

UNIVERSITE BLIDA I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Biotechnologies

MÉMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Biodiversité et Bioprotection

RECHERCHE ET IDENTIFICATION MORPHOLOGIQUE ET MOLECULAIRE DES *BOTRYOSPHAERIACEAE* ASSOCIEES AU DEPERISSEMENT DES AGRUMES ET DE QUELQUES *ROSACEAE* DANS LA PLAINE DE LA MITIDJA

Par

M^{elle} Mounia ARKAM

Devant le jury composé de :

C. Chaouia	Maître de conférences classe A, U. Blida I	Présidente
A. Berraf-Tebbal	Maître de conférences classe A, U. Blida I	Promotrice
Z. Krimi	Professeur, U. Blida I	Examinatrice
H. Boureghda	Maître de conférences classe A, ENSA	Examinatrice

Novembre , 2015

RESUME

Recherche et identification morphologique et moléculaire des *Botryosphaeriaceae* associées au dépérissement des agrumes et de quelques *Rosaceae* dans la plaine de la Mitidja

Les *Botryosphaeriaceae* sont considérées parmi les plus graves pathogènes des plantes ligneuses, du fait qu'elles touchent la productivité et la longévité des sujets. Dans ce contexte, une étude a été menée sur les agrumes et quelques *Rosaceae* dans deux localités de la plaine de la Mitidja afin de déterminer l'étiologie des *Botryosphaeriaceae* qui affectent le bois de ces espèces fruitières.

L'analyse de 80 troncs et rameaux des arbres a mis en évidence la présence de 145 nécroses dont 54 sur les agrumes, 30 sur le pommier, 31 sur le pêcher et 30 sur l'abricotier qui se répartissent en 9 types. Les nécroses du type brun et dure en position centrale (NBDC), claire et tendre en position centrale (NCTC) et brune et dure en position sectorielle (NBDS) sont les plus dominantes avec des 34, 35 et 38 respectivement.

Les isolements réalisés à partir des différentes lésions vasculaires, ont permis d'établir une collection de 168 isolats dont 98 sont des *Botryosphaeriaceae* soit un taux de 58,33%. La caractérisation morphologique et moléculaire par séquençage des ITS, a mis en évidence 6 espèces appartenant à 4 genres de la famille des *Botryosphaeriaceae* associées au phénomène de dépérissement des arbres fruitiers, à savoir : *Lasiodiplodia mediterranea* et *Lasiodiplodia citricola* sur les agrumes, *Neofusicoccum parvum*, *Neofusicoccum algeriense* et *Diplodia* sp. sur le pommier, le pêcher et l'abricotier et *Neoscytalidium dimidiatum* sur le pommier uniquement.

Un essai de pathogénicité a été entrepris pour examiner la virulence de ces espèces *vis-à-vis* des arbres hôtes. Les lésions causées par *L. mediterranea* sur les agrumes et *N. parvum* sur le pommier, le pêcher et l'abricotier étaient significativement les plus importantes avec des longueurs respectives de 4,14cm, 4,68cm, 5,98 et 4,85cm.

Mot clés. Agrumes, *Botryosphaeriaceae*, phylogénie, *Rosaceae*, test de pathogénicité.

SUMMARY

Research and morphological and molecular identification of *Botryosphaeriaceae* associated with *Citrus* and some *Rosaceae* dieback in the plain of Mitidja

The *Botryosphaeriaceae* are considered among the most serious pathogens of woody plants, because they affect the productivity and longevity of subjects. In this context, a study was conducted on citrus and some *Rosaceae* in two localities of the plain of Mitidja to determine the etiology of *Botryosphaeriaceae* affecting wood of these fruit species.

The analysis of 80 branches and trunks of trees showed the presence 145 necrosis which 54 on citrus, 30 of apple, peach and 31 of 30 on the apricot tree which fall into 9 kinds. Necrosis Brown and hard central necrosis (NBDC), clear and soft center position (NCTC) and brown and lasts industry position (NBDS) are the most dominant with 34, 35 and 38 respectively.

Isolations made from different vascular lesions, have established a collection of 168 isolates of which 98 are *Botryosphaeriaceae* a rate of 58.33%. Morphological and molecular characterization by sequencing the ITS, highlighted six species belonging to four genera of the family *Botryosphaeriaceae* associated dieback phenomenon of fruit trees, namely: *Lasiodiplodia mediterranea* and *Lasiodiplodia citricola* on citrus, *Neofusicoccum parvum*, *Neofusicoccum algeriense* and *Diplodia* sp. on apple, peach and apricot and apple on *Neoscytalidium dimidiatum* only.

A pathogenicity test was undertaken to examine the virulence of these species vis-à-vis the host trees. The lesions caused by *L. mediterranea* on citrus and *N. parvum* on apples, fish were significantly larger with respective lengths 4,14cm, 4,68cm, 4,85cm and 5.98.

Keywords. *Citrus*, *Rosaceae*, *Botryosphaeriaceae*, phylogeny, pathogenicity test.

ملخص

بحث وتعريف المرفلوجي والجزيني ل *Botryosphaeriaceae*

المرتبطة بهلاك أشجار الحمضيات وبعض الورديات في سهل متيجة

تعد عائلة *Botryosphaeriaceae* من بين الفطريات الأكثر خطورة على جذوع النباتات من ناحية أنها تؤثر على عمر ومردودية الأشجار. في هذا السياق أجريت دراسة الحمضيات وبعض أشجار عائلة الورديات في منطقتين من سهل متيجة.

أظهرت ملاحظة 80 فرع وجذع من الأشجار 145 تلف موزعة كالتالي: 54 على الحمضيات، 30 على أشجار التفاح، 31 على أشجار الخوخ و 30 على أشجار المشمش. يعد التلف البني الصلب المركزي (NBDC)، الفاتح الرطب المركزي (NCTC) و البني الصلب المحيطي (NBDS) هم الأكثر تواجدا بالنسب التالية: 34, 35, و 38.

معاينة مختلف أنواع التلف أظهرت وجود 168 تلف من ضمنها 98 ينتمي إلى عائلة . .
Botryosphaeriaceae. أظهر التشخيص المورفولوجي و الجزيني بتسلسل ITS 6 أنواع مقسمة إلى أربعة أجناس من عائلة *Botryosphaeriaceae* مرتبطة بظاهرة هلاك تلف الأشجار المثمرة :
Lasiodiplodia citricola و *Lasiodiplodia mediterranea* على الحمضيات ،
Neofusicoccum parvum, *Neofusicoccum algeriense* و *Diplodia sp.* على أشجار التفاح، الخوخ والمشمش، في حين *Neoscytalidium dimidiatum* يوجد على أشجار التفاح فقط.

كما أجري اختبار القدرة الإراضية لدراسة دور هذه الأنواع، وكانت الآفات التي تسببها *L. mediterranea* في الحمضيات و *N. parvum* في التفاح والوخ أكبر بكثير مع الأطوال التالية بالترتيب: 4، 14 سم، 5، 97 سم، 3، 83 سم، 3، 66 سم و 5، 98 سم.

الكلمات الرئيسية: الحمضيات، الورديات ، *Botryosphaeriaceae*، نسالة، اختبار

القدرة المرضية

Remerciements

Au terme de ce travail, il m'est agréable de présenter mes plus vifs remerciements à :

*Mme. **BERRAF-TEBBAL A.**, Maitre de Conférences classe A à l'**Université BLIDA I**, qui a suivi ce travail avec beaucoup d'intérêt. Qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de ma gratitude les plus profondes pour le temps qu'elle m'a toujours accordé, pour son grand soutien moral et scientifique ainsi que pour ses précieux conseils et ses encouragements.*

*Je tiens à présenter mon grand respect et mes remerciements à Mme. **CHAOUIA**, Maitre de conférences classe A à L'**université BLIDA I**, pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Mes remerciements vont également à Mme. **KRIMI Z.**, Professeur à l'**Université BLIDA I** et Mme. **BOUREGHDA H.**, Maitre de conférences classe A à l'**Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie- ALGER**, qui ont accepté de porter juge à ce travail.*

*Toute ma considération et mes remerciements vont au Pr. **PHILLIPS A.J.L.** et Mme. **BERRAF A.** pour l'identification moléculaire des espèces au sein du **Laboratoire de l'Université LISBOA- PORTUGAL**.*

*Ma gratitude et ma reconnaissance vont à Mme **KESRI S.**, technicienne au **Laboratoire de Microbiologie** pour nous avoir accueilli et pour sa précieuse aide et son soutien moral et scientifique.*

*J'adresse mes sincères remerciements au Pr. **LAAFRI M.** et au Dr. **BELLALA R.**, enseignants à l'institut de médecine vétérinaire-BLIDA I ainsi qu'aux deux ingénieures de Laboratoire des productions animales, qui nous ont accueillis au début de ce travail.*

*Mes sincères remerciements s'en vont également à Melle **KERMIA S.** pour sa précieuse aide, son grand soutien durant toute la période d'expérimentation.*

*Mes remerciements à Mr. **CHOUIH S., Khadidja et Khalida** pour leur aide.*

*Que tous les enseignants du **Département des Biotechnologies** de l'**Université BLIDA I**, trouvent ici ma haute considération et mes remerciements pour leur précieuse formation.*

Je ne peux achever cet avant propos sans remercier vivement tous les agriculteurs de Blida et Alger, qui sont eux ce travail n'aurait jamais existé, pour leur collaboration dans le travail de terrain et surtout de nous avoir permis de réaliser les prélèvements dans leurs vergers.

Que toutes les personnes ayant participées de près ou de loin à la réalisation de ce travail, trouvent l'expression de ma haute considération.

Dédicace

A mes très chers parents ;

Lumière, bonheur et joie de ma vie, je vous offre le fruit de ce travail. De mon plus fond du cœur je vous remercie pour toutes vos prières, vos encouragements et vos conseils qui m'ont suivi durant tout mon parcours d'étude mais surtout de la vie.

A mes adorables sœurs, **R**achda, **S**abrina, **N**ina et **T**hiziri et mes très chers frères **B**ouزيد et **L**yes. Tout le temps vous étiez présents à me pousser et m'encourager. N'oubliez jamais que c'est de vous que je tire toute cette force pour aller de plus en plus loin.

A mon adorable petite nièce **S**ylia et son papa.

A ma tante **Z**akia, mon oncle **I**dir et mes cousins **B**ilal, **Y**asmine, **A**mel et en particulier **A**ya.

A ma tante **F**atma.

A mes deux grands-mères **L**aaldja et **Z**ahra et mon grand père **Y**ahia.

A toutes mes tantes et mes oncles et leurs enfants.

A mes amies : **L**ila, **F**ouzia, **S**arah, **F**atima, **Y**amina, **K**arima, **L**ouiza, et **S**arah.

A mes très chères amies **F**atiha et **H**ana.

A mon ami ; **S**adikou

A **H**abbaz **M**.

Mounia

TABLE DE MATIERE

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des illustrations, graphiques et tableaux

Remerciement

Dédicace

INTRODUCTION	15
CHAPITRE I. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	18
1. Généralités.....	18
1.1. Agrumes.....	18
1.1.1. Origine et distribution biogéographique.....	18
1.1.2. Taxonomie et génétique.....	18
1.1.3. Ecologie et phénologie.....	19
1.2. Pommier.....	20
1.2.1. Origine et distribution biogéographique.....	20
1.2.2. Taxonomie et génétique.....	21
1.2.3. Ecologie et phénologie	21
1.3. Pêcher	22
1.3.1. Origine et distribution biogéographiques	22
1.3.2. Taxonomie et génétique	23
1.3.3. Ecologie et phénologie	23
1.4. Abricotier	24
1.4.1. Origine et distribution biogéographique	24
1.4.2. Taxonomie et génétique	24
1.4.2. Ecologie et phénologie.....	25
2. Importance la filière	25
2.1. Dans le monde.....	25
2.2. En Algérie.....	28
2.3. Contrainte de production.....	30
3. Dépérissement	32
3.1. Concept de dépérissement	32

3.2. Facteurs de dépérissement.....	32
3.2.1. Facteurs prédisposant.....	34
3.2.2. Facteurs déclenchant	34
3.2.3. Facteurs aggravants.....	35
3.3. Les Botryosphaeriaceae et le dépérissement	35
3.3.1. Généralités.....	35
3.3.2. Mode d'infection et mécanisme de transmission.....	36
3.3.3. incidences de la famille des <i>Botryosphaeriaceae</i>	36
3.4. Taxonomie et phylogénie.....	37
3.5. Lutte contre le dépérissement botryosphaeriale.....	40
CHAPITRE II. METHODOLOGIE.....	41
2.1. Site d'étude.....	41
2.1.1. Localisation géographique.....	41
2.1.1.1. Caractéristiques climatiques des régions d'étude	42
2.2. Identification des agents pathogènes impliqués le dépérissement des arbres fruitiers.....	42
2.2.1. Isolement, purification et conservation des Botryosphaeriaceae.....	42
2.2.1.1. Prélèvement des troncs et rameaux à analyser	42
2.2.1.2. Désinfection des bûchettes et isolement.....	42
2.2.1.3. Purification et conservation des isolats.....	44
2.2.2. Méthodes d'identification des isolats.....	45
2.2.3. Identification moléculaire des Botryosphaeriaceae	47
2.2.4. Construction des arbres phylogénétiques.....	47
2.2.4.1. Traitement des séquences.....	47
2.2.4.2. Alignement des séquences.....	53
2.2.4.3. Construction des arbres phylogénétiques.....	53
2.2.4.4. Visualisation des arbres phylogénétiques.....	54
2.3. Caractérisation morphologique des isolats.....	54
2.3.1. Caractères culturels et aspect morphologique des colonies.....	54
2.3.2. Induction de la sporulation sur les brindilles de peuplier.....	56
2.4. Pathogénicité des espèces identifiées	56
2.4.1. Prélèvement et préparation des boutures.....	56

2.4.2. Inoculations des champignons.....	56
5.4.3. Mesure des nécroses, ré-isolément et identification des agents pathogènes.....	57
CHAPITRE III. RESULTATS.....	58
3.1. Diagnostic sur le terrain.....	58
3.1.1. Description des symptômes externe.....	58
3.1.2. Description des symptômes internes du bois des arbres fruitiers.....	58
3.2. Dénombrement des différents types de nécrose.....	60
3.2.1. Sur agrumes.....	61
3.2.2. Sur pommier.....	63
3.2.3. Sur pêcher.....	65
3.2.4. Abricotier	67
3.3. Agents pathogènes impliqués dans le dépérissement.....	69
3.3.1. Fréquences d'isolement des agents fongiques.....	69
3.3.2. Fréquence d'isolément des <i>Botryosphaeriaceae</i>	69
3.4. Identification des espèces	70
3.4.1. Identification de <i>Lasiodiplodia</i> sp.....	70
3.4.1.1. Caractérisation moléculaire des isolats <i>Lasiodiplodia</i> sp.....	70
3.4.1.2. Caractères phénotypiques de <i>Lasiodiplodia</i> sp.....	72
3.4.2. Identification de <i>Neofusicoccum</i> sp.	73
3.4.2.1. Caractérisation moléculaire des isolats <i>Neofusicoccum</i> sp.....	73
3.4.2.2. Caractérisation phénotypique des isolats <i>Neofusicoccum</i> sp.....	75
3.4.3. Identification de <i>Diplodia</i> sp.....	76
3.4.3.1. Caractérisation moléculaire des isolats <i>Diplodia</i> sp.....	76
3.4.3.2. Caractérisation phénotypique des isolats <i>Neofusicoccum</i> sp.....	78
3.4.4. Identification de <i>Neoscytalidium</i> sp.....	79
3.4.4.1. Caractérisation moléculaire des isolats <i>Neoscytalidium</i> sp.....	79
3.4.4.2. Caractérisation phénotypique des isolats <i>Neoscytalidium</i> sp.....	81
3.5. Dénombrement et répartition des espèces	82
3.5.1. Fréquence d'isolement des espèces	82
3.5.2. Répartition des espèces selon le type de nécrose	83
3.5.3. Distribution spatiale	84
3.6. Test de pathogénicité.....	86

3.6.1. Mensuration des nécroses.....	86
3.6.1.1. Sur les agrumes	86
3.6.1.2. Sur les <i>Rosaceae</i>	86
3.6.2. Ré-isolément des agents pathogènes.....	88
CHAPITRE IV. DISCUSSION.....	89
4.1. Symptomatologie.....	89
4.2. Identification des espèces de Botryosphaeriaceae impliqués dans le déperissement.....	90
5.3. Test de pathogénicité.....	92
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	95
APPENDICE.....	97
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	110

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Tableau 1.1. <i>Superficies et productions mondiales en agrumes, en pomme, en abricot et en pêche et nectarine selon la FAO.....</i>	27
Tableau 1.2. <i>Evolution de la surface et la production nationale des agrumes, des pommes, des abricots et des pêches en 2014.....</i>	29
Tableau 1.3. <i>Maladies et ravageurs des agrumes, du pommier, du pêcher d'abricotier en Algérie.....</i>	31
Tableau 2.1. <i>Caractéristiques stationnelles des sites d'études.....</i>	42
Tableau 2.2. <i>Caractéristiques phénotypiques des agents fongiques impliqués dans le dépérissement des arbres.....</i>	44
Tableau 2.3. <i>Numéros d'accession à GenBank et données des espèces de Lasiodiplodia utilisées pour la reconstruction des arbres phylogénétiques.....</i>	48
Tableau 2.4. <i>Numéros d'accession à GenBank et données des espèces de Neofusicoccum utilisées pour la reconstruction des arbres phylogénétiques..</i>	49
Tableau 2.5. <i>Numéros d'accession à GenBank et données des espèces de Diplodia et Lasiodiplodia utilisées pour la reconstruction des arbres phylogénétiques.....</i>	51
Tableau 2.6. <i>Numéros d'accession à GenBank et données des espèces de Diplodia et Lasiodiplodia utilisées pour la reconstruction des arbres phylogénétiques.....</i>	52
Tableau 2.7. <i>Données des espèces outgroups utilisées pour la reconstruction des arbres phylogénétiques.....</i>	55
Tableau 3.1. <i>Description des différents types de nécroses.....</i>	58
Tableau 3.2. <i>Dénombrement des différents types de nécroses.....</i>	60
Tableau 3.3. <i>Fréquences des différents types de nécrose sur les agrumes... </i>	61
Tableau 3.4. <i>Fréquences des différents types de nécrose sur le pommier....</i>	63
Tableau 3.5. <i>Fréquences des différents types de nécrose sur le pêcher.....</i>	65
Tableau 3.6. <i>Fréquences des différents types de nécrose sur l'abricotier.....</i>	67
Tableau 3.7. <i>Nombre et fréquence des agents fongiques isolés.....</i>	69
Tableau 3.8. <i>Dénombrement des Botryosphaeriaceae isolés à partir des différents arbres fruitiers.....</i>	70
Tableau 3.9. <i>Fréquence des agents fongiques.....</i>	82

Tableau 3.10. Fréquence de ré-isolement des espèces.....	88
Figure 1.1. Spirale de déclin.....	34
Figure 1.2. L'un des 16 arbres les plus parcimonieux aussi obtenus à partir de l'analyse combinée de 5 loci (SSU, LSU, ITS, EF1 - α et β - tubuline), pour tous les genres des Botryosphaeriaceae qui sont connus des cultures.....	49
Figure 2.1. Localisation géographiques des zones d'étude.....	41
Figure 2.2. Schéma des étapes de la caractérisation morphologique et moléculaire des isolats.....	46
Figure 3.1. Symptômes externes liés au dépérissement des vergers.....	59
Figure 3.2. Symptômes associés à la maladie du tronc sur agrumes.....	62
Figure 3.3. Symptômes associés à la maladie du tronc sur pommier.....	64
Figure 3.4. Symptômes associés à la maladie du tronc sur pêcher.....	66
Figure 3.5. Symptômes associés à la maladie du tronc sur abricotier.....	68
Figure 3.6. Un des 52 arbres phylogénétiques de <i>Lasiodiplodia</i> obtenus par le maximum de parcimonie à partir de l'alignement des séquences des ITS (119 pas, CI = 0.832, RI = 0.908, HI=0.168) : les nombres sur les lignes sont les valeurs de Bootstrap supérieur 70% avec un ré-échantillonnage de 1000 fois. <i>D. mutila</i> et <i>D. seriata</i> ont été utilisées comme outgroup.	71
Figure 3.7. <i>Lasiodiplodia</i> sp.....	72
Figure 3.8. Un des 326 arbres phylogénétiques de <i>Neofusicoccum</i> obtenus par le maximum de parcimonie à partir de l'alignement des séquences des ITS (178 pas, CI = 0.708, RI = 0.892, HI=0.292) : les nombres sur les lignes sont les valeurs de Bootstrap supérieur 70% avec un ré-échantillonnage de 1000 fois. <i>Bot. dothidea</i> et <i>B. corticis</i> ont été utilisées comme outgroup	74
Figure 3.9. <i>Neofusicoccum</i> sp	75
Figure 3.10. Un des 326 arbres phylogénétiques de <i>Diplodia</i> obtenus par le maximum de parcimonie à partir de l'alignement des séquences des ITS (37 pas, CI = 1.000, RI = 1.000, HI=1.000) : les nombres sur les lignes sont les valeurs de Bootstrap supérieur 64% avec un ré-échantillonnage de 1000 fois. <i>L. theobromae</i> utilisée comme outgroup.....	77
Figure 3.11. <i>Diplodia</i> sp.....	78

Figure 3.12. Un des 326 arbres phylogénétiques de <i>Neoscytalidium</i> obtenus par le maximum de parcimonie à partir de l'alignement des séquences des ITS (37 pas, CI = 1.000, RI = 1.000, HI=1.000) : les nombres sur les lignes sont les valeurs de Bootstrap supérieur 64% avec un ré-échantillonnage de 1000 fois. <i>Bot. Dothidea</i> et <i>B. corticis</i> utilisée comme outgroup.....	80
Figure 3.13. <i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	81
Figure 3.14. Répartition des espèces fongiques selon le type de nécrose.....	84
Figure 3.15. Carte de répartition des différentes espèces de <i>Botryosphaeriaceae</i> à travers les régions d'étude.....	85
Figure 3.16. Mensuration et décoloration sur les boutures des agrumes.....	86
Figure 3.17. Mensuration et décoloration sur les boutures des <i>Rosaceae</i>	87

INTRODUCTION

Sur le plan économique, la diversité biologique des espèces est d'une importance vitale pour l'homme d'autant qu'elle est la source principale des matières premières dont il a besoin. Toutefois, son appauvrissement diminue tous les avantages socioéconomiques et écologiques et peut compromettre la capacité des générations futures [1].

L'Algérie est un grand centre de diversité biologique. L'arboriculture fruitière est un des secteurs les plus diversifiés. Il est constitué d'espèces rustiques, caractéristiques de la région, comme l'olivier, les agrumes et le figuier et d'espèces plus exigeantes et délicates (*Rosaceae* à noyaux et à pépins) [2]. Sur une Surface Agricole Utile totale (S.A.U.) de 8,46 millions ha, les plantations fruitières, occupent une aire d'environ 900 mille ha, soit 10,62 % de la S.A.U. Sur l'ensemble de ces plantations, aucune spéculation n'a connue une hausse significative en terme de superficie sauf l'olivier qui a connu un élargissement de ses terrains de 10%. Quant aux productions, des hausses plus au moins importantes sont enregistrées pour toutes les cultures fruitières avec 17% pour l'olivier, 10% pour le figuier et le palmier dattier et 5 % pour les Agrumes. Tandis que les *Rosaceae* à pépin et à noyaux ont connue une baisse de production de 9%. Cette situation nous pousse à nous interroger sur les contraintes auxquels est affrontée l'arboriculture fruitière algérienne [3].

En effet, plusieurs obstacles freinent l'évolution de cette filière, entre autre les maladies fongiques vasculaires qui échappent aux agricultures et dont le développement n'est apparent qu'à un stade avancé, engendrant des pertes inestimables de la récolte et conduisant le plus souvent au dépérissement et à la mort des arbres [4]. Dans ce contexte, on cite la famille des *Botryosphaeriaceae* qui est une des grandes familles de champignons qui affectent les plantes ligneuses [5]. Cette famille comprend une gamme de diverses espèces qui sont soit des agents pathogènes, des endophytes ou des saprobes, principalement sur les hôtes ligneux [6]

Plusieurs travaux, visant à rechercher et identifier les *Botryosphaeriaceae* intervenant dans le phénomène de dépérissement, ont vu le jour à travers le monde entier. La vigne a eu la plus grande part de ces recherches. Plusieurs auteurs se sont intéressés aux maladies qui affectent les organes pérennes de la vigne comme l'eutypiose, le syndrome de l'esca et *Botryosphaeria Dieback*. Pour certaines de ces maladies, plusieurs agents fongiques peuvent être impliqués à la fois dont les *Botryosphaeriaceae* [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 et 14]. Tout comme la vigne, les *Rosaceae* et les agrumes sont sujets aux atteintes des *Botryosphaeriaceae* [15, 16]. Toutefois les recherches entreprises dans ce sens restent préliminaires et se limitent aux travaux d'Elena en Grèce [17], de Polizzi et al. en Italie [18] et de Adesemoye et al. Californie [19] sur les agrumes et de Damm et al. [180]; Slippers et al. [11] et Cloete et al., 2011 en Afrique du sud sur les *Rosaceae* [21].

En Algérie, peu d'intérêt est accordé à l'étude des dépérissements des arbres (fruitiers et forestiers) et peu de travaux traitent ceux causés par des *Botryosphaeriaceae*. Berraf et Péros ont été les premiers à initier les recherches dans ce domaine, lors de l'étude de l'eutypiose et l'esca de la vigne [12]. En 2012, six espèces de *Botryosphaeriaceae* ont été isolées à partir du bois déprissant de la vigne à savoir : *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia* sp., *Neofusicoccum parvum*, *N. australe*, *N. mediterraneum* et *Botryosphaeria dothidea*, dans le sahel algérois [13] et une nouvelle espèce, *Neofusicoccum algeriense*, a été décrite pour la première par Berraf-Tebbal et al. [14]. Ammed et al., quant à eux ont décrit trois espèces botryosphaeriales, *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, et *Neofusicoccum parvum* [15]. Sur les agrumes une nouvelle espèce, *Lasiodiplodia mediterranea*, a été identifiée par Berraf-Tebbal sur le bois déprissant de *Citrus sinensis* [14]. Cette même espèce a été reportée sur la vigne en Italie [16]. Dans le milieu forestier, l'étude de la microflore associée à *Platypus cylindrus* dans une subéraie littorale du Nord Ouest de l'Algérie menée par Belhoucine a révélé que *Botryosphaeria corticola*, isolée pour la première fois à partir de *Platypus cylindrus*, est un des facteurs aggravants le dépérissement des chênaies algériennes [22].

Le travail que nous proposons dans cette thématique a pour objectif la recherche et la caractérisation phénotypique et moléculaire des espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* impliquées dans le dépérissement des agrumes, du pommier, du pêcher et de l'abricotier dans la plaine de la Mitidja. A cet effet nous avons ciblé deux régions, Alger et Blida, où 6 vergers ont été prospectés et cela dans 4 différentes localités : Staoueli, Chiffa, Larabâa et Ouled Slama. L'étude comporte plusieurs étapes à savoir :

- Prélèvement des troncs et rameaux présentant les symptômes de dépérissement à partir des différents vergers ;
- Suivre des lésions vasculaires au niveau des troncs et rameaux à travers différentes coupes transversales, permettant de décrire différents types de nécroses ;
- Isolement de la microflore fongique à partir des buchettes découpées à la limite du bois nécrosé et sélection morphologique des *Botryosphaeriaceae* ;
- Sélection des isolats pour le séquençage ;
- Construction des arbres phylogénétiques sur la base des ITS ;
- Confirmation de l'identité des espèces par une description morphologique ;
- Test de pathogénicité des espèces identifiées sur les arbres hôtes.

CHAPITRE I.

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

1.1. Généralités

1.1.1. Agrume

1.1.1.1. Origine et distribution biogéographique

Les agrumes, appelés également Hespérides dans la mythologie grecque [23], sont des espèces originaires du Sud-Est asiatique, des contreforts de l'Himalaya [24], où elles sont cultivées dans les régions allant du Nord-Est de l'Inde au nord de la Birmanie et celle du sud de l'île de Hainan [25]. La première mention des agrumes se trouve dans les livres religieux de la Chine et de l'Inde entre 800 à 500 av. J.C. [24]. Leur culture se confond avec l'histoire des civilisations anciennes de la Chine, qui les cultivèrent d'abord pour leurs parfums, puis pour leurs fruits [26].

Bien qu'ils soient originaires des pays chauds, les agrumes ont rejoint aujourd'hui les cinq continents au gré des conquêtes, des échanges commerciaux et grâce à leur grande capacité d'adaptation. Ces espèces ont pu se développer dans des régions à des saisons plus marquées tel le pourtour méditerranéen, le Chili Central, l'Afrique de Sud et la Californie, où elles se sont adaptées à de fortes amplitudes thermiques (hivers doux à froids et étés très chauds et très secs) [24].

1.1.1.2. Taxonomie et génétique

La taxonomie et la phylogénie des *citrus* est très difficile et controversée en raison des différents systèmes taxonomiques [27]. Par ailleurs, la majorité des taxonomistes considèrent les agrumes des espèces appartenant à de la famille des *Rutaceae*, à la sous famille des *Aurantioideae*, à la tribu des *Citreae* et à la sous tribu des *Citrinae* [28]. Le terme "*Citrus*" est un terme général qui regroupe différents genres dont trois sont cultivés pour leurs fruits ou leurs huiles; *Citrus*, *Poncirus* et *Fortunella* [29] et qui rassemblent les huit espèces qui se trouvent dans le monde: *C. sinensis* (L.) Osb., l'oranger ; *C. aurantium* L., le bigaradier; *C.*

reticulata Blanco, le mandarinier ; *C. paradisi* Macf., le pomelo ; *C. maxima* (Burn.) Merr., le pamplemoussier ; *C. limon* (L.) Burm., citronnier ; *C. aurantifolia* (Christm.) Swing., le limettier et *C. medica* L., le cédratier. Ces espèces renferment en elles un grand nombre de variétés [30]. Celles-ci se répartissent en trois groupes en fonction de leurs similarités génétiques. Il s'agit du groupe des orangers et mandariniers, du groupe des pomélos et pamplemoussiers et du groupe des limes et citronniers [31]. Des travaux récents, basant sur la diversité génétique et la structure des populations, penchent à l'existence de 3 espèces ancestrales; le bigaradier (*C. aurantium*), le pamplemoussier (*C. maxima*) et le mandarinier (*C. reticulata*); qui seraient à l'origine des nombreuses espèces de citrus, qui en réalité sont des hybrides issus de croisement entre ces trois espèces [32].

