



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
scientifique
جامعة زيان عاشور-الجلفة
Université Ziane Achour-Djelfa
كلية علوم الطبيعة و الحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم العلوم البيولوجيا
Département de Biologie
Projet de fin d'étude
En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Filière: Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

***Isolement et identification des champignons
responsables de dépérissement du pin d'Alep dans la
région de Djelfa.***

**Présenté par: Bouchene Ibtissem
Rahmoune Sara**

Devant le jury:

**Présidente: Mme GHAZI
Examinatrice: Mme RACHDI
Promotrice: Mme SAHOULI**

Année universitaire: 2022/2023

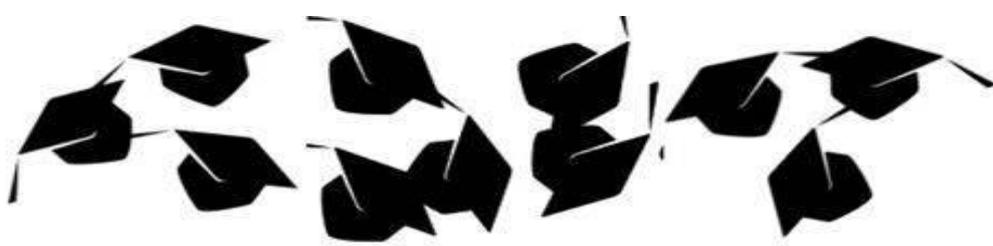
Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah tout puissant, qui nous a donné le courage, la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

*De sincères remerciements se doivent d'être adressés à notre encadreur **Mme "SAHOULISafia"**, pour ses orientations et ses aides offertes lors des différentes étapes de la réalisation de ce travail. Et pour la confiance qu'elle nous a accordée tout au long de cette étude, et en nous consacrons beaucoup de son temps précieux.*

*Nous tenons aussi à présenter nos vifs remerciements et notre respect au jury "**MmeRachdi**", "**Mme Ghazi**".*

Nous exprimons notre gratitude à toute nous familles pour leur contribution, soutien et patience tout au long de notre cursus universitaire. Enfin, nous remercions également tous ceux qui ont Participé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour qui m'a béni par ces prières, ma mère Salima.

A mon très cher père Brahim, qui m'a supporté, aidé, encouragé et m'a donné la force et la volonté de faire du bien pour mes études et de continuer ce travail. Merci papa pour vos efforts fournis jours et nuits.

A ceux qui se sont tenus de mon côté et ont enduré la fatigue et l'effort, à ceux qui ont cherché et travaillé dur la durée de ce travail, "cher moi" Merci vous méritez le meilleur, Fier de vous.

A mes chères sœurs et frère: Nassima, Oulia, Mouhy Eldine.

A tout la famille « BOUCHENE » et « DAOUADI »

A mon fiancé Tarek et sa famille.

A mes chères et meilleures amies: Imane, Lamia, Radia, Soumia, Hanan, Hala, Maghnia, Nour El Houda , Assia.

Dédicace spéciale à « Imane », une source de courage tout au long des moments de travail et toujours à coté de moi, merci.

J'adresse également mes remerciements à tous les professeurs de la faculté et un remerciement particulier à mon encadreur

Mme SAHOULI Safia

Pour son soutien tout au long des travaux et de la Faculté de la nature et des sciences de la vie et à tous ses travailleurs et étudiants.



Dédicace

Louange à Dieu, assez, et prières et paix sur le bien-aimé Élu, quant à ce qui suit: Dieu soit loué d'abord, Dieu soit loué pour ce moment que j'ai toujours vu comme lointain, le voici aujourd'hui.

Je dédie le fruit de cette réussite à ceux qui ont lutté avec moi et défié avec moi les difficultés de la vie, à ceux qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours académique malgré toutes les circonstances, à ceux dont j'ai trouvé l'étreinte à chaque moment de faiblesse, à ceux qui ont été mon soutien dans la vie, ont éclairé mon chemin et m'ont donné les moyens de réussir malgré tout. Et les honorables parents {RAHMOUNSaad, SOUIEHF} Que Dieu prolonge leur vie, et que Dieu leur accorde tout bien

A la lumière du chemin mes sœurs ,et mes petite sœurs Mariem et Fatima que Dieu leur accorde le succès et prenne soin d'elles.

À ma grand-mère, que Dieu la guérisse.

*À tous ceux qui m'ont soutenu, même avec un mot gentil. A mon fidèle ami
Ibtissam.*

Table des matières

Remerciement.....	
<i>Dédicace</i>	
LISTES DES FIGURES.....	
LISTE DES TABLEAUX	
Liste des abréviations.....	
Introduction.....	1
Chapitre I Matériel et Méthodes.....	5
I.1. Région de l'étude	5
I.2. Choix des stations d'études.....	5
I.3. Matériel fongique.....	6
I.4. Milieux de culture	7
I.5. Méthode expérimental	7
I.5.1. Stérilisation superficielle	7
I.5.2. Mise en culture	7
I.5.3. Purification.....	8
I.6. Méthode de stratification des grains	8
I.7. Méthode du blotter test.....	8
I.8. Identification morphologique	9
I.8.1. Identification macroscopique.....	9
I.8.2. Observation microscopique.....	9
I.9. Analyse du dépérissement	9
I.9.1. Défoliation	10
I.9.2. Décoloration	10
I.9.3. Indice de dépérissement (ID)	11
Chapitre II Résultats et Discussion	13

II.1. Identification morphologique	13
II.1.1. Analyse de dépérissement	21
II.1.2. L'indice de Dépérissement (ID)	21
Conclusion	24
Références Bibliographiques.....	26
Annexe.....	30
Résumé.....	

LISTES DES FIGURES

Figure 1	Situation géographique de la wilaya Djelfa	05
Figure 2	Les aiguilles de pin d'Alep	06
Figure 3	Les étapes de la mise en culture des fragments de pin d'Alep	07
Figure 4	Méthode de stratification des grains.	09

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Dispositif expérimental conçu pour l'étude.	06
Tableau 2	Classes de notation de la défoliation et les principales catégories sanitaires des arbres.	10
Tableau 3	Classes de décoloration.	11
Tableau 4	Description macroscopique et microscopique des souches de la station A.	13
Tableau 5	Description macroscopique et microscopique des souches de la station B.	18
Tableau 6	Description macroscopique et microscopique des graines de la station D.	20

Liste des abréviations

PDA : Potatoes-Dextrose-Agar.

