation de l'activité fongicide de <i>Bacillus subtilis</i>	61
2.	Analyse comparative de l'activité antifongique de <i>Bacillus subtilis</i> ...	65
Chapitre IV Discussion générale.....		68
Conclusion et perspectives.....		73
Références bibliographiques		
Annexes		

Liste des tableaux

	Page
Tableau 01 : Récapitulation des superficies, des productions, des rendements et des taux d'accroissement des cultures fruitières 2013/2014.....	05
Tableau 02 :Evolution de la culture d'abricotier dans le monde (1996 - 2006).....	09
Tableau 03 :Situation mondiale de la culture d'abricotier en 2006.....	09
Tableau 04 :production du cerisier en Algérie (Direction des services agricole).....	14
Tableau 05 :Origine des champignons fongique.....	41
Tableau 06 :Gravité et Taux d'incidence dans le verger de la région de Médéa, Blida et Chréa.....	52
Tableau 07 :Résultats des tests du pouvoir antifongique de <i>Bacillus subtilis</i> vis à vis des souches fongiques après 05,10 et 15 jours de traitement dans le milieu PDA.....	61
Tableau 08 :Résultats des tests du pouvoir antifongique de <i>Bacillus subtilis</i> vis à vis des souches fongiques après 5,10 et 15 jours de traitement sur le milieu GN.....	62
Tableau 09 :Modèle G.L.M. appliqué à l'effet des traitements sur la croissance mycélienne.....	65

Liste des figures

Figure 01 : Répartition géographique de l'arboriculture fruitière en Algérie.....	07
Figure 02 : Carte représentant le rendement et la distribution du cerisier dans le monde.....	12
Figure 03 : Ravageurs et maladies de dépérissement des arbres fruitiers à Noyaux.....	15
Figure 04 : Répartition géographique des dépérissements liés à Black dead arm, Eutypiose et Esca.....	17
Figure 05 : Symptômes d'Eutypiose, chancre sur une branche de pommier causé par <i>Eutypa lata</i>	19
Figure 06 : Forme sexuée d' <i>Eutypa. lata</i> présente à la surface du bois mort (périthèces).....	20
Figure 07 : Evolution de la nécrose brune dure et de position sectorielle.....	21
Figure 08 : Cycle biologique d' <i>Eutypa lata</i>	22
Figure 09 : Nécrose claire et tendre en position centrale au niveau du bois.....	24
Figure 10 : Premier processus de dégradation du bois (Esca)	25
Figure 11 : Second processus de dégradation du bois (Esca)	25
Figure 13 : <i>Bacillus subtilis</i> observé en microscopie électronique à balayage.....	32
Figure 14 : Localisation géographiques des deux régions arboricoles prospectées.....	34
Figure 15 : Echantillon de rameau malade (A), petits fragments coupés sur papier filtre (B), dépôt de fragments sur milieu PDA en boîte de Pétri (C).....	37
Figure 16 : Confrontation directe <i>in vitro</i> entre <i>B.subtilis</i> et la flore fongique isolée sur milieu PDA (A) traité (B) témoin.....	41
Figure 17 : Présence d'adventice tout autour des arbres A : Verger d'abricotier (Blida), B : Exploitation agricole Chréa (Blida).....	44
Figure 18 : Bois de taille. A : Verger d'abricotier (Blida), B : Localité de Benchicao (Médéa)..	45
Figure 19 : Jaunissement des feuilles (Verger d'abricotier, Blida).....	45
Figure 20 : Arbre totalement dépérisse (morts) en plein champ A : Verger d'abricotier (Blida), B : Exploitation agricole Chréa (Blida), C : Localité de Benchicao (Médéa).....	47
Figure 21 : Arbre partiellement dépérisse (bras mort) A : Verger d'abricotier (Blida), B : Exploitation agricole Chréa (Blida).....	47
Figure 22 : Manque d'arbre dans les vergers A : Verger d'abricotier (Blida), B : Localité de Benchicao (Médéa).....	47
Figure 23 : Sécrétion de gomme A : Verger d'abricotier (Blida), B : Localité de Benchicao	

(Médéa).....	48
Figure24 :Fruit d'abricotier momifié.....	48
Figure25 :Carpophore sur tronc.....	48
Figure26 : Nécrose clair et molle en position centrale.....	49
Figure27 : Nécrose brune et dure en position centrale.....	49
Figure28 : Coupe transversale : Association des nécroses.....	49
Figure29 :Répartition géographique des différents cas symptomatologique dans le verger 1 (abricotier de Blida).....	51
Figure30 :Répartition géographique des différents cas symptomatologique dans le verger 2 (cerisier de Médéa).....	51
Figure31 :Répartition géographique des différents cas symptomatologique dans le verger 3 (cerisier de Chréa).....	51
Figure32 : Analyse de la composante principale de l'indice de gravité et le taux d'incidence dans les régions étudiées.....	54
Figure33 :Classification hiérarchique de différentes régions étudiées.....	55
Figure34 : colonie après 6jours d'incubation.....	56
Figure35 :colonie d' <i>Eutypa</i> sp sur milieu PDA âgée de deux semaines	57
Figure36 :culture d' <i>Eutypa</i> sp sur PDA âgée d'un mois.....	57
Figure37 :mycélium âgée de deux semaine (G : 40x10) (A), mycéliums âgée d'un mois (G : 40x10) (B) d' <i>Eutypa</i> sp.....	57
Figure38 :Aspects macroscopique sur milieu PDA (A), microscopique (B) (10x40) de <i>Cytosporina</i> sp.....	58
Figure39 :Aspects macroscopique sur milieu PDA (A), d' <i>Eutypa</i> sp sur abricotier.....	59
Figure40 :Colonie de <i>Botryosphaeria</i> sp sur milieu PDA (A) : gris clair, (B) : vert olive.....	59
Figure41 :Colonie de <i>Botryosphaeria</i> sp sur milieu PDA âgée d'un mois (A), âgée d'un mois et demi (B).....	60
Figure42 :Mycélium de <i>Botryosphaeria</i> sp (G : 40x10).....	60
Figure43 :Fructifications (pycnides) de <i>Botryosphaeria</i> sp sur bois.....	61
Figure44 :Asques de <i>Botryosphaeria</i> sp(G : 40 × 10).....	61
Figure.45 : colonie fongiques sous stress UV et Température.....	62
Figure.46 : Activité antifongique de <i>Bacillus subtilis</i> vis-à-vis les isolats fongiques après 15 jours de traitement.....	64
Figure.47 : Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents	

isolats fongique sous l'effet de <i>Bacillus subtilis</i>	66
Figure.48 : Diagramme Ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN de la région de Médéa pour la période (2006-2012).....	Annexe
Figure.49 : Diagramme Ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN de la région de Blida pour la période (2006-2012).....	Annexe
Figure.50 : Climagramme d'Emberger de nos régions d'études	Annexe

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

% : Pourcentage

°C. Degré Celsius.

cm : Centimètre

qx : Quintal

m : Mètre

ha : Hectare

mm : Millimètre

Km : kilomètre

UV : Ultra-violet

(%) : Taux d'incidence

G : Indice de gravité

S.A.T : Superficie Agricole Totale

S.A.U : Superficie Agricole Utile

P.N.D.A : Programme Nationale du Développement Agricole

FAO : Organisation Food Agriculture

Dsa : Direction des Services Agricole

BDA : Black Dead Arm

(El) : Eutypa lata

(Pch) : Phaeoconiella chlamydospora

(Pal) : Phaeoacremonium aleophilum

(Bo) : Botryosphaeria

(Fm) : Fomitipora mediterranea

Remerciements

Louange à Dieu, Seigneur tout puissant qui nous a comblé de sa miséricorde jusqu'à la réalisation de ce modeste travail.

Voici venu le moment de remercier l'ensemble des gens qui nous ont aidé un peu ou beaucoup, de loin ou de près, ponctuellement ou tout au long de la thèse.

*On doit remercier particulièrement notre promoteur **Madame AMMAD F.** pour avoir accepté de diriger avec beaucoup d'attention et de soin ce mémoire et l'intéressant sujet qu'elle nous a proposé, nous lui sommes très reconnaissantes pour sa disponibilité, sa bienveillance et son soutien permanent. On lui doit beaucoup pour le contenu du travail présenté, pour ses critiques constructives et son aide aux différentes entraves rencontrées, pour sa gentillesse et ses qualités humaines, ainsi que ses encouragements et sa confiance. Merci pour l'opportunité que vous nous aviez donnée, pour l'exemple que vous êtes et pour l'espoir que vous portez.*

*On tient également à remercier les membres de jury, pour l'intérêt qu'elles ont portés à notre travail : **madame SABRI** pour avoir accepté de contribuer et présider le jury, qu'on prouve un grand respect pour son travail. On remercie les examinatrices **madame Bensaïd** et **madame Beraffe** pour la rapidité avec laquelle elles ont lu notre manuscrit, malgré un emploi du temps sans doute très chargé. On leur suit très reconnaissantes pour leur acceptation d'examiner ce travail, vos commentaires et vos critiques constructives lors de la soutenance nous seront précieuses.*

*Nos s'insère remerciement vont également à **DR Benchabane** pour nous avoir accueillie dans son laboratoire de phytopathologie université de Blida 1.*

*Notre profonde gratitude va également à **Melle Amina**, ingénieure du laboratoire de Zoologie pour sa disponibilité, sa gentillesse et pour le temps consacré.*

*Notre profonde gratitude va également à **madame Djamila**, ingénieure du laboratoire de phytopathologie pour sa disponibilité, sa patience et pour le temps consacré.*

Nous exprimons également nos remerciements à tous les enseignants du département de l'Agronomie, et à tous nos camarades de la promotion.

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...?.

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,

Le respect, la reconnaissance...?

Ainsi, c'est tout simplement que

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux,

A ma mère SAMIA qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau .Ni sacrifices, ni privatisations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ces enfants.

A mon cher papa MOHAMMED qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.

A ma sœur LYNDIA et mon frère OMAR que dieu vous garde et vous protège que votre chemin soit plein succès.

A tous mes amis

A ma collègue dans ce travail SOUMIA. A KHADDIJA, KHALIDA, SABRNE, MERIEM et à mon cher ami AHMED pour leur aide et leur soutien que dieu vous protège et vous préserve

A ma grande famille ; mes cousins et mes cousines et a toutes les personnes que j'aime...

Yasmine

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...?.

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,

Le respect, la reconnaissance...?

Ainsi, c'est tout simplement que

Je dédie ce mémoire :

Aux deux êtres les plus chères de ma vie,

qui ont su m'apporter amour, tendresse et qui m'ont

inculqué la droiture, la persévérance, le sérieux,

l'honnêteté, à vous courageux père MOHAMMED et à

vous tendre mère ZAHRA

*A ma source de confiance et d'énergie mes frères AYOUB, BILLEL,
SOUHAIIB et ma chère sœur RADIA que dieu vous garde et vous
protège que votre chemin soit plein succès.*

A tous mes amis

*A ma collègue dans ce travail YASMINE. A KHADDIJA,
KHALIDA, SABRNE, MERIEM pour leur aide et leur soutien que
dieu vous protège et vous préserve*

*A ma grande famille ; mes cousins et mes cousines et a toutes les
personnes que j'aime...*

SOUFIA

Evaluation de l'état de dépérissement de quelques vergers arboricoles dans la région de Médéa et Blida

Résumé

Les maladies du bois sont très dommageables sur l'arboriculture fruitière à travers le monde. L'eutypiose et le Black Dead Arm sont parmi les principales maladies impliquées dans le dépérissement de cette culture, considéré comme un pathosystème complexe nécessitant l'analyse de ses différents aspects. Dans ce contexte, nous avons réalisé des études épidémiologique, étiologique d'une part et des essais sur des méthodes de lutte biologique d'autre part. Nos enquêtes ont été menées sur 03 vergers arboricoles situés dans deux (02) régions connues par leur vocation arboricole (Médéa et Blida). Les résultats des diagnostics symptomatologiques ont révélé la présence de diverses catégories de symptômes dans la quasi-totalité des vignobles prospectés. Il s'agit des situations de dépérissements total, et/ou partiel (un seul ou plusieurs bras morts), Les isolements effectués ont permis de détecter la présence des genres fongiques recherchés: *Eutypa*, *Botryosphaeria* et *Cytosporina*. Nous avons également eu recours à un essai de lutte biologique en essayant d'évaluer l'efficacité de *Bacillus subtilis* vis-à-vis des champignons phytopathogènes *Eutypa*, *Botryosphaeria* et *Cytosporina* isolés dans notre étude. Les essais du pouvoir antifongique dénotent les possibilités de leurs valorisations dans les procédés de lutte biologique.

Mots clé : Algérie, abricotier, *Bacillus subtilis* cerisier, dépérissement, effet antifongique épidémiologique, étiologique

Abstract

The wood diseases are very damaging to the fruit growing worldwide. The eutypiose and Black Dead Arm are among the major diseases involved in the decline of this culture, viewed as a complex pathosystem requiring the analysis of its various aspects. In this context, we conducted epidemiological studies, etiological one hand and testing methods for the other biological control. Our investigations were conducted on 03 tree orchards in two (02) regions known for their arboreal vocation (Medea and Blida). The results of symptomatological diagnostics revealed the presence of various categories of symptoms in almost all surveyed vineyards. These are the total dieback situations, and / or partial (one or several dead arm), isolations made have detected the presence of the sought fungal genera: *Eutypa*, *Botryosphaeria* and *Cytosporina*. We also used a biocontrol test in trying to assess the effectiveness of *Bacillus subtilis* vis-à-vis the plant pathogenic fungi *Eutypa*, *Botryosphaeria* *Cytosporina* and isolated in our study. Trials of antifungal opportunities to denote their valuations in the methods of biological control.

Keywords: Algeria, apricot, cherry *Bacillus subtilis*, decay, fungicidal effect, epidemiological, aetiological

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'arboriculture fruitière est parmi les filières agricoles les plus cultivées dans le monde. Son importance économique considérable se situe au niveau de la production des fruits. Elle occupe environ 8 millions d'hectares dans le monde, elle prend une grande extension dans tout le bassin méditerranéen, disposant d'un milieu particulièrement favorable. (BOULAY, 1961).

L'Algérie dispose d'énormes potentialités agricoles qui pourraient constituer le pilier de base de l'économie nationale et du développement social. Dans cette optique, le pays couvre une superficie agricole utile de 8,46 millions d'hectares qui se ventile entre terres labourables et cultures pérennes, d'une superficie de 898 930 hectares avec un pourcentage de 10.62 % des espèces à noyaux et/ou à pépins (Anonyme, 2014).

Le Moniliose, l'Oïdium et la tavelure, comptent parmi les maladies les plus redoutables, néanmoins les maladies de dépérissement s'avèrent encore plus dommageables, puisqu'elles s'attaquent au noyau en provoquant la mort à plus ou moins court terme (Larignon, 2006).

Le dépérissement des arbres fruitiers est la conséquence de diverses causes conduisant à la mort. Parmi ces causes les accidents climatiques, les pratiques agronomiques (Reyner, 2001), les nombreuses pathogènes (virus, bactéries, champignons) et les parasites qui attaquent toutes les parties de l'arbre, le bois des troncs et des racines (scolytes), les branches et rameaux et les feuilles (pucerons), les bourgeons et les feuilles, les fleurs, les fruits (carpocapses, tordeuses..) (Anonyme 04), mais les maladies de bois que sont le syndrome de l'esca, le Black Dead Arm (BDA) et l'Eutypiose sont devenues ces dix dernières années un des problèmes les plus préoccupants et particulièrement dommageables à la profession arboricole. La gravité est accentuée par l'absence des traitements phytosanitaires efficaces pour assurer le contrôle de ces maladies, les méthodes prophylactiques sont principalement préconisées dans le but de limiter leur développement.

Le terme générique de « *maladies du bois* » regroupe plusieurs maladies provoquées par divers champignons phytopathogènes : l'Esca, l'eutypiose et le black dead arm (BDA). Le champignon *Eutypa lata* (E.l.) est clairement associé à l'eutypiose et les symptômes causés par *E. lata* ont été largement décrits et sont facilement reconnaissables. Les deux champignons *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch) et *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal)

sont souvent « *associés* » à l'Esca ; si l'on coupe un arbre atteint, on observe sur une coupe transversale des ponctuations noires visibles pour le premier et des nécroses foncées pour le second. Les champignons du genre *Botryosphaeria* (*Bo*) sont plutôt associés au BDA (Black Dead Arm). Ils sont souvent isolés au niveau de la bande brune présente sous l'écorce et caractéristique de cette maladie. *Fomitipora mediterranea* (*Fm*) est responsable de la dégradation du bois en « amadou » (pourriture molle et sans consistance) trouvée dans le bois de certains arbres malades. Ces maladies s'expriment au niveau du bois par la formation de nécroses sectorielles et/ou centrales, par la présence de bandes brunes ou de chancres dans le tronc et les bras et au niveau foliaire par des décolorations et des dessèchements qui peuvent être foudroyants (Dubos, 1999)

L'impact économique de ces maladies est variable selon les années et les terroirs. Si l'on connaît des différences d'expression de ces maladies entre cépage et arbres, aucun n'est à ce jour connu comme étant résistant. L'arsénite de soude, autrefois utilisé, permettait de contenir l'expression de ces maladies et ainsi de réduire les pertes au champ. Depuis le retrait de son homologation en 2001 pour son action carcinogène chez l'homme, aucune solution curative de remplacement n'a pu être proposée à la profession. On observe depuis une recrudescence des symptômes d'esca et de BDA très préoccupante, mais aussi l'apparition de ces maladies dans des vignobles et vergers de plus en plus jeunes. L'incidence de ces maladies est aujourd'hui telle qu'elle menace la viabilité économique des exploitations dans certaines régions arboricole.

En Algérie, la présence de ces maladies a été déjà signalée, comme le cas de l'esca et de l'eutypiose (Berraf et Peros, 2005), de l'eutypiose (Ammad, 2006) et de Black Dead Arm (Ammad *et al.*, 2014). Le BDA existe probablement depuis longtemps, mais cette maladie pouvait être confondue avec la symptomatologie de l'esca. En effet, ce sont des maladies qui sont considérablement étendues au cours des dernières années. Un tel état et en raison des aspects épidémiologiques révélés, ces maladies sont considérées comme une sérieuse menace sur le patrimoine viticole, arboricole et forestier de ces régions.

Dans ce contexte, notre travail consiste à réaliser une étude sur le dépérissement des rosacées portant sur les aspects épidémiologiques et étiologiques. L'enquête épidémiologique concerne trois (03) vergers arboricoles, situés dans deux(02) régions à vocation arboricoles Médéa (1 verger) et Blida (2 vergers).

L'objectif de ce travail consiste dans une première étape à l'évaluation de la gravité des dépérissements (incidence et indice de gravité des dépérissements dans les vergers étudiés).

Dans une deuxième étape des études microbiologiques appropriées (aspects étiologique) ont été menées pour l'identification des agents fongiques associés à cette situation.

En raison de l'absence de moyens de lutte efficaces contre la flore fongique associée au dépérissement du cerisier et de l'abricotier un essai de lutte a été proposé par l'usage d'une *Bacillus subtilis*, afin de mettre en évidence l'activité antifongique *in vitro* de cette bactérie.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

1. Arboriculture fruitière

L'arboriculture fruitière est la science qui a pour objet l'étude de la biologie ainsi que des agro-techniques appliquées aux arbres fruitiers en vue de l'obtention des grandes productions régulières d'une année à l'autre et d'une qualité supérieure.

L'arboriculture fruitière en Algérie se justifie par la lutte contre l'érosion du sol, la mise en valeur des terres, la création de l'emploi, le développement de l'industrie agroalimentaire et de l'ébénisterie (Bentayeb, 1993).

La découverte de la vocation fruitière de l'Algérie est de date assez récente, vingt ans à peine. Certes, le pays se consacrait, depuis des siècles, à la culture des fruits et ses olivettes étaient déjà célèbres sous l'empire romain. La venue des Français avait donné naissance à un courant d'exportation qui n'avait cessé de s'amplifier depuis un demi-siècle. Mais la production était restée modeste, eu égard au trafic mondial, alors qu'une exploitation judicieuse des conditions naturelles de cette contrée en eût fait l'un des plus beaux vergers du globe.

Dans l'ensemble les plantations fruitières n'ont pas évoluées au cours de la campagne (2012/2013) hormis l'Olivier qui enregistre + 10 % en superficie et stable pour les autres espèces agrumes, Palmiers dattiers, Figuiers et les Noyaux et à pépins.

En ce qui concerne les productions des cultures fruitières ont tous enregistrées des hausse sauf pour Noyaux pépins (tableau.1) , + 17% pour l'Olivier , + 10% pour le Figuiers , + 10 % pour le palmier dattier , +5 % pour les Agrumes et - 9% pour les Noyaux et à pépins (Anonyme, 2014).

Synthèse bibliographique

Tableau1 : Récapitulation des superficies, des productions, des rendements et des taux d'accroissement des cultures fruitières 2013/2014

	2013			2014			Taux d'accroissement % 2013/2012		
	Sup.	Prod.	Rdt	Sup.	Prod.	Rdt			
	ha	qx	qx/ha	ha	qx	qx/ha	Sup	Prod	Rdt
Espèce à Noyaux et/ou à Pépins	243 550	15 401 040	76.3	240 356	13 965 310	69.7	-1	-9	-9
Abricots	46 893	3 197 836	82.4	46 553	2 169 411	56.2	-1	-32	-32
Amandes	49 011	635 452	16.0	48 553	648 273	16.6	-2	2	4
Croubes	813	30 532	38.0	805	36 548	46.4	-1	20	22
cerisies	3 503	59 831	21.5	3 485	87 001	31.8	-1	45	48
Coings	2 916	111 782	59.1	2 891	115 739	61.3	-1	4	4
Grenades	11 328	765 176	78.9	11 321	790 374	82.4	0	3	4
Néflés	2 644	300 602	121.1	2 509	282 058	118.9	-5	-6	-2
Pêches	23 327	1 922 027	99.0	23 590	1 751 740	90.1	1	-9	-9
Poires	30 179	2 407 088	95.2	29 332	2 281 142	90.3	-3	-5	-5
Pommes	48 064	4 559 372	111.1	46 830	4 628 154	114.5	-3	2	3
Prunes	21 007	1 287 855	76.6	20 633	1 071 912	65.3	-2	-17	-15
Autres	3 865	123 487	38.1	4 194	102 958	26.4	9	-17	-31

1.1. Classification des arbres fruitiers

Il existe différentes variétés classiques d'arbres fruitiers qui se déclinent de la façon suivante :

- **les fruits à pépins** : Cognassier, Figuier, Poirier et Pommier.
- **les fruits à noyaux** : Abricotier, Cerisier, Pêcher et Prunier.
- **les fruits rustiques** : Amandier, Châtaignier, Noisetier, Noyer et Olivier.
- **les Agrumes** : Oranger, Mandarinier, Limonier et Pamplemoussier (Anonyme 1).

Synthèse bibliographique

1.2.Importance de l'arboriculture fruitière

1.2.1. Dans le monde

La culture des arbres fruitiers occupe une place importante sur le globe étant donné qu'elle est pratiquée dans tous les continents. Le pommier compte avec les Agrumes et les Bananes parmi les espèces fruitières les plus cultivées dans le monde en raison de sa souplesse écologique et de la grande popularité de son fruit (Boulay, 1961).

1.2.2. En Algérie

L'arboriculture fruitière prend une grande extension dans tout le bassin méditerranéen, comme elle fait partie intégrante de la vie économique et sociale de l'Algérie.

L'Algérie se présente comme un pays vaste et étendu d'environ 238 millions d'hectares, mais aux surfaces agricoles limitées, avec:

1. Une superficie agricole totale de 42.89 millions d'hectares, soit seulement 18 % de la superficie territoriale avec une superficie Agricole Utile (S.A.U) (terres sur lesquelles sont cultivées des spéculations depuis au moins 5 ans) s'étendent sur une surface de l'ordre de 8,46 Millions d'ha, soit 19.7 % de la S.A.T et elle se répartit comme suit :

- Cultures herbacées 4.40 millions d'ha soit 52.03 % de la S.A.U
- Terres au repos 3,07 millions d'ha soit 36.21 % de la S.A.U
- Plantations fruitières 898 930 ha soit 10.62 % de la S.A.U
- Vignobles 70 852 ha soit 0,84 % de la S.A.U
- Prairies naturelles 25 777 ha soit 0,30 % de la S.A.U

D'après LUPESCU (1987), l'Algérie dispose de conditions pédoclimatiques assez favorables pour le développement de certaines espèces fruitières telles que les Agrumes, l'Olivier, le Figuier, le Palmier dattier et les espèces dites à noyaux et à pépins.

La production de ces dernières enregistre une augmentation notable, conséquence d'une augmentation régulière des superficies (ZEREG, 1987), elle est très spécialisée, cela tient aussi bien aux conditions de climat qu'aux débouchés (SOLER. J, 2003)

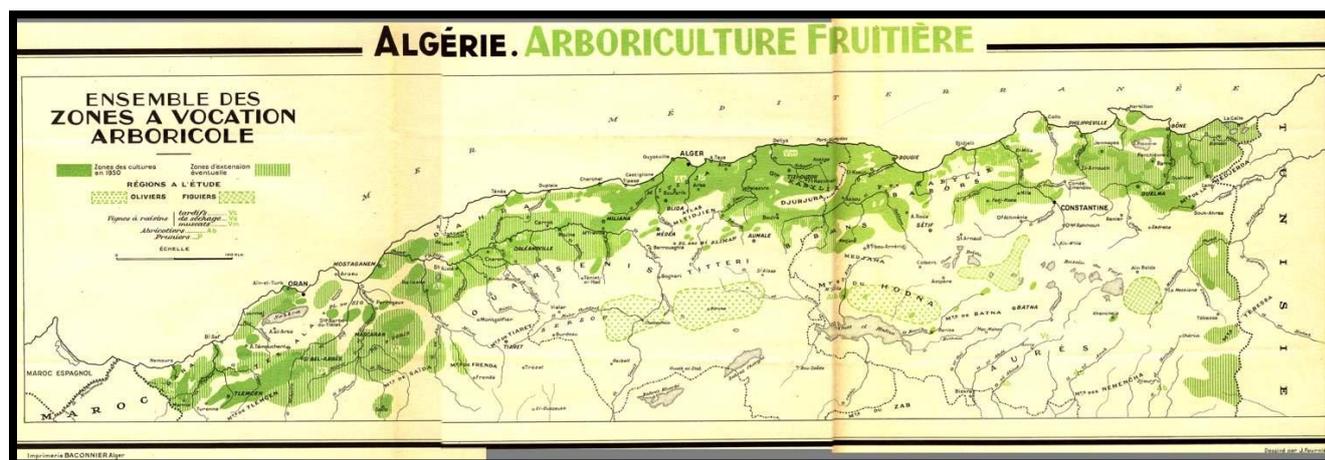


Figure.01 : Répartition géographique de l'arboriculture fruitière en Algérie (REBOUR, 2005)

2.Présentation de la plante hôte -Abricotier-

2.1.Données générales sur l'abricotier

L'abricotier est une plante pérenne à croissance indéterminée, capable de se multiplier par voie sexuée, par bouturage ou par greffage. Elle est cultivée pour ses fruits charnus: La constitution d'un verger nécessite du temps: il faut attendre 3 ans pour obtenir les premiers fruits, 5 à 7 ans pour avoir un rendement significatif et 15 ans pour arriver à la pleine production. La qualité organoleptique augmente avec l'âge de l'arbre.

L'abricotier cultivé (*Prunus armeniaca*) fut introduit dans le bassin méditerranéen à partir de l'Iran ou de l'Arménie d'où son nom. Il a été déterminé quatre sous-groupes géographiques dont celui de l'Afrique du nord. Le croisement entre les variétés de ce groupe, qui furent probablement introduites en Espagne à partir de l'Afrique du nord, et celles issues du groupe européen a probablement été à l'origine de la variété Canino. Les principales zones de culture (80) se localisent maintenant dans le bassin méditerranéen.

La diffusion de cette culture en Europe fut assurée par les arabes au moment de leur invasion de l'Espagne. Le mot (abricot) est dérivé de l'arabe d'Espagne *al barquq* qui signifie (précoce) et ce parce que l'abricotier fleurit très tôt au printemps. Son introduction dans le bassin méditerranéen *via* l'Arménie (d'où son nom spécifique *armeniaca*)(Anonyme 02).

Synthèse bibliographique

2.2. Taxonomie

l'abricotier appartient au Règne *Plantae*, Sous-règne *Tracheobionta*, Division *Magnoliophyta*, Classe *Magnoliopsida*, Sous-classe des *Rosidae*, Ordre de *Rosales*, Famille des *Rosaceae*, Sous-famille des *Prunoideae* est Genre des *Prunus* (Anonyme 3).

