

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Abou Bekr Belkaid  
Tlemcen Algérie



جامعة أبي بكر بلقايد

تلمسان الجزائر

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des  
Sciences de la Terre et l'Univers*

*Département Agro-Foresterie*

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de doctorat en Sciences  
Agronomiques

Option : protection des végétaux «Phytopathologie».

Présenté par : M<sup>me</sup> Fatiha LAZREG

Thème

Importance de la fonte de semis du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans le Nord-  
Ouest Algérien : Identification morphologique et moléculaire des espèces du genre  
*Fusarium* et *Globisporangium*, pouvoir pathogène et moyens de lutte

Soutenue devant le jury composé de :

Président de Jury	M. BOUHRAOUA Rachid Tarik	Pr. U.A.B.B. Tlemcen
Directeur de Thèse	M. BELABID Lakhdar	Pr. U. Mascara
Co-Directeur de Thèse	M. ELHAITHOUM Ahmed	M.C.A. U.A.B.B. Tlemcen
Examineur	M. BELLAHCENE Miloud	Pr. C.U. Aïn Témouchent
Examineur	M. BENMAHIOUL Benamar	M.C.A. U.A.B.B. Tlemcen
Examineur	M. MEDDAH Boumédiene	M.C.A. U. Mascara

## Dédicace

### Je dédie ce travail à

Mon père, pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite. Qu'il trouve dans ce travail la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour. Mon adorable mère, qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur.

Mon Marie d'être toujours à mes côtés pour me soutenir, pour m'aider dans la mesure du possible, mais surtout pour donner du goût à ma vie par son amour et sa tendresse, j'espère qu'il trouve ici le témoignage de mon profond amour, attachement et respect.

Ma sœur et Mes frères surtout Fodil pour leur disponibilité, leur soutien moral, leur encouragement incessant, d'être coopératif et d'assumer à ma place certaine de mes responsabilités familiales.

Ma belle-famille Foussa pour leur soutien surtout, gentillesse et sympathie, pendant cette thèse parfois Envahissante, que dieu les protège et leurs donne une vie pleine de réussite et de bonheur.

Mes chères amies Dahane Souriya, Simoussa Leila, Zaim Souad, Ait Hammi Kahina, Matilde Lopez Gracia, Pilar Madena et Maria Jose.



## *Remerciements*

Le présent travail a été réalisé dans les laboratoires: Laboratoire de Recherche sur les Systèmes Biologique et Géomantiques (LRSBG) de l'Université de Mascara, Andalusian center for the Assesment and Monitoring of Global Change (CAESCG), Université d'Almeria Espagne, Nucleic Acids Analysis Service, Research Central Service, Université de Almeria, Espagne et Laboratoire d'Ecologie des Ecosystèmes naturel et Management Université de Tlemcen

Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude aux Professeurs Belabid Lakhdar et El Haithoum Ahmed, Pour avoir accepté d'être les directeurs de cette thèse. Leurs enthousiasmes et leurs dynamismes m'ont chaque fois permis de rebondir dans les moments difficiles. Je les remercie vivement pour l'aide scientifique précieuse et tous les conseils qu'ils ont pu me fournir.

Je profite de cette occasion d'exprimer ma profonde reconnaissance aux Professeurs Jose Sanchez et Eduardo Gallego de l'Université d'Almeria pour les encouragements et les conseils qu'il n'a cessé de me prodiguer durant mes séjours au laboratoire et pour la confiance qu'il m'a toujours témoignée. Que le Docteur Jose Antonio Garrido-Cardenas au Laboratoire de Biologie moléculaire. tiens à avouer sincèrement ma profonde gratitude à Monsieur..... de l'honneur qu'il me fait d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse. Je remercie vivement Messieurs, d'accepter de juger mes travaux de thèse en tant qu'examineurs.

Mes remerciements vont également à tous les membres de l'université de Mascara le Recteur Mr KHaldi et Mr Hmimed, les chercheurs, les ingénieurs, les techniciens, les secrétaires et les étudiants, ... et en particulier les Ingénieurs et les techniciens de laboratoire de LRSBG et plus précisément (Mr Djilali, Si Tayeb Djaloul) pour leurs aides et les facilités analytiques qu'ils m'ont offertes. Je suis également très redevable à tous les ami(e)s du travail à Université de Mascara qui n'ont jamais été en retrait pour apporter leurs aides.

Mes vifs remerciements aux professeurs Meddah boumadienne et Benabdelli Kheloufi pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de participer au Jury de cette thèse. Par ailleurs, Je particulier: Si Moussa Leila, Bekkar Ahmed Amine et Zaim Souad qui ont été toujours près de moi; je les remercie pour leurs soutien moral et matériel et je les remercie aussi pour l'ambiance et l'amitié que j'ai trouvée auprès d'eux. Je voudrais témoigner ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont également fait bénéficier de leurs conseils et de leurs expériences au sein du Laboratoire de LRSBG.

*Liste des Abréviations*

<b>ADN</b>	: Acide Desoxyribonucléique.
<b>ARN</b>	: Acide Ribonucléique.
<b>ARNr</b>	: Acide Ribonucléique Ribosomique.
<b>°C</b>	: Degré Celsius.
<b>Cm</b>	: Centimètre
<b>CMA</b>	: Corm Meal Agar.
<b>ETS</b>	: External Transcribed Space.
<b>IGS</b>	: Intergenic spacer.
<b>ITS</b>	: Internal Transcribed Spacer.
<b>G</b>	: Gramme.
<b>LRSBG</b>	: Laboratoire de Recherche sur les Systèmes Biologique et Géomatique.
<b>LVL</b>	: laminated Veneer Lumber.
<b>Min</b>	: Minute.
<b>ml</b>	: millilètre.
<b>mm</b>	: millimètre.
<b>Moy</b>	: Moyen. National Center for Biotechnology Information
<b>NCBI</b>	: National Center for Biotechnology Information
<b>Nt</b>	: Nucléotide.
<b>Ng</b>	: Nanogramme.
<b>Pb</b>	: Paire de base.
<b>PCA</b>	: Potato Carrot Agar.
<b>PCR</b>	: Polymerase Chain Reaction.
<b>PDA</b>	: Potato Dextrose Agar.
<b>pH</b>	: Potentiel hydrogène.

<b>PPM</b>	: Partie par million.
<b>SE</b>	: Erreur Standard
<b>Sec</b>	: Seconde
<b>UFC</b>	: Unité formatrice colonie.
<b>μl</b>	: Micromillitre
<b>T°C</b>	: Température.

**Liste des Tableaux**

<b>Tableau 01:</b>	Superficiés du pin d'Alep en Algérie (en ha).	4
<b>Tableau 02:</b>	Les microorganismes antagonistes de <i>Globisporangium</i> sp et <i>Fusarium</i> sp.	25
<b>Tableau 03:</b>	Localisation et conditions climatiques des pépinières prospectées.	34
<b>Tableau 04 :</b>	Le protocole réactionnel pour le processus de PCR.	43
<b>Tableau 05:</b>	Isolats de <i>Fusarium</i> sp obtenues à partir des tissus infectés de plantules de pin d'Alep.	47
<b>Tableau 06:</b>	Isolats de <i>Globisporangium</i> sp obtenues à partir des plantules de pin d'Alep.	48
<b>Tableau 07:</b>	Inventaire des agents de fonte de semis du sol des pépinières prospectés.	58
<b>Tableau 08:</b>	Résultats d'analyse de la mycoflore associées aux semences de pin d'Alep par la méthode de blotter-test.	61
<b>Tableau 09:</b>	Résultats d'analyse de la mycoflore associées aux semences de pin d'Alep par la méthode d'Agar-test.	61
<b>Tableau 10:</b>	Fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep provient de la pépinière de Sfisef I pendant les stages de pré et post émergence	65
<b>Tableau 11:</b>	La fréquence d'abondance des espèces fongiques à partir des plantules de pin d'Alep provient de la pépinière Sfisef III.	67
<b>Tableau 12:</b>	La fréquence d'abondance des espèces fongiques à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière Relizane	69
<b>Tableau 13:</b>	La fréquence d'abondance des espèces fongiques à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière Tlemcen.	70
<b>Tableau 14:</b>	Mensuration des Macroconidies ( $\mu\text{m}$ ), Microconidies ( $\mu\text{m}$ ) et les Chlamydo-spores ( $\mu\text{m}$ ) de <i>Fusarium</i> sp	75
<b>Tableau 15:</b>	Les numéros d'accession GENBANK et les caractéristiques des séquences des 21 isolats de <i>Fusarium</i> étudiés.	88
<b>Tableau 16:</b>	Mensuration des différents organes de <i>Globisporangium ultimum</i> , <i>Globisporangium herothallicum</i> et <i>Globisporangium glomeratum</i> .	97
<b>Tableau 17:</b>	Les numéros d'accession donnée par GENBANK et les caractéristiques des séquences des 21 isolats étudiés.	104
<b>Tableau 18:</b>	Effet de milieu de culture sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium</i> .	108
<b>Tableau 19:</b>	Effet du pH sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp.	110
<b>Tableau 20:</b>	Effet de températures sur la croissance mycélienne les isolats de <i>Fusarium</i> sp.	112
<b>Tableau 21:</b>	Effet de milieux de culture sur la croissance mycélienne les isolats de <i>Globisporangium</i>	116
<b>Tableau 22:</b>	Effet de pH sur la croissance mycélienne les isolats de <i>Globisporangium</i> .	118
<b>Tableau 23:</b>	Effet de températures sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Globisporangium</i> .	120
<b>Tableau 24:</b>	Effet des isolats de <i>Fusarium</i> sur la germination et la croissance racinaire de plantules de pin d'Alep.	124
<b>Tableau 25:</b>	Les paramètres de développement influencés par les isolats de <i>Fusarium</i> sp.	126
<b>Tableau 26:</b>	Effet des isolats de <i>Globisporangium</i> sur les graines de pin d'Alep en pré et en post émergence.	127
<b>Tableau 27:</b>	Effet des isolats de <i>Globisporangium</i> sur la vigueur des plantules de pin d'Alep.	129

*Liste des Figures*

<b>Figure01:</b>	Aire de répartition du pin d'Alep dans le bassin méditerranéen.	5
<b>Figure02:</b>	Aire de répartition du pin d'Alep en Algérie.	5
<b>Figure03:</b>	Le cycle de vie de <i>Globisporangium</i> sp.	14
<b>Figure04:</b>	Unité de gène codant les ARN ribosomiques des Oomycètes.	17
<b>Figure05:</b>	Morphologie du <i>Fusarium</i> sp, a : Conidies (Macroconidies et Microconidie), b : Conidiophores et c : Chlamydozspores.	23
<b>Figure06:</b>	Localisation géographique des quatre pépinières prospectées.	34
<b>Figure07:</b>	La position d'anthéridie, Oogone et Oospore.	40
<b>Figure08:</b>	Inoculation des semences de pin d'Alep <i>in vitro</i> .	49
<b>Figure09:</b>	pourcentage d'icidence de la maladie de fonte des semis de pin d'Alep.	56
<b>Figure10:</b>	la fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de pépinière Sfïsef I.	65
<b>Figure11:</b>	fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Sfïsef III.	67
<b>Figure12:</b>	Fréquence d'apparition des espèces fongiques à partir des plantules de pin d'Alep dans la pépinière de Relizane.	69
<b>Figure13:</b>	fréquence à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Tlemcen.	71
<b>Figure14:</b>	<i>Fusarium redolens</i> : a) macroconidie; b) miroconidie; c) sporochie; d) chlamydozspores	79
<b>Figure15:</b>	<i>Fusarium oxysporum</i> : a) macroconidie; b) sporochie; c) microconidie; d) monophialides; e) chlamydozspores	80
<b>Figure16:</b>	<i>Fusarium tricinctum</i> : a) chlamydozspores; b) microconidie; c) macroconidie; d) mycélium	81
<b>Figure17:</b>	<i>Fusarium equiseti</i> : a) conidiophore et phialides; b) sporochie; c) macroconidie; d) chlamydozspores.	82

<b>Figure18:</b>	<i>Fusarium acuminatum</i> : a) conidiophore et phialides; b) macroconidie; c) microconidie; d) chlamydospores	83
<b>Figure19:</b>	<i>Fusarium solani</i> : a) conidiophores; b) microconidie, c) macroconidie; d) phialides; e) chlamydospores.	84
<b>Figure20:</b>	<i>Fusarium chlamydosporum</i> : a) macroconidie; b) microconidie; d) phialides; c) chlamydospores.	85
<b>Figure 21:</b>	Représentation d'une unité d'ADN ribosomique. ETS: externally transcribed spacer, ITS: internally transcribed spacer et IGS: intergenic spacer.	86
<b>Figure22 :</b>	Electrophorèse des isolats de <i>Fusarium</i> sp sur le gel agarose.	86
<b>Figure23:</b>	<i>Globisporangium ultimum var ultimum</i> a) aspersorium, b) oogone, c) position de l'anthéridie d) Oospore.	95
<b>Figure24:</b>	<i>Globisporangium ultimum</i> a) aprresorium, b) la position de l'anthéridie, d) Oospore, c) Oogone.	100
<b>Figure25:</b>	<i>Globisporangium heterothallicum</i> a) aspersorium, b) position de l'anthéridie c) oospore d) oogone.	101
<b>Figure26:</b>	<i>Globisporangium glomeratum</i> a) apresorium, b) Oogone, c) anthéridie, d) position de l'anthéridie.	102
<b>Figure27:</b>	Production des spores des isolats de <i>Fusarium</i> sur le milieu de PDA.	113
<b>Figure28:</b>	Taux de germination des isolats de <i>Fusarium</i> sur le milieu de PDA.	114
<b>Figure29:</b>	Nombre d'oospore produit par les isolats de <i>Globisporangium</i> sur le milieu CMA.	121
<b>Figure30:</b>	Taux de sporulation des isolats de <i>Globisporangium</i> sur le milieu CMA.	122
<b>Figure31:</b>	Germination des graines inoculées par les isolats de <i>Globisporangium</i> (U2CT, U6R) et de <i>Fusarium</i> (F5RS3, F25RS et F20RT)	132
<b>Figure32:</b>	Inhibition de la croissance racinaire après le traitement avec les isolats de <i>Globisporangium</i> et de <i>Fusarium</i> .	133



<b>Figure33:</b>	Effet des traitements (huile essentielle, fongicide, <i>T. altroviride</i> et <i>B. subtilus</i> ) sur la germination des conidies des isolats de <i>Fusarium</i> (F5RS3, F25RS et F20RT)	138
<b>Figure34:</b>	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium</i>	140
<b>Figure35:</b>	Effet des traitements (huile essentielle, fongicide, <i>T. altroviride</i> et <i>B. subtilus</i> ) sur la germination des conidies des isolats de <i>Globisporangium</i> (U2CT et U6CR)	141
<b>Figure36:</b>	Inhibition (%) de la croissance mycélienne des deux isolats de <i>Globisporangium</i> ( U2CT et U6CR)	142

### *Liste des photos*

<b>Photo 1:</b>	Contamination des graines de pin d'Alep en pré et post émergence.	123
-----------------	-------------------------------------------------------------------	-----

**Liste des Planches**

<b>Planche 01:</b>	Morphologie du pin d'Alep A: les aiguilles, B: bourgeon, C, D: cônes, E: le tronc, F: L'écorce.	7
<b>Planche 02:</b>	La fonte de semis de pin d'Alep au niveau des pépinières forestières prospectées.	55
<b>Planche 03:</b>	Observation microscopiques des espèces associées aux sols des pépinières forestières prospectées.	59
<b>Planche 04:</b>	Observations microscopiques des espèces isolées à partir des grains de pin d'Alep.	62
<b>Planche 05:</b>	Observation macroscopiques des cultures de <i>Fusarium</i> spp. sur le milieu PDA: <b>A</b> , <i>F. redolens</i> ; <b>B</b> , <i>F. acuminatum</i> ; <b>C</b> , <i>F. tricinctum</i> ; <b>D</b> , <i>F. chlamydosporum</i> ; <b>E</b> , <i>F. oxysporum</i> ; <b>F</b> , <i>F. solani</i> ; <b>H</b> , <i>F. equiseti</i> .	76
<b>Planche 6:</b>	Observation microscopique des Macroconidies, microconidies et chlamydospores de <i>Fusarium</i> spp. on PDA culture medium (1000 x): (A1, A2, A3) <i>F. redolens</i> ; (B1, B2).	77
<b>Planche 7:</b>	Aspect macroscopiques des colonies de <i>Globisporangium ultimum</i> var <i>ultimum</i> . Cultivé sur le milieu CMA.	93
<b>Planche8:</b>	La position monocline des anthéridies chez <i>Globisporanguim</i> .	94
<b>Planche9:</b>	Structures de la reproduction sexuée chez <i>Globisporanguim</i> (Oogone, anthéridie, Oospore).	94
<b>Planche10:</b>	Morphologie des Apressorium chez <i>Globisporanguim</i> .	94
<b>Planche11:</b>	Observation microscopique de <i>Globisporangium glomeratum</i> : <b>A</b> : Apressorium, <b>B</b> : Oogone, <b>C</b> : Antheridie.	98
<b>Planche12:</b>	Observation microscopique <i>Globisporangium heterothallicum</i> : <b>A</b> : Oogone, <b>B, C</b> : Antheridie.	98
<b>Planche13:</b>	Observation microscopique <i>Globisporangium ultimum</i> : <b>A</b> : Oospore, <b>B</b> : Apressorium.	98
<b>Planche14:</b>	Observation microscopique <i>Globisporangium ultimum</i> : <b>C</b> : Oogone, <b>D</b> : Antheridie.	98
<b>Planche15:</b>	Observation macroscopiques des colonies de <i>Globisporangium herothallicum</i> et <i>Globisporangium glomeratum</i> .	99
<b>Planche 16:</b>	la pathogenicite de <i>Fusarium</i> sur la croissance de plantule de pin d'Alep ( <b>A</b> : <i>F. redolens</i> <b>B</b> : témoin)	125
<b>Planche 17:</b>	Test de pathogenicite des isolats de <i>Globisporangium</i> sur la croissance de plantule de pin d'Alep ( <b>A</b> : la mortalité des plantes, <b>B</b> : témoin).	128
<b>Planche18 :</b>	La polyphagie de <i>Globisporangium</i> (U2CT) et <i>Fusarium</i> (F5RS3).	134
<b>Planche19 :</b>	Inhibition de la germination à gauche et témoin à droite.	138
<b>Planche20 :</b>	Effet des traitements sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium</i> .	143
<b>Planche21:</b>	Traitement avec les huiles essentielles d' <i>I. viscosa</i> A, B, C : témoin, A1, B1, C1: concentration 1000 ppm, A2, B2, C2: concentration 500 ppm A3, B3,C3: concentration 250 ppm.	144

# sommaire

Résumé.....	1
Liste des tableaux.....	
Liste des figures.....	
Liste des planches.....	
Liste des photos.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction.....	1
<b>Première Partie: Synthèse bibliographique</b>	
I-Généralités sur le pin d'Alep.....	4
I.1-Aire de répartition géographique du pin d'Alep.....	4
I.2-Taxonomie et caractères andrologiques.....	6
I.3-Utilisation du pin d'Alep.....	8
I.4-Méthode de production des plantules de pin d'Alep.....	8
II- Les agents de fonte de semis du pin d'Alep.....	11
II.1-Définition.....	11
II.2-Agents responsables de fonte de semis.....	11
II.2.1- Généralités sur des agents de fonte de semis appartenant au genre <i>Globisporangium</i> .....	12
II.2.2- Caractérisation morphologique et moléculaire utilisable dans la détermination de <i>Globisporangium</i> .....	15
II.2.2.1- Caractérisation morphologique.....	15
II.2.2.2- Caractérisation moléculaire.....	16
II.3-Généralités sur des agents de fonte de semis appartenant au genre <i>Fusarium</i> .....	17
II.3.1-Historique des systèmes taxonomiques du genre de <i>Fusarium</i> .....	17
II.3.2-Critères morphologiques et culturaux utilisés dans la taxonomie de <i>Fusarium</i> .....	18
II.3.3-Le stade Téléomorphe du genre <i>Fusarium</i> .....	19
II.3.4-Concept morphologiques.....	19
II.3.5-Concept phylogénétique.....	19
II.4-Taxonomie, pathologie et écologie des espèces de <i>Fusarium</i> sp. agents de la fonte de semis.....	20
II.4.1- <i>acuminatum Fusarium</i> .....	20
II.4.2- <i>F. chlamydosporum</i> .....	20
II.4.3- <i>F. equiseti</i> .....	21
II.4.4- <i>F. oxysporum</i> .....	21
II.4.5- <i>F. redolens</i> .....	21
II.4.6- <i>F. solani</i> (Martius).....	22
II.4.7- <i>F. tricinctum</i> .....	22
II.5-Cycle de la maladie.....	22
III- Méthodes et moyens de lutte contre la fonte de semis.....	24
III.1- Les méthodes biologiques.....	24
III.1.1- Le genre <i>Bacillus</i> .....	26
III.1.2- Le genre <i>Trichoderma</i> .....	28
III.2- Utilisation des extraits de plantes en phytoprotection.....	30
III.2.1- Généralités sur les plantes médicinales étudiée: L'inule visqueuse.....	30
<b>Deuxième Partie: Matériel et méthodes</b>	
I- Prospections et échantillonnage.....	33
I.1- Présentation des sites prospectés.....	33
I.2- Prospections.....	35
I.3- Méthodes d'échantillonnage.....	35
I.4- Milieux de culture utilisés.....	35
I.4.1- Milieux d'isolement, de purification et d'identification de champignons.....	35
I.4.2- Milieux de caractérisation morphologique et biologique.....	35
I.4.3- Milieux de conservation.....	35
I.5- Méthodes d'isolement et purification des champignons.....	36

1.5.1- L'isolement à partir du sol des pépinières prospectées.....	36
1.5.2- Analyse de la mycoflore associée aux semences de pin d'Alep.....	36
1.5.3- <i>Méthode de stratification des graines</i> .....	36
1.5.4- <i>Méthode du blotter test</i> .....	36
1.5.5- <i>Méthode d'Agar test</i> .....	37
1.6- Isolement de champignons à partir des plantules infectées .....	37
1.6.1- Obtention des cultures monospore de <i>Globisporangium</i> sp et <i>Fusarium</i> sp .....	38
1.6.2- Identification des agents pathogènes .....	38
1.6.2.1- Étude morphologique .....	38
1.6.2.2- Caractérisation morphologique et biométrique des isolats obtenus .....	38
1.6.2.3- Culture dans l'eau .....	39
1.7- Caractérisation morphologique et biométrique des isolats du genre <i>Fusarium</i> .....	40
1.7.1- Conservation des isolats de <i>Fusarium</i> sp sur gélose inclinée .....	40
1.7.2- Conservation des isolats de <i>Globisporangium</i> sp.....	40
1.8- Analyse moléculaire des isolats du genre <i>Globisporangium</i> et <i>Fusarium</i> .....	41
1.8.1- Matériel biologique .....	41
1.8.2- Extraction de l'ADN .....	41
1.8.3- Production de L'ADNr .....	42
1.8.3.1- Le processus du PCR .....	42
1.8.3.2- Vérification du produit de PCR par l'électrophorèse .....	43
1.8.4- Purification de l'ADN .....	44
1.8.5- Séquençage des nucléotides .....	44
1.8.6- Comparaison des séquences de nos isolats avec les séquences de la base de données de la banque de gènes (identification moléculaire des isolats).....	44
II. Effet des facteurs physiques.....	45
II.1- Effet de milieux de culture sur la croissance mycélienne des isolats des genres <i>Globisporangium</i> et <i>Fusarium</i> .....	45
II.1- <i>Effet de la température et de pH sur la croissance mycélienne de Globisporangium</i> .....	45
II.1.1- <i>Effet de la température</i> .....	45
II.1.2- <i>Effet de pH</i> .....	45
II.1.3- <i>Mesure de la croissance mycélienne</i> .....	46
II.1.4- <i>Mesure de la sporulation</i> .....	46
II.1.5- <i>Étude de la germination</i> .....	46
III. Étude du pouvoir pathogène.....	47
III.1- Matériel végétal .....	47
III.2- Matériel fongique .....	48
III.3- Contamination en pré émergence .....	48
III.4- Contamination en post émergence.....	49
III.5- Lecture des résultats .....	49
III.5.1- Pourcentage d'inhibition de la germination des graines .....	49
III.5.2- pourcentage d'inhibition de la croissance racinaire .....	50
III.6- Test de pathogénéicité des isolats de <i>Fusarium</i> et <i>Globisporangium</i> dans les pots.....	50
III.6.1- Estimation des symptômes .....	50
IV. Étude de la polyphagie de quelques isolats de <i>Globisporangium</i> et de <i>Fusarium</i> .....	51
IV.1- Matériel végétal, fongiques et méthode d'inoculation.....	51
IV.1.2- Analyse statistique.....	51
V- Moyens et Méthodes de lutte.....	51
V.1- Moyen de lutte biologique .....	51
V.1.1- Les agents de lutte biologique utilisés .....	51
V.2- Confrontation directe .....	51
V.2.1- Mode d'action .....	53
V.2.1.1- Mycoparasitisme .....	53
V.2.2- Production de substances volatiles.....	53
V.3- Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne et la germination des conidies des isolats de <i>Fusarium</i> et <i>Globisporangium</i> .....	53

V.3.1- Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne .....	53
V.3.2- Effet des huiles essentielles sur la germination des conidies .....	53
V.4- Préparation de la solution du fongicide .....	54
V.5- Lecture des résultats .....	54

### Troisième Partie: Résultats et discussion

#### Chapitre I

<b>Importance de la fonte de semis du pin d'Alep dans les pépinières prospectées</b> .....	55
I.1- Analyses de la mycoflore associée aux sols des pépinières prospectées.....	57
I.2- Analyses de la mycoflore associée aux graines du pin d'Alep.....	60
I.3- Isolement à partir des plantules en stade de pré et post émergence .....	64
I.3.1- Fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Sfisef I.....	64
I.3.2- Fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Sfisef III en stade de pré et post émergence.....	66
I.3.3- Fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Relizane en stade de pré et post émergence.....	68
I.3.4- Fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Tlemcen en stade de pré et post émergence.....	70

#### Chapitre II

<b>Caractérisation morphologique des isolats des genres <i>Fusarium</i> et <i>Globisporangium</i></b> .....	73
II.1-Caractérisation morphologique de <i>Fusarium</i> sp.....	73
II.2- Analyse moléculaire des isolats de <i>Fusarium</i> sp. ....	86
II.3- Caractérisation morphologiques des isolats de <i>Globisporangium</i> .....	91
II.4-Caractérisation moléculaire des isolats de <i>Globisporangium</i> sp.....	103
II.4.1-Identification moléculaire des espèces isolées .....	103

#### Chapitre III

<b>effet des facteurs physiques sur de <i>Fusarium</i> et <i>Globisporangium</i></b> .....	107
III.1- Effet de milieux de culture sur la croissance mycélienne les isolats de <i>Fusarium</i> et <i>Globisporangium</i> .....	107
III.1.1- Effet de milieux de culture sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium</i> .....	107
III.1.2- Effet du pH sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium</i> .....	109
III.1.3-Effet de la température sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium</i> .....	111
III.1.4- La Production des spores des isolats de <i>Fusarium</i> .....	113
III.1.5- Taux de germination .....	114
III.2-Effet de milieux de culture, pH et température sur la croissance mycélienne les isolats de <i>Globisporangium</i> .....	115
III.2.1-Effet de milieux de culture sur la croissance mycelienne des isolats de <i>Globisporangium</i> .....	115
III.2.2- Effet de pH sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Globisporangium</i> .....	117
III.2.3-Effet de la température sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Globisporangium</i> .....	119
III.2.4- Production des oospores.....	121
III.2.5- Taux de germination des oospores .....	122

#### Chapitre IV

<b>Etude du pouvoir pathogène des isolats</b> .....	123
IV.1-Effet des isolats de <i>Fusarium</i> sp sur les plantules de pin d'Alep en pré et post émergence ( <i>in vitro</i> ) .....	123
IV.2-Effet des isolats de <i>Fusarium</i> sp sur les plantules de pin d'Alep ( <i>in vivo</i> ) .....	124
IV.3- Effet des isolats de <i>Globisporangium</i> sp sur les graines de pin d'Alep en pré et post émergence ( <i>in vitro</i> ). .....	126
IV.4- Effet des isolats de <i>Globisporangium</i> sp sur les plantules de pin d'Alep ( <i>in vivo</i> ). .....	128

#### Chapitre V

<b>Étude de la polyphagie de quelques isolats de <i>Fusarium</i> et <i>Globisporangium</i></b> .....	132
------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

#### Chapitre VI

<b>Moyens de lutte contre les agents de fonte de semis du pin d'Alep</b> .....	137
VI.1-Effet de l'huile essentielle de l'inule, <i>T. altroviride</i> et <i>B. subtilus</i> sur la germination des conidies de <i>Fusarium</i> sp. ....	137
VI.1.1- Effet sur la germination des conidies .....	137

VI.1.2-Effet sur la croissance mycélienne .....	139
VI.2-Effet de l'huile essentielle de l'inule, <i>T. altroviride</i> et <i>B. subtilis</i> sur la germination des conidies de <i>Globisporangium sp.</i> .....	141
VI.2.1-Effet sur la germination des Oospores .....	141
VI.2.2-Effet sur la croissance mycélienne.....	142
VI.3- Mode d'action .....	142
<b>conclusion</b> .....	149
<b>Références bibliographiques</b> .....	151
<b>Annexes</b> .....	187

**Introduction**

Le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill) est largement répandu sur l'ensemble du pourtour du bassin méditerranéen (**Barbero et al. 1998**). C'est une espèce fréquente, surtout en région méditerranéenne occidentale, mais elle se rencontre également en divers endroits du bassin méditerranéen oriental. Au total, les forêts de pin d'Alep occupent sans doute plus de 3.5 millions d'hectares (**Quezel, 1980**). Elles sont bien représentées dans les massifs montagneux du Maghreb, en Espagne Orientale, dans les îles Baléares et la partie occidentale du bassin méditerranéen (**Quezel et Barbero, 1992**). Ainsi, cette essence forestière revêt une importance particulière en raison, tout d'abord de l'importance de la surface qu'elle recouvre (800.000 ha), représentant environ 35 % des surfaces boisées de l'Algérie du Nord (**Bentouati, 2006**). D'un point de vue dynamique, le pin d'Alep est le parfait exemple du modèle expansionniste tel que défini par **Barbero et al. (1990)**. Il est caractérisé par sa forte reproduction, la précocité de sa fructification et sa production de biomasse élevée.

Le pin d'Alep est une des essences qui possède l'amplitude écologique la plus vaste (**Nahal, 1962**). Il pousse dans des zones où les précipitations annuelles sont comprises entre 200 et 1500 mm. Un des facteurs climatiques majeurs limitant l'expansion du pin d'Alep est la température. On le rencontre dans des gammes de température moyennes annuelles allant de 11 à 19°C, ce qui correspond à peu près à des moyennes des minima du mois le plus froid comprises entre -2 et +6 °C (**Nahal, 1962**).

Le pin d'Alep fut largement utiliser pour le gemmage, pour lequel il est l'essence qui fournit le meilleur rendement et la meilleure qualité (**Nahal, 1962**). Le bois de pin d'Alep même s'il n'est pas de qualité exceptionnelle, est cependant apte a des emplois plus nobles et donc plus rémunérateurs que ceux qu'il connaît actuellement. En particulier, l'emballage léger pourrait constituer un secteur moteur pour les gros volumes de sciage (**Oliva et Richard, 1995**).

Le concept actuel de « gestion durable des forêts » insiste non seulement sur la nécessité de ne pas surexploiter le milieu afin qu'il ne perd pas son potentiel, mais aussi sur l'importance de préserver, voire restaurer le cas échéant sa capacité de résilience écologique, face par exemple aux modifications climatiques, aux risques de maladies des arbres, d'incendies, tempêtes, etc. Elles interviennent dès les premières étapes de l'élevage d'une plante au niveau des pépinières. La graine peut, en effet, véhiculer des parasites capables de produire des

pourritures cotylédonaire, comme des fontes de semis des plantules (Motta 1985). Les parasites issus de la semence causent la plupart des dommages connus sous l'appellation de fonte de pré émergence, correspondant à un manque à la levée. Les espèces fongiques les plus souvent mises en cause sont *Globisporangium spp*, *Fusarium spp* espèces ubiquistes polyphages altèrent l'embryon, ou de provoquer la fonte (Perrin 1979). La compréhension de ces organismes, au niveau de leur classement phylogénétique corrélé aux observations morphologiques et à leur écologie ne cesse d'évoluer. Cette étape est importante dans la compréhension de la pathologie et permet ainsi de relier ces organismes entre eux mais aussi avec leur milieu d'évolution puisque ils sont représentés à l'échelle mondiale.

Le *Fusarium sp* et le *Globisporangium sp* sont connus pour leur spectre d'hôte variables et leur pouvoir de colonisation très élevé sur les plantes cultivées comme sur plantes forestières.

La lutte biologique par des antagonistes microbiens du sol semble être une solution à la fois élégante et respectueuse de l'environnement. Elle répond aux exigences économiques, toxicologiques et écologiques. Cette forme de bio-protection consiste en l'utilisation de microorganismes pouvant contrer la croissance des agents pathogènes et par conséquent l'atteinte de la plante. Des études dans ce sens ont abouti à des résultats satisfaisants. Elles déterminent des antagonistes efficaces pouvant bloquer le développement du pathogène et parfois même stimuler la croissance des plantes hôtes. Néanmoins, l'utilisation des extraits de plantes douées d'activités fongicides est actuellement parmi les voies intéressantes en lutte biologique pour réduire ces pertes et permet de remplacer les fongicides de synthèse.

Pour atteindre ces objectifs le présent travail s'articule autour les points suivants:

**L'objectif de ce travail vise donc à évaluer, dans un premier temps, la fonte de semis et la pourriture des racines aux niveaux des pépinières forestières du nord-ouest Algérien :**

- ✓ Localiser les foyers des maladies ;
- ✓ Evaluer leur importance et identifier les espèces responsables, ainsi que la fréquence de leur répartition dans les pépinières prospectées.

**La seconde étape du travail a été focalisée sur la caractérisation morphologique, moléculaire et biologique des isolats de *Globisporangium* et de *Fusarium* :**

- ✓ L'identification morphologique des isolats a été basée sur la similitude des caractères morphologiques observables qui peuvent être à la fois physique et physiologique. Les



caractères physiques comprennent la forme et la taille des conidies, tandis que les caractères physiologiques incluent des taux de croissance et la pigmentation.