Ech : Échantillon.

g : Gramme.

Ha : Hectare.

ni : Nombre d'arbres de la classe i .

Pi : Poids de la classe i (1 si $i=1$, 2 si $i=2$ etc.).

N : Effectif total d'arbres observés dans la station.

ID : Indice de Dépérissement.

Introduction

Introduction

Introduction

Les forêts méditerranéennes sont parmi les plus importantes au monde, elles possèdent environ 65 millions d'hectares de forêt boisée et 19 millions d'hectares de sous-forêt (Seigue, 1985), elle présente une biodiversité exceptionnelle pour chaque type de climat (Quézel et Médail, 2003), parce qu'elle est caractérisée par des environnements hétérogènes (Quézel et al., 1999).

Le pin d'Alep est considéré comme une espèce largement répandue dans le bassin méditerranéen, ces forêts occupent environ 3,5 millions d'hectares, elle possède le plus grand domaine écologique (Sghaieret Ammari, 2012), et sa répartition géographique est principalement centrée dans la méditerranée occidentale (Algérie, France, Tunisie, Espagne, Italie) (Quézel et Médail, 2003). En Algérie le pin d'Alep, occupe une surface de 852.000 hectares et couvre 35%, est la principale région forestière algérienne (Mézail, 2003). On le retrouve partout à Oran (Tlemcen, Sidi-Bel-Abbès, Tiaret, Saïda) et à Algérie (médias, Boghar, Monts des Bibans), et sur l'atlas du Sahara (Mont Ouled Nail) et dans le sud de Constantinois et la région de Tbessa et Aurès). A cause de sa plasticité et de ses faibles exigences il est l'espèce la plus utilisée pour le reboisement (Quézel, 2002; Guit, 2015; Djerrad, 2016).

Le genre *Pinus* fait partie des arbres les plus significatifs sur le plan écologique et économique à l'échelle mondiale, ce qui en plus de ses nombreux rôles biologiques dans les écosystèmes forestiers, représente une source majeure de bois, de pâte à papier et de papier, de graines comestibles, de charbon de bois et de résine (Richardson, 2000).

Il est aussi utilisé comme désinfectants, antifongiques et anti-maladies respiratoires (Chermat et Gharzouli, 2015). En Algérie, il est indiqué contre les maladies digestives dans les régions du nord-est algérien), pour l'hypertension et les hémorroïdes, ainsi que pour les ulcères, la tuberculose et les maladies respiratoires (Benarba et al., 2015).

Les écosystèmes forestiers subissent plusieurs perturbations abiotiques (sécheresses, la neige, gel hivernal..), ces dégâts sont appropriés pour accroître le risque d'incendie et la propagation d'insectes sous-corticaux (Boutte, 2012). Et biotiques (La processionnaire du pin, les cochenilles des aiguilles, l'hylésine des pins.....), peuvent

Introduction

causer des dépérissements (**Durand-Gillmann2014**). Une des causes de la mort des forêts est la désertification, qui est le problème le plus préoccupant, parce que cela menace tous les écosystèmes naturels en réduisant le potentiel biologique et en réduisant les équilibres écologiques et socio-économiques, pour lutter contre la désertification, le projet de barrage vert est la ceinture verte contre la progression du sable du Sahara d'environ 3.000.000 hectare (**Letreuch, 1991**). Elle a permis de diminuer la progression du Sahara et de rétablir l'équilibre naturel. En effet, notre domaine de recherche de Djelfa connu pour son manque cyclique d'eau et la pauvreté de son potentiel édaphique (**Zehraoui et Kadik, 2020**). Le barrage vert connu un échec fatal dans la plus grande partie du pays, sous l'influence de plusieurs facteurs climatiques et anthropiques.

Le dépérissement des arbres forestiers est un phénomène de plus en plus répandu dans tout le bassin méditerranéen. Actuellement, beaucoup de forêts méditerranéennes naturelles et boisées sont en déséquilibre par le dépérissement (**Guit, 2015**). Les maladies fongiques sont les facteurs responsables de ce phénomène qui se traduit par un affaiblissement progressif des arbres à une détérioration et une perte de feuillage, une réduction de croissance et une augmentation de susceptibilité à des stress secondaires.

Les infestations par certains champignons sont en fait la conséquence même d'une détérioration physiologique déjà avancée des arbres touchés (**Poirier, 1986**).

De même, la graine peut transporter des parasites capables de produire des pourritures cotylédonaire, comme des fontes de semis des plantules (**Motta, 1986**).

Sur ce contexte l'objectif de notre travail est l'identification des agents fongiques responsables des maladies du *pinus halepensis*.

Chapitre I

Matériel et méthodes

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I Matériel et Méthodes

L'objectif de la présente étude vise à isoler des champignons à partir des arbres de pin d'Alep présentant des symptômes de la maladie du chancre tels le jaunissement et le dessèchement des feuilles.

I.1. Région de l'étude

La région de Djelfa se trouve au centre du nord de l'Algérie, à environ 300 km au sud de la capitale "Alger", il couvre une région de 32.256.35 km. Elle se trouve limitée au nord par les wilayas de Médéa et Tiaret, à l'est par les wilayas de Msila et de Biskra, à l'ouest par les wilayas de Laghouat et au Sud par les wilayas d'Ouargla, El Oued et Ghardaïa (Figure 1).

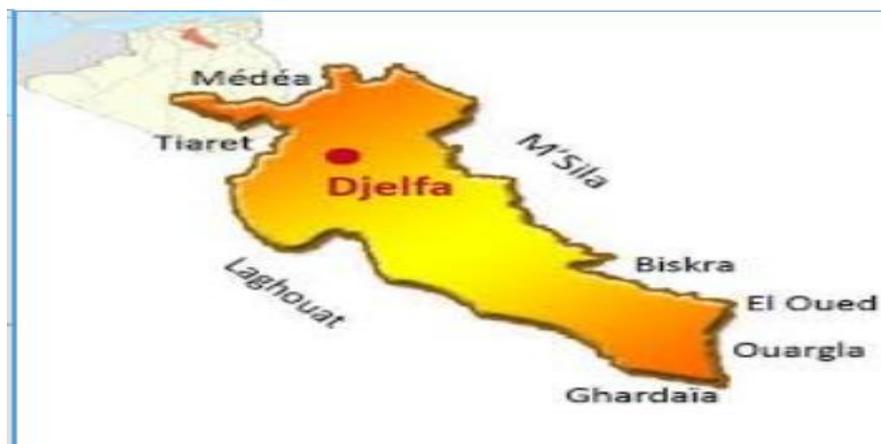


Figure 1 : Situation géographique de la wilaya Djelfa (Anonyme, 2020).