Génétiquement, les agrumes sont des espèces diploïdes pour leur majorité, avec un nombre de chromosomes $2n=2x=18$ et un génome relativement petit de 372Mb pour l'oranger par exemple [33]. Les génomes; le plus grands et le plus petit, sont reportés sur les deux espèces haploïdes *C. medica* (Cédratier) et *C. reticulata* (Mandarinier) avec des nombres moyens de bases respectifs de 398Mb et 360 Mb. Le pomelo quant à lui possède un génome intermédiaire de 372Mb [34].

1.1.1.3. Ecologie et phénologie

L'agrumiculture est l'une des cultures arboricoles la plus répandue dans le monde [27]. Bien que les espèces de ce groupe soient originaires des zones intertropicales du Sud-est asiatique où la chaleur est constante (entre 15°C et 20°C) et l'humidité relative est très forte, certaines variétés ont pu s'adapter et se développer sous des climats plus hostiles [24]. Actuellement, les agrumes poussent dans les zones tropicales et subtropicales comprises entre une latitude de 35° N et 35° S [27].

Les agrumes présentent une grande capacité d'adaptation à des conditions pédoclimatiques très différentes. La culture de ces espèces est possible dans des zones à températures comprises entre 13°C et 39°C. Les besoins en eau des citrus varient entre 1200mm et 1500mm par an. En

dessous, l'agrumiculture nécessite une irrigation [35]. Sur le plan pédologique, les agrumes exigent des sols profonds et légers (sablo-argileux ou argilo-sableux) et bien drainés avec un pH idéal compris entre 5,5 et 7,5. Les agrumes redoutent les eaux salines (au-dessus de 0,5%) [36]. Dans le bassin méditerranéen et les zones tempérées, la culture des citrus reste possible en condition de surveillance d'irrigation et du seuil de résistance au froid des différentes variétés [24].

La définition des stades repères des arbres fruitiers, proposée par les différents auteurs; n'est pas toujours la même. Les phénomènes végétatifs décrits ou leur période d'apparition peuvent d'ailleurs différer d'une espèce fruitière à une autre ou d'une variété à l'autre [37]. Chez les agrumes, on note 3 flux végétatifs amorcés par les pluies. Le premier flux débute en mois de mars et le second au mois d'août. Quant au dernier, il survient au mois d'octobre [38] et amorce le début de la floraison [39, 40]. Celle-ci est continue tout le long de l'année sur les citronniers et limettiers. Sur les autres espèces on peut y avoir une ou 2 périodes de floraisons par an [41].

1.1.2. Pommier

1.1.2.1. Origine et distribution biogéographique

L'Asie centrale a été rapportée pour contenir la plus grande diversité des espèces du genre *Malus*. Cette zone ; où la pomme est cultivée depuis plus de 10.000 ans, semble être le centre d'origine de la pomme domestique [42]. De Candolle dans son ouvrage "Origine des plantes cultivées" propose que le pommier sauvage ; *Malus sieversii*, de la région de Turkistan et ses proches parents sont les précurseurs de la pomme domestique [42]. Rehder, et Mehlenbacher et *al.* et Dirlewanger et *al.*, quant à eux, ont considéré que, parce que le pommier sauvage ; *M. sieversii*, porte des fruits semblables à la pomme domestique, ils doivent probablement décoller d'un ancêtre commun [44, 45, 46]. Aujourd'hui; *M. sieversii*, qui pousse de façon sauvage au Kazakhstan et au Kirghizistan, est pensé pour être la principale espèce progénitrice [47].

Les études historiques ont montré que le transfert des semences de la pomme par des êtres humains ou des animaux a probablement contribué à

sa dispersion à partir du centre de son origine à d'autres parties du monde. Actuellement, le pommier connaît une large distribution dans de très grandes régions du monde en particulier les zones tempérées [47]. Cette espèce se retrouve en Asie de l'Ouest, en Himalaya, en Asie Centrale, en Inde, en provinces de l'ouest de la Chine, en Europe et dans certaines parties de l'Amérique et de l'Afrique [48].

1.1.2.2. Taxonomie et génétique

La plupart des pommes cultivées *Malus^x domestica* ; portant également l'appellation *M. pumila*, appartiennent à la famille des *Rosaceae* [49, 50, 51]; à la sous famille *Maloideae*, qui provient de l'hybridation des deux ancêtres ; *Spiraeoideae* et *Prunoideae*, suivie de la fusion complète de gamètes pour former un organisme fertile [52] et au genre *Malus*. Les espèces de ce genre se répartissent en cinq sections ; *Malus*, *Sorbomalus*, *Chloromeles*, *Eriolobus* et *Docyniopsis* [53].

La pomme commerciale est une espèce hybride avec une histoire d'hybridation inter- et intraspécifique très complexe. Le nom scientifique de la pomme domestique est donc souvent écrit avec un «^x» entre le genre et l'espèce [54]. La majorité des cultivars de pomme sont diploïdes avec un nombre de chromosomes $2n = 34$ et un génome de taille moyenne ($1C = 2,25$ pg qui correspond à environ $1,5 \times 10^9$ pb) [55]. Certains cultivars sont triploïdes avec $2n = 3x = 51$ [47]. Probablement, la sous-famille *Maloideae* a résulté d'une ancienne autopolyploidization d'un ancêtre de 9 à 18 chromosomes qui a perdu des chromosomes par la suite donnant ainsi des cultivars de pomme de 17 chromosomes, tandis que les autres sous-familles ont 7, 8 ou 9 chromosomes [51, 56, 57].

1.1.2.3. Ecologie et phénologie

Le pommier est une espèce des zones tempérées [47, 58]. En revanche, cet arbre peut pousser sous d'autres climats tel le climat subtropical et le climat tropical en haute altitude où l'on peut avoir deux récoltes par an [47].

La levée de la dormance des arbres à feuille caduque, entre autre le pommier, est amorcé par une somme des températures froides [47] de l'ordre de 7,2°C pendant une période de 800 à 1600 heures [58]. Des températures de 21 à 26 °C sont les plus favorables à l'activité des abeilles lors de la pollinisation. Des nuits fraîches et une lumière intense sont très favorables à la bonne coloration et maturité des fruits. Le pommier peut se développer sous différents substrats pédologiques. Mais les sols bien drainés, légèrement acides, argilo-limoneux profonds et riches en matière organique sont les plus favorable [59].

Plusieurs systèmes de description accompagnés de dessins représentatifs des principaux stades repères des arbres fruitiers ont été proposés. Le plus couramment utilisé est le code Baggiolini subdivisé en 16 stades de A à P. Dans les années 90, un code décimal (de 00 à 100) appelé échelle BBCH a finalement permis de disposer d'un système uniforme pour décrire le développement de l'ensemble des plantes cultivées [60, 61].

Le développement phénologique du pommier domestique se réalise en 10 stades (de A à J selon le code de Baggiolini) qui se déroule en 76 jours (échelle de BBCH) [62, 63]. Les fruits atteignent la pleine maturité au 87 au 89^e jour [37].

1.1.3. Pêcher

1.1.3.1. Origine et distribution biogéographiques

De son nom latin, le pêcher *Prunus persica*, laisse supposer qu'il est originaire de la Perse [43, 64]. Hors que sa vraie origine se trouve en Chine où les pêches sont symbole de la fécondité et de l'immortalité [65]. C'est probablement les caravanes qu'ils l'ont emporté en Asie occidentale, puis sur les bords de la Caspienne, enfin en Iran, en Syrie et en Arabie Saoudite [64]. Cet arbre a atteint la Perse et le bassin méditerranéen au IV^e siècle [66] où les grecs et les romains qui l'ont reçu au début de l'ère chrétienne [43] et cultivé ont supposé qu'il en est originaire ; et lui donnent le nom de pomme de la Perse, *Prunus persica* [64].

1.1.3.2. Taxonomie et génétique

Le pêcher (*Prunus persicae* L.) est une espèce de la famille des *Rosaceae*, de la section des *Euamygdalus*, sub-genre du genre *Amygdalus* et du genre *Prunus* [34]. Cette espèce a été longtemps confondue avec l'amandier qui contrairement au pêcher possède un mésocarpe qui se dessèche et s'ouvre à maturité et des feuilles avec des nervures fines [67].

Comme toutes les espèces des *Rosaceae*, le pêcher porte le petit génome collinaire caractéristique de cette famille avec un nombre de chromosome diploïde de $2n=16$ [34]. Sur le plan génétique, le génome du pêcher est le mieux caractérisé et l'un des plus connus de tous les arbres feuillus. Sa séquence a été récemment publiée [68, 69]. Dans certains cas le pêcher peut être haploïde avec un nombre de chromosomes $n=8$. Dans ce cas, l'arbre provient des ovaires non fécondés des pieds femelles [67]. Becker a obtenu deux cas de monopoïdie suite à un croisement de la nectarine avec le pêcher commun. Les pieds issus de ce croisement étaient de petite taille et procédaient tous les caractères récessifs du pied femelle. Ce même auteur a étudié la germination des grains de pollen de ces pieds haploïde qui ne dépasse pas 7% [70].

1.1.3.3. Ecologie et phénologie

Originaire de la Chine, le pêcher est espèce qui pousse le mieux sous des climats à des étés très chauds. De ce faite, certaines variétés n'ont pas succombé au climat froid subtropical [51]. Cet arbre pousse mieux sous les climats méditerranéens. Ses besoins en chaleurs sont de 250 à 900 UF. Une fois les besoins en froid sont satisfaits, le bourgeon a besoin de températures élevées pour débourrer. C'est l'effet des deux types de températures qui conditionne la période de floraison [71].

Le système racinaire semi-pivotant du pêcher nécessite sa plantation dans des sols assez profonds. Les sols perméable et aères lui sont les plus favorables. Contrairement, les sols lourds et mal drainés provoquent une asphyxie radriculaire du système racinaire. Dans ce cas, il est conseillé d'installer des réseaux de drainage pour éviter la situation de l'hydromorphie qui peuvent compromettre la vie de l'arbre. Les sols

calcaires sont également défavorables. Une teneur en calcaire actif de 7% provoque des chloroses qui se manifestent par un jaunissement des feuilles puis leur dessèchement [71].

Sur le plan phénologique, le pêcher accomplit ses différents stades en 72 jours (échelle BBCH) passant ainsi par 9 stades principaux de A à I (code de Baggiolini) [62, 63]

1.1.4. Abricotier

1.1.4.1. Origine et distribution biogéographique

Bien qu'il ait pour appellation le nom scientifique *Prunus armeniaca* L. en rapport avec l'Armani [72], l'abricotier est espèce originaire de la Chine [73]. Maugard fut le premier à donner les motifs de la diversification des plantes cultivées en indiquant trois centres origines principaux : la Chine central, l'Asie centrale et le proche orient [74]. La culture de l'abricotier remonte à la fin du troisième millénaire av. J.C [43]. Mille ans plus tard, cette espèce a été introduite en Asie central [75] et vers le premier siècle av. J.C. elle a atteint le bassin méditerranéen [72].

L'abricotier a pour particularité une très grande régionalisation des cultivars et ses variétés sont adaptées à des zones de culture très étroites [76]. Actuellement on le retrouve aux Etats-Unis 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, Algérie et Tunisie. La Turquie, le Pakistan et l'Iran sont les plus grands producteurs d'abricot du monde [77]

1.1.4.2. Taxonomie et génétique

L'abricotier, *Prunus armeniaca* L., appartient à la famille des *Rosaceae*, à la sous-famille des *Prunoideae*, au genre *Prunus* L., au sous-genre *Prunophora* (Neck) Focke et à la section *Armeniaca* (Lam.) Koch [78]. Sous le terme générique "Abricotier" on retrouve différentes espèces dont les plus connues sont *Prunus sibirica* L. (Abricotier de Sibérie), *Prunus mume* Sieb. et Zucc. (Abricotier japonais), *Prunus brigantiaca* Vill.

(Abricotier des Alpes), *Prunus holosericea* Batal. (Abricotier tibétain), *Prunus mandshurica* Maxim. (Abricotier de Mandchourie), et *Prunus dasycarpa* Ehr. (Abricotier noir) [79].

Sur le plan génétique, l'abricotier est une espèce diploïde avec $2n=16$ et un génome de petite taille, caractéristique des *Rosaceae*, de 295 mégabases (Mb) [33]. Les génomes diploïdes au sein du genre *Prunus* sont très colinéaires et ce dernier peut être considéré du point de vue génétique commune une seule entité [80].

1.1.4.2. Ecologie et phénologie

L'abricotier est espèce dont variétés sont adaptées à des zones de culture très étroites [75]. Cette espèce est très exigeante en froid hivernal (700 à 1000 heures en dessous de 7,2 °C). Sa floraison survient juste après l'amandier et avant le pêcher [71]. Par ailleurs, l'abricotier reste une espèce très vigoureuse et peut se développer dans des climats tempérés allant des oasis sahariens aux grands lacs canadiens et sous les basses températures de l'Europe et du Canada et moyennement basses des pays du Maghreb [87]. Sur le plan pédologique, *Prunus armeniaca*, possède un meilleur développement sur des sols profonds argilo-limoneux bien drainés sont les plus [81]. Lichou et Jay montrent que les variétés traditionnellement cultivées présentent généralement une aire d'adaptation pédoclimatique très limitée [87].

Selon Auclair et *al.* et Bokenge, le développement phénologique de l'abricotier passe par 9 stades (de A à I selon le code de Baggiolini) pendant 72 jours (selon l'échelle BBCH) [62, 63].

1.2. Importance la filière

1.2.1. Dans le monde

L'arboriculture fruitière est une filière qui occupe une place très importante, tant que sur le plan social que sur le plan économique. Ce secteur contribue à l'amélioration des conditions de vie des gens et à l'augmentation de leur revenu par la vente de ses produits [82 et 83]. De même, elle participe à l'autosuffisance alimentaire d'un pays *via* les fruits

frais et transformés (Jus, Confitures et Liqueurs) [84], au développement du secteur agro-industrielle, à la valorisation des zones montagnardes et de régions à microclimat, à la conservation des sols, ainsi qu'à la prévention contre les maladies telles que les cancers, le diabète ou les maladies cardio-vasculaires [83].

Occupant une place privilégiée au sein des sociétés d'hier et d'aujourd'hui [85], les agrumes sont considérés comme l'un des principaux articles de ménage pour plus de 100 pays à travers le monde [28]. En 2013, sa production a atteint 135 millions de tonnes, après la banane et les raisins, suivi de la pomme avec une production de 81 millions de tonnes dont environ 50% est produit par la Chine [86]. Le pêcher, quant à lui, est en première position dans la production des fruits à noyaux avec environ 22 millions de tonnes suivi du prunier puis l'abricotier avec seulement 4 millions de tonnes pour l'année 2013 (Tab. 1.1.) [86].

Tableau 1.1. *Superficies et productions mondiales en agrumes, en pomme, en abricot et en pêche et nectarine selon la FAO [86]*

	Surface (ha)	Production (Tonne)	Grandes zones de productions
Agrume	9678766.34	135761181.42	Bassin méditerranéen, Etats Unies, Brésil, Mexique et Chine.
Pomme	5217601.39	80822520.63	Chine, Etats Unies, Turkey, Pologne et Iran.
Pêche	1538174.34	21638953.24	Canada, Kenya, Égypte, Guatemala, Argentine et Albanie.
Abricot	504319.32	4111076.27	Arménie, Argentine, Italie, France, Albanie et Grèce.

1.2.2. En Algérie

En Algérie, la production agricole est dominée par les grandes cultures, le maraîchage, l'arboriculture et la phoeniciculture. Les grandes cultures s'étalent sur plus de la moitié des superficies cultivées. Tandis que l'arboriculture et le maraîchage représentent respectivement 6,5 % et 3,5 % soit 30 à 40 % des surfaces en jachère [1, 88]. En 2011, le volume d'affaires en cette filière était de 162,24 milliards DA avec une production nationale de 138,68 milliards DA soit 85,5%. Cependant la production fruitière est souvent en fluctuation ce qui peut compromettre l'arrivée de notre pays à l'autosuffisance alimentaire en matière de fruits.

En 2014, l'Algérie a consacré 3 065 544 ha soit 10,62 de S.A.U. (8,46 Millions ha) pour l'arboriculture fruitière dont 0,76% pour les agrumes, 0,57% pour le pommier, 0,55% pour l'abricotier et seulement 0,27% pour le pêcher. Comparativement à l'année 2013, la production des agrumes et de la pomme ont enregistrées des hausses respectives de 5,20% et 1,48% avec une augmentation infime des vergers agrumicoles et une régression de la surface des vergers de pommier de 1,62%. Quant aux abricots une grande chute de production de 32,16% avec une régression de la surface de 0,72% a été notée, faisant de cette spéculation la plus défailante pour l'année 2014. Concernant la pêche, une baisse de production de 8,85 a été calculée malgré l'accroissement de ses terrains (1,09%) (Tab. 1.2.) [3].

Tableau 1.2. Evolution de la surface et la production nationale des agrumes, des pommes, des abricots et des pêches en 2014 [3].

	2013		2014		Taux d'accroissement (%)	
	Surface (ha)	Production (qx)	Surface (ha)	Production (qx)	Surface (ha)	Production (qx)
Agrumes	64771	12048510	66017	12710030	+0,01	+5,20
Pommier	48064	4559 372	46 830	4628154	-1,63	+1,48
Abricotier	46893	3197836	46553	2169411	-0,72	-32,16
Pêcher	23327	1922027	23 590	1751740	+1,09	-8,85

1.2.3. Contrainte de production

De tout les temps, les plantes cultivées furent atteintes par les maladies (viroses, bactérioses et mycoses) ou la proie de ravageurs (insectes, oiseaux, mammifères rongeurs). Bien que les causes exactes n'aient pas été parfaitement connues, les dégâts causés furent mentionnés déjà par Théophraste (III^e siècle av. J.C.) et Pline l'ancien (I^e siècle ap. J.C.). [90]. Actuellement l'impact des maladies et des ravageurs est de plus en plus important en particulier avec les changements climatiques.

En Algérie, des pertes de production sont enregistrées chaque année sur les agrumes, la pomme, la pêche et l'abricot suite aux attaques des différents ennemis (Tab. 1.3.). Les récoltes sont compromises tant du point de vu quantitatif que qualitatif et les dommages infligés aux fruits et à l'arbre lui-même peuvent constituer un frein pour le développement de ces cultures. Cette situation est due, entre autre, à l'absence des traditions fondées dans le domaine qui se manifestent chez les agricultures [88].

- Le choix du porte greffe et des variétés en relation avec le milieu physique.
- Le mode de conduite (taille, irrigation, fertilisation,.....etc.) ne se basant pas sur les principes scientifiques.
- Le manque de formation en diagnostic phytosanitaire
- Le faible niveau de maitrise des techniques et des stratégies de la protection phytosanitaire.

Tableau 1.3. Maladies et ravageurs des agrumes, du pommier, du pêcher d'abricotier en Algérie.

	Maladies		Ravageurs	
Agrumes	Psorose. Ecailleuse Alvéolaire En poche	<i>Citriovir psorosis var. vulgaire</i> <i>Citriovir psorosis var. alveatum</i> <i>Citriovir psorosis var. concavum</i>	Cochenilles	<i>Parlatoria zizyphus</i> <i>Lepidizaphes beckii</i> <i>Lepidizaphes gloveri</i> <i>Pseudococcus citri</i>
	Panachure	<i>Citriovir psorosis var rugosum</i>	Pucerons	<i>Aphis spireacola</i> <i>Toxoptera aurantii</i> <i>Myzus persicae</i>
	Trestiza	<i>Citrus Tristeza Virus</i>	Aleurodes	<i>Dialeurodes citri</i> <i>Aleurothrixus floccosus</i>
	Gommose Anthracnose	<i>Phytophthora parasitica</i> <i>Colletotrichum</i> <i>Gloeoporioides</i>	Mineuse Mouche des fruits	<i>Phyllocnistis citrella</i> <i>Ceratitis capitata</i>
	Pommier	Tavelure	<i>Venturia inaequalis</i>	Carpocapse
Oïdiums		<i>Podosphaera leucotricha</i>	Mouche des fruits	<i>Ceratitis capitata</i>
Pourriture de mouche		<i>Botrytis cinerea</i>	Zeuzère	<i>Zeuzera pyrina</i>
Feu bactérien		<i>Erwinia amylovora</i>	Cossus-gâte bois	<i>Cossus cossus</i>
Pêcher et abricotier	Moniliose	<i>Monilia laxa/ M. Fructigena</i>	Capnode	<i>Capnodis tenebrionis</i>
	Cloque du pêcher	<i>Taphrina deformans</i>	Tordeuse orientale	<i>Cydia molesta</i>
	Maladie criblée	<i>Coryneum beijerinckii</i>	Mouche des fruits	<i>Ceratitis capitata</i>
	Sharka	<i>Plum Pox Virus</i>	Puceron vert	<i>Myzus persicae</i>

1.3. Dépérissement

1.3.1. Concept de dépérissement

Le dépérissement ou ***Deiback*** en anglais est une phase de vie d'un peuplement mature qui s'exprime par la mort de l'arbre [91]. Ce phénomène est souvent causé par un ensemble de facteurs biotiques et abiotiques interagissant et se succédant d'une manière spécifique pour provoquer une altération et une détérioration générale et progressive de la santé de l'arbre [92, 93, 94, 95 et 96]. Cresswell et *al.* et Weaver notent que la détérioration de l'arbre se traduit souvent par sa mort [93 et 94]. Sutton et Crous et *al.*, quant à eux, expliquent que l'atteinte de l'arbre n'est pas toujours fatale [92 et 96]

Le déclin d'un arbre est souvent marqué par une mortalité anormale des feuilles, des bourgeons, des brindilles et des branches, et qui a pour conséquence la réduction la vitalité [94], qui débute par la mort des branches situées dans le haut de la cime et progresse vers le bas [91]. Une fois persistant, le dépérissement induit à la mort isolée des arbres puis prend de l'ampleur par tâches et enfin il devient massif ou généralisé [97]. Sipperstand décrit trois étapes pour ce phénomène [98]:

- Dans un premier temps, le dépérissement est marquée par un dessèchement graduel des ramilles ;
- dans un second, l'arbre reste vivant ou moribond avec des parties mortes ;
- et enfin une mort totale du clone et de ses racines survient et l'arbre reste sur pied ou tombe.

1.3.2. Facteurs de dépérissement

Les concepts actuels du dépérissement datent des années 60 où ils ont été formulés lors de l'étude du dépérissement des feuillus dans le Nord-est des Etats-Unis [99, 100]. En 1964, Sinclair développa le concept selon lequel un dépérissement met en jeu un système de 3 échelons de facteurs successifs [101, 102]. Houston évoqua le concept de maladie déclenchée par un stress. Selon cet auteur, un arbre soumis à un stress répété finit par

être endommagé et devient susceptible à l'attaque d'organismes secondaires, entraînant sa mort [100].

Le processus de dépérissement fait intervenir de multiples causes biotiques et abiotiques qui agissent en synergie. Cela se traduit pour l'arbre par une perte de vitalité et des mortalités des organes pérennes (rameaux et branches) [103]. Le dépérissement et la mortalité des arbres sont souvent confondus. Ces derniers peuvent être différenciés par leur "irréversibilité". Lors du phénomène de dépérissement, une baisse de vitalité de l'arbre est observée, mais cela peut revenir à l'état normal. Au contraire, lorsque la perte de vitalité de l'arbre est trop importante, elle peut être irréversible et peut provoquer la mort de l'arbre. Le dépérissement se différencie aussi de la mortalité dite "régulière", cette dernière étant causée par une trop forte compétition, et par le vieillissement des arbres (Fig.1.1) [104].

Devant la multitude d'hypothèses énoncées, il est de plus en plus évident d'admettre que le dépérissement est dû à un «complexe de causes» : la pollution atmosphérique, les accidents climatiques, les maladies et les pratiques culturelles et sylvicoles [105]. D'après la spirale du déclin trois principaux facteurs interviennent dans le processus de dépérissement.

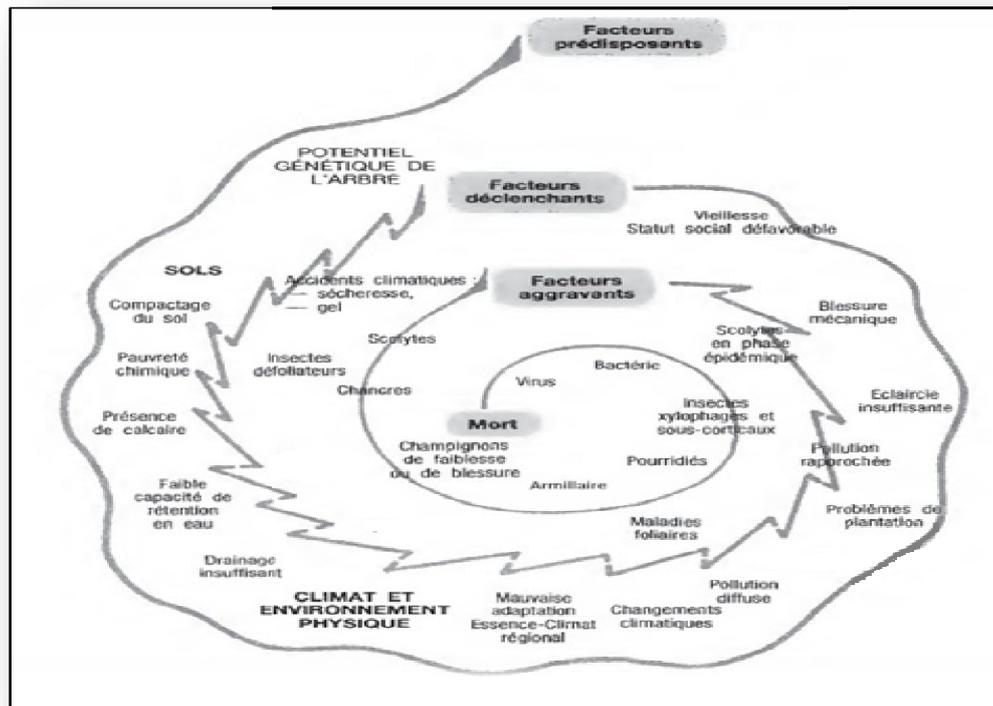


Figure 1.1. Spirale de déclin [95].

1.3.2.1. Facteurs prédisposants

Les facteurs prédisposants sont des facteurs contribuant à l'affaiblissement général de l'arbre [106]. Ils interviennent pendant une longue durée exerçant ainsi une action permanente et continue durant une bonne partie de la vie de l'arbre [107, 108]. Généralement, ils provoquent des stress de faible intensité [108] et durant cette période la sensibilité de l'arbre vers d'autres facteurs s'accroît [109], réduisant ainsi l'habilité de l'arbre à se défendre [107]. Ces facteurs sont généralement d'ordre abiotique et sont en relation avec l'âge de l'arbre, des conditions édaphiques et climatiques [106, 107] et de la pollution atmosphériques [110].

1.3.2.2. Facteurs déclenchant ou incitant

Ces facteurs impliquent des changements physiologiques et morphologiques entraînant le dépérissement, ou la mortalité des arbres prédisposés [104]. Ils agissent de façon très intense sur une période relativement courte [106, 108]. Généralement, l'ensemble de ces facteurs

sont d'ordre biotique ; ravageurs ou de pathogènes primaires [111]. Dans certains cas, les stress abiotiques intenses, tel que le stress hydrique ; peut jouer le rôle de facteur déclenchant [112]

1.3.2.3. Facteurs aggravants

Ces facteurs accentuent la perturbation et agissent sur des arbres affaiblis, les empêchant de retrouver leur vitalité initiale, et précipitant ainsi leur mort [104, 106]. Par exemple, un stress hydrique prolongé, dû à plusieurs années de sécheresse, qui suit l'évènement déclenchant, peut aggraver l'état sanitaire de l'arbre, tout comme les parasites tel que les champignons et les scolytes [104].

1.3.3. Les *Botryosphaeriaceae* et le dépérissement

1.3.3.1. Généralité

La famille de *Botryosphaeriaceae* compte en elle différents espèces endophytes, saprophytes ou pathogènes qui se développent en particulier sur les plantes ligneuses [113]. Généralement les espèces de cette famille sont des agents pathogènes à développement interne et dont la pathogénicité n'est apparente que sous des contraintes particulières [114]. L'importance de cette famille relève de sa large distribution à travers le monde où elle se développe sous différents climats à l'exception des régions polaires [113].

Les *Botryosphaeriaceae* sont parmi les champignons les plus communs qui provoquent des maladies sur divers essences forestières et cultivées [115]. Les espèces de cette famille sont reportées sur plus de 100 arbres [116]. Ces champignons ont été signalés sur les branches et les feuilles des gymnospermes et des angiospermes, les chaumes de monocotylédones, les tiges herbacées et les feuilles des dicotylédones [115]. Cependant, le rôle écologique des *Botryosphaeriaceae* reste toujours méconnu.

1.3.3.2. Mode d'infection et mécanismes de transmission

Dans la littérature, les scientifiques parlent de deux modes d'infection ; les blessures et les ouvertures naturelles [127, 128]. Bien que les blessures soient la principale porte d'entrée des *Botryosphaeriaceae*, Smith en 1995 a montré que l'infection des feuilles d'*Eucalyptus grandis* par *Neofusiccum* spp. se réalise à travers les ouvertures stomatiques [127]. Ce qui a été également observé par Michailides sur les feuilles, les rachis et les pousses du pistachier [128]. Le champignon se développe ainsi à l'intérieur des tissus masquant tout symptôme apparent de la maladie, provoquant ainsi une infection latente.

La reproduction des *Botryosphaeriaceae* est sexuée ou asexuée avec une production d'ascospores et de conidies respectivement [129]. Les conidies qui sont les plus fréquemment rencontrées [127] devraient ainsi être la principale source d'inoculum [128]. Ces dernières sont pour la plupart dispersées par le vent ou dans les éclaboussures de pluie [114,130, 131].