✓ La partie suivante a été confirmée par l'identification moléculaire des isolats responsables de fonte de semis et/ou pourriture des racines de pin par séquençage les régions ITS de l'ADNr, ensuite de comparer ces séquences entre elles et enfin comparé chacune des séquences obtenues avec la ou les séquences les plus proches en se référant au catalogue des ITS de NCBI-GENBANK.

✓ Nous avons également caractérisé biologiquement nos isolats en utilisant plusieurs paramètres biologiques tels que la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des spores. Cette partie a été complétée par une étude de l'effet des milieux de culture, la température et le pH sur le développement des espèces fongiques isolées.

**La troisième étape est basée sur l'étude du pouvoir pathogène des isolats de *Fusarium* et *Globisporangium*:**

✓ Il s'agit d'évaluer le pouvoir pathogène vis-à-vis les graines de pin d'Alep *in vitro* ou nous avons évalué le taux d'inhibition de la germination des graines et l'inhibition du développement du système racinaire.

✓ Le test *in vivo* a pour but d'évaluer l'incidence de la maladie et l'effet de ces isolats sur la vigueur des plantules de pin d'Alep.

✓ Le test de la pathogénicité des isolats sur différentes espèces végétales *in vitro* a été mené pour évaluer leur spectre d'action sur d'autres cultures.

**En fin Rechercher des méthodes et moyens de lutte vis-à-vis de *Fusarium* et *Globisporangium*: deux méthodes de lutte ont été testée**

✓ Effet des microorganismes (*Bacillus subtilis* et *Trichoderma altroviride*) ;

✓ Effet d'un extrait de plante médicinale (*Inula viscosa*).

## I-Généralités sur le pin d'Alep

### I.1-Aire de répartition géographique du pin d'Alep

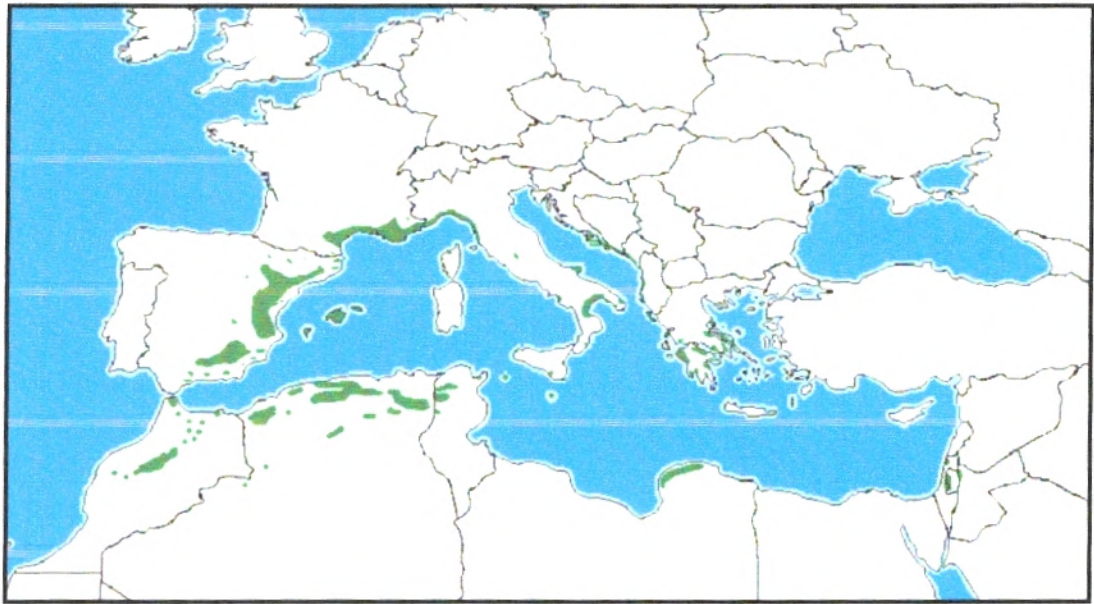
Le pin d'Alep est un arbre circumméditerranéen que l'on trouve à l'état spontané autour du bassin méditerranéen, sauf en Egypte. Mais c'est en Afrique du Nord qu'il semble avoir actuellement son centre de gravité, et surtout en Algérie et en Tunisie où il constitue les massifs les plus importants (**Figure 01**). On le rencontre aussi sporadiquement en Italie, Corse, Sardaigne, Sicile, Croatie, Liban, Israël, Jordanie et Cyrénaïque (ibidem). Au Maroc, le pin d'Alep est peu fréquent à l'état spontané, il occupe une superficie de 65.000 hectares (**Quezel, 1986**). En Tunisie, les forêts naturelles de pin d'Alep couvrent 170.000 hectares, occupant ainsi tous les étages bioclimatiques depuis la mer jusqu'à l'étage méditerranéen en semi-aride (**Chakroun, 1986**).

Sur la base des différents travaux, la superficie du pin d'Alep est récapitulée dans le tableau suivant:

**Tableau 01:** Superficies du pin d'Alep en Algérie (en ha).

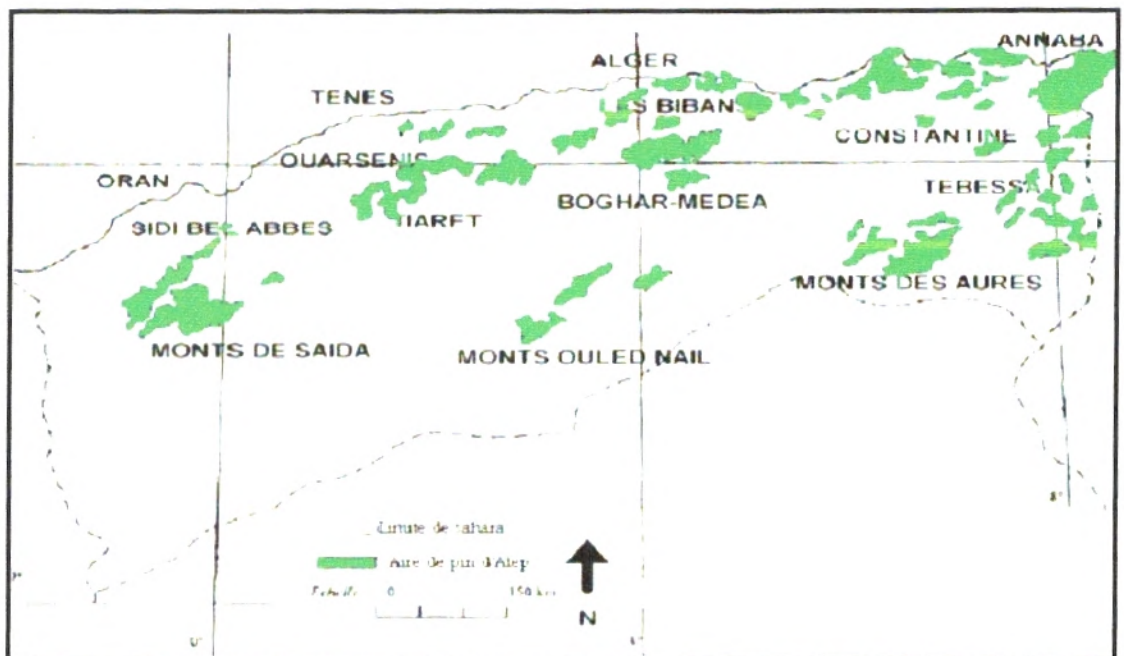
Années	1955(Boudy)	1985(Seigue)	1997(Ghazi et Lahouati)	2000(RNE)	2005(DGF)
<b>Superficie (ha)</b>	852.000	855.000	800.000	881.000	863.858

A l'ouest du pays, en Oranie, on peut trouver de vastes massifs concentrés dans les régions de sidi Belabbes, de Saida, Tlemcen, et Tiaret de l'Ouarsenis, sur le tell algérois (**Tableau 01; Figure 02**) (**Mezali, 2003**). Il est aussi localisé à Médéa et dans les Bibans; sur l'Atlas saharien, il se retrouve dans les Monts des Ouled-Naïl; dans le Constantinois, il est surtout fréquent dans les Aurès et sur les monts de Tébessa. Dans les Aurès, le massif des Beni Imloul abrite l'une des plus belles forêts de *P. halepensis*. Il constitue l'un des sites où la diversité biologique et écologique est exceptionnellement riche. Les forêts et maquis couvrent 4,1 millions d'hectares soit un taux de boisement de 16,4% pour le nord de l'Algérie et de 1,7 % seulement si les régions sahariennes arides sont également prises en considération (**Mezali, 2003**).



**Figure 01:** Aire de répartition du pin d'Alep dans le bassin méditerranéen (Quezel, 1980).

En Algérie, le pin d'Alep couvre 35% des surfaces boisées de l'Algérie du Nord (Mezali, 2003).



**Figure 02:** Aire de répartition du pin d'Alep en Algérie (Seigue, 1985).

## I.2-Taxonomie et caractères andrologiques

Le pin d'Alep connu sous le nom *Pinus halepensis* Mill. par le botaniste écossais Philip Miller qui lui donna abusivement ce nom scientifique en 1768. Une révision taxonomique de ces pins a été effectuée (Nahal, 1962) en invoquant, en plus des critères morphologiques et anatomiques classiques, ceux tirés de la biochimie (composition de l'essence de térébenthine) de la biogéographie, de l'écologie, de la palynologie. Le *P. halepensis* appartient à un groupe de pins dans lequel plusieurs espèces ont été décrites, mais dont deux seulement sont actuellement considérées comme de véritables espèces par la majorité des systématiciens. D'après Houerou (1980), cette espèce est classée dans:

**Règne:** Plantae, **Embranchement:** Gymnospermes, **Classe:** Pinopsida, **Ordre:** Coniférales, **Sous-ordre:** Abietales, **Famille:** Pinaceae, **Sous-famille:** Pinoideae, **Genre:** *Pinus*, **Sous-genre:** *Eupinus*, **Espèce:** *Pinus halepensis* (Nahal, 1962).

Les noms vernaculaires: Sanouber halabi, Arabe, Azoumbei, tayada (Yessad, 1988).

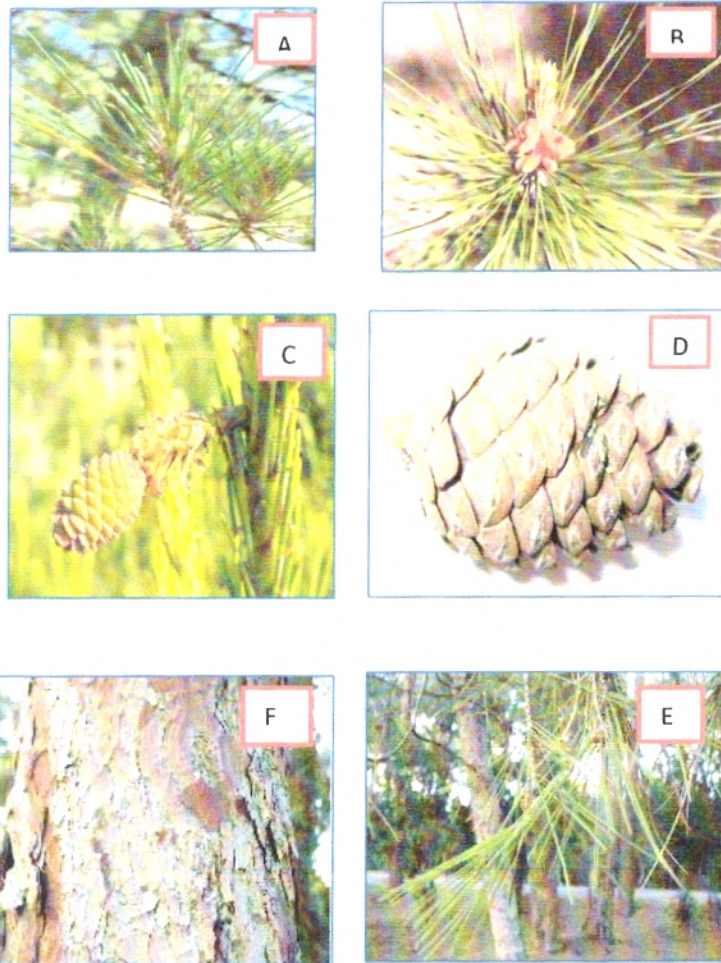
Le pin d'Alep est un arbre de taille moyenne, pouvant atteindre une hauteur totale de 25 à 27 mètres (Nahal, 1962). En Algérie, le pin d'Alep est un arbre de seconde grandeur et sa hauteur dépasse rarement les 20 mètres (Letreuch, 1982). Généralement, le *P. halepensis* présente un port étalé, un tronc souvent tortueux et très banché. L'arbre du pin d'Alep est toujours vert, vivace, a écorce crevassée gris argent (d'où son nom de pin blanc) au feuillage vert clair léger et aéré. L'écorce et le bois contiennent des canaux contenant une substance visqueuse et collante: la résine.

Ce n'est pas une inflorescence à proprement parler, car les Gymnospermes n'ont pas de fleur. Ils sont constitués d'écailles qui se recouvrent les unes sur les autres en partant de la base du cône sur un axe central. Chaque base des écailles contient les organes reproducteurs de la plante. Les cônes mâles sont beaucoup plus petits et éphémères que les cônes femelles. Le cône femelle est plus gros, c'est ce dernier que l'on peut voir dans l'arbre durant toute l'année et que l'on ramasse souvent au sol. Il est plus solide que le cône mâle car il assure la croissance de la future graine du conifère (Safar et al. 1992).

Les feuilles ou les aiguilles sont de 6 à 10 cm de long avec une largeur de 1mm, (planche 01) sont fines, molles, lisses et aiguës, groupées par 2 en pinceaux à l'extrémité des rameaux (Nahal, 1962).

Les fleurs mâles et femelles séparées (monoïque) situées sur le même individu; elles sont groupées en épis. Les cônes violets de fleurs femelles apparaissent à l'extrémité des pousses

de l'année; les chatons jaunes de fleurs à étamines sont situés à la base des pousses de l'année (Nahal, 1962).



**Planche 01:** Morphologie du pin d'Alep **A:** les aiguilles, **B:** bourgeon, **C, D:** cônes, **E:** le tronc, **F:** L'écorce (Anonyme 2).

### **I.3-Utilisation du pin d'Alep**

Le pin d'Alep fut largement utilisé pour le gemmage, en particulier l'emballage léger pourrait constituer un secteur moteur pour les gros volumes de sciage (**Oliva et Ricard, 1995**). A travers de diverses études met en relief l'importance de la ressource en bois de pin d'Alep et leur utilisation (**Grulois et Peeters, 2004, Peeters et Thivole-Cazat, 2005 et Thomas et Peeters, 2006**).

Dans les bois des résineux, type pin d'Alep nous trouvons souvent des quantités considérables de résines, des tanins concentrés dans le bois de cœur et dans l'écorce et du caoutchouc dans l'écorce sous forme de latex, (jusqu'à 10% ) (**Labbe, 2002**); autant ces matières peuvent valoriser le bois en tant que source d'obtention de différents dérivés chimiques concurrentiels avec les dérivés pétrochimiques, autant leur présence affecte le comportement mécanique du bois; en effet les résines contenues dans le bois et qui comptent près de 80% des matières extractibles confèrent un mauvais état de surface sur les produits déroulés et peuvent empêcher d'avoir un bon collage pour la fabrication de LVL ou contre-plaqué (**Remmy, 1989**). Les activités de collecte de résine dans les pays méditerranéens ont toujours joué un rôle important dans le bien-être des communautés. Les revenus du bois d'un arbre de pin d'Alep est seulement à 2% des revenus générés à partir de résine pendant toute la durée de l'arbre (un arbre de taille moyenne peut produire 3-4 kilogrammes de résine par an). En outre, il a été observé que les forêts qui ont la production de résine active ont une incidence plus faible des feux de forêt. Cette situation résulte du fait que les communautés adjacentes ont un intérêt actif dans la préservation de l'intégrité des écosystèmes forestiers (**Moussouris et Regato, 1999**). En Algérie le bois du pin d'Alep est malheureusement employé surtout dans: le domaine de la petite charpente, la menuiserie ordinaire, la caisserie et l'emballage (**FOSA, 2000**).

### **I.4-Méthode de production des plantules de pin d'Alep**

Les pépinières sont des lieux où l'on fait pousser des plantules pour les replanter ensuite. Les jeunes plants y sont soignés depuis le semis de façon qu'ils deviennent capables de supporter les conditions difficiles qu'ils rencontreront plus tard sur le terrain. Qu'il s'agisse d'espèces locales ou introduites, on constate que les plants de pépinières survivent mieux que les graines semées directement en place ou par régénération naturelle. La production de plants implique de nombreuses opérations (**FOA, 1992**).

La terre de pépinière doit présenter les caractéristiques suivantes: elle doit être légère; présenter une cohésion suffisante; avoir une bonne capacité de rétention d'eau; comporter une

quantité importante de matières organiques. Elle doit être acide (pH= 6). S'il se trouve qu'elle soit alcaline, on peut l'acidifier à l'aide d'une solution d'acide sulfurique à 2%. Il faut parfois désinfecter la terre de la pépinière contre les agents pathogènes du sol à l'aide d'une solution de formaldéhyde à 40 %.

On utilise souvent un prétraitement pour accélérer la germination ou obtenir une germination plus régulière. Les méthodes de prétraitement varient selon les types de dormance des graines. Lorsque cette dormance est forte, la régénération artificielle nécessite une forme ou une autre de prétraitement, seul susceptible d'assurer un taux de germination élevé en un temps très court. Chez *Pinus taeda* (Bonner et al. 1974) et *Pinus elliottii* (Forrest, 1964) lorsque la dormance est légère, le prétraitement peut n'avoir qu'un effet marginal. Un traitement mécanique par le trempage dans l'eau froide, le trempage dans l'eau chaude ou bouillante et les traitements à l'acide (Kemp, 1975). D'après Matias et al. (1973), le trempage des graines de *Pinus caribaea* pendant 48 heures dans de l'eau à température ambiante assure une germination plus uniforme.

L'enrobage consiste à recouvrir la surface des graines d'une matière inerte, l'agent adhésif, auquel il est possible d'ajouter divers produits chimiques (Magini, 1962). Actuellement, on insiste beaucoup sur la protection des graines grâce à l'incorporation dans l'enrobage de fongicides, d'insecticides et d'anti-ravageurs; l'addition d'engrais est rarement pratiquée. Cette technique a été employée avec succès dans le cas du semis aérien de graines de pins. D'après des études sur le terrain, le rapport du rendement en plants des graines enrobées à celui des graines non traitées s'établissait à 55/1 dans le cas de *Pinus palustris* et à 12/1 dans le cas de *Pinus taeda* (Derr et Mann, 1971).

Les graines sont semées à une profondeur égale à une à trois fois leur diamètre. A cette profondeur, une humidité adéquate et une température optimum accéléreront leur germination. Celui-ci est déterminé par le temps nécessaire pour obtenir un plant de la taille souhaitée. Par exemple, s'il faut quatre mois en pépinière pour faire pousser des plants à planter en juin, alors la date idéale de semis pour cette espèce est le 1<sup>er</sup> février. De même, pour planter en octobre, la date idéale de semis est le 1<sup>er</sup> juin (Chaba et al. 1994).

L'arrosage à la main, que ce soit à l'arrosoir ou avec un tuyau, est la meilleure méthode. L'arrosage doit être fréquent jusqu'à germination des graines. Lorsque les plants qui poussent en planches atteignent le stade où ils ont deux feuilles, on les dépique avec soin à l'aide d'un bâton époiné et on les repique toujours avec soin dans des sacheries ou d'autres planches.

C'est un processus extrêmement délicat que l'on évite maintenant en semant les graines directement et en éclaircissant par enlèvement des plants en excédent, en ne laissant qu'un seul bon plant par sacherie (**Chaba et al. 1994**).



## II- Les agents de fonte de semis du pin d'Alep

### II.1-Définition

On appelle les fontes de semis les maladies qui attaquent les jeunes plantules. Elles se caractérisent par un faible taux de levée et un affaissement des plantules avant qu'elles aient atteint leurs maturités (Richard et Boivin, 1994). Les graines peuvent être infectées avant la germination ou suite à leur émergence. Les fontes de semis, qui peuvent être présentes avant le repiquage dans les pépinières, présentent deux types de symptômes et dégâts (Carrier et al. 2009). Elle est le plus souvent observée dans un sol froid et humide que ce soit en plein champ ou en terreau de départ. L'air humide et stagnant est aussi un facteur qui favorise le développement de la fonte des semis. Comme son nom l'indique, cette maladie s'attaque au semis. Pouvant apparaître dès la mise en terre des graines aussi bien qu'au stade plantule ou en post levée.

#### • les fontes de semis en pré-émergence

Il s'agit de pourriture de semence avant qu'elles ne germent ou émergent du sol. Dans les plateaux, il en résulte des zones circulaires où il y a absence de plants.

#### • les fontes de semis en post-émergence

Il s'agit de pourriture des racines des jeunes plantules et provoquent un brunissement ou un étranglement des tiges. Les tigelles se courbent et meurent.

On la reconnaît par une pourriture ou un petit collet boudinée rougeâtre ou brun à la base de la tige des plantules. Les plantules se dessèchent, deviennent filiformes et s'affaissent, une fois que la maladie est apparue, il existe peu de recours pour la contrer (Anonyme 1).

### II.2-Agents responsables de fonte de semis

La fonte des semis est causée par différentes espèces de champignons qui peuvent varier suivant la plante concernée, le sol et la région. Le plus souvent ce sont les champignons du genre *Globisporangium* tels que *G. ultimum* (Duval, 1991). Les espèces du genre *Fusarium* sont des redoutables agents de fonte de semis, il provoque l'inhibition de la germination des graines, ou la décomposition des radicules. Des dommages et les pertes sont habituellement confinés aux graines individuellement souillées (Perterson, 2008).

## II.2.1-Généralités sur des agents de fonte de semis appartenant au genre

### Globisporangium

*Globisporangium* sp. est un champignon ubiquiste, vit sur terre (terrestre), et dans l'eau (aquatique) et une combinaison des deux (amphibie); mais il est principalement retrouvé dans les régions humides (Anderson et al. 1993). Cette espèce a été isolée de substrats et habitats divers, sol, bois, plastique, papier, produits alimentaires, algues. Leur importance en pathologie végétale est sans doute, sont des agents responsables de la fonte de semis et quelques maladies spécifiques (Wilhelm, 1965). La meilleure monographie du genre a été décrite par Van der Plaats-Niterink, (1981), tenant compte de la notion très importante d'hétérothallisme, admet 85 espèces, plus des variétés.

Les *Globisporangium* sp. sont habituellement considérés comme des champignons aquatiques. Toutefois, du point de vue génétique, biochimique et morphologique, les Oomycètes seraient plus près des algues chrysophytes que des vrais champignons (Carlile et al. 2001; Agrios, 2005).

L'espèce *Globisporangium ultimum* appartient au genre *Globisporangium*, Règne Chromista, division des Oomycota, classe des Oomycètes, ordre des Péronosporales et la famille des Pythiaceae,

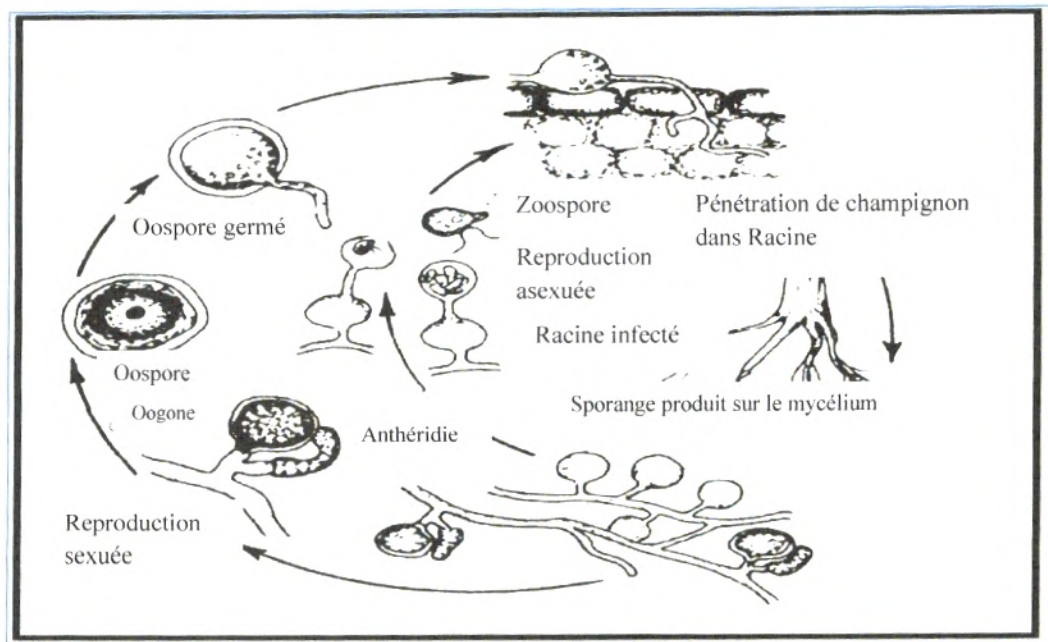
*Globisporangium* sp, comme d'autres espèces, dans la famille des Pythiacées, sont généralement caractérisées par leur production des hyphes non cloisonnés, d'environ 7 µm de diamètre (Lévesque et al. 2004). À croissance rapide 20 mm/jour sur le milieu PDA à 26°C (Vander et al. 1991). La plupart des espèces de *Globisporangium* sp, produisent des sporanges ronds, le sporange contient une vésicule à paroi mince dans laquelle les zoospores se différencient. Par la suite, les zoospores sont relâchées (Lévesque et al. 2004, Uzuhashi et al. 2010; Lazreg et al. 2013 d). Chez *G. ultimum*, Le diamètre des hyphes se situe entre 1,7 µm et 6,5 µm. Les oospores servent habituellement de structures de survie en absence de plantes hôtes (Green et Jensen, 2000; Lazreg et al. 2013d).

Il est important de mentionner que *G. ultimum* a été isolé par Uzuhashi et al. (2010) est l'une des espèces les plus courantes qui présente une distribution mondiale et provoque des dégâts très importants. Cette espèce ne produit pas de zoospores (Francis et Clair, 1997). Les Oogones sont lisses, sphériques et habituellement terminales. Les Oospores sphériques (14,7 µm à 18,3 µm de diamètre) ne remplissent généralement pas l'intérieur de l'Oogone (Gilman, 1957).

*Globisporangium glomeratum* a été déclaré pour la première fois en France et identifié comme agent de fonte de semis par **Paul (2003)**. Cette espèce est caractérisée par un mycélium bien ramifié mesurant jusqu'à 5 µm de diamètre. Sur le milieu PCA les colonies ont données un mycélium d'un aspect chrysanthème. La moyenne de croissance radiale à 25°C sur ce milieu est de 13 mm/jour. *G. glomeratum* ne produit pas de sporanges et zoospores, même après une incubation prolongée, les Oogones sont globuleux, subglobuleux, ovoïde (**Paul, 2003**). *G. heterothallicum* a été initialement isolé à partir du sol au Canada. En plus des isolats néerlandais, *G. heterothallicum* a également été isolé à partir du sol provenant d'Ibiza, Sardaigne, la Tchécoslovaquie, l'Allemagne, Kenya et le Costa Rica (**Paul, 2003**).

Le stade diploïde (2N), l'étape de vie qui prédomine, avec une brève haplo phase lancé au cours de la reproduction sexuée ainsi que la reproduction asexuée (Homothallisme prédomine dans la famille) pour fusionner les gamètes (**Paulitz et Baker, 1997**). La reproduction sexuée est caractérisée par un oogone terminale ou intercalaire, parfois latérale, de diamètre varie entre 21-31 µm, Oospores plerotic ou aplérotiques de 18-27 µm de diamètre, à paroi épaisse de 1-2,8 µm. Anthéridies souvent présentes ou absentes, parfois 2 par Oogone, dielines, et parfois monoclines, présentant souvent des constriction, et lobulées (**Agrios, 2005; Lazreg et al. 2013d**). La reproduction asexuée n'est observée que chez *Globisporangium*; les sporanges germent par l'intermédiaire d'un tube germinatif ou par la libération de zoospores mobiles selon les espèces et les conditions environnementales.

Les sporanges sont intercalaires, rarement terminales, en agrégats irréguliers formés d'éléments sub-globuleux; Zoospores formées à 18-20°C, de 9-10 µm de diamètre tube de décharge de 15-35 µm (**Vander et al. 1991**).



**Figure 03:** Cycle de vie de *Globisporangium* sp. (Agrios, 2005).

Les différentes espèces du genre *Globisporangium* se développent sous la forme d'un mycélium blanc. La **figure 03** montre le cycle de vie des champignons du genre *Globisporangium*. En reproduction sexuée et asexuée. Les sporanges sont formés directement sur les hyphes et non sur des sporangiophores. Ils déversent des zoospores flagellées dans une vésicule qui éventuellement se rompra pour libérer les zoospores (Gilman, 1957). En reproduction sexuée, la fusion d'une anthéridie et d'une Oogone résulte en la formation d'une Oospore. Un nouvel hyphe se développe suite à la germination des Oospores ou des zoospores enkystées (Agrios, 2005).

La température optimale de croissance est comprise entre 22 et 30°C ou on peut trouver une bonne croissance dans cet intervalle. Mais pour les températures allant de 6 à 32°C on peut également observée quelque mycélium. Quelques cas exceptionnels de croissance ont été observés à 37°C, mais aucune à 0°C. Le point thermique de mortalité dans le sol est de 49 à 55°C pendant 30 minutes. Le pH doit être compris entre 1,5 et 7, le pH optimum étant de 4,5-5,5 (Domsch et al. 1993).

Les espèces de *Globisporangium* produisent des zoospores mobiles dans l'eau, ce qui les rend bien adaptées aux conditions aquatiques (Agrios, 2005). Les zoospores sont attirées par

chimiotaxie vers les exsudats racinaires et sont en mesure d'infecter la plante (Paulitz, 1997). Pour ce qui est de *G. ultimum*, la croissance mycélienne d'un plant infecté vers un plant sain constitue le principal moyen de dissémination. Les Oospores servent habituellement de structures de survie en absence de plantes hôtes (Green et Jensen, 2000).

## II.2.2- Caractérisation morphologique et moléculaire utilisable dans la détermination de *Globisporangium*

### II.2.2.1- Caractérisation morphologique

Fondamentalement, l'identification des Oomycètes isolés est basée sur l'étude microscopique d'un grand nombre de critères morphologiques. La description des structures de reproduction asexuée est nécessaire à la détermination du genre. Ainsi, pour différencier les genres de la famille des Pythiacées, des observations microscopiques minutieuses au moment de la libération des zoospores sont exigées. Une fois le genre est déterminé, une description précise des structures de reproduction sexuée incluant la présence ou l'absence des anthéridies, l'origine des branches anthéridiennes, la taille des oogones, le type de la paroi des oogones, le nombre d'oospores par oogone. Parfois quelques espèces ne forment pas les structures sexuées ni en culture simple ni en confrontation avec des espèces hétérothalliques connues (Plaats Niterink, 1981). Les sporanges sont filamenteux, irrégulièrement lobés, ou plus ou moins sphériques. Dans ce dernier cas, ils peuvent perdre la faculté d'émettre des zoospores, et se comporter simplement comme « conidies » ou « chlamydozoospores ». On ne doit pas les confondre avec les « structures appressoriales » qui se développent avec profusion en moins de 36 h au contact du fond des boîtes de Pétri plastiques, mais auxquelles les spécialistes ne reconnaissent, hélas, aucune valeur déterminative (Plaats Niterink, 1981). La reproduction sexuée chez les oomycètes se produit uniquement lorsque les conditions du milieu deviennent défavorables (température basse, peu d'eau) et implique la formation de deux organes différents (ou gamétanges), l'anthéridie (mâle) et l'oogone (femelle) qui vont permettre la formation d'une oospore par fécondation (hétérogamétangie).

L'oospore (diamètre compris entre 30 et 50  $\mu\text{m}$ ) est la forme de conservation la plus résistante aux contraintes physico chimiques. Cette résistance est notamment permise par l'importante épaisseur de la paroi. La germination de l'oospore se produit après une levée de dormance (notion de degré jour) et libère un mycélium ou un macrosporange. Chez le genre *Pythium*, l'oogone peut être ornementée, l'oogone peut perdre ou garder cette

caractéristique une fois fécondée, ce qui constitue un élément de classification. La fécondation, selon les espèces, peut être homothallique, c'est-à-dire que le même mycélium mycélium produit les deux organes et vont permettre une fécondation à faible recombinaison recombinaison génétique. La fécondation hétérothallique nécessite la présence de deux types sexuels différents. L'anthéridie du type A1(A2) va féconder l'oogone du type A2(A1). Cette fécondation permet une recombinaison génétique importante et induit ainsi plus facilement la création de nouvelles sous espèces. Les Oogones sont lisses, ou pourvus de protubérances à extrémités soit arrondies, soit pointues (**Plaats Niterink, 1981**).

Une **oospore** est un type de spore sexuelle aux parois épaisses et résistantes qui se forme à la suite de la fécondation d'une oosphère. En général, il s'agit de la forme de survie de l'organisme aux conditions défavorables. Leur taille et forme est différencie selon les espèces soit plorétique ou aplorétique (**Plaats Niterink, 1981**).

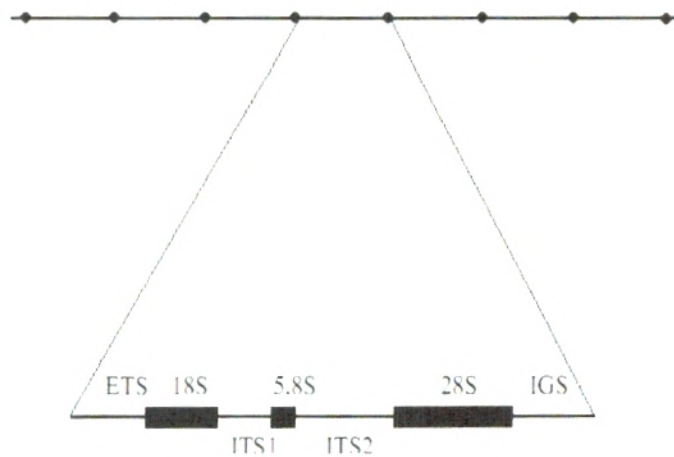
Les anthéridies peuvent être «dielines» provenant d'un autre filament que l'oogone, «périclines» provenant du même filament, ou «hypogynes». Elles peuvent aussi être totalement absentes chez des *Globisporangium* produisant aussi des «Oospores parthénogénétiques ».