I.2. Choix des stations d'études

Pour réaliser cette étude, trois stations ont été choisies à l'université Ziane Achour, située près du stade 1er novembre.

Les stations d'étude choisies sont situées en face de la faculté des sciences de la nature (A) et du forêt derrière l'université (B) ainsi que la zone derrière la bibliothèque de l'université (D) (voir annexe).

Tableau 1 : Dispositif expérimental conçu pour l'étude.

	station	Station	Station
	A	B	D
Arbre	A1	B1	D1
Arbre	A2	B2	D2
Arbre	A3		D3
Arbre	A4		
Arbre	A6		
Arbre	A7		
Arbre	A8		

I.3. Matériel fongique

Le matériel fongique provient de d'arbre du pin d'Alep présentant des symptômes de dépérissement. Il s'agit des aiguilles (**Figure 2**).Et des cônes.

Les cônes sont récoltés dans la zone étudiée (station D), puis casser, extraire les graines et recueillir dans un boîte pétrie stérile.



Figure 2:Les aiguilles de pin d'Alep (photo original, 2023).

I.4. Milieux de culture

Pour tous les essais, le milieu Potatoes-Dextrose-Agar (PDA) (voir Annexe) est universellement utilisé pour la culture de champignons et de bactéries (Wilson, 1997; Ganley et Newcombe, 2006)

I.5. Méthode expérimental

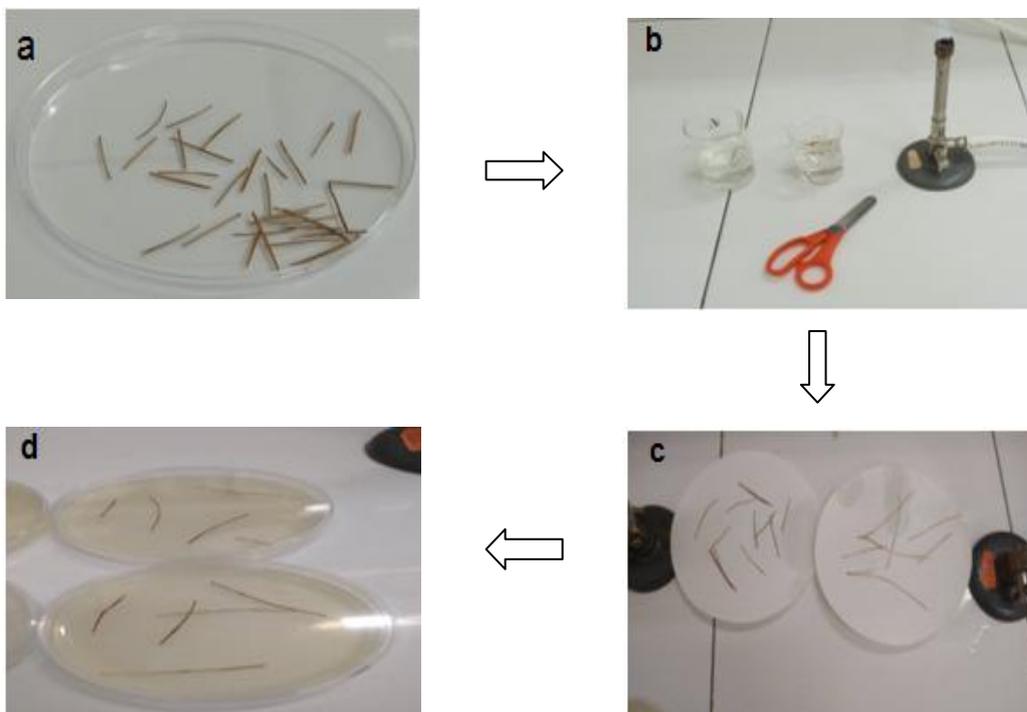
I.5.1. Stérilisation superficielle

Le matériel végétal est trempé dans l'eau de Javel pendant trois min puis rincé trois fois à l'eau distillée stérile (Helander *et al.*, 1994).

I.5.2. Mise en culture

Après la stérilisation, les aiguilles sont séchées sous papiers filtres stérile entre deux bec de bunsen et sont coupée verticalement de 2 à 4 cm avec une pince stérile. Puis ces fragments sont déposés dans boîtes de Pétri stérile contenant le milieu PDA (Figure 03).

Les boites sont contrôlées quotidiennement pour observer le développement des champignons sur le milieu PDA.



Chaque boîte de Pétriensemencée est considérée comme étant une unité de culture, il existe 12 boîtes de Pétri pour trois zones d'étude. Toutes ces manipulations microbiologiques sont réalisées dans des conditions d'asepsie avec l'appoint d'un bec bunsen. Avant qu'on commence à travailler.

I.5.3. Purification

Une purification est effectuée par des repiquages successifs des champignons développés. Le repiquage se fait avec une pince stérile et placé au centre d'une nouvelle boîte de Pétri contenant du milieu PDA puis les boîtes sont scellées avec para-film.

I.6. Méthode de stratification des grains

Moins de grains ont été désinfectés par agitation dans une solution de NaOCl à 2% avec un agitateur magnétique à 120 t/mn pendant 25 minutes puis rincés quatre fois avec de l'eau distillée stérile et séchée entre deux papiers filtre stérile. Les grains sont mis dans des boîtes de Pétri en verre stériles de 18cm, contenu un humidificateur stérile en papier filtre puis incubées à 25°C pendant 20jour (**Ocamb et al. 2002**)

I.6.1.Méthode du blotter test

Les graines de pin sont désinfectées avec NaOCl à 3% pendant 3min puis rincées trois fois dans de l'eau distillée stérile. Quinze (15) graines ont été placées dans des boîtes de Pétri de 18cm de diamètre contenant trois disques de papiers filtre stériles inhibés d'eau distillée stérile. Les boîtes sont ensuite incubées à 25 °C pendant 15 jours (**Anon, 1996**).