1.3.3.3. Incidence de la famille des *Botryosphaeriaceae*

Les espèces botryosphaeriales sont associées à différentes symptomatologies telles que les chancres et les exsudations de résine, les tâches nécrotiques sur le bois sain, les lésions et les brûlures foliaires, la chute prématurée et la pourriture des fruits [116, 117]. De nos jours, plusieurs chercheurs mettent le point sur la gravité croissante de cette famille en particulier à la lumière des changements climatiques [118, 119]. En outre, des recherches récentes ont lié les espèces de cette famille à l'apparition de nouvelles maladies non connues auparavant [120, 121, 122] ou à la ré-émergence de maladies déjà connues [123].

Plusieurs travaux, traitent le dépérissement du à la famille de *Botryosphaeriaceae*. La vigne a eu la plus grande part de ces recherches. En effet, plus d'une vingtaine d'espèces de *Botryosphaeriaceae* sont reportées comme pathogènes de la vigne, *Vitis vinifera* [124]. Les espèces de cette famille sont reportées pratiquement dans les vignobles du monde entier où elles ont été signalées en Italie par Mugnai et *al.* [125], en Australie par Pascoe et Taylor [126], en en France par Péros et *al.* [127],

en Californie par Chiarappa [128] et Urbez-Torres et *al.*, [129], en Turquie par Erkan [130], en Espagne par Armengol et *al.* [131], au Portugal par Phillips [132] et en Algérie par Berraf et Péros [132].

Sur arbres fruitiers l'incidence et la pathologie des espèces botryosphaeriales a été démontré dans différents travaux sur les agrumes en Italie [18] et en Californie [20], sur arbres fruitiers à noyau et à pépins en Afrique du Sud [19, 11, 21] et sur l'amandier en Italie [133].

A coté du pouvoir pathogènes connu pour les plantes, certaines espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* peuvent engendrer des infections dermiques chez l'homme tel est le cas pour *Lasiodiplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina* et *Neoscytalidium dimidiatum* [124].

1.3.4. Taxonomie et phylogénie

La famille des *Botryosphaeriaceae* est une des grandes familles du phylum des *Ascomycètes*, classe des *Dothideomycètes* et ordre des *Botryosphaeriales*, décrite pour la première en 1820 [132]. Elle compte en elle différents genres décrits par la combinaison des techniques moléculaires et des descripteurs morphologiques (Fig. 1.2.) [134,135, 136 147]. En 1918, Theissen & Sydow ont décrit trois genres, à savoir : *Botryosphaeria*, *Phaeobotryon* et *Dibotryon*. D'autres genres ont été inclus au fil des ans par l'ajout des noms génériques distincts pour les formes sexuées et asexuées. Actuellement on en compte au moins 78 [107].

. Toutefois la taxonomie et la phylogénie des espèces des *Botryosphaeriaceae* est remise en cause. Durant cette dernière décennie des recherches portant sur divers aspects des *Botryosphaeriaceae* ont été menées. Certains auteurs ont souligné l'importance de cette famille comme agents pathogènes [133,134]. D'autre ont clarifié les associations hôtes [133, 134, 135]. Tandis que certains scientifiques ont abordés leur systématique en précisant l'identité ou en déterminant la taxonomie et la phylogénie des espèces [133, 134, 135]. Des études de phylogénie relativement récentes ont néanmoins permis d'éclaircir certaines de ces ambiguïtés [134, 136] et de différencier plus finement certaines espèces

[137]. Beaucoup de ces genres ont été déterminés comme des synonymes, de nouveaux genres ont été introduits, certains des genres anciennes ont été ressuscitées et d'autres encore ont été retirés à d'autres familles [138].

3.5. Lutte contre le dépérissement botryosphaeriale

La variété des sources d'inoculum et le développement très lent et non visible des champignons dans le bois rendent très compliquée la mise en œuvre des méthodes de lutte [10]. La protection chimique contre les maladies du bois s'est beaucoup concentré sur la protection des plaies de taille, voie d'entrée d'un important nombre de champignons pathogènes lignicoles. Les produits phytosanitaires contenant une ou plusieurs matières actives peuvent être appliqués soit par badigeonnage ou par pulvérisation.

Cependant, une gestion efficace de ces maladies est possible par intégration de stratégies de contrôle qui tiennent compte de la sensibilité des cultivars, les conditions environnementales, la gestion des arbres et les applications chimiques [141]. Actuellement, les mesures prophylactiques restent le meilleur moyen de lutte contre ces maladies. Celles-ci peuvent être résumés en trois principaux points [142].

- Diminuer les sources d'inoculum.
- Protéger les plaies de taille ou tailler en période tardive.
- Limiter le nombre et la dimension des plaies de taille.

CHAPITRE II.

METHODOLOGIE

2.1. Site d'étude

2.1.1. Localisation géographique

Notre étude a été entreprise dans deux wilayas, Blida et Alger, choisies essentiellement pour leur vocation fruitière. Quatre localités ont été retenues: Larabâa distantes d'environ 25km du Sud-Est d'Alger et de 34km du Nord-Est de Blida, Ouled Slama situé à environ 35km au Sud-Est d'Alger et à environ 27km au nord-est de Blida, Chiffa qui se trouve à environ 10km à l'ouest de Blida et 55km au sud-ouest d'Alger et Staoueli (Sidi Frej) qui se trouve à 18km de la capitale (Fig. 2.1.).

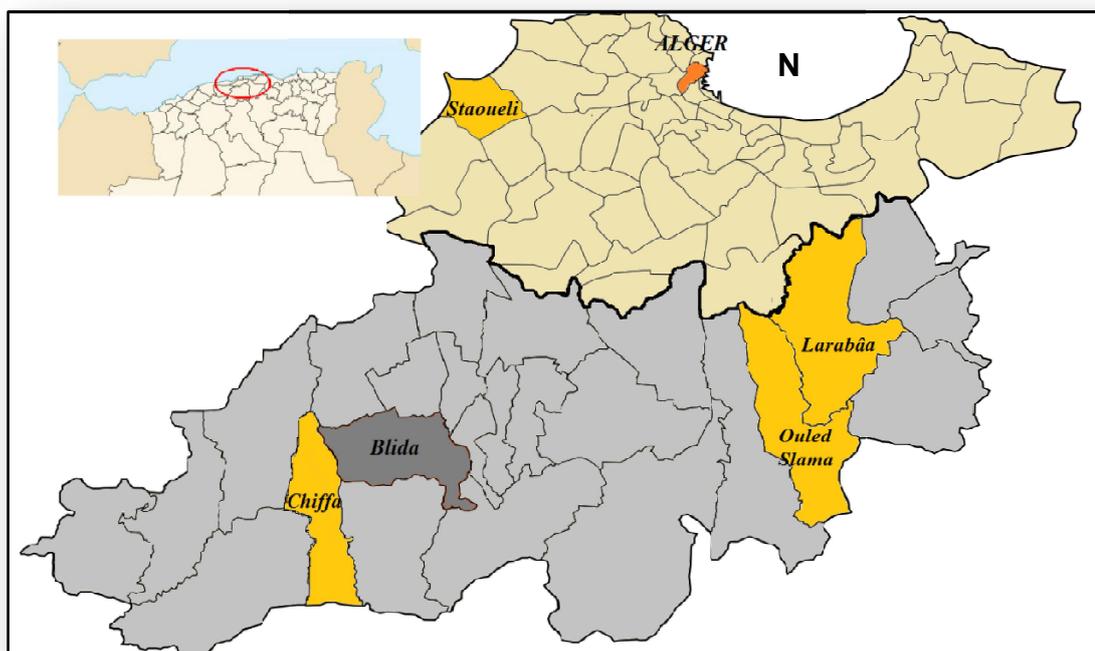


Figure 2.1. Localisation géographique des zones d'étude.

Nos investigations se sont portées sur quatre espèces fruitières réparties dans 5 vergers : 2 vergers d'agrumes et un verger pour chacune des espèces de Rosaceae (pommier : *Malus x domestica*, abricotier : *Prunus armeniaca* et pêcher : *Prunus persica*). L'ensemble des caractéristiques stationnelles sont reportées sur le tableau 2.1.

Tableau 2.1. Caractéristiques stationnelles des sites d'études.

Zone	Verger	Age	D.P.	Nbre d'échantillons	Organes
Staoueli	Agrumes	50	7x7	10	Troncs et rameaux
Chiffa	Agrumes	50	7x7	10	Troncs et rameaux
Larabâa	Pommier	15	6x6	20	Rameaux
	Abricotier	12	5X4	20	
Ouled Slama	Pêcher	8	5X5	20	Rameaux

D.P. Densité de plantation

2.1.1. Caractéristiques climatiques des régions d'étude

Les régions d'étude sont localisées dans la plaine de la Mitidja qui bénéficie d'un climat méditerranéen subhumide répondeur par ses étés chauds et secs et ses hivers doux et humides. Le climat de la plaine de la Mitidja est assez homogène. Généralement, On ne note pas de grands écarts de température contrairement à la pluviométrie qui présente une certaine hétérogénéité dans sa répartition spatiale [143].

2.2. Identification des agents pathogènes impliqués dans le dépérissement des arbres fruitiers

2.2.1. Isolement, purification et conservation des *Botryosphaeriaceae*

2.2.1.1. Prélèvement des troncs et rameaux à analyser

Un effectif de 80 troncs et rameaux, présentant les symptômes de dépérissement, a été prélevé afin de rechercher les espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* impliquées dans le processus de déclin des agrumes, du pommier, de l'abricotier et du pêcher. Soit 20 échantillons pour chacun des arbres fruitiers.

Les nécroses présentes sur les rameaux et les troncs sont décrites selon la position, la couleur et la texture. Des photos sont ainsi prises et des buchettes sont alors découpées à la limite du bois nécrosé selon la méthodologie décrite par Abdullahzadeh et *al.* [143].

2.2.1.2. Désinfection des bûchettes et isolement

La désinfection des buchettes a été réalisée dans des conditions stériles sous hotte à flux laminaire. Cette opération consiste à mettre les buchettes dans une solution d'hypochlorite de sodium à 8° pendant 15min puis procéder à trois rinçages successifs avec de l'eau distillée stérile.

Sur du papier buvard, les coupes des buchettes sont rafraichies à l'aide d'un scalpel stérile ; déposées en nombre de 5 dans des boites de pétri contenant un milieu culture PDA (*Potato Dextrose Agar*) et scellées avec du parafilm. Les boites sont ensuite laissées à une température ambiante d'environ 25°C.

L'observation des boites se fait quotidiennement. Les champignons qui se développent sont repiqués sur un milieu PDA dès leur apparition. Les bûchettes encore stériles sont transférées dans d'autres boites avant d'être envahies par les champignons en développement.

2.2.1.3. Purification et conservation des isolats

Divers agents fongiques se sont développés à partir des nécroses. Dans notre cas, seules les espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae*, reconnaissables par l'aspect phénotypique du mycélium, sont retenues. Le tableau 2.2. montre les différentes caractéristiques phénotypiques des principaux groupes fongiques liées au dépérissement du bois des arbres.

Tableau 2.2. *Caractéristiques phénotypiques des agents fongiques impliqués dans le dépérissement des arbres*

Agents fongiques	Caractéristiques morphologiques	Réf.
<i>Phaeoconiella</i> spp.	-Mycélium à croissance très lente, d'un aspect lisse ressemblant à une culture bactérienne et de couleur vert olivâtre (culture âgée) -Chlamydospores bien développés	145
<i>Phaeoacremonium</i> spp.	-Croissance très lente sur PDA, avec un mycélium brun, ramifié, cloisonné présentant des conidiophores. -Présence de trois types de phialides selon la longueur. -Conidies hyalines, ellipsoïdales et agrégées en masses.	146
<i>Eutypa</i> spp.	-Mycélium blanc cotonneux à croissance rapide sur PDA. -Pycnides noires globuleuse qui émettent des cirrhes jaunâtres contenant des conidies filiformes, arquées et hyalines.	147, 148
<i>Fomitiporia</i> spp.	-Mycélium à croissance rapide de couleur blanche qui vire très rapidement jaune à ocre avec un aspect velouté.	149, 150
<i>Botryosphaeriaceae</i>	-Mycélium aérien blanchâtre à croissance rapide virant vers le gris au vert foncé sur PDA avec l'âge. -Pycnides noires solitaires ou groupées. -Grande diversité des conidies qui peuvent être hyalines ou pigmentées et cloisonnées ou asptées.	150, 151, 152

La purification de ces champignons a été assurée par une série de repiquage successif sur le milieu PDA. Les isolats sont ensuite conservés dans des eppendorfs stériles sous une température de 4°C.

2.2.2. Méthodes d'identification des isolats

L'identification des *Botryosphaeriaceae*, intervenant dans le phénomène de dépérissement des agrumes, du pommier, de l'abricotier et pêcher, est déterminée sur la base des différents caractères phénotypiques et génotypiques. La méthodologie adoptée dans notre étude est celle du **Laboratoire de Microbiologie de L'université de Lisboa- Portugal** ; reportée sur la figure 2.2. Le séquençage est assuré par la société **STAB Vida, Lda (Oeiras, Portugal)**.

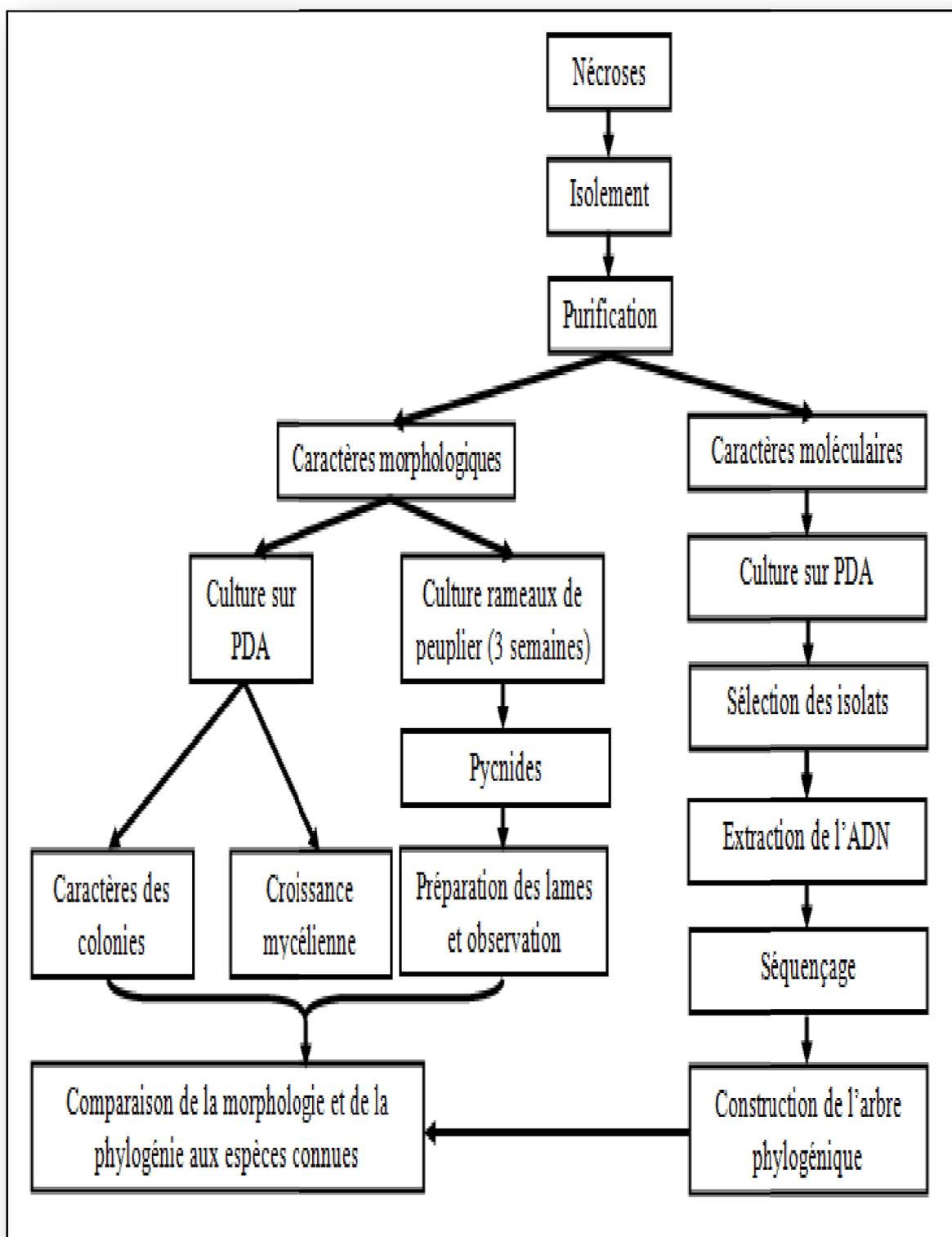


Figure 2.2. Schéma des étapes de la caractérisation morphologique et moléculaire des isolats [13].

2.2.3. Identification moléculaire des *Botryosphaeriaceae*

Un total de 35 isolats, purifiés et conservés, ont été envoyés au **Laboratoire de Microbiologie de L'université de Lisboa- Portugal** pour les analyses moléculaires des *Botryosphaeriaceae* intervenant dans le phénomène de dépérissement des différents arbres fruitiers.

Les différentes étapes d'extraction et de quantification de l'ADN des isolats ainsi que l'amplification de la région ITS et la purification des produits de la PCR sont reportées en Annexe II.

2.2.4. Construction des arbres phylogénétiques

2.2.4.1. Traitement des séquences

Une fois les séquences de la région ITS sont réceptionnées de la société de séquençage STAB Vida, Lda (Oeiras, Portugal), celles-ci sont lues et édités. Une séquence consensus est faite à partir des séquences sens "forward" et anti-sens "reverse" en utilisant l'éditeur d'alignement de séquences **BioEdit Version 7.0.9.0** [153]. Les chromatogrammes fournis ont été vérifiées manuellement et des arrangements de nucléotides à des positions confuses ont été apportés.

Les séquences obtenues sont ensuite comparées aux séquences référence des espèces disponibles dans la banque publique **GenBank (NCBI)** par un alignement utilisant l'algorithme **BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool)** [154]. Cet algorithme permet de déterminer la similarité entre deux séquences. Ceci est réalisé en comparant la nouvelle séquence avec des séquences qui ont déjà été signalées et stockées dans la base de données GenBank. Ce processus est principalement celui qui utilise la procédure d'alignement afin de découvrir la séquence "like" dans la base de données.

Aussi, des séquences de références représentant les espèces les plus pertinentes pour les *Botryosphaeriaceae* [107], ont été ajoutées à l'analyse. A cet égard, il sera possible de positionner les espèces nouvellement isolées parmi celles déjà décrites. Les différentes séquences nucléotidiques de la région ITS sont listées dans les 2.3, 2.4, 2.5 et 2.6.

Tableau 2.3. Numéros d'accèsion à GenBank et données des espèces de *Lasiodiplodia* utilisées pour la reconstruction des arbres phylogénétiques.

Espèces	Numéro d'isolat	Origine	Plante hôte	Collecteur	Numéros d'accèsion à GenBank
<i>Lasiodiplodia citricola</i>	IRAN 1522C	Iran	<i>Citrus</i> sp.	J.Abdollahzadeh/A. Javadi	GU945354
<i>L. gilanensis</i>	IRAN 1501C	Iran	Unknown	J.Abdollahzadeh/A. Javadi	GU945352
<i>L. gilanensis</i>	IRAN 1523C	Iran	Unknown	J. Abdollahzadeh/A. Javadi	GU945351
<i>L. hormozganensis</i>	IRAN 1498C	Iran	<i>Mangifera indica</i>	J.Abdollahzadeh/A. Javadi	GU945356
<i>L. hormozganensis</i>	IRAN 1500C	Iran	<i>Olea</i> sp.	J.Abdollahzadeh/A. Javadi	GU945355
<i>L. plurivora</i>	CBS 121103	South Africa	<i>Vitis vinifera</i>	F. Halleen	AY343482
<i>L. plurivora</i>	CBS 120832	South Africa	<i>Prunus salicina</i>	U. Damm	EF445362
<i>L. iraniensis</i>	IRAN 921C	Iran	<i>Mangifera indica</i>	N. Khezrinejad	GU945346
<i>L. iraniensis</i>	IRAN 1502C	Iran	<i>Juglans</i> sp.	A. Javadi	GU945347
<i>L. pseudotheobromae</i>	CBS 374.54	Zaire	<i>Coffea</i> sp.	Unknown	EF622080
<i>L. pseudotheobromae</i>	CBS447 62	Unknown	<i>Citrus aurantium</i>	Unknown	EF622081
<i>L. venezuelensis</i>	WAC 12539	Venezuela	<i>A. mangium</i>	S. Mohali	DQ103547
<i>L. venezuelensis</i>	WAC 12540	Venezuela	<i>A. mangium</i>	S. Mohali	DQ103548
<i>L. missouriana</i>	UCD2193MO	USA	Catawba	K. Striegler & G.M. Leavitt	HQ288225
<i>L. missouriana</i>	UCD2199MO	USA	Catawba	K. Striegler & G.M. Leavitt	HQ288226
<i>L. viticola</i>	UCD2553AR	USA	Vignoles	R.D. Cartwright & W.D. Gubler	HQ288227
<i>L. viticola</i>	UCD2604MO	USA	Chardonef	K. Striegler & W.D. Gubler	HQ288228
<i>L. gonubiensis</i>	CBS 115812	South Africa	<i>Syzygium cordatum</i>	D. Pavlic	DQ458892
<i>L. gonubiensis</i>	CBS 116355	South Africa	<i>Syzygium cordatum</i>	D. Pavlic48	AY639594
<i>L. parva</i>	CBS 494.78	Colombia	Cassava-field soil	O. Rangel	EF622084
<i>L. theobromae</i>	CBS 289.56	New Guinea	<i>Sail-Cloth</i>	M.B. Schwartz	EF622070
<i>L. theobromae</i>	CBS 112874	South Africa	<i>Vitis vinifera</i>	F. Halleen	EF622075
<i>L. crassispora</i>	CMW 13488	Venezuela	<i>Eucalyptus urophylla</i>	S. Mohali	DQ103552
<i>L. rubroporpurea</i>	WAC12535	Australia	<i>Eucalyptus grandis</i>	T.I. Burgess & G. Pegg	DQ103553
<i>L. rubroporpurea</i>	WAC12536	Australia	<i>Eucalyptus grandis</i>	T.I. Burgess & G. Pegg	DQ103554

Suite Tab. 2.3.

<i>Diplodia intermedia</i>	CAP 150	Portugal	<i>Cydonia</i> sp.	S. Santos	HM036528
<i>Diplodia intermedia</i>	CAP 330	Bulgaria	<i>Pyracantha coccinea</i>	S. Bobev	GQ923881
<i>Diplodia intermedia</i>	CBS112556	Portugal	<i>Pyrus communis</i>	A.J.L. Phillips	

Tableau 2.4. Numéros d'accèsion à GenBank et données des espèces de *Neofusicoccum* utilisées pour la reconstruction des arbres phylogénétiques.

Espèce	Numéro d'isolat	Origine	Plante hôte	Collecteur	Numéro d'accèsion à GenBank
					ITS
<i>Neofusicoccum parvum</i>	CBS 110301	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	AY259098
	CAP247	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	EF638786
	CMW 994	New Zealand	<i>Malus sylvestris</i>	G.J. Samuels	AF243395
<i>Neofusicoccum kwambonambiense</i>	CBS 123643	South Africa	<i>S. cordatum</i>	D. Pavlic	EU821894
	CBS 123639	South Africa	<i>S. cordatum</i>	D. Pavlic	EU821900
<i>N. australe</i>	CBS 119046	Portugal	<i>Rubus</i> sp.	E. Diogo	DQ299244
	CAP 252	Italy	<i>Olive</i>	Unknown	EF638777
	CAP 221	Italy	<i>Olive</i>	Unknown	EF638773
	CMW 9072	Australia	<i>Acacia</i> sp.	J. Roux	AY339260
	CBS 110299	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	Unknown	AY259091
<i>N. lutea</i>	CMW 9076	New Zeland	<i>Malus domestica</i>	S.R. Pennycook	AY339257
	CAP 253	Italy	<i>Olive</i>	Unknown	EF638787
<i>N. mediterraneum</i>	CAA 002	USA	<i>Pistacia vera</i>	T.J. Michailides	EU017537
<i>Neofusicoccum vitifusiforme</i>	CBS 110887	South Africa	<i>Vitis vinifera</i>	J. Van Niekerk	AY343383
	CBS 110880	South Africa	<i>Vitis vinifera</i>	J. Van Niekerk	AY343382
<i>B. dothidea</i>	CBS 110302	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	AY259092
	CBS 115476	Switzerland	<i>Prunus</i> sp.	B. Slippers	AY236949
	CAP288	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	EF638755
	CAP246	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	EF638766

Suite Tab. 2.4.

<i>Neofusicoccum umdonicola</i>	CBS 123645	South Africa	<i>cordatum</i> Kosi Bay	D. Pavlic	<i>EU821904</i>
	CBS 123648	South Africa	<i>cordatum</i> Kosi Bay	D. Pavlic	<i>EU821926</i>
<i>Fusicoccum fabicercianum</i>	CBS 127194	China	<i>Eucalyptus</i> sp.	M.J. Wingfield	<i>HQ332198</i>
	CBS 127193	China	<i>Eucalyptus</i> sp.	M.J. Wingfield	<i>HQ332197</i>
<i>Botryosphaeria corticis</i>	CBS 119047	USA	<i>Vaccinium</i> <i>corymbosum</i>	P.V. Oudemans	<i>DQ299245</i>
<i>Fusicoccum ramosum</i>	CBS 122069	Australia	<i>E. camaldulensis</i>	T. Burgess	<i>EU144055</i>
<i>Fusicoccum atrovirens</i>	CBS 124934	South Africa	<i>Pterocarpus</i> <i>angolensis</i>	J. Mehl & J. Roux	<i>FJ888473</i>
	CBS 124935	South Africa	<i>Pterocarpus</i> <i>angolensis</i>	J. Mehl & J. Roux	<i>FJ888476</i>
<i>Botryosphaeria mamane</i>	CBS 117445	Venezuela	<i>Acacia mangium</i>	S. Mohali	<i>EF118046</i>
	CBS 117446	Venezuela	<i>Acacia mangium</i>	S. Mohali	<i>EF118048</i>
<i>Neofusicoccum mangiferum</i>	CBS 118531	Australia	<i>Mangifera indica</i>	G.I. Johnson	<i>AY615185</i>
<i>Neofusicoccum cordaticola</i>	CBS 123637	South Africa	<i>S. cordatum</i> Sabi	D. Pavlic	<i>EU821922</i>
	CMW14056	South Africa	<i>S. cordatum</i> Sabi	D. Pavlic	<i>EU821903</i>
<i>Neofusicoccum ribis</i>	CMW 7772	USA	<i>Ribes</i> sp.	B. Slippers & G. Hudler	<i>AY236935</i>
	CMW 7773	USA	<i>Ribes</i> sp.	B. Slippers & G. Hudler	<i>AY236936</i>

Tableau 2.5. Numéros d'accèsion à GenBank et données des espèces de *Diplodia* et *Lasiodiplodia* utilisées pour la reconstruction des arbres phylogénétiques.

Espèces	Numéro d'isolat	Origine	Plante hôte	Collecteur	Numéros d'accèsion à GenBank
					ITS
<i>Diplodia mutila</i>	CBS 112553	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	AY259093
<i>Diplodia mutila</i>	CBS 230.30	U.S.A	<i>Phoenix dactylifera</i>	L.L. Huillier	DQ458886
<i>D. corticola</i>	CBS 112547	Spain	<i>Qercus ilex</i>	M.E. Sanchez	AY259110
<i>D. corticola</i>	CBS 112549	Portugal	<i>Quercus suber</i>	A. Alves	AY259100
<i>D. seriata</i>	CBS 112555	Portugal	<i>Vitis vinifera</i>	A.J.L. Phillips	AY259094
<i>D. seriata</i>	CBS 119049	Italy	<i>Vitis</i> sp.	L. Mugnai	DQ458889
<i>D. seriata</i>	CAP 220	Italy	<i>Olea europaea</i>	S. Frisullo	EU392294
<i>D. pinea</i>	CBS 393.84	Netherlands	<i>Pinus nigra</i>	H.A. van der Aa	DQ458895
<i>D. pinea</i>	CBS 109943	Indonesia	<i>Pinus patula</i>	M.J. Wingfield	DQ458898
<i>D. scrobiculata</i>	CBS 109944	Mexico	<i>Pinus greggii</i>	M.J. Wingfield	DQ458899
<i>D. scrobiculata</i>	CBS 113423	Mexico	<i>Pinus greggii</i>	M.J. Wingfield	DQ458900
<i>D. cupressi</i>	CBS 168.87	Israel	<i>Cupressus sempervirens</i>	Z. Solel	DQ458893
<i>D. cupressi</i>	CBS 261.85	Israel	<i>Cupressus sempervirens</i>	Z. Solel	DQ458894
<i>Diplodia alatafructa</i>	CBS124931	S. Africa	<i>Pterocarpus angolensis</i>	J Mehl & J Roux	FJ888460
<i>Diplodia alatafructa</i>	CBS124932	S. Africa	<i>Pterocarpus angolensis</i>	J Mehl & J Roux	FJ888461
<i>Diplodia malorum</i>	CBS112554	Portugal	<i>Malus sylvestris</i>	A.J.L. Phillips	
<i>Diplodia malorum</i>	CAP 266	Portugal	<i>Malus sylvestris</i>	A.J.L. Phillips	GQ923860
<i>Diplodia malorum</i>	CAP 265	Portugal	<i>Malus sylvestris</i>	A.J.L. Phillips	GQ923859
<i>Diplodia rosulata</i>	CBS116470	Ethiopia	<i>Prunus africana</i>	A Gure	EU430265

Suite Tab. 2.5.