#### **II.2.2.2- Caractérisation moléculaire**

L'analyse moléculaire qui non seulement a permis de compléter les observations microscopiques réalisées mais également de fournir les données nécessaires pour les études phylogénétiques (**Lévesque et De Cock, 2004; Tambong et al. 2006**). L'amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction) des régions ITS grâce aux amorces universelles et le séquençage des régions amplifiés ont fourni un matériel de choix pour les études comparatives, taxonomiques et phylogéniques (**Lévesque et De Cock, 2004**).

Les gènes codant les ARN ribosomiques (ADNr), chez les Oomycètes, sont les régions les plus utilisées dans les études phylogénétiques et taxonomiques (**Rivierre et al. 2005**). Les séquences sont organisées en unités répétées en tandem des gènes codant pour l'ARNr 18S, l'ARNr 5.8S, l'ARNr 28S. Chaque gène ribosomique est séparé par des espaces intergéniques. Les espaces entre l'ADNr 18S et l'ADNr 5.8S et entre l'ADNr 5.8S et l'ADNr 28S, sont des espaces internes des régions ribosomiques transcrites (ITS1 et ITS2 respectivement) qui sont ensuite excisés au cours de la maturation des ARNr.

L'espace externe des régions ribosomiques transcrites (ETS) et l'espace intergénique (IGS) séparent la grande et la petite sous unité ribosomique (**Figure 04**). Les régions codantes sont hautement conservées ce qui permet de comparer des organismes relativement éloignés. En revanche, les régions internes sont beaucoup moins conservées et permet de comparer des organismes proches.



**Figure04:** Unité de gène codant les ARN ribosomiques des Oomycètes.

### II.3-Généralités sur des agents de fonte de semis appartenant au genre *Fusarium*

#### II.3.1-Historique des systèmes taxonomiques du genre de *Fusarium*

En 1809, de nombreux chercheurs ont été intéressés au diagnostic et l'identification des espèces de *Fusarium* responsables des maladies des plantes. Plus de 1000 espèces de *Fusarium* ont été décrites et qui ont été dans la plupart du temps isolé à partir des plantes malades. La taxonomie des espèces du genre *Fusarium* était en plein désarroi (**Leslie et Summerell, 2006**). **Wollenweber et Reinting (1935)** ont proposé un système taxonomique selon lequel les espèces de *Fusarium* ont été regroupées au sein de sections dont la séparation au sein des sections a été basée sur des caractères culturales. Les caractéristiques qui ont été utilisés pour séparer les sections sont: (i) la présence ou l'absence de microconidies, (ii) la forme des microconidies, (iii) la présence ou l'absence de chlamydospores, (iv) l'emplacement du chlamydospores (v) la forme des macroconidies, et (vi) la forme des cellules basales ou au pied des macroconidies.

Les taxons au sein des sections ont été divisés en espèces, variétés et formes spéciales basé sur : (i) la couleur du stroma, (ii) la présence ou l'absence de sclérotés, (iii) le nombre de cloisons dans les macroconidies et (iv) la longueur et la largeur des macroconidies (**Wollenweber et Reinking, 1935**). Wollenweber et Reinking ont fondé des systèmes taxonomiques les plus modernes, qui décrivent 65 espèces de *Fusarium* et 77 variétés et de formes spéciales dans les sous-espèces de 16 sections.

**Messiaen et Cassini (1968)** ont fondé leur système taxonomique basé sur des données de **Snyder et Hansen (1940, 1941)**. Ils ont adopté l'utilisation de variétés botaniques au lieu de cultivars au niveau sous-espèce de *F. roseum*, *F. sambucinum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* et *F. avenaceum* (**Messiaen et Cassini, 1968**). En 1982, **Gerlach et Nirenberg** ont publié un atlas qui a décrit 78 espèces de *Fusarium* et 55 variétés au sein des 16 sections décrites par **Wollenweber et Reinking (1935)**. Leur système est considéré comme une mise à jour de système de **Wollenweber et Reinking (1935)**, et de celui de **Booth (1971)** (**Gerlach et Nirenberg, 1982; Joffe, 1986**).

**Nelson et al. (1983)** ont publié un système taxonomique qui combine les caractéristiques des systèmes taxonomiques de **Wollenweber et Reinking (1935)**, **Snyder et Hansen (1940)**, **Joffe (1986)**, **Messiaen et Cassini (1968)**, **Gerlach (1981)** et **Booth (1971)** dont la description des espèces qu'ils ne reconnaissaient pas la présence de cellules polybasique conidiogènes comme un caractère taxonomique.

### II.3.2-Critères morphologiques et cultureux utilisés dans la taxonomie de *Fusarium*

Tous les principaux systèmes taxonomiques de *Fusarium* (**Wollenweber et Reinking, 1935; Booth, 1971; Gerlach et Nirenberg, 1982; Nelson et al. 1983**) sont fondés sur des critères morphologiques et cultureux. Le regroupement des espèces en sections a été basé sur les caractéristiques cultureux (la croissance, la morphologie des cultures et la pigmentation). La morphologie des macroconidies, sporochies, microconidies, mycélium aérien, conidiophores et des chlamydospores étaient aussi utilisés pour regrouper les espèces en sections, ces caractéristiques cultureux sont observées sur le milieu PDA et la morphologie des conidiophores, macroconidies, microconidies, et des chlamydospores devrait être fait sur le milieu CLA (Carnation Leaf Agar). Les conditions de croissance sont importantes dans l'identification des espèces de *Fusarium*, par conséquent, les isolats sont généralement cultivés à une température alternant de 25°C jour/ et de 20°C la nuit (**Nelson et al. 1983**).



### II.3.3-Le stade Téléomorphe du genre *Fusarium*

Les stades téléomorphes (les phases sexuelles) des espèces de *Fusarium* sont produits dans l'ordre des Hypocréales (Samuels et al. 2001). Booth (1981) a décrit les téléomorphes de *Fusarium* des quatre genres *Gibberella*, *Calonectria*, *Nectria*, *Monographella*. (Plectosphaerella) (Samuels et al. 2001). Les trois sections de *Fusarium*: *Arthrosporiella*, *Elegans* et *Sporotrichiella* dont leur stade téléomorphe est inconnu (Samuels et al. 2001).

### II.3.4-Concept morphologiques

Il est basé sur la similitude des caractères morphologiques observables qui peuvent être à la fois physique et physiologique (Leslie et al. 2001). Les caractères physiques comprennent la forme et la taille des conidies, tandis que les caractères physiologiques incluent les taux de croissance (Taylor et al. 2000; Leslie et al. 2001) et des métabolites secondaires sécrétés tels que les mycotoxines (Nelson et al. 1993; Torp et Langseth, 1999; Thrane, 2001; Rheeder et al. 2002), dans la taxonomie des *Fusarium*, la forme de la macroconidie est le premier caractère utilisable dans leur identification (Gerlach et Nirenberg, 1982; Nelson et al. 1983; Summerell et al. 2003; Leslie et Summerell, 2006). Autres caractères morphologiques tels que les microconidies, conidiophores et des chlamydospores sont également importants dans l'identification morphologiques (Booth, 1971; Gerlach et Nirenberg, 1982; Nelson et al. 1983).

### II.3.5-Concept phylogénétique

Des séquences d'ADN sont utilisés pour générer les caractères qui sont évalués par une analyse cladistique et phylogénique (Summerell et al. 2003). Bien que les séquences d'ADN sont les plus utilisés dans l'identification phylogénétiques des espèces, à la fois morphologiques et physiologiques peuvent être utilisées, à condition qu'elles soient suffisamment informatif (Leslie et al. 2001). O'Donnell et al. (1998) ont utilisé des séquences nucléotidiques de trois gènes le P-tubuline, ITS2 et mtSSU ADN pour analyser 45 espèces de *Fusarium*, vingt-six espèces ont été résolus comme des espèces nouvelles. White et al. (1990) ont conduit à l'utilisation de caractères moléculaires tels que les séquences des gènes comme des outils complémentaires. Les caractères moléculaires sont utilisés pour explorer les relations évolutives entre les microorganismes et l'origine d'espèce en matière de taxonomie phylogénétique (Hibbett et al. 2007).

#### II.4-Taxonomie, pathologie et écologie des espèces de *Fusarium* sp. agents de la fonte de semis

Le genre *Fusarium* appartient au phylum des Deutéromycètes (champignons imparfaits), car la plupart des espèces étaient d'abord décrites sur la base de caractères morphologiques et la reproduction sexuée. Ces formes imparfaites (anamorphes) sont caractérisées par un mycélium septé et la production de microconidies hyalines généralement unicellulaires sur des conidiophores libres.

##### II.4.1-*Fusarium acuminatum*

*F. acuminatum* a été isolée pour la première fois à partir des tiges de la pomme de terre à Genève et New York (Ellis et Everhart, 1895). Wollenweber et Reinking (1935) ont considéré *F. acuminatum* comme une variété de *F. scirpi*. Gordon (1952) a considéré *F. scirpi* un synonyme de *F. equiseti* et la restauré à *F. acuminatum*. En 1993, Burgess et al. ont divisé *F. acuminatum* en deux sous-espèces, *F. acuminatum* sub sp. *Armeniacum* et *F. acuminatum* sub sp. *acuminatum*. *F. acuminatum* est le plus souvent confondu avec *F. avenaceum* et *F. armeniacum*, il peut être différencié de *F. avenaceum* par la forme de la macroconidie. Nagy et Hornok (1994) ont montrés que *F. armeniacum* et *F. acuminatum* diffèrent par la taille et le nombre des chromosomes. Rabie et al. (1986) avaient également noté que certains isolats de *F. acuminatum* produisent des niveaux élevés de toxine T-2 alors que *F. armeniacum* produit les trichothécènes de type A (Wing et al. 1994). *F. acuminatum* est plus fréquent dans les zones tempérées, souvent dans les prairies et les sols cultivés, il est moins fréquent dans les régions tropicales (O'Mara et Munkvold ; 1997). Sangalang et al. (1995) ont montré que *F. acuminatum* survit mal à des températures élevées. *F. acuminatum* est généralement considéré comme un saprophyte et un agent secondaire de tissus nécrosés ou sénescents, certains isolats peuvent provoquer une pourriture racinaire très grave (Mebalds, 1987).

##### II.4.2-*F. chlamydosporum*

Cette espèce est commune dans les régions chaudes dans le monde et peut être abondante dans les sols arides et semi-arides (Burgess and Summerell, 1992). Sangalang et al. (1995) ont indiqués que cette espèce a été fréquente dans les régions semi-arides de l'Australie. Cette espèce est fréquemment isolé à partir des céréales dans les zones arides en particulier en Moyen-Orient, le sud d'Europe, l'Asie centrale, et en Australie Kanaan et Bahkali (1993). *F. chlamydosporum* est un envahisseur secondaire des tissus de diverses plantes (Tinline et al.

1988). Il peut réduire la qualité et la germination des semences (Engelbrecht et al. 1983). Il a également été signalé comme un agent de fonte des semis (Nicoletti et al. 2002).

#### II.4.3-*F. equiseti*

*F. equiseti* est un cosmopolite qui a été isolé à partir de nombreuses plantes (Saremi et al. 1999). Il est particulièrement fréquent dans les zones arides (Joffe et Palti, 1977; Mandeel, 1996). Il s'agit d'une commune colonisatrice des plantes sénescents ou tissu endommagé. *F. equiseti* a été associé dans la plupart du temps à la fonte de semis (Abbas et al. 1991).

#### II.4.4-*F. oxysporum*

Cette espèce est la plus dispersée dans le monde et peut être trouvée dans la plupart des sols de l'Arctique (Kommedahl, et al. 1988), tropical, désertique (Mandee, et al. 1995) et cultivées ou non (McMullen and Stack, 1984). *F. oxysporum* est l'une des espèces les plus économiquement importantes compte tenu de ses nombreux hôtes et le niveau de perte qui peut entraîner. Les formes spéciales de *F. oxysporum* sont des agents pathogènes vasculaires provoquant souvent le flétrissement vasculaire, la fonte de semis et les pourritures racinaires (Nelson et al. 1981). Les isolats de *F. oxysporum* sont difficiles à distinguer de ceux de *F. solani* et *F. subglutinans*. Le *F. solani* forme des microconidies en fausses têtes sur des monophialides très longues formées sur les hyphes et le *F. subglutinans* se distingue de *F. oxysporum* par la formation de microconidies sur des polyphialides (Summerell et Rurgess, 1992). *F. oxysporum* est un agent du sol où il croît sur des débris de plantes ou survit en forme de chlamydo-spores. Les chlamydo-spores restent dormantes et immobiles jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou exsudats racinaires. Suite à la germination, il y a formation d'un mycélium. Si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies (Beckman et Roberts, 1995; Agrios, 2005).

#### II.4.5-*F. redolens*

Cette espèce a été découverte par Wollenweber (1913) et leur statut taxonomique a été corrigé par Snyder et Hansen (1940). Booth (1971) a considéré *F. redolens* comme *F. oxysporum*. Nelson et al. (1983) ont adopté la classification de Snyder et Hansen (1940) et considèrent *F. redolens* comme *F. oxysporum*. Gerlach et Nirenberg (1982) a considéré *F. redolens* une espèce séparée. Des similitudes entre *F. oxysporum* et *F. redolens* ont été décrites par Baayen et Gams (1988).

Les souches confrontées de deux espèces sont capable de former des hétérocaryons (Rataj-Guranowska, 1991) et les testssérologiquesde protéinespar électrophorèsedede deux espèces montrent l'apparition des bandes similaires (Rataj-Guranowska et Wolko, 1991). *F. redolens* est un agent causal de la pourriture racinairepour un grand nombre d'espèces végétales. *F. redolens* a un pouvoir de produire de fumonisines et l'acide fusarique (Abbas et al.1995).

#### II.4.6-*F. solani* (Martius)

*F. solani* est un cosmopolite, il peut être trouvé dans tous les sols (Jeschke et al. 1990; Korolev et Katan, 1997). *F. solani* est enregistré comme un agent pathogène sur une gamme vaste et diversifiée de plantes-hôtes. *F. solani* est cependant, bien documenté comme un agent pathogène pour plusieurs cultures où il est associé à des pourritures racinaires, des fontes des semis et des problèmes de dépérissement des arbres. La germination des spores de *F. solani* est stimulée par des aldéhydes, l'heptanal, octonal, nonanal, décanal et undécanal (Harman et al. 1980) et flavanoids (bagga et Straney, 2000). Les Macroconidies peut exiger l'éthanol à germer dans certaines conditions (Phillips et al. 1989) et peut être inhibée par l'ammoniaque et le pH (Loffler et Schippers, 1984). Les mécanismes de pathogénicité de *F. solani* ont été largement lie par l'enzyme de cutinase, les modes de fixation et la pénétration de spores de *F. solani* (Epstein et al. 1994).

#### II.4.7-*F. tricinctum*

*F. tricinctum* est un champignon saprophyte où un parasite de faiblesse dans les régions tempérées comme l'Europe, le nord d'Amérique (Kosiak et al. 2003). La culture de *F. tricinctum* sur le milieu de PDA peut être confondue avec d'autres espèces par plusieurs caractères, en particulier la forme des microconidies et la cellule monophialidique. *F. tricinctum* se différencie de *F. sporotrichioides*, *F. chlamydosporum* et *F. poae* par la forme de phialides qui sont faciles à distinguer. *F. tricinctum* a une activité enzymatique pectolytique et cellulolytique (Wick et Schroeder ,1982). Il a produit des toxines fusarin C, enniatines et la moniliformine, et aussi des métabolites secondaires acuminatopyrone, fosfonochlorin et visoltricin (Chelkowski et al. 1990).

#### II.5-Cycle de la maladie

Les *Fusariums* sont des champignons telluriques qui hivernent sur les débris de végétal infectés. Les chlamydo-spores peuvent survivre dans le sol pendant des longues périodes. Le mycélium peut infecter le tissu végétal sain. Les plantes peuvent devenu infecté par leurs bouts de racine, directement, par des blessures, ou au moment de la formation des racines

latérales (Agrios, 1988). Le mycélium peut se développer dans l'espace intercellulaire des racines pour atteindre les tissus vasculaires. En se développant, le mycélium produit les microconidies. La prolifération de la croissance mycélienne dans les vaisseaux conducteurs provoque le flétrissement et la mort de la plante. Les conifères sont particulièrement sensibles à cet agent pathogène. La fusariose se développe dans le tissu en décomposition, visiblement présentant des sporodochies sur la partie inférieure de la plante. Les spores sont dispersées par le mouvement de plantes elles-mêmes, par le vent et l'eau (Agrios, 1988).



**Figure 05:** Morphologie du *Fusarium* sp, **a** : Conidies (Macroconidies et Microconidie), **b**:Conidiophores et **c**:Chlamydospores (Booth, 1971).

Le *Fusarium* sp est un parasite tellurique doué d'une vie saprophytique. Par ces organes de résistance, les chlamydospores, il est capable de survivre pendant plusieurs années dans les conditions les plus défavorables. En absence de la plante hôte le *Fusarium* sp. se conserve dans le sol sous forme de chlamydospores (Haware et al. 1986).Généralement, l'infection débute par la germination des chlamydospores, le tube germinatif s'introduit à travers l'épiderme du système racinaire induit par conséquent une pourriture racinaire par sécrétion des enzymes pectolytique (Gupta et al. 1986).

### III- Méthodes et moyens de lutte contre la fonte de semis

Tous les moyens permettant d'éviter les conditions froides et humides pendant la germination des graines et la croissance des plantules réduisent l'incidence de la fonte des semis. On peut penser à plusieurs moyens:

- Eviter de planter en sol froid, compacté, mal drainé: les graines germent plus vite et les plantules croient plus rapidement en sol chaud réduisant les chances d'attaque.
- Favoriser la circulation d'air soit en adoptant un taux de semis plus faible dans les bacs à semis ou en fournissant une ventilation adéquate.
- Eclaircir les semis trop denses le plus vite possible.
- S'assurer que le terreau est bien drainé en ajoutant du sable ou la mousse de tourbe.
- Eviter les arrosages excessifs; vaporiser le feuillage plutôt que d'arroser le sol (**Duval, 1991**).
- Les organismes responsables de la fonte des semis sont soit déjà présents dans le sol soit véhiculé par la graine. Le traitement des semences, terreaux et sols par la chaleur visera donc à éliminer ou inhiber les microorganismes présents dans ces milieux (**Duval, 1991**). La stérilisation du sol est un moyen sûr de contrôler la maladie mais comme c'est toujours à recommencer, il ne s'agit pas d'une solution à long terme.

#### III.1- Les méthodes biologiques

La lutte biologique, par l'utilisation de micro-organismes, est une alternative très prometteuse par rapport aux fongicides par leurs spécificité et l'efficacité d'action, l'ubiquité naturelle de ces agents dans les écosystèmes, leur dissémination facile et leur persistance dans l'environnement. Des travaux ont rapporté l'existence au sein de certains micro-organismes appartenant au genre *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Trichoderma* (**Cavaglieri et al. 2004a; Cavaglieri et al. 2005; Cavaglieri et al. 2004b; Palumbo et al. 2007**).

Les interactions plante-microorganismes sont complexes et celles du bio-contrôle peuvent inclure l'antibiose, la compétition, l'induction des mécanismes de défense de la plante (**Benizri et al. 2001**). La lutte se fait principalement par des bactéries appartenant aux genres *Streptomyces*, *Bacillus*, *Agrobacterium* et *Pseudomonas* et/ou des champignons des genres *Ampelomyces*, *Candida*, *Coniothyrium* et *Trichoderma*. La majorité des études montrent que de 1 à 10% des isolats du sol peuvent avoir un certain pouvoir antagoniste *in vitro*, mais de ce nombre, très peu ont la capacité de supprimer les agents phytopathogènes dans divers sols et

conditions de croissance et encore un plus petit nombre encore est capable d'inhiber un large spectre d'espèces pathogènes (McSpadden and Fravel, 2002).

Plusieurs études ont démontré l'effet répressif de divers micro-organismes envers *G. ultimum* (Tableau 02). Deux bio-fongicides sont d'ailleurs homologués pour lutter contre les maladies de fonte des semis. Il s'agit de Mycostop (*Streptomyces griseoviridis*) et de Rootshield™ (*Trichoderma harzianum* Rifai) qui peuvent être utilisés de façon préventive pour lutter contre les maladies affectant les cultures en serre, incluant les maladies causées par *Pythium* spp (RAP, 2006).

**Tableau 02:** Les microorganismes antagonistes de *Globisporangium* sp et *Fusarium* sp

Agents pathogènes	Micro-organismes antagonistes	Plantes hôtes	Références
<i>G. ultimum</i> et <i>Fusarium</i> sp.	<i>Enterobacter cloacae</i>	Coton, Blé, Carotte, Laitue	Van Dijk et Nelson (1998), Kageyama et Nelson (2003).
	<i>Fusarium oxysporum</i>	Concombre, Betterave Concombre, Maïs, plantes forestières.	Benhamou et al. (2002), Georgakopoulos et al. (2002), Pandey et al. (2001)
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>P. putida</i>	Concombre, Betterave, Betterave.	Carisse et al. (2003), Thrane et al. (2000).
	<i>Pythium oligandrum</i> , <i>P. periplocum</i>	Concombre.	Ali-Shtayeh et Saleh (1999).
	<i>Trichoderma harzianum</i>	Concombre, Tomate.	Caron et al. (2002).

L'antagoniste doit posséder les enzymes nécessaires soient des chitinases pour briser la paroi cellulaire de la majorité des champignons ou des cellulases pour briser celle des oomycètes (Campbell, 1989). Le plus connu de tous les hyperparasites est sûrement le genre *Trichoderma* spp. Par exemple, les hyphes de *Trichoderma* s'enroulent et pénètrent les hyphes d'un microorganisme causant ainsi la lyse.

Benhamou et Chet (1997) ont démontré les mécanismes qui régissent l'interaction entre *T. harzianum* et *G. ultimum* par la microscopie électronique. Des enzymes cellulolytiques sont impliqués en partie mais les  $\beta$ -1,3 glucanases semblent être au premier plan pour l'attaque au *Pythium* sp.

Dans le cas d'un mode d'action par antibiose, l'organisme antagoniste produit des métabolites secondaires toxiques pour l'agent pathogène cible. Ces métabolites produits à faibles concentrations peuvent inhiber la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents pathogènes (Montesinos et al. 2009). L'antibiose est le mode d'action le plus étudié chez les agents de protection biologique (Jacobsen, 2006). Haas et Kell (2003) ont décrit les conditions de production optimale de ces composés *in vitro*. La production est optimale dans le cas d'une densité élevée de cellules bactériennes et dans des conditions d'une croissance limitée. Il existe de nombreux exemples de bactéries et de champignons producteurs de composés toxiques. Des substances responsables de l'antibiose ont pu être caractérisées chez des souches appartenant à diverses espèces d'agents de lutte biologique notamment *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* sp et *Pseudomonas fluorescens* et les gènes impliqués dans la production de certaines de ces substances ont été identifiés (Duffy et al. 2003; Raaijmakers et al. 2002). La production de cet antibiotique par *P. fluorescens* et *B. cepacia* est impliquée dans le contrôle de certains agents pathogènes de plantes comme *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae* et *Fusarium oxysporum* (Cartwright et al. 1995; Upadhyay and Srivastava, 2008).

Certaines souches de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Rhodobacter*, *Azospirillum* ont été décrites pour leur effet positif sur la croissance des plantes et l'augmentation du rendement de la culture (Esitken et al. 2002; Dobbelaere et al. 2003; Cakmakci et al. 2006; Lee et al. 2006; Orhan et al. 2006). Ces microorganismes peuvent favoriser la croissance des plantes hôtes par divers mécanismes tels que la fixation d'azote (N<sub>2</sub>) et la solubilisation d'oligoéléments tels que le phosphate (P) (Cakmakci et al. 2006; Orhan et al. 2006), l'inhibition de la synthèse d'éthylène par la plante, la synthèse des phytohormones ou de vitamines (Dobbelaere et al. 2003), et en diminuant la toxicité des métaux lourds (Burd et al. 1998; Whipps 2001). Renforcement de la capacité défensive de l'hôte. Certaines bactéries Gram positives telles que *Bacillus* sp. ont démontré leur capacité à stimuler des mécanismes de défense chez la plante (Kloepper et al. 2004).

### III.1.1-Le genre *Bacillus*

*Bacillus subtilis* est une bactérie vivant dans le sol à des températures modérées (5°C-65°C). Dans sa niche écologique, elle doit souvent faire face à des stress et des carences en nutriments, ce qui l'a conduit à développer diverses stratégies afin de survivre en conditions



défavorables. Elle est notamment capable de former des spores, qui lui permettent de survivre longtemps dans des conditions extrêmes telles que la dessiccation, la chaleur ou les radiations. Au cours de l'évolution, sa compétence naturelle lui a également conféré une capacité d'adaptation par recombinaison. A court terme, la bactérie est aussi capable d'affronter des situations telles que les stress osmotiques, oxydatifs, acides ou les chocs thermiques, en particulier grâce à des régulateurs globaux de réponse au stress (Coutte, 2009).

*Bacillus subtilis* appartient à la famille des bacillaceae. Comme son embranchement l'indique (Firmicutes), c'est une bactérie à gram<sup>+</sup>, elle est considérée en microbiologie comme un organisme modèle. De morphologie bacilliforme, les cellules sont rectilignes avec des extrémités carrées ou arrondies. Leur longueur varie de 2 à 10 µm et leur largeur de 0.5 à 2 µm. *B. subtilis* à catalase positive, aérobie, ou aérobie c'est une bactérie que l'on trouve habituellement dans le sol, mais surtout une espèce ubiquitaire. On la trouve aussi dans l'eau de mer, l'eau douce ou les aliments. En générale, une ciliature péritriche lui permet d'être mobile. Sa température de croissance est proche de 37°C (espèce mésophile) et elle est chimio hétérotrophe. Dans un environnement défavorable, chaque cellule végétative est capable de former une spore qui lui permet de survivre dans des conditions extrêmes. Le genre *Bacillus* appartient au **Règne**: Bactéria, **Embranchement**: Firmicutes, **Classe**: Bacilli, **Ordre**: Bacillales, **Famille**: Bacillaceae, **Genre**: Bacillus.

*Bacillus subtilis* produit par voie non ribosomique trois familles de peptides, les surfactines, les iturines et les fengycines (Bonmatin et al. 2003). Les plipastatines possèdent de très bonnes propriétés antifongiques. Comparées à la surfactine, elles présentent une activité beaucoup plus faible mais agissent en synergie avec la surfactine dans des activités de lutte contre les agents phytopathogènes (Ongena et al. 2007; Ongena et Jacque, 2008). Son large spectre antifongique et la faible toxicité *in vitro* de fengycine ou de la plipastatine permettent d'envisager leur utilisation pour la protection des semis et des récoltes. En effet, cette molécule est considérée comme responsable de l'antagonisme *in vitro* de plusieurs souches de *Bacillus* vis-à-vis de champignons phytopathogènes comme le *Fusarium* sp et *Globisporangium* sp (Jacques et al. 1999).

Les espèces du genre *Bacillus* ont un pouvoir antagoniste envers *Pythium*. Leur capacité à produire un grand nombre d'antibiotiques et de métabolites antifongiques les placées parmi les rhizobactéries les plus utilisées dans la lutte biologique (Handelsman et al.

1990; Walker et al. 1998; Lou et al. 2000; Muhammad and Amusa, 2003). Les surfactants forment une autre famille de composés toxiques. Ces lipopeptides cycliques, comme les rhamnolipides, sont capables de faire éclater les zoospores (Raaijmakers et al. 2006). *B. subtilis* a produit plusieurs types d'antibiotiques comme: Bacillomycine, bacilysine, et mycobaciline. Cette bactérie a produit aussi des enzymes qui dégradent la paroi des champignons comme la chitinase (Makoto, 2000). Certaines bactéries produisent des acides organiques qui en abaissant le pH du milieu qui empêchent la croissance de mycélium sensible au pH (Sarniguet et al. 2008). Les souches de *B. subtilis* produisent une variété de métabolites antifongiques puissants, par exemple: la zwittermycine-A, la kanosamine (Peypoux et al. 1999; Rahman et al. 2007). Des enzymes hydrolytiques ( $\beta$ -1,3-gluconase) qui peuvent dégrader les parois cellulaires fongiques (Leelasuphakul et al. 2006). Les travaux récemment ont montré un rôle de ces lipopeptides dans l'effet protecteur par une souche particulière de *B. subtilis* contre la fonte des semis des plantes provoquées par *Globisporangium ultimum* (Ongena et al. 2005).

### III.1.2-Le genre *Trichoderma*

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin. En effet, les *Trichoderma* sp. sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats. Les *Trichoderma* sp. terrestres se développent quasiment dans tous les sols (forestiers ou cultivés) et sur les végétaux en décomposition (Pivkin, 2000). La présence des *Trichoderma* sp. en milieu terrestre (6% du nombre total des espèces fongiques) semble comparable à celle en milieu marin (6,4% à 10,4%) (Landreau, 2001). L'abondance des *Trichoderma* sp. dans les écosystèmes est due à leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes. Ils sont de ce fait un maillon important dans les chaînes biologiques (Benkada, 2006).

La température optimale de croissance des *Trichoderma* est comprise entre 20°C et 28°C. Une bonne croissance est également observée pour 6°C et 32°C. Le point thermique de mortalité dans le sol est de 49°C à 55°C pendant 30 minutes. Le pH doit être compris entre 1,5 et 9, le pH optimum est de 4,5-5,5. Une longueur d'onde comprise entre 430 et 490 et/ou 320 et 380 nm favorise la sporulation (Subramanian, 1998).

Les propriétés antagonistes du *Trichoderma* ont été mentionnées pour la première fois par **Vuillemin en 1887** (cité dans **Lamy Krafft et Roquebert, 1981**). Ce n'est toutefois qu'en **1971** que **Dennis et Webster** ont pu élucider les différents mécanismes d'action de ce champignon antagoniste qui incluent principalement le mycoparasitisme (stimulation, reconnaissance, enroulement, pénétration et la lyse), l'antibiose (par l'intermédiaire de substances toxiques) et la compétition pour les nutriments et l'espace (**Dennis et Webster 1971 a, b, c**). Depuis, les recherches portant sur ce champignon se sont multipliées (**Lamy Krafft et Roquebert, 1981**). Ainsi, les champignons du genre *Trichoderma* ont été utilisés comme agents de lutte biologique contre un large spectre de pathogènes aussi bien telluriques (**Camporota, 1985; Davet, 1986; Ouazzani-Touhami et al. 1994**) que foliaires (**Hmouni et al. 1999; Mouria et al. 1997**).

La production des enzymes est variable d'une souche à l'autre principalement les xylanases ou les cellulases (**Sandgren et al. 2005**), exploités dans divers domaines biotechnologiques (**Kubicek et al. 2003**). Les métabolites volatilstelles que le 6-pentyl  $\alpha$  pyrone, éthylène, cyanure d'hydrogène, alcools, aldéhydes (**Vizscaino et al. 2005**). Les métabolites non volatils diffusibles, cas des polyacétates (antifongiques, antibiotiques), et les Trichotécènes.

Les espèces de *Trichoderma* sont capables de produire plusieurs antibiotiques, on peut citer gliotoxine, glioviridine, trichorzianine. Ces substances antibiotiques ont été utilisées dans la lutte biologique. Ces antibiotiques ont un effet germicide et un pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne des agents phytopathogènes. Ces antibiotiques peuvent provoquer aussi une distorsion des hyphes et la relargage du contenu cellulaire (**Jijakli, 2003**). La gliovirine a une activité inhibitrice vis-à-vis le *G. ultimum*. Plus récemment, les travaux de **Baker (1988)** et de **Lynch et al. (1991)** ont montré que certaines souches du *Trichoderma* semblaient exercer une action stimulatrice sur la croissance de certaines plantes. Le *Trichoderma* développe à la surface des racines, il peut améliorer la croissance des racines par leur protection contre les agressions parasitaires et efforts physiques. En effet *Trichoderma* solubilise le phosphate et les micro-éléments qui sont impliqués dans la stimulation de la croissance végétale. *Trichoderma* a un autre mécanisme antagoniste qui est l'induction de la résistance chez la plante hôte. En effet, **Lynch et al. (1991a, b)** ont étudié l'effet du *Trichoderma* sur la croissance de la laitue et son aptitude à lutter contre le *Pythiummultimum*Trow, (agent de la fonte des semis). Ils ont aussi démontré l'effet de certaines

## Matériel et Méthodes

### I- Prospections et échantillonnage

#### I.1- Présentation des sites prospectés

Notre étude a été effectuée dans quatre pépinières forestières situées dans le nord-ouest Algérien (**Figure 06; Tableau 03**). Les pépinières prospectées sont spécialisées dans la production des plantules de pin d'Alep.

##### ✓ La pépinière de Sfifef I (Safa Dahra)

Cette pépinière a été construite en 1956, elle est située dans le sud de la commune de Sfifef (wilaya de Sidi Belabbés). Elle est liée avec la route nationale n°1 à deux voies (Sidi Belabbés -Bouhanifia) et la route principale n°7 (Sidi Belabbés-Mascara). Elle est située entre 35°14' 31.65'' N de latitudes et 0°13'56.38'' W de longitude.

##### ✓ La pépinière de Sfifef III (Safa Dahra)

Cette pépinière a été établie en 1963, sur la route de M'cid dans la commune de Sfifef, qui est située à 30 kilomètres de la wilaya de Sidi Belabbés. À 450m d'altitude, elle est située entre 35°14' 17.21'' N de latitudes et 0° 14' 46.49'' W de longitude. La pépinière s'étend sur une superficie totale de 3.5 ha, dont 2.5 ha constituent la superficie utilisable agricole pour la production des forestiers de plantes tels que l'eucalyptus, l'acacia, cyprès commun, le casuarina, le Triplex, pin d'Alep, le pin pignon, et le thuya. 0.75ha de cette surface a été employé pour la culture ornementale. La pépinière se trouve dans un étage bioclimatique semi-aride. Les semences de pin d'Alep utilisées au cours de l'élevage sont proviennent des forêts de Sidi Belabbés.

##### ✓ La pépinière de Matmar Relizane (Safa Dahra)

La pépinière d'EL Matmar se trouve au niveau de la commune d'EL Matmar wilaya de Relizane. Cette pépinière a été créée en 1946, elle se situe dans le nord-ouest à 70m d'altitude et en bordure de la route nationale N°04 Alger-Oran à 2 kilomètres du siège de la commune d'EL Matmar. La pépinière s'étend sur une superficie de 49.50 hectares, ou 42ha a été utilisée pour la production des plantes forestiers, fruitiers, fourragers et les cultures ornementaux. La nature du sol est argilo-limoneuse. Les semences de pin d'Alep utilisées au cours de l'élevage sont proviennent des forêts d'EL Matmar.