2.3. Répartition géographique

L'abricotier, arbre en général vigoureux, est largement cultivé aux Etats-Unis (Etat de Californie, Washington et Utah) ainsi qu'au Chili. En Europe et en Afrique, la culture de cette espèce est essentiellement limitée à la zone méditerranéenne : Espagne, Italie, Grèce, Yougoslavie, Sud-est de la France, Maroc et Tunisie. La Turquie, le Pakistan et l'Iran sont les plus grands producteurs d'abricots du monde (Véronique, 2004).

2.4. Importance économique d'abricotier

2.4.1. Au Niveau Mondiale

La production mondiale d'abricots est produite pour 1/3 en Asie, 1/3 en Europe et 1/3 au Proche et Moyen Orient où elle est en augmentation (Véronique, 2004).

La culture de l'abricotier s'est développée autour du bassin méditerranéen et en Asie centrale. Aujourd'hui encore, c'est dans ces zones que se situent les principaux pays producteurs d'abricot (Lichou, 2001). La production mondiale d'abricot étant de 2,3 millions de tonnes en 1996, elle s'élevait en 2000 à un peu plus de 2,7 millions de tonnes pour atteindre plus de 2,8 millions de tonnes en 2006 (Tableau.2).

Tableau 2: Evolution de la culture d'abricotier dans le monde (1996 - 2006)

Année	Production (t)	Superficie (ha)	Rendement (qx/ha)
1996	2585 463	392 228	65,917
2000	2774 595	387 578	71,588
2003	2788 328	440 182	63,345
2006	2899 789	441 517	65,677

Synthèse bibliographique

Aujourd'hui, la plus grande production d'abricots se concentre dans les pays méditerranéens (Turquie, Espagne, Syrie, Grèce, France), ainsi qu'en Iran et au Pakistan avec plus de 200 000 de tonnes/pays pour l'année 2006 (Tableau.3).

Tableau 3: Situation mondiale de la culture d'abricotier en 2006 (Anonyme, 2008)

Pays	Production (t)	Superficie (ha)	Rendement (qx/ha)
Turquie	370 000	64 000	57.813
Iran	285 000	32 000	89.063
Italie	244 048	19 287	126.535
Pakistan	215 000	29 000	74.138
Algérie	110 000	40 000	27.500

2.4.2. Au niveau national

En Algérie, l'abricotier possède une place privilégiée dans la vie des agriculteurs, vue la superficie qu'il occupe et son importance dans le marché national, c'est l'espèce fruitière la plus cultivée devant le pommier, le poirier et le pêcher, notamment de la wilaya de M'Sila qui constitue l'une des régions les plus productives. Elle occupe la deuxième place à l'échelle nationale derrière la wilaya de Batna avec une superficie qui est passée de 2 386 ha en 1994 à 6 310 ha en 2004(Bahlouli*et al.*, 2008).

En dépit des encouragements des arboriculteurs à travers le programme P.N.D.A., l'extension de cette filière en Algérie est marquante, mais le potentiel productif reste tributaire de conduites culturales. En observant les rendements réalisés chaque année, il en ressort une certaine faiblesse dans la gestion de la production. En plus des difficultés inhérentes aux aspects phytotechniques (choix de cultivars, technique de conduite...), l'aspect phytosanitaire contribue dans cette régression de la production à plus d'un titre et en termes de superficie ce jour.

3. Présentation de la plante hôte - Cerisier -

3.1. Données générales sur le cerisier

Le cerisier est le nom commun donné à certains membres (genre *Prunus*) de la famille des ROSES produisant de petits fruits pulpeux à noyau unique appelés cerises (ou drupes) qui sont grandement appréciés des consommateurs (Rebour, 2005).

Depuis son introduction en Algérie et dans le Maghreb très longtemps, le cerisier à tout de même a été apprécié car il représente une excellente essence fruitière, principalement à cause de sa faible tendance à l'alternance de production et à son prix de vente élevé.

Exigeant patience et persévérance, la culture des cerisiers nécessite aussi du savoir-faire, puisqu'après les plantations, il faut patienter huit longues années pour que le cerisier commence à produire (Anonyme 2).

L'origine précise du cerisier fait l'objet de discussions, mais on considère généralement que son berceau se situe en Asie mineure d'où il a émergé vers l'Europe (Breton, 1972).

Botaniquement, il comprend 2 types (ou races) distinctes :

- ✓ *Prunus cerasus* L ou *Cerasus acida*, spontané sur les bords de la mer Caspienne en Asie mineure, ainsi qu'en Europe centrale. C'est l'origine des griottes.

- ✓ *Prunus avium* ou *Cerasus avium* L : cerisier des oiseaux ou merisier, est à l'origine des variétés de cerises douces. Il est originaire de la région comprise entre la mer Noire et la mer Caspienne. Il a été diffusé par les oiseaux dont il tire son nom (Claverie, 2005). Son aire de distribution d'origine est très étendue. Elle va vraisemblablement de la Sibérie occidentale jusqu'au littoral de l'Atlantique et sur les îles britanniques. Au Nord, elle atteint aujourd'hui 61° de latitude Nord. Mais comme dans le cas des autres essences ligneuses fruitières de culture qui accompagnent l'homme depuis déjà des millénaires, nous ne pouvant déterminer avec précision sa véritable aire d'origine. Même les découvertes archéologiques confirment la présence de différents Merisiers en Europe, déjà au néolithique. Sa distribution aux quatre coins du monde fut assurée par les biens avant l'intervention de l'homme (Anonyme 2).

Le cerisier s'était répandu dans le temps en Extrême-Orient où avaient été sélectionnés parmi les variétés les plus importantes. Les cerisiers devinrent l'un des symboles du printemps,

Synthèse bibliographique

puisque cet arbre est le premier à produire ses fruits après le repos hivernal. L'indigénéité de *Prunus avium* en Algérie est tout à fait attesté aux en notamment aux secteurs Kabyles, Nuridien et Algérois (Benzi, 1999)

3.2. Taxonomie

Le cerisier appartient au Règne : *Plantae*, Sous-règne : *Tracheobionta*, Classe : *Angiospermae*, Sous-classe : *Dicotylédona*, Famille : *Rosaceae*, Sous-famille : *Prunoideae*, Ordre : *Rosales*, Super-ordre : *Rosidae*, Genre : *Prunus*. Le cerisier se rattache à deux espèces :

- ✓ *Prunus cerasus*, espèce triploïde ($2n=32$) renfermant les variétés de cerises acides (griottes et Montmorancy) (Breton, 1972). Les arbres sont peu développés, au port assez étalé avec des charpentes divisées et des rameaux minces avec feuilles droites (Bretaud, 1963). La hauteur de la plante est de 2 à 8 mètres d'altitude. Cette espèce est très répandue en Europe où on la retrouve à l'état spontané.

- ✓ *Prunus avium*, espèce diploïde ($2n=16$) (Breton, 1972). Ce groupe est appelé cerisier doux en raison du caractère sucré de ses fruits (Claverie, 2005). Les arbres sont d'un grand développement au port dressé, à ramure un peu trapue et aux feuilles pendantes, qui atteignent 15 à 25 m de haut et un étalement de 5 à 12 m, il vit environ 100 ans et il est très exigeant en lumière. On ne le trouve pas en peuplement pur mais en mélange avec d'autres essences, et principalement en lisière de forêt. Il pousse sur sols fertiles et assez frais. PH basique à légèrement acide. Neutrocline à large amplitude de 0 à 1700m. C'est un arbre commun dans les bois, sauf dans le Midi (Anonyme 2).

3.3. Répartition géographique du cerisier

L'aire géographique du cerisier est assez étendue. Elle englobe toute la zone tempérée, la zone tempérée chaude et les régions subtropicales (Rebour, 1952).

3.4. Considération économique du cerisier

3.4.1 Au niveau mondial

Selon la FAO, la production mondiale de cerises a été de 1,83 millions de Tonnes en moyenne (2003- 2004-2005). Les 2/3 de cette production sont des cerises douces. Le tiers restant est constitué des cerises acides : 0,6 à 0,7 millions de tonnes.

Les principaux pays producteurs, qui représentent 72 % du total mondial sont tous situés dans l'hémisphère nord : Ces chiffres contiennent également les cerises destinées à l'industrie.

Synthèse bibliographique

L'Union européenne, toujours selon la FAO, aurait produit 540 000 T de cerises, soit 29 % du total mondial. Les échanges internationaux de cerises ont été de 178 000 T en moyenne 2002-2003-2004, soit quasiment 10 % de la production.

La production mondiale de cerises s'élève maintenant à 2 millions de tonnes (FAO 2008). Depuis 10 ans, la production de cerises douces a progressé de 17 %. Le cerisier est implanté dans de nombreuses régions, notamment dans les zones tempérées de l'Hémisphère Nord. Sa rusticité et son adaptabilité à différentes situations climatiques lui ont permis de se développer dans des situations très diverses.

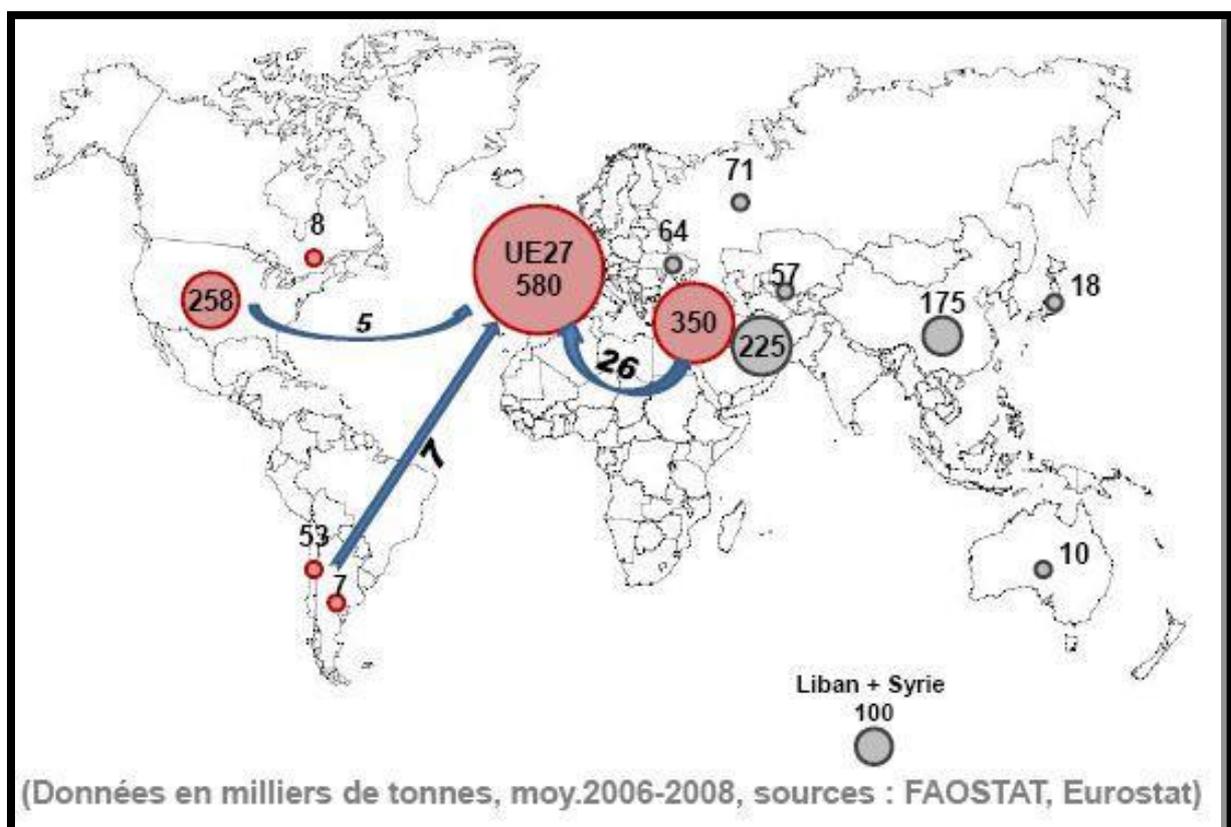


Figure.2 : Carte représentant le rendement et la distribution du cerisier dans le monde (FAOSTAT, 2008)

3.4.2. Au niveau national

La culture de cerisier a connu une régression la précédente décennie. Cette culture n'a pas connue une grande progression après l'an 2000 car elle est confrontée aux contraintes celles d'ordre climatique, où les disponibilités en froid accusent une tendance nette à la diminution,

Synthèse bibliographique

et qui freinent son extension au profit d'autres espèces moins exigeantes en froid et en eau. A cela s'ajoute le phénomène d'urbanisation qui prend une ampleur progressive et accentuée (INRAA, 2006 b).

La régression de la superficie jusqu'au milieu des années 90 a été compensé par l'augmentation des rendements puisque la production a passé de 30000 qx à 58392 qx. Durant la décennie suivante, la production semble subir la même évolution que la superficie. Par la suite, malgré l'augmentation de la superficie qui a passé de 2850 ha à 3595 (Tableau.4).

La production ne s'est pas accrue dans la même mesure. Autrement dit, le rendement moyen des cerises durant années est beaucoup moindre qu'avant à cause des problèmes phytosanitaires connus sur cette espèce qui sont essentiellement liés aux dépérissements bactériens et au capnode.

Tableau 4: production du cerisier en Algérie (DSA, 2001-2009)

Année	Superficie (ha)	Production (qx)	Rendement (qx/ha)
2001	2850	30000	13.2
2002	3110	43760	19
2003	3450	25650	10.9
2004	3530	31550	13.2
2005	3932	50028	20.5
2006	3806	30810	12.9
2008	3793	45528	17.6
2009	3595	58392	21.2

4. Les principales ravageurs et maladies de dépérissement des arbres fruitiers à Noyaux

En effet, l'arboriculture à noyaux est sensible à de nombreuses maladies dues à divers agents pathogènes: (virus, bactéries, champignons) et parasites attaquent toutes les parties de l'arbre, le bois des troncs et des racines (scolytes), les branches et rameaux et les feuilles (pucerons), les bourgeons et les feuilles, les fleurs, les fruits (carpocapses, tordeuses...) (Anonyme 04).Les principales maladies visées sont la moniliose et le cloque, ces affections

Synthèse bibliographique

atteignent les organes herbacés de l'arbre et peuvent être maîtrisées en conjuguant une prophylaxie et un usage des traitements chimiques. Cependant, depuis une vingtaine d'années des maladies cryptogamiques touchant les vaisseaux conducteurs de sève des noyaux ont émergés et des ravageurs conduisant à la mort des plants.

Le dépérissement des arbres fruitiers est la conséquence de diverses causes conduisant à la mort. Parmi ces causes les accidents climatiques, les pratiques agronomiques telles que l'excès d'acidité ou l'asphyxie au niveau des racines (Reyner, 2001). Parmi les origines biotiques ; les attaques due par les ravageurs (Figure.3) à savoir le Capnode (*Capnodistenebrionis*), Scolytes (*Scolytusrugulosus*), Pou de Sain José (*Aonidiellaperniciosa*) Cheimatobie (*Chematobiabrumata*). Pour la culture de l'abricotier s'ajoute la mouche des fruits (*Ceratitiscapitata*) et le Carpocapse (*Laspeyresiapomonella*), et quand à la culture de cerisier on na Cossus Gâte- bois (*Cossus cossus*), Puceron noir (*Myzuscerasi*), Teigne des cerisiers (*Argyresthiaephipella*) et Mouche de la cerise (*Rhagoletiscerasi*).

Parmi les maladies causées par des différents agents pathogènes qui sont des facteurs de réduction du rendement et menacent la pérennité de la plante (Aubertot et *al.*, 2005). Nous citons principalement les maladies virales: Le virus de la Sharka qui provoque des maladies grave chez les arbres fruitiers à noyaux (Figure.3).

Les maladies bactériennes qui ont un développement localisé et sporadique mais leurs effets sont graves (Figure.3). Le chancre bactérien (*Pseudomonas morsprunorum*) entraine des pertes importantes de récolte dans les parcelles touchées, la maladie criblée (*Coryneumbeijerinchi*), Gommose, Balais de sorcière, Fumagine et les *Botryosphaerea*.

Synthèse bibliographique

		
(<i>Myzuscerasi</i>) (Photo F. Marque)	<i>Capnodistenebrionis</i> (Photo P.Falatico&Y.Baniere)	(<i>Cossus cossus</i>) (Photo K. Nature)
		
(<i>Chematobiabrumata</i>) (Photo M. Zubrik)	(<i>Argyresthiapruniella</i>) (Photo Biopix: JC Schou)	(<i>Rhagoletiscerasi</i>) (Photo Tircis)
		
(<i>Sclerotinialaxa</i>) (Photo F. Marque)	Gomme (Photo Adjaya&Motercalo)	(<i>Sclerotinialaxa</i>) (Photo Aderh. &Ruhland)
		
Maladie criblée (Photo Mauro Genini)	<i>Pseudomonas</i> sp. (photo Mauro Genini)	Sharka (Photos Agroscope)

Figure.3 : Ravageurs et maladies de dépérissement des arbres fruitiers à Noyaux (Anonyme 5 à 9)

5. Les principales maladies de dépérissements

En ce qui concerne les maladies fongiques, nous citons ceux à évolution lente, qui pénètrent par les blessures de la taille (Esca, Eutypiose et BDA) et par des infections racinaires (pourridié et pied noir) (Galet, 1999).

En une trentaine d'années, les maladies du bois d'origine fongique, sont devenues une préoccupation majeure pour les viticulteurs et les arboriculteurs ; non seulement elles sont à l'origine de pertes de rendement et de qualité mais surtout elles causent une mortalité importante des plants. L'impact économique des maladies du bois est donc réel pour les viticulteurs et les arboriculteurs or il n'existe pas de solution curative à proprement parler, cet impact est variable selon les années et les territoires. L'eutypiose et le Black dead arm sont présents dans presque tous les vignobles, les vergers arboricoles et forestiers du monde tandis que, l'esca est surtout répandue dans les pays de l'hémisphère nord(Figure.4)

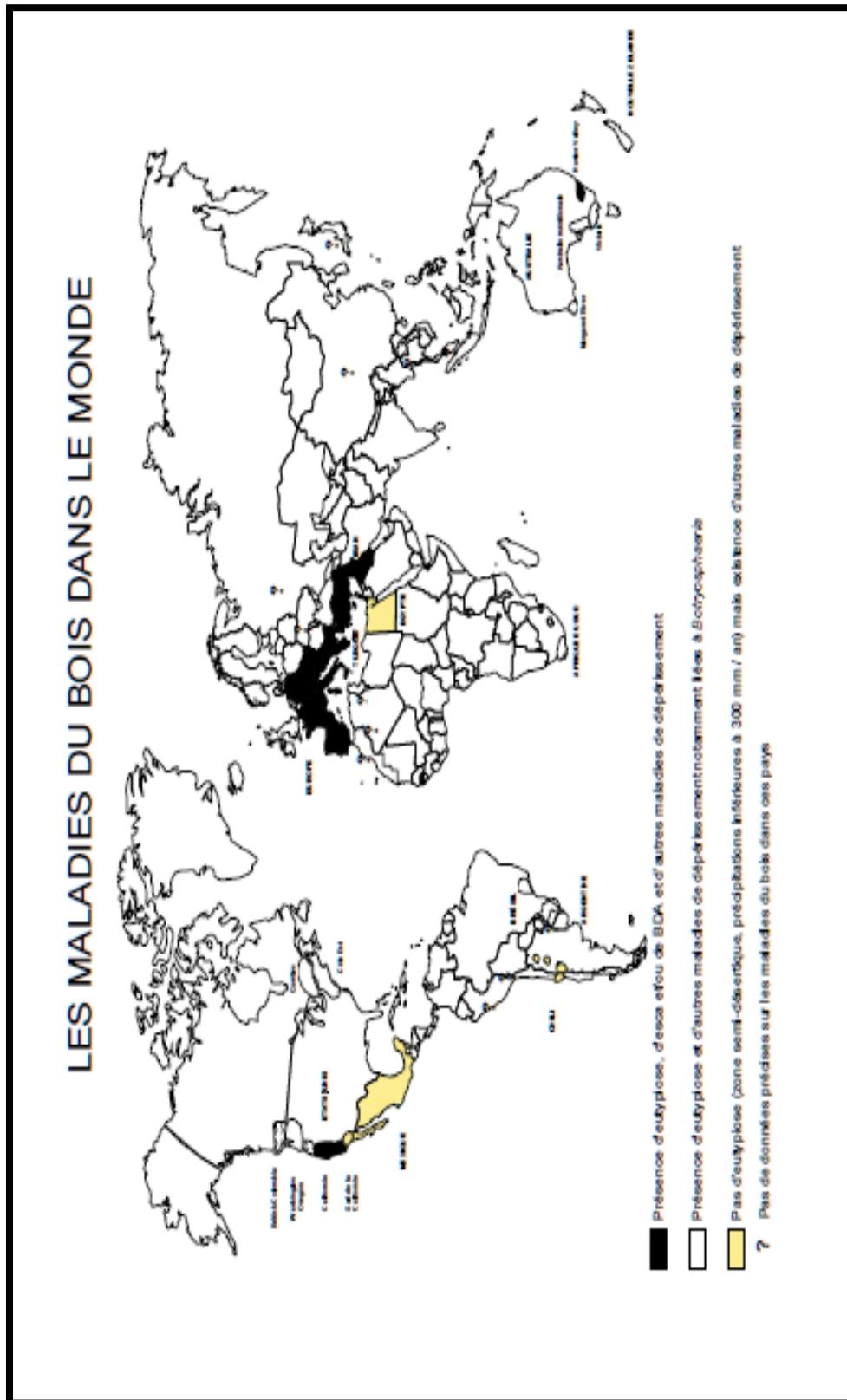


Figure.4 : Répartition géographique des dépérissements liés à Black dead arm, Eutypiose et Esca(Roussillon, 2004).

5.1. L'eutypiose

5.1.1. Historique

Selon Galet (1995), la maladie fut décrite pour la première fois sur abricotier: *Prunus armenica* L., par Dawson (1931) en Tasmanie et peu après dans le sud de l'Australie par (Harris, 1932 et Adam, 1938). Molleret Kasimat (1978), proposent pour cette maladie le terme *Eutypa Dieback*. En suisse, Bolay (1977), a proposé le terme de « Roncet » qui lui paraissait bien convenir pour désigner la mycose due à l'eutypiose car la maladie donne aux sarments un aspect buissonnant semblable à une pousse de ronce.

Rappaz (1984), attribue définitivement le nom d'*Eutypalata* (Pers.) Tul., au champignon responsable de l'eutypiose. Une définition précise de l'espèce, s'appuyant sur des critères morphologiques et moléculaires a été donnée par Rohsaulsen et al. en 2006. Cette espèce, ainsi que les espèces proches en termes phylogénétique, sont connues pour coloniser et causer des symptômes similaires sur une large gamme de plantes ligneuses.

L'eutypiose est répertoriée sur 88 espèces de plantes ligneuses pérennes regroupées dans 52 genres et 27 familles (Carter et al., 1983; Carter, 1991; Bolay et al., 1985). Elle a notamment été observée sur le Citronnier (Kouyeas, 1978), le Pommier (Glawe et al., 1983), le Pêcher et l'Amandier (Carter, 1982), le Pistachier (Rumbos, 1986), l'abricotier, le Cassissier, le Cerisier, le Noisetier, l'Olivier le Tamaris et la Vigne (Rumbos, 1993).

Cette maladie se manifeste par des chancres et des dépérissements apoplectiques sur les rameaux et les branches de la plupart des arbres fruitiers (Figure.5), de la vigne et des essences ligneuses d'ornement, à l'exclusion des conifères. La propagation de la maladie est assurée uniquement par les ascospores produites dans le stroma développé à la surface des branches mortes depuis plus de deux ans. Les ascospores sont éjectées hors des périthèces, pendant ou sitôt après une pluie. Le vent assure leur dissémination sur une distance de plusieurs dizaines de kilomètres (Bolay et Siegfried).



Figure.5 : Symptômes d'Eutypiose, chancre sur une branche de pommier causé par *Eutypalata*(Bolay et Siegfried).

5.1.2. Symptomatologie

Comme pour les maladies affectant le bois de la vigne et des plants arboricoles, dont les manifestations sont discrètes à leur début, l'identification de l'eutypiose s'avère souvent délicate; elle est d'autant plus difficile que les symptômes ne sont pas spécifiques. Dans plusieurs situations il est rare et difficile d'observer des symptômes typiques d'eutypiose qui nécessitent cinq à dix ans de contamination par *Eutypalata*(Dubos, 1995; Long et *al.*, 2003; Ceraser et Wicks, 2001). Les symptômes se manifestent de manière aléatoire selon les années, en fonction des arbres et des conditions climatiques notamment les printemps pluvieux qui aggravent l'expression des symptômes (Fallot et *al.*, 1997).

➤ **Sur la partie végétative**

Les premiers symptômes s'observent au printemps sur les jeunes rameaux; les pousses issues d'un bras infecté présentent une croissance ralentie et des entre-nœuds courts et réguliers à la différence du court noué (Dubos, 1995).

Les feuilles sont en général petites, tantôt chlorotiques, tantôt brunâtres, crispées, parfois déchiquetées avec des nécroses marginales qui peuvent se généraliser à l'ensemble du limbe présentant des plages bronzées chez les cépages rouges, à bords amincis se nécrosant dans la phase ultime avant le dessèchement du rameau. A un stade plus avancé de la maladie, les rameaux portent souvent des ébauches de feuilles complètement dépourvues prenant un aspect de balai de sorcière (Galet, 1999).

Synthèse bibliographique

Les inflorescences se dessèchent parfois avec la floraison. Dans le cas contraire, elles présentent un port dressé, elles subissent par la suite une forte coulure ou un millerandage en donnant des petits fruits souvent apyrènes (Dubos, 1995).

L'expression des symptômes sur la végétation herbacée est liée à la production par le champignon d'un complexe toxique. La présence et la gravité des symptômes est liée aux conditions climatiques (Deswarte et *al.*, 1994 et Fallot et *al.*, 1997).

➤ **Au niveau du bois**

Pendant l'hiver, il est facile d'observer la présence d'un bras mort et de méplats sur le tronc correspondant à des zones nécrotiques du bois mort dont l'origine est une grosse plaie de taille. Dans les zones de bois morts, où l'écorce s'est exfoliée, on observe des plages grisâtres à noirâtres, bosselées (Figure.6) qui contiennent les fructifications globuleuses du champignon représentant la forme sexuée (périthèces) (Courby, 1997).

Des coupes transversales dans les bras ou le tronc des souches malades permettent de voir une nécrose de consistance très dure, présentant une coloration allant du brun gris au brun violet suivant les cépages, cette nécrose est toujours sectorielle et bien délimitée (Figure. 7). (Dubos, 2002a). D'après Galet(1999), une telle nécrose prend toujours naissance à partir d'une blessure une plaie de taille qui s'enfonce profondément dans les tissus du bois et peut se propager au-delà du bourrelet de greffe ou une blessure due à un accident mécanique.



Figure.6 : Forme sexuée d'*Eutypa. Lat* présente à la surface du bois mort (périthèces)
(Dubos, 2002a)

Synthèse bibliographique



Figure.7: Evolution de la nécrose brune dure et de position sectorielle (Dubos, 2002a).

5.1.3. Agent causal de l'eutypiose: *Eutypalata*

Eutypalata est un agent pathogène appartenant à la classe des Ascomycètes qui se rencontre sous deux formes: La forme imparfaite (la forme conidienne) est présentée sous plusieurs noms: *Cytosporina*, *Fusicoccum*, *Phlyctaema* ou *Myxowaertelle*, elle a été citée sous le nom de *Libertellabelpharis* (Dubos, 1987; Dubos and Paillassa, 1992).

La Forme parfaite (la forme sexuée, *Eutypalata*) assure la dissémination de la maladie, elle se développe sous l'écorce 2 à 5 ans après la contamination sous forme d'un stroma noirâtre d'aspect bosselé contenant les fructifications ou les périthèces qui ne peuvent se développer que dans les régions où la pluviométrie annuelle dépasse 350 mm (Bolay et al., 1977).

Les périthèces, après une période de maturation deviennent fructifères et le stroma peut entretenir des périthèces fertiles pendant 4 à 5 ans ou plus, en formant de nouvelles fructifications chaque hiver (Mur et al., 1991). Le cycle biologique de la maladie sur la plante est ainsi très long et peut durer de 4 à 8 ans, il est constitué d'une phase de dissémination et d'une phase de contamination (Dubos, 1987 et Jousse, 2006).