Figure 4 : Méthode de stratification des grains (**photo original, 2023**)

Après incubation de 15 jour méthode du blotter test ou 20 jour de méthode de stratification des grains, effectue isolement des graine qui sont contient un mycélien et place dans un milieu PDA pendent 7 jour.

I.7. Identification morphologique

I.7.1. Identification macroscopique

Cette étude est basée sur l'observation à l'œil nue des colonies développées sur le milieu PDA. Elle se base essentiellement sur les caractères suivant: la vitesse de croissance, la couleur et l'exsudat.

I.7.2. Observation microscopique

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle. Généralement, un examen à différent grossissements est suffisant pour mettre en évidence la plupart et des éléments importants (**Chabasse, 2002**).Ce qui permet ainsi de détecter la présence et la nature du mycélium, la présence ou l'absence du spores etc (**Samson et al., 1988**).

Les champignons qui se développent sur les graines sont observés au microscope et identifiés à l'aide de clés d'identification (**Booth, 1971**).

I.8. Analyse du dépérissement

L'appréciation de l'importance du phénomène de dépérissement est souvent subjective. Il se réfère à la réduction du volume de la cime globale qui est

Chapitre I Matériel et méthodes

généralement calculé par une échelle semi-quantitative basée sur le pourcentage de défoliation appliquée à chaque arbre (**Guit et al.,2016**).Pour faire ce diagnostic la station B est choisie en se basant sur deux paramètres la défoliation et la décoloration des arbres.

I.8.1. Défoliation

La défoliation est la perte éventuelle de feuillage dans la partie fonctionnelle de l'arbre. (**Arnaldo et al., 2010**). L'échantillonnage est constitué de 10 arbres. Les différentes notes ainsi obtenues sont regroupées en 4 grandes classes (Tableau 02).

Tableau 02: Classes de notation de la défoliation et les principales catégories sanitaires des arbres (**Arnaldo et al., 2010**).

Classes (CEE)	Proportions de feuillage affecté	Signification des classes
1	15–25%	Arbre faiblement défolié
2	30–60%	Arbre modérément défolié ou modérément dépérissant
3	65–95%	Arbre fortement défolié ou dépérissant
4	Mort (100%)	Arbre mort ou sec

I.8.2. Décoloration

Elle se traduit par un jaunissement d'une partie ou de toute la cime par rapport à la coloration habituellement observée sur le feuillage du pin d'Alep (**Landmann et al., 1987**). Elle est notée par rapport au feuillage présent. Afin d'évaluer la décoloration, on procède comme suit: on découpe l'arbre en 4 zones égales, on estime quelle proportion du feuillage de chaque zone présente une coloration anormale et on extrapole sur les 4 zones pour définir la note (**Tableau 03**).

Tableau 03 : Classes de décoloration.

Classes	Proportion de feuillage décoloré	Signification des classes	Catégorie de coloration
1	1–10 %	Pas de décoloration	Coloration normale
2	15–25 %	Faiblement décoloré	Coloration anormale
3	26–60%	Modérément décoloré	
4	> 65 %	Gravement décoloré	
5	100 %	Très gravement décoloré	

I.8.3.Indice de dépérissement (ID)

A partir de la défoliation, l'indice de dépérissement de pin d'Alep est calculé selon la méthode appliquée au chêne-liège (**Bouhraoua, 2003**) et au cyprès vert (**Nichane, 2015**). Il permet d'exprimer d'une façon directe l'état général du peuplement à partir de l'ensemble des arbres pris individuellement. Les principales catégories de dépérissement du peuplement de pin d'Alep prises en compte en fonction de l'indice de dépérissement « ID ».

$$ID = \frac{(n1.P1) + (n2.P2) + (n3.P3) + (n4.P4) + (n5.P5)}{N}$$

N_i : Nombre d'arbres de la classe i.

P_i : Poids de la classe i (1 si i=1, 2 si i=2 etc.).

N : Effectif total d'arbres observés dans la station.

ID : Indice de Dépérissement.

Chapitre II

Résultats et Discussion

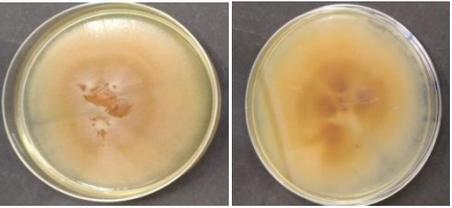
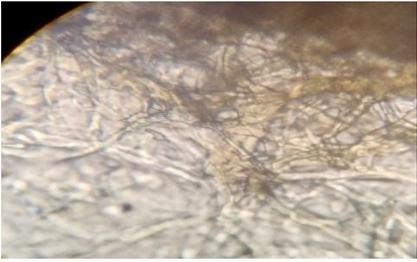
Chapitre II : Résultats et Discussion

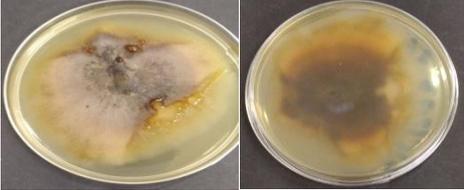
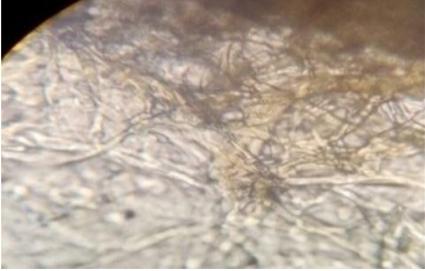
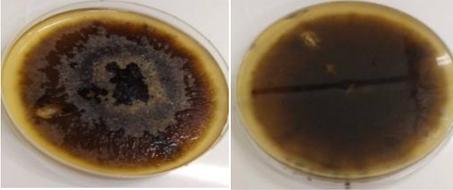
II.1. Identification morphologique

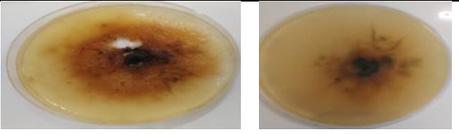
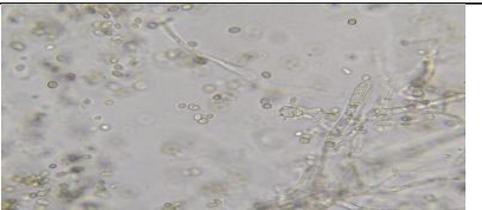
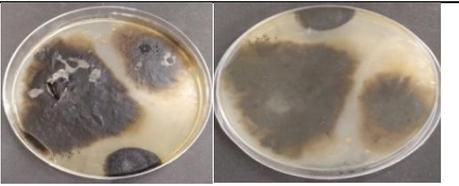
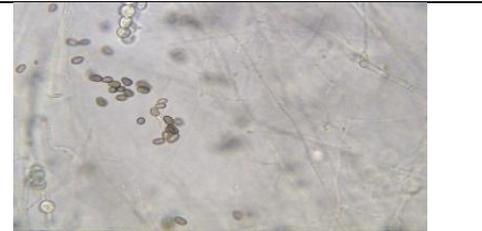
L'identification des isolats repose principalement sur les clés d'identification décrites par **Humber (1997) ; Campbell et Johnson (2013)**.