##### ✓ La pépinière d'El Hartoun de Tlemcen

Cette pépinière se situe dans le sud-est de la ville de Tlemcen et fut créée en 1933 par l'administration française. Son élargissement a été effectué le 17/01/1984 sur une superficie de 45000 m<sup>2</sup> son altitude va de 821.5m à 825.6m. Les précipitations annuelles sont de 469 mm/an. Les périodes les plus chaudes sont au cours de mois juin, juillet et août avec une

température maximale de 33.8°C en moyenne. Le mois de décembre est le plus rigoureux avec une température minimale de 4.8°C en moyenne. Cette pépinière est située dans l'étage bioclimatique subhumide tempéré. Les semences de pin d'Alep utilisées au cours de l'élevage sont fournies par la conservation des forêts de Tlemcen.



Figure 06: Localisation géographique des quatre pépinières forestières prospectées.

Tableau 03: Localisation et conditions climatiques des pépinières prospectées.

Wilaya	Localisation Coordonnés (° ' ")		Cond Temp. (°C)			Pluviométrie (mm)	Direction des vents (km/h)	gelée (jours)
	Latitude	Longitude	max	opt	min			
Relizane (Safa dahra, Relizane)	35° 43' 10.84" N	0° 28' 57.97" W	40	22	4	350	O-E	15
Sfisef 1 (Safa dahra, Sidi Belabess)	35° 14' 17.21" N	0° 14' 46.49" W	40	18	0	350	O-E	25
Sfisef 3 (Safa dahra, Sidi Belabess)	35° 14' 31.65" N	0° 13' 56.38" W	40	18	0	350	O-E	25
Tlemcen (Jardin El Hartoun, Tlemcen)	34° 52' 35.95" N	1° 18' 15.27" W	34	18	4	469	O-E	45

## **I.2- Prospections**

Pendant la campagne agricole 2009-2010 et dans le but d'évaluer l'importance de la fonte de semis de pin d'Alep, nous avons examiné visuellement les plantules malades. Une plantule est considérée malade lorsqu'elle présente des symptômes typiques de la fonte de semis. La fonte de semis en pré-émergence, correspond à un manque à la levée, par contre, la fonte en post-émergence correspond à l'aboutissement d'une attaque du collet et/ou des racines de la plantule.

L'altération de la partie hypogée de la plantule provoque son affaissement comme si elle était cisailée au niveau du sol.

## **I.3- Méthodes d'échantillonnage**

Au niveau de chaque pépinière, cinq banquettes de pin d'Alep ont été sélectionnées. Ces banquettes ont été visitées depuis le 26 décembre 2009 jusqu'au le 20 Mars 2010 (stade de pré et post émergence). L'estimation de l'importance de la fonte de semis a été effectuée en zigzag où nous avons divisé chaque banquette de 12 m de long en trois rectangles. Au cours des prospections, des échantillons malades ont été prélevés pour être analysés au laboratoire. Ils sont introduits dans des sachets de Kraft et conservés à 4°C.

## **I.4- Milieux de culture utilisés**

Suivant les besoins expérimentaux, divers types de milieux de culture sont mis en œuvre. La composition des milieux de culture utilisés est indiquée dans l'annexe 1.

### **I.4.1- Milieux d'isolement, de purification et d'identification de champignons**

Le milieu PDA (Potatos Dextrose Agar) et le milieu CMA (Corn Meal Agar) ont été utilisés pour l'isolement et la purification des espèces de *Fusarium* sp et *Globisporangium* sp respectivement. Les milieux KCL et SNA (Synthetischer Nährstoffärmer Agar) ont été utilisés pour la purification et l'identification des isolats de *Fusarium* sp.

### **I.4.2- Milieux de caractérisation morphologique et biologique**

Les milieux PDA, KCL et SNA ont été utilisés pour la détermination des morphotypes, la pigmentation et la vitesse de croissance mycélienne de l'ensemble des isolats de *Fusarium* sp. Le milieu PCA (Potato Carrot Agar) a été utilisé pour caractériser les isolats de *Globisporangium* sp.

### **I.4.3- Milieux de conservation**

Les milieux Komada (komada, 1978) et le milieu PDA ont été utilisées pour conserver les isolats de *Fusarium* sp. Par contre les isolats de *Globisporangium* sp ont été conservés dans le milieu de CMA.

## I.5- Méthodes d'isolement et purification des champignons

### I.5.1- L'isolement à partir du sol des pépinières prospectées

A partir de la rhizosphère des plantules de pin d'Alep malades, nous avons effectués des isolements basés sur la technique de suspensions-dilutions. Cette technique consiste à mettre 1g de sol rhizosphérique, après un séchage à une température ambiante pendant quelques jours, dans 10 ml d'eau distillée stérile où la suspension est récupérée après agitation pendant 15 min. On procède ensuite aux dilutions décimales:  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-5}$  dans l'eau distillée stérile. Un (1) ml de chaque dilution est étalé sur le milieu de culture PDA en boîte de Pétri (**Rapilly, 1968**). L'incubation des boîtes se fait à 25°C pendant 24 à 48 heures. La détermination de la charge fongique est déterminée par le comptage des colonies et les résultats obtenus sont exprimés en UFC (Unités Formant Colonies) / g de sol selon la formule

$$\text{suivante : } N = \frac{\sum \text{colonies}}{V_{ml} \times (n1 + 0.1n2) \times d1}$$

N : Nombre d'UFC par gramme ou par mL;

$\sum$  Colonies : Somme des colonies des boîtes interprétables;

$V_{ml}$ : volume de solution déposée (1ml);

n1: nombre de boîtes considéré à la première dilution retenue;

n2 : nombre de boîte considéré à la seconde dilution retenue;

D1 : facteur de la première dilution retenue.

### I.5.2- Analyse de la mycoflore associée aux semences de pin d'Alep

#### I.5.3- Méthode de stratification des graines

Les graines ont été désinfectées par agitation dans une solution de NaOCl à 2% avec un agitateur magnétique à 120 t/mn pendant 25 minutes puis rincées quatre fois avec de l'eau distillée stérile et séchées entre deux papiers filtre stérile. Les graines sont mise dans des boîtes de Pétri en verre stériles de 18 cm de Ø contenant un papier filtre stérile humidifiée puis incubées à 25°C pendant 3 semaines (**Ocamb et al. 2002**).

#### I.5.4- Méthode du blotter test

Les graines de pin d'Alep sont désinfectées avec l'hypochlorite de sodium à 3% pendant 3 min puis rincées trois fois dans l'eau distillée stérilise. Quinze (15) graines ont été placées dans des boîtes de Petri de 9 cm de diamètre contenant trois disques de papiers filtre stériles imbibés d'eau distillée stérile. Les boîtes sont ensuite incubées à 25°C pendant 15 jours (**Anon, 1996**). Les champignons qui se développent sur des graines sont observés au

microscope photonique et identifiés à l'aide des clés suivantes : **Booth, (1971) ; Ellis, (1976) ; Le Nelson et al. (1983) et Sutton, (1982)**. L'identification des isolats a été basée sur la description des organes fongiques: macroconidies, microconidies, chlamydozoïdes, sporodochie et les phialides. La fréquence des espèces fongiques identifiées a été calculée par ailleurs.

$$\text{Fréquence d'apparitions} = \frac{\text{Nbre.des espèces apparus}}{\text{Nbre.totale des champignons apparus}} \times 100 \quad (\text{Rapilly, 1968}).$$

#### **I.5.5- Méthode d'Agar test**

Les semences désinfectées au préalable sont déposées dans des boîtes de Pétri qui contiennent le milieu de culture PDA, à raison de 6 à 10 graines par boîte de Pétri. Les boîtes préparées sont incubées à 25°C pendant 7 jours.

#### **I.6- Isolement de champignons à partir des plantules infectées**

Des plantules de pin d'Alep présentant une altération de la partie hypogée et épigée ont été lavées sous l'eau courante pour enlever le sol puis découpées en petites fragments de 5 mm. Les sections de collets et de racines ont été désinfectées par une solution d'hypochlorite de sodium à 3% pendant une minute. Les segments désinfectés ont été ensuite rincés deux fois avec de l'eau distillée puis séchés par le papier filtre stérile. Les fragments ont été placés sur deux milieux de culture : le milieu CMA et le milieu PDA.

Le milieu CMA a été modifié par l'addition de la pénicilline (250 mg L<sup>-1</sup>) et la rifampicine (10 mg L<sup>-1</sup>) a été utilisée pour l'isolement sélectif de *Globisporangium*. Les boîtes préparées sont couvertes par le papier d'aluminium afin d'éviter l'effet de la lumière sur les antibiotiques ajoutés au milieu (**Morita and Tojo, 2007, Senda et al. 2009**).

Le milieu PDA a été utilisé en tant que milieu non sélectif pour les autres agents pathogènes. Les boîtes ont été incubées à 25°C pendant 48h et les colonies apparues sont repiquées à partir de la marge de la colonie en croissance dans des boîtes de Petri contenant le milieu PDA. Les isolats avec des caractères typiques des Oomycètes, hyphes coenocytique, ont été transférés sur le milieu CMA (**El Androusse et al. 2006; Kirk et al. 2008**). La fréquence de l'occurrence des espèces isolées a été calculée selon l'équation suivante:

$$\text{Fréquence \%} = \frac{\text{Nbre.Des espèces de champignon apparus}}{\text{Nbre.Totale des champignons}} \times 100 \quad (\text{Rapilly, 1968}).$$

#### **I.6.1- Obtention des cultures monospore de *Globisporangium* sp et *Fusarium* sp**

Le but de la culture monospore est d'obtenir un matériel fongique génétiquement homogène (**Booth, 1971**). Nous avons gratté des colonies des isolats de *Globisporangium* sp



et *Fusarium* sp âgées de 15 jours dans de l'eau distillée stérile. Les suspensions obtenues sont agitées pendant 10 min puis filtrées par l'utilisation d'une mousseline stérile. Le filtrat obtenu a été ajusté à une concentration très faible avec l'ajout d'eau distillée stérile. Une goutte de la suspension contenant généralement 2 à 5 oospore/ml pour le *Globisporangium* et de 2 à 5 microconidie/ml pour les autres isolats de *Fusarium* par l'utilisation de la cellule de Malassez est déposée et étalée à la surface des boîtes de Pétri contenant de CMA ou PDA respectivement.

Les boîtes préparées sont incubées à 25°C pendant 24h. La germination issue d'une microconidie uniforme ou d'oospore sont d'abord repérées à l'aide d'une loupe binoculaire puis prélevées aseptiquement et déposées séparément dans des boîtes contenant le milieu PDA ou CMA selon le cas. Les boîtes sont incubées à 25°C pendant une semaine.

## **I.6.2- Identification des agents pathogènes**

### **I.6.2.1- Étude morphologique**

L'identification des isolats de *Globisporangium* est basée, dans un premier temps, sur une étude macroscopique des caractères culturels sur milieu solide (aspect avers et revers des cultures) et dans une seconde étape, une étude microscopique des caractères morphologiques des organes de reproduction sexuée et asexuée et du type de mycélium (**Plaats-Niterink, 1981**). Les caractéristiques des colonies des isolats de *Fusarium* sp ont été observées sur le milieu PDA après 7 jours d'incubation. Les pigmentations des cultures, l'aspect de la surface, le caractère de la marge, le type de mycélium en utilisant le Manuel de Methuen (**Kornerup et Wanscher, 1978**).

### **I.6.2.2- Caractérisation morphologique et biométrique des isolats obtenus**

L'identification des Oomycètes est essentiellement basée sur la caractérisation des organes de reproduction asexués et sexués (**Plaats-Niterink, 1981; Fuller et Jaworski, 1987; Johnson et al. 2002**). L'obtention de ces dernières nécessite la présence de l'eau, indispensable pour la production des sporocystes et la libération des zoospores. Pour cela, nous avons utilisé la technique de la culture dans l'eau avec l'appât des feuilles de ray gras (*Lolium* sp.) désinfectées.

### **I.6.2.3- Culture dans l'eau**

A partir d'une colonie âgée de trois jours une bouture de 4mm est prélevée, au niveau du front de croissance du thalle. Cette dernière est mise dans une boîte de Pétri stérile contenant 10 ml d'eau distillée stérile, les boîtes sont ensuite incubées à 25°C.

Les feuilles de ray gras colonisées par le mycélium sont placées entre lames et lamelle, dans une goutte de lacto-phénol, puis observés au microscopique photonique. Les structures de reproduction asexuée et sexuée sont mesurées et dessinées dans une chambre claire. Vingt mesures pour chacune des structures considérées ont été réalisées.

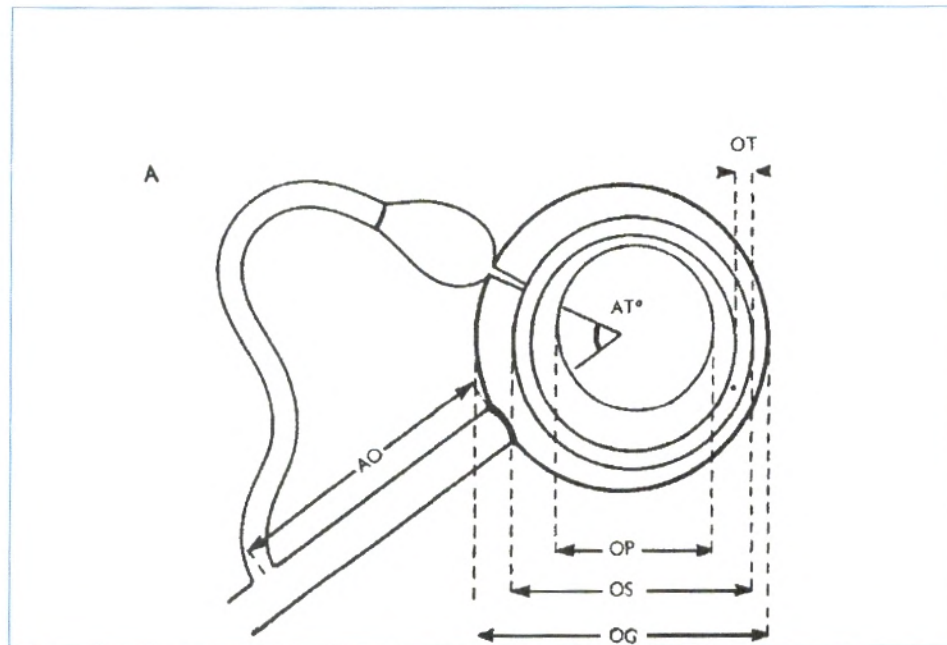
L'identification des isolats obtenus a été effectuée à l'aide des clés de détermination des Oomycetes: **Plaats-Niterink (1981), Dick (1990), Khulbe (2001) et Johnson et al. (2002)**. Ces clés reposent sur l'examen des caractères morphologiques des structures asexuées et sexuées. Les éléments à étudier concernant la reproduction asexuée, sont notamment, le type, la forme et les dimensions des sporocystes et le diamètre des zoospores enkystées. La reproduction sexuée, quant à elle, est basée sur: la position des oogones sur le mycélium; le diamètre des oogones; le type des parois des oogones; le diamètre et le type des oospores; l'épaisseur de la paroi des oospores (pour le genre *Globisporangium*); le nombre des anthéridies par oogone et le point d'origine de l'anthéridie par rapport à l'oogone. L'indice Aplerotique, l'indice d'Ooplast, et l'indice de l'épaisseur de la paroi (**Photo 07**) sont calculés par l'utilisation des formules suivantes (**Plaats-Niterink 1981, Dick 1990**):

Os= diamètres de l'Oospores, Og= diamètres de l'Oogone, Op= diamètres de l'Ooplast, Ot= l'épaisseur de la paroi.

$$\text{Indice Aplerotique \%} = 100 \left\{ \frac{\sum \frac{\left(\frac{Op_1}{2}\right)^3}{\left(\frac{Os_1}{2} - Ot_1\right)^3} \dots \frac{\left(\frac{Op_{20}}{2}\right)^3}{\left(\frac{Os_{20}}{2} - Ot_{20}\right)^3}}{20} \right\}$$

$$\text{Indice de paroi \%} = 100 \left[ 1 - \left\{ \frac{\sum \frac{\left(\frac{Os_1}{2} - Ot_1\right)^3}{\left(\frac{Os_1}{2}\right)^3} \dots \frac{\left(\frac{Os_{20}}{2} - Ot_{20}\right)^3}{\left(\frac{Os_{20}}{2}\right)^3}}{20} \right\} \right]$$

$$\text{Indice d'ooplast \%} = 100 \left\{ \frac{\sum \frac{\left(\frac{Os_1}{2}\right)^3}{\left(\frac{Og_1}{2}\right)^3} \dots \frac{\left(\frac{Os_{20}}{2}\right)^3}{\left(\frac{Og_{20}}{2}\right)^3}}{20} \right\}$$



**Figure 07:** La position d'anthéridie, Oogone et Oospore

### **I.7- Caractérisation morphologique et biométrique des isolats du genre *Fusarium***

Les isolats de *Fusarium* sp. ont été cultivés sur les milieux SNA et KCI (Nirenberg, 1990) qui sont des milieux spécifiques favorisant la formation de différents types de spores de *Fusarium* sp. Des préparations microscopiques ont été réalisées par la mise des fragments mycéliens, de chaque isolat, dans une goutte de lacto-phénol puis les lames sont examinées au microscope photonique doté de chambre claire. L'identification des isolats a été basée sur la description des organes fongiques: macroconidies, microconides, chlamydospores, sporodochie et les phialides. Les observations microscopiques et les mensurations ont été notées sur 35-40 conidies/ isolat.

Le microscope Olympus BX51 avec une chambre claire a été utilisé pour examiner les caractéristiques morphologiques des espèces fongiques isolées.

#### **I.7.1- Conservation des isolats de *Fusarium* sp sur gélose inclinée**

La méthode consiste à repiquer l'isolat purifié en tube sur le PDA ou Komada incliné, les cultures sont maintenues à 25°C pendant une semaine puis conservées à 4°C pour favoriser leur viabilité.

#### **I.7.2- Conservation des isolats de *Globisporangium* sp**

La conservation des oomycètes est très difficile. Ces microorganismes à l'opposé des autres microorganismes, champignons, levures, bactéries et actinomycètes, ne donnent pas de

bons résultats avec les méthodes usuelles de conservation (Nagai et al. 2005). Pour remédier à ce problème, nous avons conservés les isolats sur milieu solide. Chaque isolat est repiqué sur le milieu CMA. Lorsque la boîte est entièrement colonisée; elle est scellée et conservée à 4°C. Les cultures ainsi conservées ne doivent pas dépasser un mois, au-delà du quelle le mycélium meurt.

## **I.8- Analyse moléculaire des isolats du genre *Globisporangium* et *Fusarium***

### **I.8.1- Matériel biologique**

Afin d'évaluer la pureté des cultures de *Fusarium*, nos isolats sont cultivés sur le milieu KCl. Des boutures de chaque isolat ont été transférées sur le milieu PDA puis elles sont incubées à 25°C pendant 7 jours. Les isolats de *Globisporangium* ont été répliqués sur le milieu CMA, par la suite les boîtes sont incubées à 25°C pendant 5 jours.

### **I.8.2- Extraction de l'ADN**

L'extraction de l'ADN fongique a été réalisée au laboratoire de Biologie et Géologie à l'Université d'Almeria (Espagne) selon le protocole de Lee et Taylor (1990) modifié. Nous avons suivi les étapes suivantes, dans l'ordre :

- Le mycélium est récupéré aseptiquement dans des tubes Eppendorf de 1.5 ml puis broyé avec une micro pastille dans l'azote liquide;
- 600 µl du tampon de lyse FG1 et 5 µl de RNase ont été ajoutés, après agitation, les tubes ont été incubés à 65°C pendant 10 min dans un bain marie (termostatizado Ovan model BS127E);
- 140 µl du tampon FG2 ont été ajoutés à chaque tube puis ils ont été agités afin de mélanger le contenu;
- Incubation des tubes à 5°C pendant 5 min puis centrifuger avec une centrifugeuse SIGMA 2-16 pendant 10 min à 10.000×g;
- 600 µl du surnageant ont été transférés dans un nouveau tube d'Eppendorf. Avant l'utilisation du tampon FG3; 275 µl de ce dernier ont été mélangé avec 550µl d'éthanol absolu, la solution a été mélangé pour être homogène;
- 800µl de mélange ont été transférés dans un tube HiBind® ADN (contient des filtres) assemblée des tubes de la collection de 2 ml puis centrifugée à 10.000×g pendant une minute et les débris sont récupérés dans un tube de collection pour être réutiliser dans l'étape suivante;
- Le reste du mélange est transféré dans un nouveau tube qui sera centrifugé à nouveau à 10.000×g pendant une minute;

- Après centrifugation le tube de collection est jeté et la colonne a été placée dans un nouveau tube de 2 ml;
- 750 µl du tampon de lavage ont été ajoutés et les tubes sont centrifugés à 10.000×g pendant une minute;
- L'étape de lavage a été répétée une fois, après la centrifugation nous avons éliminé le précipitât et la colonne a été transféré dans un nouveau tube d'Eppendorf de 1.5ml;
- Séchage des tubes par centrifugation;
- 100 µl du tampon de dilution d'ADN ont été ajoutés et les tubes sont incubés à la température ambiante pendant une minute puis centrifugés à 10.000×g pendant une minute.
- Les tubes d'Eppendorf contenant l'ADN sont bien fermés avec le Parafilm et conservés à 4-5°C.

### **I.8.3- Production de L'ADNr**

#### **I.8.3.1- Le processus du PCR**

L'amplification du l'ADN par le processus PCR a été effectuée au niveau du laboratoire d'Analyses des Acides Nucléiques à l'Université d'Almeria. Le fragment d'ADN à répliquer correspond à l'ADN ribosomique (ADNr), il s'agit d'un ensemble de gènes qui codifient l'ARN ribosomique (ARNr). Ils sont situés dans une région génomique individuelle composée de 100 à 150 pb en tandem d'une taille de 9 kb (**White et al. 1990; Kurtzman, 1992**). Les gènes codant les ARN ribosomiques (ADNr), sont les régions les plus utilisées dans les études phylogénétiques et taxonomiques (**Rivierre et al. 2005**). Les séquences sont organisées en unités répétées en tandem des gènes codant l'ARNr 18S, l'ARNr 5.8S et l'ARNr 28S. Le protocole adopté concernant le processus de PCR, pour une réaction d'amplification dans un volume réactionnel de 25 µl par échantillon, est indiqué dans le tableau 04 ci-dessous.

**Tableau 04 :** Protocole réactionnel pour le processus de PCR.

Addition dans l'ordre	Mélange D'amplification	Volume (µl)	Concentration finale
1	ADN	5	--
2	Tampon green Gotaq	5	5X
3	MgCl	1.5	25mM
4	DNTPs	0.64	10 mM
5	Taq polymerase	0.2	5 unite/1 µl
6	Amorce universel ITS1	3	2 µM
7	(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') Amorce universel ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')	3	2 µM
8	Eau distillée stérile	6.66	

La réaction d'amplification a été réalisée dans un Thermocycleur GeneAmp® System 9700.

Les cycles d'amplification choisis comportent 3 phases:

- 1 cycle à 94°C pendant 5 minutes.
- 35 cycles de dénaturation à 95°C pendant 30 Sec, à 50°C pendant une minute et à 72°C pendant une minute.
- 1 cycle à 72°C pendant 7 minutes puis laissée indéfiniment à 4°C.

### I.8.3.2- Vérification du produit de PCR par l'électrophorèse

La quantité et la qualité de l'ADN ont été vérifiées par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1% (annexe 2) dans une solution tampon + TAE 1X, préparée à partir de TAE 50X (annexe 2).

À partir du produit de PCR nous avons préparé nos échantillons pour l'électrophorèse. Chaque échantillon contient 3 µl d'ADN du produit de PCR, 2 µl (TC), 5µl de tampon tris (TE) et 0.05 µl de bromure d'ethidium (BrEt). Pour comparer la taille d'ADNr de nos échantillons nous avons utilisé un marqueur moléculaire de 250 à 10.000 (pb) Euro Lone modèle EMR812050 SHARPMASST<sup>TM</sup> 1. Nous avons effectué un mélange (annexe 2) avec les réactifs cités précédemment. Dans un tube d'Eppendorf, nous avons ajouté 7.06 µl de mélange, 3 µl d'ADN et 2 µl TE. Dans un autre tube d'Eppendorf nous avons ajouté 7.06 µl de pré mixe, 2.5 µl de ladder et 2.5 µl de TE. La séparation électrophorétique s'effectue dans tampon 1 x TAE (annexe 2). Les fragments d'ADN seront séparés suivant leur taille. Par la

suite, le gel d'agarose est plongé dans une solution de bromure d'éthidium (0.5 µg/ml dans 1×TAE). Le processus d'électrophorèse a été alimenté avec un générateur de 75 volts pendant 30 minutes. Le gel d'agarose a été visualisé sous une lumière UV générée par un transilluminateur UV SPECTROLINE.

La prise des photos des fragments d'ADN sur le gel a été réalisée par une caméra numérique à 10 Mega-pixel Canon modèle Powershot A640 Alpha Innotech.

#### **I.8.4- Purification de l'ADN**

La purification de l'ADN consiste à l'utilisation d'un tampon commercial Qiagen modèle QIAquick (PCR Purification Kit (50) Cat. no. 28104). La méthode de purification consiste à introduire, dans un tube, 23 µl du produit de PCR, préparé précédemment et en ajoutant 110 µl de tampon PB (Annexe 2), après centrifugation, à 17900 G pendant 01 minute, l'ADN est récupéré par le filtre de la colonne. Ensuite, 750 µl de tampon PE (Annexe 2) sont ajoutés et centrifugés deux fois à 17900 G pendant 01 minute. La colonne à filtre précédente a été déposée dans un nouveau tube d'Eppendorf puis 50 µl d'eau distillée stérile ont été ajoutés. Les tubes ont été centrifugés à 17900 G pendant une minute. Après centrifugation, l'ADN est purifié puis filtrer dans des tubes d'Eppendorf. Les tubes sont bien fermés avec la Parafilm et conservé à -20°C.

#### **I.8.5- Séquençage des nucléotides**

Le séquençage des nucléotides a été effectué en utilisant la méthode de Dideoxy et le tampon commercial Big Dye® Terminator V 3.1 (Applied Biosystems). Des fragments de produit de PCR entre 5-50 ng ont été analysés en utilisant l'équipement ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

#### **I.8.6- Comparaison des séquences de nos isolats avec les séquences de la base de données de la banque de gènes (identification moléculaire des isolats)**

Le séquençage des nucléotides de nos isolats nous a permis de les comparés avec la base de données des séquences génétiques (NCBI GenBank). Pour visualiser et copier les séquences de nucléotides nous avons utilisé le programme informatique Chromas Lite 2.01. Pour l'alignement et la comparaison des différentes séquences, nous avons utilisé le programme Clustalx 2.0.10. et le logiciel ALIGN. Les deux logiciels nous ont permis de faire l'analyse comparative (% d'homologie) entre deux séquences, et CLUSTAL W nous a permis de faire l'alignement multiple pour comparer les séquences de plusieurs espèces. Deux types d'alignements sont très souvent utilisés: les alignements multiples et les

recherches d'homologie. Les alignements multiples permettent de réaliser un alignement entre plusieurs données par l'utilisateur.

Cet alignement peut alors donner divers renseignements lors de la comparaison directe des séquences. Différents programmes existent, un programme est cependant communément utilisé: le programme Clustal W, réalise l'alignement par plusieurs étapes en faisant varier les matrices de substitution (Thompson et al. 1994). Les recherches d'homologies ont pour but d'identifier dans une banque de séquences, les séquences présentant le plus d'homologie avec la séquence recherché. Différents algorithmes existent, l'algorithme BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) étant majoritairement utilisé dans le programme du même nom, BLAST (Altschul et al. 1997).

## II. Effet des facteurs physiques

### II.1- Effet de milieux de culture sur la croissance mycélienne des isolats des genres

#### *Globisporangium et Fusarium*

Un explant de 8 mm, prélevé à partir d'une culture jeune de *Globisporangium* sp. ou *Fusarium* sp. est déposé au centre d'une boîte de Pétri de 9 cm de diamètre contenant un milieu de culture. Les cultures préparées en triplicata sont incubées à 25°C et la croissance mycélienne est suivie pendant une période de 2 à 6 jours, selon la vitesse de développement des espèces cultivées.

Les milieux CMA et PCA ont été utilisés pour les isolats de *Globisporangium* (Plaats-Niterink, 1981) et les milieux KCL, SNA et PDA ont été utilisés pour les isolats de *Fusarium* (Leslie et Summerell, 2006),

### II.1- Effet de la température et de pH sur la croissance mycélienne de *Globisporangium*

#### II.1.1- Effet de la température

L'effet de la température sur la croissance mycélienne des isolats de *Globisporangium* et *Fusarium* a été étudié sur le milieu de CMA et PDA respectivement dans une gamme de températures: 5, 15, 25 et 30°C où le milieu utilisé à un pH neutre avec trois répétitions pour chaque isolats.

#### II.1.2- Effet de pH

Dans le but de trouver le pH optimal pour la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* et *Globisporangium*, nous avonsensemencé nos isolats sur le milieu CMA et PDA respectivement à un pH variable: 4.5, 6.5 et 8.5. Le pH des milieux CMA et PDA a été ajusté par d'acide chlorhydrique titrée à 1N. Chaque pH est contrôlé à l'aide d'un pH-mètre pour



une éventuelle correction. Après l'autoclavage, les milieux de culture tamponnés sont coulés dans des boîtes de Pétri etensemencées avec un explant de 8 mm de chaque isolat puis déposé au centre d'une boîte de Pétri et incubé à 25°C. Pour chaque cas, trois répétitions ont été préparées.

### II.1.3- Mesure de la croissance mycélienne

Après six jours d'incubation, la croissance mycélienne a été évaluée par la mesure de deux diamètres perpendiculaires de chaque colonie. L'accroissement moyen a été déduit par soustraction du diamètre du disque initiale (8 mm) à valeur relevée.

$$L = \frac{D - d}{2}$$

**L:** croissance mycélienne

**D:** diamètre de la colonie

**d:** diamètre de l'explant

### II.1.4- Mesure de la sporulation

Une colonie incubée à 25°C et âgée d'une semaine d'un isolat de *Fusarium* développé sur le milieu de PDA a été grattée dans 10 ml de l'eau distillée stérile. Les tubes sont bien agités à l'aide d'un agitateur magnétique afin de détacher les conidies. La suspension ainsi obtenue est filtrée à travers un papier filtre sur papier filtre stérile afin d'éliminer les fragments mycéliens. Le comptage du nombre total de spores est effectué à l'aide d'une cellule de Malassez. Le nombre moyen de spores par unité de volume (ml) est calculé (**Badoc et al. 2002**).

La sporulation des isolats de *Globisporangium* a été menée par la même méthode et les résultats sont exprimés par oospores/ml.

### II.1.5- Étude de la germination

La technique de la culture sur lame permet de cultiver le champignon en micro-culture entre lame et lamelle, une goutte de milieu de culture PDA est étalée sur une lame stérile puisensemencée par 0.2 ml de la suspension sporale de 10<sup>6</sup>ml/conidies de chaque isolat. La lame est ensuite recouverte par une lamelle et déposée sur un support en verre en forme de V placée dans une boîte de Pétri contenant un disque de papier filtre imbibé d'eau distillée stérile. Les boîtes ainsiensemencées sont incubées à 25°C pendant 24h puis les observations microscopiques ont été effectuées (**Rapilly, 1968**)

### III. Étude du pouvoir pathogène

#### III.1- Matériel végétal

Les graines stratifiées de *P. halepensis* utilisées pour cette étude sont originaires de la pépinière de Sfifef III.

#### III.2- Matériel fongique

Vingt et un (21) isolats du genre *Fusarium* et dix-sept (17) isolats de *Globisporangium* isolés à partir des plantules malade de pin d'Alep, identifiés morphologiquement, ont été utilisés pour tester leur pouvoir pathogène vis-à-vis les graines et plantules de pin d'Alep.

**Tableau 05:** Isolats de *Fusarium* sp obtenues à partir des tissus de plantules de pin d'Alep infectés.

N° Isolat	Le code d'isolats	Location des pépinières	Tissus isolation	Date de prélèvement
1	F12SS1	Sfifef (safa dahra)/P1	Collet	09-03-2009
2	F14SS3	Sfifef (safa dahra)/P3	Collet	20-03-2009
3	F30SS3	Sfifef (safa dahra)/P3	Collet	20-03-2009
4	F25RS3	Relizane (safa dahra)	Collet	20-03-2009
5	F12RR	Relizane (safa dahra)	Racine	20-12-2009
6	F4SRS1	Relizane (safa dahra)	Collet	09-03-2009
7	F3RS1	Sfifef (safa dahra)/P1	Racine	20-03-2009
8	F19RS1	Sfifef (safa dahra)/P1	Racine	22-09-2009
9	F16RS3	Sfifef (safa dahra)/ P3	Collet	09-03-2009
10	F3PRT	Tlemcen (El Hartoun )	Racine	10-02-2010
11	F55RS1	Sfifef (safa dahra) /P1	Collet	22-02-2009
12	F5RS3	Sfifef(safa dahra)/ P3	Racine	26-12-2009
13	F8RS3	Sfifef(safa dahra) /P3	Racine	26-12-2009
14	F09SS1	Sfifef (safa dahra) /P1	Collet	26-12-2009
15	F91SR	Relizane (safa dahra)	Collet	20-12-2009
16	F6RS3	Sfifef (safa dahra) /P3	Racine	26-12-2009
17	F20ST	Tlemcen (El Hartoun)	Collet	10-02-2010
18	F12RT	Tlemcen (El Hartoun)	Racine	10-02-2010
19	F2RR	Relizane (safa dahra)	Racine	20-12-2009
20	F44SS3	Sfifef (safa dahra) /P3	Collet	26-12-2009
21	F39SS3	Sfifef (safa dahra) /P3	Collet	26-12-2009

**Tableau 06:** Isolats de *Globisporangium* obtenus à partir des tissus de plantules de pin d'Alep infectés.

N° d'Isolat	Les codes des isolats	Location des pépinières	Tissus	Date de prélèvement
1	U3CR	Relizane (safa dahra)	Collet	25-12-2008
2	U7CR	Relizane (safa dahra)	Collet	20-12-2008
3	U15RS	Sfifef (safa dahra)/P1	Racine	22-09-2009
4	U6RR	Relizane (safa dahra)	Racine	20-12-2008
5	U8CR	Relizane (safa dahra)	Collet	15-02-2009
6	U6CR	Relizane (safa dahra)	Collet	15-02-2009
7	U1RT	Tlemcen (El Hartoun)	Racine	10-02-2009
8	U5RT	Tlemcen (El Hartoun)	Racine	10-02-2009
9	U2CR	Relizane (safa dahra)	Collet	15-03-2009
10	U2RR	Relizane (safa dahra)	Racine	15-02-2010
11	U4CR	Relizane (safa dahra)	Collet	15-03-2009
12	U12RT	Tlemcen (El Hartoun)	Racine	15-03-2009
13	U14CR	Relizane (safa dahra)	Collet	20-12-2009
14	U7RT	Tlemcen (El Hartoun)	Racine	10-02-2009
15	U17RT	Tlemcen (El Hartoun)	Collet	25-02-2010
16	U35RS	Sfifef (safa dahra)/ P3	Racine	26-12-2009
17	U16RS	Sfifef (safa dahra)/P3	Racine	09-03-2009

P1 : pépinière numéro 1, P3 : pépinière numéro 3.