5.1.4. Mode d'action

Le mode d'action d'*Eutypalata* met en jeu des perturbations dans les flux hydriques liées à l'envahissement progressif des vaisseaux du xylème ainsi que l'émission de toxines véhiculées jusqu'aux parties jeunes de la plante (Figure.8). Parmi les molécules émises par le champignon, des composés de haute masse moléculaire de nature protéique ont été démontrés (Reulet, 1984; Tey-Ruhl et al., 1991; Molyneux et al., 2002). Parmi les plus

Synthèse bibliographique

répondus l'eutypine, qui pénètre dans les cellules des plants par diffusion passive, affectant le fonctionnement des systèmes membranaires des cellules (Deswarteetal., 1994). Elle provoque l'acidification du cytoplasme, la réduction du transport de leucine et l'inactivation de la consommation d'oxygène. L'ensemble des résultats décrits sur les cellules entières de l'arbre montre que l'eutypine agit comme un transporteur mobile de protons.

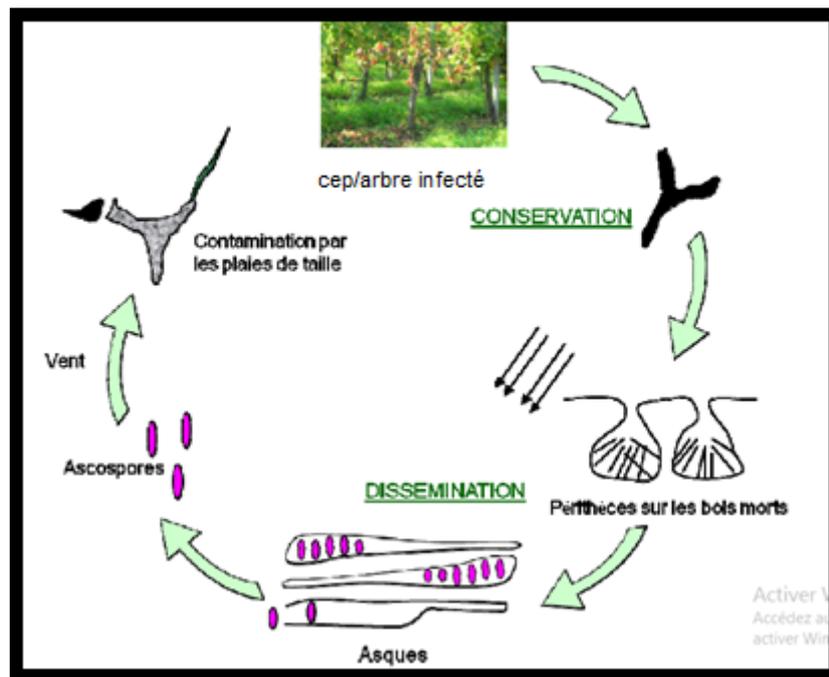


Figure.8 : Cycle biologique d'*Eutypa lata*(Deswarteetal., 1994).

5.2. L'esca

5.2.1. Historique

En latin, « esca » signifie nourriture ou aliment. Ce nom était anciennement employé pour désigner les carpophores de champignons basidiomycètes xylophages (*Phellinus igniarius*, *Fomes fomentarius*) (Graniti, 2006). Au début du 20^{ème} siècle, Pierre Viala, observa que les symptômes sur organes herbacés concordait avec la présence de pourriture molle sur les bras et le tronc des ceps et des arbres malades, et formalisa le nom donné aux symptômes foliaires caractéristiques (feuille d'aspect tigrée) à celui donné aux symptômes du bois (Graniti, 2006). Plusieurs dizaines de champignons sont impliqués dans cette maladie très complexe :

Synthèse bibliographique

- *PhaeomoniellaChlamydospora* et *Phaeoacremoniumaleophilum*, sont les champignons précurseurs de l'esca.
- *Fomitiporiamediterranea* est le champignon responsable de l'amadou. La contamination se fait notamment via les plaies de taille lors de la période hivernale douce et pluvieuse. Le nombre et la dimension des plaies de taille sont des facteurs qui favorisent l'installation de cet agent (Eskalen et *al.*, 2007).

5.2.2. Symptomatologie

- Les symptômes de cette maladie apparaissent de manière ponctuelle à partir du mois de juillet, On distingue une forme foudroyante menant à l'apoplexie et une forme de dépérissement lent (chronique), qui s'exprime essentiellement par des symptômes foliaires (Kuntzmann et *al.*, 2010).
- Ces symptômes sont associés à différentes nécroses dans le bois lorsque la maladie n'est pas très évoluée. A un stade plus avancé, elle est associée soit à la présence d'une nécrose brune et dure en ou nécrose claire et tendre en position centrale (Larignon, 2010).

5.2.2.1. Forme lente

Elle se caractérise par l'apparition de symptôme sur une partie ou la totalité des organes herbacés au début de la période estivale (Larignon et *al.*, 2009). Sur les feuilles, la forme lente se manifeste par l'apparition de taches jaunes au niveau du limbe. Celles-ci se développent, prennent une couleur rougeâtre en leurs centres et fusionnent entre elles, créant ainsi de plus grandes plages. Le limbe rouge est alors séparé des nervures vertes par un liseré jaune clair. Les feuilles montrent ainsi un aspect tigré caractéristique (Mugnai et *al.*, 1999; Larignon et *al.*, 2009).

5.2.2.2. Forme apoplectique

Cette forme déclenche généralement un dessèchement rapide et brutal. Chez la vigne qui se caractérise par une perte subite de la turgescence des feuilles, se traduisant par le flétrissement de la totalité de la plante ou d'un rameau. Cette forme foudroyante est caractérisée par une chute de l'activité photosynthétique des feuilles une semaine avant son expression (Letousey et *al.*, 2010).

Synthèse bibliographique

Sur le tronc et les bras des arbres malades (figure.9), les symptômes généralement décrits sont: la présence des stries brunes qui apparaissent sous forme de ponctuations noires organisées de manière concentrique en coupe transversale, décoloration centrale dure de couleur brune/rose, sécrétion de gommés par les tissus infectés et pourritures molles de couleur jaune claire (Mugnai *et al.*, 1999; Surico *et al.*, 2006).

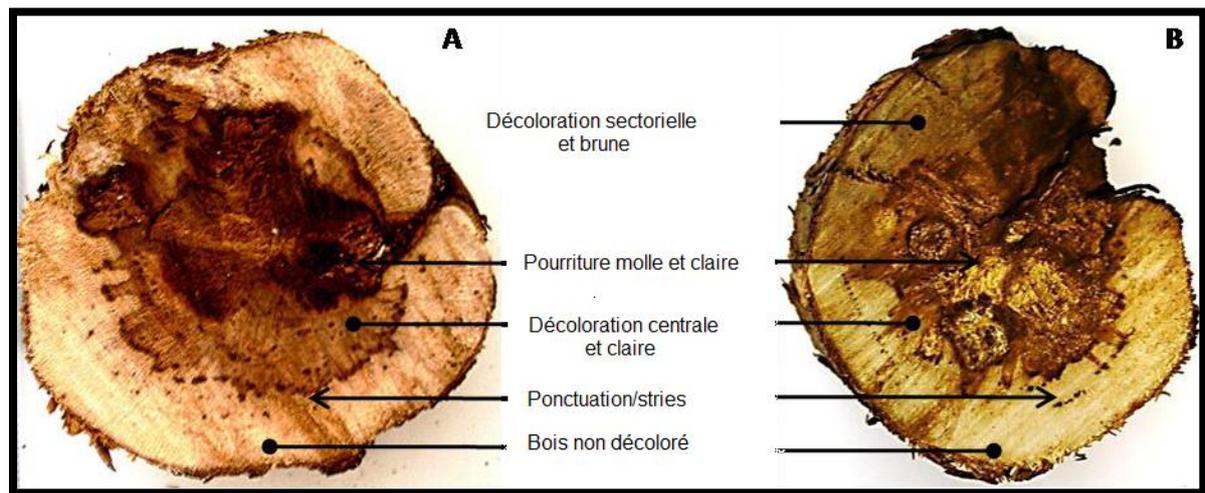


Figure.9 : Nécrose claire et tendre en position centrale au niveau du bois
(Larignon et Dubos, 1997).

5.2.3. Principaux agents pathogènes associés

Le syndrome de l'esca implique un complexe fongique dont les participants ne sont pas encore tous connus. Il est certain que les infections ne sont possibles que par les plaies de taille ou autres blessures (Viret, 2004). Concernant l'Esca, deux processus de dégradation du bois menant à la formation de la nécrose caractéristique ont été décrits (Larignon et Dubos, 1997 ; Larignon, 1991).

Le premier processus aboutit à la formation d'une nécrose claire et tendre en position centrale et fait intervenir trois champignons : *Phaeoconiella chlamydospora* (*Pch*), *Phaeoacremonium aleophilum* (*Pal*) et *Fomitiporia mediterranea* (*Fm*) (Figure.10).

Synthèse bibliographique

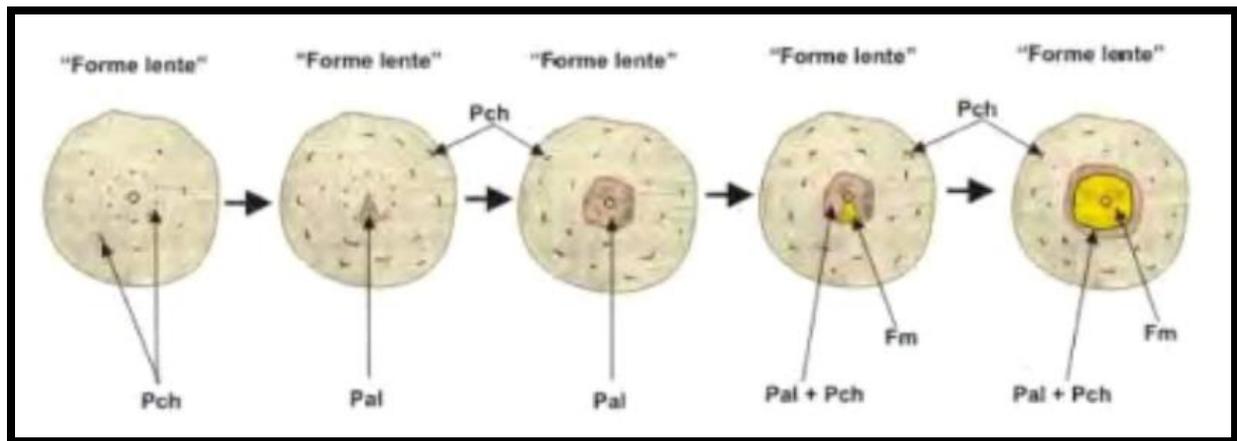


Figure.10 : Premier processus de dégradation du bois (Esca)
(Larignon, 2009)

Le second processus (Figure.11) conduit à la formation d'une nécrose claire et tendre en position sectorielle et implique *Eutypalata(EI)*, responsable de la nécrose brune en position sectorielle, et *Fomitiporia mediterranea* qui dégrade ce bois brun en une pourriture blanche et tendre. Cette nécrose peut évoluer jusqu'à occuper la quasi-totalité du bois.

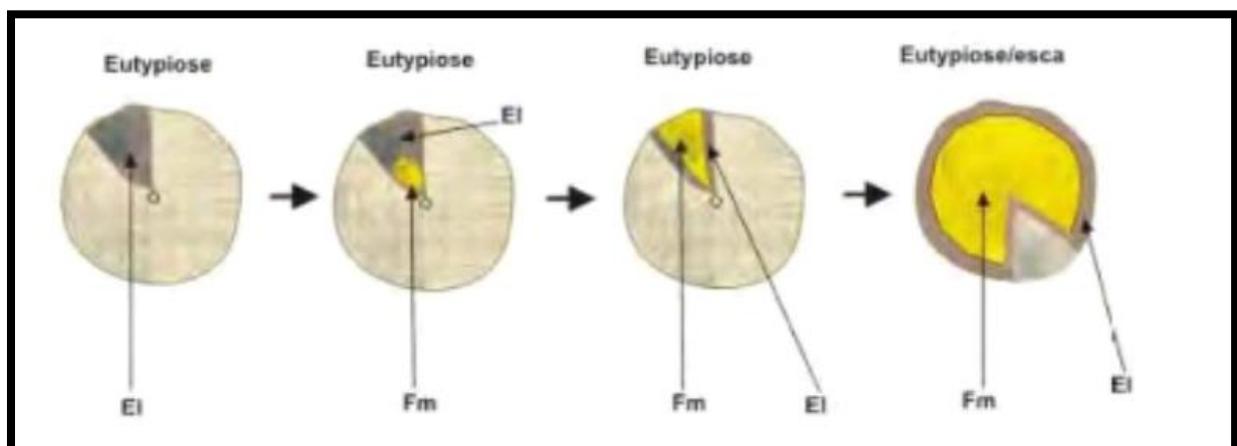


Figure.11 : Second processus de dégradation du bois (Esca)
(Larignon, 2009)

Synthèse bibliographique

On note que les deux processus peuvent être observés sur la même plante (Figure.12) (Larignon et Dubos, 1997 ; Larignon, 2009).

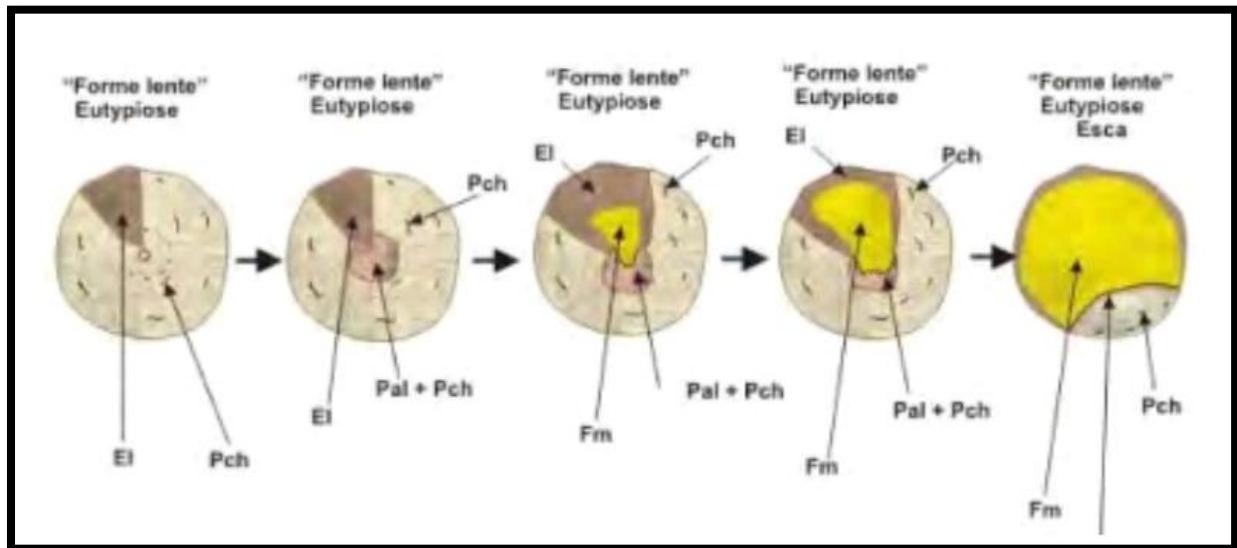


Figure.12 : Combinaison des deux processus de dégradation du bois (Esca)
(Larignon, 2009)

5.3. Black Dead Arm (Le BDA.)

5.3.1. Historique

Le terme BDA. (Black Dead-Arm) a été introduit par Lehoczkyet *al.*, (1974) pour désigner la maladie dans le vignoble de Tokaj en Hongrie. Cette terminologie fut à l'époque proposée afin de discerner l'excoriose (Dead Arm Disease) causée par *Phomopsis viticola*, de la maladie de dépérissement causée par *Botryosphaeria* sp. L'expression a été ensuite reprise par Cristinzio (1978), Rovesti et Montermini (1987), lors de leurs études respectives en Italie. La maladie a été identifiée en France en 1999 dans le vignoble du Médoc (Larignon et *al.*, 2000), le BDA a été souvent confondu avec l'esca en raison d'une symptomatologie convergente au niveau du feuillage, son émergence est probablement liée au respect de l'interdiction de l'arsénite de sodium prononcée en 2001 (Dubos, 2002b). Les espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae*, dont font partie les espèces du genre *Botryosphaeria*, sont capables de coloniser une gamme relativement large de végétaux ligneux, chez lesquels ils peuvent se comporter de manière endophytique, saprophytique, ou bien pathogénique (Crous et *al.*, 2006; Van Niekerk et *al.*, 2006; Pérez, 2010). Des études de phylogénie moléculaire relativement récentes ont néanmoins permis d'éclaircir certaines questions et différencier plus

Synthèse bibliographique

finement certaines espèces (Denman et *al.*, 2000; Slippers et *al.*, 2004; Crous et *al.*, 2006; Phillips et *al.*, 2007).

5.3.2. Symptomatologie

5.3.2.1. Forme lente

Se manifeste selon deux modalités, suivant la couleur du cépage impliqué. Sur cépages noirs, des petites tâches d'un rouge vineux sont observées à la surface des limbes des feuilles. Ces tâches vont s'agrandir, fusionner, puis prendre une teinte feuille morte en ne laissant qu'une bande verte le long des nervures principales (Larignon, 2009a). Sur cépages blancs, des tâches jaunes de couleur vive qui tendent à se griller sont notées, elles vont s'agrandir, fusionner pour ne laisser qu'une bande verte le long des nervures principales.

D'autres symptômes peuvent également être aperçus: une perte de la turgescence de la feuille, qui va conduire à la formation de nécroses plutôt orange, ne laissant progressivement qu'une bande verte le long des nervures principales. A un stade très évolué, les feuilles atteintes tendent à jaunir. Selon la gravité de la maladie et la période à laquelle elle se manifeste, la maladie peut toucher les inflorescences ou les fruits conduisant à leur dessèchement (Larignon, 2009a).

Au niveau du bois, à partir d'un rameau malade, l'enlèvement de l'écorce (qui se détache facilement à la main) révèle la présence d'une bande brune, partant du rameau malade et descendant jusqu'au point de soudure. Cette bande brune peut se former de part et d'autre d'une nécrose sectorielle et se traduit ensuite, soit par la présence de taches noires, soit par la formation d'un chancre (Larignon et *al.*, 2002). La nécrose provoquée par le BDA peut être facilement confondue avec celle de l'eutypiose, mais il existe toutefois quelques différences, notamment en ce qui concerne la couleur (Larignon, 2009a).

5.3.2.2. Forme sévère du BDA

Cette forme est différente de la forme apoplectique de l'esca (Larignon et Dubos, 2001). Selon la gravité de la maladie, les champignons peuvent affecter les inflorescences et/ou les fruits conduisant à leurs dessèchements (Dubos, 2002b).

Synthèse bibliographique

5.3.3. Principaux agents fongiques associés

Dans le cas du BDA, plusieurs espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* semblent être associées (Larignon, 2006). Les principaux champignons en cause sont les suivants : *Diplodiaseriata* (téléomorphe: *Botryosphaeriaobtusa*), *Neofusicoccumparvum*(téléomorphe : *Botryosphaeriaparva*) et *Diplodia mutila* (téléomorphe : *Botryosphaeriastevensii*) sont décrits comme étant les espèces les plus fréquemment isolées de vignes atteintes de BDA en France (Larignon et al., 2009b; Laveau et al., 2009). L'ensemble de ces champignons, qui se compose de saprophytes, opportunistes et pathogènes peuvent assurer une conservation sur ceps de vignes et sur les bois de taille sous formes de pycnides (Larignon et al., 2001).

La dissémination des spores de ces derniers semble plus importante en période végétative (Brown-RytlewskietMcManus, 2000; Kuntzmann et al., 2009). Les contaminations se font à travers les plaies de taille en hiver, mais il peut y avoir des contaminations en cours de saison par les blessures provoquées par les opérations en vert. Comme la propagation est possible à partir des bois de multiplication (greffons et porte-greffes) et des opérations de trempage des bois au cours de la stratification, ce qui conduit à la contamination du matériel végétal destiné à la plantation (Larignon, 2008).

6. Méthodes de lutte

Le problème majeur des maladies du bois réside dans l'absence totale de traitement curatif, l'application des mesures prophylactiques est recommandée. De nombreux axes de recherche se poursuivent actuellement visant à la mise au point de traitements phytosanitaires efficaces: micro-organismes antagonistes naturels (Alfonzo et al., 2009), composés antifongiques systémiques de synthèse (Auger et al. 2010; Herche et Gubler, 2010) et des molécules naturelles possédant des propriétés fongicides ou stimulant les réactions de défense des plantes comme le chitosane (Nascimento et al., 2007), les polyphénols (Hattenschwiler et Vitousek, 2000) et l'acide salicylique (Amborabé et al., 2002).

6.1. Lutte chimique

Depuis le retrait de l'homologation de l'arsénite de soude du marché Européen en 2001, aucune solution de remplacement efficace et économiquement acceptable n'a été proposée (Bertsch et al., 2009). Des études récentes menées par la Mutualité Sociale Agricole (MSA) (France) ont montré que l'arsénite de soude était dangereux pour la santé des utilisateurs en dépit des précautions prises lors de son application (Herlemont, 2004). Il était

Synthèse bibliographique

capable de tuer la plupart des champignons associés aux maladies du bois dans le xylème comme le montrent les travaux de Larignonet *al.* (2008). Il n'avait toutefois aucune efficacité sur l'eutypiose (Larignon, 2009). En effet, sa réintroduction serait une aberration, tant au niveau écologique qu'au niveau pratique (Viret, 2004).

La difficulté de cette lutte réside dans le fait que les antifongiques traditionnels ne sont pas mobiles dans tout le système de la plante (phloème et xylème). Le plus pratique serait d'élaborer des fongicides systémiques phloémiens dotés d'une propriété particulière : l'ambimobilité. Les fongicides classiques utilisés actuellement sont soit de contact, ils restent en surface des plantes traitées, soit systémiques ascendants, véhiculés avec la sève brute depuis les racines vers le feuillage. Ce qui explique que le seul remède proposé jusqu'ici consiste en un badigeonnage des plaies de taille, afin de constituer une barrière pour stopper l'envahissement par les spores de champignons parasites (Jousse, 2004).

6.2. Mesures préventives

La lutte contre les maladies du bois est essentiellement préventive à l'heure actuelle. Les mesures prophylactiques ont pour objectif de réduire la quantité d'inoculum dans les parcelles viticole et arboricoles et de diminuer les risques de contamination à la pépinière. Malgré considérées comme nécessaires, il est impossible d'affirmer que ces mesures soient suffisantes comme moyen de lutte efficace contre les agents causals des maladies du bois (Sentenacet *al.*, 2004).

La flore fongique associée aux maladies du bois se propage surtout par le matériel végétal (Larignonet *al.*, 2006). Parmi les traitements effectués à la pépinière, les traitements à l'eau chaude se sont avérés efficaces pour diminuer les sources d'inoculum (Crous et *al.*, 2001; Rooney et Gubler, 2001), bien que l'efficacité de ce traitement dépende de la sensibilité des champignons (Casieriet *al.* 2009). Fourié et Halleen (2006), ont montré également que des bains de bénomyl et de captane, réduisent la présence des champignons dans les tissus ligneux au niveau de la soudure et à la base du plant. Ces mêmes auteurs ont indiqué que ces traitements sont également effectués sur les plants à la sortie de la pépinière.

Au verger, la lutte contre les maladies du bois consiste tout d'abord en des mesures prophylactiques afin de limiter l'extension de la maladie à partir de l'arbre infectés: limiter les apports nutritifs pour contrôler la vigueur, éliminer les bois morts qui sont sources

Synthèse bibliographique

d'inoculum, éviter les tailles sévères qui augmentent la surface des plaies et le risque de contamination et pratiquer une taille tardive afin de réduire la contamination. Les solutions actuelles sont limitées et consistent à pratiquer un recépage au-dessous de la zone infectée en conservant un gourmand à la base de l'arbre, protéger la plaie de taille et pratiquer un surgreffage est également efficace en éliminant la partie malade (Larignon, 2009 b).

6.3. Lutte biologique

La lutte biologique contre les maladies des plantes peut se produire grâce à des mécanismes biologiques qui sont généralement considérés comme l'antibiose, la compétition, le parasitisme, la résistance induite, l'hypo virulence et la prédation (Pal et al., 2006; Haggag et al., 2007).

Les différentes recherches menées dans le monde ont porté sur l'évaluation de l'efficacité de molécules chimiques et de produits biologiques aussi bien au laboratoire que dans le verger (Jaspers, 2001).

6.3.1. Recherche des microorganismes antagonistes

L'utilisation des organismes antagonistes naturels pour protéger des plaies de taille est une méthode de contrôle préventive et écologique. Les recherches portent sur l'effet de microorganismes utilisés en lutte biologique, notamment les *Trichoderma*. Ces champignons présentent une activité antagoniste et d'hyper parasitisme à l'égard d'un grand nombre de microorganismes et sont utilisés en lutte biologique à l'égard de diverses maladies sur différentes cultures (Chet, 1987). Ils peuvent jouer également un rôle dans l'élicitation des mécanismes de défense de la plante. Selon Hunt et al. (2001), l'application de *Trichoderma* sur les plaies de taille réduit fortement la colonisation du bois par *Eutypalata* (85%), d'autre part *T. harzianum* est capable de détoxifier *in vitro* l'eutypine en eutypinol ou en acide eutypinique (Christen et al., 2005).

De même, d'autres auteurs, ont décrit l'efficacité des souches *Trichoderma harzianum*, *T. longibrachiatum* et *T. atroviride* contre *Phaeoconiella chlamydospora* et les *Botryosphaeriaceae* (Di Marco, 2004 et 2011 ; Kotze et al., 2009).

Des bactéries antagonistes d'*E. lata* cas de *Bacillus subtilis* et *Erwinia herbicola* ont été mises en évidence (Ferreira et al., 1991; Schmidt et al., 2001a). Elles sont aussi actives en vaporisation sur les plaies de taille aux vergers, *Bacillus subtilis* produit des substances qui

Synthèse bibliographique

inhibent la croissance du mycélium et la germination des ascospores d'*E. lata* (Ferreira *et al.*, 1991). Ces propriétés fongistatiques et fongicides se manifestent uniquement en présence de la bactérie, car il est nécessaire d'avoir un apport permanent en substance active (Schmidt *et al.*, 2001).

6.3.1.1. Le genre *Bacillus* spp.

Les *Bacillus* forment un genre de bactéries à gram positif, appartenant à la famille des bacillacées (*Bacillaceae*), l'ordre des *Bacillales*, la classe des bacilles (*Bacilli*), le phylum des *Firmicutes* découvert pour la première fois en 1872 par Ferdinand Cohn (Nicholson, 2002).

De forme bacille, ils sont aérobies ou aéro-anaérobies facultatifs, et tirent leur énergie par respiration ou fermentation. Ces bactéries sont capables de produire des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables (Anonyme 14.)

Le genre *Bacillus* comprend plus de 200 espèces et est l'un des plus grands genres bactériens (Logan *et al.*, 2007).

6.3.1.2. Mode d'action des bactéries

2.1. Modes directs

La production de substances antibiotiques voire antifongiques par la bactérie est le mode d'action le plus répandu et a priori le plus efficace contre les champignons pathogènes. La molécule produite par la bactérie a un effet soit fongistatique, en ralentissant ou inhibant la croissance du champignon, soit fongicide, en conduisant à la mort cellulaire fongique. Ces activités ont souvent été mises en évidence *in vitro* dans des tests de confrontation champignons – bactéries sur des milieux nutritifs permettant la production des composés toxiques. Ces antibiotiques ou fongistatiques dérivent souvent du métabolisme secondaire bactérien et appartiennent à différentes familles chimiques dont les polykétides (Sarniguet *et al.*, 2008).

2.2. Modes indirects

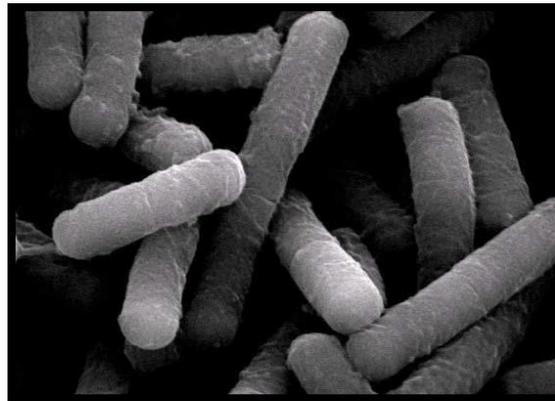
Des bactéries actives en protection des plantes peuvent agir indirectement *via* la plante en induisant des réactions de défense. La résistance de la plante obtenue n'est que partielle, c'est-à-dire que la protection est modérée mais réelle. Cette résistance peut-être locale, au niveau de la zone d'application de la bactérie sur la plante, ou systémique, c'est-à-dire éloignée du point d'application sur la plante. Parmi les exemples concernant l'induction

Synthèse bibliographique

systémique de la résistance, les voies de réponse aux bio agresseurs de la plante telles que, l'acide salicylique, ou le jasmonate/éthylène (Sarniguet *et al.*, 2008).