<i>Diplodia rosulata</i>	CBS116472	Ethiopia	<i>Prunus africana</i>	A Gure	EU430266
<i>Diplodia africana</i>	CBS120835	S. Africa	<i>Prunus persica</i>	U Damm	EF445343
<i>Diplodia africana</i>	CBS121104	S. Africa	<i>Prunus persica</i>	U Damm	EF445344
<i>Diplodia olivarum</i>	CAP235	Italy	<i>Olea europaea</i>	S.Frisullo	EU392301
<i>Diplodia olivarum</i>	CAP 257	Italy	<i>Olea europaea</i>	S.Frisullo	
<i>Diplodia bulgarica</i>	CAP 331	Bulgaria	<i>Malus sylvestris</i>	S. Bobev	
<i>Diplodia bulgarica</i>	CAP 332	Bulgaria	<i>Malus sylvestris</i>	S. Bobev	
<i>Diplodia tsugae</i>	CBS 418.64	Canada	<i>Tsuga heterophylla</i>	A. Funk	DQ458888
<i>Lasiodiplodia citricola</i>	IRAN 1521C	Iran	<i>Citrus</i> sp.	A. Shekari	GU945353

Tableau 2.6. Numéros d'accèsion à GenBank et données des espèces de *Neoscytalidium* utilisées pour la reconstruction des arbres phylogénétiques.

Espèces	Numéro d'isolat	Origine	Plante hôte	Collecteur	Numéros d'accèsion à GenBank
					ITS
<i>Ne. dimidiatum</i>	WAC 13284	Australia	<i>M. indica</i>	J. Ray	GU172382
	CMM 3979 M.	Brazil	<i>M. indica</i>	M.W. Marques	JX513637
<i>Ne. novaehollandiae</i>	WAC 13275 M.	Australia	<i>M. indica</i>	a J. Ray	GU172400
	WAC 13303	Australia	<i>M. indica</i>	J. Ray	GU172398
<i>Ne. hyalium</i>	PD104	Portugal	<i>FICUS CARICA</i>	A.J.L. Phillips	GU251107
	IRAN 1521C	Iran	<i>M. indica</i>	A. Shekari	KF369269

2.2.4.2. Alignement des séquences

L'alignement des séquences a été réalisé avec le logiciel **ClustalX 1.83** [155]. Il vise à faire correspondre deux bases identiques à un même site tout en minimisant les mésappariement (Association de deux bases différentes). Des modifications manuelles ont été apportées sur les séquences lorsque cela s'avérait nécessaire. L'alignement joue un rôle très important sur la qualité de l'arbre final, voire plus, la méthode de construction employée [156]. Les séquences alignées et corrigées constituent une matrice de caractère où les lignes correspondent aux espèces et les colonnes aux caractères.

2.2.4.3. Construction des arbres phylogénétiques

Différents arbres phylogénétiques ont été instaurés sur la base des séquences nucléotidiques des ITS à l'aide du programme **PAUP*** (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) vers. 4.0b10 [157]. L'analyse des séquences des différents genres obtenus a été assurée par deux méthodes, la méthode du **Neighbour-Joining (NJ)** (méthode du plus proche voisin basée sur la ressemblance globale entre les séquences) et la méthode de **maximum de parcimonie (MP)** (méthode basée sur les caractères) [158, 159, 160, 161].

Une fois les arbres sont établis, une recherche d'arbres s'approchant de l'optimal est entamée en utilisant la méthode **Tree-Bisection-Reconnection (TBR)** de l'algorithme de réarrangement des branches (*branch swapping*).

D'autres paramètres ont été pris en considération lors de la construction de l'arbre comme l'indice de cohérence (IC), l'indice de rétention (RI) et l'indice d'homoplasie (HI). Les trous (*gaps*) étant traités comme des données manquantes. La robustesse des topologies (des nœuds) de MP est estimée par les procédures de "bootstrap" en utilisant 1000 répétitions (full heuristic search) [162]. La construction de ces arbres phylogénétiques est réalisée contre un groupe externe (outgroup). Le choix de l'outgroup est important. Le groupe externe doit être une séquence

primitive au groupe étudié et qui ne doit être ni trop proche (afin d'augmenter la résolution de l'analyse), ni trop éloignée des autres séquences. Les taxons outgroups sélectionnés pour l'enracinement des arbres sont présentés dans le tableau 2.7.

2.2.4.4. Visualisation des arbres phylogénétiques

Tout arbre phylogénétique est visualisé avec le logiciel **TreeView** quel que soit la méthode de sa construction [163]. Dans notre étude, l'arbre issu de la méthode MP est visualisé et les nœuds communs aux deux méthodes sont indiqués par un astérisque. Seuls les bootstraps d'une valeur supérieure à 50% sont indiqués.

2.3. Caractérisation morphologique des isolats

Comme indiquée précédemment dans la figure 2.2., l'étude des espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* vise à déterminer l'ensemble de leurs caractères moléculaires et morphologiques. En complément à cette étude moléculaire, nous avons procédé à la caractérisation culturelle et morphologique propre à chacune des espèces identifiées.

2.3.1. Caractères cultureux et aspect morphologique des colonies

Cette étape consiste à déterminer l'ensemble des descripteurs morphologiques apparent à l'œil nu des espèces cultivées sur le milieu PDA tel que décrit par Luque et *al.* [164]; en particulier l'aspect général du mycélium aérien et sa couleur par l'utilisation des tableaux de codes et des couleurs de Rayner [165], la régularité des colonies et la présence de pigmentation dans le milieu.

Tableau 2.7. Données des espèces outgroups utilisées pour la reconstruction des arbres phylogénétiques.

Arbres Phylogénétiques	Genre	Espèces	Numéro d'isolat	Numéros d'accension à GenBank
				ITS
<i>I</i>	Lasidiplodia	<i>D. mutila</i>	CBS 230.30	DQ458886
		<i>D. seriata</i>	CBS287.47	CBS287.47
<i>II</i>	<i>Neofusicoccu m</i>	<i>Bot .dothidea</i>	CBS 110302	AY259092
		<i>B. corticis</i>	CBS 119047	DQ299245
<i>III</i>	<i>Diplodia</i>	<i>L. theobromae</i>	CBS287.47	CBS287.47
		<i>L. theobromae</i>	CBS287.47	CBS287.47
<i>VI</i>	<i>Neoscytalidium</i>	<i>Bot .dothidea</i>	CBS 110302	AY259092
		<i>B. corticis</i>	CBS 119047	DQ299245

2.3.2. Induction de la sporulation sur les brindilles de peuplier

L'étude morpho-taxonomique a été réalisée au laboratoire des productions animales, Institut des sciences vétérinaires, Blida I afin de décrire la morphologie des conidiophores, la forme, la pigmentation et le cloisonnement des conidies.

La sporulation des *Botryosphaeriaceae* a été réalisée sur des rameaux de peuplier doublement autoclavés. Ces derniers sont déposés en nombre de trois dans des boîtes de Pétri contenant de l'eau gélosée à 2%. Les boîtes sont ensuite incubées à une température ambiante d'environ 25°C sous une photopériode de 8 heures durant 2 à 3 semaines.

Les champignons ne bénéficiant que de peu d'éléments nutritifs vont ainsi sporuler et développer des pycnides. Ces dernières sont disséquées horizontalement et leur contenu est placé sur une lame à laquelle on ajoute une goutte d'eau stérile ; qu'on laisse sécher à l'air libre, et une goutte d'acide lactique à 100%. L'ensemble est couvert par une lamelle et visualisé sous un microscope optique muni d'un appareil à photo « Olympus BH2 ».

2.4. Pathogénicité des espèces identifiées

2.4.1. Prélèvement et préparation des boutures

Le test de pathogénicité a été réalisé sur 120 boutures asymptomatiques de l'année, de 1 à 2cm de diamètre et de 25 à 30cm de longueurs. Ces boutures proviennent des différents vergers d'agrumes, de pommier, d'abricotier et de pêcher

Après prélèvement, les rameaux sont désinfectés avec de l'éthanol à 70% et scellés avec du parafilm des deux extrémités afin réduire la perte en eau et d'éviter leur dessiccation.

2.4.2. Inoculations des champignons

A l'aide d'un scalpel stérile, des incisions sont réalisées dans la partie médiane entre deux entre nœuds de chaque bouture. Ces dernières sont

inoculées par des disques mycéliens des isolats déjà utilisés pour l'identification moléculaire. Dix répétitions par isolats ont été effectuées.

Les zones d'inoculation sont ensuite enroulées dans du coton imbibé d'eau stérile et couvertes avec du parafilm afin de maintenir des conditions d'humidité adéquates.

A fin de s'assurer de l'indemnité des boutures, des témoins ont été également inoculés avec seulement le milieu PDA.

2.4.3. Mesure des nécroses, ré-isolement et identification des agents pathogènes

Après 30 jours, les boutures contaminées ainsi que les témoins sont écorcés et les nécroses résultantes de la colonisation du bois sains par les champignons sont mesurées. La moyenne, la déviation standard et la longueur maximale et minimale des décolorations sont déterminées.

Les agents pathogènes sont ensuite réisolés et identifiés sur du milieu PDA. La méthode utilisée est celle décrite pour l'isolement des champignons pathogènes.

CHAPITRE III.

RESULTATS

3.1. Diagnostic sur le terrain

3.1.1. Description des symptômes externes

Les investigations entreprises au niveau des divers vergers ont permis de noter la présence de différents symptômes de dépérissement. Le déclin des arbres peut être partiel ou total. Il a été aussi constaté une absence totale d'arbres qui ont été arrachés suite à un dépérissement brutal (Fig.3.1).

3.1.2. Description des symptômes internes du bois des arbres fruitiers

L'observation de 80 troncs et rameaux prélevés pour l'isolement des agents fongiques a permis de distinguer 9 types de nécroses de couleurs, de texture et de position différentes. Celles-ci sont décrites dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1. Description des différents types de nécroses.

Nécrose	Couleur	Consistance	Position
A (NCTC)	Marron clair	Tendre	Centrale
B (NBDC)	Brune à noire	Dure	Centrale
C (NBMC)	Brune à noire	Molle	Centrale
D (NCDC)	Marron clair	Dure	Centrale
E (NBDS)	Brune à noire	Dure	Sectorielle
F (NCDS)	Marron clair	Dure	Sectorielle
G (NCFS)	Marron clair	Friable	Sectorielle
H (NCTS)	Marron clair	Tendre	Sectorielle
Points noirs	Marron à noire	-	-



Figure 3.1. Symptômes externes liés au dépérissement des vergers.

3.2. Dénombrement des différents types de nécrose

Le dénombrement des différents types de nécrose a mis en évidence 145 nécroses, dont 54 sur les agrumes, 30 sur le pommier, 31 sur le pêcher et 30 sur l'abricotier (Tab. 3.2.).

L'analyse du tableau montre que les nécroses centrales, brunes et dures (**NBDC**) et claires et tendres (**NCTC**), et les nécroses sectorielles brunes et dures (**NBDS**) sont les plus dominantes avec des valeurs respectives de 34, 35 et 38. Les autres types de nécroses sont observés à des effectifs beaucoup moins importants avec des nombres respectifs de 9, 8, 7, 4 et 2 pour les nécroses claires et tendres en position sectorielle (**NCTS**), brunes et molles en position centrale (**NBMC**), claires et dures en position sectorielle (**NCDS**), claires et dures en position centrale (**NCDC**) et claires et friables en position sectorielle (**NCFS**).

Les points noirs (**PN**) sont aperçus dans 6 cas sur le pommier et l'abricotier uniquement.

Tableau 3.2. Dénombrement des différents types de nécroses.

Nécrose	Agrumes		Pommier	Pêcher	Abricotier	Total
	Staoueli	Chiffall				
A (NCTC)	10	9	0	8	7	34
B (NBDC)	13	5	12	5	0	35
C (NBMC)	0	9	0	0	0	9
D (NCDC)	0	0	2	1	1	4
E (NBDS)	0	0	11	15	12	38
F (NCDS)	0	0	0	2	7	9
G (NCFS)	0	0	2	0	0	2
H (NCTS)	0	8	0	0	0	8
P.N.	0	0	3	0	3	6
TOTAL	23	31	30	31	30	145

2.1.1. Sur agrumes

Sur un total de 54 nécroses décrites sur le bois dépérissant des agrumes, la nécrose centrale, quelle soit claire ou brune, tendre ou dure est la plus dominante, avec des fréquences de 35,19% et 33,33% pour les nécroses claires et tendres (**NCTC**) (Fig. 3.3. a et b) et brunes et dures (**NBDC**) (Fig. 3.1. c et d), respectivement.

Les nécroses claires et tendres en position sectorielle (**NCTS**) (Fig. 3.3. e) et brunes et molles en position centrale (**NBMC**) (Fig. 3.3. f) sont décrites sur les arbres en provenance de la région de Chiffa uniquement avec des taux respectifs de 16,67% et 14,81%.

Tableau 3.3. *Fréquences des différents types de nécrose sur les agrumes.*

	Staoueli	Chiffa I	Total	Fréq. (%)
Nécrose A (NCTC)	10	9	19	35,19
Nécrose B (NBDC)	13	5	18	33,33
Nécrose H (NCTS)	0	9	9	16,67
Nécrose C (NBMC)	0	8	8	14,81
Total	21	31	54	



Figure 3.2. Symptômes associés à la maladie du tronc sur agrumes : **a et b.** Nécrose claire et tendre en position centrale ; **c et d.** Nécrose brune et dure en position centrale ; **e.** Nécrose claire et tendre en position sectorielle et **f.** Nécrose brune et molle en position centrale.

3.1.2. Sur pommier

L'observation des coupes réalisées sur le pommier a dévoilé la présence de 30 nécroses (Tab. 3.3.).

Sur le total, les nécroses brunes et dures sont les plus dominantes, quelles soient en position centrale (**NBDC**) (Fig. 3.3. a et b) ou sectorielle (**NBDS**) (Fig. 3.3. c et d) avec un taux de 80% contre seulement 13,34% pour les nécroses claires et dures centrales (**NCDC**) (Fig. 3.3. e) et claires et friables sectorielles (**NCFS**) (Fig. 3.3. f).

Les points noirs sont observés uniquement sur deux rameaux soit à un taux de 6,67% (Fig. 3.3. i)

Tableau 3.4. *Fréquences des différents types de nécrose sur le pommier.*

	Nombre	Fréquence (%)
Nécrose B (NBDC)	12	40
Nécrose E (NBDS)	12	40
Nécrose D (NCDC)	2	6,67
Nécrose G (NCFS)	2	6,67
PN	2	6,67
Total	30	

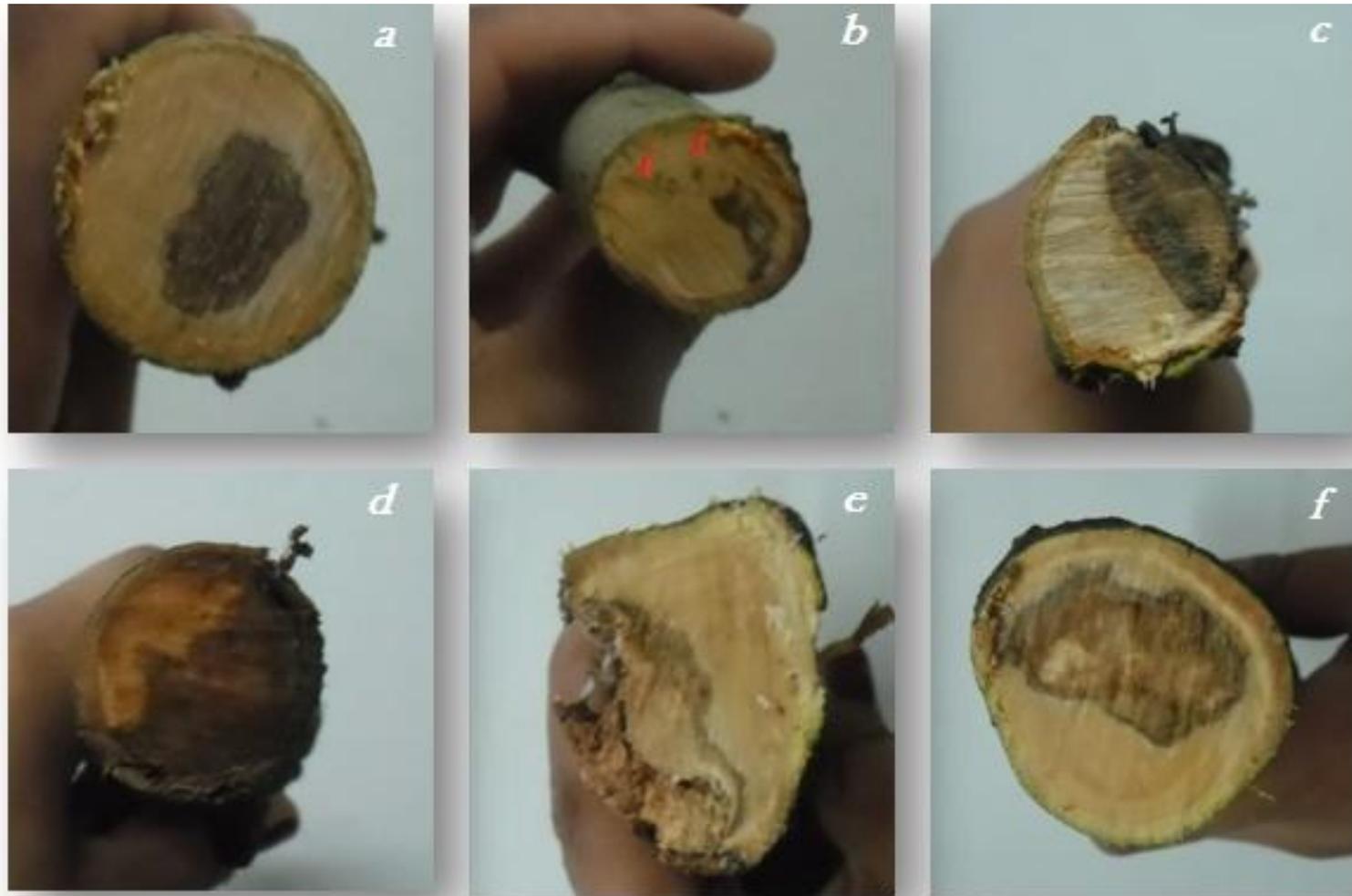


Figure 3.3. Symptômes associés à la maladie du tronc sur pommier : **a et b.** Nécrose brunes et dures en position centrale ; **c et d.** Nécrose brunes et dures en position sectorielle ; **e.** Nécrose claire et dure en position centrale ; **f.** Nécrose claire et friable en position sectorielle ; **i.** Points noirs.

3.1.3. Sur pêcher

L'observation des 20 rameaux de pêcher a permis de distinguer 31 nécroses réparties en 5 principaux types (Tab. 3.5.).

3/4 des nécroses observées sont représentées par des nécroses brunes et dures dont 48,39% sont sectorielles (**NBDS**) (Fig. 3.4. a et b) et 25,81% sont centrales (**NBDC**) (Fig. 3.4. c). Les nécroses claires et tendres en position centrale (**NCTC**) sont observées en nombre de 5 soit un taux de 16,13% (Fig. 3.4. d).

Les nécroses claires et dures sont les moins décrites avec un taux de 6,45% pour les nécroses centrales (**NCDC**) (Fig. 3.4. e) et 3,23% pour les nécroses sectorielles (**NCDS**) (Fig. 3.4. e).

Tableau 3.5. *Fréquences des différents types de nécrose sur le pêcher.*

	Nombre	Fréquence (%)
Nécrose E (NBDS)	15	48,39
Nécrose B (NBDC)	8	25,81
Nécrose A (NCTC)	5	16,13
Nécrose D (NCDC)	2	6,45
Nécrose F (NCDS)	1	3,23
Total	31	

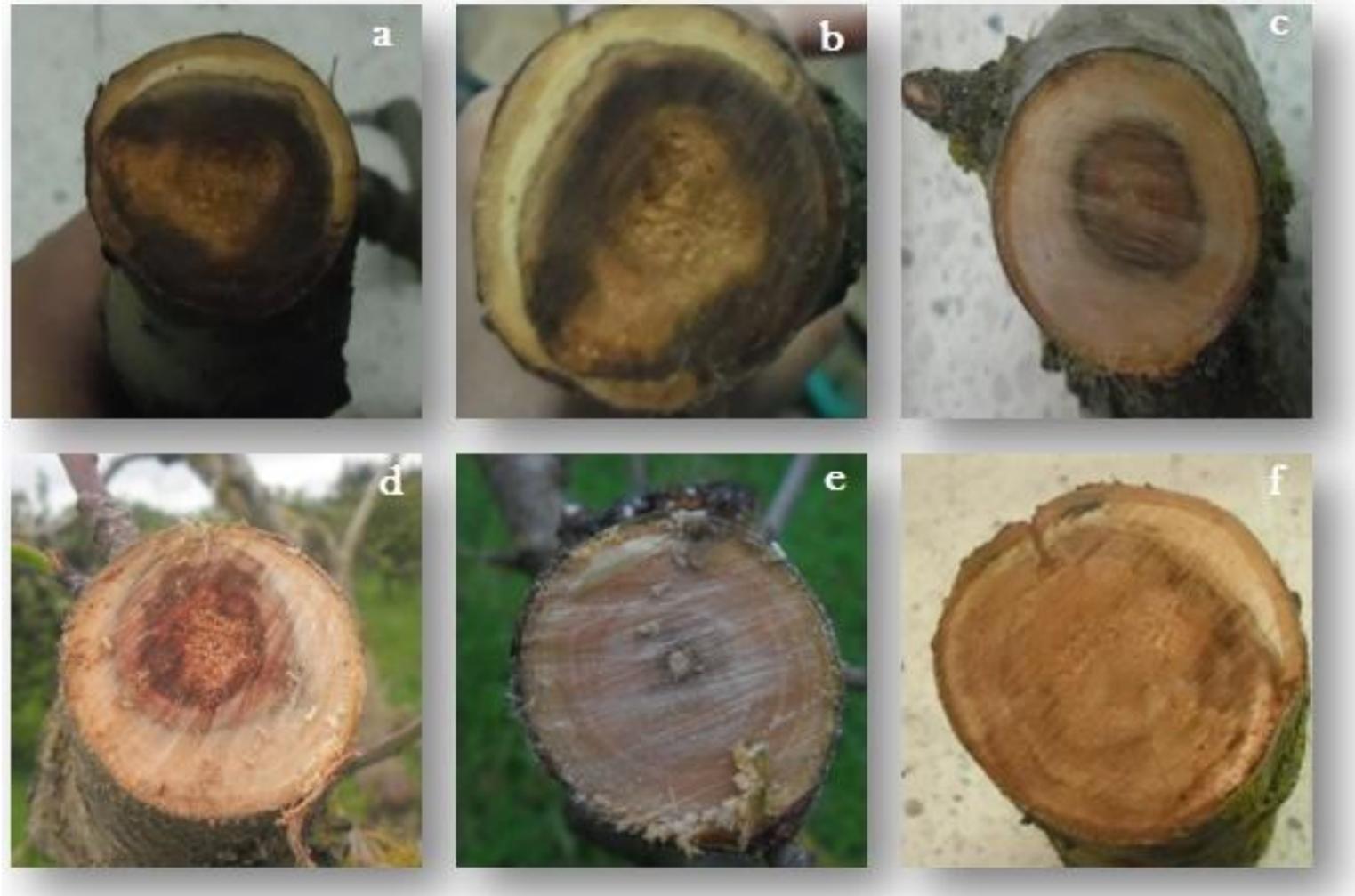


Figure 3.4. *Symptômes associés à la maladie du tronc sur pêcher : a et b. Nécrose brune et dure en position sectorielle ; c. Nécrose brune et dure en position centrale ; d. Nécrose claire et tendre en position centrale ; e. Nécrose claire et dure en position centrale et f. Nécrose claire et dure en position sectorielle.*

3.1.4. Abricotier

Avec un total de 30 nécroses, l'abricotier a montré trois types de nécroses : centrale claire et tendre (**NCTC**), centrale brune et dure (**NBDC**) et sectorielle claire et dure (**NCDS**) (Tab. 3.6.).

L'analyse du tableau 3.5. montre une dominance totale des nécroses centrales avec un taux de 44,5% pour les nécroses brunes et dures (**NBDC**) (Fig. 3.5. a, b et c) et 24,14% pour les nécroses claires et tendres (Fig. 3.5 d) (**NCTC**). Les nécroses sectorielles claires et dures (**NCDS**) sont observées à un taux de 20,69% soit en nombre de 6 (Fig. 3.5. e).

Des points nécrotiques noirs (**PN**) sont également aperçus sur 4 arbres échantillonnés soit un pourcentage de 13,79% (Fig. 3.5. i).

Tableau 3.6. *Fréquences des différents types de nécrose sur l'abricotier.*

	Nombre	Fréquence (%)
Nécrose E (NBDC)	13	44,83
Nécrose A (NCTC)	7	24,14
Nécrose F (NCDS)	6	20,69
Points noirs (PN)	4	13,79
Total	30	



Figure 3.5. Symptômes associés à la maladie du tronc sur abricotier : **a et b.** Nécrose brune et dure en position centrale ; **c et d.** Nécrose claire et tendre en position centrale ; **e.** Nécrose claire et dure en position sectorielle ; **i.** Points noirs.

3.3. Agents pathogènes impliqués dans le dépérissement

3.3.1. Fréquences d'isolement des agents fongiques

Les résultats de l'observation des différents agents fongiques sont reportés sur le tableau 3.7.

Au total, 168 isolats repartis en 5 principaux groupes, sont isolés à partir des 145 nécroses soit à partir de 1450 buchettes, dont 57 sur le pêcher, 44 sur les agrumes, 38 sur le pommier et 32 sur l'abricotier. L'analyse du tableau montre que la famille des *Botryosphaeriaceae* renferme le plus grand nombre d'isolats avec un total de 98 soit un taux de 58,33%, suivi par les espèces du genre *Fomitiporia* avec 44 isolats soit 26,19%. *Eutypa* spp., *Biscogniauxia* spp., *Phaeoacremonium* spp. et *Phaeomoniella* spp. sont les moins fréquentes avec des taux respectifs de 7,14%, 4,17%, 3,57% et 0,60%.

Tableau 3.7. Nombre et fréquence des agents fongiques isolés

Agents fongiques	Agrume	Pommier	Pêcher	Abricotier	Total	Fréq.%
<i>Botryosphaeriaceae</i>	30	24	21	23	98	58,33
<i>Fomitiporia</i> spp.	8	8	26	2	44	26,19
<i>Phaeoacremonium</i> spp.	2	4	0	0	6	3,57
<i>Eutypa</i> spp.	0	0	3	7	10	7,14
<i>Biscogniauxia</i> spp.	0	2	7	0	9	4,17
<i>Phaeomoniella</i> spp.	1	0	0	0	1	0,60
Total	41	38	57	32	168	

3.3.2. Fréquence d'isolement des *Botryosphaeriaceae*

La fréquence d'isolement des *Botryosphaeriaceae* sur les différents arbres fruitier est reportée sur le tableau 3.8.

Sur les 98 isolats, les agrumes renferment le plus grands nombre avec un taux de 30,61% suivi par le pommier avec 24,49%, le pêcher avec 23,47% puis l'abricotier avec 21,43%.

Tableau 3.8. *Dénombrement des Botryosphaeriaceae isolés à partir des différents arbres fruitiers.*

	Nbre d'isolats	Fréquence (%)
Agrumes	30	30,61
Pommier	24	24,49
Pêcher	23	23,47
Abricotier	21	21,43
Total	98	

3.4. Identification des espèces

3.4.1. Identification de *Lasiodiplodia* sp.

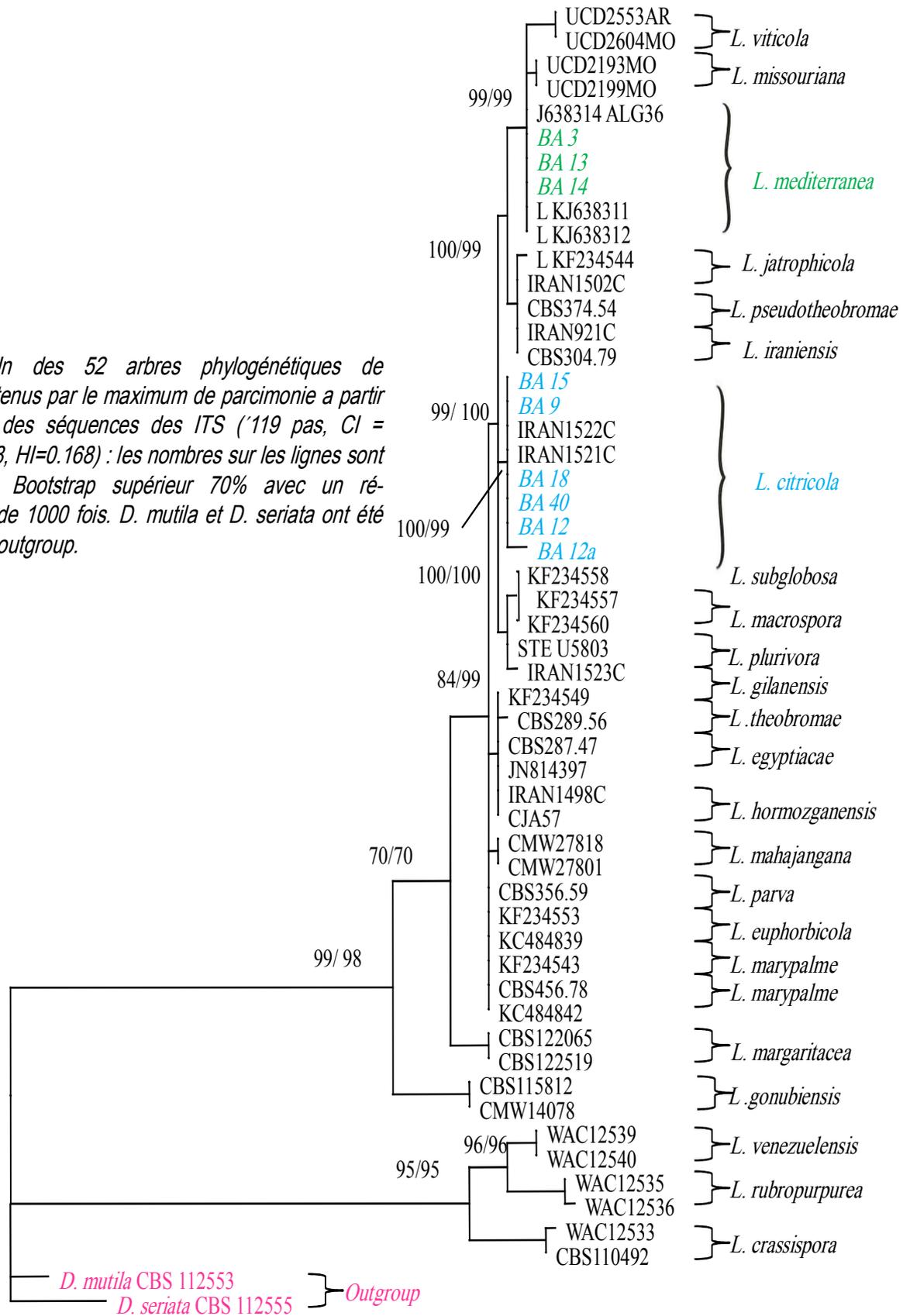
3.4.1.1. Caractérisation moléculaire des isolats *Lasiodiplodia* sp.