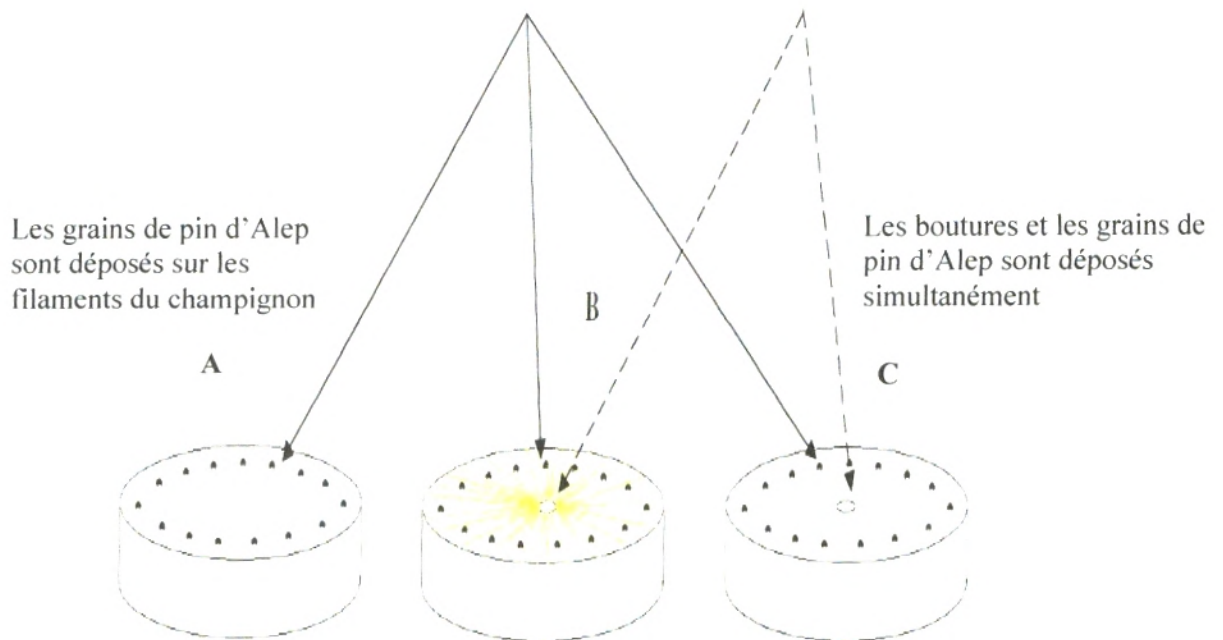
### III.3- Contamination en pré émergence

Chaque isolat de *Fusarium* a été développé sur le milieu PDA et les isolats de *Globisporangium* sont cultivés sur le milieu CMA pendant 4 jours ensuite dix graines de pin d'Alep stratifiées ont été placées sur chaque colonie. Les boîtes de Petri préparées ont été incubées à 25°C. Pour chaque isolat, trois répétitions ont été préparées (**Figure 08**) (EL Androusse, 2006, Zehhar et al. 2006).

### III.4- Contamination en post émergence

Chaque isolat de *Fusarium* et de *Globisporangium* a été ensemencé sur le milieu PDA ou CMA, respectivement pendant 4 jours. Des fragments mycéliens de 3 mm ont été transférés aux centres de chaque boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre contenant le milieu PDA ou CMA

respectivement. Dix graines stratifiées ont été placées au bord de chaque colonie avec trois répétitions. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 25°C. Pour les témoins, les graines stratifiées sont placées sur PDA et milieu CMA dans les mêmes conditions d'incubation que précédemment. L'agressivité des isolats de *Fusarium* et *Globisporangium* a été estimée par le pourcentage d'inhibition de la germination et du développement des racines (EL Androuse, 2006; Kirk, 2008 ; Zehhar et al. 2006).



**Figure 08:** Inoculation des semences de pin d'Alep *in vitro*. (A) Témoin; (B) Contamination en pré-levée; (C) Contamination en post-levée (EL Androuse, 2006).

### III.5- Lecture des résultats

#### III.5.1- Pourcentage d'inhibition de la germination des graines

Les boîtes de Pétri sont examinées après 7 jours d'incubation. Le nombre de graines ayant germé est noté et le pourcentage de germination est ainsi calculé. Une graine germée est celle qui parvient à émettre une radicule. L'agressivité des *Fusarium* et *Globisporangium* est estimée par le pourcentage d'inhibition de la germination (EL Androuse, 2006; Zehhar et al. 2006).

$$\%IG = \frac{PGTe - PGTr}{PGTe} \times 100$$

PGTe: pourcentage de germination des graines témoins

PGTr: pourcentage de germination des graines traitées

%IG: pourcentage d'inhibition de la germination

### III.5.2- pourcentage d'inhibition de la croissance racinaire

La croissance des racelles est mesurée afin de déterminer le pourcentage d'inhibition de la croissance racinaire, qui est calculé comme suit :

$$\%ICR = \frac{LTe - LTr}{LTe} \times 100$$

LTe: Accroissement moyen des racelles témoins.

LTr: Accroissement moyen des racelles traitées.

%ICR: Pourcentage d'inhibition de la croissance racinaire

### III.6- Test de pathogénéicité des isolats de *Fusarium* et *Globisporangium* dans les pots

Cette expérience a été réalisée pour confirmer la pathogenicité de nos isolats. L'inoculum a été produit en utilisant le protocole modifié de Kirkpatrick et al. (2006). Des bouture de 5 mm de chaque isolat sont mis dans un flacon stérilisé de 500 ml contenant 237,5 g de sable, 12,5 g milieu de CMA sans agar et 80 ml de H<sub>2</sub>O distillée stérile. Les flacons ont été mis en agitation pendant 9 jours pour permettre la colonisation du milieu et la dispersion de l'inoculum, ensuite le contenu de chaque flacon a été transféré dans un pot de 500 ml. Dix graines de pin d'Alep préalablement stratifiés et désinfectées ont été ensemencées dans chaque pot. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque isolat (Kirk, 2008). Les pots sont incubés à 25°C et irrigués chaque 2 jours.

#### III.6.1- Estimation des symptômes

Après quatre semaines d'incubation, les plantules sont soigneusement déterrées et les racines sont lavées à l'eau courante pendant 2 min. L'évaluation des pourritures racinaire a été effectuée selon l'échelle Okamb et al. (2002) et l'indice de la maladie a été calculé par l'utilisation de la formule de Song et al. (2004). Le taux de germination, la longueur des racines, et la croissance des parties aériennes ont été calculés. L'indice de vigueur de trente plantules a été également calculé par l'équation suivante (Maisuria et Patel, 2009):

**Indice de Vigueur (IV)** = Longueur de Racine + longueurs des parties aériennes × le taux germination %.

des segments des racines et des collets de 5 mm de longueur, de chaque plantules, ont été désinfectés dans une solution d'hypochlorite de sodium à 3%, puis rincés à l'eau distillée stérile, et séché entre deux papiers filtre stérile puis placé sur de l'eau gélosée (Annexe2) (Komada, 1975). Les boîtes sont ensuite incubées à 25°C pendant 3 jours.

#### IV. Étude de la polyphagie de quelques isolats de *Globisporangium* et de *Fusarium*

##### IV.1- Matériel végétal, fongiques et méthode d'inoculation

Les graines utilisées pour l'étude de la polyphagie de nos isolats sont fournis par L'ITGC (Institut Technique des Grandes Cultures) de Sidi Belabes, les espèces utilisées sont: deux espèces de céréales (l'orge et le blé tendre), une espèce de légumineuses (le pois chiche) et deux espèces de solanacées (concombre et tomate). Pour le matériel fongique testé, deux isolats de *G. ultimum* var *ultimum* (code U6CR et U2CT) et trois isolats de *Fusarium*, soit *F. redolens* (code F5RS3), de *F. acuminatum* (code F25RS), *F. solani* (code F20RT), les plus agressives vis-à-vis des plantules de pin d'Alep ont été choisi pour tester leur polyphagie vis-à-vis de quelques espèces de plantes. La technique d'inoculation des plantules a été inspirée des travaux de **Dorrance et al. (2004)**. La méthode d'inoculation et la lecture des résultats sont identiques à ceux mentionnée précédemment.

##### IV.1.2-Analyse statistique

L'analyse de la variance du diamètre de la croissance mycélienne sur les différents milieux de culture, la température et le pH, a été réalisée à l'aide du logiciel informatique SAS 8.1 (SAS, 2000). Le test de Duncan à multiple comparaison a été utilisé pour comparer les moyennes d'inhibition de la germination, la croissance racinaire, la croissance de la partie aérienne, l'indice de la pourriture racinaire et l'indice de la vigueur causées par les différents isolats au seuil de 5% de signification.

#### V- Moyens et Méthodes de lutte

##### V.1- Moyen de lutte biologique

##### V.1.1- Les agents de lutte biologique utilisés

Un isolat de *Trichoderma atroviride* et un isolat de *Bacillus subtilis* AP-01 (nom commercial Larminar<sup>TM</sup>) proviennent de laboratoire de phytopathologie de l'Université d'Almeria ont été utilisés comme agents antagonistes vis-à-vis de deux isolats de *G. ultimum* var *ultimum* (U6CR, U2CT) et de trois isolats de *Fusarium*, *F. acuminatum* (F25RS), *F. redolens* (F5RS3) et *F. solani* (F20RT). L'isolat de *T. atroviridae* a été cultivé sur le milieu PSA (annexe1) et incubés à 25°C trois jours à l'obscurité et sept jours en lumière continue. L'isolat de *B. subtilis* a été cultivé sur le milieu WA (annexe1). L'activité antagoniste de *Trichoderma* et *Bacillus in vitro* a été abordée de différentes manières. Trois boîtes de Pétri ont été utilisées pour chaque test.

##### V.2- Confrontation directe

Dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA, deux disques de 6 mm de diamètre constitués par l'inoculum du pathogène et celui de l'antagoniste ont été placés à 40 mm l'un

de l'autre, symétriquement par rapport au centre de la boîte. Pour le témoin, un disque mycélien du pathogène a été déposé au centre de la boîte. Après trois jours d'incubation à 25°C et à l'obscurité, le pourcentage d'inhibition IC de la croissance mycélienne du pathogène par l'antagoniste a été évalué selon la méthode de Sy (1976):

$$IC\% = \frac{D_T - D_{PA}}{D_T} \times 100$$

$D_T$  : croissance diamétrale du témoin

$D_{PA}$  : croissance diamétrale mycélienne du pathogène en présence de l'antagoniste.

À partir des cultures des différents antagonistes et pathogènes, des suspensions ajustées à  $10^3$  conidies /ml pour le pathogène et  $10^3$  spores /ml de l'antagoniste ont été préparées. Dans des boîtes contenant 20 ml d'eau gélosée, 0,1 ml des deux suspensions ont été successivement étalés. Après 20 h d'incubation à 25°C, le pourcentage d'inhibition de la germination IG des conidies du pathogène est déterminé en utilisant la formule suivante :

$$IG\% = \frac{N_T - N_{PA}}{N_T} \times 100$$

$N_T$ : nombre de conidies germées chez le témoin ; les conidies renferment une spore et la germination est observée au microscope.

$N_{PA}$ : nombre de conidies germées en présence de l'antagoniste.

### V.2.1- Mode d'action

#### V.2.1.1- Mycoparasitisme

Le comportement parasitaire des souches de *T. atroviride* a été mis en évidence par la technique de **Camporota (1985)**. Dans les boîtes de Pétri des confrontations directes pour la croissance, la zone d'interpénétration des deux colonies a été observée au microscope.

### V.2.2- Production de substances volatiles

Elle est mise en évidence par la technique de **Dennis et Webster (1971)**. Un disque mycélien de 6 mm de diamètre de chaque agent pathogène et antagoniste est placé au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Les couvercles sont enlevés aseptiquement, puis le fond de chaque boîte contenant l'antagoniste testé est placé en dessous de celui contenant l'agent pathogène. Les deux fonds sont juxtaposés et fermés par des couches de Parafilm. Pour le témoin, un fond de boîte contenant le milieu seul est placé en dessous d'un fond de boîte contenant le pathogène. Après quatre jours d'incubation à 25°C à l'obscurité, l'inhibition de la croissance mycélienne est estimée comme précédemment. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque test.

### V.3-Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne et la germination des conidies des isolats de *Fusarium* et *Globisporangium*

#### V.3.1- Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne

Les huiles essentielles d'*Inula viscosa* utilisés dans notre test biologique ont été extraites dans le laboratoire de LRSBG à l'Université de Mascara (**Si Moussa, 2008**) cette plante a été prélevée à partir de l'université de Mascara. Les extraits de plantes (huiles essentielles) sont additionnés au milieu PDA en surfusion à 45°C. Pour l'obtention des concentrations (1000, 500, 250 ppm), des dilutions ont été effectuées. La méthode d'évaluation de l'effet des extraits de plante sur la croissance mycélienne consiste à déposer un disque de 0.8 cm de diamètre issue d'une culture âgée de 7 jours au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu de culture additionné au extraits de plantes (huiles essentielles) pour chaque concentration trois répartitions ont été réalisées (**Si Moussa, 2009**).

#### V.3.2- Effet des huiles essentielles sur la germination des conidies

Les concentrations effectuées sont similaires à celles proposées précédemment. Un volume de 0,2 ml des suspensions des spores ajustées à  $10^6$  conidies / ml, préparées à partir d'une culture âgée de dix jours, est étalée sur chaque lame contenant une goutte de milieu nutritif additionné au extraits de plantes. Les lames ensemencées sont placées sur des supports en verre en forme de V dans des boîtes de Pétri contenant un disque de papier filtre imbibé d'eau distillée stérile (**Serhane, 2006**).



La germination des conidies est observée au microscope après 24h d'incubation à 24°C (Hmouni et al. 2003). Environ 100 conidies sont observées par isolats et par concentration d'extrait dont le pourcentage de germination est déterminé.

#### V.4- Préparation de la solution du fongicide

Des dilutions sont effectuées à partir d'une solution mère pour obtenir les concentrations suivantes: 1000, 500 et 250 ppm. Un ml de chaque concentration est versée à l'aide d'une pipette stérile dans un erlenmeyer contenant 200 ml de milieu de culture préalablement maintenu en suspension dans un bain marie à 45°C. Le pH est ajusté à 5.9-6. Après homogénéisation, 20 ml du milieu sont versés dans boîte de Pétri de 90 mm de diamètre. Quatre boîtes par concentration et par isolat sont préparées. Une pastille mycélienne de 6mm de diamètre est prélevée au bord d'une jeune colonie de l'isolat à tester (âgée de 10 jours) et déposée au centre d'une boîte de Pétri puis les boîtes inoculées sont incubées à 25°C.

#### V.5- Lecture des résultats

Des mesures diamétrales des colonies sont effectuées après 7 jours d'incubations. Les pourcentages d'inhibitions de la croissance mycélienne par rapport au témoin non traité par le fongicide sont déterminés selon la formule suivante :

$$PI = \frac{T - D_c}{T} \times 100$$

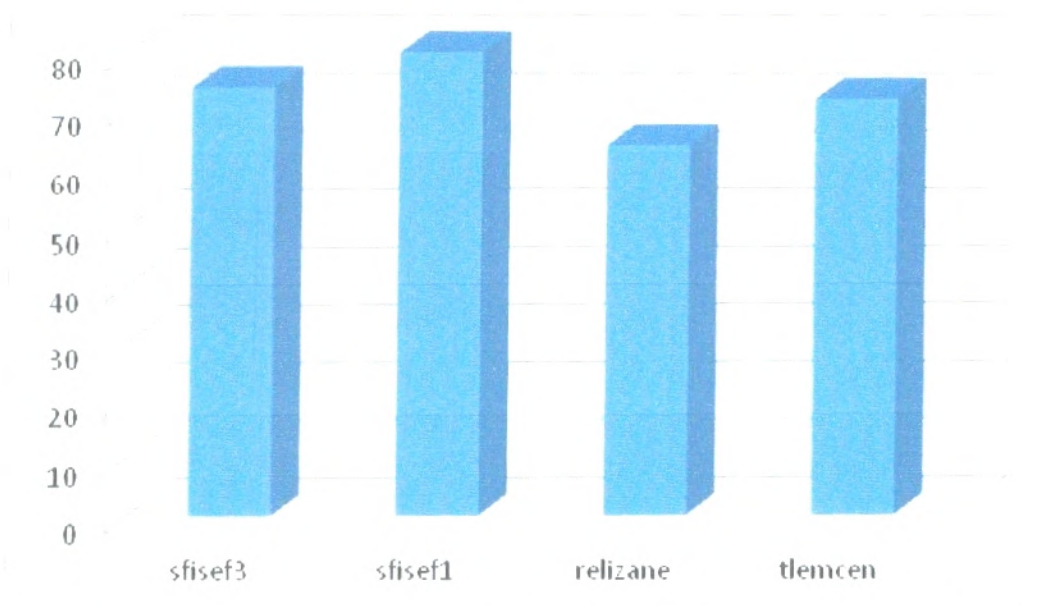
PI= Pourcentage d'inhibition, T= Diamètre du témoin, D<sub>c</sub>= Diamètre du l'isolat testé à une concentration déterminée.

## Chapitre I : Importance de la fonte de semis du pin d'Alep dans les pépinières prospectées

Le pourcentage de l'incidence de la maladie de la fonte de semis au cours des prospections réalisées pendant la campagne agricole 2009-2010 dans chacune des pépinières a été montrée dans la **figure 09**. D'après les prospections réalisées, les incidences les plus importantes sont notées dans les deux pépinières de Sfisef (I et II) et la pépinière de Tlemcen; où l'incidence de la maladie est variée de 72 à 80%. Dans la pépinière de Relizane l'incidence enregistrée est de 64%. Pendant la période de prospection de la maladie nous avons remarqués une manifestation très répandue pendant la période de décembre à février. Le suivi de l'évolution de l'infection durant la campagne agricole 2009-2010 a permis de déterminer la répartition de la maladie de fonte des semis de pin d'Alep dans le temps et dans l'espace. En effet, les conditions climatiques qui ont caractérisé cette période (des heures d'humectage prolongées et des températures journalières moyennes) ont favorisé l'apparition de l'infection (annexe 04 des conditions climatiques) (**Planche 02**).



**Planche 02:** La fonte de semis des plantules de pin d'Alep au niveau des pépinières forestières prospectées.



**Figure 09:** Pourcentage d'incidence de la maladie de fonte de semis de pin d'Alep dans les quatre pépinières forestières prospectées.

La fonte de semis du pin d'Alep se traduit concrètement par un rang clairsemé, où peu de graines ont germé, ou par le brunissement et le pourrissement de la base puis de la totalité des toutes jeunes plantules. La fonte des semis se déclare d'abord localement, puis peut s'étendre à l'ensemble de la planche semée les racines et les collets sont infectés, entraînant la mort des jeunes plantules (**Perterson, 2008**). L'incidence de la maladie dans les pépinières prospectées est relativement plus élevée, ces valeurs élevées peuvent être dues à plusieurs facteurs: la graine de pin d'Alep est sensible à la fonte, la plupart des sols utilisés ne sont pas traités même après apparition des symptômes de la maladie.

Selon **Alabouvette et al. (1996)**, le développement de certains agents de fonte de semis dépend de la rétention en eau et la conductivité. Dans certains cas, la maladie de fonte de semis est influencée directement par les interactions entre les particules du sol et l'agent phytopathogène ou indirectement par l'influence de la texture et la structure du sol.

Les plantules de pin d'Alep malades ont présenté des symptômes typiques de la fonte de semis dont l'attaque est caractérisée par des altérations de collets et/ou des racines. L'altération de la partie hypogée de la plantule provoque son affaissement comme si elle était cisailée au niveau du sol. D'après **Perrin (1986)**, la nécrose racinaire est une forme de dommage, plus insidieuse, méconnue, et souvent assimilée à tort à la fonte des semis.

L'altération de portions du système racinaire, notamment de racines courtes nourricières, aboutit à un ralentissement, ou à un arrêt de la croissance, souvent associés à un jaunissement du feuillage se terminant parfois par la mort de la plante.

Ce sont souvent les mêmes agents pathogènes qui provoquent la fonte des semis et les pourritures racinaires. Les espèces fongiques les plus souvent mises en cause sont *Globisporangium* sp., *Fusarium* sp. notamment *Fusarium oxysporum* et *Rhizoctonia solani*, espèces ubiquistes et polyphages. Plus rarement des espèces comme *Alternaria* sp, *Botrytis cinerea* et *Cylindrocarpon destructans* peuvent produire des dommages aux essences forestières (Perrin et Sampangi 1985). Ces champignons affectent plus particulièrement les espèces résineuses, avec des sensibilités très différentes d'une espèce à l'autre. Le Mélèze, les Pins sont particulièrement exposés à ces maladies, tandis que les membres de la famille des Cupressacées sont plus exceptionnellement atteints. Après les premières levées, des symptômes de pourritures apparaissent; les plantules brunissent, et se dessèchent très rapidement. Les foyers s'étendent rapidement et peuvent en quelques jours atteindre le semis entier, c'est le stade ultime de la fonte de semis. Les "vraies fontes" appelées encore "fontes de post-émergence" s'observent généralement avant le repiquage. Cependant certains plants âgés de plusieurs mois peuvent également être victimes de fontes après le repiquage. Assez peu de travaux sont disponibles sur l'incidence de la fonte de semis d'origine fongique observée sur les plantules de pin d'Alep (Perrin, 1986).

### I.1- Analyses de la mycoflore associée aux sols des pépinières prospectées

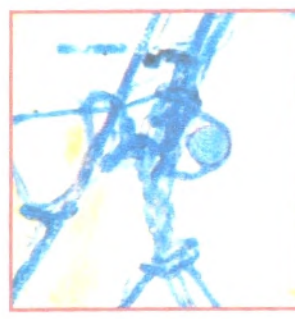
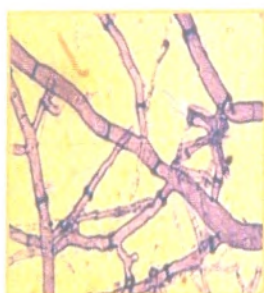
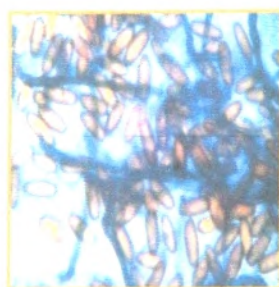
L'analyse de la mycoflore a été conduite selon la technique de la suspension dilution décrite par Rapilly (1968). La fréquence d'isolement des espèces identifiées est calculée à partir des échantillons ensemencés sur le milieu PDA et incubés à 25°C. L'évaluation de la flore fongique totale du sol des pépinières a montré qu'il contient approximativement  $4.80 \times 10^5$ ,  $5.02 \times 10^5$ ,  $7.85 \times 10^4$  et  $4.42 \times 10^4$  UFC/g sol respectivement dans les pépinières Sfifef I, Sfifef III, Tlemcen et Relizane. Sept genres de champignons ont été isolés à partir du sol des pépinières prospectées. La présence de ces différentes espèces sont indiquées dans le (Tableau 07) (planche 03).

Les résultats obtenus ont montré que la population fongique est abondante dans les sols des pépinières prospectées. L'abondance de *Fusarium* sp et de *Globisporangium* sp est variable (Tableau 07). En effet, elle est de l'ordre de  $5.33 \times 10^4$  et de  $3.66 \times 10^5$  UFC/g sol

respectivement au niveau du sol de la pépinière Sfifef I. Cependant, le pourcentage de ces deux champignons par rapport à la flore fongique totale est plus élevé. Il est important à signaler que ces espèces ont montré une différence d'apparition dans les quatre pépinières. La diversité fongique du sol dépend d'un grand nombre de facteurs, comme le pH, la teneur en matière organique, et l'humidité (Alexander, 1977).

**Tableau 07:** Inventaire des agents de fonte de semis du sol des pépinières prospectées.

Espèces	Pépinières			
	Sfifef I	Sfifef III	Tlemcen	Relizane
<i>Alternaria sp.</i>	$2.33 \times 10^4$	$2.33 \times 10^3$	$0.33 \times 10^3$	/
<i>Bipolaris sp.</i>	$3.33 \times 10^4$	/	/	$0.5 \times 10^4$
<i>Fusarium sp.</i>	$5.33 \times 10^4$	$4.67 \times 10^5$	$4 \times 10^4$	$2.75 \times 10^4$
<i>Phoma sp.</i>	/	$0.33 \times 10^4$	/	/
<i>Globisporangium sp.</i>	$3.66 \times 10^5$	$3 \times 10^4$	$3.75 \times 10^4$	$4.25 \times 10^3$
<i>Rhizoctonia sp.</i>	$1.33 \times 10^3$	$0.33 \times 10^3$	$0.67 \times 10^3$	$0.75 \times 10^3$
<i>Sclerotenia sp.</i>	$3.33 \times 10^3$	/	/	/
UFC /g de sol totale	$4.80 \times 10^5$	$5.02 \times 10^5$	$7.85 \times 10^4$	$4.42 \times 10^4$
Incidence de la maladie%	80	74	72	64

*Alternaria* sp.*Phoma* sp.*Pythium* sp.*Rhizoctonia* sp.*Bipolaris* sp.*Fusarium* sp.

**Planche 03:** Observation microscopique des espèces associées aux sols des pépinières forestières prospectées.

Les résultats obtenus confirment ceux de nombreux auteurs qui ont également constaté que la biomasse microbienne était importante dans les premiers cm du sol et qui diminue en profondeur (Andrade et al. 2003). Il semble que la texture du sol étant un des premiers facteurs responsable de la diversité et la richesse du sol en microflore (Buyer et al. 2002; Wieland et al. 2001; Wakelin et al. 2008). Dans notre étude, l'apparition abondante de *Globisporangium* sp et de *Fusarium* sp est très élevée. Adametz (1886) a identifié quatre espèces de levures et onze espèces de champignons appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Mucor* isolées à partir du sol. Jensen (1931) a isolé 35 espèces au cours de ces travaux sur la détection et la classification des champignons associés aux sols. Bulter (1907) a isolé six espèces de *Pythium* et 16 espèces de Mucorales. Waksman (1916) a détecté plus de 200 espèces appartenant à 42 genres à partir des sols travaillés et non travaillés. Il a cité l'abondance d'*Aspergillus* sp, de *Penicillium* sp, *Mucor* sp et *Trichoderma* sp. Il a aussi mentionné la présence d'autres espèces comme *Acromonium* sp, *Alternaria* sp, *Cladosporium* sp, *Fusarium*, *Rhizopus* sp et le *Verticillium* sp.

## I.2- Analyses de la mycoflore associée aux graines du pin d'Alep

L'analyse de la mycoflore associée aux semences de pin d'Alep a été réalisée par deux méthodes. Les résultats obtenus par la méthode de blotter test sont présentés dans le **tableau 08**. Nous avons pu isoler 10 genres de champignons à partir de semence de pin d'Alep. En effet, les espèces isolées sont : *Alternaria* sp., *Acromonium* sp., *Aspergillus* sp., *Actinomyces* sp., *Fusarium* sp., *Monilia* sp., *Penicillium* sp., *Globisporangium* sp., *Rhizopus* sp. et *Rhizoctonia* sp. (**Planche 04**). La fréquence d'isolement à partir des semences de pin d'Alep varie significativement selon leur origine ; Tlemcen (F=9, df=83.809, P=0.0000), Relizane (F=9, df=20.901, P=0.0000) et Sfisef (F=9, df=20.901, P=0.0000). La fréquence des genres de champignons isolés révèle que les champignons saprophytes sont importants et parfois dominants.

Les résultats de l'analyse des semences par la méthode d'agar-test sont présentés dans le **tableau 09**. Douze espèces fongiques ont été isolées. Nous avons isolé des espèces pathogènes et saprophytes qui pourraient jouer un rôle important sur le pouvoir germinatif des graines. Les fréquences d'isolement sont significativement différentes selon la source de la graine, à Tlemcen (F=12, df=10.760, P=0.0000), Relizane (F=12, df=3.915, P=0.0017), Sfisef (F=12, df= 3.965, P= 0.0016). Les résultats obtenus révèlent une diversité d'agents fongiques pouvant se développer sur les grains de pin d'Alep et affectant leur germination.

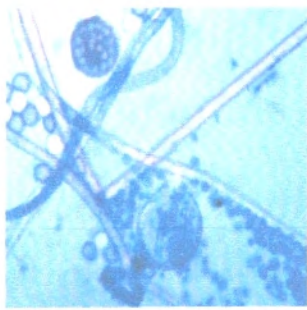
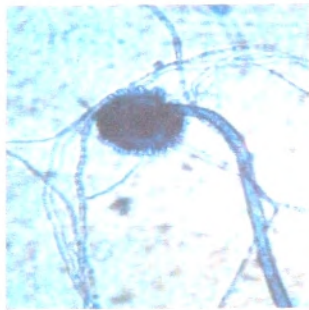
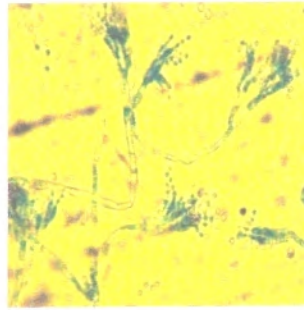
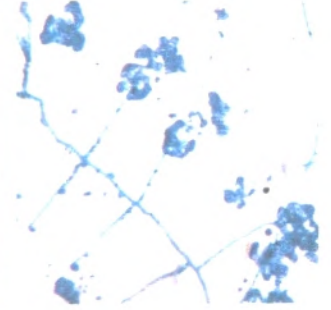
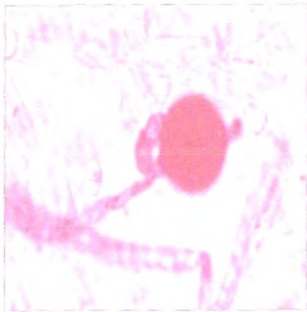
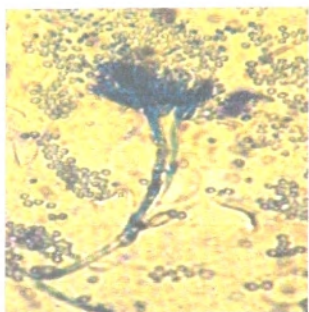
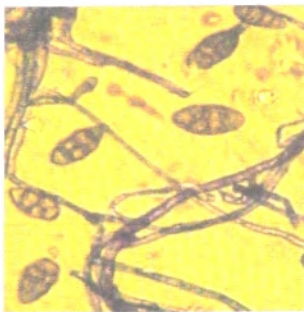
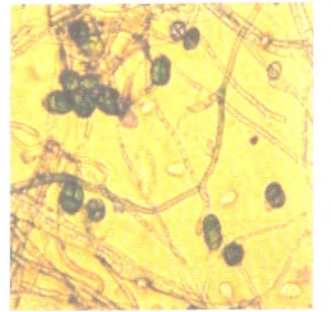
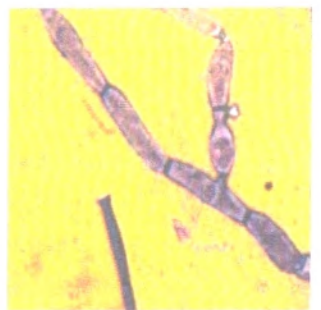
**Tableau 08:** Résultats d'analyse de la mycoflore associées aux semences de pin d'Alep par la méthode de blotter-test.

Les espèces trouvées (%)	Sfisef	Relizane	Tlemcen
<i>Globisporangium sp.</i>	2.600±1.32D	6.480 ±3.33EF	1.390 ±1.38D
<i>Fusarium sp.</i>	11.54 ±3.08BCD	9.973 ±3.40DE	7.577±2.53D
<i>Monilia sp.</i>	1.150 ±1.14D	0.00±0.00F	4.577±0.57D
<i>Alternaria sp.</i>	6.897 ±6.89D	1.853 ±1.85EF	1.283 ±1.28D
<i>Actinomucor sp.</i>	9.193 ±5.01CD	20.66 ±2.0C	45.76 ±5.76B
<i>Penicillium sp.</i>	22.54 ±10.51B	18.59 ±6.54CD	9.917 ±2.11D
<i>Rhizopus sp.</i>	12.09 ±2.61BCD	35.26 ±3.28B	21.30 ±2.81C
<i>Rhizoctonia sp.</i>	5.747 ±3.04D	5.340 ±2.67EF	2.563 ±0.91D
<i>Acremonium sp.</i>	5.747 ±3.04D	1.853 ±1.85EF	0.000±0.00F
<i>Aspergillus sp.</i>	22.49 ±3.71 BCD	0.00±0.00F	5.633 ±2.56D
<b>Taux de germination</b>	77.18 ±4.56A	75.64±0.64A	86.85 ±5.19A

**Tableau 09:** Résultats des analyses de la mycoflore associées aux grains de pin d'Alep par la méthode d'Agar-test.

Les espèces isolées	Sfisef	Relizane	Tlemcen
<i>Globisporangium sp.</i>	2.300±2.29 BC	2.967 ±1.48C	1.283 ±1.28D
<i>Fusarium sp.</i>	8.200±1.40 BC	12.21 ±1.76AB	4.990 ±0.56CD
<i>Monilia sp.</i>	1.150±1.14 C	0.00±0.00C	11.11 ±5.55BC
<i>Alternaria sp.</i>	12.30±5.25 B	7.45 ±2.79ABC	4.990 ±2.194CD
<i>Actinomucor sp.</i>	12.20±2.85 B	15.11±1.15A	27.63±6.53A
<i>Penicillium sp.</i>	26.60±5.09A	15.16 ±6.05A	13.68 ±5.805B
<i>Aspergillus flavus</i>	8.500±2.30BC	12.21 ±4.20AB	16.24 ±2.09B
<i>Aspergillus sp.</i>	0.000±0.00C	7.653 ±1.65ABC	0.00 ±0.00D
<i>Rhizopus sp.</i>	5.747±5.74BC	13.52±2.27A	15.10 ±5.16B
<i>Rhizoctonia solani</i>	3.303±1.68BC	4.48 ±2.62BC	4.990 ±0.56CD
<i>Acremonium sp.</i>	8.457±4.81BC	7.66 ±4.15ABC	0.00 ±1.85D
<i>Phoma sp.</i>	8.943±4.478BC	0.00±0.00 C	0.00 ±0.00D
<i>Stemphylium sp.</i>	2.300±2.29BC	1.587 ±1.58C	0.00±0.00 D



*Mucor* sp.*Aspergillus* sp.*Penicillium* sp.*Acremonium* sp.*Gloiosporangium* sp.*Penicillium* sp.*Alternaria* sp.*Stimpfhylium* sp.*Phoma* sp.*Rhizoctonia* sp.