6.3.1.3. Présentation de *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis (Figure.13) est une bactérie du sol, à Gram positif, mobile par des flagelles peritriches, aérobie, mais dans le cas de la présence de glucose et de nitrate, une croissance anaérobie peut se produire. Cette bactérie est capable de produire une endospore ayant une haute résistance aux conditions défavorables (Priest *et al.*, 1987).



(Carballido-López, 2007)

Figure.13 : *Bacillus subtilis* observé en microscopie électronique à balayage

CHAPITRE II

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Chapitre II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Notre travail comprend trois parties essentielles :

- La première consiste à évaluer l'état de dépérissement de deux cultures de noyaux (abricotier et cerisier) dans deux régions à vocation agricoles Médéa et Blida.
- La deuxième concerne l'étude étiologique qui concerne l'isolement des agents incriminés dans le dépérissement du cerisier ainsi que l'abricotier.
- La dernière partie a concerné l'étude *in vitro* du pouvoir antifongique d'un traitement d'origine microbienne : *Bacillus subtilis* vis-à-vis les agents fongiques isolés.

I. ENQUÊTE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

1. Situation géographique et climatique des régions étudiées

1.1. Médéa

Dans la région de Médéa, notre étude a été effectuée au niveau d'une exploitation privée, qui se trouve dans la localité du Benchica située à 15 km au sud du chef-lieu de la wilaya (Figure.14), où se concentre l'activité arboricole. Elle se situe à 1200 mètres d'altitude, sur l'Atlas tellien à 90 km au sud-ouest d'Alger, elle présente un climat méditerranéen à tendance subcontinental, étage subhumide à hiver doux. La pluviométrie moyenne annuelle est de 600-800 mm/an et le bilan semestriel a dépassé 1000 mm pour la campagne 2014 (ONM) (Annexe A). Selon la direction des services agricoles de la wilaya (2014), la superficie des cultures fruitières à noyaux et/ou à pépin totale de la wilaya est de 15.519 ha pour une production de 610 934 (q/x) (Dsa, 2014).

1.2. Blida

Blida est une région qui se situe à 50 km à l'ouest d'Alger (Figure.14), elle est située dans un seul étage bioclimatique. Caractérisé par un hiver doux dans la partie nord et chaud dans la partie sud. Les vents ont des fréquences différentes durant l'année et les gelées sont fortement influencées par l'altitude. Les précipitations moyennes font ressortir une pluviométrie moyenne annuelle de 600 mm durant la période 2006-2012 (Annexe A). Ces dix dernières années, cette région a connu une intense activité en matière de création de vergers arboricoles, la superficie arboricole totale est de 9.631 ha pour une production de 1 933 700

q/xdestinée pour la culture des noyaux et/ou à pépin (Dsa ,2014). Notre travail s'est réalisé au niveau de deux sites : verger d'abricotier au sein du département de Biotechnologie, faculté des sciences et vie, Université de Blida 1, et une exploitation agricole privé située dans la commune de Chréa: 25 km à l'Ouest du chef-lieu de la wilaya.



Echelle : 1/100.000

Figure.14 :Localisation géographiques des deux régions arboricoles prospectées (www.cartograf. fr, 2013)

Notre suivi épidémiologique a été effectué durant la campagne agricole (2014-2015), au niveau de trois sites arboricoles, comportant 03 verges.

2. Enquête épidémiologique de dépérissements

Dans notre enquête épidémiologique sur le dépérissement des arbres fruitières (cerisier et abricotier) dans les régions arboricoles citées ci-dessus, nous nous sommes basé sur la recherche et la détection des symptômes typiques des maladies de: l'eutypiose causée par *Eutypalata* et le BDA causé par la famille des *Botryosphaeria*. Dans chaque verger prospecté, nous avons recueilli des informations pouvant afférer avec les états des dépérissements. Parmi elles l'âge des arbres et les conditions pédoclimatiques.

Dans chacun des 03 vergers étudiés, nous avons sélectionné 150 arbres répartis aléatoirement en évitant les lignes de bordures, dans 03 unités parcellaires. Chaque unité est représentée par

50 arbres étudiés. Nos observations ont concernées 450arbres (150x03) au total à travers les trois vergers.

2.1. Echelle d'évaluation

L'échelle de l'évaluation des symptômes des dépérissements se base sur le comptage des arbres présentant des anomalies (végétation chétive, irrégulière, décolorations de feuillage, mortalité partielle ou totale des bras et mortalité ou absence des arbres). L'échelle d'évaluation adoptée se compose de cinq indices, allant de **l'indice 0** pour les ceps sans symptômes à **l'indice 4** pour les ceps morts :

- **0** Arbre sans symptômes
- **1** Nécroses foliaires
- **2** Symptômes douteux : bras mort
- **3** Symptômes généralisés sur l'arbre
- **4**arbres morts.

2.2. Paramètres épidémiologiques des dépérissements

Pour l'évaluation des effets des dépérissements engendrés par les arbres nous avons utilisé deux paramètres de calculs: Indice de gravité et indice de McKinney (Incidence de la maladie) (Ippolito, 1992 et 2007; Pollastro, 2000 et 2007).

2.2.1. Gravité de la maladie

Pour estimer la valeur moyenne de la classe du dépérissement, la formule suivante a été utilisée:

$$G = \sum (n_i \cdot i) / n$$

- G : gravité de la maladie
- n_i : nombre d'arbres recevant la classe i (i = 1 à 4)
- n : nombre des arbres affectés par le dépérissement

2.2.2. Indice de McKinney

L'incidence du dépérissement est calculée par l'indice de McKinney qui permet d'évaluer l'altération globale du potentiel de la production d'un verger, il est calculé selon la formule suivante: **IMc %** = $\sum (n_i \cdot i) / N \cdot v$

- IMc % : l'indice de McKinney
- n_i : nombre d'arbres recevant la note i ($i = 1$ à 4)
- N : nombre total des arbres du verger
- v : valeur la plus élevée de l'échelle d'évaluation

2.3. Analyse statistique

Afin de vérifier l'impact des différents facteurs pouvant influencer les états de dépérissement des arbres: région, âge, dans les vergers étudiés. Une analyse en composantes principales (ACP) en utilisant le logiciel Past (version 1.9) a été réalisée sur la base d'une matrice de données avec les facteurs précités et les variables (indices épidémiologiques). Les différents assemblages ont été déterminés à travers une classification hiérarchique ascendante (CHA) (Hammer *et al*, 2001).

II: ENQUETE ÉTIOLOGIQUE

En l'absence de traitements curatifs des maladies du bois, la stratégie la plus efficace pour éviter leur propagation consiste à la détection précoce des plants infectés. De nombreuses recherches sont axées sur la mise au point de méthodes de diagnostic.

1. Méthodologie d'échantillonnage

L'étude étiologique s'est basée sur la recherche d'éventuels agents fongiques susceptibles de provoquer des états des dépérissements, un échantillonnage ciblé a été réalisé sur les arbres malades. Un prélèvement aléatoirement de deux plants de chaque espèce étudiée a été effectué dans chaque verger.

1.1. Prélèvement des échantillons de bois

Nos échantillons ont été obtenus à partir du tronc, des rameaux et des restes des arbres arrachés et délaissés. Les prélèvements ont été effectués dans des conditions stériles, les outils utilisés (sécateurs, scies et autres) ont été désinfectés par l'eau javellisée. Ils ont été conservés dans des sacs en papier portant toutes les informations utiles (vergers, arbre, date de prélèvement et le type de symptômes) pour une éventuelle analyse au laboratoire. De chaque arbre 2 à 3 fragments de bois ont été découpés, cinq bûchettes ont été prélevées de ces

derniers (1×1 cm) (partie saine et infectée) afin de réaliser des isolements de la flore fongique associée aux dépérissements.

2. Diagnostic au laboratoire

2.1. Isolement et recherche des agents causals

La méthode de diagnostic classiquement utilisée consiste à isoler les microorganismes des fragments de bois sur un milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (Jonhston and Booth, 1983) (Annexe. B).

La technique d'isolement décrite par (Dubos, 1987) a été adoptée (Figure.15). Cette manipulation consiste à une désinfection superficielle des fragments pour éliminer le maximum de la microflore secondaire ou accessoire de la surface. Les fragments ont subi un passage dans un bain d'hypochlorite pendant 5 minutes, suivi d'un rinçage successives à l'eau distillée stérile, séchés entre deux feuilles de papier filtre stérile et déposés dans des boites de Pétri contenant le milieu PDA.

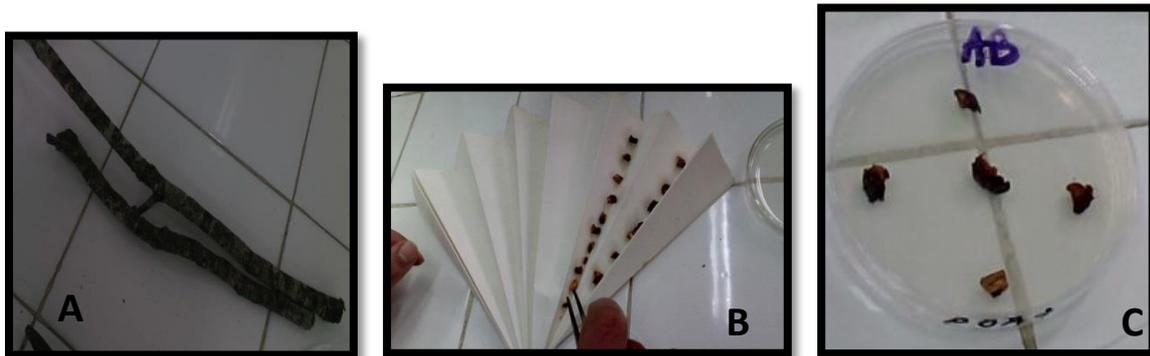


Figure.15 : Echantillon de rameau malade (A), petits fragments coupés sur papier filtre (B), dépôt de fragments sur milieu PDA en boite de Pétri (C). (Original 2015)

2.2. Observation et purification des cultures

Après 5 à 6 jours d'incubation à 25°C et à l'obscurité, seulement les colonies présentant des caractéristiques macromorphologiques ressemblant à ceux des agents causals recherchés ont été sélectionnées (Figure.16). Ces dernières ont été transplantées dans de nouvelles boites de Pétri sur le milieu PDA.

2.3. Etude microbiologique

2.3.1. Caractérisation culturelle

Les cultures purifiées ont été laissées en incubation de 10 à 15 jours, pour obtenir une croissance optimale. Dès que le développement est apparent, des observations quotidiennes sont effectuées pour détecter d'éventuels caractères cultureux spécifiques aux agents fongiques recherchés. Parmi les caractères recherchés, nous nous sommes basée sur : la couleur, l'aspect, la forme des colonies, leurs vitesse de croissance et d'éventuels pigmentations. Les clés de détermination utilisée sont celles décrites par Dubos (1999a),et Phillips (2002).

2.3.2. Caractères micro-morphologiques

Des observations microscopiques sous un grossissement (10×10 et 10×40) ont été effectuées sur des montages entre lame et lamelle obtenue à partir des cultures pures. Les principaux caractères mycéliens :aspect, forme , couleur, nature des hyphes et présence des fructifications asexuées ont été déterminé selon les données décrites par Larignon (1991) et Munkvold (1994a).

2.4. Recherche des fructifications des agents causals

La présence des fructifications permis une identification plus précise, des branches du bois morts infectés montrant la présence des périthèces et des pycnides (bois nécrosé) ont été collectés, conservés à l'obscurité (sachets noirs en plastique) pendant un mois et demi, afin de favoriser l'émission de fructifications. A partir de ces derniers, une préparation des ascospores avec l'eau stérilisée ont été réalisé dans des montages lame et lamelle et observé sous un microscope optique G (10×10) (Van Nieakerk et *al.*,2010).

Les cultures fongiques obtenues des différents isolats ont subi deux types de stress dans le but de provoquer des fructifications asexuées. Ces cultures ont été soumises sous des rayons ultras violet UV pendant sept (07) jours consécutives et sous une alternance de température (06) heures sous une basse température et (06)heures sous une température ambiante).

III.ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE

Les essais de lutte biologiques sont expérimentés à titre d'alternative ou de complément aux méthodes chimiques conventionnelles. Plusieurs auteurs ont montré l'importance de

l'activité antibiotique des bactéries dans la limitation de la gravité des maladies d'origine fongiques (Howell et Stipanovic 1979 ; 1980 ; Papavizas et Lumsden 1980 ; Sneh *et al.*, 1984 ; Weller et Cook 1986 ; Altindag *et al.*, 2006).

Dans nos essais nous avons sélectionnés une souche bactérienne *Bacillus subtilis* ayant un large spectre d'action et utilisés comme agents anti-fongique (Milner *et al.*, 1995).

La plupart des espèces du genre *Bacillus* sont bien connues pour leur capacité à contrôler les maladies des plantes et sont considérées comme des microorganismes sans danger. Les bactéries halotolérantes et halophiles de ce genre possèdent des capacités remarquables à synthétiser de nombreuses substances par le biais de divers mécanismes et qui ont été utilisées avec succès dans l'agriculture et pour l'industrie fine (Stein, 2005).

1. Étude *in vitro* du pouvoir antifongique de *Bacillus subtilis*

1.1. Origine des souches fongique

Les souches fongiques testées dans cette partie, ont été isolées à partir du bois de cerisier et abricotier déperis présentant différents types de nécroses (tableau.5) Les souches ont été entretenues par repiquage sur le milieu PDA, la croissance des cultures s'est déroulée dans un incubateur à une température de 27°C.

Tableau.5 : Origine des champignons fongique.

Souches	Année d'isolement	origine
<i>Botryosphaeria</i> sp.	2015	Rameaux d'Abricotier (région de Blida)
<i>Eutypa</i> sp.	2015	Tronc d'Abricotier (région de Blida)
<i>Eutypa</i> sp.	2015	Rameaux de cerisier (région de Chréa)
<i>Cytosporina</i> sp. <i>Eutypa</i> sp.	2015	Rameaux de cerisier (région de Médéa)

1.2. Origine de la souche microbienne *Bacillus subtilis*

Nous avons sélectionné une espèce bactérienne *Bacillus subtilis* (9372), qui a été déjà étudiée pour plusieurs activités biologiques incluant leur pouvoir antifongique fourni gracieusement par le laboratoire de microbiologie (complexe Antibioital de Sidal, Médéa).

1.3. Activité antifongique de la bactérie

L'étude de l'activité antifongique de *Bacillus subtilis* a été effectuée par la méthode de confrontation directe en boîte de Petri vis-à-vis des isolats fongiques obtenus dans cette étude (Figure.18). Cette méthode consiste à prélever un disque de champignon pathogène de 0.5 cm de diamètre puis déposé à l'aide d'une pipette pasteur stérile sur une boîte de Pétri dans deux milieux de culture (PDA et Gélose nutritif). A 1.5 cm de l'extrémité de la boîte de Pétri nous avons ensemencé la bactérie antagoniste, âgée de 24 heures sous forme d'un trait. Chaque souche bactérienne est confrontée au champignon pathogène à raison de trois répétitions.

Le témoin consiste en une boîte contenant un disque mycélien du champignon pathogène de 0.5 cm de diamètre dans les deux milieux de culture. L'incubation des boîtes est faite à 25°C pendant 15 jours. Toutes les boîtes de Pétri ont été scellées avec du parafilm le long du bord pour éviter la contamination.

L'estimation de la croissance mycélienne a été réalisée à trois pas de temps à savoir 05, 10 et 15 jours après traitement. Pour une meilleure mesure des diamètres de croissance, toutes les boîtes ont été prises en photos numérisées, trois mesures ont été retenues pour chaque diamètre radial.

L'évolution du taux d'inhibition de la croissance mycélienne du champignon pathogène est estimée selon la formule suivante (Wang *et al.*, 2002).

$$(\%) \text{ Inhibition} = (R \text{ témoin} - R \text{ test}) / R \text{ témoin} \times 100$$

R témoin : distance radiale max de la croissance du champignon.

R test : distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste.

A partir de 20% on peut parler d'inhibition.



Figure.16 :Confrontation directe *in vitro* entre *B.subtilis*et la flore fongique isolée sur milieu PDA (A) traité (B) témoin. (Original 2015)

Après 15 jours de notre traitement avec la bactérie, un ré-isolement mycélien a été effectué et identifié sur la base des caractères morphologiques et culturaux.

1.4. Analyse statistique

Après calcul des moyennes des trois répétitions pour chaque interaction (concentration et agent fongique), des analyses statistiques ont été effectués en utilisant le SYSTAT vers. 7, SPSS 1997. Afin de tester les interactions entre les facteurs (temps et espèce), nous avons déterminé la variance à l'aide de GLM (General Linear Model). Les différences ont été considérées significatives à $P < 0.05$.

CHAPITRE III

RÉSULTATS

Chapitre III : RÉSULTATS

I. ENQUETE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

1. Diagnostic symptomatologique

1.1. État des vergers

Les observations générales effectuées dans les trois vergers arboricoles étudiés, ont montré une hétérogénéité notable dans la structure des parcelles et leur conduite. D'une manière générale, nous avons noté :

- Une hétérogénéité végétative remarquable au niveau des vergers, suite aux arrachages des arbres dépéris ce qui provoque un déséquilibre dans la production.
- La présence des plantes adventices dans les exploitations résultant d'un itinéraire technique défaillant cas: sol mal travaillé, mal entretenu (Figure.17).
- La présence de nombreuses et des grandes plaies de taille souvent non protégées suite aux pratiques des tailles anarchiques et sévères.
- Présence du bois de taille dans toutes les parcelles prospectées (Figure.18).
- un jaunissement prononcé des feuilles, synonyme d'une faible activité photosynthétique due à une mauvaise exposition au soleil. Il est utile de rappeler que de telles conditions favorisent l'installation et le développement d'une multitude d'agents pathogènes, notamment les agents fongiques (Figure.19).



Figure.17 : Présence d'adventice tout autour des arbres

A : Verger d'abricotier (Blida), **B** : Exploitation agricole Chréa (Blida). (Original 2015)



Figure.18 : Bois de taille. **A** : Verger d'abricotier (Blida), **B** : Localité de Benchicao (Médéa). (Original 2015)



Figure.19 : Jaunissement des feuilles (Verger d'abricotier, Blida) (Original 2015)

1.2. Symptomatologie

1.2.1. Sur la partie herbacée

Le descriptif symptomatologique, effectué durant les périodes printanières a montré l'existence des cas de dépérissements typiques, telle que la présence de dépérissement touchant un ou plusieurs bras sur les mêmes sujets.

Les symptômes des dépérissements ont été notés surtout dans les verges des localités de Benchicao (Médéa).

- Cas de mortalité totale de l'arbre : Dans la plupart des parcelles prospectées, un nombre très important d'arbre dépéris a été noté surtout dans les localités de Benchicao (Médéa)(Figure.20).
- Cas de mortalité partielle (bras mort): Pratiquement dans l'ensemble des sites arboricole, nous avons observé sur de nombreux arbres l'existence d'un seul bras mort, alors que le reste présente une végétation et un développement normal (Figure.21).
- Les situations de dépérissements ont provoqués la disparition de nombreux arbres et leur arrachage c'est imposé, laissant des manquants dans les vergers prospectés (Figure.22).
- Sécrétion abondante de gomme au niveau du tronc et des rameaux (gommoses) (Figure.23).
- Un dessèchement des fruits d'abricotier (Figure.24).
- Apparition des carpophores sur bois morts (Figure.25).

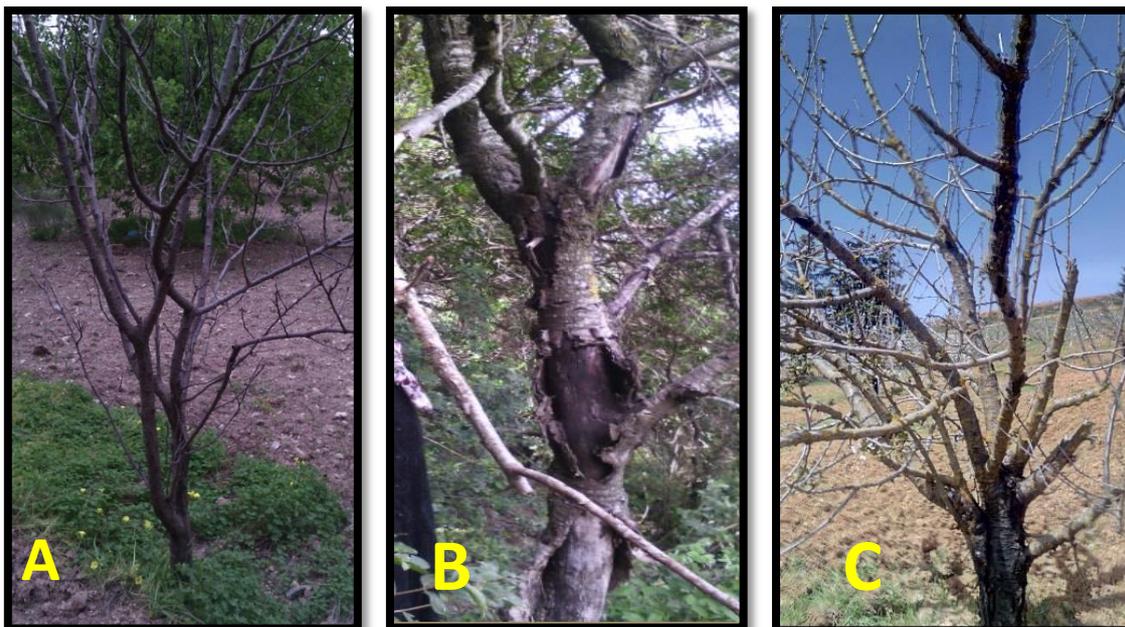


Figure.20 : Arbre totalement dépérié (morts) en plein champ

A : Verger d'abricotier (Blida), B : Exploitation agricole Chréa (Blida), C : Localité de Benchicao (Médéa).

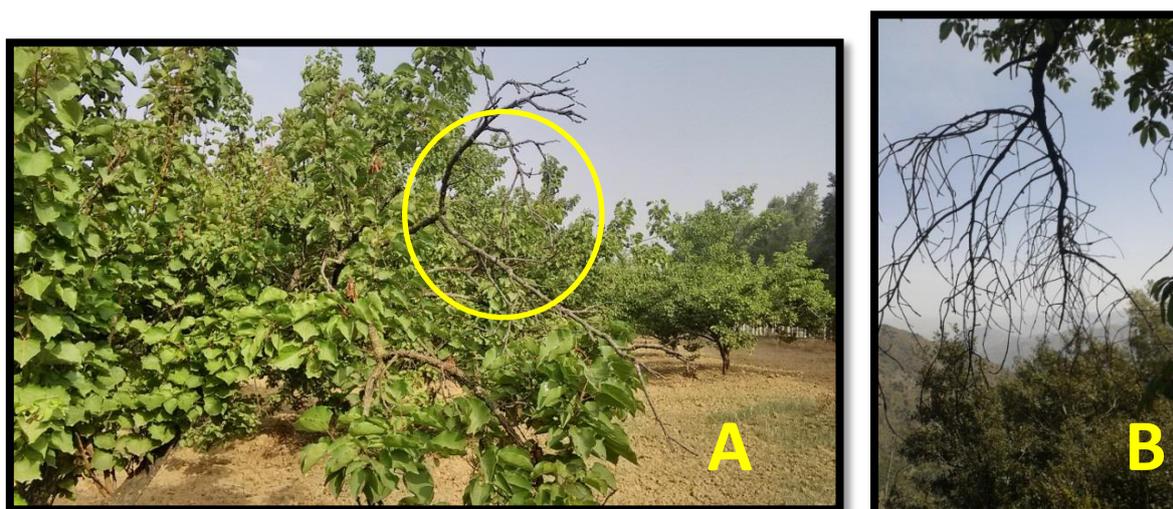


Figure.21 : Arbre partiellement dépérié (bras mort)

A : Verger d'abricotier (Blida), B : Exploitation agricole Chréa (Blida),(Original 2015)

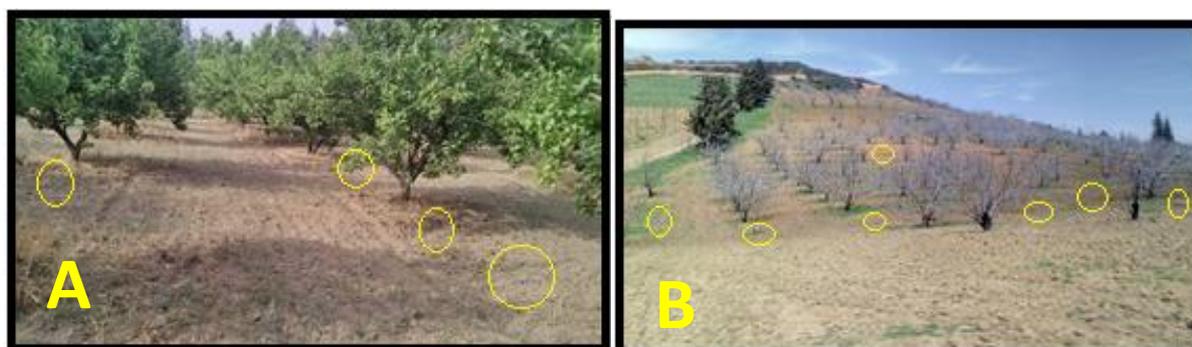


Figure.22 : Manque d'arbre dans les vergers

A : Verger d'abricotier (Blida), B : Localité de Benchicao (Médéa).(Original 2015)



Figure.23 : Sécrétion de gomme

A : Verger d'abricotier (Blida), **B** : Localité de Benchicao (Médéa). (Original 2015)

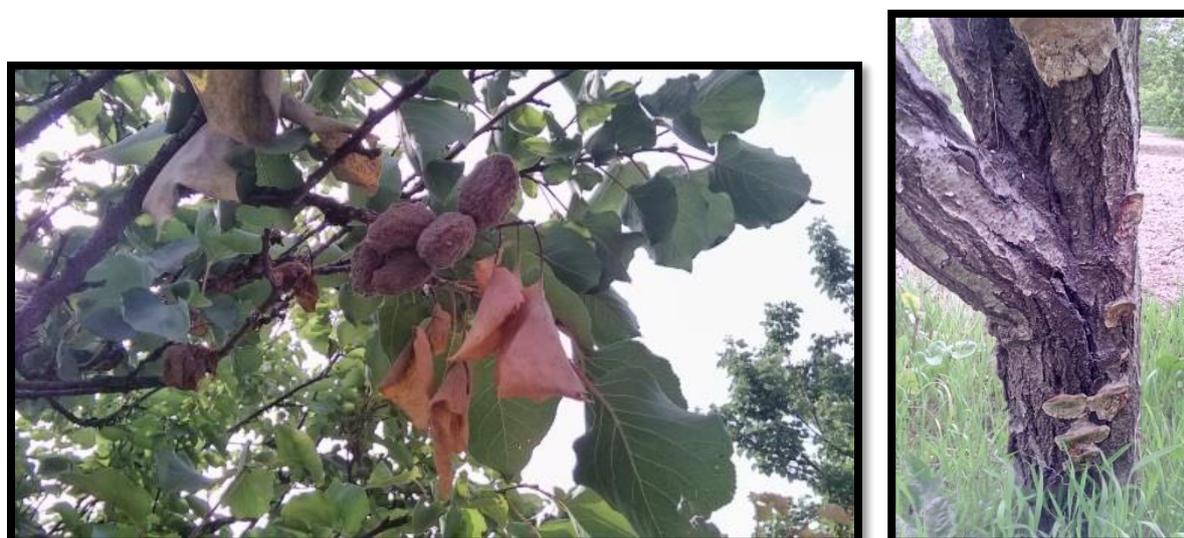


Figure.24 : Fruit d'abricotier momifié (Original 2015)

Figure.25:Carpophore sur tronc

(Original 2015)

➤ 1.2.2. Sur Bois

Les coupes transversales sur les arbres pour réaliser les isolements présentant des symptômes de dépérissement au niveau des parties herbacées, ont montré la présence de plusieurs types de nécroses au niveau du bois. Des nécroses principales dans les troncs et les bras qui se différencient selon leur : couleur : (blanche, grise et brune), leurs position : (centrale, sectorielle) ou une association et texture (molle, dure, ou une association).

- **Nécroses type 1** :Nécrose clair et molle en position centrale, est composée d'une zone dure entourée avec du bois sain (Figure.26).

- **Nécrose type 2** : Nécrose brune et molle en position centrale et sectorielle, est composée d'une zone dure entourée avec du bois sain (Figure.27).
- **Nécrose type 2** : Association des nécroses (complexe) brune, clair, molle et sectorielle en position centrale (Figure.28).