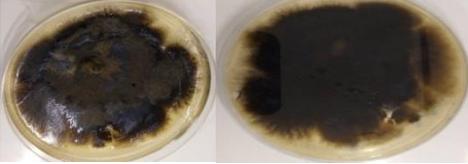
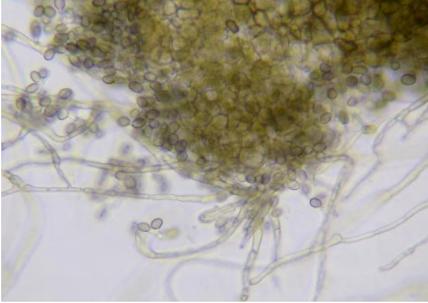
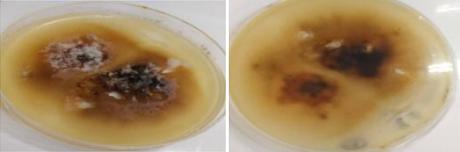
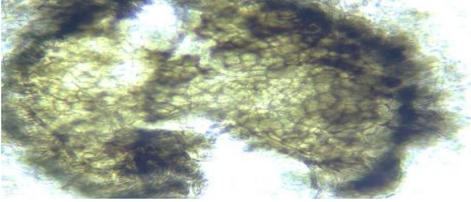
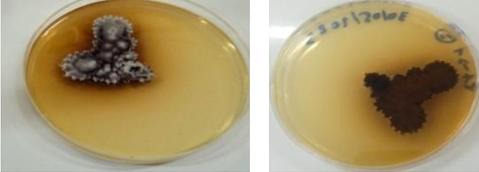
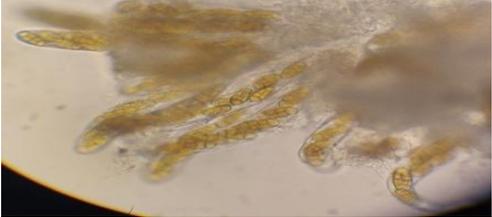
Selon les caractères macroscopiques des colonies (réalisé après incubation de 7 jours à 25C° sur culture différents PDA stérile).

Tableau 04 : Description macroscopique et microscopique des souches de la station A (photo original).

Code de l'isolat	Observation macroscopique	Observation microscopique (GX400)
1A1	 <p>couleur noir dans les deux coté</p>	
2A1	 <p>Couleur jaune-beige couleur gris dans le milieu de la boite verso: couleur noire marron foncé.</p>	
2A2		

	<p>recto : couleur saumon -beige grisâtre dans le milieu de la boîte. verso: marron -jaune.</p>	
<p>2A1(1)</p>	 <p>recto : couleur gris et beige -jaune. verso: marron foncé et couleur jaune au départ.</p>	
<p>2A1(2)</p>	 <p>recto : couleur gris foncé dans le milieu et marron au départ. verso: marron foncé -noir.</p>	
<p>3A</p>	 <p>recto : couleur noire et marron foncé. verso: couleur noire gris.</p>	

<p>4A</p>	 <p>recto : couleur noire et marron foncé. verso: couleur noire gris.</p>	
<p>6A2(1)</p>	 <p>recto: couleur marron, beige claire. verso : marron jaune.</p>	
<p>6A2(3)</p>	 <p>recto : couleur (noire-gris) et couleur marron. verso : couleur noire et marron foncé</p>	
<p>6A2(4)</p>	 <p>recto : couleur marron et petit point noir. verso : couleur marron fonce et petit couleur vert.</p>	

<p>7A</p>	 <p>recto : couleur noir et vert olive et un petit couleur gris. verso : couleur vert fonce et noir.</p>	
<p>8A1</p>	 <p>recto : couleur marron foncé et couleur orange claire. verso: orange jaune</p>	
<p>8A3</p>	 <p>recto : couleur marron et petit couleur gris. verso: petit couleur noire et couleur marron foncé.</p>	

Selon les observations mentionnées dans le tableau et suivant les clés d'identification les genres trouvés dans la région A sont :

Alternaria 1A1, 2A1(2).

Aureobasidium sp 6A2(4), 6A2(3).

Phoma sp 8A1.

Phaeomoniella Chlamydospora 6A2(1).

Neocatenulostroma germanicum 7A ,3A.

Pleospora herbarum 8A3.

Les isolats 2A1, 2A2 et 2A1(1) sont inconnu.

Les isolats (7A), (3A) est identifié selon la clé d'identification comme *Neocatenulostroma germanicum* (syn. *Catenulostroma germanicum*), est un champignon ascomycète, est observé aussi chez le pin et provoquant des symptômes de brûlure des aiguilles sur *Pinus mugo* dans les zones côtières de Lituanie ((**Markovskaja et al., 2016**). Les conidies sont brune foncé, caractérisées par une chaîne basipetale simple ou ramifiée, sous-cylindrique.

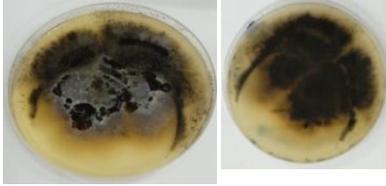
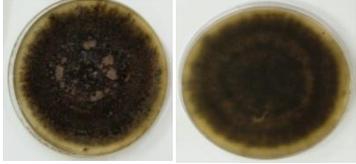
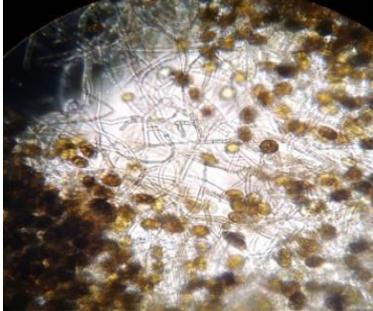
Les isolats 6A2(4) 6A2(3) et 4A sont identifiés par *Aureobasidium sp.* Ce genre est facilement reconnu par ces *chlamydospores* et la pigmentation noire dans le milieu PDA. *Aureobasidium sp* a été isolé aussi dans les aiguilles de pin d'Alep (**Jinge et al., 2019**). Il produit des conidies unicellulaires de diverses formes à partir de cellules conidiogènes hyalines et terminales, latérales ou intercalaires.