**Planche 04:** Observations microscopiques des espèces isolées à partir des grains de pin d'Alep.

Les grains jouent un rôle très important dans la dissémination des épiphyties, particulièrement dans les conditions climatiques favorables au déclenchement des foyers d'infections primaires. 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.

En ce qui concerne les techniques d'analyse de la mycoflore associée aux semences représente un élément dans la détection et l'identification des agents pathogènes dans tout programme de certification et production de semences (**Bhutta et al. 1999**). Dans cette étude les deux méthodes utilisées (Agar-test et Blotter-test) ont été très utiles dans le diagnostic de la pureté des semences. Cependant les deux méthodes sont très fiables pour isoler un nombre maximum de champignons.

Les études sur la mycoflore associée aux semences des arbres forestiers et les maladies des pépinières forestières sont très rares. Dans cette étude, nous avons isolé un total de douze genres de champignons à partir des graines de pin d'Alep. Les résultats obtenus montre des fréquences d'apparition très élevée de champignons saprophytes telles que *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. et *Actinomucor* sp. Ceci est dû à la capacité des saprophytes à coloniser les graines (**Novak et al. 2001**). Des observations similaires ont été rapportées par **Sahu et Agarwal (2004)**. Plusieurs auteurs ont montré la présence de différentes espèces fongiques associées avec les différentes graines des arbres forestiers telles qu'*A. Niger*, *A. flavus*, *Fusarium solani*, *Fusarium moniliforme*, *Phoma* et *Alternaria*. **Esan et Taut (1998)**, ont reporté les champignons pathogènes associés aux graines de *Pinus sylvestris*, *P. nigra*, *Picea abies* et *Larix decidua*, collectés à partir de différentes forêts. Les champignons: *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* et *Pythium* sp. sont des agent redoutables de la fonte de semis des résineux.

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 et al. 1983**). Les espèces *Botrytis*, *Botryodiplodia*, *Rhizoctonia* et *Fusarium* ont été trouvée associée avec les graines d'*Acacia meransii* (**Santos et al. 2001**). Selon **Apetorgber et al. (2004)** le *Fusarium* et *Lasioidiplodia theobromae* ont été trouvés associés aux graines de *Milicia excelsa*. **Idrees et al. (2006)** ont reportés que le *F. solani*, *F. oxysporum*, *Dreschlera*, *Botrodiploia* ont été associés avec les graines de *Dalbergia sissoo*. **Mehrotra et al. (2000)** ont étudié la mycoflore associée aux semences de neuf espèces forestières collectées à partir des différentes régions en Inde. Selon ces même auteurs, dix-neuf espèces de champignons ont été isolées, (*Penicillium citrinum*, *P. brefeldianum*, *Curvularia lunata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. sulphureus*, *A. ochraceus*, *F. semitectum*, *F. graminearum*, *Xylaria* et *Spicaria* sp. à partir d'*Eucalyptus*, (*Chlamydomyces palmarum*, *F.*

*semitectum*, *Rhizopus stolonifer* et *Melanospora lagenaria*) à partir d'*Acer caesium*, dix espèces (*Aspergillus niger*, *A. ochraceus*, *A. flavus*, *P. citrinum*, *Alternaria alternata*, *R. stolonifer*, *F. pallidoroseum*, *F. avenaceum*, *Mucor hiemalis* et *Thielaviopsis bassicola*) à partir d'*Anthocephalus chinensis*, six espèces de *Cladosporium* (*Cladosporium cladosporioides*, *A. flavus*, *F. pallidoroseum*, *G. zea*, *R. stolonifer* et *P. citrinum*) à partir de *Grewia optiva*, six (*Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *P. citrinum*, *Alternaria alternata* et *R. nigricans*) sur *Chuckrasia velutina*, cinq espèces d'*aspergillus* (*Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *P. citrinum* et *R. stolonifer*) à partir de *Pinus gerardiana*.

L'effet de la mycoflore associée sur la semence peut provoquer beaucoup de dégâts par l'inhibition de la germination, pourriture des semences, pourriture des racines, pourriture du collet, la fonte des semis, le flétrissement et finalement peut causer la mort des semences après leur émergence. La mortalité du semis peut se produire en stade de pré-émergence ou en post-levée. Au cours des études sur la transmission de champignon, un effet prononcé de ces derniers sur la germination des graines et la production de plantules à croissance limitée. Le noircissement de la région hypocotylaire suivi par la mort des plantules et la décomposition des tissus racinaires (Shakya et al. 2005; Uniyal et al. 2004).

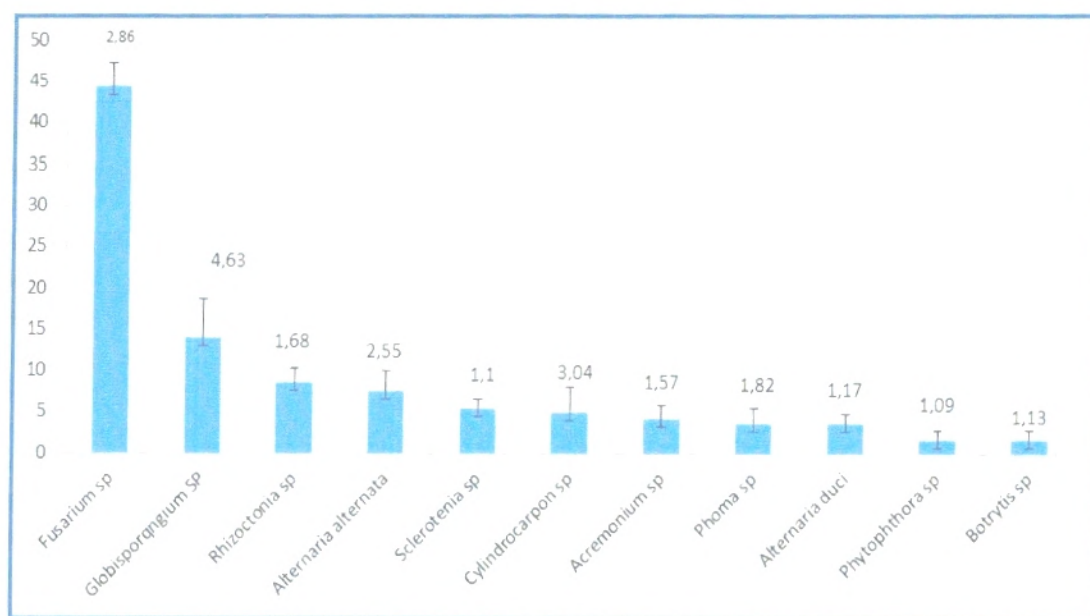
### I.3- Isolement à partir des plantules en stade de pré et post émergence

#### I.3.1- Fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Sfisef I.

Les résultats obtenus n'ont montré pas des variations qualitatives dans l'occupation les racines et les collets de pin d'Alep par les champignons mais nous avons noté quelques différences quantitatives. Les espèces isolées à partir des plantules de pin d'Alep provient de la pépinière de Sfisef I sont présenté dans le **tableau 10**. Les résultats obtenus ont montrés une différence significative d'apparition des espèces selon le stade végétative et la sensibilité des plantules (DF=21; F=13.03; P<0.0001).

**Tableau 10:** Fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Sfifef I pendant les stades de pré et post émergence.

Sfifef 1	Stade de Pré émergence	Stade de Post émergence	Moyenne $\pm$ SE
<i>Fusarium sp.</i>	39.92 $\pm$ 1.83	48.97 $\pm$ 4.36	44.44 $\pm$ 2.86 A
<i>Globisporangium sp.</i>	15.67 $\pm$ 8.09	12.43 $\pm$ 6.26	14. 05 $\pm$ 4.63B
<i>Rhizoctonia solani</i>	9.74 $\pm$ 3.31	7.43 $\pm$ 1.33	8.59 $\pm$ 1.68 CB
<i>Alternaria alternata</i>	7.94 $\pm$ 4.14	7.05 $\pm$ 3.89	7. 49 $\pm$ 2.55 C B
<i>Sclerotenia sp.</i>	7.28 $\pm$ 1.39	3.58 $\pm$ 0.89	5.43 $\pm$ 1.10CB
<i>Cylindrocarpon sp.</i>	1.66 $\pm$ 1.66	8.33 $\pm$ 5.69	5.00 $\pm$ 3.04CB
<i>Acremonium sp.</i>	3.81 $\pm$ 1.95	4.61 $\pm$ 2.91	4. 21 $\pm$ 1.57CB
<i>Phoma sp.</i>	2.70 $\pm$ 2.70	4.61 $\pm$ 2.91	3.65 $\pm$ 1.82CB
<i>Alternaria duci</i>	5.61 $\pm$ 0.43	1.66 $\pm$ 1.66	3.64 $\pm$ 1.17 CB
<i>Phytophthora sp.</i>	3.46 $\pm$ 1.73	0.00 $\pm$ 0.00	1.73 $\pm$ 1.09C
<i>Botrytis sp.</i>	2.15 $\pm$ 2.15	1.28 $\pm$ 1.28	1.71 $\pm$ 1.13C



**Figure 10:** moyenne de la fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière Sfifef I.

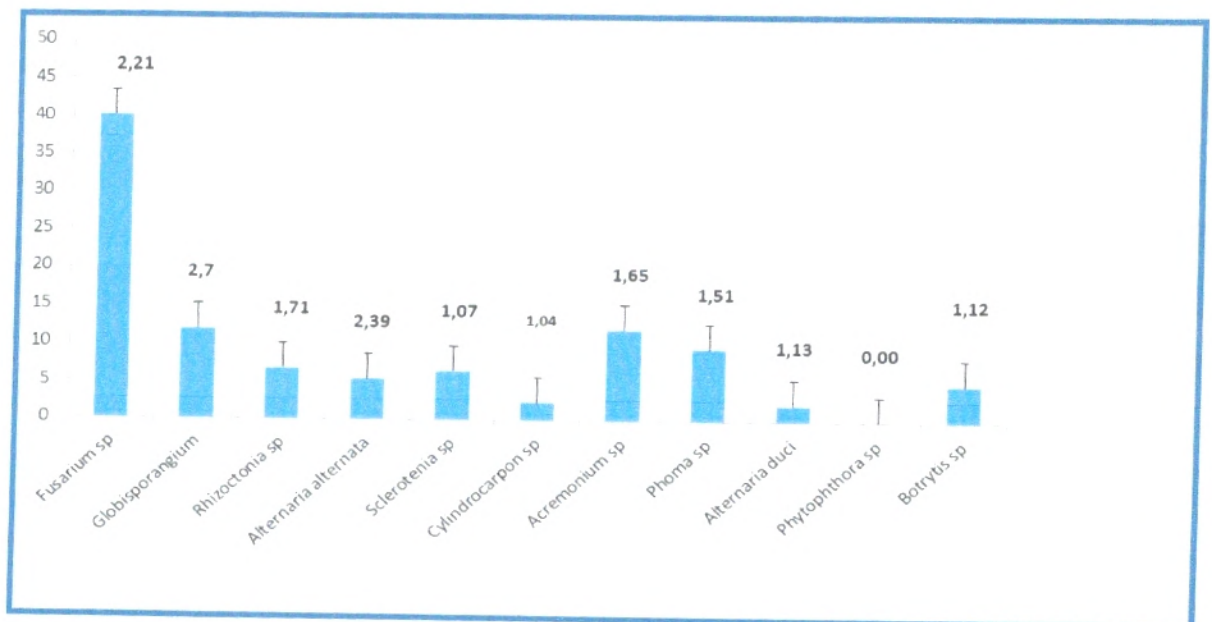
Il y a au moins deux fois plus de *Fusarium* sp a été isolé pendant les deux stades avec 39.92% en Pré émergence et de 48.97% en post émergence, le *Globisporangium* sp est moins abondant en pré émergence avec 15.67%. D'autres champignons du sol sont apparues au cours de nos isolements: *Alernaria alternata*, *Acromonium* sp., *Botrytis* sp., *Sclerotenia* sp., *Cylindrocarpon* sp., *Phoma* sp., *Phytophthora* sp. et *Rhizoctonia* sp. (**Figure10**). Le *Fusarium* sp. et le *Globisporangium* sp. sont apparus à partir des tissus de la plante, et plus particulièrement au niveau du collet.

### **I.3.2- Fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Sfisef III en stade de pré et post émergence**

A la lecture des résultats du **tableau 11**, il semblerait que les mêmes espèces trouvées dans la pépinière de **Sfisef I** sont apparues dans la pépinière de **Sfisef III**. Nous avons également enregistré une différence significative entre les deux stades de développement (DF= 21; F =20.72; Pr <0.0001) (**tableau 11**). Le *Fusarium* sp. soit le plus abondant dans la pépinière de **Sfisef I** avec 40.16% (Figure12). Les champignons dont la fréquence est élevée sont, par ordre d'importance décroissante: *Fusarium* sp., *Globisporangium* sp., *Acremonium* sp., *Phoma* sp., *Rhizoctonia solani* et *Sclerotinia* sp. (Figure12). Il convient de remarquer que dans ces conditions l'apparition de *Globisporangium* sp. est notablement évaluée; l'emploi du milieu CMA permet de mieux apprécier leur place dans la mycoflore.

**Tableau 11:** Fréquences des isollements des espèces fongiques à partir des plantules de pin d'Alep dans la pépinière de Sfifef III.

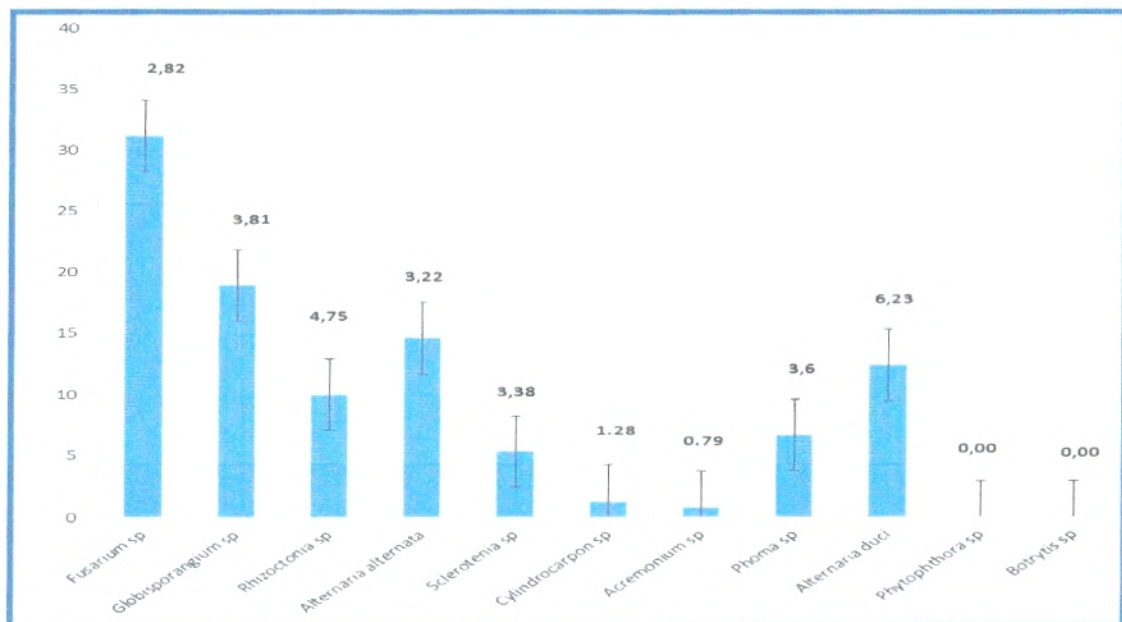
Sfifef 3	Stade de Pré-émergence	Stade de Post émergence	moyenne±SE
<i>Fusarium sp.</i>	36.92±3.07	43.40±2.14	40.16±2.21A
<i>Globisporangium sp.</i>	15.51±2.45	08.17±4.32	11.84±2.78B
<i>Rhizoctonia solani</i>	06.66±3.33	06.76 ±1.88	06.71±1.71CB
<i>Alternaria stternata</i>	03.84±3.84	06.84±3.42	05.34±2.39 CB
<i>Sclerotenia sp.</i>	06.28±1.88	06.59±1.46	06.43±1.07CB
<i>Cylindrocarpon sp.</i>	02.94±1.51	01.66±1.66	02.30±1.04 C
<i>Acremonium sp.</i>	10.51±2.93	13.35±1.73	11.93±1.65B
<i>Phoma sp.</i>	08.84±1.97	09.93±2.69	09.39±1.51 B
<i>Alternaria duci</i>	04.23±2.25	00.00±0.00	02.11±1.13CB
<i>Phytophthora sp.</i>	00.00±0.00	00.00±0.00	00.00±0.00C
<i>Botrytis sp.</i>	06.34±1.34	03.25±1.62	04.80±1.12 CB



**Figure 11:** moyenne de la fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Sfifef III.

**Tableau 12:** Fréquence d'isolement des espèces fongiques à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Relizane.

Relizane	Stade de Pré-émergence	Stade de Post émergence	Moyenne ±SE
<i>Fusarium sp.</i>	26.58±3.52	35.77±2.50	31.18±2.82A
<i>Globisporangium sp.</i>	21.90±6.97	15.99±3.92	18.94±3.81B
<i>Rhizoctonia solani</i>	12.77 ±7.22	07.14±7.14	09.96±4.75 CB
<i>Alternaria alternata</i>	10.00±5.09	19.16±2.22	14.58±3.22B
<i>Sclerotenia sp.</i>	05.55±5.55	05.12±5.12	05.34±3.38 CB
<i>Cylindrocarpon sp.</i>	00.00±0.00	02.56 ±2.56	01.28±1.28 C
<i>Acromonium sp.</i>	00.00±0.00	01.58±1.58	00.79±0.79C
<i>Phoma sp.</i>	06.66±6.66	06.71±4.54	06.69±3.60 CB
<i>Alternaria duci</i>	16.50±13.31	08.30±0.61	12.40±6.23CB
<i>Phytophthora sp.</i>	00.00±0.00	00.00±0.00	00.00±0.00 C
<i>Botrytis sp.</i>	00.00±0.00	00.00±0.00	00.00±0.00C

**Figure 12:** Moyenne de la Fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de pépinière de Relizane.

### I.3.4- Fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Tlemcen en stade de pré et post émergence

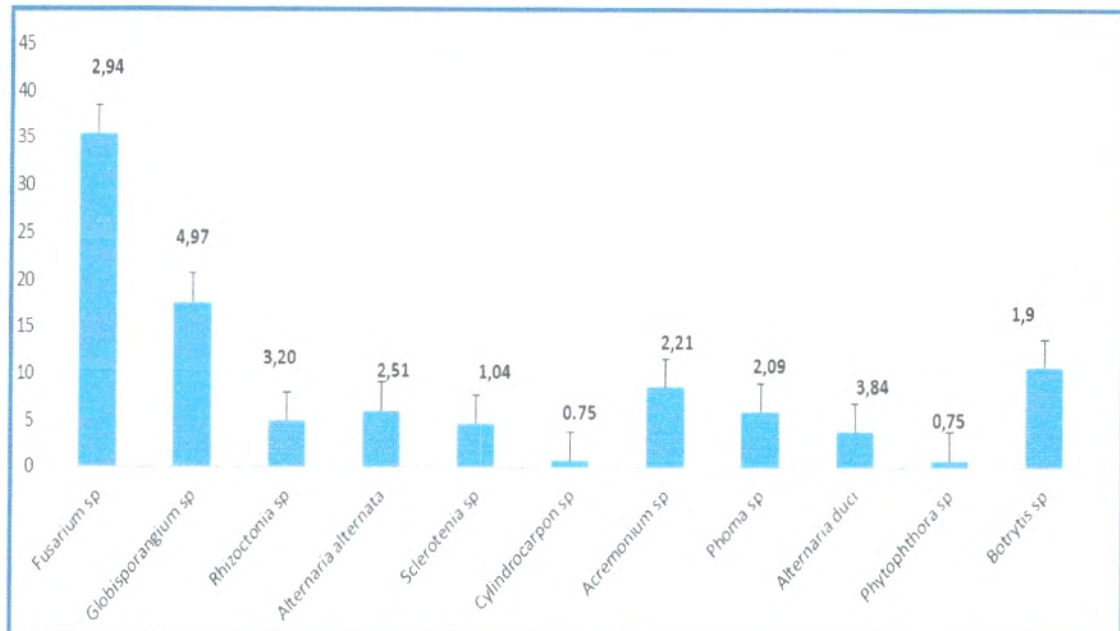
L'abondance des champignons isolés à partir des plantules de pin d'Alep varie avec le stade de développement. La proportion de *Fusarium* sp et de *Globisporangium* sp a été élevée pour les deux stades de développement (**Tableau 13**). *Rhizoctonia solani*, *Alternaria* sp, *Sclerotinia* sp et *Phoma* sp se maintient aussi à un niveau constant, assez faible. Par contre, le *R. solani* prend peu à peu une importance alors que le *Phytophthora* sp. n'apparaît que dans le stade de pré émergence. Nous avons remarqué une différence significative dans l'apparition des espèces fongiques dans les deux stades de développement (DF=23; F=6.53; Pr <0.0001).

Le *Fusarium* sp est très répandu dans la pépinière de Tlemcen avec 35.57% par rapport aux autres champignons qui apparaissent assez régulièrement, mais en très faibles proportions: *Cylindrocarpon* sp. avec 0.75% et *Phytophthora* sp. avec 0.75% (**Tableau 13**).

**Tableau 13:** Fréquence d'abondance des espèces fongiques à partir des plantules de pin d'Alep dans la pépinière de Tlemcen.

Tlemcen	Stade de Pré émergence	Stade de Post émergence	moyenne±SE
<i>Fusarium</i> sp.	37.71±3.73	33.44 ±4.98	35.57±2.94 A
<i>Globisporangium</i> sp.	20.13 ±7.45	15.43 ±7.93	17.78±4.97 B
<i>Rhizoctonia solani</i>	05.00 ±5.00	05.12 ±5.12	05.06±3.20 CB
<i>Alternaria alternata</i>	07.10 ±2.33	05.00 ±5.00	06.05±2.51 CB
<i>Sclerotenia</i> sp.	03.47 ±1.78	05.98±0.85	04.73±1.04CB
<i>Cylindrocarpon</i> sp.	01.51 ±1.51	00.00 ±0.00	00.75±0.75C
<i>Acremonium</i> sp.	06.95±3.56	10.30 ±2.99	08.62±2.21CB
<i>Phoma</i> sp.	06.95 ±3.56	05.08 ±2.88	06.02±2.09CB
<i>Alternaria duci</i>	00.00 ±0.00	07.69 ±7.69	03.84 ±3.84C
<i>Phytophthora</i> sp.	01.51 ±1.51	00.00 ±0.00	00.75±0.75C
<i>Botrytis</i> sp.	13.91 ±2.52	07.65 ±1.36	10.78±1.90 CB





**Figure 13:** Moyenne de la fréquence d'isolement à partir des plantules de pin d'Alep de la pépinière de Tlemcen.

Dans toutes les pépinières prospectées, les racines sont très abondamment colonisées. Le système racinaire est fortement nécrosé, et des thalles différents sont souvent obtenus à partir d'un seul fragment élémentaire mis en culture. On peut considérer que le lavage à l'eau courante, suivi de leur désinfection à l'hypochlorite de sodium, a pratiquement éliminé la totalité des champignons superficiels et que dans leur ensemble, les thalles obtenus appartiennent à des espèces qui se sont installées dans les tissus. Les résultats obtenus indiquent que les plantules de pin d'Alep analysées ont été contaminées par le *Fusarium sp.* et le *Globisporangium sp.* avec des pourcentages diversifiés.

La microflore associée aux racines et collets des plantules de pin d'Alep est très homogène pour les quatre pépinières. Le *Globisporangium* et le *Fusarium* ont bien exprimé leurs capacités de coloniser les plantules pendant les deux stades de développements. La fréquence d'isolement s'est montrée très variée selon la sensibilité des plantules. La proportion de *Fusarium* est élevée dans le stade de pré émergence, les *Globisporangium* n'arrivent qu'en second lieu dans les quatre pépinières. Elles interviennent dès les premières étapes de l'élevage d'une plante. Selon **Perrin (1979)** la graine peut, en effet, véhiculer des parasites capables de produire des pourritures racinaires, comme *Rhizoctonia solani* chez le Hêtre, d'altérer l'embryon, ou de provoquer la fonte des semis des plantules (**Motta, 1985**). *R. solani* est aussi peu fréquente dans tous les isollements effectués. Elle est caractérisée par leur

pathogénie à l'égard d'hôtes divers (Perrin, 1979). *R. solani* très dommageable aux jeunes semis peut être considéré dans notre cas comme agent de fontes des plantules de pin d'Alep.

Les espèces *Acrimonium* sp., *Cylindrocarpon* sp., *Phytophthora* sp., *Botrytis* sp. et *Sclerotenia* sp. sont peu répandues dans la pépinière de **Sfisef I**, mais il n'existe qu'avec des fréquences très faibles ou nulles dans les autres pépinières, ces champignons apparaissent occasionnellement et avec une fréquence très faible. Cependant, l'apparition des mêmes genres de champignons au cours de différents isolement effectués, à partir du sol, semences et plantules nous ont permis de déduire que ces champignons sont probablement d'origine tellurique et /ou transmis par les semences de pin d'Alep. Selon **Sutherland et al. (1987); Graham et Linderman (1983); Huang et Kuhlman (1990)** la fonte de semis en pré- ou post-levée des conifères est liée aux champignons pathogènes associées aux semences. De nombreuses espèces de champignons sont associé à des graines de pins d'Alep (**Anderson, 1986; Mason et Van Arsdel, 1978; Fraedrich et Miller, 1995**), mais la plupart sont probablement saprophytes qui ne nuisent pas à la qualité des semences. Cependant, deux groupes de champignons transmis par les semences sont responsables pour causer la fonte des semis. Ces groupes de champignons comprennent les différentes espèces de *Fusarium* et *Globisporangium* identifiées (**Lazreg et al. 2013 a,b,c,d,e**).

## Chapitre II: Caractérisation morphologique des isolats des genres *Fusarium* et *Globisporangium*

### II.1-Caractérisation morphologique de *Fusarium* sp.

Les caractéristiques morphologiques des isolats de *Fusarium* sont présentées dans le (Tableau 14). D'après les principaux caractères morphologiques des *Fusarium* nous avons pu identifier neuf espèces de *Fusarium* qui sont :

- *F. acuminatum*

Les isolats F12SS1, F30SS3, F25RS3 et F14SS3 sont identifiés comme *F. acuminatum*, ces isolats sont caractérisés par une croissance relativement lente. Le mycélium est floconneux d'une couleur blanche à pigmentation rose grisâtre à la périphérie (Planche 05). La sporodochie est formée dans le centre de la colonie, de couleur marron foncé. Les macroconidies sont très abondantes et présentant 3 à 5 cloisons, la biométrie des macroconidies est de 24 à 50µm pour l'isolat F12SS1, de 25 à 45µm pour l'isolat F25RS3 et de 20à33µm pour l'isolat F30SS3 (Tableau 14). Les microconidies sont généralement rares ou absentes pour les isolats observés sauf pour l'isolat F12SS1; mesurant de 6 à 10µm de long. Les chlamydozspores sont formés en grappe dans les hyphes et parfois sont formés en chaînette, ou dans les macroconidies, leur diamètre est de 12 à 13µm (Figure18). Les chlamydozspores sont formés après six semaines d'incubation à 25°C.

- *F. chlamydozporum*

Les isolats F12RR et F4RS1 sont identifiés comme étant *F. chlamydozporum*, ces derniers sont caractérisés par la présence d'un mycélium blanc grisâtre (Planche 05). Les Sporodochies sont rarement formés sur le milieu PDA. Les macroconidies sont cloisonnées de 3à5 cloisons et mesurant de 16 à21µm pour l'isolat F12RR et de 8à20µm pour isolat F4RS1(Tableau14). Les microconidies sont abondantes. Les chlamydozspores sont abondantes verruqueuses avec une coloration brun pâle et sont formées rapidement. Les chlamydozspores sont formés en grappes ou en chaînettes (Planche 05 et 06; Figure 20).

- *F. equiseti*

Les isolats F3RS1 et F19RS1 de *F. equiseti* sont caractérisés par la présence d'un mycélium blanc, mais devient brun avec l'âge (**Planche 05**). Les macroconidies sont cloisonnées de 5 à 7 cloisons à paroi épaisse.

La longueur de la macroconidie est variable de 25 à 45µm (**Tableau 14**). Les macroconidies sont produites à partir des monophialides sur des conidiophores ramifiés. Les microconidies sont absentes. Les chlamydo-spores sont verruqueuses d'une couleur pâle et sont formés rapidement (**Planche 05 et 06; Figure 17**).

- *F. oxysporum*

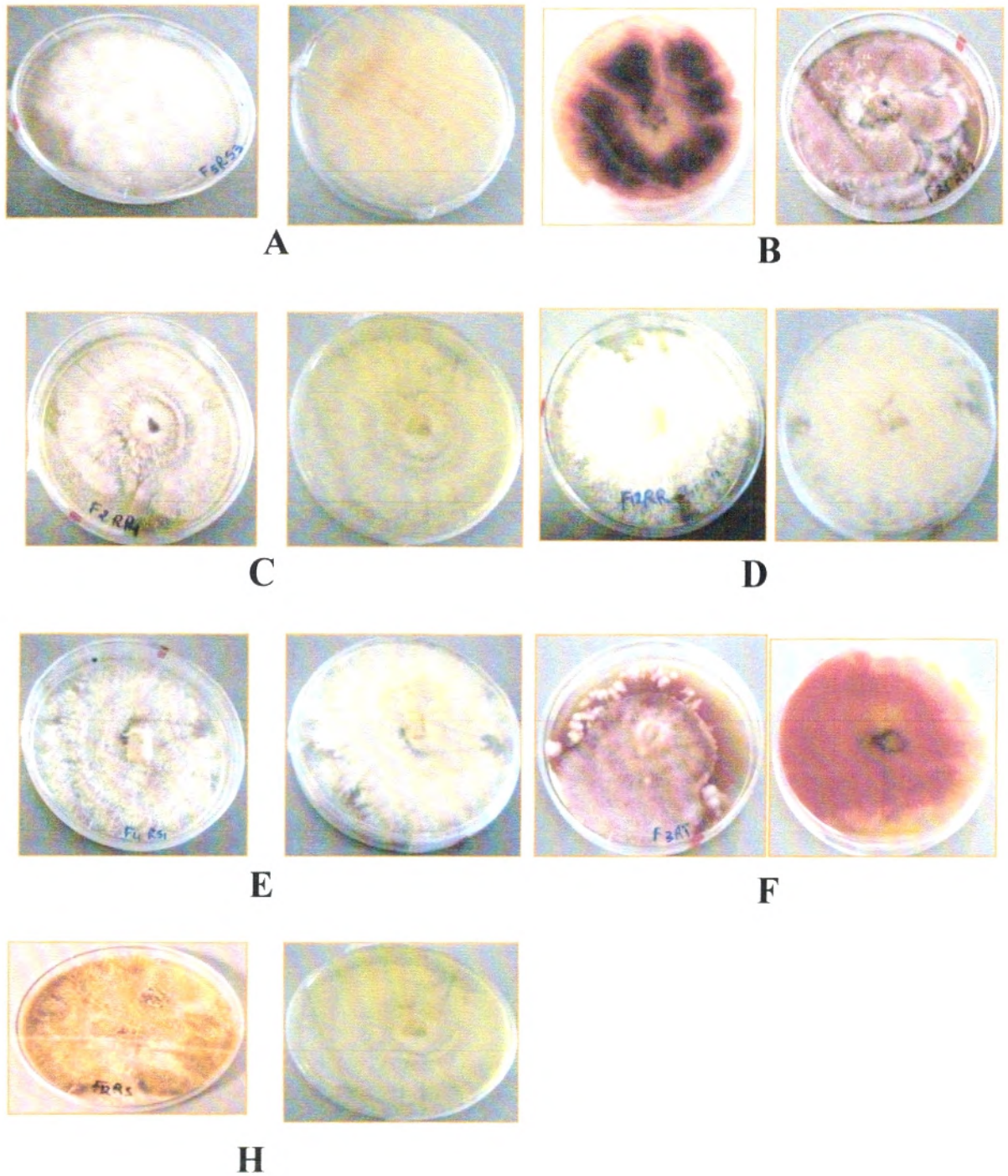
Le mycélium des isolats F16RS3, F3PRT et F6RS3 est floconneux d'une couleur varie du blanc au violet pâle. Les macroconidies sont courtes, falciformes presque droite, à paroi mince et le plus souvent de 3cloisons (**Planche 05 et 06; Figure 15**). Les macroconidies sont formées à partir des monophialides sur conidiophores ramifiés. Les microconidies sont généralement cloisonnées à une cloison, d'une forme ovale ou réniforme et sont formées en abondance avec des fausses têtes sur des monophialides court. Les chlamydo-spores sont intercalaires et formés en abondance dans les hyphes.