Figure.26 : Nécrose clair et molle en position centrale (Original 2015)



Figure.27 : Nécrose brune et dure en position centrale (Original 2015)



Figure.28 : Coupe transversale : Association des nécroses(Original 2015)

2. Répartition spatiale des cas de dépérissement

Les arbres atteints de dépérissement, les différents types confondus se répartissent d'une manière différentes d'un verger à l'autre, les symptômes décrites précédemment sont présent dans les trois vergers avec des degrés différents (Figure.29, 30,31).

Le verger n°1 et le verger n°2 (abricotier de Blida, cerisier de Médéa) sont considérés comme les plus affectés.

Pour le verger n°1 (abricotier de Blida) nous avons noté un taux d'incidence, cumulé entre les cinq catégories qu'est de 130 arbres atteints sur un nombre total de 150 arbres. Le taux total d'incidence dans ce verger est de l'ordre de 61% (Figure.31). La concentration de la maladie est centralisée au milieu du verger.

Dans le cas du verger n°2 (cerisier de Médéa) nous avons noté un nombre de 112 d'arbres malade soit un taux d'incidence de 53.66% (Figure.32) sur un total de 150 arbres. La maladie se répartie d'une manière aléatoire sur tout le verger.

En ce qui concerne le verger n°3 (cerisier de Chréa) nous avons dénombré 100 arbres malades, le taux d'incidence est de l'ordre de 36.5% (Figure.33) sur un total de 150 arbres. L'infestation se localise sous forme éparpillées sur toute la parcelle.

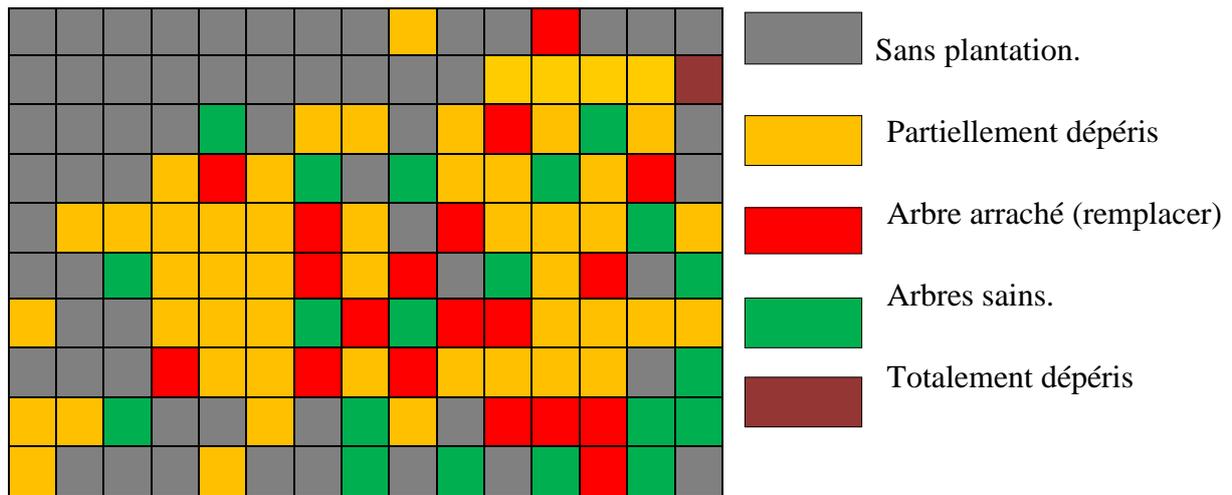


Figure.29 : Répartition géographique des différents cas symptomatique dans le verger 1 (abricotier de Blida)

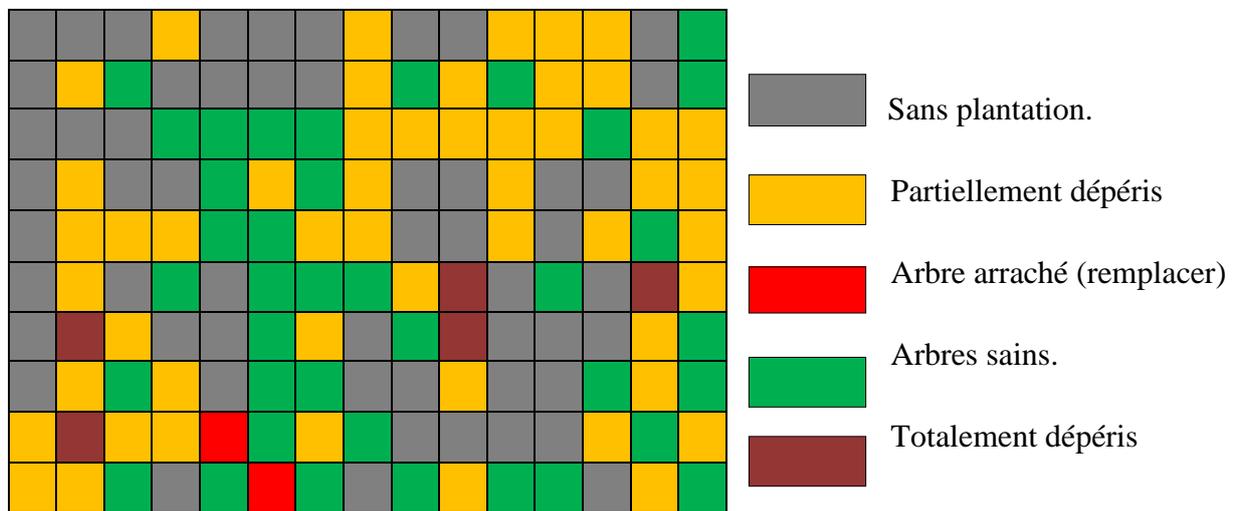


Figure.30 : Répartition géographique des différents cas symptomatique dans le verger 2 (cerisier de Médéa)

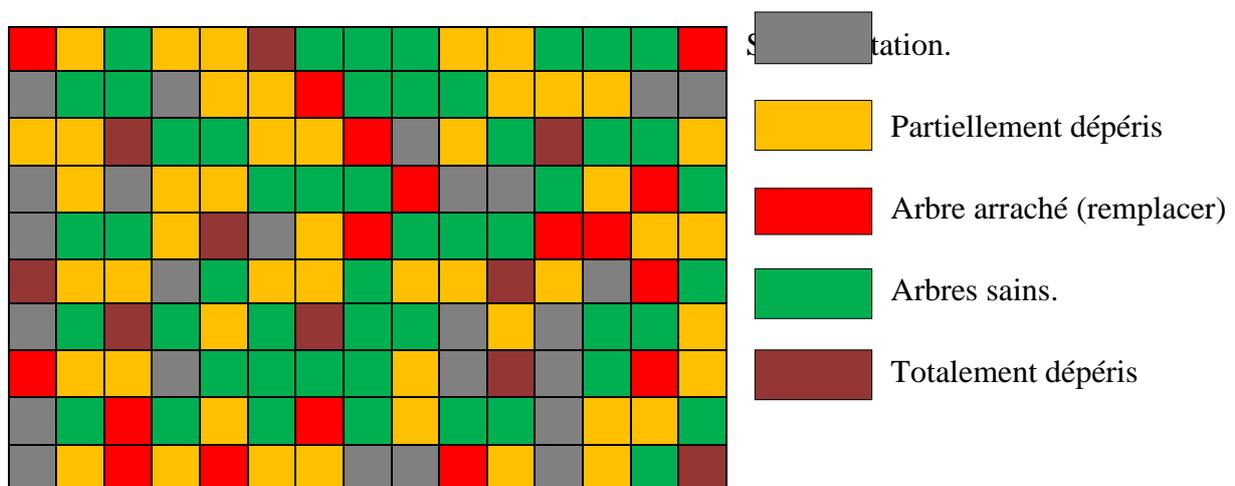


Figure.31 : Répartition géographique des différents cas symptomatique dans le verger 3 (cerisier de Chréa)

3. Dépérissements au niveau des verges

3.1. Estimation des paramètres épidémiologiques

Dans les trois (03) vergers étudiés, nous avons noté des taux variables des dépérissements selon les catégories des symptômes ciblés. Ces derniers sont classés par ordre d'importance et de gravité. Pour mieux comprendre l'évolution du dépérissement nous avons estimé l'incidence et l'indice de sévérité des maladies sur les différents vergers et sur la campagne agricoles consécutives 2015 nous constatons :

Nous avons enregistré un indice de gravité entre 1.84 et 2.44 et une incidence de 36.5% et 61% dans les trois vergers (Chrèa, Médéa et Blida). Ces valeurs ont montré un état sanitaire grave et une diffusion rapide de la maladie dans ces parcelles (Tableau.6).

Tableau.6 :Gravité et Taux d'incidence dans le verger de la région de Médéa, Blida et Chrèa

Vergers	Variétés	Années	Gravité (classe moyenne)	Taux d'incidence (%)
Médéa	Cerisier	2015	2.14	53.66
Chrèa	Cerisier	2015	1.84	36.5
Blida	Abricotier	2015	2.44	61

3.2. Variabilité épidémiologiques dans les différentes régions

➤ **Indice de sévérité**

L'évolution des paramètres épidémiologiques (Taux d'incidence, indice de sévérité) dans les trois régions, durant l'année d'étude (2015), a été comparée par l'analyse des composantes principales (ACP) (Figure.32) associée au classement des groupes à travers une classification hiérarchique (CHA) (Figure.33). Les projections des valeurs de la sévérité et l'incidence sur les deux axes montrent des contributions de 100 % de la variance totale. Les fortes valeurs de projection sont enregistrées sur le premier axe (99.99 %), ce qui révèle une nette différence entre les trois sites d'études. Les deux vergers (Médéa et Blida) se distinguent de localités de Chréa.

L'analyse a permis d'évaluer les éventuelles corrélations entre la gravité de la maladie et le facteur régions (conditions climatiques). A partir du niveau de similarité de (-10), la classification hiérarchique fait ressortir deux groupes:

- le groupe 1 désigne une corrélation entre le verger de cerisier de Chréa avec les deux facteurs (incidence et indice de gravité durant l'année 2015).
- Le groupe 2 révèle une corrélation entre le verger d'abricotier de la localité de Blida et le verger de cerisier de Médéa

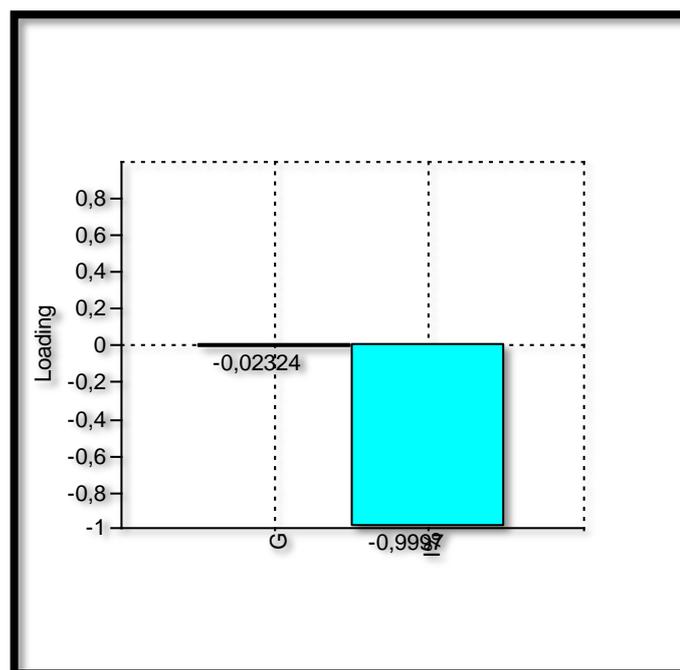
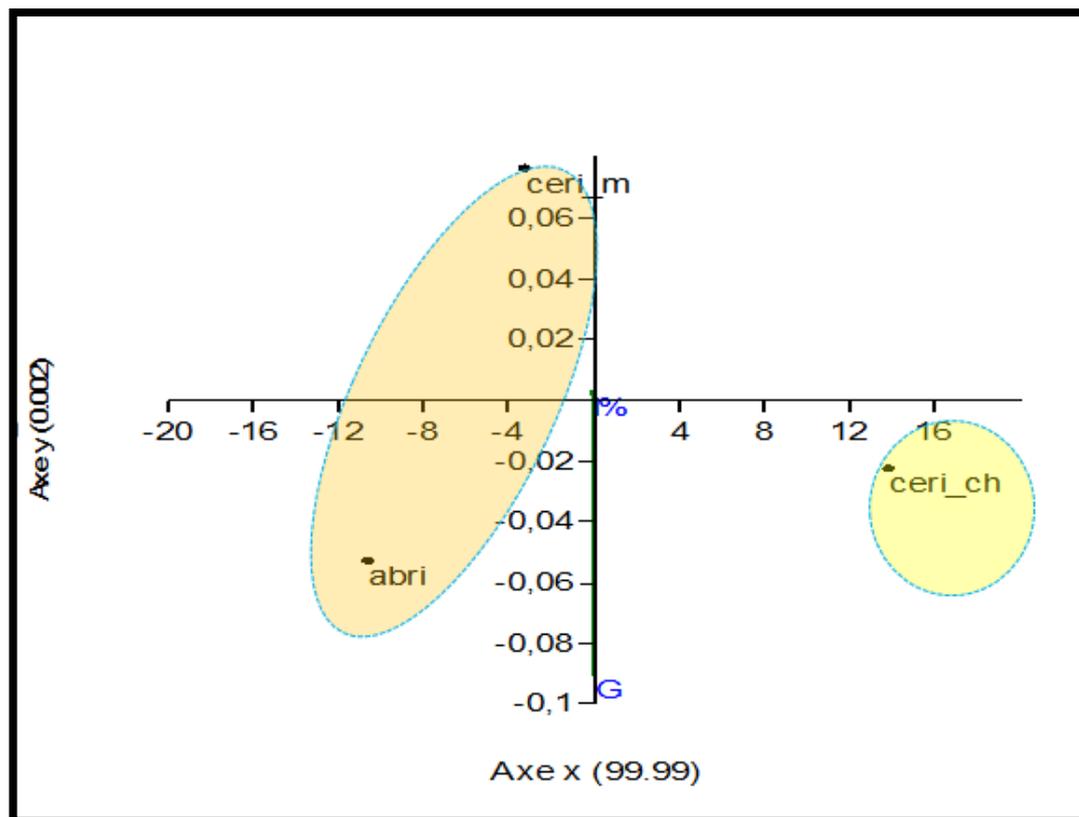


Figure.32 : Analyse de la composante principale de l'indice de gravité et le taux d'incidence dans les régions étudiées

ceri_m; : cerisier Médéa,; **abri**; : abricotier Blida,; **ceri_ch** : cerisier Chréa ;% : Taux d'incidence ; **G** : Indice de gravité

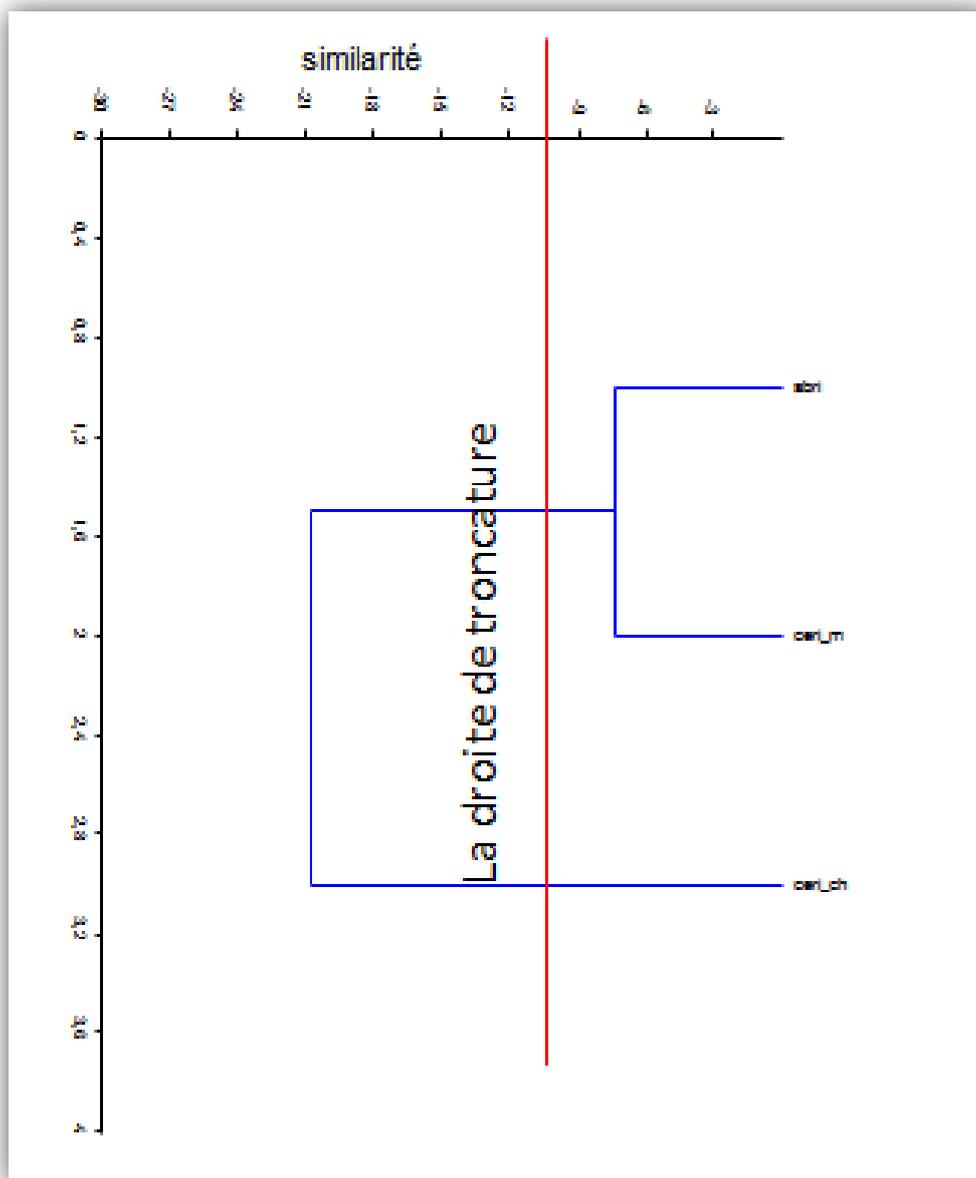


Figure.33: Classification hiérarchique de différentes régions étudiées.

II. ENQUETE ETIOLOGIQUES

1. Caractérisation et identification des agents fongiques

1.1. Aspect quantitatif et qualitatif des isolements fongiques

La plupart de la flore fongique isolée est associée avec la symptomatologie des dépérissements enregistrés durant notre étude épidémiologique. Les principaux genres fongiques isolés sont : *Eutypa*, *Cytosporina* et *Botryosphaeria*. Globalement, nous avons noté la prédominance des *Botryosphaeriaceae*,



Figure.34 : colonie après 6 jours d'incubation (Original 2015)

Nous avons isolé le maximum d'espèces de *Botryosphaeria* sp., d'*Eutypa* et de *Cytosporina* sp à partir des arbres montrant un dépérissement.

La comparaison de la flore fongique obtenues dans les isolements réalisés dans cette étude entre les différents types de nécroses collectés pendant nos prospections effectuées durant notre année d'étude (2014/2015) nous permet de relever :

- *Eutypa* sp et *Cytosporina* sp ont été surtout retrouvés dans les échantillons montrant une nécrose dure, couleur brune et de position centrale et sectorielle
- Les trois espèces appartenant au genre *Botryosphaeria* ont été isolées avec une forte fréquence à partir du bois montrant une association de nécroses que ce soit forme (centrale et sectorielle), couleur (clair et foncé) et texture (dure et molle).

1.2. Caractérisation morphologiques et micromorphologiques

1.2.1. *Eutypasp*

Sur le milieu PDA les isolats *d'Eutypasp* ont montré une croissance régulière, les colonies de couleur blanche avec un aspect cotonneux. Le mycélium est intense aérien et développe des hyphes en forme de cordons. Après deux semaines de culture, la densité mycélienne atteint son maximum (Figure.35), une accumulation d'une coloration marron foncé au fond de la boîte qui devient de plus en plus sombre et noirâtre, déterminant la mélanisation. Cette dernière a été notée après un mois de culture (Figure.36). Dans les conditions de nos cultures nous n'avons pas relevé la présence des fructifications asexuées (les pycnides), ce résultat a été obtenu même la mise de ces cultures sous des conditions de stress (UV et température)

Les observations microscopiques ont montré que ce champignon présente un mycélium jeune est hyalin, cloisonné et ramifié, porte des bourgeons qui se développent rapidement pour donner un nouveau mycélium (Figure.37). La caractérisation micro morphologique reste un élément incomplet pour établir une description à des fins déterminatives et de classification.



Figure.35 : colonie *d'Eutypasp* sur milieu PDA
Agée de deux semaines (Original 2015)



Figure.36 : culture *d'Eutypasp* sur PDA
Agée d'un mois (Original 2015)

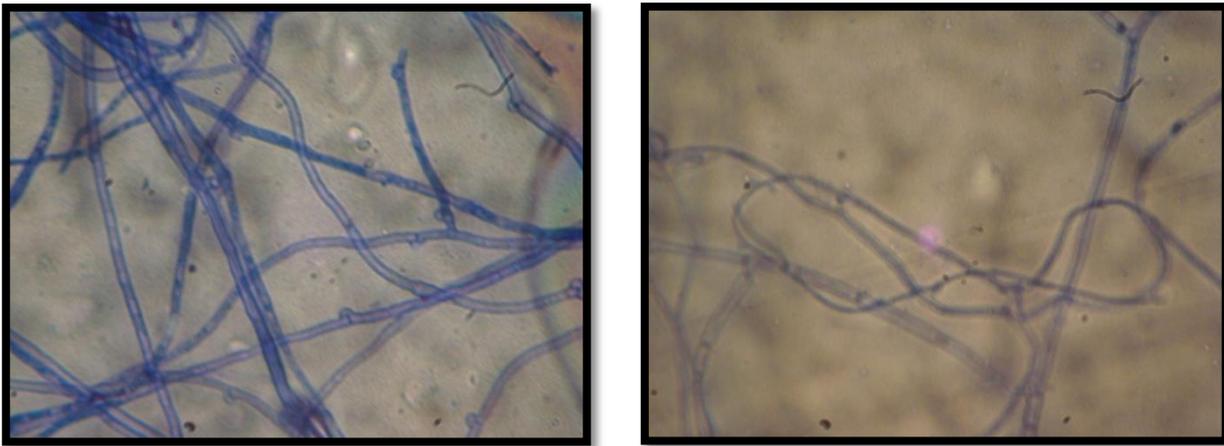


Figure.37: mycélium âgée de deux semaine (G : 40x10) (A), mycéliums âgée d'un mois (G : 40x10) (B) d'*Eutypasp*(Original 2015)

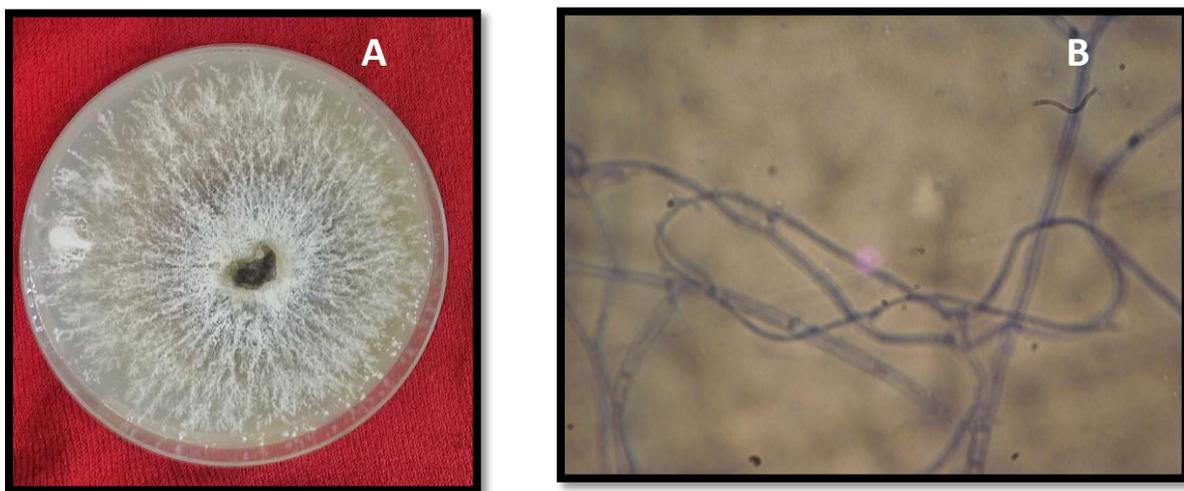


Figure.38 : Aspects macroscopique sur milieu PDA (A), microscopique (B) (G : 40x10) de *Cytosporinasp*(Original 2015)



Figure.39 : Aspects macroscopique sur milieu PDA d'Eutypasp sur abricotier(Original 2015)

1.2.2. *Botryosphaeriasp*

Sur le milieu PDA, le champignon présente des colonies régulières d'un aspect cotonneux. Le mycélium est blanc au départ, quelques isolats ont viré vers le gris clair(Figure.40.A) pour devenir gris très foncé à noirâtres vers un vert olive (Figure.40.B). Le mycélium est aérien avec présence de cordons (Figure.41.A). Il devient très dense avec le temps et présente une croissance rapide (Figure.41.B).Avec l'utilisation du colorant (bleu éthyle) l'observation microscopique montre que le mycélium jeune est hyalin, cloisonné, coloré d'un brun très foncé à noir (Figure.42).

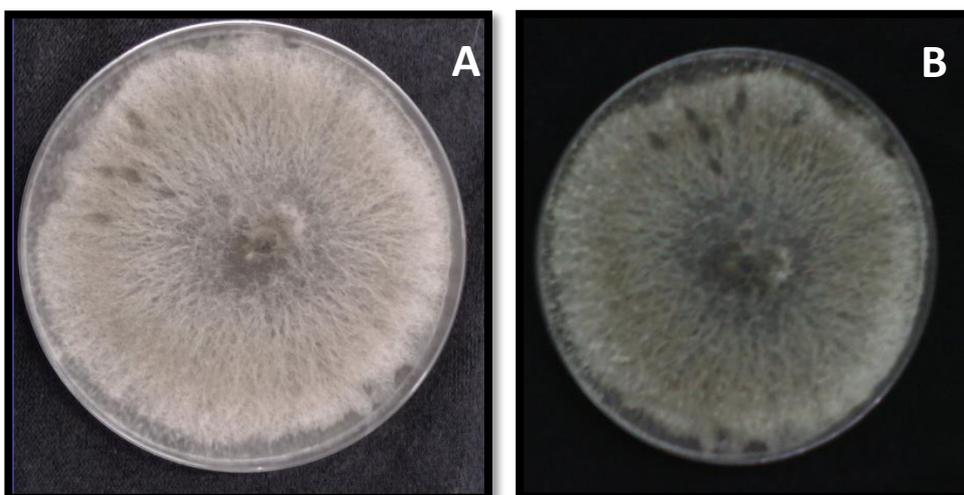


Figure.40 : Colonie de *Botryosphaeriasp* sur milieu PDA (A) : gris clair, (B) : vert olive(Original 2015)

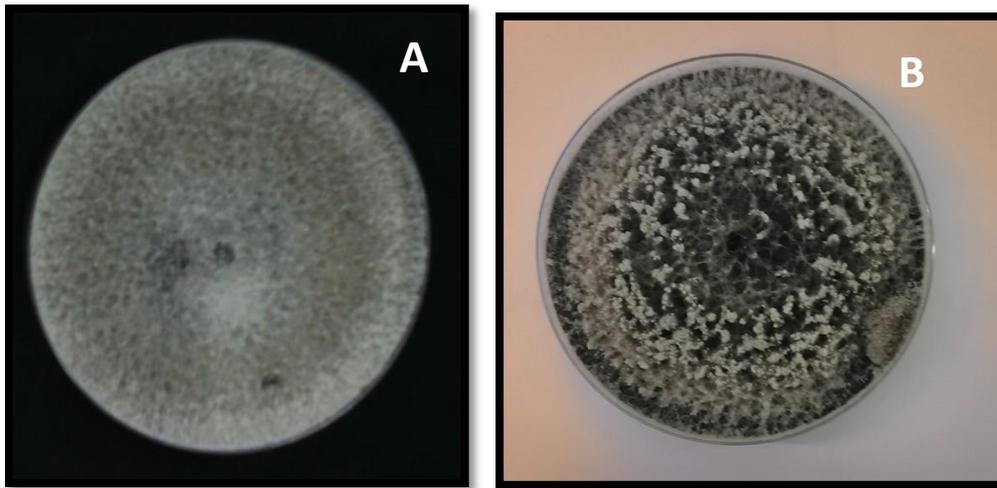


Figure.41 : Colonie de *Botryosphaeria* sp sur milieu PDA âgée d'un mois (A), âgée d'un mois et demi (B)(Original 2015)

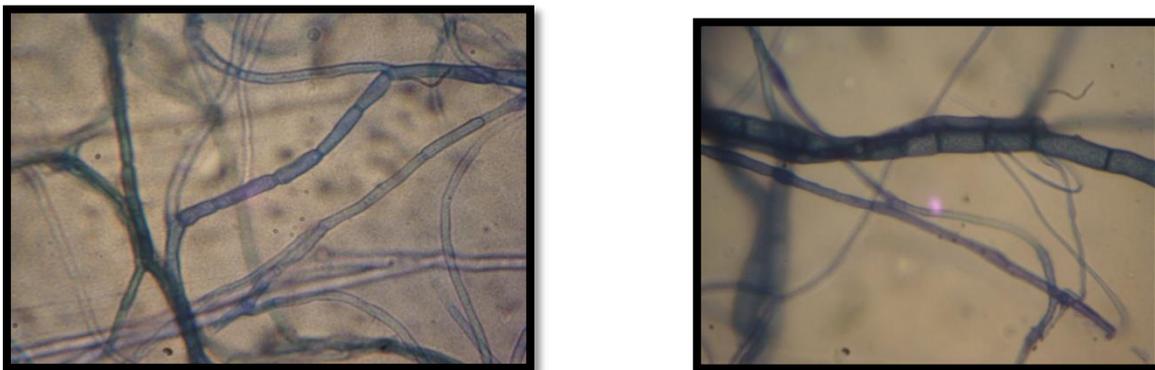


Figure.42 : Mycélium de *Botryosphaeria* sp(G : 40x10)(Original 2015)

1.3. Fructifications sexuées et asexuées

De nombreuses structures de fructifications ont été trouvées sur la surface des branches mortes et les débris du bois collectés. En particulier, nous avons constaté l'abondance de pycnides matures produisant des conidies typiques des genres : *Botryosphaeria*

Les fragments du bois nécrosés collectés ont montrés plusieurs types de fructifications : Nombreuses ponctuations noirâtres, de forme globuleuse et allongé, il sont dispersées sur une seule couche en dessous de l'écorce et parfois groupées (Figures.43).