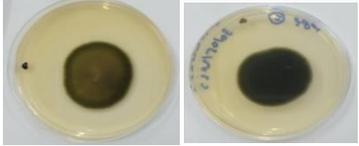
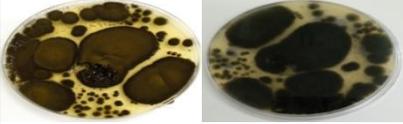
Les isolats 6A2(1) est identifié selon la clé d'identification comme *Phaeomoniella Chlamydospora* il apparait sur les cultures anciennes ; ils sont abondants, globuleux à sub-globuleux pour la plupart solitaires.

L'isolat 8A3 est identifié comme *Pleospora herbarum* (forme sexuée) ou *Stemphylium botryosum* (forme asexuée) est retrouvé sur plusieurs espèces végétales, dont la ciboulette, l'asperge, les brassicacées, la luzerne. La production de conidies brun clair à brun olive, sub-sphériques à largement ellipsoïdales, avec 1 à 3 cloisons verticales et 3 transversales. Souvent resserré sur les cloisons transversales médianes.

L'isolat 8A1 est identifié comme *Phoma sp* sont formation de conidies (spores asexuées), et de pycnides (fructifications asexuées), et de spores chlamydiales.

Tableau 05: Description macroscopique et microscopique des souches de la station B (photo original).

Code de l'isolat	Observation macroscopique	Observation microscopique (GX400)
<p>1B1(1)</p>	 <p>recto: couleur gris, vert foncé. et couleur marron verso: couleur noire et marron</p>	
<p>1B1(2)</p>	 <p>recto : couleur noire vert foncé avec des petites gouttes huileuse. verso : couleur marron</p>	
<p>2B1(1)</p>	 <p>recto : couleur gris-vert olive et noir. verso : noir.</p>	
<p>2B2(1)</p>		

	 <p>recto : couleur vert foncé (vert olive) et gris fonce dans les coutes. verso : couleur noire.</p>	
<p>1B1(3)</p>	 <p>recto: couleur marron, gris foncé petit couleur noir. verso : noire vert très fonce.</p>	

Selon l'identification morphologique les isolats étudiés de la région B appartenant aux genres suivant :

ALternaria sp 1B1(1),1B1(2).

Sydowia polyspora 2B2(1).

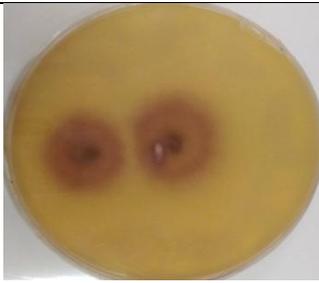
Cladosporium sp 2B1 ,1B1(3).

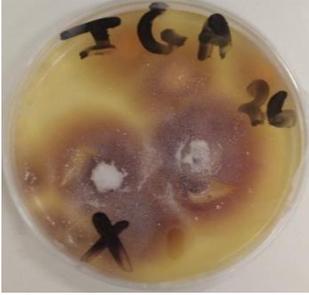
Une étude menée par (Dubach et al., 2022) constatant que le *sydowia polyspora* peut être présent dans l'aiguille sans présence des symptômes. A comparaison d'autres champignons associés à des résinée champignon a été identifié très souvent dans les aiguilles légèrement symptomatiques du pin sylvestre (taches jaunes à brunes) et dans la litière.

En ce qui concerne les graines, il est constaté que le genre *Fusarium sp*. Est très fréquent dans les graines du pin d'Alep dans la région d'étude. Il est composé des conidies isodiamétriques marron foncé, de forme cylindrique avec quelques filaments interthéciaux composés d'une chaîne de petites cellules.

Les isolats 2B1 ,1B1(3) sont identifiés par *Cladosporium sp*, ils présentent par des conidies sous forme cylindriques-oblongues (forme de citron), légèrement épaissies et leur couleur brun-olive clair.

Tableau 06: Description macroscopique et microscopique des graines de la station D (photo original).

CODE de l'isolat	Observation macroscopique	Verso	Observation microscopique	Genre
HGA(1)				<i>Fusarium sp</i>

IGA				<i>Fusarium sp</i>
IIGA(2)				<i>Fusarium sp</i>

Le genre *fusarium* appartient à la classe des ascomycete et à la sous-classe des Hyphomycètes.

Les espèces de *Fusarium* sont généralement transmises par les semences produisant ainsi la pourriture de graines et la mortalité des semis. Plusieurs travaux ont rapporté l'association de différentes espèces de *Fusarium* avec les semences des arbres forestiers (Mittal, 1983).

L'étude de la fréquence d'isolement à partir des semences de pin d'Alep est considérée comme un outil important dans le diagnostic des champignons transmis par la graine.

II.1.2.Analyse de dépérissement

La proportion significative de coloration anormale est indiscutable et elle a été considérée dans le réseau CEE comme telle depuis le début du suivi des dommages forestiers en 1988. Elle correspond à une perte de plus de 15% de coloration du feuillage et concerne les arbres à partir de la classe 1.

II.1.2.1.L'indice de Dépérissement (ID):

Il permet d'exprimer de façon directe l'état général du peuplement à partir de l'ensemble des arbres pris individuellement. Cet indice qui a été déjà utilisé pour le Sapin et l'Épicéa est calculé à partir de la formule proposée par (Bouvarel, 1984).

Durant cette étude l'indice ID=3.9 cette valeur est supérieur à 3 donc cette zone est en dépérissement grave ou fortement Dépérissement.

ID < 1 : Les indices de dépérissement sont douteux.

$1 < ID < 2$: début de dépérissement n_1, n_2, \dots, n_5 : nombre d'arbres notés dans la classe de note $1, 2, \dots, 5$.