L'alignement des séquences des ITS du genre *Lasiodiplodia* a regroupé 52 taxa, reparti entre les 9 isolats de cette étude (annexe III) et 43 récupérés de la banque des gènes *GenBank*, ajoutées aux deux espèces *Outgroup* : *D. mutila* et *D. seriata*. Dans cet alignement, les 491 caractères se répartissent entre 407 constants, 14 variables et peu informatifs et 70 informatifs.

L'analyse phylogénétique a produit 52 arbres de parcimonie maximum (MP) avec une longueur de pas de 119, parmi lesquels un est choisi (Fig.3.6). Celui-ci possède un indice de cohérence (CI) de 0.832, un indice de rétention (RI) de 0.908 et un indice d'homoplasie (HI) de 0.168. La topologie des arbres résultant des analyses de maximum de parcimonie (MP) et Neighbour joining (NJ) était similaire.

Les isolats de cette étude se répartissent en deux espèces. 6 isolats sont regroupés avec l'espèce *L. citricola soutenues* avec un support bootstrap de 99% (NJ)/ 100% (MP). 3 taxa sont regroupés avec l'espèce *L. mediterranea* avec un support bootstrap de 99% (NJ)/ 99% (MP).

Figure 3.6. Un des 52 arbres phylogénétiques de *Lasiodiplodia* obtenus par le maximum de parcimonie à partir de l'alignement des séquences des ITS (119 pas, CI = 0.832, RI = 0.908, HI=0.168) : les nombres sur les lignes sont les valeurs de Bootstrap supérieur 70% avec un ré-échantillonnage de 1000 fois. *D. mutila* et *D. seriata* ont été utilisées comme outgroup.



3.4.1.2. Caractères phénotypiques de *Lasiodiplodia* sp.

Les stromas du genre *Lasiodiplodia*, formées après 2 à 3 semaines sur les brindilles de peuplier, sont globuleux, solitaires et des fois regroupés. Ils sont de couleur grise au départ et deviennent plus foncés à maturité (Fig. 3.7. a).

Les conidies sont ovoïdes, à paroi épaisse, apex et base arrondie, initialement hyalines et aseptées, devenant plus brunes et cloisonnées avec des stries longitudinales avec l'âge (Fig. 3.7. b).

Les colonies ont un mycélium aérien abondant. Celles-ci ont un développement très rapide. Elles sont de couleur blanche au départ, qui vire le Dull Green (27''m) à partir du centre après une semaine d'inoculation à 25°C (Fig. 3.7. c).

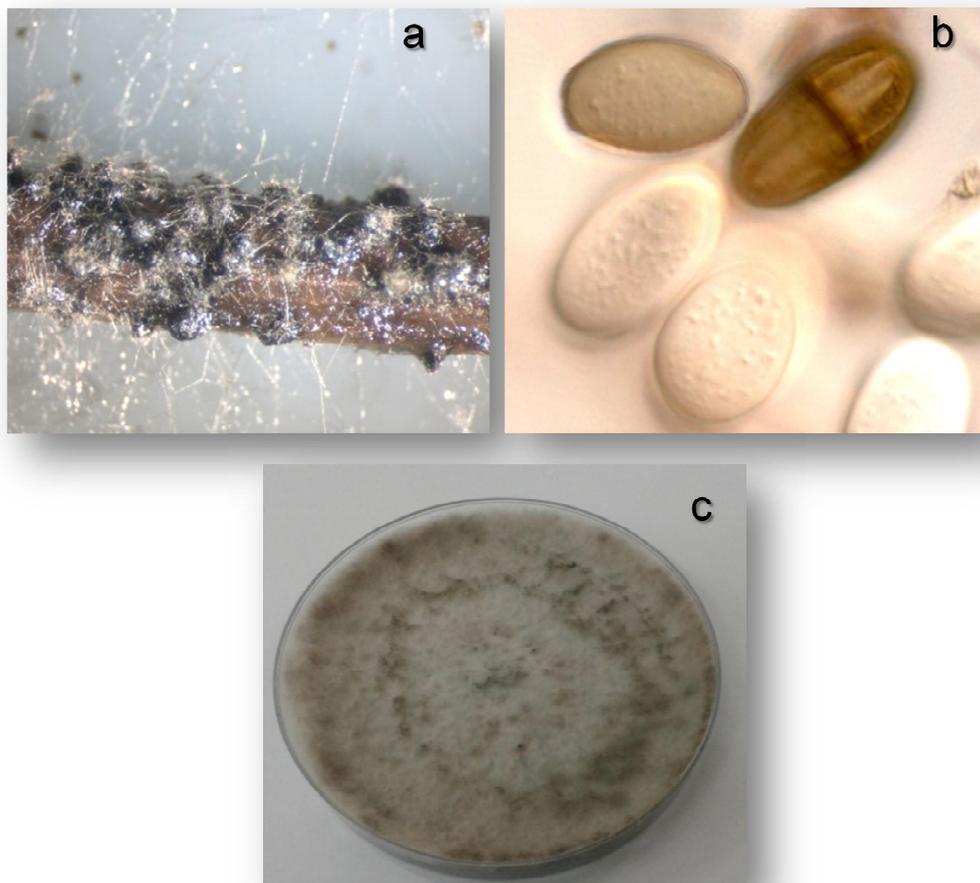


Figure 3.7 *Lasiodiplodia* sp. **a.** Stroma sur rameau de peuplier ;
b. Cellules conidiogènes et **c.** Colonie âgée sur milieu PDA.

3.4.2. Identification de *Neofusicoccum* sp.

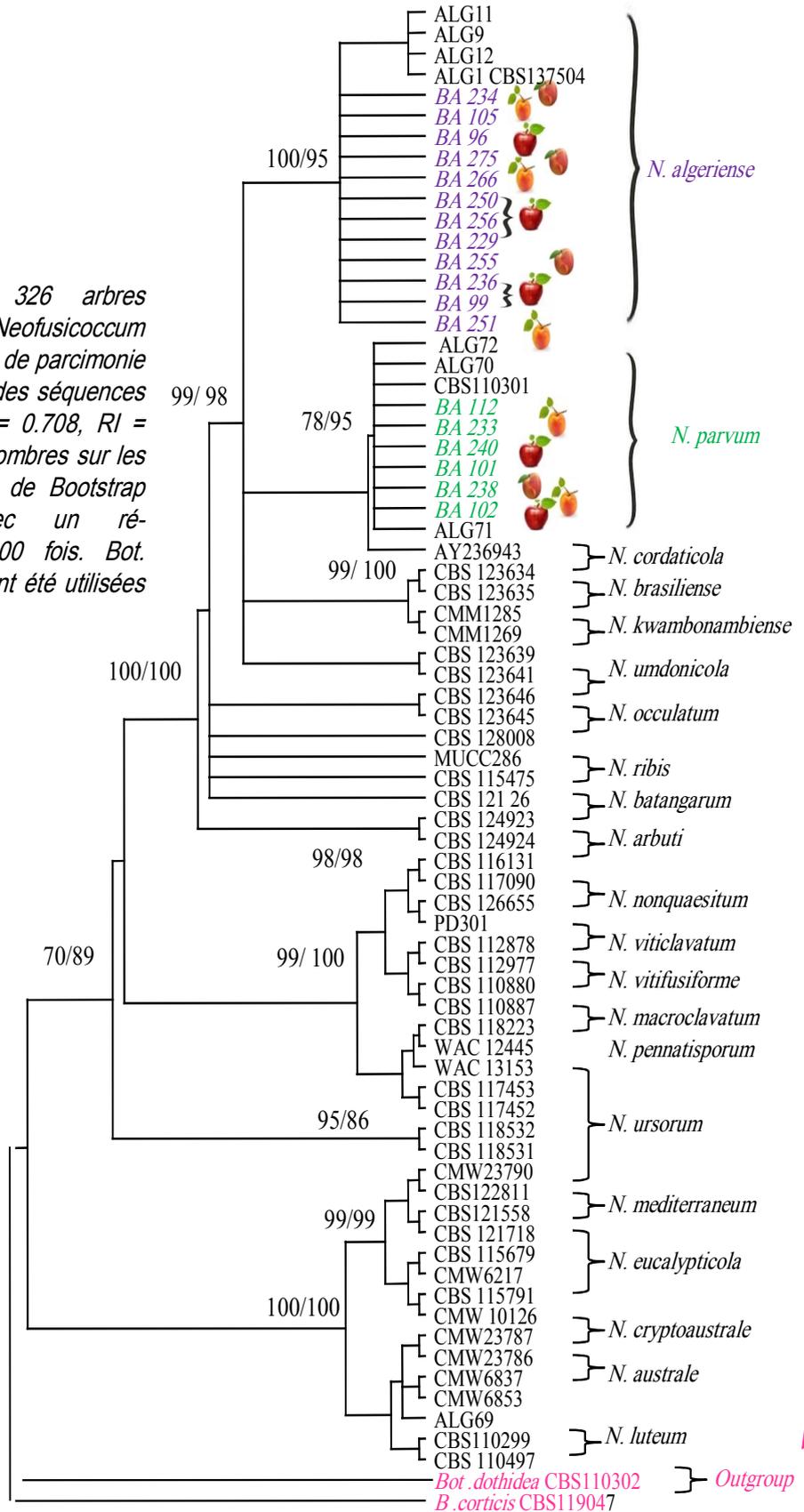
3.4.2.1. Caractérisation moléculaire des isolats *Neofusicoccum* sp.

L'alignement des séquences des ITS de *Neofusicoccum* regroupent un ensemble de 70 taxa, distribués entre les 18 isolats de l'étude et 52 isolats récupérés de la banque des gènes *GenBank*. A cet ensemble, deux séquences outgroup sont ajoutées, *Bot. dothidea* et *B. corticis*. Les 72 séquences alignées renferment 487 caractères, parmi lesquels 380 sont constants, 33 sont variables et peu informatifs et 74 sont informatifs de la phylogénie.

Sur les 326 arbres établis par le maximum de parcimonie (MP), un, ayant 178 de pas, est choisi et reporté sur la figure 3.8. Ce dernier a un indice de cohérence (CI) de 0.708, un indice de rétention (RI) de 0.892 et un indice d'homoplasie (HI) de 0.292.

Deux espèces se configurent sur l'arbre. *N. algeriense* avec 12 isolats soutenus avec le rapport de 100 % MP et 99 % NJ et *N. parvum* avec 6 soutenus par le rapport de Bootstrap 78% de MP et 95% de NJ.

Figure 3.8. Un des 326 arbres phylogénétiques de *Neofusicoccum* obtenus par le maximum de parcimonie à partir de l'alignement des séquences des ITS (178 pas, CI = 0.708, RI = 0.892, HI=0.292) : les nombres sur les lignes sont les valeurs de Bootstrap supérieur 70% avec un ré-échantillonnage de 1000 fois. *Bot. dothidea* et *B. corticis* ont été utilisées comme outgroup



3.4.2.2. Caractérisation phénotypique des isolats *Neofusicoccum* sp.

Les espèces du genre *Neofusicoccum* développent des pycnides solitaires, globuleuses, recouvertes d'un mycélium de couleur grise claire, qui se disposent superficiellement sur le tissu de l'hôte (Fig. 3.9. a). Les conidies produites sont hyalines à paroi mince, non cloisonnées, lisses, fusiformes à ellipsoïdale avec un apex obtus ou tronqué à base arrondie. A maturité, Les conidies prennent une couleur brune claire et développent 1 ou 2 cloisons (Fig. 3.9. b).

Les colonies sur PDA ont une croissance très rapide. Elles sont d'abord blanches avec un mycélium aérien abondant qui devient Olivaceous Grey (8''''i) après une semaine d'incubation à une température de 25°C pendant une semaine (Fig. 3.9. c).

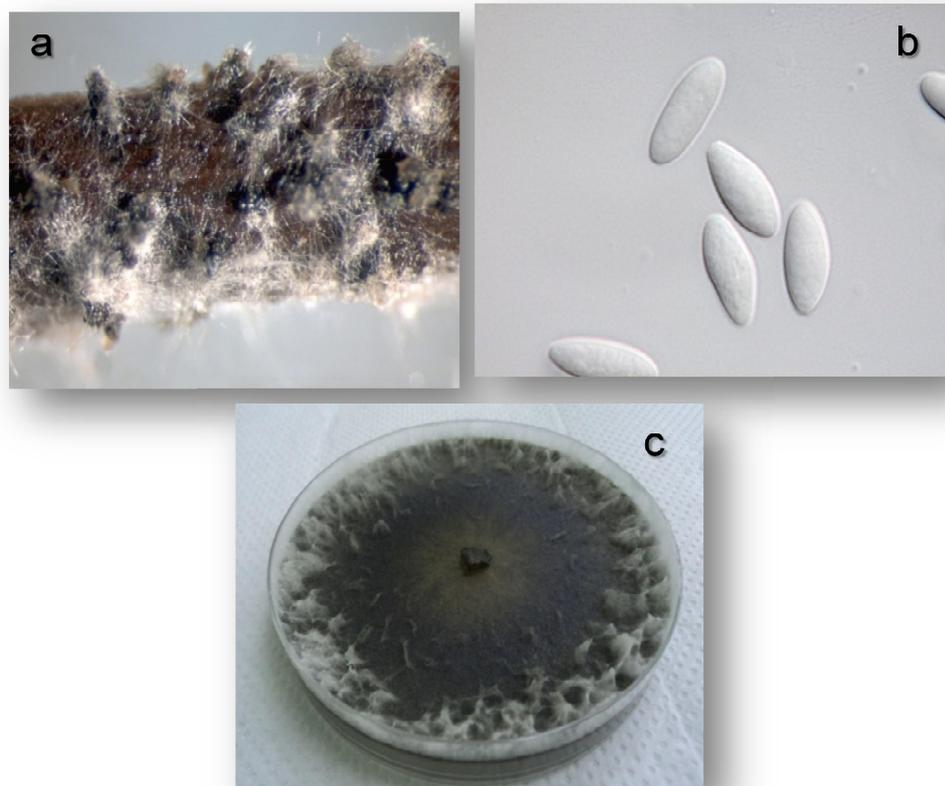


Figure 3.9. *Neofusicoccum* sp. : **a.** Stroma sur rameau de peuplier ;
b. Cellules conidiogènes et **c.** Colonie âgée sur milieu PDA.

3.4.3. Identification de *Diplodia* sp.

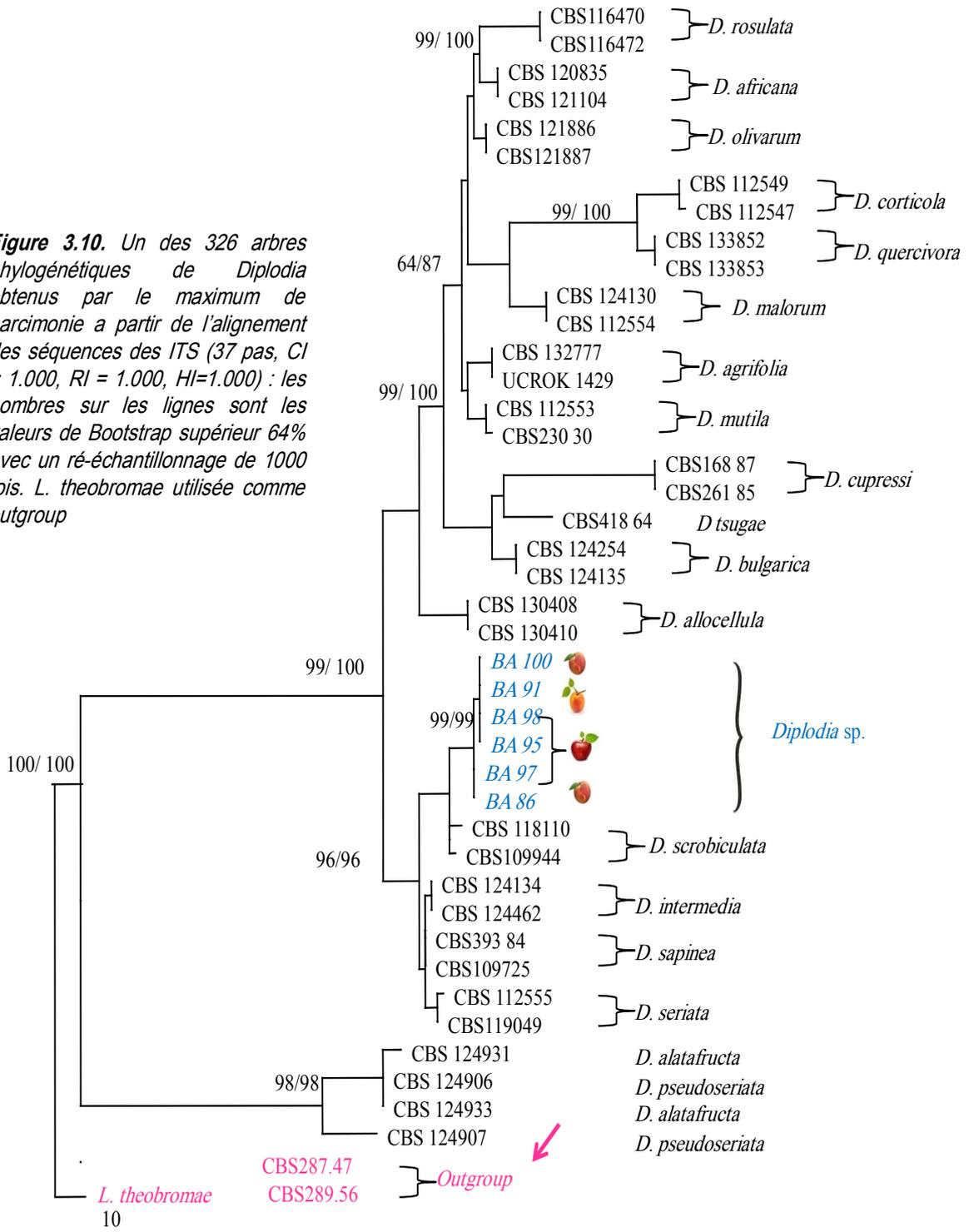
3.4.3.1. Caractérisation moléculaire des isolats *Diplodia* sp.

Les séquences des gènes des ITS des 6 isolats (annexe V) ont été combinées et alignées avec les séquences de 35 taxa récupérés de la banque des gènes **GenBank** et les 2 taxa du outgroup des *L. theobromae*. L'alignement se constitue de 506 caractères, dont 390 sont constants, 6 variables et peu informatifs. Tandis que 110 sont informatifs de pour la phylogénie.

L'analyse phylogénétique combinée a donné 69 arbres de maximum de parcimonie ayant une longueur de 228 pas, un indice de cohérence (CI) de 0.737, un indice de rétention (RI) de 0.904 et un indice d'homoplasie (HI) 0.263.

Un des 434 arbres issus de la méthode MP est reporté sur la figure 3.10. Les 6 isolats de cette étude forment un clade bien soutenu avec *Diplodia* sp., avec support bootstrap (99%) pour les deux analyses (NJ et MP).

Figure 3.10. Un des 326 arbres phylogénétiques de *Diplodia* obtenus par le maximum de parcimonie à partir de l'alignement des séquences des ITS (37 pas, CI = 1.000, RI = 1.000, HI=1.000) : les nombres sur les lignes sont les valeurs de Bootstrap supérieur 64% avec un ré-échantillonnage de 1000 fois. *L. theobromae* utilisée comme outgroup



3.4.3.2. Caractérisation phénotypique des isolats *Neofusicoccum* sp.

Sur les brindilles de peuplier, *Diplodia* sp. développe des stromas conidifères isolés et dépourvus de mycélium. Ils sont de couleur brune foncée à noire et à paroi épaisse. Une fois mûres, elles prennent souvent une forme globuleuse, percée à son sommet d'un ostiole qui s'ouvre vers l'extérieur en libérant les conidies (Fig. 3.11. a). Celles-ci étant de forme ovoïde et aseptée. Au début, elles sont hyalines puis elles virent très rapidement vers le marron foncé avec l'âge (Fig. 3.11. b).

Sur PDA, les colonies de *Diplodia* sp. ont une croissance très rapide. Le mycélium est cotonneux avec un pourtour régulier. Sa couleur est blanche au départ, qui devient Leaden Grey (45''''''') puis Dark Mouse Grey (13''''''k) après deux semaine d'incubation à 25°C (Fig. 3.11. c).



Figure 3.11. *Diplodia* sp. : **a.** Stroma sur rameau de peuplier ;
b. Cellules conidiogènes et **c.** Colonie âgée sur milieu PDA.

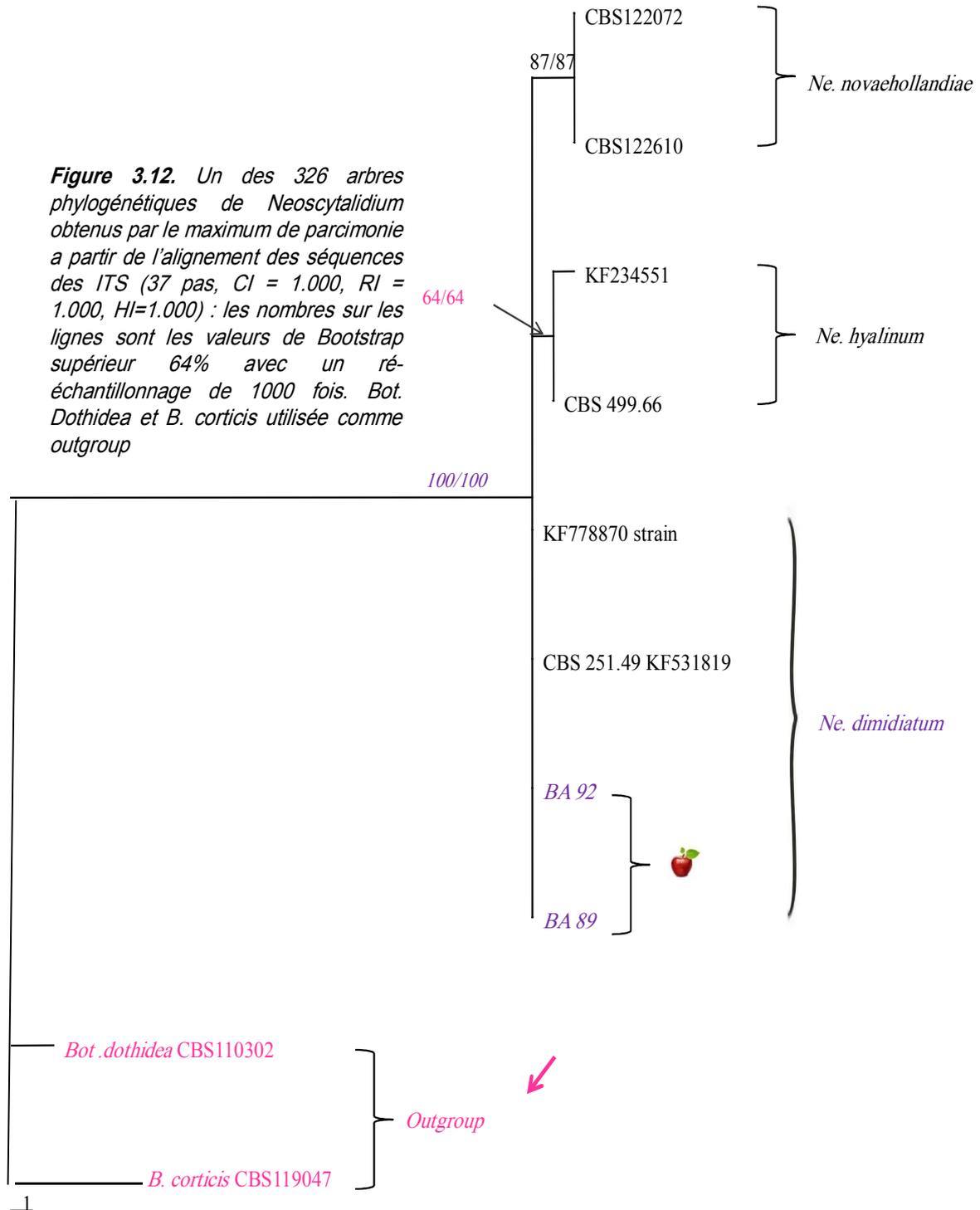
3.4.4. Identification de *Neoscytalidium* sp.

3.4.4.1. Caractérisation moléculaire des isolats *Neoscytalidium* sp.

L'alignement des séquences ITS renferme 8 taxa du genre *Neoscytalidium* dont 2 isolats de cette étude (annexe) et 6 récupérés de **GenBank**. Deux isolats outgroup, *Bot. dothidea* et *B. corticis*, sont ajoutés. Cet alignement comparent 376 caractères, dont 340 sont constants, 8 sont variables et peu informatifs pour la phylogénie et 28 informatifs pour l'analyse.

L'analyse phylogénétique des ITS a produit un arbre de maximum de parcimonie avec une longueur de 37 pas, un indice de cohérence (CI) de 1.000, un indice de rétention (RI) de 1.000 et un indice d'homoplasie (HI) de 0.000.

Un des arbres issu de l'analyse de MP est présenté dans la figure 3.12. Les deux isolats obtenus dans cette étude forment un groupe en clade bien soutenu avec l'espèce *Ne. dimidiatum*, avec un fort support bootstrap (100%) pour les deux analyses (NJ et MP).



3.4.4.2. Caractérisation phénotypique des isolats *Neoscytalidium* sp.

Neoscytalidium dimidiatum est une espèce qui développe des pycnides globuleuses, noires et solitaires, dépourvues de mycélium sur les rameaux ainsi que sur le milieu PDA après 3 semaines (Fig. 3.13. a). A maturité, les pycnide libèrent des spores hyalines ou brunes sous forme des arthroconidies uni ou bicellulaire rectangulaires ou en forme tonnelet (Fig. 3.13. b).

Les colonies sont couvertes d'un mycélium arien dense gris à noir d'aspect cotonneux. Initialement, les colonies sont de couleur blanc-grisâtre qui vire graduellement vers Dark Mouse Grey (13''''k) les cotes inverse et avers des boîte Pétrie (Fig. 3.13. d).

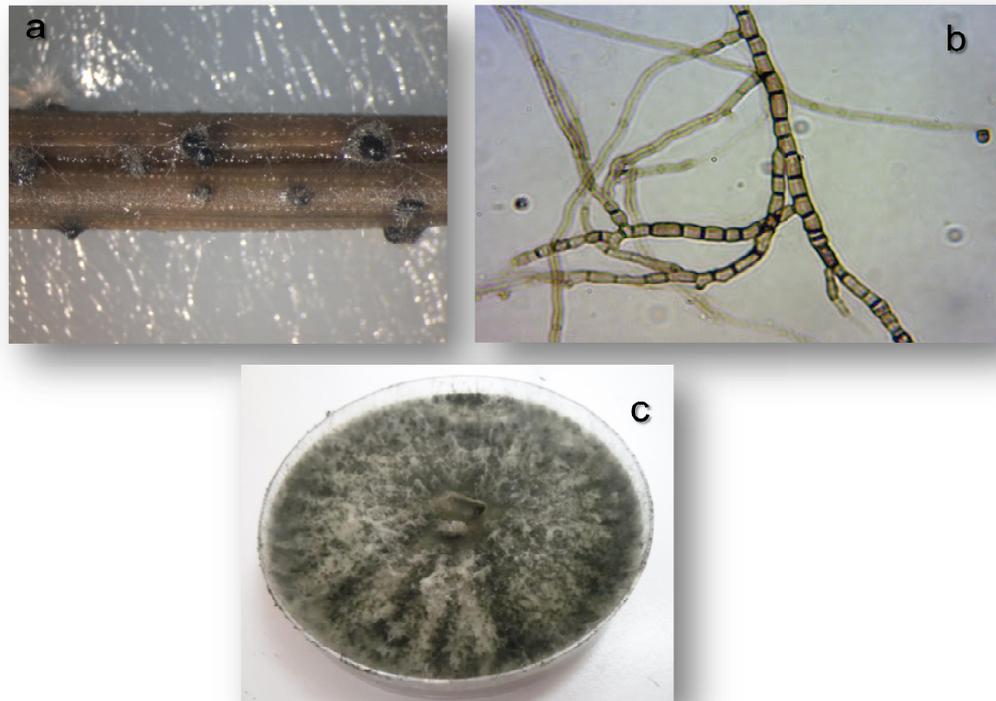


Figure 3.13. *Neoscytalidium dimidiatum* : **a.** Stroma sur milieu PAD ;
b et c. Cellules conidiogènes et **d.** Colonie âgée sur milieu PDA.

3.5. Dénombrement et répartition des espèces

3.5.1. Fréquence d'isolement des espèces

Les fréquences des isolements des différentes espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* sont reportées sur le tableau 3.9.

L'analyse du tableau dévoile une dominance des espèces du genre *Neofusicoccum* avec 51 isolats, dont 29 appartiennent à l'espèce *N. algeriense* et 22 isolats à l'espèce *N. parvum*. Celles-ci étant reportées seulement chez les *Rosaceae* (pommier, pêcher et abricotier).

Les espèces du genre *Lasiodiplodia* sont isolées uniquement à partir des agrumes. Elles se trouvent en deuxième position avec un total de 30 isolats, repartis entre *L. mediterranea* avec 12 isolats et *L. citricola* avec 18 isolats.

Diplodia sp. est aussi associée aux *Rosaceae* représentée par 15 isolats.

Neoscytalidium dimidiatum reste la moins fréquente où elle est reportée sur le pommier uniquement avec seulement deux isolats.