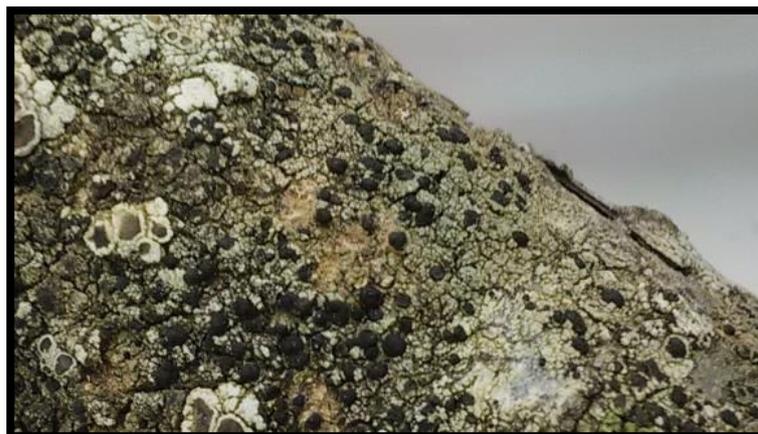


Figure.43 : Fructifications (pycnides) de *Botryosphaeria* sur bois (Original 2015)

Les observations microscopiques des fructifications nous ont permis de distinguer des caractères microscopiques du genre *Botryosphaeria* : Des pycnides (formes asexuées) après leur écrasement ont montré la présence de deux types d'ascospores (Figures.44)

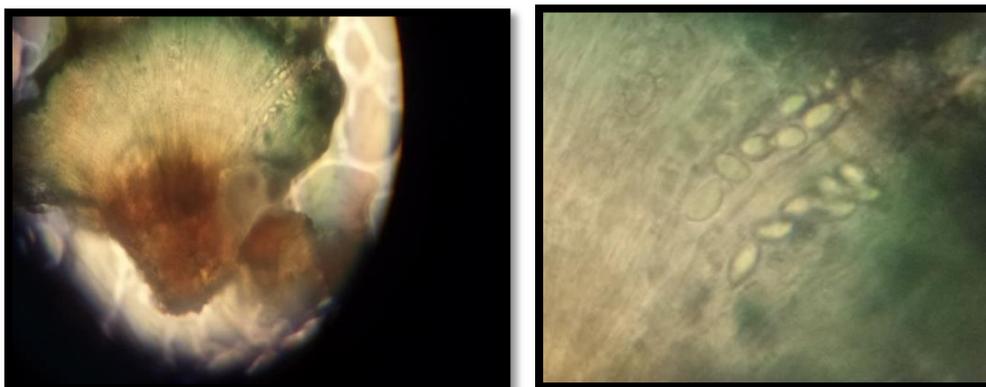


Figure.44: Asques de *Botryosphaeria* (G : 40 × 10) (Original 2015)

Il est utile de rappeler que les fructifications asexuées n'ont pas été observées sur le milieu de culture (PDA) après un mois de conservation. Aucune fructification n'a été observée même après la mise de ces cultures sous stress (UV et température). (Figure 45)

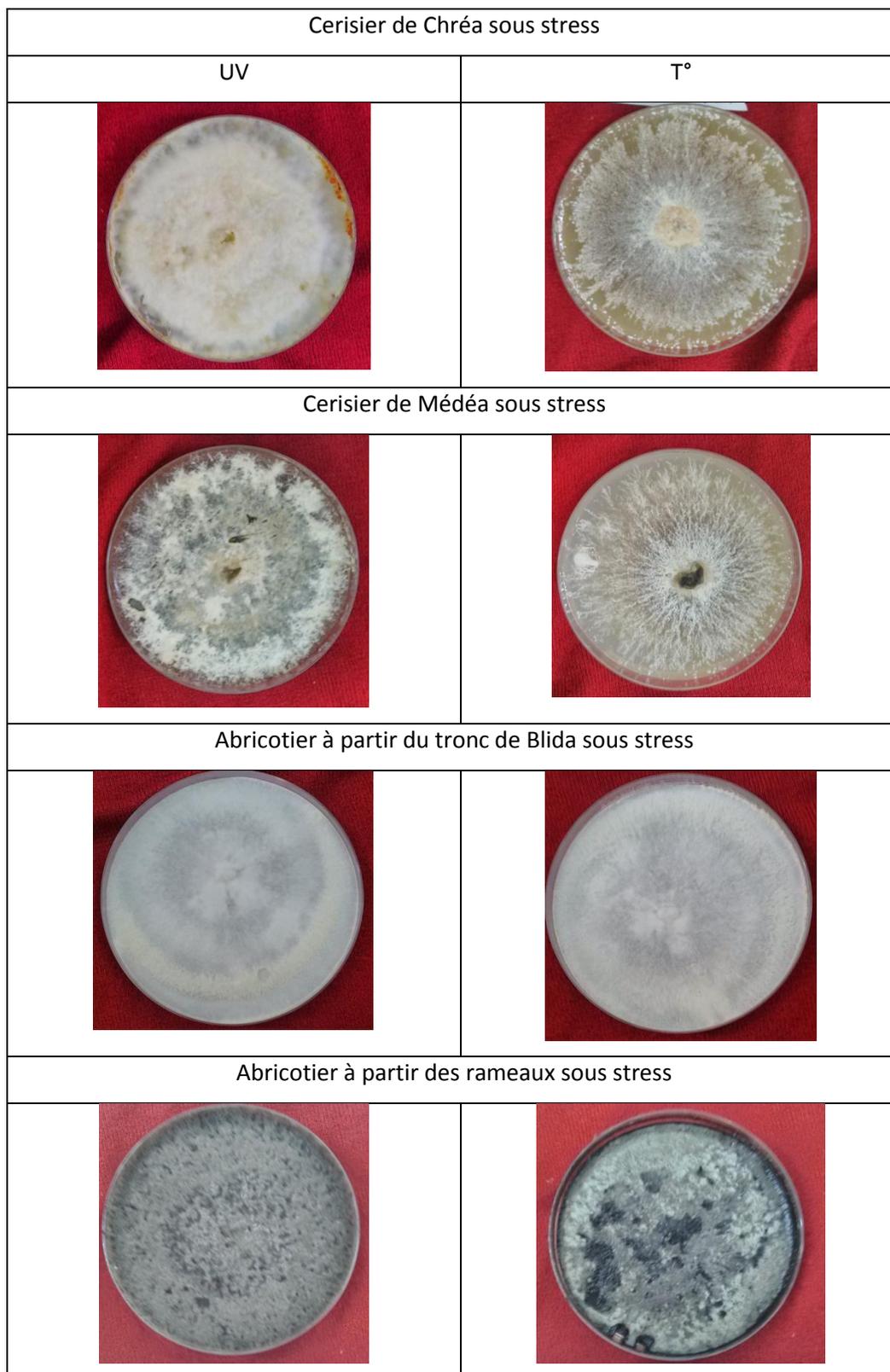


Figure.45 : colonie fongiques sous stress UV et Température(Original 2015)

CHAPITRE IV

DISCUSSION GÉNÉRALE

III. RESULTATS ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE

1. Évaluation de l'activité fongicide de *Bacillus subtilis*

L'essai de lutte biologique contre les champignons phytopathogène, a été évaluée sous l'effet d'un biopesticide microbien dit *B subtilis* sur deux milieux de culture (PDA et GN)

L'étude du pouvoir antifongique de *Bacillus subtilis* origine de Saidal (Blida) a été évaluée *in vitro* sur huit isolats fongiques en utilisant la méthode de confrontation directe en boîte de Petri. D'après nos résultats sur milieu PDA (Tableau.7), *Bacillus subtilis* a montré une activité antifongique sur tous les isolats testés pendant toute la période de traitement (Figure.46). Par contre nous avons noté une inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat AS (Abricotier de Blida a partir du tronc) pendant 5 jours seulement, une reprise de croissance a été noté après cette durée (Fig.46.A).

Tableau.7 : Résultats des tests du pouvoir antifongique de *Bacillus subtilis* vis à vis des souches fongiques après 05,10 et 15 jours de traitement dans le milieu PDA

Isolats	AB1	AB2	AB3	AS	CC1	CC2	CM1	CM2		
Temps	05j	D (mm)	3.8	3.8	4.2	4	2.03	1.8	1.8	2
		T (mm)	8.3	8.3	8.03	6.9	2.3	2.7	2.3	2.4
		PI%	54	54	47.7	41.9	11.3	33.72	20.3	17.11
	10j	D (mm)	4.3	4.2	4.6	8.5	3.5	3.5	2.8	3.6
		T (mm)	8.5	8.5	8.5	8.5	5.8	6.1	6.3	4.8
		PI%	49.36	50.13	45.8	0	38.46	42.49	54.38	25.03
	15j	D (mm)	4.3	4.4	4.6	8.5	4.4	4.1	2.9	4.1
		T (mm)	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	7.6
		PI%	48.96	47.4	45.43	0	47.4	51.37	65.48	45.26

(*Botryosphaeria*sp): Abricotier de Blida a partir des rameaux (AB), (*Eutypa*): Abricotier de Blida a partir du tronc) (AS), Cerisier de Chréa (CC), Cerisier de Médéa (CM).

D: Diamètre de croissance, PI: Pourcentage d'inhibition, T: Témoin

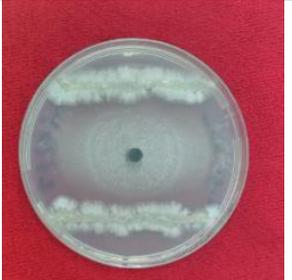
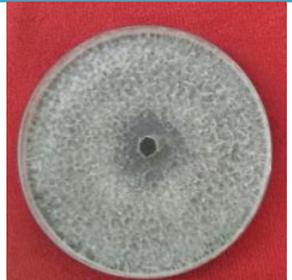
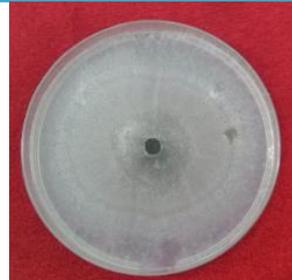
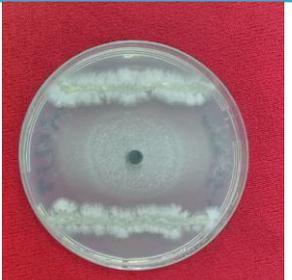
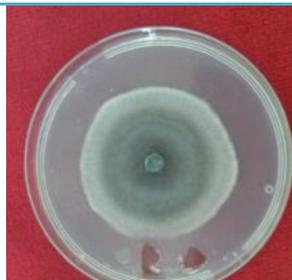
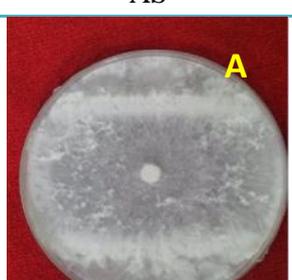
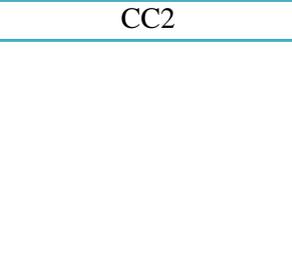
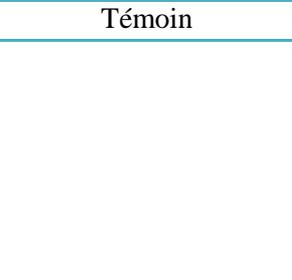
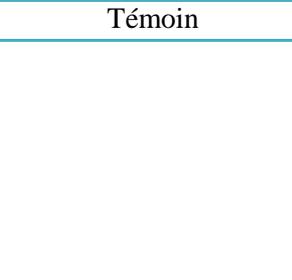
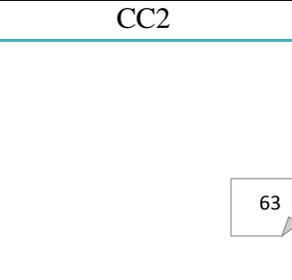
La bactérie *Bacillus subtilis* testée présente des effets antifongiques très élevés sur les deux milieux PDA et GN, pour *Botryosphaeria* nous avons enregistré un taux d'inhibition qui varie entre 45 et 54% au début de traitement, ce dernier a régressé légèrement au bout de 15 jours après traitement. En ce qui concerne le genre *Eutypa* nous avons relevé un taux d'inhibition qui varie entre 11% et 65%. La comparaison de l'effet antifongique par rapport au témoin montre une nette sensibilité de ces champignons vis-à-vis *Bacillus subtilis*.

Les résultats du tableau 8 ; montrent que un taux d'inhibition sur milieu GN varient de (PI=41.94 à 63.31%) pour les *Botryosphaeria*. et de (PI=21.48 à 70.47%) pour le genre *Eutypa* (Figure.46).

Tableau.8 : Résultats des tests du pouvoir antifongique de *Bacillus subtilis* vis à vis des souches fongiques après 5,10 et 15 jours de traitement sur le milieu GN

Isolats	AB1	AB2	AB3	AS	CC1	CC2	CM1	CM2
05j								
D (mm)	1.8	3.2	2	1.7	0.9	2.5	1.7	0.6
T (mm)	3.2	4.03	3.8	5.1	1.5	3.3	3.6	1.3
PI%	44.41	18.63	48.09	67.04	33.09	21.48	50.47	53.36
10j								
D (mm)	1.9	3.5	2.2	2.3	1.4	3.4	2.06	1.1
T (mm)	4.6	6.5	5.3	8.4	1.9	8.03	7.4	3.9
PI%	59.16	41.94	58.54	72.45	25.19	57.59	70.47	61.6
15j								
D (mm)	1.9	3.5	2.3	2.5	1.6	3.7	2.7	2.1
T (mm)	5.2	7.1	5.4	8.5	2.1	8.5	8.5	4.8
PI%	63.31	46.22	57.56	69.8	22.63	55.68	68.23	45.09

(*Botryosphaeria* sp): Abricotier de Blida a partir des rameaux (AB), (*Eutypa*): Abricotier de Blida a partir du tronc (AS), Cerisier de Chréa (CC), Cerisier de Médéa (CM).
D: Diamètre de croissance, **PI**: Pourcentage d'inhibition, **T**: Témoin

MILIEU PDA		MILIEU GN	
AB1	Témoin	Témoin	AB1
			
AB2	Témoin	Témoin	AB2
			
AB3	Témoin	Témoin	AB3
			
AS	Témoin	Témoin	AS
			
CC1	Témoin	Témoin	CC1
			
CC2	Témoin	Témoin	CC2
			

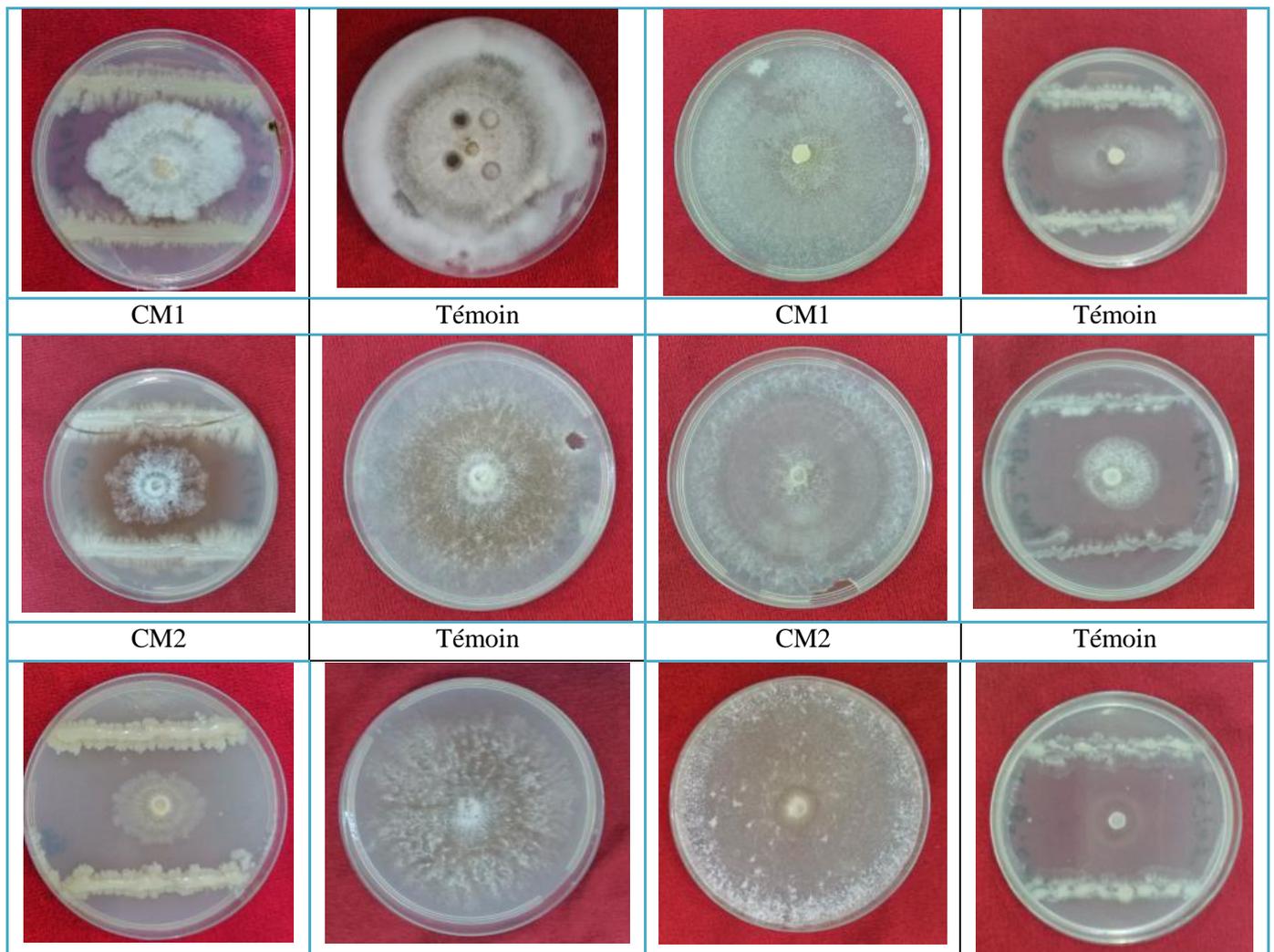


Figure.46 : Activité antifongique de *Bacillus subtilis* vis-à-vis les isolats fongiques après 15 jours de traitement (Original 2015)

2. Analyse comparative de l'activité antifongique de *Bacillus subtilis*

Le modèle général linéaire (G.L.M) a été utilisé afin de déterminer et d'étudier la variation temporelle du taux de la croissance mycélienne des différents isolats phytopathogènes de 05, 10 et 15 jours et en fonction de deux milieux de culture (Tableau.9) et Figure.47).

Le tableau ci-dessous dénote que Par ailleurs, les facteurs isolat fongique et milieu révèlent la présence d'une différence très hautement significative respectivement ($p=0,000$; $p=0,002$; $p< 1\%$ et $p=0,000$; $p<0.1\%$).sur la variabilité des taux de la croissance mycélienne des champignons étudiés.

Par ailleurs, le facteur période d'exposition révèle la présence d'une différence hautement significative respectivement ($p=0,015$; $p<1\%$).sur la variabilité des taux de la croissance mycélienne des champignons étudiés.

Tableau.9 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet des traitements sur la croissance mycélienne

Source	Somme des carrés	DDL	Moyenne des écarts	F-ratio	P
TEMPS	2896.292	2	1448.146	4.363	0,015**
ISOLATS	8259.194	7	1179.885	3.555	0,002***
MILIEU	4738.028	1	4738.028	14.276	0,000***
ERR	44142.236	133	331.897		

N.S.: non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

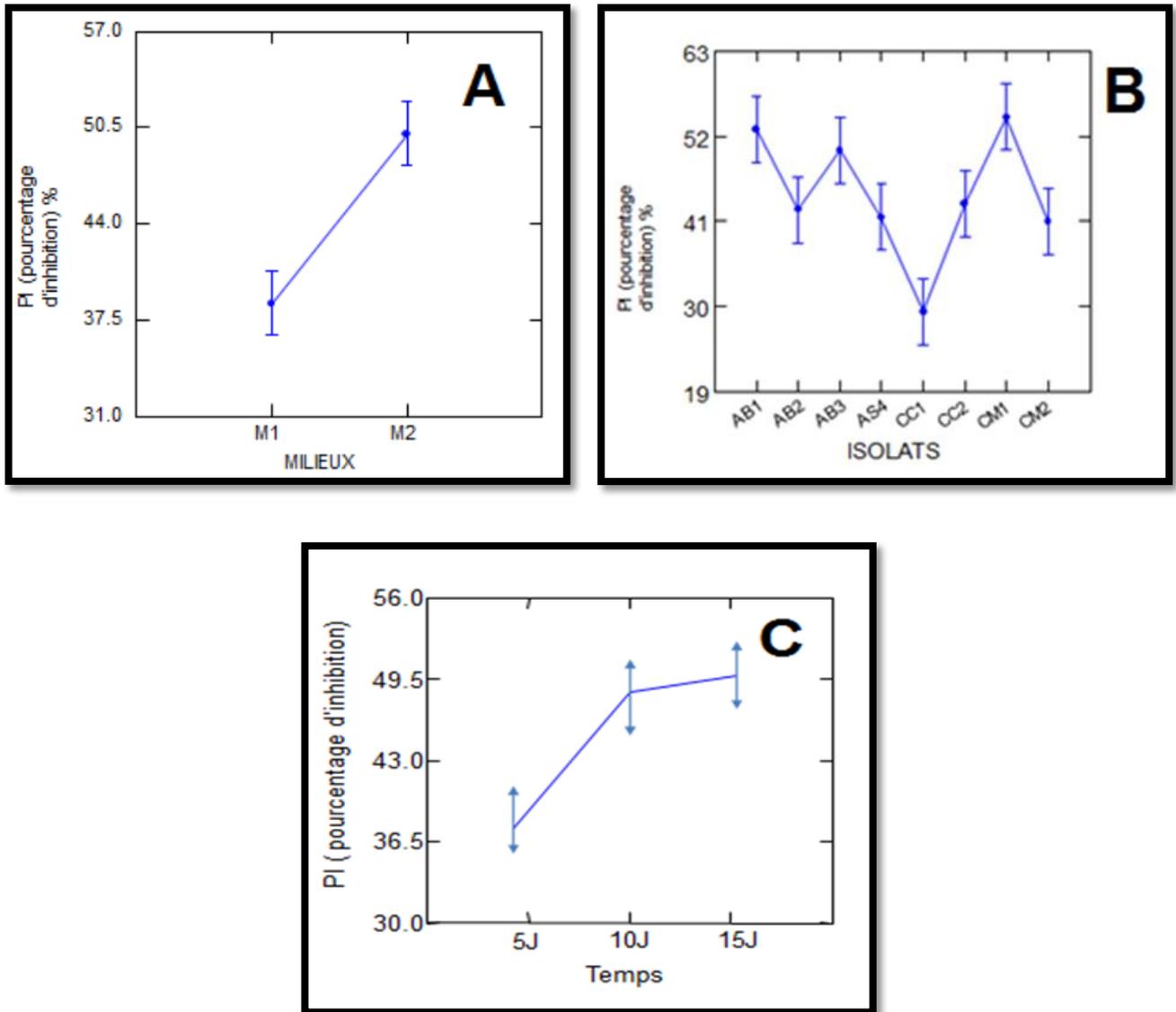


Figure.47 :Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats fongique sous l'effet de *Bacillus subtilis*

(**A** : Milieu, **B** : isolats fongiques, **C** : périodes après traitement,
AB 1/2/3: *Botryosphaeria* sp., **AS/CC1/CC2 /CM2**: *Eutypa* sp., **CM2**: *cystospora*)
(M1 : PDA, M2 : GN)

L'étude de l'action antifongique de *Bacillus subtilis* sur les différents isolats fongiques des deux milieux (PDA, GN) montre qu'*Eutypasp* présente un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne qui varie entre (PI=30% à PI<41%) après 15 jours de traitement. En revanche, *Botryosphaeriasp* a exposé des pourcentages d'inhibition de croissance mycélienne de (PI=52% ainsi que *cystosporna* a montré des pourcentages d'inhibition de croissance mycélienne de (PI=52%) (Figure. 47B).

L'évolution temporelle de l'inhibition de la croissance mycélienne des différentes isolats fongiques montre un effet apparent de l'activité antifongique, il est à noter que cette activité antifongique se révèle dès le 5^{ème} jour, elle s'accroît fortement jusqu'au 15^{ème} jour de traitement pour atteindre (PI= 49.5%) (Figure. 47C).

Chapitre IV : DISCUSSION GÉNÉRALE

Le premier objectif qui a été mené dans ce travail, a concerné l'étude épidémiologique des dépérissements de (03) vergers arboricoles, situés dans deux régions connues par la vocation arboricole : depuis l'époque coloniale (Médéa et Blida).

Les résultats des diagnostics symptomatologiques ont révélé la présence de diverses catégories de symptômes dans la quasi-totalité des vergers prospectés; il s'agit principalement de la mortalité, que ce soit totale ou partielle. Les symptômes de bras morts ont été constatés surtout dans les localités de Médéa. Cet état de fait nous amène à suggérer l'hypothèse relative à la présence de l'eutypiose comme cause principale. Des enquêtes réalisées dans des régions viticoles européennes ont montré que la présence des symptômes de l'eutypiose tels que les bras morts, ne se montrent pas de façon stable et régulière mais ils varient selon les arbres de chaque région (Mimiague et Le Gall, 1994). Cette infection provoque la perte des parties fructifères des arbres (Fallot et *al.*, 1991 ; Péros,1999).

En effet les analyses statistiques ont montré que le climat a un effet significatif sur la variation des paramètres épidémiologiques, (taux d'incidence et l'indice de gravité). L'analyse de la composante principale (ACP) a montré une nette différence entre les indices épidémiologiques enregistrés pendant notre année d'étude (2015).

En analysant le développement des différentes catégories symptomatologiques sur les variétés étudiées, il apparaît que la répartition reste aléatoire et non spécifique au génotype végétal. Le cerisier de la région de Médéa et l'abricotier de la région de Blida ont montré plus les symptômes typiques (bras mort et de mortalité). Le cerisier de Chréa semble moyennement touché par le dépérissement. D'après Dubos (2002), indique qu'un cépage tolérant est un cépage qui exprime une tolérance dans certaines conditions, mais il peut montrer un niveau très élevé de maladie à la suite de stress répétés ou de conditions particulières.

La sensibilité des végétaux suggère l'existence d'interactions complexes entre le plant, la localité, les conditions de culture et la pression de l'inoculum. En 1999, Dubos confirme qu'une plus grande sensibilité pouvant s'expliquer par des différences en ce qui concerne la réceptivité

des plaies de taille, la texture du bois, les composés de défense et la sensibilité aux toxines secrétés par les agents causaux de dépérissement.