P_1, p_2, \dots, p_5 : poids de cette note.

N : nombre d'arbre de l'espèce dans la placette.

$2 < ID < 3$: dépérissement grave

$ID > 3$: dépérissement très grave.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Les arbres occupent de vastes superficies dans le monde, y compris les pins, qui sont également présents en abondance, notamment en Algérie. De nombreuses maladies affectent ces arbres, et la plus dangereuse d'entre elles est la maladie du pin.

Pour étudier les maladies du *pinus halpensis* et identifier le cause de maladies on a cultivé l'échantillon dans le milieu PDA. Les échantillons ont été apportées de différents régions A.B et D.

La forme et l'aspect des isolats sont observées au microscope optique. Les résultats montrent qu'il y a 8 genres le plus abondamment présente est d'*Alternaria sp.* Se présente sous la forme de longs filaments mycéliens (hyphes). Dans observation, Au milieu des filaments, des structures reproductrices brunes du champignon sont visibles: les conidies. Les conidies sont des spores asexuées qui assurent la reproduction asexuée de la levure.

Phaeomoniella Chlamydospora, Aureobasidium sp, (ce champignon se présentent sous diverses formes de cellules hyalines, terminales, latérales ou coniques divisées (*Neocatenulostroma germanicum, Phoma sp*).

Ce champignon *phoma* caractérise par la formation de conidies (spores asexuées), et des pycnides (fructifications asexuées), et de spores chlamydiales (cellules végétatives élargies à parois épaisses en filaments ou aux extrémités de l'articulation).

Donc le champignon le plus fréquent dans les feuilles c'est l'*Alternaria* et pour les graines c'est *fusarium*.

Dans l'étude de l'analyse de dépérissement. La région B est en dépérissement grave. Il y a une maladie qui affecte le pin d'Alep .ce qui entraine sa mort.

Références
Bibliographiques

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Anonyme, (2020).** La page consultée le: 23 juin 2023. Wilaya de Djelfa, [en ligne]. adress URL: <https://www.aniref.dz/index.php?layout=edit&id=139>
- Arnaldo, P. S., Chacim, S., & Lopes, D. (2010).** effects of defoliation by the pine processionary moth *thaumetopoea pityocampa* on biomass growth of young stands of *Pinus pinaster* in northern portugal. *iforest-biogeosciences and forestry*, 3(6), 159.
- Assmaa, D. A., Said, D. L., & Najib, P. G. (2011).** production, croissance et modèles de conduite sylvicoles des principales essences (le pin maritime et le pin d'Alep) de reboisement au maroc. *kastamonuuniversity journal of forestryfaculty*, 11(1), 68-84.
- Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., amine Bekkar, A., Elouissi, M., Khaldi, A., & Hamimed, A. (2015).** ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in mascara (north west of algeria). *journal of ethnopharmacology*, 175, 626-637.
- Booth C. (1971).** the genus *fusarium*. kew (surrey): common wealth mycological institute, england. Pp: 137.
- Bouhraoua, R. T. (2003).** Situation sanitaire de quelques forêts de chêne-liège de l'Ouest algérien: étude particulière des problèmes posés par les insectes. *thès. doc. dép., forest., fac. sc, univ. tlemcen*.
- Boutte B. (2012).** pin d'Alep les principaux problèmes sanitaires.
- Bouvarel, P. (1984).** Le dépérissement des forêts attribué aux dépôts atmosphériques acides. *Revue forestière française*, 36(3), 173-180.
- Campbell, C. K., & Johnson, E. M. (2013).** *Identification of pathogenic fungi*. johnwiley&sons.
- Chabasse, D ; Penn P ; Cimon B ; Bouchara J ; De Gentile L ; Brun S. (2002)** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologiste médicale.
- Chermat, S., Gharzouli, R. (2015).** Ethnobotanical study of medicinal flora in the north east of algeria - an empirical knowledge in djebelzdim (setif). *J. Mater. Sci. Eng. A* 5. (1-2) : 50-59. <https://doi.org/10.17265/2161-6213/2015.1-2.007>
- Djerrad, Z. (2016).** *Etude phytoécologique des provenances de pin d'Alep (pinushalepensis mill.) de la partie centrale de l'atlas saharien, comparaison de la variabilité morphologique et chimique avec les pinedes du semi-arides est algérien* (Doctoral dissertation, faculté des sciences biologiques).

Références Bibliographiques

- Dubach, V., Queloz, V., & Stroheker, S. (2022).** Les maladies des aiguilles et des pousses du pin. *Not. prat.*
- Durand-Gillmann, M. (2014).** *Interactions plantes-insectes dans deux écosystèmes forestiers méditerranéens contrastés: le cas des scolytes (coleoptera curculionidae Scolytinae) en région méditerranéenne (doctoral dissertation, aix-marseille).*
- Ganley, R. J., & Newcombe, G. (2006).** Fungal endophytes in seeds and needles of *Pinus monticola*. *Mycological research*, 110(3), 318-327.
- GUIT B., 2015.** croissance et état sanitaire des peuplements de pin d'alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans le massif forestier de Senalba (région de Djelfa). thèse doctorale en sciences agronomiques, école nationale supérieure d'agronomie El Harrach, Alger. 107p.
- Guit, B., Nedjimi, B., Chakali, G., & Guibal, F. (2016).** État sanitaire des peuplements de Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans le massif forestier de Senalba (Djelfa, Algérie). *Revue d'écologie, terre et Vie*, 71(2), 156-167.
- Helander M.L., Sieber T.N., Petrini O et Neuvonen S. 1994.** Endophytic fungi in Scot's pine needles: spatial variation and consequences of simulated acid rain. *Canadian journal of botany* 72:1108-1113
- Humber, R. A. (1997).** Fungi: identification. In *manual of techniques in insect pathology* (pp. 153-185). Academic press.
- Ignjatov, M., Milosevic, D., Nikolic, Z., Gvozdanovic-Varga, J., Jovicic, D., & Zdjelar, G. (2015).** *Fusarium oxysporum* as causal agent of tomato wilt and fruit rot.
- Jiang, N., Liang, Y. M., & Tian, C. M. (2019).** *Aureobasidium pini* sp. nov. from pine needle in China. *Phytotaxa*, 402(4), 199-206.
- Landmann, G., Bonneau, M., & Adrian, M. (1987).** Le dépérissement du sapin pectiné et de l'épicéa commun dans le massif vosgien est-il en relation avec l'état nutritionnel des peuplements?. *Revue forestière française*, 39(1), 5-11.
- Letreuch, B., (1991).** Les reboisements en Algérie et leurs perspectives d'avenir p 641.
- Markovskaja, S., Kačergius, A., Davydenko, K., & Fraser, S. (2016).** First record of *Neocateulostromagermanicum* on pines in Lithuania and Ukraine and its co-occurrence with *Dothistroma* spp. and other pathogens. *Forest pathology*, 46(5), 522-533.
- Mezali, M. (2003).** Rapport sur le secteur forestier en Algérie, 3ème session du Forum des Nations Unies sur les forêts. Ministère de l'agriculture et du développement rural et direction générale des forêts, Alger.