Tableau 3.9. Fréquence des agents fongiques

	<i>L. mediterranea</i>	<i>L. citricola</i>	<i>N. algeriense</i>	<i>N. parvum</i>	<i>Diplodia sp.</i>	<i>Ne. dimidiatum</i>
Agrumes	12	18	0	0	0	0
Pommier	0	0	13	9	6	2
Pêcher	0	0	9	7	5	0
Abricotier	0	0	7	6	4	0
Total	12	18	29	22	15	2
Taux (%)	12,24	18,37	29,59	22,45	15,31	2,04

3.5.2. Répartition des espèces selon le type de nécrose

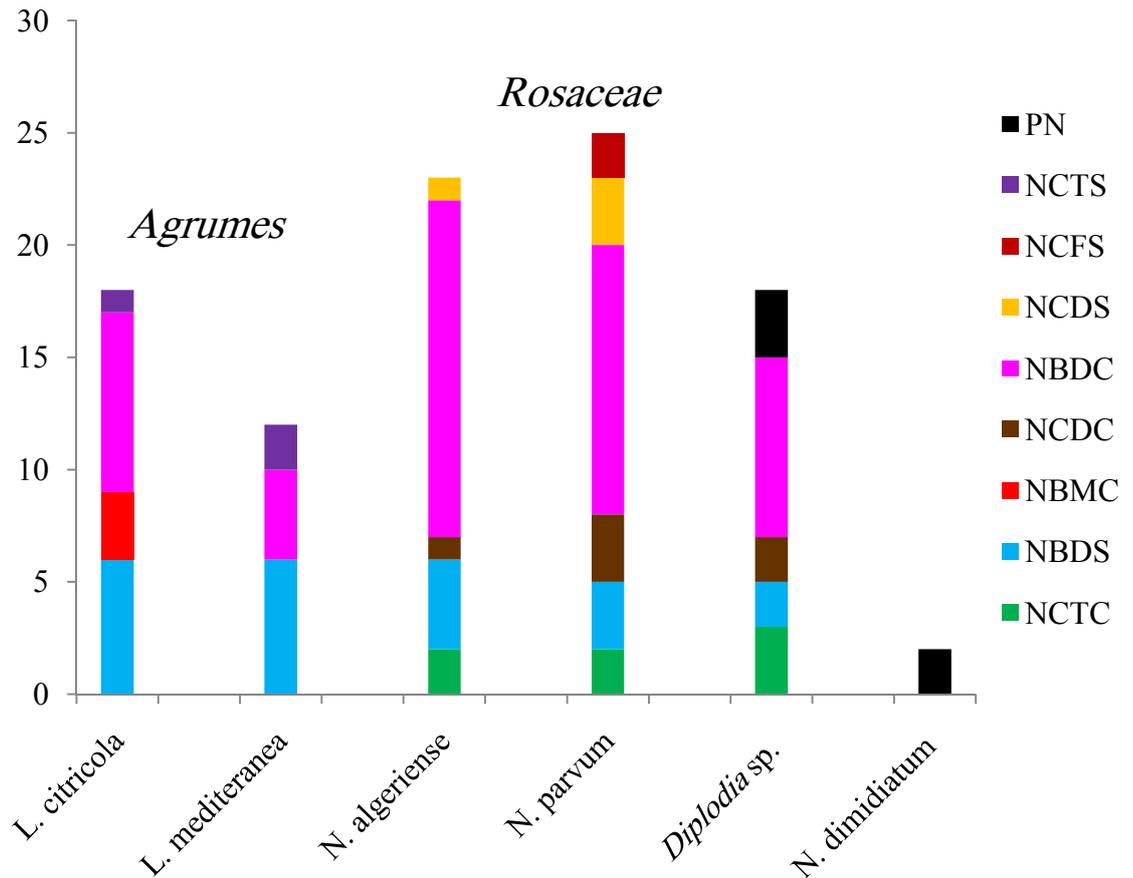
L'analyse de la figure 3.14. montre que les espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* sont associées à une symptomatologie très riche représentée par 9 types de nécrose. Toutes les espèces ont été isolées à partir de différent type de nécrose, à l'exception de *Ne. dimidiatum*, isolée uniquement des points noirs.

Cette figure fait ressentir également que les nécroses brunes et dures (en position centrale et sectorielle) (**NBDC** et **NBDS**) sont communes aux cinq espèces : *L. mediterranea*, *L. citricola*, *N. algeriense*, *N. parvum* et *Diplodia sp.* .

Sur les *Rosaceae*, les nécroses claires en position centrale (dures et tendres) (**NCDC** et **NCTC**) ont permis d'isoler *N. algeriense*, *N. parvum* et *Diplodia sp.* et les nécroses claire et dure en position sectorielle (**NCDS**) ont donné les deux espèces du genre *Neofusicoccum*. Tandis que la nécrose du type claire et friable en position sectorielle (**NCFS**) reste spécifique à *N. parvum* sur le pommier et les points noirs à *Diplodia sp.* sur abricotier.

Sur les agrumes, *L.citricola* et *L. mediterranea* sont également isolées à partir des nécroses claires et tendres en position sectorielle (**NCTS**) pendant que *L. citricola* a été également isolées à partir de la nécrose brune et molle en position centrale (**NBMC**).

En revanche, la figure 3.14 montre clairement que la majorité des isolats sont obtenus à partir des nécroses centrales.



NCTS. Nécrose claire et tendre sectorielle, *NCFS*. Nécrose claire friable sectorielle, *NCDS*. Nécrose claire et dure sectorielle, *NBDC*. Nécrose brune et dure centrale, *NCDC*. Nécrose claire et dure centrale, *NBMC*. Nécrose brune et en molle centrale, *NBDS*. Nécrose brune et dure sectorielle, *NCTC*. Nécrose claire et tendre centrale. *PN*. Points noirs

Figure 3.14. Répartition des espèces fongiques selon le type de nécrose.

3.5.3. Distribution spatiale

La figure 3.15 représente la distribution spatiale des espèces des *Botryosphaeriaceae* isolées à partir des agrumes de Staoueli et Chiffa, du pommier et d'abricotier de la région de Larabâa et du pêcher de la région de Ouled Slama.

N. algeriense, *N. parvum* et *Diplodia sp.* connaissent la plus large distribution où elles sont collectées dans deux localités, Larabâa et Ouled Slama, sur les trois espèces arboricoles, à savoir : le pommier, le pêcher et l'abricotier ; suivi par *L. citricola* et *L. mediterranea*, isolées des agrumes de la région de Staoueli et Chiffa. *Ne. dimidiatum*, pour sa part, montre la répartition la moins importante où elle se trouve dans le verger du pommier de la région de Larabâa.

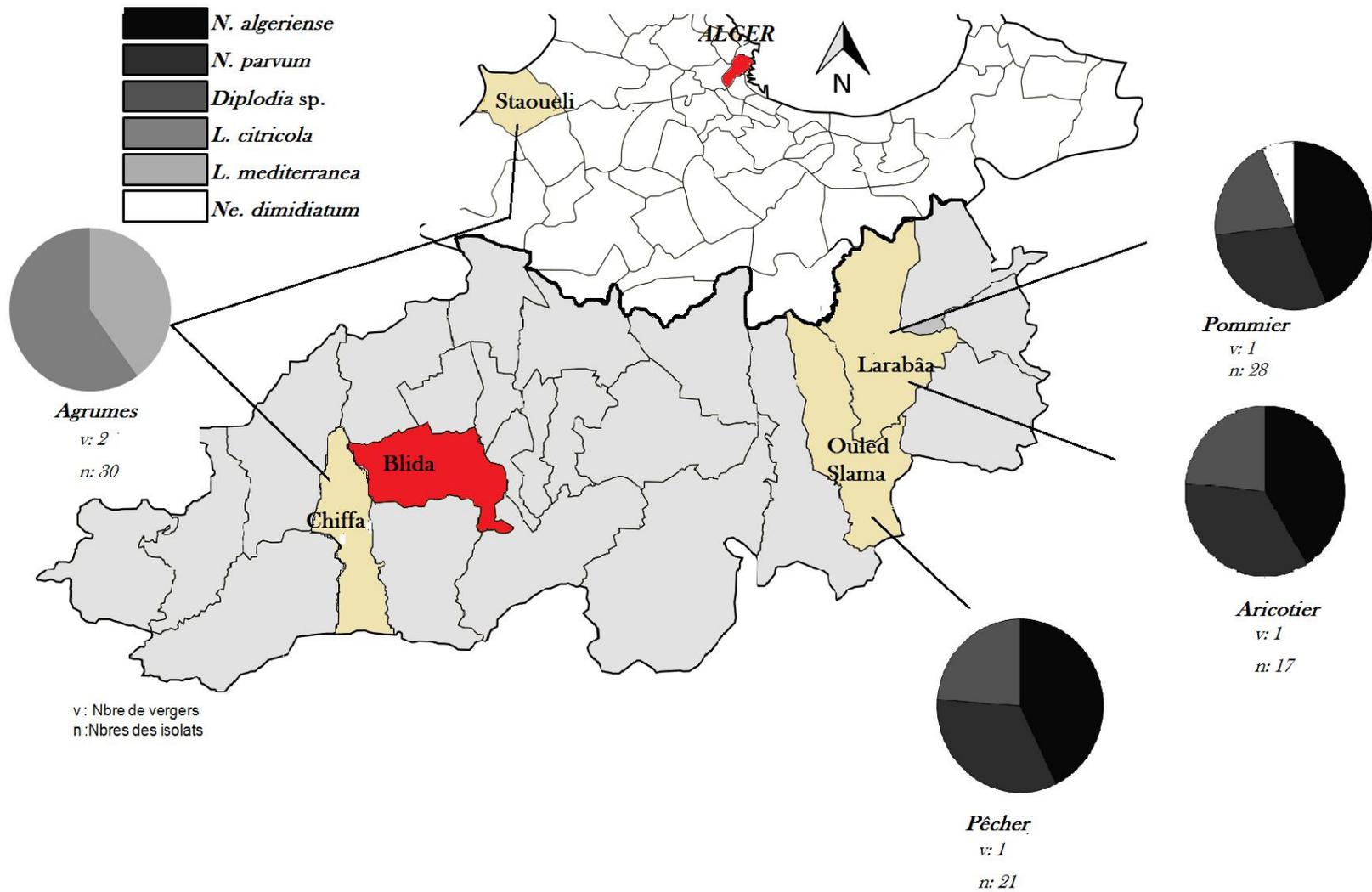


Figure 3.15. Carte de répartition des différentes espèces de Botryosphaeriaceae à travers les régions d'étude.

3.6. Test de pathogénicité

3.6.1. Mensuration des nécroses

L'examen de pathogénicité entrepris sur les agrumes, le pommier, le pêcher et l'abricotier montre des décolorations vasculaires avec une croissance mycélienne dans les deux sens à partir du point d'inoculation du champignon sur la majorité des boutures, à l'exception du témoin. Les longueurs moyennes des nécroses montrent des valeurs variables selon l'espèce fongique et l'arbre hôte.

3.6.1.1. Sur les agrumes

Sur les agrumes, *L. mediterranea* se montre plus virulente avec une longueur moyenne des lésions de 4,14cm. *L. citricola* dévoile des nécroses moins importantes de 3,11cm (Fig.3.16.).

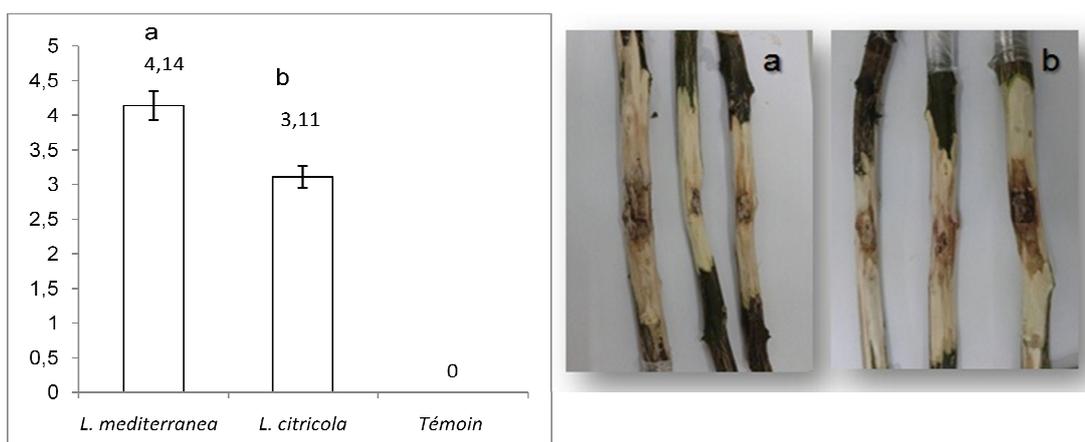


Figure 3.16. Mensuration et décoloration sur les boutures des agrumes
a. *L. mediterranea* et b. *L. citricola*.

3.6.1.2. Sur les Rosaceae

Sur les *Rosaceae*, *N. parvum* provoque les nécroses les plus importantes avec 4,68cm sur le pommier, 5,98cm sur le pêcher et 4,85cm sur l'abricotier. Suivi par *N. algeriense* qui engendre des nécroses moyennes de 3,83 cm, 4,52cm et 3,66 cm respectivement sur pommier, le pêcher et l'abricotier. *Diplodia sp.*, quant à elle, montre les nécroses les moins importantes avec des longueurs moyennes de 3,39cm sur le pommier, 3,82cm sur le pêcher et 2,64cm sur l'abricotier (Fig3.17).

Ne. dimidiatum provoque des nécroses de 2,33cm sur le pommier. Toutefois on note une sensibilité plus marquée du pêcher et de l'abricotier comparativement au pommier.

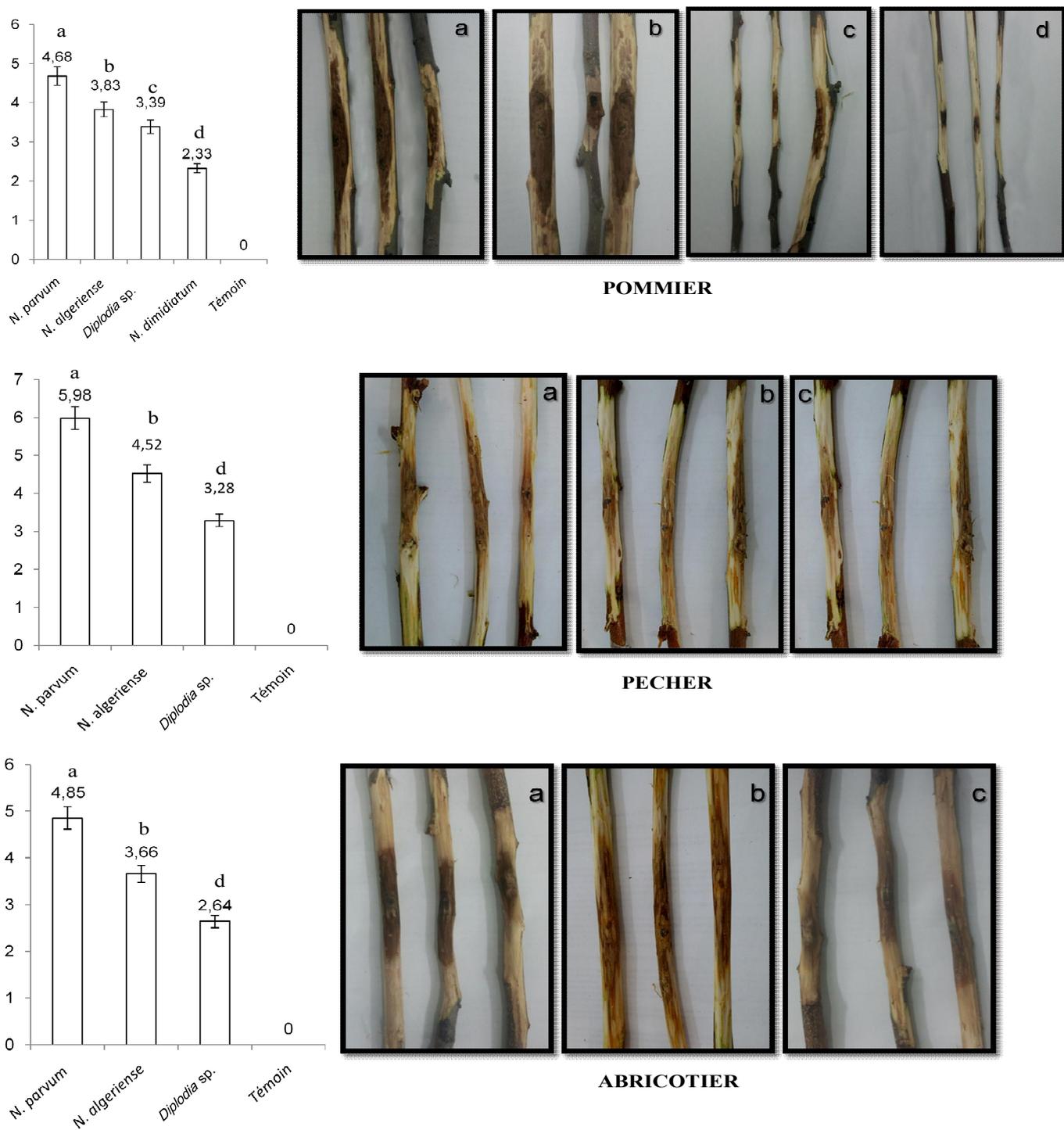


Figure 3.17. Mensuration et décoloration sur les boutures des Rosaceae : A. pommier, B. pêcher et C. abricotier.

3.6.2. Ré-isolément des agents pathogènes

Les résultats du ré-isolément des différentes espèces à partir des boutures inoculées par les diverses espèces fongiques, montrent des taux très élevés allant de 73 à 100% (Tab.10). Le taux de ré-isolément le moins important est observé chez *Diplodia sp.* et ceci sur les trois espèces de la famille des Rosaceae.

Tableau 3.10. Fréquence de ré-isolément des espèces.

	Inoculum	Fréquence de ré-isolément (%)
Agrumes	<i>L. citricola</i>	100
	<i>L. mediterranea</i>	100
Pommier	<i>N. algeriense</i>	100
	<i>N. Parvum</i>	97
	<i>Diplodia sp.</i>	77
	<i>Ne. Dimidiatum</i>	97
Abricotier	<i>N. algeriense</i>	100
	<i>N. Parvum</i>	100
	<i>Diplodia sp.</i>	90
Pêcher	<i>N. algeriense</i>	100
	<i>N. Parvum</i>	100
	<i>Diplodia sp.</i>	73
Témoin	PDA	0

CHAPITRE VI.

DISCUSSION

4.1. Symptomatologie

Les observations réalisées pendant la période de l'échantillonnage ont divulgué l'existence d'un dépérissement au niveau des vergers des agrumes, de pommier, de pêcher de l'abricotier de la plaine de la Mitidja, qui se manifeste par une mort partielle ou totale des arbres. Dans certains cas, une absence des arbres est notée et cela suite à l'arrachage des sujets complètement dépéris. Les mêmes observations sont reportées par Mansouri sur les agrumes de la région de Chiffa [166], par Berraf-Tebbal dans les vignobles de El Hadjout [13] et Kermia dans les vergers de pêcher de la région de Tipaza [167].

Les coupes transversales effectuées au niveau des troncs et rameaux des agrumes et *Rosaceae*, collectés, montrent un développement de 9 différents types de nécroses sur bois interne de ces arbres. Celles-ci sont identiques à celles décrites par Van Neiker et *al.* [168], Bruez [9] et Berraf-Tebbal sur la vigne [13], par Cloete sur le pommier et le poirier [21], par Mensouri sur les agrumes [16] et par Kermia sur le pêcher [166]. Différents types de nécroses sont observés à la fois sur les mêmes coupes réalisées pour un même tronc ou rameau. Berraf-Tebbal explique ce phénomène par la coexistence de différentes maladies chez un même sujet [13].

Sur l'ensemble des échantillons examinés, les nécroses en position centrale sont les plus rencontrées. Ce résultat corrobore avec les résultats de Cloete sur la vigne, le pommier et le poirier [169] et Larignon et Dubos [170], Péros et *al.* [171] et Mugnai et *al.* sur la vigne [172].

4.2. Identification des espèces de *Botryosphaeriaceae* impliqués dans le dépérissement

A partir des nécroses des troncs et rameaux en voie de dépérissement, plusieurs espèces fongiques ont été isolées. Ainsi, une collection de 168 isolats, repartis en 5 groupes, *Botryosphaeriaceae*, *Fomitiporia* spp., *Phaeoacremonium* spp., *Eutypa* spp., *Biscogniauxia* spp. et *Phaeomoniella* spp., a été établie. Cette microflore est identique à celles déjà décrites en Algérie [12 et 13] et en Europe [170, 171 et 138].

Sur l'ensemble des isolats, l'action des espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* est la plus importante avec un taux d'isolement de 58,33%, ce qui corrobore aux résultats de Cloete qui a isolé différentes espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae*, dont 56% des isolats sont *D. seriata* [169]. Berraf-Tebbal, quant à elle, a isolé moins d'espèces de *Botryosphaeriaceae* avec un taux de 52% [13]. Le même résultat a été rapporté par Linaldeddu et al. en Italie qui a isolé 113 champignons dont 48 seulement sont des *Botryosphaeriaceae* [16].

Le séquençage des ITS de 35 d'isolats a permis d'ériger quatre arbres phylogénétiques qui correspondent à quatre différents genres appartenant à la famille des *Botryosphaeriaceae*. Les isolats de cette étude sont groupés en clades bien soutenus avec des espèces de référence récupérées dans la banque publique GenBank (NCBI). Les analyses phylogénétiques combinées aux critères et morphologiques ont mis en évidence l'implication de 6 espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* à savoir : *Lasiodiplodia mediterranea*, *Lasiodiplodia citricola*, *Neofusicoccum algeriense*, *N. parvum*, *Diplodia* sp. et *Neoscytalidium dimidiatum*. Celles-ci étant décrites pour la première fois par Berraf-Tebbal sur la vigne [13]. Selon une étude récente de la phylogénie des *Botryosphaeriaceae* sur les arbres fruitiers à noyaux et à pépins en Afrique du Sud, six espèces ont été identifiées par Slippers et al., à savoir, *N. ribis*, *N. parvum*, *N. australe*, *Botryosphaeria dothidea*, *D. mutila* et *D. seriata* [110]. Damm et al. ont isolé huit espèces de *Botryosphaeriaceae* sur différents arbres fruitiers en Afrique du Sud, y compris *D. seriata*, *D. pinea*, *D. mutila*, *Dothiorella*

viticola, *N. australe*, *N. vitifusiforme*, *D. africana* et *L. plurivora* [19]. En 2010, Cloete a identifiée quatre espèces seulement à savoir : *N. vitifusiforme*, *N. australe*, *D. seriata*, *D. pyricolum* sur la vigne, le pommier et le poirier. Berraf-Tebbal en 2014 a pu isoler 6 espèces : *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia* sp., *N. parvum*, *N. australe*, *N. mediterraneum* et *Botryosphaeria dothidea* [14].

Lasiodiplodia mediterranea associée aux agrumes uniquement est isolé avec un taux de 12,24%. Cette espèce, nouvellement décrite, a été rapportée pour la première sur la vigne par Serra et Deidda sur le chêne vert par Linaldeddu en Italie et sur l'oranger par Berraf-Tebbal en Algérie [16]. En Italie, l'action de cette espèce demeure plus au moins importante où elle été isolée dans un seul vignoble en nombre de 7 sur un total de 48 isolats [16]. *Lasiodiplodia citricola*, montre une action plus importante sur les agrumes avec un taux d'isolement de 18,37%. Cette espèce, nouvellement décrite également, a été identifié en 2009 par Abdollahzadeh dans les vergers des Citrus en Iran avec 2 isolats sur un total de 185 repartis entre la famille des *Botryosphaeriaceae* et *Diaporthaceae* [139]. En 2011 par Chen et *al* ont obtenu 2 isolats de cette espèce sur les 159 champignons isolés à partir des plantations de *Eucalyptus* sp. dans le Sud de la Chine [159]. Ces deux auteurs montrent une action beaucoup moins importante de cette espèce.

Sur les *Rosaceae*, *N. algeriense* est l'espèce la plus fréquente avec un taux d'isolement de 29,54%. Cette espèce décrite pour la première fois par Berraf-Tebbal et *al.* sur la vigne avec 4 isolats sur un total de 67 [14].

N. parvum montre une action moins importante où elle est isolée à un pourcentage de 22,45%. Gramaje et *al.* ont signalé la présence de cette espèce sur l'amandier en Espagne avec 13 souches sur un total de 37 isolats et un taux de 54,80% [132]. En Algérie, cette espèce a été reportée sur la vigne par Berraf-Tebbal avec un taux de 54,8% [13]. Néanmoins, Slippers et *al.* jugent que cette espèce est la plus commune chez les arbres fruitiers à papins et à noyaux à l'échelle mondiale [110] et Gramaje

et *al.* la considèrent comme une des causes les plus courantes de la pourriture du bois des *Rosaceae* [132].

La faible incidence de *Diplodia* sp. (23,47%), comparativement aux deux espèces du genre *Neofusicoccum*, corrobore aux résultats de Gramaje et *al.* qui ont isolée uniquement 4 souches de *Diplodia seriata* sur l'amandier [132] et de Berraf-Tebbal qui a eu 39 isolats sur la vigne [13]. Le même résultat est, également, obtenu par Inderbitzin sur l'amandier en Californie [173]. En revanche, Damm et *al.*, montrent une action plus importante de *Diplodia seriata* sur l'abricot, la néctarine, la pêche et la prune japonaise en Afrique du Sud [19]. Ce champignon a également été l'espèce la plus dominante sur arbres fruitiers à noyau et à pépins en Afrique du Sud avec 90% des isolats collectés sur une période de 5 ans par Slippers et *al.* [110] et par Cloete et *coll.* sur le pommier et le prunier avec 56% isolats [21]. *Diplodia seriata* est connu pour se produire sur une large gamme d'hôtes [174] et de provoquer des maladies graves chez certaines plantes hôtes. Son association au dépérissement a été déjà connue depuis longtemps où Britton et Hendrix l'ont signalé comme la pomme et la pêche [176]. Farr et *al.* figurent 264 hôtes sous son ancien nom de *Botryosphaeria obtusa* [177].

L'incidence de *Neoscytalidium dimidiatum* se révèle la moins importante avec seulement deux isolats. Cette espèce dont la systématique est révisée par Crows et *al.* a été isolé de divers substrats y compris le sol, la peau humaine et les ongles [133]. Comme elle est connue comme un agent pathogène des plantes [174 et 133]. En plus, cette espèce été rapporté pour causer la maladie du chancre sur *Citrus sinensis* [18], *Mangifera indica* [178] et *Hylocereus undatus* et *H. polyrhizus* à Taiwan [179].

5.3. pathologie des espèces

Le test de pathogénicité révèle une grande variation des longueurs des lésions entre les espèces et entre les hôtes et également au profil des espèces qui pourraient être considérées comme saprophytes. Cette

variation peut indiquer des différences dans l'hôte, qui rendent certaines espèces fongiques plus adaptées aux conditions de certains hôtes. Comme elle peut être expliquée par le fait que certaines espèces auraient besoin d'un temps plus long pour obtenir des résultats plus concluants, ou encore par une aberration individuelle des boutures utilisées ou par des erreurs lors du test, bien que cette méthode a été utilisée par plusieurs chercheurs [168, 96]. Toutes fois, ces résultats devraient être considérés comme indicatif de pathogénicité potentiel des espèces identifiées [169].

Sur les agrumes, *L. mediterranea* se montre comme l'espèce la plus pathogène où elle développe des nécroses plus importantes après 4 semaines d'inoculation. Cette espèce donne des nécroses moyennes de $10,3 \pm 3$ cm après 12 jours d'inoculation sur jeune sarments et de $8,1 \pm 1,8$ cm après 50 jours sur des sujets âgés de la vigne [16]. Tandis que sur le chêne vert, cette espèce engendre des nécroses moyennes de $8,3 \pm 2,7$ [16]. Par ailleurs, *L. citricola* qui provoque les nécroses les moins importantes. Cette espèce se montre comme l'espèce la plus pathogène sur le noyer avec des longueurs de 86mm, 132,5mm et 196mm respectivement sur les cultivars de Chandler, Tulare et Vina [170]. Chen et al. quant à eux ont mesuré des nécroses de d'environ 150mm avec une sensibilité accrue pour le cultivar de Vina après 3 semaine d'inoculation du champignon sur des sarments de deux ans [159].

Sur la famille des *Rosaceae*, *N. parvum* se montre comme l'espèce la plus pathogène ce qui confirme les résultats obtenus par Mohammedi lors de l'étude du pouvoir pathogène de *N. parvum* et *D. seriata* sur 10 cultivars de la vigne et différents arbre fruitiers et forestiers. Comparativement, *N. parvum* se montre plus virulent sur le pêcher que le pommier et l'abricotier ce qui est conforme aux résultats de Mohammedi et al. qui ont mesuré des nécroses moyennes respectives de 20,35mm, 20mm et 18,50mm après 4 mois de d'inoculation du champignon [59]. *D. seriata*, quant à elle, montre une sensibilité des espèces de *Rosaceae* à pépins. Ces résultats concordent à ceux de Cloete qui a mesuré les plus grandes nécroses sur le pommier avec 11,87mm comparativement au pêcher et l'abricotier avec

des longueurs moyenne respective de 40,75mm et 3,12mm et aux résultats de qui a montré une sensibilité des pousses du pommier comparativement celle du poirier [169].

Ne. dimidiatum, rapporté sur le pommier se montre plus pathogène que *D. seriata*. Chen et *al.* a reporté les même résultats sur trois cultivars de noyer. L'étude menée par ces chercheurs a révélé des nécroses plus importantes de *N. parvum* et *N. dimidiatum* avec des longueurs moyennes respectives de 130mm et 50mm [159]. En 2011. Polizzi et *al.* ont démontrée que des nécroses apparaissent sur les plants de *Citrus* après 2 semaines d'inoculation des champignons avec une mort total après 6 semaines [18].

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les observations faites sur terrain ont révélé une présence certaine d'un dépérissement au niveau des 5 vergers prospectés. Celui-ci se manifeste par une mort partielle ou totale des arbres ou une absence de certains arbres suite à leurs arrachages.