- *F. redolens*

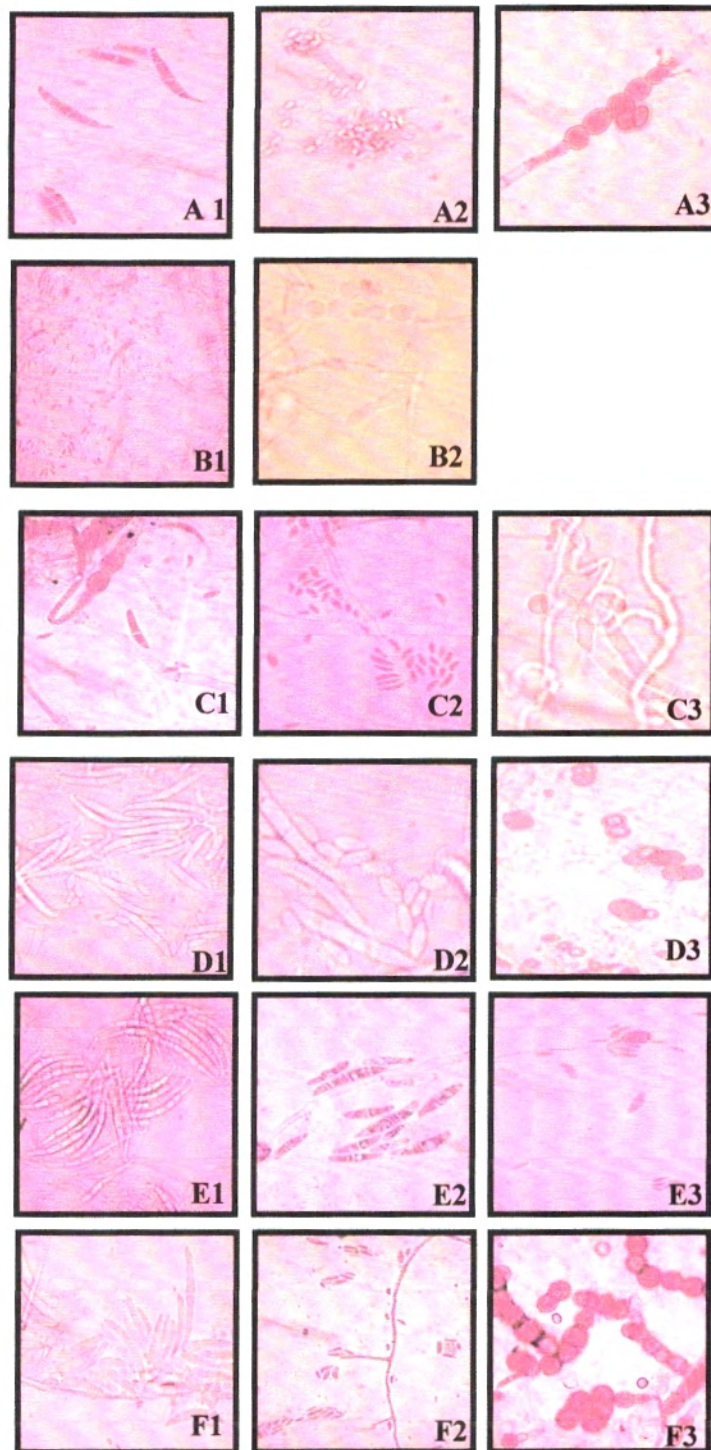
Les isolats F5RS3, F55RS1, F91SR, F09SS1 et F8RS3 de *F. redolens* sont caractérisés par un mycélium blanc. Les macroconidies sont abondantes avec 3 à 4 cloisons et mesurant de 30 à 50 µm. Les sporodochies sont d'une couleur crème. Les microconidies sont de forme ovale à cylindrique sont cloisonnés pour les isolats F55RS1, F09SS1 et non cloisonnés pour les isolats F5RS3, F91SR, F8RS3. Les microconidies sont produites sur des monophialides Leurs mesures varient de 6 à 13 µm de long (**Planche 05 et 06; Figure 14**). Les chlamydo-spores sont produites en abondance sont terminales ou intercalaires dans les hyphes. Les chlamydo-spores sont presque sphérique dans la forme est mesurée de 5 à 12 µm.

- *F. tricinctum*

Les isolats F2RR, F44SS3et F39SS3 sont caractérisés par un mycélium blanc dense qui devient rose avec l'âge de la culture. Les macroconidies peuvent être pointues aux deux extrémités avec 3 à 5 cloisons. Les macroconidies mesurent de 20 à 45 µm (**Tableau 14**). Les



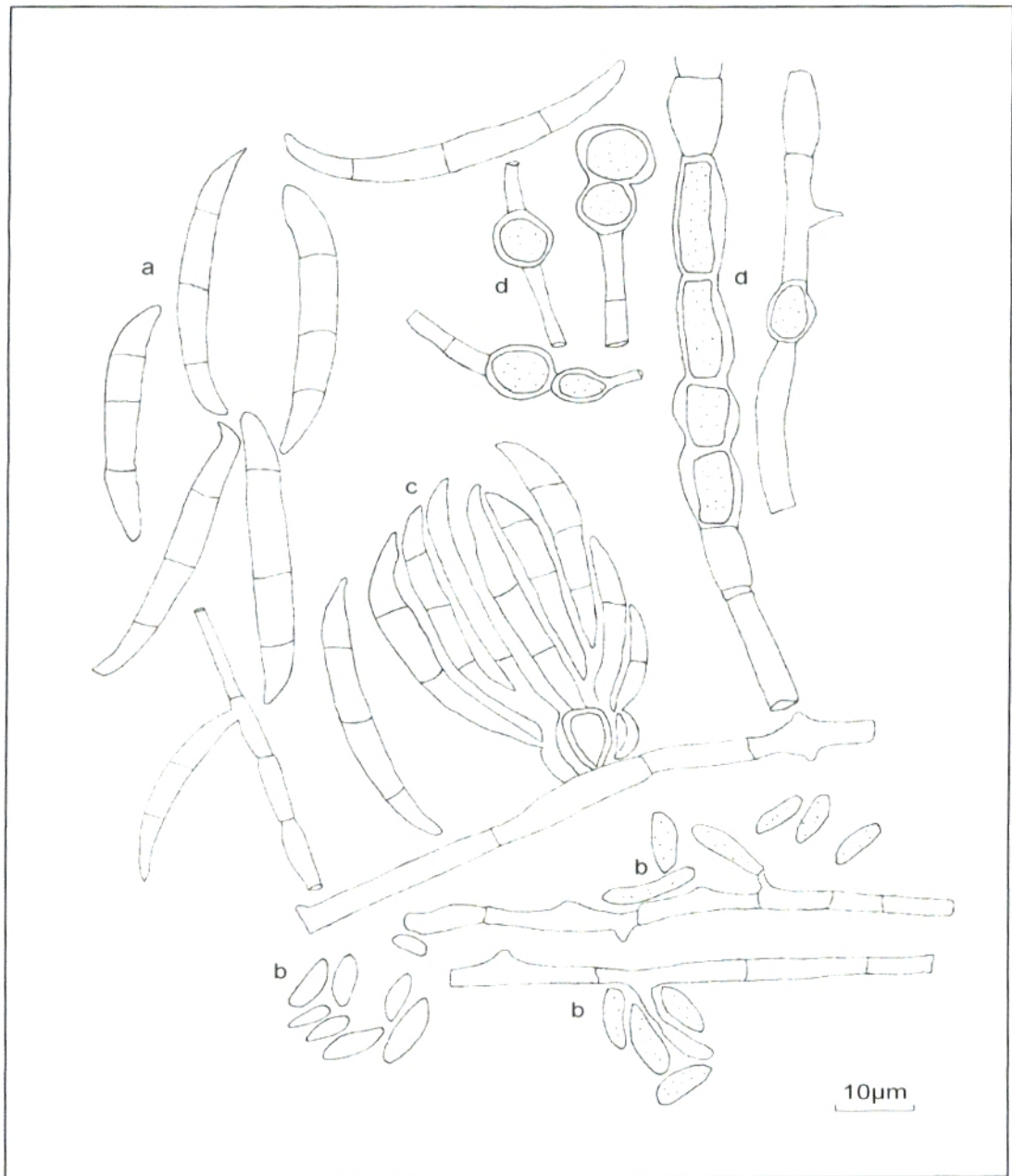
**Planche 05 :** Observation macroscopiques des cultures de *Fusarium* spp. sur le milieu PDA: **A,** *F. redolens*; **B,** *F. acuminatum*; **C,** *F. tricinctum*; **D,** *F. chlamydosporum*; **E,** *F. oxysporum*; **F,** *F. solani*; **H,** *F. equiseti*.



**Planche 06:** Observation microscopique des macroconidies, microconidies et chlamydospores de *Fusarium* spp. sur PDA (1000 x): (A1, A2, A3) *F. redolens*; (B1, B2), *F. acuminatum*; (C1, C2, C3) *F. tricinctum*; (D1, D2, D3) *F. chlamydosporum*; (E1, E2, E3) *F. chlamydosporum*; (F1, F2, F3) *F. oxysporum*.

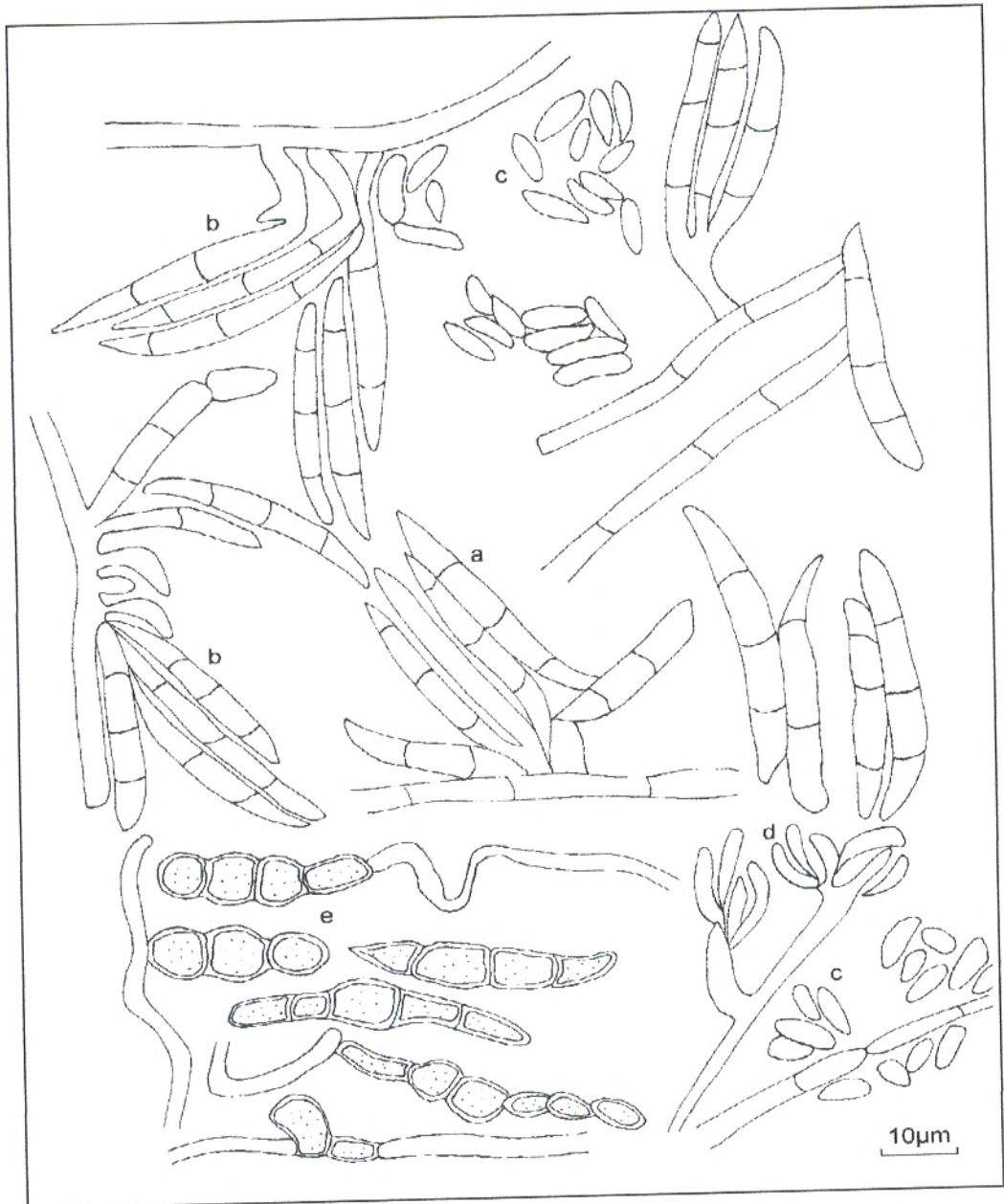
Sur le milieu de culture PDA, les isolats de *Fusarium* forment des cultures duveteuses ou cotonneuses de pigmentation variable (blanche, rose, rouge, violette) selon les espèces. Les revers peuvent être crème, rouge à pourpre. Les pigments diffusent souvent dans la gélose (**Chermette et Bussieras, 1993**). De plus, les espèces de *Fusarium* produisent des macroconidies composées de 3 à plusieurs cellules. Leur forme est variable, typiquement recourbée avec une cellule apicale plus ou moins pointue. La forme des macroconidies est un des critères d'identification du genre *Fusarium* représentant; pour beaucoup d'espèces on observe une cellule basale en forme de pied (**Seifert, 2001**). Les phialides sont plus ou moins allongées, présentent, le plus souvent, un site de bourgeonnement unique (monophialide) situé à l'extrémité d'un col allongé pour l'espèce de *F. solani* ou court et trapu pour le *F. oxysporum*.

Les phialides produisent deux types de conidies Micro-conidies uni ou bicellulaires, piriformes, cylindriques ou ovoïdes, isolées, solitaires ou groupées. Les chlamydospores, sont parfois présentes, en position terminale ou intercalaire (**Roquebert, 1998**).

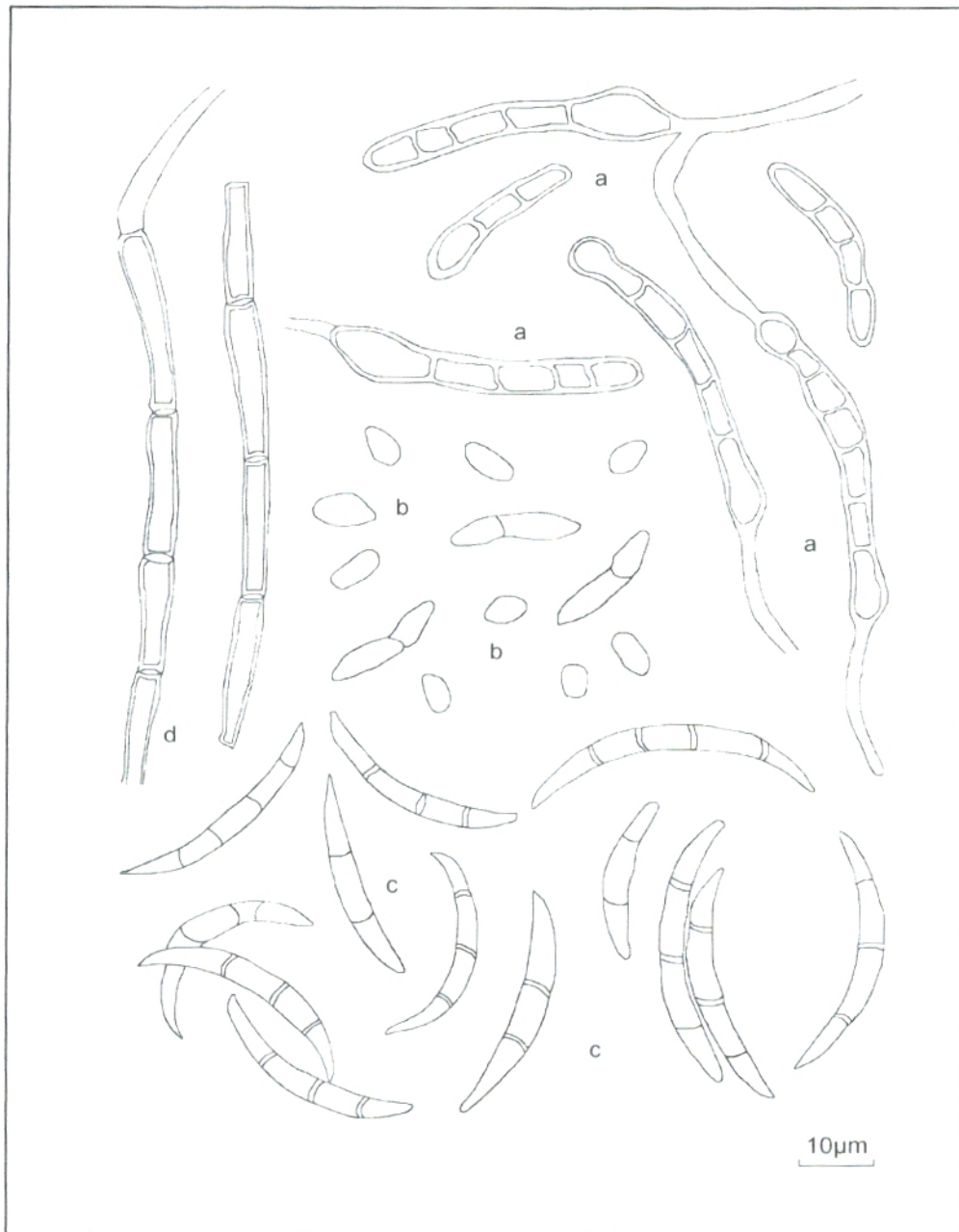


**Figure 14:** *Fusarium redolens*: a) macroconidie; b) microconidie; c) sporodochie; d) chlamydospores.

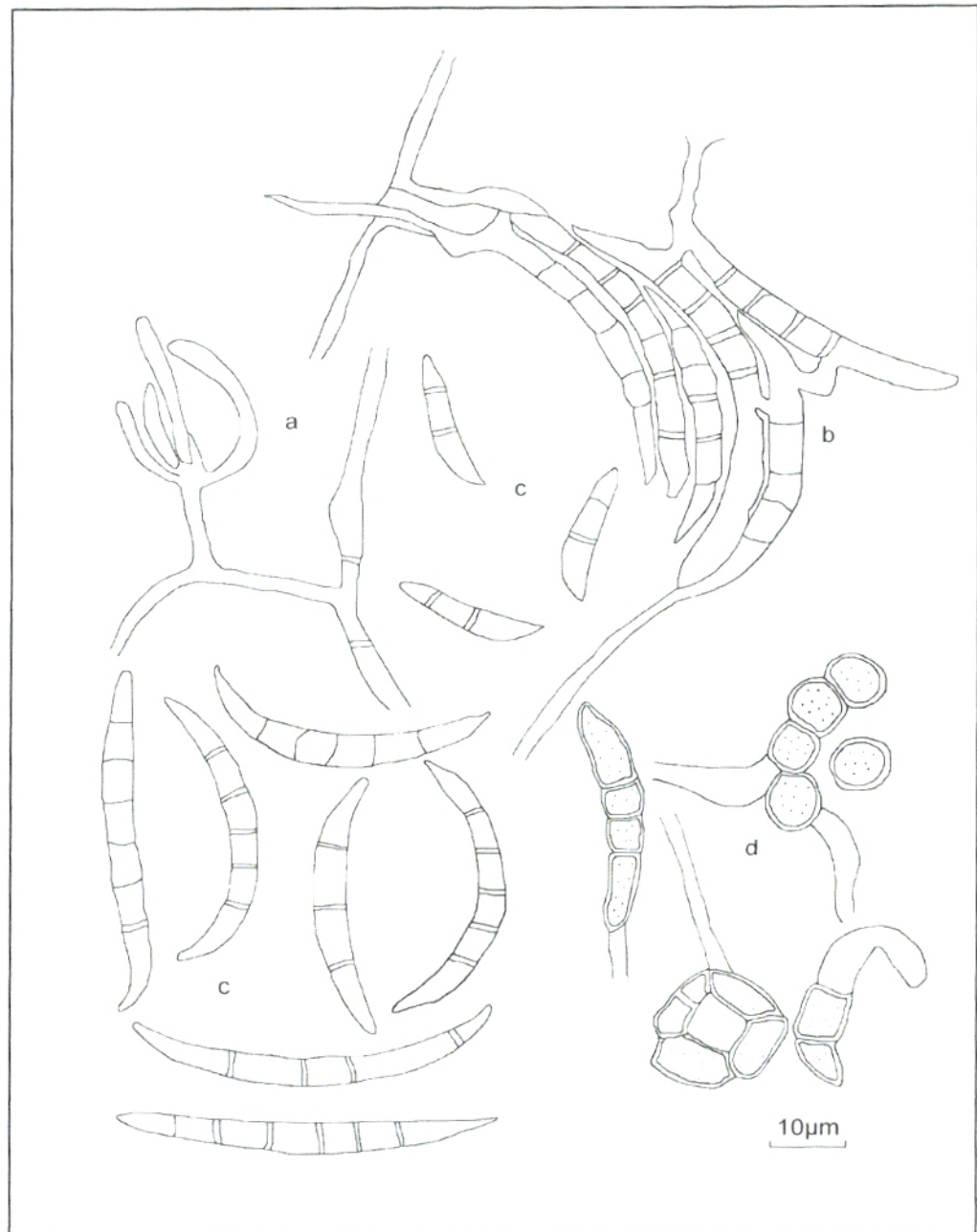




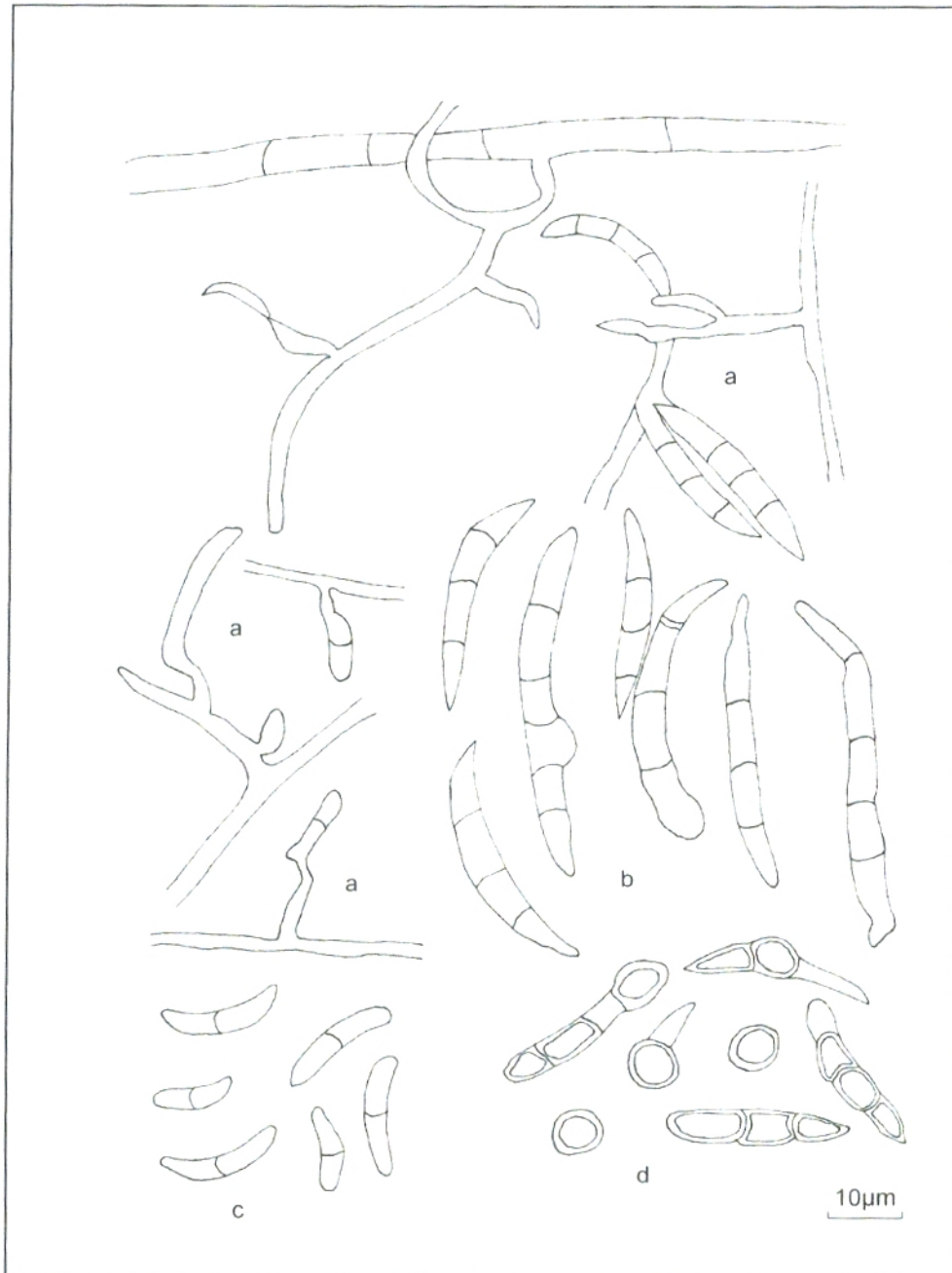
**Figure15:** *Fusarium oxysporum*: a) macroconidie; b) sporodochie; c) microconidie; d) monophialides; e) chlamydospores.



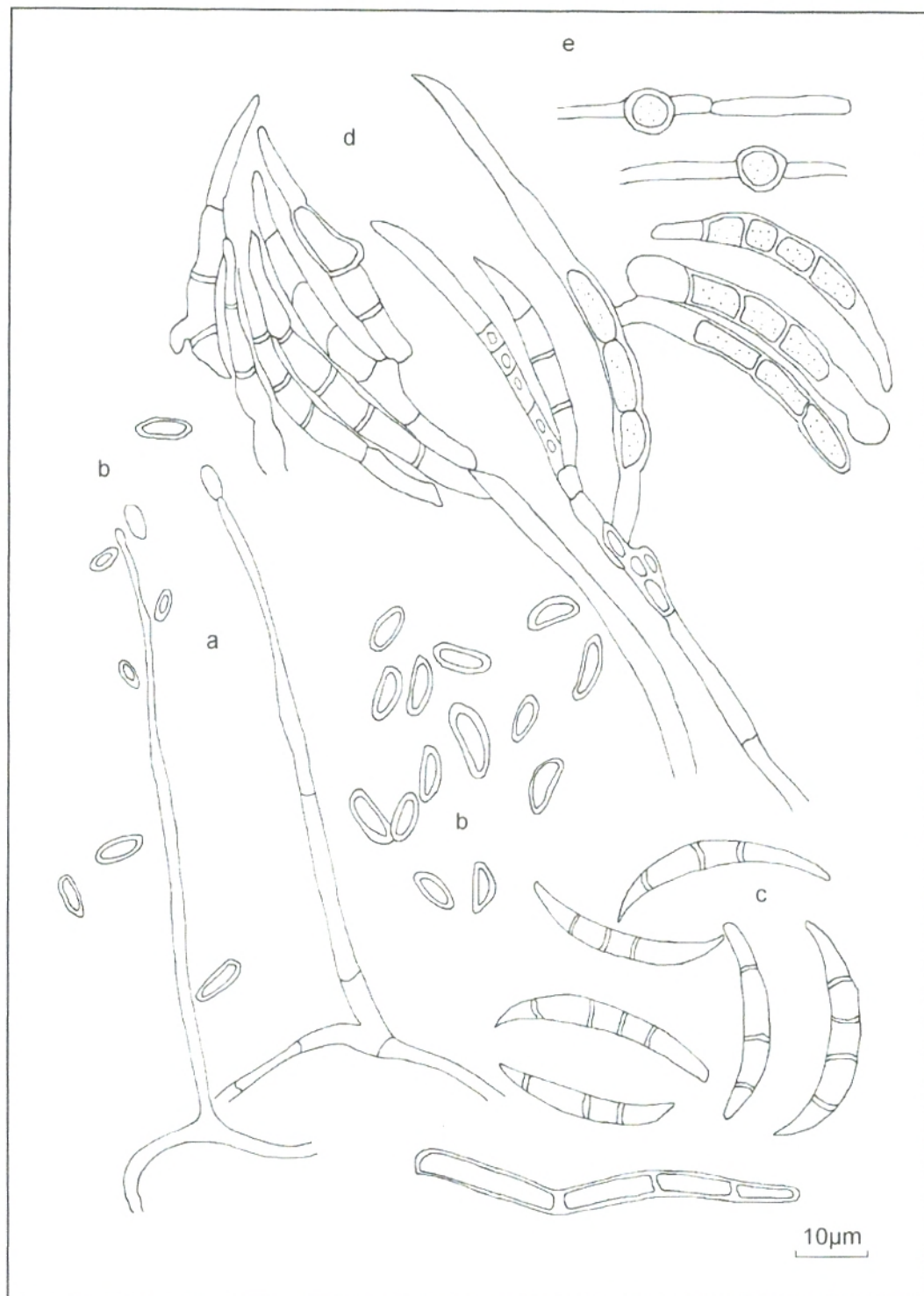
**Figure16:** *Fusarium tricinctum*: a) chlamydospores; b) microconidie; c) macroconidie; d) mycélium.



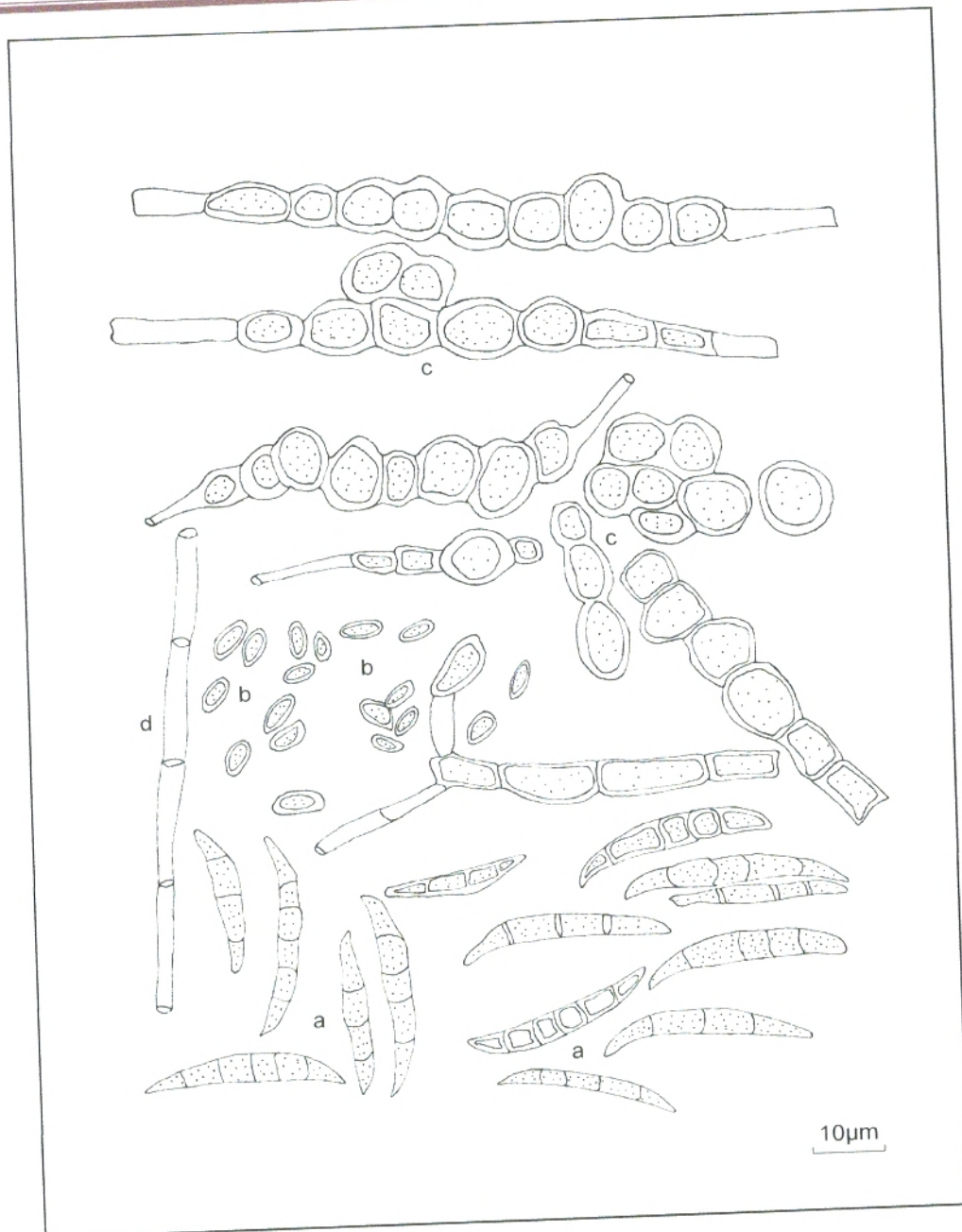
**Figure17:** *Fusarium equiseti*: a) conidiophore et phialides; b) sporodochie; c) macroconidie; d) chlamydospores.



**Figure 18:** *Fusarium acuminatum*: a) conidiophore et phialides; b) macroconidie; c) microconidie; d) chlamydospores.



**Figure19:** *Fusarium solani*: a) conidiophores; b) microconidie, c) macroconidie; d) phialides; e) chlamydospores.



**Figure 20:** *Fusarium chlamydosporum*: a) macroconidie; b) microconidie; d) phialides; c) chlamydospores.

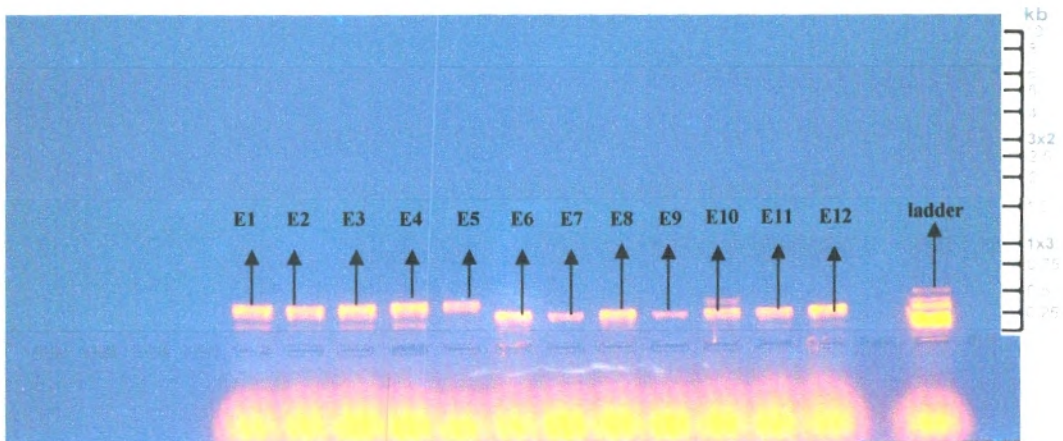
## II.2- Analyse moléculaire des isolats de *Fusarium* sp.