Références Bibliographiques

- Mittal R. K. (1983).** Studies on the mycoflora and its control on the seeds of some forest trees. *Cedrus deodara*. Canadian journal of botanic. 61:197-201.
- Motta, E. (1986).** Champignons pathogènes sur graines forestières 1. *EPPO bulletin*, 16(3), 565-569.
- NICHANE, M. (2015).** *Contribution à l'étude du dépérissement du cyprès vert (cupressus sempervirens L.) dans les monts des trarasoccidentaux (wilaya de tlemcen (doctoral dissertation).*
- Ocamb C.M., Juzwik J.K et Martin F.B. 2002.** Fusarium sp and pinus strobus seedlings: root disease pathogens and taxa associated with seed. *New forest*. 24: 67-69.
- Quézel, P., & Médail, F. (2003).** *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Elsevier.
- Quézel, P., Médail, F., Loisel, R., & Barbero, M. (1999).** Biodiversity and conservation of forest species in the mediterranean basin. *Unasylva-fao*-, 21-28.
- Richardson, D. M. (Ed.).(2000).** *Ecology and biogeography of Pinus*. Cambridge university press.
- Seigue, A. (1985).** *La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes* (p. 502). Paris, france: maison neuve et larose.
- Sghaier, T., & Ammari, Y. (2012).** Croissance et production du pin d'Alep (*Pinus halepensis* mill.) en tunisie. *Ecologia mediterranea*, 38(1), 39-57.
- Wilson, R. (1997).** Endophytic fungi from four tree species in new brunswick and a comparison of two methods of identification of leptostroma isolates of pinus resinosa, morphology and molecular probing.
- Zehraoui, R., & Kadik, L.** Étude phytoécologique et impacts des reboisements du barrage vert sur la biodiversité floristique. Cas de la région de djelfa (algérie).

Annexe

Annexe

Annexe

Annexe 1 : Milieux de repiquage et de conservation des souches

- **Milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA)**

Prépare par deux méthodes :

➤ **1^{er} méthode**

200g Pomme de terre épluchées et coupées

1L Eau distille

20g Agar-agar

20g Glucose

Laver et couper des morceaux les pommes de terre, les faire cuire, filtrer et ajouter l'agar puis ajoute l'eau. Autoclave 20 minutes à 120°C.

➤ **2^{eme} méthode**

18g Poudre de PDA

1L Eau distille

Annexe II



Photo original de station A



Photo original de stationB

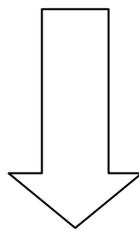


Photo original de stationD

Préparation de milieu de culture PDA



Récolte les graines de pin d'Alep



Résumé

Résumé

Le dépérissement des arbres forestiers est un phénomène répandu dans tout le bassin méditerranéen. Le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) est l'une des espèces de conifères dominantes en Algérie, cette espèce est sujette à plusieurs maladies cryptogamiques non connues. La présente étude est dans le but de caractériser les espèces fongiques causales du dépérissement. Un total de 12 isolats a été obtenu à partir des feuilles et des graines infectées d'arbres *Pinus halepensis*. En basant sur la caractérisation morphologique, Les espèces identifiées à savoir: *Alternaria sp*, *Phaeomoniella Chlamydospora*, *Aureobasidium sp*, *Neocatenulostroma germanicum*, *Phoma sp*, *cladosporium*, *Pleospora herbarum* et *sydowia polysora*. En effet, le genre le plus abondant dans les graines est *Fusarium sp*.

L'analyse de dépérissement des arbres par calcul de l'indice de défoliation et de décoloration indique que la zone B est en dépérissement grave.

Mots clés : Dépérissement, *Pinus halepensis*, Djelfa,

Abstract

Forest tree decline is a widespread phenomenon throughout the Mediterranean basin. The Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) is one of the dominant conifer species in Algeria. This species is susceptible to several unknown cryptogamic diseases. The present study aims to characterize the causal fungal species of this decline. A total of 12 isolates were obtained from infected leaves and seeds of *Pinus halepensis* trees. Based on morphological characterization, the identified species include *Alternaria sp*, *Phaeomoniella Chlamydospora*, *Aureobasidium sp*, *Neocatenulostroma germanicum*, *Phoma sp*, *Cladosporium*, *Pleospora herbarum*, and *Sydowia polysora*. Indeed, the most abundant genus in the seeds is *Fusarium sp*. The analysis of tree decline through calculation of the defoliation and discoloration index indicates that zone B is experiencing severe decline.

Keywords: Decline, *Pinus halepensis*, Djelfa.

ملخص

يعد موت اشجار الغابات ظاهرة واسعة الانتشار في جميع انحاء البحر الابيض المتوسط. الصنوبر الحلبي هو احد الانواع السائدة في الجزائر و هذا النوع معرض لعدة امراض غير معروفة تهدف الدراسة الحالية الى وصف الانواع الفطرية المسببة لموت الاشجار المصابة. وبناء على الوصف المورفولوجي تم الحصول على 12 نوع من اوراق وبذور الاشجار الانواع المعرفة هي:

Alternaria sp, Phaeomoniella Chlamydospora, Aureobasidium sp, Neocatenulostroma germanicum, Phoma sp, Cladosporium, Pleospora herbarum, and Sydowia polysora.

و النوع الاكثر وفرة في البذور هو *Fusarium sp* ان تحليل موت الاشجار عن طريق حساب مؤشر تساقط الاوراق و تغيير اللون وتعتبر المنطقة B في حالة موت خطير
الكلمات المفتاحية: موت ، الصنوبر الحلبي، الجلفة .