Les vergers prospectés se situent dans des régions agricoles qui se trouvent dans deux étages bioclimatiques ; subhumide et subaride (Climagramme, Annexe A) ; elles sont caractérisées par des différences météorologiques. En général, on constate pour cette dernière décennie des changements climatiques apparents avec décalage des saisons (hiver et printemps tardifs), des pluies orageuses fréquentes et des températures moyennes non stables, or, pour la région de Médéa et d'après le diagramme ombrothermique (Annexe A), le mois de mai des différentes années d'étude était sec avec des températures clémentes. Par contre la période printanière a été caractérisée par des températures moyennes mensuelles et des précipitations qui excèdent 300mm ; ou les conditions de développement des agents pathogènes sont très favorables. D'après Goullet (2008), la pluie semble être un facteur important pour l'infection, et favorise la migration des spores en profondeur, jusqu'à 2 cm à l'intérieur du bois, à partir de la plaie de taille.

D'après Paillassa et *al.*, (1992), a montré l'importance d'un autre phénomène météorologique, la chute de neige accentue l'évolution de l'eutypiose et le BDA. Dans les régions viticoles européennes ; il a été mentionné que la neige crée des conditions d'humectation des bois porteurs de formes sexuées (périthèces) susceptibles de libérer des ascospores. Cette émission est particulièrement importante en intensité (4 à 10 fois plus supérieur à une émission normale) et en durée (1 à 3 jours de plus). Dans nos régions d'étude nous n'avons pas enregistré la chute de neige, par contre la situation agro météorologique des mois Mars et avril des années (2015) de la région Médéa ont été caractérisée par des chutes importantes et même des grêles. Ces données ont provoqué des incidences positives sur l'évolution des maladies.

Les conditions climatiques influencent certainement l'expression des symptômes des dépérissements. Des enquêtes réalisées en France et dans d'autres pays Européens montrent que les taux d'infection et les incidences varient beaucoup d'une parcelle à une autre à l'intérieur d'une même zone agro climatique (Mimiag et LE Gall, 1994).

La symptomatologie relevée dans nos vergers est associée à différents types de nécrose dans le bois. Les plus essentiellement ont été retrouvées dans les arbres infectés présentant des :

positions sectorielle ou/et centrale, textures : molle ou/et dure et couleurs brune et blanche correspondent à celles décrites par Dubos (2002) et Galet (1991).

Les espèces des Botryosphaeriaceae sont les espèces les plus souvent identifiées dans la présente étude. Dans de nombreux travaux, ces espèces ont été retrouvées dans les bois dépéris atteints de nécroses en forme centrale ou en forme de V. Ces espèces fongiques ont été reconnues comme agents de dépérissement de la vigne et plusieurs essences arboricoles en Yougoslavie (Radman et Nadazdin, 1981) en Italie (Rovesti et Montermini, 1987), en Espagne (Armengol et al., 2001 ; Aroca et al., 2006 ; Urbez-Torres et al., 2006) et au Liban (Choueiri et al., 2006 ; Zébib, 2011). Ce genre a été aussi signalé comme agent de dépérissement sur olivier en Espagne (Moral et al., 2008), en Tunisie (Chattaoui et al., 2012.) et aussi sur pommier (Xie et al., 2010). Il a été aussi retrouvé sur amandiers en Californie (Inderbitzin et al., 2010), et sur pêcher (Sutton, 1981; Michailides, 1991; Copes et Hendrix, 2004), ce genre peut coloniser aussi des fruits, en plus de tissus ligneux (Lazzizzera et al., 2008 ; Marinelli et al., 2012 et Marques et al., 2013).

Le genre *Eutypa*, (anamorphe) l'agent causal de l'eutypiose, ce champignon a été beaucoup moins souvent isolé des lésions en forme de V et des nécroses dures et tendres en position centrale. Ce champignon est restreint au tronc et aux bras des plants malades.

La présence de fructifications (pycnides) de *Botryosphaeria* a été détectée au niveau des troncs des plants de cerisier de Chréa. D'après Larignon et al. (2001), la conservation hivernale des agents du BDA se fait sous forme de pycnides sur le cep et les bois de taille. La dissémination des spores semble plus importante en période végétative (Kuntzmann et al. 2009). Les plaies causées par les travaux en vert sont des voies, potentielles pour ces agents. Les plaies réalisées au niveau du tronc, peuvent rester susceptibles aux infections plus de quatre mois après la taille (Serra, Mannoni et Ligios, 2008). Néanmoins, ces agents pourraient aussi pénétrer directement, par les lenticelles, les stomates et d'autres ouvertures naturelles (Slippers et Wingfield, 2007).

Au vignoble et au verger, la dissémination des spores des *Botryosphaera* et d'*eutypa* est assurée toute l'année avec des maximums en condition tempérée après une période pluvieuse (Urbez-Torres et al., 2010).

L'objectif de cette approche de lutte, est de tenter de détecter un éventuel pouvoir antifongique *in vitro* de la bactérie *Bacillus subtilis* à l'égard de huit isolats phytopathogènes

du cerisier et de l'abricotier (*Eutypa* sp, *Botryosphaeria* sp et *Cytosporina* sp). L'intérêt de cette étude réside dans le fait que ces bioagresseurs s'attaquent à la vigne et à d'autres plants arboricoles et forestiers, et aucun traitement efficace n'existe apparemment surtout après l'interdiction de l'arsénite de sodium.

Sachant que les biopesticides microbiens montrent plusieurs avantages en comparaison avec les produits phytosanitaires de synthèse. Ils ont une action spécifique vis-à-vis des ravageurs, ils ne sont pas toxiques et se dégradent plus rapidement dans l'environnement (Thakore, 2006).

Les résultats semblent être intéressants et la bactérie a montré son pouvoir antifongique vis-à-vis des champignons étudiés. Les applications réalisées ont enregistré une efficacité le long du suivi.

A partir de cette différence de toxicité entre les deux traitements biologiques, nous pouvons donc suggérer les hypothèses suivantes: (i) Le champignon testé contient des composés enzymes de dégradation (ii) la sensibilité des isolats.

Le test d'antagonisme effectué dans le présent travail, sur PDA, a permis de sélectionner onze isolats développant une activité antifongique vis-à-vis de agents phytopathogènes en l'occurrence : *Eutypa* sp *Botryosphaeria* sp et *Cytosporina* sp. Plusieurs études ont décrit les effets antifongiques, *in vitro*, des souches de *Bacillus* sp. Vis-à-vis d'une panoplie de moisissures phytopathogènes (Schippers *et al.*, 1992, Jongsik et Kyung, 2000 ; Gong *et al.*, 2006 ; Ongena *et al.*, 2007).

Le calcul de taux d'inhibition de la croissance fongique par les isolats sélectionnés réalisé à titre d'exemple, sur *Botryosphaeria*, a permis de constater que sa valeur varie entre 45% et 54% sur milieu PDA et entre 41.94% et 63.31% sur milieu GN suivant l'isolat. Sur la même idée Toure *et al.* (2004) ont trouvé que le taux d'inhibition de la croissance de *Fusarium oxysporium* et *Botrytis cinerea* par la souche *Bacillus* sp était 58% et 70%, respectivement.

Sous l'hypothèse de la présence des enzymes lytiques, et des lipopeptides de nombreuses recherches se sont intéressées à la caractérisation des microbes à activité antifongique, A travers la littérature le phénomène d'antibiose a été observé *in vitro*, chez toutes les souches de *Bacillus* sélectionnées. Siddiqui. (2005) ont lié ce phénomène à plusieurs mécanismes, en l'occurrence, la sécrétion des enzymes dégradant la paroi des cellules microbiennes (cellwall

degrading enzymes) et des substances antimicrobiennes; la compétition pour les nutriments et la combinaison de tous ces mécanismes. D'après Sandrin *et al.*, 1990; Ongena *et al.*, 2007; Malfanova *et al.*, 2012 ; il existe trois familles de lipopeptides (LPs), y compris les iturines, les fengycines et les surfactines sont des substances antimicrobiennes connues pour leurs propriétés surfactants et antifongiques. les fengycines ont été identifiées chez de *B. subtilis* (Jacques *et al.*, 1999), *B. thuringiensis* (Kim *et al.*, 2004) et *B. amyloliquefaciens* (Koumoutsis *et al.*, 2004).

Sous des conditions de limitation de nutriments, le groupe "*Bacillus subtilis*" entame un processus de différenciation qui convertit la forme végétative des cellules en spores. Cette forme résiste aux différents types de stress physicochimique, ce qui facilite leur production et leur formulation industrielle en un produit stable (Errington, 2003). Le genre *Bacillus* et les membres du groupe *B. subtilis* en particulier, constituent de bons candidats pour diverses applications biotechnologiques, pharmaceutiques, agricoles et agroalimentaires (Senesi *et al.*, 2004).

La deuxième hypothèse proposée dans nos résultats repose sur la sensibilité des isolats, la croissance mycélienne d'*Etypha* sp n'a pas été inhibée de la même manière que *Botryosphaeria* ; cette différence pourrait être expliquée par la différence de sensibilité des souches testées. En effet, il est connu qu'au sein de l'espèce *Etypha lata*, il existe une variabilité dans l'agressivité des souches (Laveau *et al.*, 2009), qui pourrait se traduire par une sensibilité différente aux métabolites secondaires, cas des polyphénols. D'autres paramètres pourraient aussi expliquer ces différences des résultats: la variation du pH (Amorabé *et al.*, 2002), l'absence ou la présence d'une source de carbone autre que le composé phénolique, comme le glucose contenu dans le milieu PDA (Bruno et Sparapano, 2006).

D'après les résultats cernés par notre étude, il serait intéressant de tester l'efficacité de l'activité antifongique des espèces du genre *Bacillus*. Ce genre *Bacillus* est le genre bactérien le plus étudié dans la recherche scientifique et le plus utilisé en agriculture. En effet, le US Food and Drug Administration (USFDA) a confirmé que toutes les espèces qu'englobe le groupe *Bacillus subtilis* sont non pathogène à l'homme. En plus, le genre *Bacillus* possède la possibilité de se sporuler dans des conditions défavorables ce qui facilite sa production industrielle et sa formulation en un produit stable (Harwood et Wipat, 1996; Lolloo *et al.*, 2010).

CONCLUSION
Et
PERSPECTIVES

Conclusion

Notre travail a permis d'apporter une contribution dans l'étude de l'origine biotique des dépérissements des arbres fruitiers à noyaux. Nos enquêtes épidémiologiques ont concerné deux (02) régions à vocation arboricoles (Médéa et Blida).

Les résultats des diagnostics symptomatologiques ont révélé la présence de diverses catégories de symptômes dans les vergers prospectés; il s'agit principalement de: dépérissement total, dépérissement partiel (un seul ou plusieurs bras morts).

Globalement, il a été constaté une grande variabilité dans l'expression des symptômes de dépérissement sur les plants d'abricotiers et de cerisier cultivés dans ces régions. Nous avons enregistré une variabilité symptomatologique qui s'est traduite par des taux d'incidence (36.5 % à 61 %) et des indices de gravité (1.84 à 2.44).

L'analyse des arbres présentant des symptômes des dépérissements a révélé l'existence de plusieurs types de nécroses dans les troncs et les bras, qui diffèrent selon la forme, la couleur et la consistance, avec la dominance de la classe association de plusieurs formes de nécroses.

Les résultats de l'analyse microbiologique effectuée sur des échantillons de bois de cerisier et d'abricotier présentant des nécroses ont permis d'isoler plusieurs genres incriminés dans les états symptomatologiques tels que: *Eutypa* (agent causal d'eutypiose), *Botryosphaeria* (agent causal du BDA).

Les fructifications de ces champignons n'ont pas été observées sur le milieu de culture. L'observation n'a été possible que sur des fragments du bois de cerisier collectés durant nos prospections dans le verger de Chréa, sous forme des pycnides et les pseudothèces (formes asexuée et sexuée) des *Botryosphaeria*.

Les essais du pouvoir antifongique de *Bacillus subtilis* dénotent les possibilités de leurs valorisations dans les procédés de lutte biologique. Il est à rappeler que cette étude de l'effet antifongique vis-à-vis les champignons du bois constitue une étape prometteuse dans la recherche de molécules naturelle d'origine microbienne.

Ces résultats mènent à une panoplie de recommandation et perspectives, il est suggéré de:

- Recourir à d'autres méthodes de détection rapide, sensible, et permettant de déterminer le niveau de colonisation des agents pathogènes dans le bois. A travers la recherche des outils complémentaires notamment le dosage biochimique de leurs toxines.
- Etudier le pouvoir antifongique des microorganismes sur les agents causals des maladies du bois.

D'une autre part, il serait intéressant dans l'immédiat d'envisager un travail de vulgarisation, communication ainsi que la sensibilisation auprès des arboriculteurs. Ceci permettra une éventuelle orientation dans les bonnes conduites culturales et les mesures prophylactiques. Un contrôle sanitaire strict doit être appliqué par les services concernés auprès des agriculteurs et surtout chez les multiplicateurs (pépinières et complexe de greffage), afin d'éviter et/ou freiner leur évolution qui constitue une réelle menace sur les vignobles et les vergers arboricoles algériens

Références bibliographiques

A

Alfonzo A., Conigliaro G., Torta L., Burruano S. and Moschetti G. (2009). Antagonism of *Bacillus subtilis* strain AG1 against vine wood fungal pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 48:(1).155-158.

Altindag, M., Sahin, M., Esitken, A., Ercisli, S., Guleryuz, M., Donmez, M.F., Sahin, F. 2006. Biological control of brown rot (*Monilialaxa Ehr.*) on apricot (*Prunus armeniaca L.*) *in vitro* conditions. *Biological Control*, 38:369-372.

Altschul S. F. Madden T. L., Schaffer A.A., Zhang J. H., Zhang Z. and Miller W. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402.

Amborabé B E., Fleurat-Lessard P., Chollet JF. and Roblin G. (2002). Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure-activity relationship. *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 1051-1060.

Ammad F. (2006). Dépistage et diagnostic des maladies de dépérissement de la vigne (Eutypiose et viroses) dans quelques vignobles Algériens. Mémoire de Magister, Université de Blida 1, Algérie, 160p.

Ammad F., Benchabane M., Toumi M., Belkacem N., Guesmi A., Ameer C., Lecomte P., Merah O. (2014). Occurrence of *Botryosphaeria* species associated with grapevine dieback in Algeria. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* : 865-873.

Anonyme, (2008) FAO, '*Annuaire de la Production*', Ed: FAO, Rome.

Anonyme. (2014). Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. Direction des Statistiques, 6p.

Anonyme 01. Source: <http://www.nancy.inra.fr/extranet/com/secheresse/secheresse.htm>

Anonyme 02. Source : http://domenicus.malleotus.free.fr/v/cerisier_aigre.htm

Anonyme 03. Source: <http://fr.wikipedia.org/w/index.php?oldid=55219040>

Anonyme 04. Source: <http://verger.comprendrechoisir.com/comprendre/arbres-fruitiers>

Anonyme 05. Source: <http://media.gerbeaud.net/2014/05/640/puceron-noir-cerisier.jpg>

Anonyme 06. Source: <http://aramel.free.fr/Capnodis-tenebrionis.jpg>

Anonyme 07. Source: <http://i77.servimg.com/u/f77/17/60/41/61/gate-b12.jpg>

Anonyme08.Source::http://www.cliniquedesplantes.fr/uploads/media/answer/0001/01/thumb_263_answer_big.jpeg

Anonyme 09. Source: <http://www.biopix.eu/zoom.aspx?photoid=71062>

Anonyme 10. Source: <http://www.visoflora.com/images/original/la-mouche-de-la-cerise-visoflora-76698.jpg>

Anonyme11.Source:http://www.cliniquedesplantes.fr/uploads/media/default/0001/01/thumb_67_default_big.jpeg

Anonyme 12. Source: <http://adjaya.canalblog.com/images/000.jpg>

Anonyme 13. Source: <http://www.biolib.cz/IMG/GAL/90527.jpg>

Anonyme 14. Source: <http://data.gbif.org/Species/13238979/>

Armengol J., Vicent A., Torné L., Figueres F.G. and Jiménez J.G. (2001). "Fungi associated with esca and grapevine declines in Spain "three-year survey. *Phytopatho.Médit.*40, supplement, 89: 325-329.

Aroca A., Garcia-Figueres F., Bracamonte L., Luque J. and Raposo R. (2006).A survey of 13 trunk disease pathogens within rootstocks of grapevines in Spain. *European Journal of Plant Pathology* **115**: 195–202. 15.

Aubertot J.-N., Barbier J.-M., Carpentier A., Gril J.-J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Savini I., Voltz M. (éds.) (2005). Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'Expertise scientifique collective, INRA et Cemagre.

Auger J., Perez I. and Esterio M. (2010).Evaluation of fungicides as potential grapevine pruning wood protectants against the main grapevine trunk disease pathogens in Chile. *PhytopathologiaMediterranea*, 49:103-133.

B

Bahlouli F. Tiaiba1 . A et Slamani A. (2008) Etude des différentes méthodes de séchage d'abricot, point sur les méthodes de séchage traditionnelles dans la région du Hodna, wilaya de M'Sila ; *Revue des Energies Renouvelables SMSTS'08 Alger* ;61 p.

Bentayeb, Z.D.(1993) - biologie et Ecologie des Arbre Fruitier. Collection le cours d'agronomie. Inst. Agro.Chlef.Edit. O.P.U., Alger. 139 p.

Benzi Luigi Berliocchie F. (1999) L'histoire des plantes en méditerrané art et botanique. Compte des éditions actes sud, Motta, 175p.

Berraf A. and Peros JP. (2005). Importance de l'eutypiose et de l'esca en Algérie et structure des communautés fongique associée -journal international des sciences de la vigne et du vin, 39: 121-128.

Bertsch C., Larignon P., Farine S., Clement C. and Fontaine F. (2009).The Spread of Grapevine Trunk Disease. Science, 324: 721-721

Breton S.(1972). Le cerisier. Institut National de vulgarisation pour les fruits, légumes et champignons (INVUFLEC), 253 p.

Bruno G. and Sparapano L. (2006). Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.: I. Characterization of secondary metabolites in culture media and host responses to the pathogens in calli. Physiological and Molecular Plant Pathology, 69:(4-6), 209–223.

Bolay A. and Carter M.V. (1985). Newly recorded hosts of *Eutypa lata* (*E. armeniaca*) in Australia. Plant Protection Quarterly 1:10-12.

Bolay A. and Moller WJ. (1977). *Eutypa armeniaca*, agent d'un grape dépérissement de vignes en production. Revue suisse de Viticulture Arboriculture Horticulture, 9: 241-251P10.

Bolay A. et Siegfried W. Chancre sur arbres fruitiers. Copyright .suisse , Fiche: 305

Boulay H., 1961 - Arboriculture et production fruitière, coll. " Que sais-je ? ", Ed. P.U.F, Paris :21-76.

Bretedeau J.(1979) Atlas d'arboriculture fruitière, collection des techniques horticoles spécialisées, Edition J. B. BAILLIÈRE. Volume III: 108 - 140.

Brown-Rytlewski, D.E. and McManus P.S. (2000). Virulence of *Botryosphaeria dothidea* and *Botryosphaeria obtusa* on apple and management of stem cankers with fungicides. Plant Disease, 84 (9):1031–1037 .



Carballido-Lopez, R. and A. Formstone, Shape determination in *Bacillus subtilis*. Curr Opin Microbiol, 2007. 10(6): 611-6.

Carter M.V. (1982). Additional hosts of *Eutypa armeniacae* in Australia. Australasian Plant Pathology 11: 46-48.

Carter M.V., Bolay A. and Rappaz F. (1983) .An annotated host list and bibliography of *Eutypa armeniacae*. Plant Pathology 62: 251-258.

Carter M.V. (1991). The status of *Eutypa lata* as a pathogen. International Mycological Institute, Phytopathological Paper No. 32. 10. **Bolay A. and Carter M.V. (1985).** Newly recorded hosts of *Eutypa lata* (*E. armeniacae*) in Australia. Plant Protection Quarterly 1:10-12

Casieri L., Hofstetter V. Viret O. and Gindro K. (2009). Fungal communities living in the wood of different cultivars of young *Vitis vinifera* plants. *Phytopathologia Mediterranea*, 48 : (1)73-8.

Ceraser M. and Wicks T. (2001). "Yearly variation in *Eutypa* dieback symptom's and the relationship to grapevine yield", the Australian Grapegrower & Winemaker, 450: 50-52.

Chattaoui M. Rhouma A. and Msallem M. (2012). First Report of *Botryosphaeria obtusa* as causal agent of olive tree branch dieback in Tunisia. *Plant Disease*, 96: 905-905.

Chet I. (1987). Trichoderma Application, mode of action, and potential as biocontrol of soilborne plant pathogenic fungi, *Innovative Approaches to Plant Disease Control* :137-160. John Wiley & Sons: New York

Christen D., Schönmann S., Jermini M., Strassen R.J. and Défago G. (2005). Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 60 (3): 504–514.

Claverie (2005) De la taille à la conduite des arbres fruitiers. Edition Rouergue., 60-70 .

Choueiri E., Jreijiri F., Chlela P., Louvet G. and Lecomte P. (2006). Occurrence of grapevine declines and first report of Black dead arm associated with *Botryosphaeria obtusa* in Lebanon. *Plant Disease*. 90:115.

Copes W.E. and Hendrix F.F.Jr. (2004). Effect of temperature on sporulation of *Botryosphaeria dothidea*, *B. obtusa*, and *B. rhodina*. *Plant Disease*. 88: 292–296.

Courby D. (1997). L'eutypiose et l'esca : état des connaissances. Effet de la conduite au vignoble. Stratégie de lutte, DAA ENSA, Montpellier.

Cristinzio G. (1978). Gravi attacchi di *Botryosphaeria obtusa* su vite in provincia de Isernia », *Informatore Fitopatologico* 28 : 21-23 (in: Larignon P. et al 2009): Esca et Black Dead Arm : deux acteurs majeurs des maladies du bois chez la Vigne, *C. R. Biologies* 332 : 765-783).

Crous P. W., Slippers B., Wingfield M. J., Rheeder J., Marasas W. F. O., Philips A. J. L. and A. Alves. (2006). Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *Studies in Mycology*: 235-253.

Crous P.W., Swart L. and Coertze S. (2001). The effect of hot-water treatment on fungi occurring in apparently healthy grapevine cuttings. *Phytopathologia Mediterranea*, 40 (3), 464-466.

D

Denman S., Crous P. W., Taylor J. E., Kang J. C., Pascoe L. and Wingfield M. J. (2000). An overview of the taxonomic history of *Botryosphaeria*, and re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS RdnA phylogeny. *Studies in Mycology* 4: 129-140.

Deswarte C., Roustan J.P., Canut H., Eychenne J. and Fallot J.P. (1994). Recherche du mode d'action de l'eutypine, toxine produite par *Eutypa lata* In : *Annales ANPP*, 3:1303-1310.

Di Marco S., Osti F., Calzarano F., Roberti R., Veronesi A. and Amalfitano C. (2011). Effect of the application of fosetyl-aluminium, in formulations for downy mildew, on grapevine towards "esca" and associated fungi. *Phytopathologia Mediterranea*, 50: S285-S299.

Di Marco S., Osti F. and Cesari A. (2004). Experiments on the control of esca by *Trichoderma*. *Phytopathologia mediterranea* 43: 108-115.

Dubos B. (1987). Mise au point sur les maladies de dépérissement dans le vignoble français *Le Progrès Agricole et Viticole* 104: 135-141.

Dubos B. and Paillassa E. (1992). Dynamique de la sporée aérienne de l'*Eutypa lata* (Pers. :Fr) Tull agent pathogène de l'eutypiose de la vigne « *Revue des oenologues* 62: 8-9.

Dubos B. (1995). Eutypiose de la vigne. *Eutypa lata* .Agric .France, 82: 96-101

Dubos B. (1999_a). Incidence économique de l'Eutypiose dans un vignoble de grand cru de Bordeaux, *Phytoma, la défense des végétaux* 467: 15-18.

Dubos B. (1999_b). Les maladies cryptogamiques de la vigne champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne. 1^{ère} Edition, Ferret, 175p.

Dubos B (1999). Maladies cryptogamiques de la vigne, Editions Féret, Bordeaux , 176 p

Dubos B. (2002_a). Maladies cryptogamiques de la vigne. 207p. Bordeaux, Editions 13 Féret.

Dubos B., (2002_b). Les maladies cryptogamiques de la vigne champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne, Edition Ferret (2^{ème} édition), 200 p.



Eskalen A., Feliciano A. J. and. Gubler W. D. (2007). Susceptibility of Grapevine Pruning Wounds and Symptom Development in Response to Infection by *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora*. *Plant Disease* 91: 1100-1104.



Fallot J., Deswartes C., Dalmayrac S., Colrat S. and Roustan J.P. (1997) l'eutypiose de la vigne : Isolement d'une molécule synthétisée par *Eutypa lata* et toxique pour la vigne », *c.r Acad.Sci.Paris, Science de la vie*, 320 :149-158.

Fallot J., Roustan J.P., Petitprez M. and Tabacchi R. (1999) Découverte de l'eutypiose, phytotoxine synthétisée par *Eutypa lata* agent de l' eutypiose de la vigne », *Revue des œnologues*, 62:9p

F.A.O. (2005). Productions agricoles, Cultures primaire. Banc des données statistiques, F.A.O. STAT, [http://: www. Fao. Org](http://www.Fao.Org).

Ferreira JHS, Matthee FN. and Thomas AC. (1991). Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 81: 283-287.

Fourie P. and Halleen F. (2006). Chemical and biological protection of grapevine propagation material from trunk disease pathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 116: (4) 255–265.



Galet P. (1995). Précis de pathologie viticole, Imp .JF Impression, Montpellier, 246 P.

Galet P. (1999). Précis de pathologie viticole, 3^{ème} édition :81-86.

Geneni M.(2013),Dépérissement de l'abricotier en Valais, Service cantonal de l'agriculture, Foire du Valais-Martigny

Glawe DA. (1983). Isolation and identification of *Eutypa armeniacae* from *Malus domestica* in Washington state. *Mycotaxon* 18: 315-318.

Gong, W., Ren, Y., Xu, Q., Wang, Y., Lin, D., Zhou, H., Li, T. (2006). Integrated siRNA design based on surveying of features associated with high RNAi effectiveness. *BMC Bioinformatics*.7: 516 p

Goulet E. (2008). Les Maladies du Bois au vignoble : Chercheurs et Techniciens autour de la table, Compte rendu de journée thématique sur les maladies du bois (IFV, Toulouse), 3 p.

Granitin A. (2006). From fire esca to esca of grapevine. *Phytopathologia mediterranea* 45:S5-S11.



Haggag W.M. and Mohamed H A-L A. (2007).Biotechnological aspects of microorganisms used in plant biological control. *World j.agric.sci.* 3 (6):711- 776.

Hammer O., Harper D.A.T. and Ryan P. D. (2001). Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *PalaeontologiaElectronica* 4(1): 9p.

Harwood, C.R., Wipat, A. (1996). Sequencing and functional analysis of the genome of *Bacillus subtilis* strain 168. *FEBS Letters.*389:84-87.

Hattenschwiler S. and Vitousek . (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling .*TREE*, 15: (6)238-243.

Herche R. and Gubler. W. D. (2010) .Control strategies of diseases of grapevine trunk. Book of abstracts.7th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases, ICGTD.Santa Cruz, Chile. . 78p.

Herlemont B. (2004).Contexte réglementaire de l'interdiction de l'arsénite de sodium

Howel,C.R., Stipanovic, RD.1979. Control of *Rhizoctoniasoolani* on cottonseedlingswith*Pseudomonas fluorescens* and with an antibioticproduced by the bacterium. *Phytopathology*, 69 :.480-482.

Howel,C.R., Stipanovic, RD.(1980).Supression of *Pythiummultimum*induceddamping-off cottonseedlingswith*Pseudomonas fluorescens* and itsantibiotics, pyoluteorin. *Phytopathology*, 70,:712-715.

Hunt J.S.(2001).Evaluation of Trichoderma as biocontrol for protection against wood invading fungi implicated grapevine trunk diseases, *PhytopathologiaMediterranea* 40, 485 p.



Inderbiztin P., Bostock R.M., Trouillas F.P. and Michailides T.J. (2010): A six locus phylogeny reveals high species diversity in Botryosphaeriaceae from California almond. *Mycologia* 102: 1350–1368.

INRAA, 2006 (b) –Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques, Alger,92 p.

Ippolito A. (2007). Dannositadellemaldttie lecture presentation ,universitadejlistudi d Bari,18p.

Ippolito A., Maurantonio V. and D'anma R.(1992).Role infected seeds of citrus rootstocks with spraeet of malsecco disease international society of citrus,2: 877-87

Errington, J. (2003). Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*.*Nat. Rev. Microbiol.* 1:117-126.