Une collection de 145 isolats est issue des différentes lésions vasculaires, observées sur les 80 troncs et rameaux examinés par une méthode d'isolement appropriées, dont 98 appartenant à la famille des *Botryosphaeriaceae* soit un taux de 58,33%. A fin de bien différencier les différentes espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae*, une caractérisation moléculaire et morphologique des isolats a été entreprise. Les analyses phylogénétiques, après un séquençage des gènes des ITS, et phénotypiques ont ainsi révélé la présence de 6 espèces réparties en 4 genres à savoir : *Lasiodiplodia mediterranea*, *Lasiodiplodia citricola*, *Neofusicoccum parvum*, *Neofusicoccum algeriense*, *Diplodia* sp. et *Neoscytalidium dimidiatum*. Sur les 98 isolats, les deux espèces du genre *Neofusicoccum* sont les plus dominantes avec 29 isolats de *N. algeriense* et 22 de *N. parvum*. Celles-ci sont associées aux trois espèces des *Rosaceae*, pommier, pêcher et abricotier. Tandis que les espèces du genre *Lasiodiplodia*, associée aux agrumes sont isolées en nombre de 30 isolats dont 12 appartiennent à l'espèce *L. citricola* et 18 isolats à l'espèce *L. mediterranea*. *Neoscytalidium dimidiatum*, reportée en nombre de 2, est associée au pommier.

La distribution spatiale des 5 espèces montre une large répartition de *N. algeriense*, *N. parvum* et *Diplodia* sp. où elles se trouvent dans deux localités, Larabâa et Ouled Slama, sur le pommier, le pêcher et l'abricotier. Les deux espèces du genre *Lasiodiplodia*, isolées sur les agrumes, sont

reportées sur les deux régions de Staoueli et Chiffa. Tandis que *Ne. dimidiatum* se localise dans la région de Larabâa.

L'essai de pathogénicité a dévoilé une grande variation des longueurs des nécroses sur les boutures testées. Les nécroses engendrées par *L. mediterranea* sur les agrumes et *N. parvum* sur le pommier, le pêcher étaient significativement les plus importantes avec des longueurs respectives de 4,14cm, 4,68cm, 5,98 et 4,85cm. Toute fois les fréquences de ré-isolément indiquent que toutes les espèces colonisent les tissus de la plante hôte ainsi elles lui sont pathogènes.

Devant la gravite croissante des déclin auquel sont confrontés les vergers des arbres fruitiers en Algérie, il est nécessaire de mettre en place des enquêtes permettant d'évaluer l'impact des dépérissements, en particulier ce qui sont liées aux espèces de la famille des Botryosphaeriaceae. Pour cela, il est recommandé d'élargir la zone de l'étude de manière à explorer plusieurs vergers et à viser diverses espèces. Cela permettra d'avoir un plus grand nombre d'échantillons, et afin de mieux placer les espèces dans leur contexte taxonomique, il est recommandé de séquencer d'autres gènes, tels que les gènes des facteurs d'élongation ainsi que les β - tubulines qui permettent une meilleure discrimination des espèces des *Botryosphaeriaceae*.

Il est encore très nécessaire de mettre en place un système de lutte contre ces espèces où les méthodes prophylactiques consistantes à la protection des plaies de taille et la diminution des sources des inocula sont les plus utilisées. La présence de souches (bactériennes et fongiques) antagoniste de ces espèces ouvre une nouvelle perspective pour un traitement plus efficace contre ces espèces.

Appendice

Annexe I

Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

- Infusion from potatoes 200g
- Bacto dextrose 20g
- Bacto agar 15g

Mode opératoire

- 39 g / litre d'eau distillée
- Remuer jusqu'à dissolution totale Stériliser à 121 -124°C, pendant 15 mn

Annexe II

Méthode d'identification des isolats

- Extraction de l'ADN selon la Santos et Phillips (2009).
- Evaluation quantitative et qualitative de l'ADN par le NanoDrop ND-1000. $1,8 < DO260 / DO280 < 2$.
- **Amplification de la région ITS (Internal Transcribed Spacer)**
 - **Conditions d'amplification des ITS**

Etapes	Températures	Durées	Nombre de cycles
Pré-dénaturation	95°C	5 secondes	40 cycles
Dénaturation	94°C	1 minute	
Amplification	52°C	30 secondes	
Elongation	72°C	1 minute	
Elongation finale	72°C	10 minutes	

Annexe III*Lasiodiplodia* sp.

>BA 3a

AAGGATCATTACCGAGTTCTCGGGCTTCGGCTCGACTCTCCCACCCTTTGTGAAC
 GTACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTCCGGCCGCCAAAGGACCTCCAAACTCCAGTCAGT
 AAACGCAGACGTCTGATAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCT
 TGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
 ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCGGGGGGC
 ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGAAATTGGGCACCGTCT
 CGCTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTA
 GAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCCGCCGGACGAACCTTCTGAACTT
 TTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA

> BA 15

AAGGATCATTAcCGAGTTTTCGGGCTTCGGCTCGACTCTCCCACCCTTTGTGAAC
 GTACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTTCGGCCGCCAAAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTA
 AACGCAGACGTCTGATAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTT
 GGTTCGTCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
 ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCGGGGGGC
 ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGAAATTGGGCACCGTCT
 CACTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTA
 GAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCCGCCGGACGAACCTTCTGAACTT
 TTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA

> BA 18

AAGGATCATTACCGAGTTTTTCGGGCTTCGGCTCGACTCTCCCACCCTTTGTGAAC
 GTACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTTCGGCCGCCAAAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTA
 AACGCAGACGTCTGATAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTT
 GGTTCGTCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
 ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCGGGGGGC
 ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGAAATTGGGCACCGTCT
 CACTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTA
 GAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCCGCCGGACGAACCTTCTGAACTT
 TTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA

> BA 14

AAGGATCATTACCGAGTTCTCGGGCTTCGGCTCGACTCTCCCACCCTTTGTGAAC
 GTACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTCCGGCCGCCAAAGGACCTCCAAACTCCAGTCAGT
 AAACGCAGACGTCTGATAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCT
 TGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
 ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCGGGGGGC
 ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGAAATTGGGCACCGTCT
 CGCTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTA
 GAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCCGCCGGACGAACCTTCTGAACTT
 TTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA

> BA 9

AAGGATCATTACCGAGTTTTTCGGGCTTCGGCTCGACTCTCCCACCCTTTGTGAAC
 GTACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTTCGGCCGCCAAAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTA
 AACGCAGACGTCTGATAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCT
 GGTTCGTCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
 ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCGGGGGGC
 ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGAAATTGGGCACCGTCT
 CACTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTA
 GAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCCGCCGGACGAACCTTCTGAACTT
 TTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA

> BA 12a

AAGGATCATTACCGAGTTTTCGGGCTTCGGCTCGACTCTCCCACCCTTTGTGAAC
 GTACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTTCGGCCGCCAAAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGGT
 AAACGCAGACGTCTGATAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCT
 TGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
 ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCGGGGGGC
 ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGAAATTGGGCACCGTCCT
 CACTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTA
 GAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCCGCCGGACGAACCTTCTGAACCT
 TCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA

> BA 13

AAGGATCATTACCGAGTTCTCGGGCTTCGGCTCGACTCTCCCACCCTTTGTGAAC
 GTACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTCCGGCCGCCAAAGGACCTCCAAACCTCCAGTCAGT
 AAACGCAGACGTCTGATAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCT
 TGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
 ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCGGGGGGC
 ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGAAATTGGGCACCGTCCT
 CGCTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTA
 GAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCCGCCGGACGAACCTTCTGAACCT
 TTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA

> BA 40

AAGGATCATTACCGAGTTTTCGGGCTTCGGCTCGACTCTCCCACCCTTTGTGAAC
 GTACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTTCGGCCGCCAAAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTA
 AACGCAGACGTCTGATAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTT
 GGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
 ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCGGGGGGC
 ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGAAATTGGGCACCGTCCT
 CACTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTA
 GAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCCGCCGGACGAACCTTCTGAACCT
 TTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA

> BA 12

AAGGATCATTACCGAGTTTTCGGGCTTCGGCTCGACTCTCCCACCCTTTGTGAAC
 GTACCTCTGTTGCTTTGGCGGCTTCGGCCGCCAAAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTA
 AACGCAGACGTCTGATAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTT
 GGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
 ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCGGGGGGC
 ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGAAATTGGGCACCGTCCT
 CACTGCGGACGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTA
 GAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGTCGCCCGCCGGACGAACCTTCTGAACCT
 TTCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA

Annexe VI

Neofusicoccum sp.

> BA 105M

CCGTGGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG
 ATCATTACCGAGTTGATTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACC
 TCTGTTGCTTTGGCGGGCCGCGGTCCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCA
 GCGCCCGCCAGAGGACCATAAAACTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACA
 AGTTAATAAACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
 CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
 TGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTT
 AACCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACC
 TCGGCGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACG
 GCGTCGCCCCGCCGGACGAACCTTTGAATT

> BA 96

CCGTGGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG
 ATCATTACCGAGTTGATTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACC
 TCTGTTGCTTTGGCGGGCCGCGGTCCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCA
 GCGCCCGCCAGAGGACCATAAAACTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACA
 AGTTAATAAACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
 CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
 TGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTT
 AACCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACC
 TCGGCGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACG
 GCGTCGCCCCGCCGGACGAACCTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCG

> BA 101

TGGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATC
 ATTACCGAGTTGATTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCT
 GTTGCTTTGGCGGGCCGCGGTCCTCCGCACCGGCGCCCTTCGAGGGGCTGGCCAGCG
 CCCGCCAGAGGACCATAAAACTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTT
 AATAAACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA
 GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAA
 CGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACC
 CTAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCCCCGTCCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGG
 CGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGT
 CGCCCGCGGACGAACCTTTGAATTATTCTCA

> BA 102

GTNAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAC
 CGAGTTGATTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGC
 TTTGGCGGGCCGCGGTCCTCCGCACCGGCGCCCTTCGAGGGGCTGGCCAGCGCCCGC
 CAGAGGACCATAAAACTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAA
 ACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA
 ATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC
 ATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAA
 GCTCTGCTTGGTATTGGGCCCCGTCCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGT
 GGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCC
 CGCCGGACGAACCTTTGAATTATTCTCA

> BA 99

TGGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATC
ATTACCGAGTTGATTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCT
GTTGCTTTGGCGGGCCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCG
CCCGCCAGAGGACCATAAACTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTT
AATAAACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAA
CGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACC
CTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGG
CGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGT
CGCCCGCCGGACGAACCTTTGAATTANTCTCAAGGTGACCTCG

> BA 112

TGGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATC
ATTACCGAGTTGATTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCT
GTTGCTTTGGCGGGCCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGAGGGGCTGGCCAGCG
CCCGCCAGAGGACCATAAACTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTT
AATAAACTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAA
CGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACC
CTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCCCCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGG
CGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGT
CGCCCGCCGGACGAACCTTTGAATTATTTCTCAAGGTGACCTCG

> BA 236

AAAAAAAAAAGGGGTGGAGAAAAAAAAAATTGTAAAAAGAAAAAAAAAAAAATGG
GGGGGAAAAAAAAAAGGGTGAAAAAAAAAAGAAAAAAAAAACGGGGGAAGAAAA
AAAAGGGGAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAGGGGGTTTGAAAAAAAAAAAAAATGTGT
ACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTGATTCGAGCTC
CGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGCCGCGGTC
CTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCATAAACT
CCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTTCAACAA
CGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTG
AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATT
CCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGG
CTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCCTCAAGCGT
AGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTTCGCCCGCCGGACGAACCTTTGAA
TTATTTCTCAAGGTGACCTCGATCAGGTAGGAACCC

> BA 255

TGAAGGAAAAAAAAAGTCGTAACAAGGTAAGCAGAACTGGCGGTTGAAGTTAAA
AAGTGTTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTGA
TTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGG
GCCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGAC
CATAAACTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAAC
TTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCC
CCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCTCAAGCTCTGCT
TGGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTG
CCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTTCGCCCGCCGGACG
AACCTTTGAATTATTTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGTACCACC

> BA 256

AAGAAAAAAAAAGTCGTAACAAGGTAAGCAGAAGCTGGCGGTTGGAATTA
 GTTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTGATTC
 GAGCTCCGGCTCGACTCTCCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGCC
 GCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCAT
 AAAACTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAACCTT
 CAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGT
 AATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTT
 GGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGGT
 ATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCCCTC
 AAGCGTAGTAGAAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCGCCGGACGAAC
 CTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGGGAACCCCCC

> BA 250

GAGGAAAAAAAAAGTCGTAACAAGGTAAGCAGAAGCTGGGGGTTGGAAGTAAAA
 AGCTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTGATT
 CGAGCTCCGGCTCGACTCTCCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGC
 CGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCA
 TAAAACCTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAACCT
 TCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAG
 TAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCT
 TGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGG
 TATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCCCT
 CAAGCGTAGTAGAAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCGCCGGACGAA
 CCTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGGGAACCCCCC

> BA 238

GGAGGAAAAAAAAAGTCGTAACAAGGTAAGCAGAAGCTGGCGGTGGAAGTAAAA
 ATCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTGAT
 TCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGG
 CCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGAGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACC
 ATAAAACCTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAACCT
 TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAA
 GTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCC
 CTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTT
 GGTATTGGGCCCCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTG
 CCTCAAGCGTAGTAGAAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCGCCGGACG
 AACCTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGACCCCCC

> BA 266

GAAGGAAAAAAAAAGTCGTAACAAGGTAAGCAGAAGCTGGCGGTTGAAGTAAAA
 AGTGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTGAT
 TCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGG
 CCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACC
 ATAAAACCTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAACCT
 TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAA
 GTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCC
 CTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTT
 GGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTG
 CCTCAAGCGTAGTAGAAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCGCCGGACG
 AACCTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGGACCCCCC

> BA 251

GGAAAGAAAAAACGTCGTAACAAGGTAAGCAGAAGCTGGCGATGGAAGTAAAA
 GTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTGAT
 TCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGG
 CCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACC
 ATAAACTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAACT
 TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAA
 GTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCC
 CTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTT
 GGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTG
 CCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCGCCGGACG
 AACCTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGACCCCCC

> BA 275

TGGAGGAAGAAAAGGTCGTAACAAGGTAAGCAGAAGCTGGCGGTTGAAAGTAAA
 AAATGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACAGTTGATT
 CGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGGC
 CGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCA
 TAAACTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAACTT
 TCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAG
 TAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCT
 TGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTTG
 TATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCT
 CAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCGCCGGACGAA
 CCTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGACCCCCC

> BA 240

AAAGAAAAAAAAGTCGTAACAAGGTAAGCAGAAGCTGGCGATTGAAGTTAAAAA
 GTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTGAT
 TCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGGG
 CCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGAGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACC
 ATAAACTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAACT
 TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAA
 GTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCC
 CTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTT
 GGTATTGGGCCCCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTG
 CCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCGCCGGACG
 AACCTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGGACCCCCC

> BA 233

GTGGAGGAAAAAAAAGTCGTAACAAGGTAAGCAGAAGCTGGCGGTTGGAAGTAA
 AAAGTTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTGA
 TTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCGG
 GCCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGAGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGAC
 CATAAACTCCAGTCAGTGAAGTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAC
 TTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
 AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCC
 CTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCT
 TGGTATTGGGCCCCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTT
 GCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCGCCGGAC
 GAACCTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGGACCCCCC

> BA 234

GGCCTATATAATCAGTCTTCGTAACAAGGTAAGCAGAACTGGCGATGGAAGTAA
AAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTG
ATTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCG
GGCCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGA
CCATAAACTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAA
CTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGC
CCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGC
TTGGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTT
GCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCCGCCGGAC
GAACCTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGACCCCCCCC

> BA 229

GGGGGAGGAAGTAAACGCCGTAACAAGGTAAGCAGAACTGCCGATGGAAGTAA
AAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTTG
ATTCGAGCTCCGGCTCGACTCTCCACCCAATGTGTACCTACCTCTGTTGCTTTGGCG
GGCCGCGGTCTCCGCACCGGCGCCCTTCGGGGGGCTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGA
CCATAAACTCCAGTCAGTGAACCTTCGCAGTCTGAAAAACAAGTTAATAAACTAAAA
CTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGC
CCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGC
TTGGTATTGGGCTTCGTCTCCACGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTT
GCCTCAAGCGTAGTAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGTCGCCCCGCCGGAC
GAACCTTTGAATTATTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGACCCCCCCC

Annexe V*Diplodia* sp.

> BA 95

TGGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATC
 ATTACCGAGTTCTCGGGCTTCGGCTCGAATCTCCCACCCTTTGTGAACATACCTCTGT
 TGCTTTGGCGGCTCTTTGCCGCGAGGAGGCCCTCGCGGGCCCCCCCCGCGCGCTTTCTG
 CCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAACGTCGACGTCTGATAAACAAGTTAATA
 AACTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGA
 AATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA
 CATTGCGCCCCCTGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTACAACCCTCA
 AGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGGC
 GTGGCTGTTCAAGCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGT
 CGCCCCCGGACGAACCTTCTGAACTCTCAAGGTGACTCG

> BA 100

TGGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATC
 ATTACCGAGTTCTCGGGCTTCGGCTCGAATCTCCCACCCTTTGTGAACATACCTCTGT
 TGCTTTGGCGGCTCTTTGCCGCGAGGAGGCCCTCGCGGGCCCCCCCCGCGCGCTTTCTG
 CCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAACGTCGACGTCTGATAAACAAGTTAATA
 AACTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGA
 AATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA
 CATTGCGCCCCCTGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTACAACCCTCA
 AGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGGC
 GTGGCTGTTCAAGCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGT
 CGCCCCCGGACGAACCTTCTGAACTTTCTCAAGGTTGACCTCGATCAGTAGAC

> BA 86

TGGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATC
 ATTACCGAGTTCTCGGGCTTCGGCTCGAATCTCCCACCCTTTGTGAACATACCTCTGT
 TGCTTTGGCGGCTCTTTGCCGCGAGGAGGCCCTCGCGGGCCCCCCCCGCGCGCTTTCCG
 CCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAACGTCGACGTCTGATAAACAAGTTAATA
 AACTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGA
 AATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA
 CATTGCGCCCCCTGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTACAACCCTCA
 AGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGCCTTAAAGACCTCGGGC
 GTGGCTGTTCAAGCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGCGT
 CGCCCCCGGACGAACCTTCTGAACTTTCTCAAGGTTGACCTCGATCAGTAGAC

> BA 98

CCGTTGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG
 ATCATTACCGAGTTCTCGGGCTTCGGCTCGAATCTCCCACCCTTTGTGAACATACCTC
 TGTTGCTTTGGCGGCTCTTTGCCGCGAGGAGGCCCTCGCGGGCCCCCCCCGCGCGCTTT
 CTGCCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAACGTCGACGTCTGATAAACAAGTTA
 ATAAACTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG
 CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAAC
 GCACATTGCGCCCCCTGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTACAACC
 CTAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGCCTTAAAGACCTC
 GGCGGTGGCTGTTCAAGCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTG
 GCGTCGCCCCCGGACGAACCTTCTGAACTTTCTCAAGGTTGACCTCGATCAGTAGGA

> BA 97

CGTGGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGA
TCATTACCGAGTTCTCGGGCTTCGGCTCGAATCTCCCACCCTTTGTGAACATACCTCT
GTTGCTTTGGCGGCTCTTTGCCGCGAGGAGGCCCTCGCGGGCCCCCCCCGCGCGCTTTC
CGCCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAACGTCGACGTCTGATAAAACAAGTTAA
TAAACTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC
GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACG
CACATTGCGCCCCCTGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCT
CAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGCCTTAAAGACCTCGG
CGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTGGC
GTCGCCCCCGCGGACGAACCTTCTGAACTTTTCTCAAGGTGACCTCGATCAGTAGA

> BA 91

CCGTGGAAGTAAAAGTCGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG
ATCATTACCGAGTTCTCGGGCTTCGGCTCGAATCTCCCACCCTTTGTGAACATACCTC
TGTTGCTTTGGCGGCTCTTTGCCGCGAGGAGGCCCTCGCGGGCCCCCCCCGCGCGCTT
CTGCCAGAGGACCTTCAAACCTCCAGTCAGTAAACGTCGACGTCTGATAAAACAAGTTA
ATAAACTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAAC
GCACATTGCGCCCCCTGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACC
CTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCGCCGTCCTCTCTGCGGACGCGCCTTAAAGACCTC
GGCGGTGGCTGTTTCAGCCCTCAAGCGTAGTAGAATACACCTCGCTTTGGAGCGGTTG
GCGTCGCCCCCGGACGAACCTTCTGAACTTTTCTCAAGGTTGACCTCGATCAGTAG
ACCC

Annexe VI*Neosectalidium* sp.

> BA 89

```
CCGCCCTCCGTCCGGGGGGTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCATCAAACCTCCGG
TCAGTGAACGTTGCCGTCTGAAAAACAATCAATAAACTAAAACCTTCAACAACGGAT
CTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTCGGTATTCCGA
GGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTGTTGGGCACC
GCCCTTCCGCGGGCGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCTTCGAGCGTAG
TAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGCCGCCCGCCGGACGAACCTTTTGAAC
TTCTCAAGGTGAC
```

> BA 92

```
CCGCCCTCCGTCCGGGGGGTGGCCAGCGCCCGCCAGAGGACCATCAAACCTCCGG
TCAGTGAACGTTGCCGTCTGAAAAACAATCAATAAACTAAAACCTTCAACAACGGAT
CTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTCGGTATTCCGA
GGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAAGCTCTGCTTGGTGTTGGGCACC
GCCCTTCCGCGGGCGCGCCTCAAAGACCTCGGCGGTGGCGTCTTGCTTCGAGCGTAG
TAGAAAACACCTCGCTTTGGAGCGCACGGCGCCGCCCGCCGGACGAACCTTTTGAAC
TTCTCAAGGTGAC
```

Annexe VII

NCTS. Nécrose claire et tendre en position sectorielle.

NCFS. Nécrose claire friable en position sectorielle.

NCDS. Nécrose claire et dure en position sectorielle.

NBDC. Nécrose brune et dure en position centrale.

NCDC. Nécrose claire et dure en position centrale.

NBMC. Nécrose brune et en molle en position centrale.

NBDS. Nécrose brune et dure en position sectorielle.

NCTC. Nécrose claire et tendre en position centrale.

PN. Points noirs

D.P. Densité de plantation

NJ. Neighbour-Joining

MP. Maximum de parcimonie

TBR. Tree-Bisection-Reconnection

IC. Indice de cohérence

RI. Indice de rétention

HI. Indice d'homoplasie

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Troy B., 2013** Assurance et développement agricole : nouvelles dynamiques en Algérie, au Maroc et en Tunisie. Fondation pour l'agriculture et la ruralité dans le monde. Edition 2013, 8-10.
2. **M.A.D.R. 2014.** Direction des statistiques agricoles et des systèmes d'information. *Ministère de l'agriculture*. Série B.
3. **Armengol J., Vicent A., Torné L., Figueres F. G. et Jiménez J. G., 2001.** Fungi associated with esca and grapevine declines in Spain: a three-year survey. *Phytopathol. Mediterr.*40: 325-329.
4. **Aroca A., Gramaje D., Abad-Campos P., Garcí'a-Jime'nez J., Armengol J. et Raposo R., 2008.** Occurrence of grapevine trunk disease pathogens in rootstock mother plants and nurseries in Spain. *Abstracts of the 6th international workshop on grapevine trunk diseases*. Florence, Italy.
5. **Úrbez-Torresj.R., 2011.** The status of Botryosphaeriaceae specie infecting grapevines. *Phytopathol. Mediterr.* 50: 5-45
6. **Wunderlich N., Ash G. J., Steel C. C., Raman H. et Savocchia S., 2011.** Association of Botryosphaeriaceae grapevine trunk disease fungi with the reproductive structures of *Vitis vinifer*. *Vitis* 50 (2): 89-96.
7. **Morales A., A. Latorre B., Piontelli E., et Besoain X., 2012.** Botryosphaeriaceae species affecting table grape vineyards in Chile and cultivar susceptibility. *Cien. Inv. Agr.* 39 (3):445-458.
8. **Pouzoulet J., 2013.** Développement d'une méthodologie PCR en temps réel pour la détection et la quantification in planta des principaux champignons pathogènes associés aux maladies du bois de la vigne Doctorat université de Toulouse. P 176.
9. **Correia K. C., Câmara M. P. S. et Barbosa M. A. G., 2013.** Fungal trunk pathogens associated with table grape decline in Northeastern Brazil. *Phytopathologia Mediterranea*: 52 (2): 380-387
10. **Bruez E., 2013.** Etude comparative des communautés fongiques et bactériennes cloisonnant le bois de ceps de vigne avant exprime ou non des symptômes d'esca. *Doct. univ. Bordeaux*, 253p.

11. **Slippers B., Smit W.A., Crous P.W., Coutinho T.A., Wingfield B.D. et Wingfield M.J., 2007.** Taxonomy, phylogeny and identification of *Botryosphaeriaceae* associated with pome and stone fruit trees in South Africa and other regions of the world. *Plant Pathology* 56: 128–139.
12. **Berraf A. et Péros J.P., 2005.** Importance de l'eutypiose et de l'esca en Algérie et structure de la communauté fongique associée. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 39 (3):121-128.
13. **Abdollahzadeh J., Javadi A., Mohammadi Goltapeh E., Zare R. et Phillips A.J.L. 2010.** Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. *Persoonia* 25: 1– 10.
14. **Berraf-Tebbal A., 2013.** Dynamique spatio-temporelle de l'eutypiose et l'esca de la vigne dans le sahel algérois. Taxonomie et phylogénie des agents pathogènes associés. *Doctorat, ENSA El-Harrach*.
15. **Ammad F., Benchabane M., Toumi M., Belkacem N., Guesmi A., Ameer C., Lecomte P. Et Merah O., 2014.** Occurrence of *Botryosphaeriaceae* species associated with grapevine dieback in Algeria. *Turk J Agric For*: 38: 865-876.
16. **Linaldeddu A., Deidda B., Scanu A., Franceschini S., Serra A., Berraf-Tebbal M., Zouaoui Boutiti M., Ben Jamâa L. et Phillips A. J. L. 2014.** Diversity of *Botryosphaeriaceae* species associated with grapevine and other woody hosts in Italy, Algeria and Tunisia, with descriptions of *Lasiodiplodia exigua* and *Lasiodiplodia mediterranea* sp. Nov. *Fungal Diversity*. 1-16.
17. **Elena k., Fischer M., Dimou D. et. Dimou D. M., 2006.** *Fomitiporia mediterranea* infecting citrus trees in Greece. *Phytopathol. Mediterr.*, 45, 35–39.
18. **Polizzi G, Aiello D, Vitale A, Giuffrida F, Groenewald Z, Crous PW., 2009.** First report of shoot blight, canker, and gummosis caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on citrus in Italy. *Plant Dis* 93:12-15.

- 19. Damm, U., Crous, P.W., Fourie, P.H., 2007.** *Botryosphaeriaceae* as potential pathogens of *Prunus* species in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. *Mycologia* 99, 664-680.
- 20. Adesemoye A. O. & Kloepper J. W., 2009.** Plant–microbes interactions in enhanced fertilizer use efficiency. *Appl Microbiol Biotechnol* (2009) 85:1–12
- 21. Cloete M., Fourie P.H., Damm U., Crous P. et Mostert L. 2011.** Fungi associated with die-back symptoms of apple and pear trees, a possible inoculum source of grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathol. Mediterr. (2011) 50 (Supplement), S176–S190.*
- 22. Belhoucine L., Bouhraoua R. T., Harrak M. J. & Samson R. A. 2012.** Les champignons associés à *Platypus cylindrus* (Coleoptera, Platypodidae) dans une subéraie nord ouest d'Algérie: cas des champignons nuisibles. Integrated Protection in Oak Forests IOBC/wprs. *Bulletin Vol. 76, 2012, pp. 109-116.*
- 23. Bailey G., Carden M. et Clarke P., 2006.** Mythologie : mythes et légendes du monde entier. *Ed. de Lodi, Paris. 265p.*
- 24. Ollitrault, P., et Luro, F. (1997).** L'amélioration des plantes tropicales. In A. Charrier, J. Michel, H. Serge et N. Dominique (Eds.), (pp. 13-36): CIRAD.
- 25. Loussert R., 1989.** Les agrumes. 2-Production. *Techniques agricoles méditerranéennes, Paris.*
- 26. Amar M. H., Abd El Salam M., 2013.** Retro transposon-markers: an overview of the recent progress in Citrus germplasm. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES), Vol. 3, No. 10, p. 31-41, 2013.*
- 27. Iqar M. K., 2007.** Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology. *CAB International, USA, 364p.*
- 28. De-Rocca-Sierra L., et Ollitrault P., 1992.** Les ressources génétiques chez les agrumes. *Le courrier de l'environnement de l'INRA, 3, de Valla vieille.*

- 29. Luro F., Rist D. et Ollitrault P., 2001.** Evaluation of genetic relationships in *citrus* genus by means of sequence tagged microsatellites. *Acta Hort. (ISHS)*, 546, 237-242.
- 30. Barkley N.A., Roose M.L., Krueger R.R. et Federici C.T., 2006.** Assessing genetic diversity and population structure in a *citrus* germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). *Theor. Appl. Genet.* 112, 1519–1531.
- 31. Arumuganathan K. et Earle E. D., 1991.** Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 9(3), pp. 208- 218.
- 32. Gmitter F.G., Ollitrault P., Machado M.A., Reforgiato Recupero G., Talon M., Roose M.L., Navarro J.L., Wu G., Jaillon O., Morgante M. et Rokhsar D.S., 2012.** Genome sequence analysis and comparisons reveal ancestral hybridization and admixture events in the origins of some citrus cultivars. *XII international citrus congress Valencia, Spain*, 61p.
- 33. Walali-Loudyi D. E. M., Skiredji A., et Hassan E., 2003.** Fiches techniques : le bananier, la vigne, les agrumes. *In T. d. t. e. agriculture (Ed.). Rabat: Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II.*
- 34. Bloesch B. et Viret O., 2013.** Stades phénologiques repères des fruits à pépins (pommier et poirier). *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture, Vol. 45 (2): 128–131, 2013.*
- 35. Ndo E.G.D., 2011.** Evaluation de facteur de risque épidémiologique de la phaeoramulariose des agrumes dans les zones humides du Cameroun. *Thèse doctorat. Montpellier SupAgro. 202p.*
- 36. Praloran J.C., 1971.** Les Agrumes. Techniques agricoles et productions tropicales. *Pub. G-P Maisonneuve et Larose, France. 561 p.*
- 37. Menino MR., Carranca C., de Varennes A., d'Almeida V., Baeta J., 2003.** Tree size and flowering intensity as affected by nitrogen fertilization in non-bearing orange trees grown under Mediterranean conditions. *J. Plant Physiol.* 160:1435-1440.
- 38. Van-Ee S., 2005.** La culture fruitière dans les zones tropicales. Wageningen.

- 39. Janick J., Cummins J.N., Brown S.K., et Hemmat M., 1996.** Apples Fruit Breeding, Tree and Tropical Fruits. *John Wiley et Sons, Inc., Vol I pp. 1–77.*
- 40. De Candolle A.D. 1886.** — *Origine des plantes cultivées.* Ed. élix Alcan, Paris. 168p.
- 41. Vavilov N.I., 1926.** Studies on the origin of cultivated plants. *Trudy Byuro. Prikl. Bot.* 16, 139–245.
- 42. Forsline, P.L., 1995.** Adding diversity to the national apple germplasm collection: collecting wild apples in Kazakstan. N. Y. *Fruit Quart.* 3, 3–6.
- 43. Forsline, P.L., 1994.** Collection of wild *Malus*, *Vitis* and other fruit species genetic resources in Kazakstan and neighboring republics. *HortScience* 29, 433.
- 44. Pereira-Lorenzo S., Ramos-Cabrer A.M., et Fischer M., 2009.** Breeding apple (*Malus × domestica* Borkh). Breeding Plantation Tree Crops: *Temperate Species.* Pp: 33-81.
- 45. Juniper B.E., Watkins R. et Harris S.A., 1999.** The origin of the apple. *Acta Horticulturae.* 484: 27-33.
- 46. Luby J.J., 2003.** Taxonomic classification and brief history. In: D.C. Ferree and I.J. Warrington (eds.), *Apples: Botany, Production and Uses.* CAB International, Wallington, Oxford, UK, pp. 1–14
- 47. Kevin M. Folta, Susan E. Gardiner, 2009 .** Genetics and Genomics of Rosaceae. Plants genetic /genomic vol 6. Ed. *Spring Science + Business Media.* Page 290
- 48. Currie A.J., 2000.** Quantitative genetics in apples (*Malus × domestica* Borkh.) breeding: fruit shape traits, genetic parameter estimation and breeding strategy development. *PhD Thesis. Massey University, Palmerston, New Zealand.* Pp 147.
- 49. Phipps J.B., Robertson K.R., Smith P.G. et Rohrer J.R., 1990.** A checklist of the subfamily *Maloideae* (*Rosaceae*). *Canadian Journal of Botany.* 68: 2209-2269.
- 50. Korban S., Skirvin R., 1984.** Nomenclature of the cultivated apple. *HortScience* 19, 177–180.

- 51. Jensen P.J., Rytter J., Detwiler E.A., Travis J.W., et McNellis T.W., 2003.** Rootstock effects on gene expression patterns in apple tree scions. *Plant Mol. Biol.* 493: 493–511.
- 52. Lespinasse Y. et Noiton D., 1986.** Contribution a l'étude d'une plante haploïde de pommier (*Malus pumila* Mill.). Etude descriptive et comparaison avec des clones de ploïdie différente. I. Caractères végétatifs : entre- nœuds, feuilles et stomates. *Agronomie, EDP Sciences, 1986, 6 (7), pp.659-664.*
- 53. Giovannoni J., 2010.** Harvesting the apple genome. *Nature Genetics.* 42: 822-823.
- 54. Oukabli A., 2004.** Le pommier : une culture territoire en zones d'altitude. Bulletin mensuel d'information et de la liaison PNTTA. N°115/ Avril 2004. 1-4 pages.
- 55. Baggiolini M., 1952.** Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. *Agriculture et Arboriculture: 8 (1), 4–6.*
- 56. Lancashire P. D., Bleiholder H., Van Den Boom T., Langelüddeke P., Stauss R., Weber E. et Witzemberger A., 1991.** A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Ann. appl. Biol.* 119, 561–601.
- 57. Hack H., Bleiholder H., Buhr L., Meier U., Schnock-Fricke U., Weber E. et Witzemberger A., 1992.** Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen. – Erweiterte BBCH-Skala, Allgemein. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 44 (12), 265–270.
- 58. Seigle Vatte G., 2012.** BSV de présentation du réseau d'observation régional sur cultures fruitières 2012 : *Bulletin de sante du végétal- Rhone-Alpes, Cultures fruitières n°1 du 14 février 2012, 9p.*
- 59. Mohammadi H. Gramaje D., Banihashemi Z., et Armengol J. 2013.** Characterization of *Diplodia seriata* and *Neofusicoccum parvum* Associated with Grapevine Decline in Iran. *J. Agr. Sci. Tech.* (2013) Vol. 15: 603-616.

- 60. Breteudeau J., 1979.** Atlas d'arboriculture fruitière, collection des techniques horticoles spécialisées, *Edition J. B. BAILLIERE. Volume III, P, 108 - 140.*
- 61. Vavilov, N. I., 1951.** Phytogeographic basis of plant breeding. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Londres, Dawson and Sons: 13-54.*
- 62. Chaumeton H., 2007.** La culture des prunes, pêches et abricots. *Ed. Losange, 94p.*
- 63. Layne D.R. e Bassi D., 2008.** The Peach. Botany, Production and Uses. *CAB International, Wallingford (UK), 615 pagine. (ISBN: 978 1 84593 386 9) (BIB).*
- 64. Ahmad R., Parfitt D.E., Fass J., Ogundiwin E., Dhingra A., Gradziel T.A., Lin D., Joshi N.A., Martinez-Garcia P.J. et Crisosto C.H., 2011.** Whole genome sequencing of peach (*Prunus persica* L.) for SNP identification and selection. *BMC Genomics 2011, 12:569 1-7 page.*
- 65. Verde I., Abbott A. G., Scalabrin S., Jung S., Shu S., Marroni F., Cattonaro F., (2013).** The high-quality draft genome of peach (*Prunus persica*) identifies unique patterns of genetic diversity, domestication and genome evolution. *Nature Genetics, 45(5), pp. 487-494.*
- 66. Hesse C.O., 1971.** Monoploide peaches, *Prunus persica* L. batsch : Description and meiotic analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science 96: 326-330.*
- 67. Mamouni. A. 2006 : Le pêcher: une culture de diversification,** bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA transfert de technologie en agriculture MADRPM/DERD, *Mars 2006, PNTTA n°138 Arboriculture.*
- 68. Manion P.D., 1981.** Tree Disease Concepts. *PrenticeHall, Englewood Cliffs, NJ, pp. 399.*
- 69. Úrbez–Torres J.R., Leavitt G.M., Guerrero J.C., Guevara J., Gubler W.D., 2008.** Identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata*, the causal agents of bot canker disease of grapevines in Mexico. *Plant Dis. 92: 519-529.*
- 70. Zhebentyayeva T., Ledbetter C., Burgos L., Liácer G., 2012.** Apricot. *In Fruit Breeding, Springer US ed., pp. 415-458.*

- 71. Piškur B., Pavlic D., Slippers B., Ogris N., Maresi G., Wingfield M.J. et Jurc D., 2011.** Diversity and pathogenicity of Botryosphaeriaceae on declining *Ostrya carpinifolia* in Slovenia and Italy following extreme weather conditions: 1-15.
- 72. Signoret V., 2004.** Caractérisation de déterminants génétiques pour les critères de qualité de l'abricot, recherche *De QTL, ECOLE PRATIQUE DES HAUTES ETUDES*, 57p.
- 73. Rehder A., 1949.** Bibliography of cultivated trees and shrubs hardy in the cooler temperate regions of the Northern hemisphere. Boston, *The Arnold Arboretum of Harvard University*, 300 p.
- 74. Mehlenbacher S., Cociu V., Hough L.F., 1991.** "Apricots (*Prunus*). Genetic resources of temperate fruit and nut crops", *Acta Horticulturae*, 290: 65-110.
- 75. Dirlewanger, E., Graziano, E., Joobeur, T., Garriga-Caldere, F., Cosson, P., Howad, W. et Arus, P. 2004.** Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **101**, 9891-6.
- 76. Lichou J., Jay M., 2012.** Monographie Abricot. *Paris, CTIFL*, 568 p.
- 77. Boulay H., 1961.** Arboriculture et production fruitière, coll. " Que sais-je? ", Ed. P.U.F, Paris, pp 21-76
- 78. Bouattoura N., 1988.** Les ressources phylogénétiques. Importance-Préservation-Utilisation. *Ann. Inst. Nat. Agro. El-Harrach*, vol. 12 (1), T. 1, pp. 43-69.
- 79. Jamin J.Y., Seiny Boukar L., Floret C. 2003.** Savanes africaines : des espaces en mutation, des acteurs face à de nouveaux défis. *Actes du colloque, mai 2002, Garoua, Cameroun. Prasac, N'Djamena, Tchad - Cirad, Montpellier, France*.
- 80. Virbel-Alonso C., 2011** - Citron et autres agrumes. *Ed. Groupe Eyrolles*, 15 p.
- 81. Fumey D., 2011.** Approche architecturale de la réponse du pommier à la taille : de l'expérimentation à l'élaboration d'un modèle réactif. Thèse de doctorat. MONTPELLIER SUPAGRO, 218 p.

- 82. Bourguiba H., Audergon J.M., Krichen L., Trifi-Farah N., Mamouni A., Trabelsi S. et Khadari B., 2012.** Loss of genetic diversity as a signature of apricot domestication and diffusion into the Mediterranean Basin. *BMC Plant Biology*, 12(1), pp. 49.
- 83. Bennani M. et Hamadache A., 2012.** Protection phytosanitaire des arbres fruitiers et de la vigne. ISBN : 978-9947-03258-9 : 1^e édition. 152 pages.
- 84. Cobraz R., 1990.** Principe de phytopathologie et lutte contre les maladies des plantes. Ed. Lausanne, suisse. Pp 283.
- 85. Frey B.R., Lieffers V.J., Hogg E.H.T., et Landhäusser S.M., 2004.** Predicting landscape patterns of aspen dieback: mechanisms and knowledge gaps. *NRC Research Press, Can. J. For. Res.* 34, p. 1379-1390.
- 86. Badraoui M. et Assali F., 2007.** Les changements climatiques : ont-ils des impacts sur le dépérissement du cèdre dans le Moyen Atlas? Résumé de la communication a la célébration de la journée mondiale 2007 de la terre « changements climatiques et impacts écologiques et économiques. *Université Al Khawayn Ifran, 27 Avril 2007.* 3p.
- 87. Ciesla W.M., 1993.** Qu'arrive t-il au Neem sahélien ? Unasyva. N°172 : sécurité des ouvriers forestiers. *Archives des documents de la F.A.O. Département des forêts.* 62p.
- 88. Le Meignen P. et Micas L., 2008.** Bilan des dépérissements forestiers dans les Alpes-de-Provence. *Forêt méditerranéenne. T XXIX, n°2, Pp : 177-182.*
- 89. Manion P., 1981.** Forest decline concept. An overview. Éd. *Forest decline concept. Minnesita : PDS Press, 1992. Pp : 90-181.*
- 90. Zine El Abidine, 2003.** Le dépérissement des forêts au Maroc : analyse des causes et stratégie de lutte. *Sécheresse 14 (4). Pp : 209-218.*
- 91. Auclair A.N.D., Eglinton P.D. et Minnemeyer S.L., 1997 -** Principal forest dieback: Episodes in Northern Hardwoods: Development of numeric indices of areal extent and severity. *Water, Air and Soil Pollution.* 93: 175-198.

- 92. Bokenge A. N., 2012.** Mesure et modélisation du taux d'effondrement et de dépérissement de la canopée du peuplier faux-tremble, en Alberta. *Doct. Univers. LAVAL, QUÉBEC*. 165p
- 93. Sinclair W.A., 1964.** Comparisons of recent decline of white ash and, sugar maple in northeastern woodland. *Cornell plants*. Vol 20: 62-67.
- 94. Houston D. R., 1967.** Dieback and decline of northeastern hardwoods. *Trees*, 28, 1214.
- 95. Landmann, 1994.** Concepts, définitions et caractéristiques générales des dépérissements forestiers. *Rev. For. Fr. XLVI - 5- Pp : 405-415*.
- 96. Rachedi S., 2008.** Contribution à l'étude des mécanismes écologiques impliqués dans le dépérissement du Sapin pectiné (*Abies alba*. Miller) et caractérisation sanitaire. *Mém. de Master II, Agro-Paris-Tech-Montpellier 59 p*.
- 97. Roloff A., 1999.** Crown morphology as a tool to determine tree vitality. In: "L'arbre : biologie et développement». *C. Edelin ed., Naturalia Monspeliensa, n° HS, 1991*.
- 98. Marion G., 2010.** M2 écologie Fonctionnelle, Comportementale et évolutive. Année 2010 Mémoire bibliographique : Impact des pathogènes sur le fonctionnement des arbres et leur importance dans les processus de dépérissement et de mortalité. *INRA Avignon Unité de Recherche en écologie Forestières Méditerranéennes UR 0629 Domaine St Paul Site Agroparc 84914 Avignon cedex 9*.
- 99. Becker M., 1987.** Bilan de santé actuel et rétrospectif du sapin (*Abies alba* Mill.) dans les Vosges. Etude écologique et dendrochronologique. *Ann. Sci. For 44 (4), 379402*.
- 100. Houamel A. C., 2012.** Contribution a l'étude du dépérissement de la cédraie dans la région de Batna (cas du parc national du Belezma). *Magister Agrio, en Foresterie Option Univer. Aboubekar Belkaïd. P93*
- 101. Brand J.P., Cerezke H.F., Mallett K.I. Volney W.J.K. et Weber J.D., 2003.** Factors affecting trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) health in the boreal forest of Alberta, Saskatchewan and Manitoba, Canada. *Forest Ecology and Management 178, p. 287-300*.

- 102. Moore J.D., 1999** - Effets du chaulage sur la nutrition, la vigueur et la croissance de l'érable à sucre à la station forestière de Duchesnay. *Mémoire es Science (M.Sc.), Univ., Laval, Canada, 60 p.*
- 103. Maugard F., 1992.** L'action des pathogènes d'équilibres sur les jeunes peuplements en état de faiblesse. La Santé des Forêts [France] en 1992, Min. Agri. *Pêche (DERF), Paris : 43-44.*
- 104. Rice R.M. et Lewis J., 1988.** Potential Streamflow Changes from Forest Decline Due to Air Pollution. *Tagungspublikation, (1): 51-65.*
- 105. Lieutier F., Pinon J. et Delatour C., 1994.** Place des agents biotiques dans les dépérissements forestiers. *Rev. For. Fr . XLVI - 5-1994. Pp: 218-221.*
- 106. St.Clair, S.B., J. Guyon et J. Donaldson.2010.** Quaking Aspen's Current and Future Status in Western North America: The Role of Succession, Climate, Biotic Agents and Its Clonal Nature. U. Lüttge et , Progress in Botany 71, *Springer – Verlag Berlin Heidelberg, p.371-400. UFL, 2014*
- 107. Phillips A.J.L., A. Alves, J. Abdollahzadeh, B. Slippers, M.J. Wingfield, J.Z. Groenewald and P.W. Crous, 2013.** The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Studies in Mycology 76, 51–167*
- 108. Pusey P.L., 1989.** Influence of water stress on susceptibility of nonwounded peach bark to *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Disease 73, 1000–1003.*
- 109. Von Arx J.A., 1987.** Plant pathogenic fungi. *Beheifte zur Nova Hedwigia 87: 288.*
- 110. B. Slippers, M. J. Wingfield, 2007.** Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biology Review 21: 90-106.*
- 111. Smith, H., Kemp, G.H.J., Wingfield, M.J., 1994.** Canker and die-back of Eucalyptus in South Africa caused by *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Pathology 43, 1031 –1034.*

112. **Desprez-Loustau M.L., Robin C., Buee M., Courtecuisse R., Garbaye J., Suffert F., Sache I. et Rizzo D., 2007.** The fungal dimension of biological invasions. *Trends Ecol Evol* 22:472–480.
113. **Thompson S., Alvarez-Loayza et P., Terborgh J., Katul G., 2010.** The effects of plant pathogens on tree recruitment in the Western Amazon under a projected future climate: a dynamical systems analysis. *J Ecol* 98:1434–1446
114. **Alvarez-loayza P., White J.F., Bergen M. et Cadenas C., 2008.** *Diplodia mutila* causing mortality of the palm *Iriartea deltoidea*. *Plant pathology*: 57-382.
115. **FAOSTAT, 2015.** <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/F>.
116. **Dakin, N., D. White, G. E. S. J. Hardy, et T. I. Burgess. 2010.** The opportunistic pathogen, *Neofusicoccum australe*, is responsible for crown dieback of peppermint (*Agonis flexuosa*) in Western Australia. Australasian. *Plant Pathol.* 39: 202-206.
117. **Piškur B., Pavlic D., Slippers B., Ogris N., Maresi G., Wingfield M.J. et Jurc D., 2011.** Diversity and pathogenicity of Botryosphaeriaceae on declining *Ostrya carpinifolia* in Slovenia and
118. **Michailides T.J., 1991.** Pathogenicity, distribution, source of inoculum and infection courts of *Botryosphaeria dothidea* on pistachio. *Phytopathology* 81, 566–573.
119. **Smith H., 2001.** Biology of *Botryosphaeria dothidea* and *Sphaeropsis sapinea* as endophytes of Eucalypts and Pines in South Africa. PhD Thesis. University of Pretoria, Pretoria, South Africa.
120. **Sutton BC (1980).** *The Coelomycetes: Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
121. **Cresswell T.C., Miholland R.D., 1988.** Spore release and infection periods of *Botryosphaeria dothidea* on Blueberry in North Carolina. *Plant Disease* 72, 343–346
122. **Weaver D.J., 1974.** A gummosis disease of peach trees caused *Botryosphaeria dothidea*. *Phytopathology* 64, 1429–1432.

123. **Van Niekerk J., F. et Crous P.W. (2006)** *Botryosphaeria* spp. as grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathol Mediterr* 4: S43-S54
124. **Mugnai L., Graniti A. et Surico G., 1999.** Esca (black measles) and brown woodstreaking: two old and elusive diseases of grapevine. *Plant Disease* 83: 404–416.
125. **Pascoe I.G., 1998.** Trunk diseases of grapevine-perspectives from a tour of California. *Australian Grapegrower Winemaker*, 417: 68-71.
126. **Péros J.P., Jamaux-Despréaux, I. et Berger, G. 2000.** Population genetics of fungi associated with esca disease in French vineyards. *Phytopathol. Mediterr.* 39: 150-155.
127. **Chiarappa L., 2000.** Esca (black measles) of grapevine. *An overview. Phytopathol. Mediterr.,* 39: 11 -15.
128. **Úrbez-Torres J.R., Leavitt G.M., Voegel T.M. et Gubler W.D. 2006.** Identification and distribution of *Botryosphaeria* spp. associated with grapevine cankers in California. *Plant Disease* 90 (12): 1490-1503.
129. **Erkan M., 2000.** A general approach for esca disease in the vineyards of Turey. *Phytopathol. Mediterr.,* 39, 35-37.
130. **Schoch C.L., Shoemaker R.A., Seifert K.A., Hambleton S., Spatafora J.W., Crous P.W., 2006.** A multigene phylogeny of the *Dothideomycetes* using four nuclear loci. *Mycologia* 98: 1041–1052.
131. **Phillips A.J.L., 2002.** *Botryosphaeria* species associated with diseases of grapevines in Portugal. *Phytopathol. Mediterr* 41: 3–18.
132. **Gramaje D., Agustí-Brisach C., Pérez-SierraA., Moralejo E., Olmo D., Mostert L., Damm U., Armengol J.; 2012.** Fungal trunk pathogens associated with wood decay of almond trees on Mallorca (Spain). *Persoonia* 28, 2012: 1 –13
133. **Crous, P.W., Slippers, B., Wingfield, M.J., Rheeder, J., Marasas, W.F.O., Phillips, A.J.L., Alves, A., Burgess, T., Barber, P. et Groenewald, J.Z. 2006.** Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriaceae*. *Studies in Mycology* 55: 235-253.

134. **Phillips A.J.L., Alves A., Pennycook S.R., Johnston P.R., Ramaley A., Akulov A., et Crous P.W., 2008.** Resolving the phylogenetic and taxonomic status of dark-spored teleomorph genera in the *Botryosphaeriaceae*. *Persoonia* 21: 29–55.
135. **Phillips A.J.L., Crous P.W. et Alves A., 2007.** *Diplodia seriata*, the anamorph of “*Botryosphaeria obtusa*”. *Fungal Diversity* 25: 141–155.
136. **Slippers B., Fourie G., Crous P.W., Coutinho T.A., Wingfield B.D., Wingfield M.J., 2004.** Multiple gene sequences delimit *Botryosphaeria australis* sp nov from *B-lutea*. *Mycologia* 96 : 1030-1041.
137. **Denman S., Crous P.W., Groenewald J.Z., Slippers B., Wingfield B.D., et Wingfield M.J., 2003.** Circumscription of *Botryosphaeria* species associated with Proteaceae based on morphology and DNA sequence data. *Mycologia* 95: 294–307.
138. **Phillips A.J.L., Alves A., Correia A. et Luque J., 2005.** Two new species of *Botryosphaeria* with brown, 1-septate ascospores and *Dothiorella* anamorphs. *Mycologia* 97: 513–529.
139. **Abdollahzadeh J., Mohammadi Goltapeh E., Javadi A., Shams-bakhsh M., Zare R., Phillips A.J.L., 2009.** *Barriopsis iraniana* and *Phaeobotryon cupressi*: two new species of the *Botryosphaeriaceae* from trees in Iran. *Persoonia* 23: 1–8.
140. **Abdollahzadeh J., Javadi A., Mohammadi Goltapeh E., Zare R. et Phillips A.J.L., 2010.** Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. *Persoonia* 25: 1– 10.
141. **Brown-Rytlewski D.E., McManus P.S., 2000 .** Virulence of *Botryosphaeria dothidea* and *Botryosphaeria obtusa* on apple and management of stem cankers with fungicides. *Plant Dis* 84:1031-1037.
142. **Aissi M., Harhoura K.H., Gaid S. & Hamrioui B., 2009.** Étude préliminaire sur la prévalence de la fasciolose due à *Fasciola hepatica* dans quelques élevages bovins du nord centre algérien (la Mitidja). *Bull Soc Pathol Exot*, 2009, 102, 3, 177-178
143. **Abdollahzadeh J., Mohammadi Goltapeh E., Javadi A., Shams-bakhsh M., Zare R. et Phillips A.J.L. 2009.** *Barriopsis iraniana*

- and *Phaeobotryon cupressi*: two new species of the Botryosphaeriaceae from trees in Iran. *Persoonia* 23: 1–8.
144. **Denizot A.M., 2007.** Les maladies du bois. *Marquette Groupe national maladies du bois - mai 2007.* 1-5.
145. **Crous P.W. et Gams W., 2000.** *Phaeomoniella chlamydospora* gen. et comb. nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca. *Phytopathol. Mediterr.* 39:112–118.
146. **Phillips A.J.L., Alves A., Correia A. et Luque J., 2005.** Two new species of *Botryosphaeria* with brown, 1 -septate ascospores and *Dothiorella* anamorphs. *Mycologia* 97: 513–529.
147. **Mostert L., Hallen F., Fourie P. et Crous P.W., 2006a.** A review of *Phaeoacremonium* species involved in Petri diseases and esca of grapevine. *Phytopathol. a Mediterr.* 45: S12– S29.
148. **Carter M., 1957.** *Eutypa armeniaca* Hansf. and Carter, sp. nov., an airborne vascular pathogen of *Prunus armeniaca* L. in Southern Australia. *Australian Journal of Botany* 11: 498.
149. **Trouillas F. P., Pitt W.M., Sosnowski M.R., Huang R., Peduto F., Loschiavo A., Scott E.S. et Gubler W. D. 2011.** Taxonomy and DNA phylogeny of *Diatrypaceae* associated with *Vitis vinifera* and other woody plants in Australia. *Fungal Diversity.* 13225-011-0094-0.
150. **Fischer M., 2002.** A new wood-decaying basidiomycete species associated with esca of grapevine: *Fomitiporia mediterranea* (*Hymenochaetales*). *Mycological Progress* 1(3) : 315– 324.
151. **Amalfi M., Yombiyeni P., et Decok D., 2010.** *Fomitiporia* in Sub-Saharan Africa: morphology and multigenetic analysis support three new species from the Guineo- Congolian rainforest. *Mycologia*, 102(6), 1303-1317.
152. **White T.J., Bruns T., Lee S. and Taylor J., 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) *PCR Protocols, A guide to methods and applications.* *Academic Press, San Diego*, 315–322

153. **Hall T.A., 1999.** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series 41: 95–98.*
154. **Altschul S.F., Gish W., Miller E.W. et Lipman D.J., 1990.** Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology 215, 403–410.*
155. **Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., et Higgins D.G., 1997.** The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research 25: 4876–4882.*
156. **Wu M., et Eisen J. A., 2008.** A simple, fast, and accurate method of phylogenomic inference. *Genome Biol. 9:R151.*
157. **Swofford D.L., 2003.** PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods) v4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
158. **Gramaje D., Armengol J., Mohammadi H. et Mostert L., 2009.** Novel *Phaeoacremonium* species associated with Petri disease and esca of grapevine in Iran and Spain. *Mycologia, 101 : 920–929.*
159. **Chen S. F., Pavlic D., Roux J., Slippers B., Xieb Y. J., Wingfield M. J. et Zhou X. D., 2011.** Characterization of Botryosphaeriaceae from plantation-grown *Eucalyptus* species in South China. *Plant Pathology: 10.1111/j.1365-3059.*
160. **Trouillas, F. P., Pitt W.M., Sosnowski M.R., Huang R., Peduto F., Loschiavo A., Scott E.S. et Gubler W. D., 2011.** Taxonomy and DNA phylogeny of *Diatrypaceae* associated with *Vitis vinifera* and other woody plants in Australia. *Fungal Diversity.*
161. **Urbez-Torres J. R., Peduto. F, Striegler R. K., Urrea Romero K. E., Rupe J. C., Cartwright R. D. et Gubler W. D., 2011.** Characterization of fungal pathogens associated with grapevine trunk diseases in Arkansas and Missouri. *Fungal Diversity.*
162. **Hillis DM. et Bull JJ., 1993.** An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology 42: 182–192.*

- 163. Page R.D.M., 1996.** TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12 : 357–358.
- 164. Luque J., Martos M., Aroca A., Raposo R. et Garcia-Figueres F., 2009.** Symptoms and fungi associated with declining mature grapevine plants in northeast Spain. *Journal of Plant Pathology* 91: 381–390.
- 165. Rayner RW., 1970.** A mycological color chart. *Commonwealth Mycological Institute and British Mycological Society*, Kew, Surrey, United Kingdom.
- 166. Mansouri A., 2013.** Identification des agents fongiques associés au dépérissement des agrumes dans la région de CHIFFA (BLIDA), *Mém., Ing., Agro. Univer. Blida I.* 90p.
- 167. Kermia S., 2014.** Isolement et Identification d'Eutypa spp. et Fomitiporia spp. associés au dépérissement du pêcher dans la wilaya de Tipaza. *Mém., Ing., Agro. Univer. Blida I.* 90p.
- 168. Van Niekerk J., Crous P., Groenewald J., Fourie P. & Halleen F., 2004.** DNA phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeria* species on grapevine. *Mycologia* 96: 781 - 798.
- 169. Cloete M., 2010.** Pome fruit trees as alternative hosts of grapevine trunk disease pathogens. *Master of science in agriculture at the university of Stellenbosch.* 83p.
- 170. Larignon P. et Dubos B., 1997.** Fungi associated with esca disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology* 103, 147–157
- 171. Péros J.P., Berger G. et Jamaux-Despreaux I., 2008.** Symptoms, wood lesions and fungi associated with esca in organic vineyards in Languedoc-Rousillon (France). *Journal of Phytopathology* 156: 297–303.
- 172. Mugnai L., Graniti A. and Surico G., 1999.** Esca (black measles) and brown woodstreaking: two old and elusive diseases of grapevine. *Plant Disease* 83: 404–416.
- 173. Inderbitzin P., Bostock R.M., Trouillas F.P., Michailides T.J., 2010.** A six locus phylogeny reveals high species diversity in

- Botryosphaeriaceae from California almond. *Mycology*, 102: 1350-1368.
174. **Punithalingam E., et Waterston J.M., 1970.** *Diplodia pinea*. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, No. 273. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
175. **Punithalingam E. et Waller J.M., 1973.** *Botryosphaeria obtusa*. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, No. 394.
176. **Britton K.O. et Hendrix F.F., 1982.** Three species of *Botryosphaeria* cause peach tree gummosis in Georgia. *Plant Dis* 66:1120–1121.
177. **Farr D.F., Rossman A.Y., Palm M.E. et McCray E.B., 2008.** Fungal Databases, Systematic Botany & Mycology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved January 17, 2008, from <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases>.
178. **Sakalidis M.L., Ray J.D., Lanoiselet V., Hardy G.E.S. et Burgess Tl., (2011)** Pathogenic Botryosphaeriaceae associated with *Mangifera indica* in the Kimberly Region of Western Australia. *Eur Plant Pathol* doi: 1007/s10658-011-9760-z.
179. **Chuang M.F., Ni H.F., Yang H.R., Hsu S.L., Lai S.Y., Jiang Y.L., 2012.** First report of stem canker disease of pitaya (*Hylocereus undatus*, *H. polyrhizus*) caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in Taiwan. *Plant Dis* 96:906
180. **Damm, U., Crous, P. & Fourie, P. 2007.** *Botryosphaeriaceae* as potential pathogens of *Prunus* species in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. *Mycologia* 99: 664-680.