Jacques, P., Hbid, C., Destain, j.,Razafindralambo, H., Paquot, M., De Pauw, E., Thonart,P. (1999). Optimization of biosurfactantlipopeptides production from *Bacillus subtilis* S499 by Plackett– Burman design.*ApplBiochemBiotechno.* 177: 223–233.

Jonhston A. and Booth C. (1983).Plant pathologist pocket book, 2nd Ed Commn wealth Mycological Institute, Kew, Surey, England, 439p.

Jongsik, C., Kyung, S.B. (2000). Phylogenetic analysis of *Bacillus subtilis* and related taxa based on partial *gyrA* gene sequences. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 78:123–127.

Jousse C. (2004) La recherche de molécules ambimobiles pour lutter contre les maladies du bois, Rencontre Technique : Les maladies du bois en Midi-Pyrénées (Station Régionale ITV Midi-Pyrénées).37 p.

Jousse C. (2006). Influence of temperature and nutritional requirements for 9btuse9 growth of *Eutypa lata*, a vineyard pathogenic fungus. Thèse de l'Université de Poitiers. 174 p.



Kim, P.I., Bai, H., Bai, D., Chae, H., Chung, S., Kim, Y., Park, R., Chi, Y.T. (2004) Purification and characterization of a lipopeptides produced by *Bacillus thuringiensis* CMB26. *J. Appl. Microbiol.* 97, 942– 949

Kotze C., Van niekerk J. M., Halleen F. and Fourie P. H. (2009). Identifying potential biocontrol agents for grapevine pruning wound protection against trunk pathogen infection.*phytopathologiamediterranea*, 48: 184.

Koumoutsi, A., Chen, X.H., Henne, A., Liesegang, H., Hitzeroth, G., Franke, P., Vater, J., Borriss, R. (2004) Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42. *J. Bacteriol.* 186: 1084–1096.

Kouyeas H. (1978). *Eutypa armeniacea* on lemon in Greece. *Phytopathologische Zeitschrift* 91: 235-237.

Kuntzmann P., Villaume S. and Bertsch C. (2009). Conidia dispersal of *Diplodia* species in a French vineyard. *Phytopathologia mediterranea* 48: 150-154.

Kuntzmann P., Villaume S., Larignon P. and Bertsch C. 2010. Esca, BDA and Eutypiosis: foliar symptoms, trunk lesions and fungi observed in diseased vinestocks in two vineyards in Alsace. *Vitis* 49: 71-76.



Larignon P. (1991). Contribution à l'identification et au mode d'action des champignons associés au syndrome de l'esca de la vigne », Thèse de Doctorat; Université de Bordeaux II, France.134p.

Larignon P. and Dubos B. (1997). Fungi associated with esca disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology*, 103(2):147–157.

Larignon P. Dupont J. and Dubos B. (2000). L'Esca de la vigne: quelques éléments sur la biologie de deux des agents associés, *Phaeoacremonium aleophilum* et de *Phaeomoniella chlamydospora*. *Phytoma* 527: 30-35.

Larignon, P., Fulchic R., Cere L. and Dubos B. (2001a). Observation on black dead arm in French vineyards. *Phytopathologia mediterranea* 40: S336-S342.

Larignon P. (2006). Maladies du bois de la vigne. Quelques éléments sur la présence des champignons associés, leur localisation dans le bois et les moments de contaminations, *Phytoma* 592: 14-17.

Larignon P. (2008). Rôle du matériel végétal dans la propagation des champignons associés aux maladies du bois IFV p53.

Larignon P. (2009a). Le point sur les maladies du bois: symptomatologie, cycles biologiques, influence des facteurs environnementaux, bilan des recherches et perspectives, Matinées Techniques du BIVB : Mieux comprendre les maladies du bois, 30p.

Larignon P., Fontaine F., Farine S., Clement C. and Bertsch C. (2009_b). Esca and black dead arm: two major actors of grapevine trunk diseases. *Comptes rendus biologies* 332: 765-783.

Larignon P., Fontaine F., Farine S., Clement C. and Bertsch C. (2009_b). Esca and black dead arm: two major actors of grapevine trunk diseases. *Comptes rendus biologies* 332: 765-783.

Larignon P. (2010). Effectiveness of Trichoderma pruning wound protectants against *E. lata*. *Phytopathologia Mediterranea*, 49 :103-133.

Laveau C., Letouze A., Louvet G., Bastien S. and Guerin-dubrana I. (2009). Differential Aggressiveness of fungi implicated in esca and associated diseases of grapevine in France. *Phytopathologia mediterranea* 48: 32-46.

Lazizera C., Frisullo S., Alves A. and Phillips A.J.L. (2008). Morphology, phylogeny and pathogenicity of *Botryosphaeria* and *Neofusicoccum* species associated with drupe rot of olives in southern Italy. *Plant Pathology*. 57:948-956.

Lehoczky J. (1974). Black dead arm disease of grapevines caused by *Botryosphaeria stevensii* infection. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 9: 319- 327.

Le Gall D .and Le Gat Y. (1994). Evaluation de la nuisibilité de l'eutypiose au vignoble », *Ann .A.N.P.P. , 3 :1271-1285.*

Letousey P., Baillieu F., Perrot L.G., Rabenoelina F., Boulay M., Vaillant-gaveau N. and Clement C. (2010). Early events prior to visual symptoms in the apoplectic form of grapevine Esca disease. *Phytopathology* 100: 424–431

Lichou J. (2001) 'Comparizon of Apricot Tree Growth and Development in 3 French Growing Areas', Congers International, Unité de Génétique et d'Amélioration des Fruits et Légumes,

Logan N.A., Popovitch T.J. and Hoffmaster A. (2007). *Bacillus* and related genera. In: Murray P. R., Baron E. J., Jorgensen J. H., Pfaller M. A., and Tenover F. C. (ed) *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC: American Society for Microbiology.

Lolloo, R., Maharaih, D., Görgens, J., Gardiner, N. (2010). A downstream process for production of a viable and stable *Bacillus cereus* aquaculture biological agent. *Applied Microbiology and Biotechnology*.86: 499-508

Long P.G., Nicoll C.L., Davis L. and Kand Bradshaw R.E. (2003). “Producing the sexual stage of *Eutypa lata* in vivo and characterizing parents and progeny”, 3 rd International Workshop on Grape Trunk Disease (I CGTD), New Zealand

Lupescu F.(1987) Cours d’arboriculture générale à l’usage des étudiants de 3ème année. 102p.

Luque J., Martos S.,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.



Marques M.W., Lima N.B. M.A. de Morais Jr. Michereff, S.J. Phillips A.J.L. and Câmara P.S.(2013). Botryosphaeria, Neofusicoccum, Neoscytalidium and Pseudofusicoccum species associated with mango in Brazil. *Fungal Diversity*. 6:195–208.

Marinelli EL., Orzali S., Scalercio L. and Riccione L. (2012). First report of *Botryosphaeriadothidea* causing fruit rot of quince in Italy. *Journal of Plant Pathology* 4: 94, S4.92.

Michailides T.J. (1991). Pathogenicity, distribution, sources of *Botryosphaeriadothidea*, and infection courts of *Botryosphaeriadothidea* on pistachio. *Phytopathology*.**81** : 566–573.

Milner, J. L., Raffel, S.J., Lethbridge, B.J., Handelsman, J. 1995. Culture conditions that influence accumulation of zwittermicin A by *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 43:685-691.

Moller M.J., Kasimatis N. (1978). Dieback of grapevines caused by *Eutypa armeniacae*. *Plant Disease Report*. **62**,254-258.

Molyneux R.J., Mahoney N., Bayman P., Wong R.Y., Meyer K. and Irelan, N. (2002). Eutypa dieback in grapevines: differential production of acetylenic phenol metabolites by strains of *Eutypa lata*. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* 50, 1393-1399.

Moral J., Luque F. and Trapero A. (2008). First Report of *Diplodiaseriata*, the of *Botryosphaeria13btuse*, Causing Fruit Rot of Olive in Spain. *Plant Disease* 92:311

Mugnai L., Graniti A. And Surico, G. (1999). Esca (Black Measles) and brown wood-streaking: two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Disease* 83(5), 404–418.

Munkvold GP, Marois JJ. (1994a). Eutypa dieback of sweet cherry and occurrence of *Eutypalaterithecia* in the central valley of California. *Plant Disease* 78: 200–207

Mur G. and Branas .(1991). La maladie de vieux bois –apoplexie et eutypiose , *Prog, Agric, Vitic.*5 108-114

N

Nascimento T., Rego C. and Oliveira H. (2007). Potential use of chitosan in the control of grapevine trunk diseases. *PhytopathologiaMediterranea* 46: 218-224.

Nicholson W.L., 2002 .Roles of *Bacillus* endospores in the environment. *Cellular and Molecular Life Science*; 59: 410–416.

O

Ongena, M., Jourdan, E., Adam, A., Paquot, M., Brans, A., Joris, B., Arpigny, J. L., Thonart, P. (2007). Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* elicitors of induced systemic resistance in plants. *Environ. Microbiol.* 9: 1084–1090.

P

Paillassa E., Dubos B., Larignon P. and Chevrier J.C. (1992) l'inoculum infectieux d'*Eutypalata*, sa formation, son evolution et sa dispersion : les facteurs qui les influencent. *Phytoma* 440: 21-23.

Pal K. K. and B. Mcspadden Gardener B. (2006). Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*, Biological Control, 1-25

Papavias, B.C., Lumsden, R.D. 1980. Biological control of soil-borne fungal propagules. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 18, pp.389-413.

Pérez C.A., Wingfield M.J., Slippers B., Altier N.A. and Blanchette R.A. (2010). Endophytic and canker-associated Botryosphaeriaceae occurring on non-native Eucalyptus and native Myrtaceae trees in Uruguay. *Fungal Diversity*. 41:53-69.

Peros J.P. and Berger G. (1999). Diversity within natural progenies of the grapevine dieback fungus *Eutypalata*. *Current Genetics* 36: 301-309

Phillips A.J.L. (2002). Botryosphaeria species associated with diseases of grapevines in Portugal. *Phytopathologia Mediterranea* 41: 3–18.

Pollastro S., Dongiovanni C., Abbatecola A. and Faretra F. (2000). Observations on the fungi associated with esca and on spatial distribution of esca-symptomatic plants in Apulian (Italy) vineyards. *Phytopathologia Mediterranea*. 39: (1), 206–210.

Pollastro S., Pichierra A., Masiello N., Habib W., Carlucci A., Lazzizzera C., Frisullo S. and Faretra F. (2007). Il mal dell'esca della vite: interventi di ricerca sperimentazione e per il contenimento della malattia, p.32. Sud Stampa, Bari, Italia.

Priest F.G., Goodfellow M., Shut L.A. and Berkeley R.C.W. (1987). *Bacillus amyloliquefaciens* sp. *International Journal Systematic Bacteriol*, 37 : 66-71.



Radman L. and Nadazdin V. (1981). A contribution to the study of two Sphaeropsis species parasites of the bark of grapevine in Herzegovina, Yugoslavia. *Phytopathol.Mediterr.***20**:83-84.

Rappaz R. (1984). Les espèces sanctionnées du genre Eutypa (Diatrypacea: ascomycètes): études taxonomiques et Nomenclature. *Mycotaxon* 20: 567-586

Rebour H.(1952) Fruits Méditerranéens Autres que les Agrumes, La maison Rustique (Paris), 172p.

Rebour H. (2005) Les cultures fruitières algériennes [en ligne] . Disponible sur :http://algerroi.fr/Alger/documents_algeriens/economique/images/95_fruitiere_tableau1.jpg(consulté le 10 mai 2015).

Reulet P.(1984).Contribution à l'étude de l'rutypiose de la vigne.Mémoire ENTAB.VITL-Vigne-Vin , ENTA Bordeaux.

Reyner A. (2001). Manuel de viticulture, 8ème édition .J.B. Baillière, 514p.

Rolshausen P. E., Mahoney N. E. Molyneux R. J. and Gubler W. D. (2006). A re-assessment of the species concept in *Eutypa lata*, the causal agent of *Eutypa dieback* of grapevine. *Phytopathology* 96: 369-377

Rooney S. and Gubler W.D. (2001).Effect of hot water treatments on eradication of *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium inflatipes* from dormant grapevine wood.*Phytopathologia Mediterranea*, 40:(3), 467–472.

Roussillon J F. (2004) *Président de la Station Régionale I.T.V. Midi-Pyrénées* Les Maladies du Bois en Midi-Pyrénées, 42p.

Rovesti L. and Montermini A. (1987). Un deperimento dell'avete causato da *Sphaeropsis malorum* diffuso in provincial di Reggio Emilia. *Informe de Fitopatologia* 37: 59–61

Rumbos I.C. (1986). Isolation and identification of *Eutypa lata* from *Pistacia vera* in Greece. *Journal of Phytopathology* 116: 352- 357.

Rumbos I.C. (1993). Dieback symptoms on olive trees caused by the fungus *Eutypa lata*. *Bulletin OEPP* 23: 441-445.



Sandrin, C., Peypoux, F., Michel, G. (1990). Coproduction of surfactin and iturin A lipopeptides with surfactant and antifungal properties by *Bacillus subtilis*. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 12: 370–375.

Sarniguet, A., Barret, M., Lebreton, L., Daval, S. 2008. Bactéries et champignons interagissent pour la santé des plantes. *Biofutur*, 284, :.30-33.

Schippers, B. (1992). Prospects for management of natural suppressiveness to control

Schmidt CS., Lorenz D., Wolf GA. and Jäger J. (2001). Biological control of the grapevine dieback fungus *Eutypalata* II: influence of formulation additives and transposon mutagenesis on the antagonistic activity of *Bacillus subtilis* And *Erwiniaherbicola*. *Journal of Phytopathology* 149: 437- 445

Senesi, S., Ricca, E., Henriques, A. O., Cutting, S. M. (2004). *Bacillus* spores as probiotics products for human use. In *Bacterial Spores: Probiotics and Emerging Applications*.Eds. *Horizon Scientific Press: London.*: 132-141 .

Sentenac G. (2004). Evaluation de l'efficacité de fongicides et d'agents biologiques utilisés dans la lutte contre les maladies du bois Esca et BDA. *Premiers résultats*

d'expérimentations menées sur le terrain », Rencontre Technique: Les maladies du bois en Midi-Pyrénées (Station Régionale ITV Midi-Pyrénées), :28-33.

Serra S., Mannoni M. A. and Ligios V. (2008). Studies on the susceptibility of pruning wounds To infection by fungi involved in grapevine wood diseases in Italy. *PhytopathologiaMediterranea* 47: 234-246.

Siddiqui, Z.A. (2005) PGPR: Prospective biocontrol agents of plant pathogens. In: PGPR: Biocontrol and Biofertilization 111e142 pp.. Netherlands: Springer.107

Slippers B., Crous P. W., Denman S., Coutinho T. A., Wingfield B.D. and Wingfield M. J. (2004). Combined multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several Species previously identified as botryosphaeria dothidea. *Mycologia* 96: 83-101

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

Sneh, B., Dupler, M., Elard, Y., Baker, R.1984. Chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* as affected by fluorescent and lytic bacterie from *Fusarium* suppressive doil. *Phytopathology*, 74, :1115-1124.

Soler J. (2003) Brochure :Les grands secteurs de l' Agriculture algérienne Édité par le Gouvernement Général Revu et augmenté par les soins de l'office Algérien d'Action Économique et Touristique OFALAC - 40 rue d'Isly - Alger anc.Imp.V.Hein

Stein T., 2005 .*Bacillus subtilis*antibiotics: structures, syntheses and specificfunctions. *MolecularMicrobiology*; 56: 845-57.

Surico G., Mugnai I. and Marchi G. (2006). Older and more recent observations on esca: a Critical overview. *Phytopathologia mediterranea* 45: s68-s86.

Sutton T.B. (1981). Production and dispersal of ascospores and conidia by *Physalospora obtusa* and *Botryosphaeria dothidea* in apple orchards. *Phytopathology* 71: 584–589

J

Thakore, Y. (2006). The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology*. 2: 194-208.

They-Ruhl P., Philippe I., Renaud J-M., Tsoupras G., DeAngelis P. , Fallot J. and Tabacchi R. , (1991). Eutypine, a phytotoxin produced by *Eutypa lata*, the casual agent of dying- arm disease of grapevine. *Phytochemistry* 30, 471–473.

Toure, Y., Ongena, M., Jacques, P., Guiro, A., Thonart, P. (2004). Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. *J Appl Microbiol*. 96: 1151–1160

U

Urbez-Torres J. R., Battany M., Bettiga L. J., Gispert C., McGourty G., Roncoroni J. and Smith R. J. (2010). *Botryosphaeriaceae* Species Spore-Trapping Studies in California Vineyards. *Plant Disease* 94: 717-724.

Urbez-Torres J.R., Leavitt G.M., Voegel T.M. and Gubler WD. (2006). Identification and distribution of *Botryosphaeria* spp. Associated with grapevine cankers in California. *Plant Disease*, 90: 1490–1503.

V

Van niekerk J.M., Fourie P. H. Halleen F. and Crous P. W. (2006). *Botryosphaeria* spp. As Grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathologia mediterranea* 45: s43-s54

Van Niekerk J.M., Calitz F.J., Halleen F. and Fourie PH. (2010). Temporal spore dispersal 10 patterns of grapevine trunk pathogens in South Africa. *European Journal of Plant Pathology* 127: 375–390.

Véronique S. (2004) CARACTERISATION de DETERMINANTS GENETIQUES pour les CRITERES de QUALITE de L'ABRICOT, mémoire en Sciences de la Vie et de la Terre, l'Ecole Pratique des Hautes Etudes)

Viret O., Keller M., Jaudzems V. G. and Cole F. M.(2004). Botrytis cinerea infection of grape flowers : light and electron microscopical studies of infection sites. *Phytopathology* 94 (8), 850–857.

W

Wang, S.L., Hsiao, W.J., Chang, W.T.2002. Purification and characterization of an antimicrobial chitinase extracellularly produced by *Monascus purpureus* CCR31499 in a shrimp and crab shell powder medium. *J. Agric. Food. Chem.*, 50, :2249-2255.

Weller, D.M., Cook, R. 1986. Increased growth of wheat by seed treatment with fluorescent *Pseudomonas* and implication of *Pythium* control. *Can. J. Plant. Pathol.*, 8:328-344.

X

Xie L., Huang S.L., Cen Z.L., Lu W.H., Qin B.X., Tang C.G., Hu C.J. and Qin L.P. (2010). First Report of Botryosphaerioidia causing sweet Osmanthus leaf dieback in China. *Agricultural Sciences in China* 9: 847-853.

Z

Zebib B. (2011). Diseases induced by Botryosphaeriaceae fungi in Lebanese vineyards. *Lebanese Science Journal* 15: 89-98.

Zereg A. (1987) - Contribution à l'étude des productions fruitières du pommier dans la région de Batna. Thèse. Ing. INA, El Harrach. Alger. 85p.

Sites Internet visités :

Anonyme 01. Source: <http://www.nancy.inra.fr/extranet/com/secheresse/secheresse.htm>

Anonyme 02. Source : http://domenicus.malleotus.free.fr/v/cerisier_aigre.htm

Anonyme 03. Source: <http://fr.wikipedia.org/w/index.php?oldid=55219040>

Anonyme 04. Source: <http://verger.comprendrechoisir.com/comprendre/arbres-fruitiers>

Anonyme 05. Source: <http://media.gerbeaud.net/2014/05/640/puceron-noir-cerisier.jpg>

Anonyme 06. Source: <http://aramel.free.fr/Capnodis-tenebrionis.jpg>

Anonyme 07. Source: <http://i77.servimg.com/u/f77/17/60/41/61/gate-b12.jpg>

Anonyme08.Source::http://www.cliniquedesplantes.fr/uploads/media/answer/0001/01/thumb_263_answer_big.jpeg

Anonyme 09. Source: <http://www.biopix.eu/zoom.aspx?photoid=71062>

Anonyme 10. Source: <http://www.visoflora.com/images/original/la-mouche-de-la-cerise-visoflora-76698.jpg>

Anonyme11.Source:http://www.cliniquedesplantes.fr/uploads/media/default/0001/01/thumb_67_default_big.jpeg

Anonyme 12. Source: <http://adjaya.canalblog.com/images/000.jpg>

Anonyme 13. Source: <http://www.biolib.cz/IMG/GAL/90527.jpg>

Anonyme 14. Source: <http://data.gbif.org/Species/13238979/>

ANNEXES

Annexe A

**DIAGRAMME OMBROTHERMIQUE CLIMAGRAMME
D'EMBERGER DES REGIONS D'ETUDE**

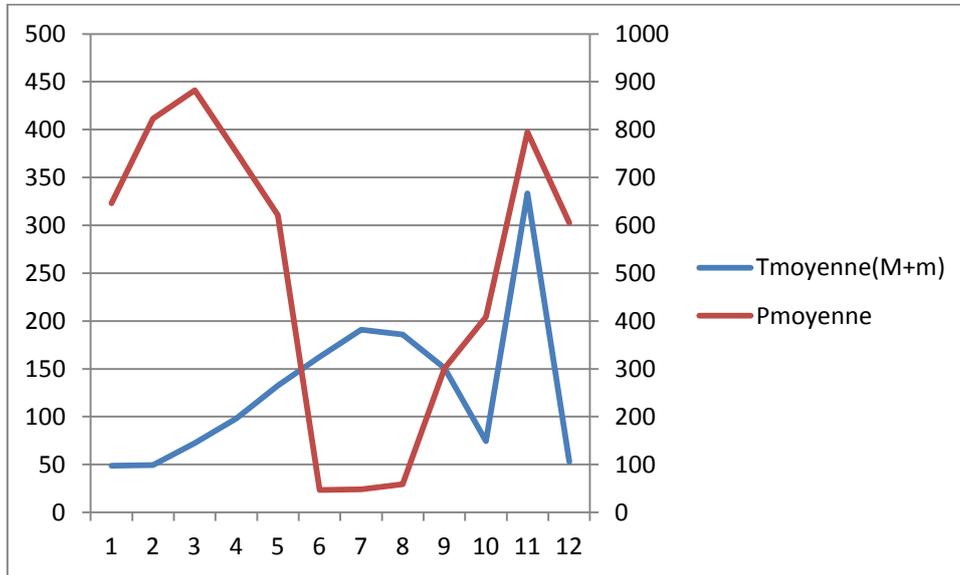


Figure.48 : Diagramme Ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN de la région de Médéa pour la période (2006-2012)

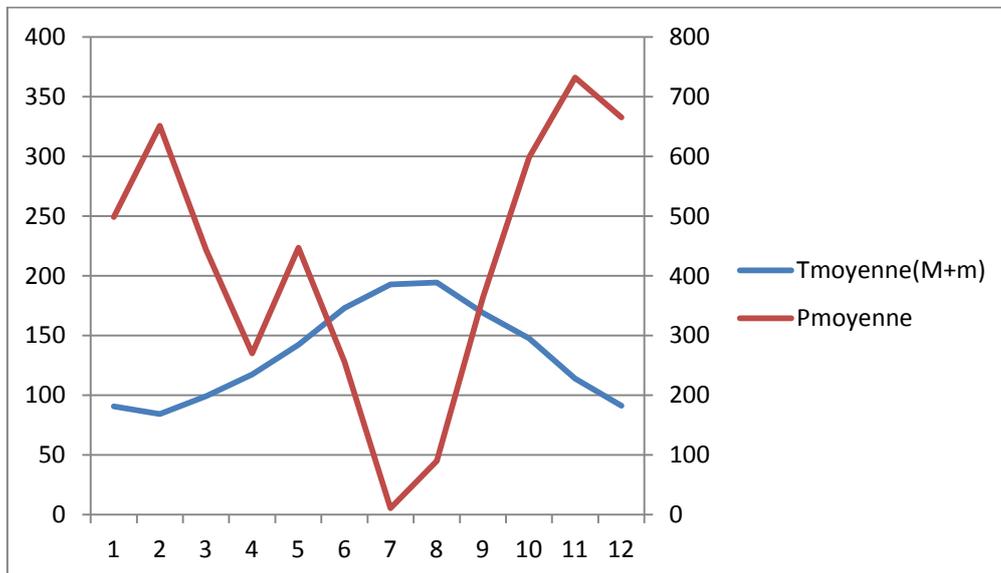


Figure.49 : Diagramme Ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN de la région de Blida pour la période (2006-2012)

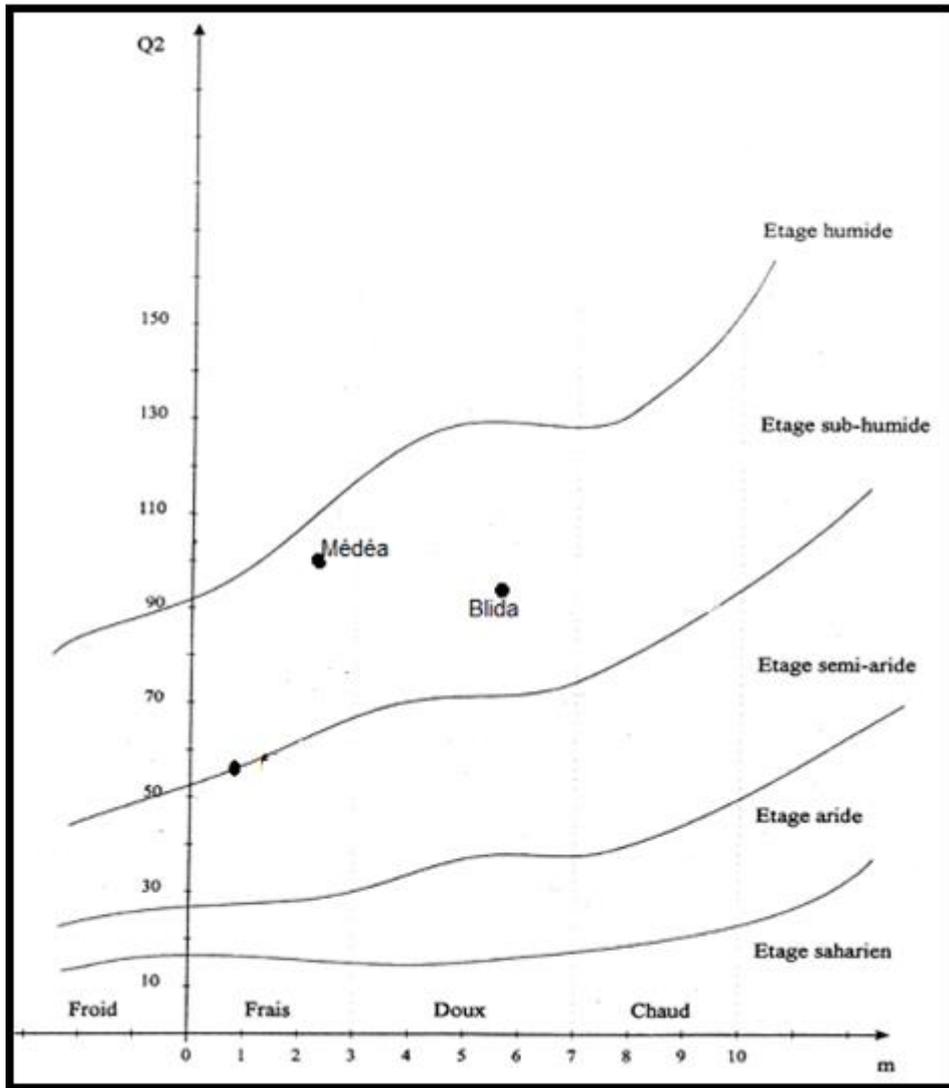


Figure.50 : Climagramme d'Emberger de nos régions d'études

L'indice d'Emberger permet la caractérisation des climats et leurs classifications dans les étages bioclimatiques, il est calculé par le biais du coefficient pluviométrique dont l'équation selon (Stewart, 1996) :

$$Q_2 = 3.43 (P / M - m)$$

P= pluviométrie annuelle (mm)

M= Moyenne des températures maximales du mois le plus chaud

m= Moyenne des températures minimales du mois le plus froid

Annexe B

COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE

- La dissolution des ingrédients s'effectue dans de l'eau distillée (volume déterminé) dans un bécher.
- Le milieu est à l'autoclave pendant 20 minutes, à une température d'environ 120°C et correspondant à une pression de 1 bar.
- Il est ensuite placé à température ambiante afin de le refroidir pour le manipuler plus facilement et surtout afin d'éviter la condensation sur les couvercles des boîtes de Petri.

1. Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

20 g pomme de terre, 20g Glucose, 20 g Agar, 1000 ml Eau distillée

2. Milieu GN (Gélose nutritive)

1.0 g Extrait de viande, 2.0 g Extrait de levure, 5 g Peptone, 5g Chlorure de Sodium, 15 g Agar, 1000 ml Eau distillée