Sur la base des données obtenues à partir de l'électrophorèse sur le gel d'agarose, les amplifications des régionsADNrde nos isolats par les amorcesITS1 etITS4ont donné des séquences d'une taille 656 pb (**Figure22**). Les séquences utilisées dans cette étude pour identifier nos isolats correspondent aux séquences ITS1etITS2régionscomplètes; la partie 5'du gène (18S, 5.8S) et la séquence de l'extrémité 3'du gène (28S). Dans le cadre de la recherche des ressemblances génétiques, chaque séquence de nos isolats a été comparée aux séquences de la banque de données (NCBI-GenBank).

L'identification de *Fusarium* sp a été confirmée par les séquences ITS1 et ITS2 et les séquences complètes de5.8Sde l'ADN ribosomal amplifié en utilisant les amorces ITS1 et ITS4 (**White et al. 1990**).



**Figure 21** : Représentation d'une unité d'ADN ribosomique. ETS: Externally Transcribed Spacer, ITS: Internally Transcribed Spacer et IGS: Intergenic Spacer.



**Figure22**:Electrophorèse des isolats de *Fusarium* sur un gel d'agarose.

E1, E2, E3: *F. acuminatum*; E4, E5, E6: *F. redolens*; E7: *F. equiseti*; E8: *F. chlamydosporum*; E9: *F. solani*; E10: *F. oxysporum*; E11, E12: *F. tricinctum*.

**Tableau 15:** Les numéros d'accèsion de NCBI-GENBANK et les caractéristiques des séquences des 21 isolats de *Fusarium* étudiés.

Taxon	Isolates code	Taille pb	ADNr 18S	ITS1	ADNr 5.8s	ITS2	ADNr 28S	GenBank accession
<i>F. redolens</i>	F5RS3	396	/					JX051323
<i>F. redolens</i>	F8RS3	396	/	1-107				JX051326
<i>F. redolens</i>	F09SS1	396	/	1-107	108-252	/	253-396	JX114783
<i>F. redolens</i>	F91SR	396	/					JX051324
<i>F. redolens</i>	F55RS1	396	/					JX051325
<i>F. acuminatum</i>	F12SS1	547	1-17	18-179	180-324	325-493	494-547	JX114788
<i>F. acuminatum</i>	F30SS3	559	1-40	41-200	201-345	346-512	513-559	JX114782
<i>F. acuminatum</i>	F25RS3	541	1-17	18-179	180-324	325-493	494-541	JX114790
<i>F. acuminatum</i>	F14SS3	534	1-13	14-175	176-320	321-489	490-534	JX114785
<i>F. tricinctum</i>	F2RR	498	/	1-141	142-286	287-455	456-498	JX114797
<i>F. tricinctum</i>	F44SS3	498	1-18	19-180	181-325	326-494	495-498	JX114781
<i>F. tricinctum</i>	F39SS3	508	/	1-150	151-295	296-462	463-508	JX114786
<i>F. chlamydosporium</i>	F12RR	479	/	1-138	139-283	284-437	438-479	JX114795
<i>F. chlamydosporium</i>	F4RS1	467	1-17	18-176	177-321	322-467	/	JX114789
<i>F. oxysporum</i>	F16RS3	539	1-15	16-176	177-321	322-494	495-539	JX114787
<i>F. oxysporum</i>	F3PRT	409	/	1-135	136-239	240-381	382-409	JX114794
<i>F. oxysporum</i>	F6RS3	547	1-18	19-179	180-324	325-497	498-547	JX114792
<i>F. solani</i>	F20ST	302	/	1-148	149-293	294-302	/	JX114796
<i>F. solani</i>	F12RT	498		1-140	141-285	286-458	459-498	JX114793
<i>F. equiseti</i>	F3RS1	488	/	1-131	132-276	277-430	431-488	JX114784
<i>F. equiseti</i>	F19RS1	505	1-5	6-165	166-310	311-464	465-505	JX114791



Les séquences des isolats F5RS3, F8RS3, F09SS1, F91SR et F55RS1 avec les numéros d'accèsion JX051323, JX051326, JX114783, JX051324 et JX051325 sont identiques respectivement à 99% avec la séquence de *F. redolens* (JF311916) et à 100% avec la séquence (U34565) (Lazreg et al. 2013 a).

Le *F. acuminatum* a été signalé pour la première fois comme agent de fonte de semis en Algérie et dans le bassin méditerranéen (Lazreg et al. 2013 b). Les isolats de *F. acuminatum* F12SS1, F30SS3, F25RS3 et F14SS3 sont caractérisés par l'absence des microconidies sauf que l'isolat F12RSS1 a produit des microconidies septées. Les caractéristiques morphologiques de *F. acuminatum* étaient similaires à ceux de *F. equiseti*, les deux espèces ont été caractérisées par la présence des macroconidies et l'absence des microconidies, mais les principaux caractères qui permettent de différencier entre ces deux espèces est la forme des macroconidies et la formation de chlamydospores (Leslie et Summerell, 2006).

Les isolats de *F. acuminatum* F30SS3, F25RS3 et F14SS3 qui ont les numéros d'accèsion JX114782, JX114790 et JX114785 respectivement sont identiques à 100% avec l'isolat NRRL 54212 qui a le numéro d'accèsion HM068320 (Lazreg et al. 2013b). L'isolat F12SS1 avec le numéro d'accèsion JX114788 a été identique à 100% avec l'isolat Uf130 avec un numéro d'accèsion JQ693398.

Les isolats F2RR, F44SS3 et F39SS3 ont été identifiés comme *F. tricinctum* qui est caractérisé par l'abondance des macroconidies relativement minces et incurvés (Castañares et al. 2010). L'isolat F2RR avec le numéro d'accèsion No. JX114797 a présenté 100% de similarité avec *F. tricinctum* Z5 avec un numéro d'accèsion Nos EF611092. L'isolat F44SS3 avec le numéro d'accèsion Nos JX114781 a été identifié à 99% de similarité avec l'isolat *F. tricinctum* ZD avec le numéro d'accèsion Nos JQ690084, l'isolat F39SS3 avec le numéro d'accèsion Nos JX114786 a présenté 100% d'identité avec l'isolat UAWSS0796 avec un numéro d'accèsion Nos JN662408.

Morphologiquement, les isolats F12RR et F4SR1 sont identifiés comme *F. chlamydosporum* (Leslie and Summerell, 2006). L'isolat F12RR avec le numéro d'accèsion No JX114795 a une similarité de 100% avec l'isolat F0817 qui porte le numéro d'accèsion No AB693912, l'isolat F4SR1 avec l'accèsion No JX114789 a été identique à 100% avec l'isolat CBS 365.76 avec le numéro d'accèsion No AY213655.

Les caractères morphologiques utilisés par **Burgess et al. (1994)** nous aident pour confirmer que les isolats F16RS3, F3PRT et F6RS3 sont identifiés comme *F. oxysporum*.

L'isolat F16RS3 avec le numéro d'Accession Nos JX114787 a présenté 100% de similarité avec l'isolat GIFUUTRS avec le numéro d'Accession Nos GU048881 et l'isolat F3PRT avec le numéro d'accession JX114794 a été identifié à 100% avec isolat D28 numéro Accession GQ922558.

L'isolat F6RS3 avec numéro Accession Nos JX114792 a présenté 100% de similarité avec l'isolat MAFF744001 avec le numéro d'Accession Nos DQ452447 (**Snyder et Hassan, 1940**). Les isolats F20ST et F12RT sont identifiés comme *F. solani*, l'isolat F20ST avec le numéro d'Accession Nos JX114796 a présenté 100% de similarité avec l'isolat G10 avec numéro d'Accession Nos JQ247192. L'isolat F12RT avec numéro d'Accession Nos JX114793 a été identifié à 100% avec l'isolat KS-14 avec numéro d'Accession Nos JQ323553.

La classification des champignons est historiquement basée sur de nombreux caractères morphologiques et biologiques observables. L'identification des champignons filamenteux est alors effectuée par la comparaison d'un grand nombre de critères (**Guarro et al. 1999**). Dans le cas des *Fusarium*, l'examen des macroconidies permet à identifier rapidement le genre et en fonction de la forme et de la septation de cette dernière les différentes espèces peuvent être déterminées. Etant donné que les champignons montrent rarement tous les aspects morphologiques nécessaires à leur identification, il est nécessaire de les cultiver. La culture des champignons inconnus sur différents milieux de culture sert alors à induire des phénotypes recherchés. L'observation des septations, de la forme et du branchement des hyphes, des structures de sporulation et des spores sont une partie des caractères observés pour identifier correctement le champignon. Des méthodes d'analyse biochimiques peuvent également apporter des informations sur le champignon. La détermination du contenu en acide gras, de la composition de la paroi cellulaire, de la composition en protéines ou encore des métabolites secondaires font partie des critères étudiés.

Depuis quelques années des méthodes d'identification basées sur des techniques de biologie moléculaire ont fait leurs preuves et se sont imposées par leur fiabilité. Ces techniques sont majoritairement basées sur l'ADN.

L'amplification par le PCR de régions spécifiques est une méthode puissante pour l'analyse ciblée d'un type de champignon (Hsu et al. 2003). Le polymorphisme d'amplification d'ADN aléatoire (Random Amplified Polymorphic DNA: RAPD) est une méthode consistant à amplifier à l'aide d'amorces dégénérées des cibles aléatoires. Le profil de bandes obtenu peut être caractéristique et permettre la distinction d'espèce de champignons (Carnegie et al. 2001) mais aussi de races du même champignon (Mar Jimenez-Gasco et al. 2003). Les méthodes basées sur l'analyse du polymorphisme de la taille de fragments de restriction (Restriction Length Fragment Polymorphism : RFLP (Botstein et al.1980) et la combinaison PCR et RFLP: analyse du polymorphisme de fragments amplifiés (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences: CAPS) sont également des méthodes robustes (Kamiya et al. 2004). Ces méthodes de biologie moléculaire reposent sur des séquences cibles spécifiques à l'exception de l'analyse RAPD. Parmi les cibles classiquement utilisées pour les identifications, on retrouve l'ADN ribosomique (ADNr), l'ADN mitochondrial et parfois des séquences répétées de type microsatellites. Actuellement près de 700000 séquences d'ADNr fongiques sont disponibles dans le Genbank. Pour l'identification des champignons filamenteux, la cible prépondérante est l'ADNr (Guarro et al. 1999). L'avantage de cette cible est multiple. Il s'agit de séquences répétées dans le génome et retrouvées dans tous les organismes vivants. L'unité minimale se compose de plusieurs parties, des séquences très conservées (18S, 5.8S et 28S) alternant avec des séquences beaucoup plus variables (ETS, ITS1, 2 et IGS).

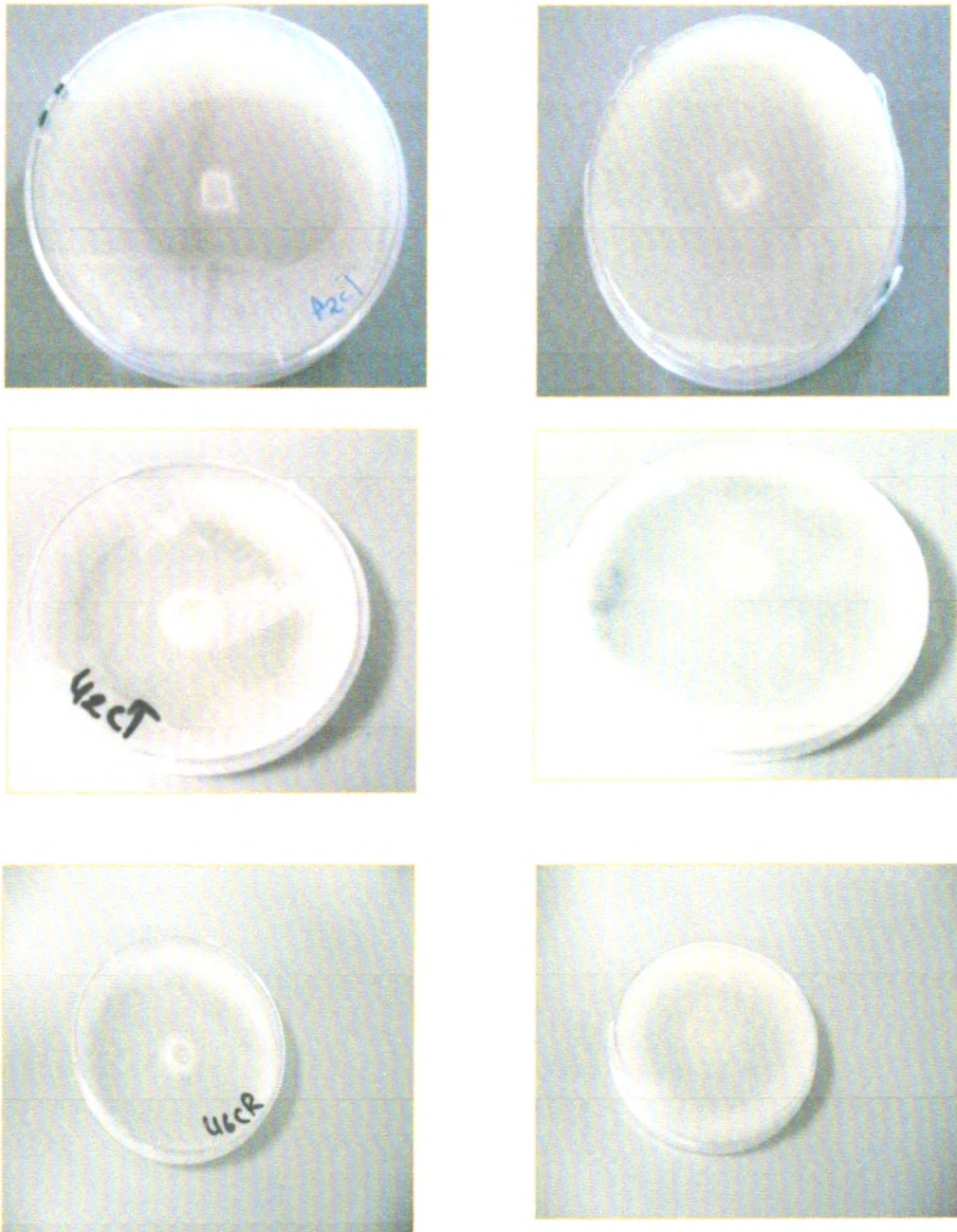
### II.3- Caractérisation morphologiques des isolats de *Globisporangium*

Les isolats de *Globisporangium* ont été identifiés selon la clé taxonomique de Plaats-Niterink (1981). En effet, dans sa monographie du genre *Globisporangium*, Plaats-Niterink a subdivisé les espèces du genre *Globisporangium* en trois groupes: espèces dont l'Oogone est à paroi lisse, espèces dont oogone est à paroi ornementée et espèces hétérothalliques ou asexuées. Dans cette étude nous nous sommes basés sur des critères morphologiques comme les dimensions et le type de l'Oogone, leur forme et leur position (terminale ou intercalaire), les dimensions et les types des Oospores, plérotiques (remplissant totalement l'Oogone) ou aplérotiques (ne remplissant pas l'Oogone), la taille de la paroi des Oospores et la morphologie de l'antheridie, qui est un critère difficile à utiliser dans l'identification car elle disparaît souvent après la fécondation. Elle peut être monocline ou dicline selon qu'elle est portée par le même filament que l'Oogone ou non. L'analyse combinée de l'examen

macroscopique et microscopique des cultures purifiées, a permis d'identifier les champignons isolés. D'après les caractéristiques citées nous avons pu identifier quatre espèces :

- *Globisporangium ultimum var ultimum*

Sur le milieu CMA, les colonies sont cotonneuses d'une couleur blanche (**Planche07**). Le mycélium est hyalin et bien développé, les filaments sont très ramifiés et peuvent atteindre des diamètres de 5 $\mu$ m (**Tableau 16**). Les sporocystes et les Zoospores sont absents pour tous les isolats. Les Oogones sont globuleuses à paroi lisse, en position intercalaire et parfois terminale (**Planche 08; Figure 23**). Leur diamètre varie de 19 à 27 $\mu$ m (23,5 $\mu$ m en moyenne). Les anthéridies sont monoclines et occasionnellement diclines, portés par des pieds (**Planche 09**) ou émergeant directement de la base des Oogones (**Planche10**). Les Oospores sont sphériques à paroi lisse, aplérotique (**Planche08**). Elles mesurent entre 18 à 22 $\mu$ m (20.02 $\mu$ m en moyenne) et ont une paroi de 1 à 3 $\mu$ m d'épaisseur (**Tableau16**). L'indice de l'Ooplast est variable de 8.02 à 15.74% et indice de l'épaisseur de la paroi est variable de 29.70 à 42.99% (**Tableau 16**).



**Planche07:** Aspect macroscopiques des cultures de *Globisporangium ultimum var ultimum*.  
cultivé sur le milieu CMA en boîtes de Pétri.

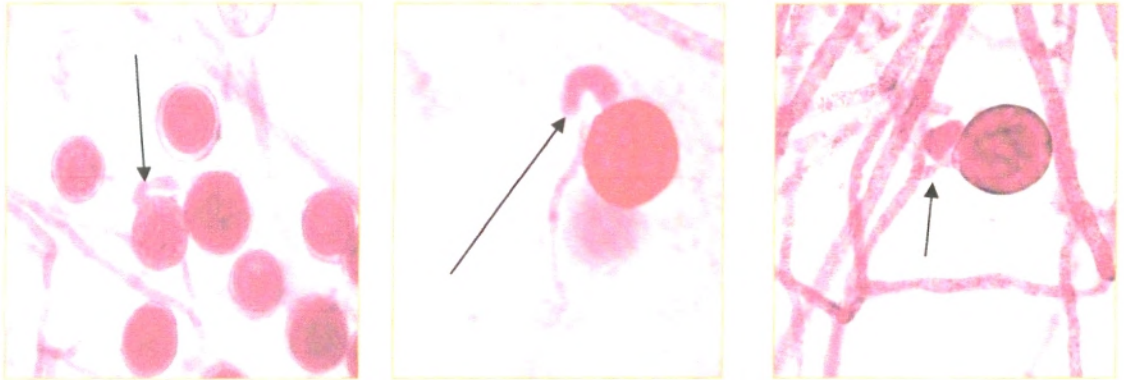


Planche 08 : Position monoclines des antheridies chez *Globisporangium multimum var. ultimum*.

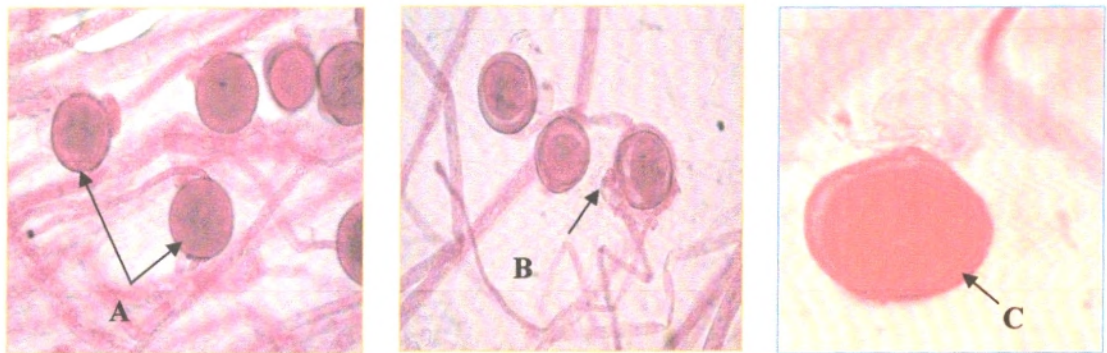


Planche 09 : Structures de la reproduction sexuée chez *Globisporangium multimum var. ultimum* (A : Oogone, B: anthéridie, C: Oospore).

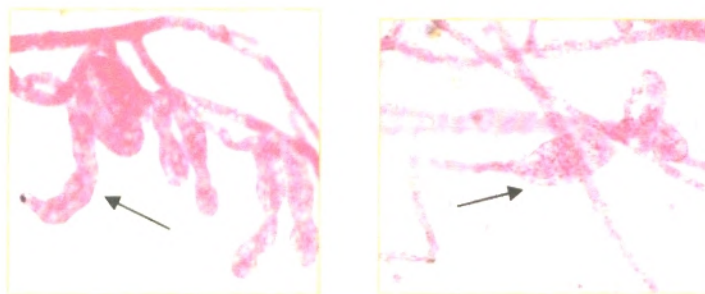
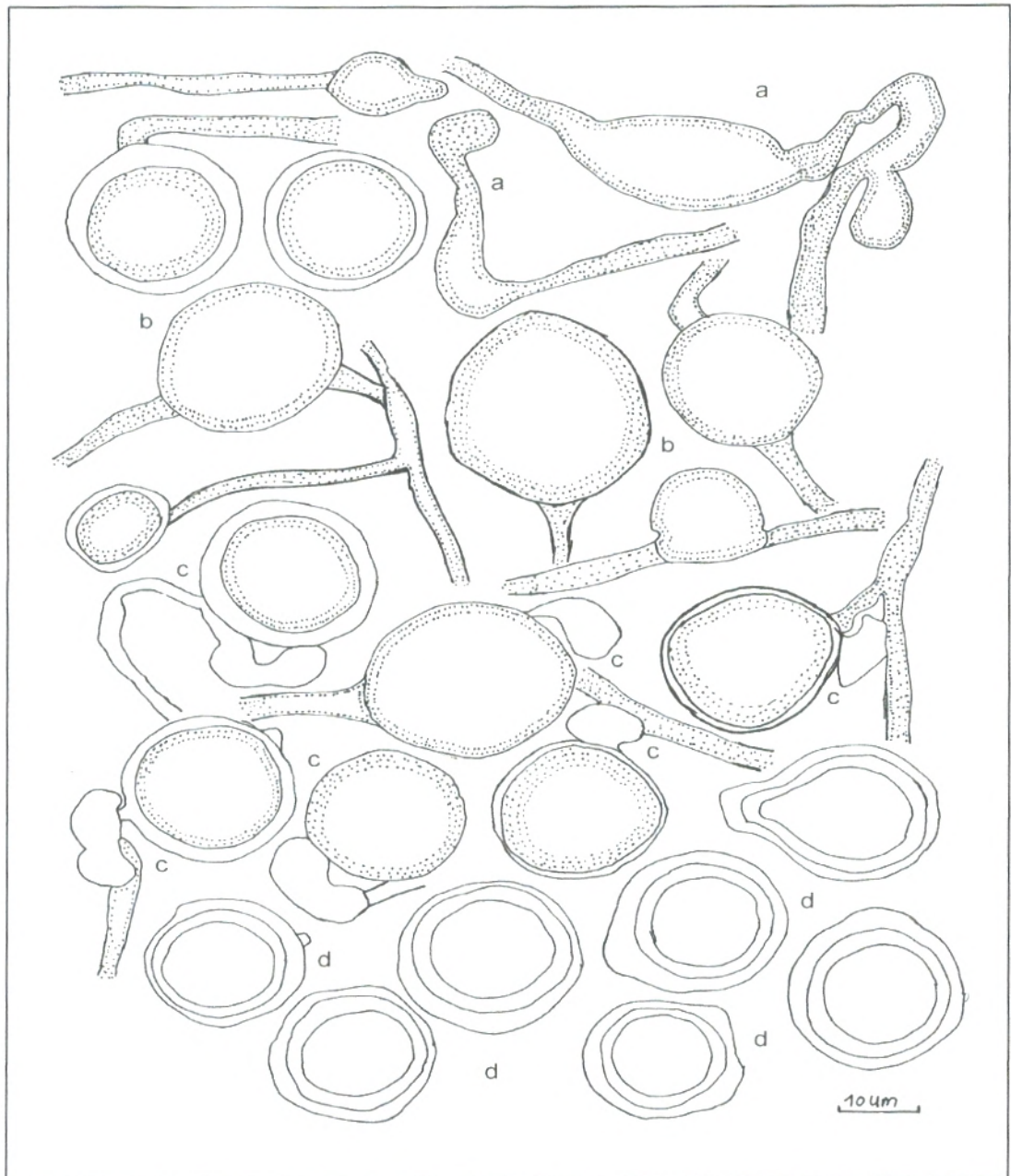


Planche 10: Morphologie des appressorium chez *Globisporangium multimum var. ultimum*.



**Figure 23:** *Globisporangium ultimum var ultimum* a) appressorium, b) oogone, c) la position de l'antheridie, d) Oospore.

- *Globisporangium ultimum*

Le mycélium de ces isolats est hyalin et bien ramifié, les filaments principaux ont 7µm de diamètres. Nous avons enregistré l'absence des structures de la reproduction asexuée. Les Oogones sont sphériques ou subsphériques à paroi lisse, en position terminale ou intercalaire (**Planche13; Figure 24**). Les Oogones ont un diamètre de 20 à 25µm (**Tableau 16**). Les anthéridies sont généralement monoclines rarement diclines(**Planche14**). Il y a une anthéridie par Oogone, leur dimension est de 13×7µm. Les Oospores sont sphériques à paroi lisse, aplérotiques (**Planche14**). L'indice de l'Ooplast est variable de 12.41 à 12.71% et l'indice de l'épaisseur de la paroi est variable de 35.75 à 41.99%(**Tableau 16**). L'épaisseur de la paroi des Oospores est variable de 1 à 3µm. En se basant sur l'analyse comparative de l'ensemble de ces caractères macroscopiques et microscopiques avec les clés de déterminations de **Plaats-Niterink (1981); Dick (1990)**, nous avons pu identifier les isolats U4CR, U2CR et UIRT comme *G. ultimum*.

- *Globisporangium glomeratum*

Les cultures de cette espèce ont un aspect ras et présentent des structures chrysanthémiques sur le milieu CMA. Le mycélium est bien ramifié mesurant jusqu'à 5 µm de diamètre. Nos isolats ne produisent pas de sporanges et zoospores, même après une incubation prolongée dans l'eau à des températures minimales. *G. glomeratum* ne forme pas aisément des structures de reproduction asexuée. Les Oogones ont des parois lisses (**Planche11; Figure 26**), généralement sphérique, mais parfois ovoïde; la plupart du temps sont intercalaire et parfois terminal mesurant de 16-23 µm de diamètre (**Tableau 16**).

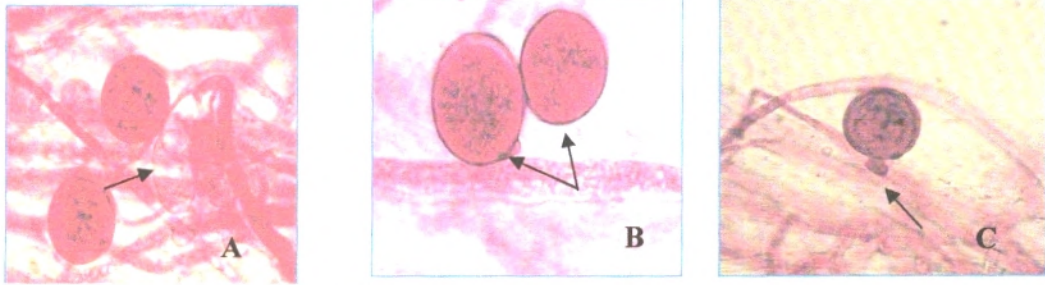
- *Globisporangium heterothallicum*

Le mycélium est hyalin et bien ramifié, les filaments myceliens peuvent mesurer jusqu'à 7µm de diamètre. Les Oogones sont sphériques à paroi lisse, en position intercalaire de 20-27µm de diamètre (**Tableau 16; Planche 12; Figure 25**). Les Oospores sont sphériques à paroi lisse et plérotiques. Elles mesurent entre 18-24µm et ont une paroi de 0,75 µm d'épaisseur. En tenant compte de la systématique adoptée par **Plaats-Niterinkn (1981)** et **Dick (1990)**, l'ensemble des caractères cultureux et morphologiques de l'isolat U15RS suffisent à identifier l'espèce à *G. heterothallicum*.

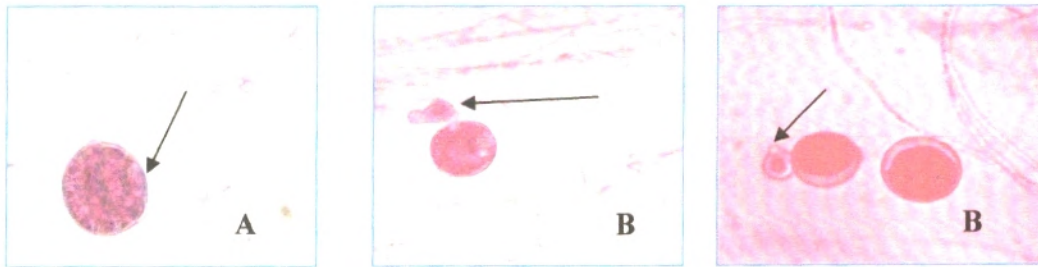


**Tableau 16:** Mensuration des différents organes de *Globisporangium ultimum* (U1RT, U2CR, U4CR, U7CR) *G. herothallicum* (U15RS) et *G. glomeratum*(U35RS).

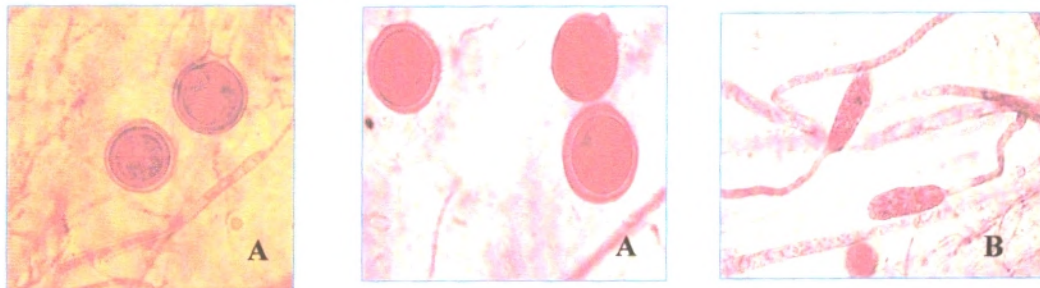
Morphologie	Les isolats de <i>G. herothallicum</i> et <i>G. glomeratum</i>					
	U1RT	U2CR	U4CR	U35RS	U15RS	U7CR
<b>La longueur Anthéridie (µm)</b>	5-13	5-15	6-14	6-14	7-13	14-23
<b>Moy.± SE</b>	9.71±1.57	11.05±1.54	14.33±2.25	9.66±1.48	7.96±1.46	17.07±1.89
<b>La largeur Anthéridie (µm)</b>	6-11	6-10	7-10	8-10	5-10	4-10
<b>Moy±SE</b>	6.85±1.17	6.88±0.88	6.06±1.15	7.26±2.14	6.85±1.34	7.42±1.20
<b>Oogone diam(µm)</b>	20-26	22-23	22-24	19-20	17-20	20-22
<b>Moy.±SE</b>	21.5±1.05	21.5±2.54	22.80±0.57	19.99±1.59	17.42±0.64	20±0.50
<b>Oospore diam (µm)</b>	18-20	18-19	19-20	16-20	17-20	14-19
<b>Moy. ±SE</b>	19.61±1.94	17.52±0.46	19.28±0.53	17.09±1.12	15.45±0.63	15.42.28±0.48
<b>Épaisseur de Paroi (µm)</b>	2-3	2-3	2-3	1-2	1-2	1-2
<b>Moy ±SE</b>	1.95±0.15	2.5±0.45	2.25±0.20	1.54±0.20	1±0.00	1.54±0.00
<b>Ooplast</b>	15-18	14-16	14-17	/	/	/
<b>Moy ±SE</b>	16.11±0.90	15±0.43	15.50±0.58	/	/	/
<b>Aploretique index%</b>	69.67	65.05	62.33	/	/	/
<b>Indice de la paroi %</b>	41.99	41.16	35.75	/	/	/
<b>Indice d'Ooplast %</b>	12.71	12.41	12.45	/	/	/
<b>Mycélium</b>	4-8	4-5	5-7	5-6	3-6	3-6
<b>Moy ±SE</b>	5.76±0.73	4.5±0.55	5.04±0.34	4.95±0.44	3.70±0.59	4.42±0.54



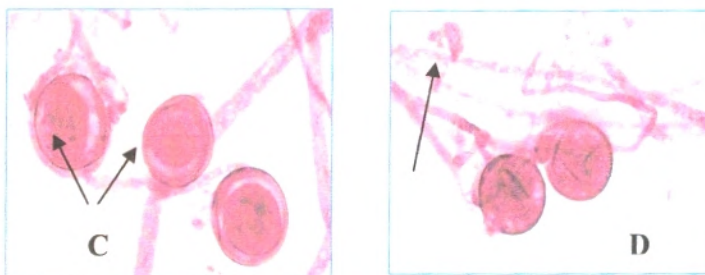
**Planche11: Observation microscopique de *Globisporangium glomeratum*: A: Appressorium, B: Oogone, C: Anthéridie.**



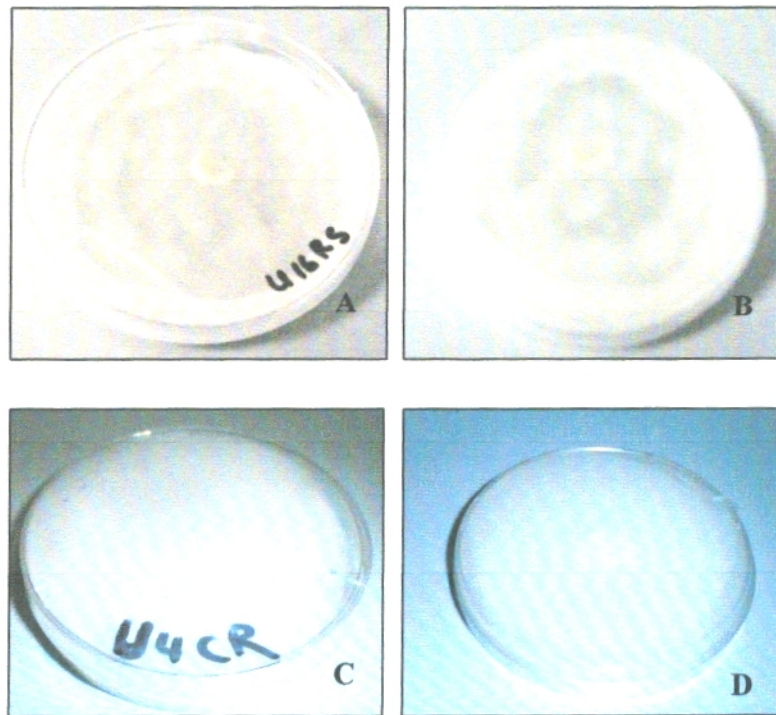
**Planche12: Observation microscopique de *Globisporangium heterothallicum*: A: Oogone, B, C: Anthéridie.**



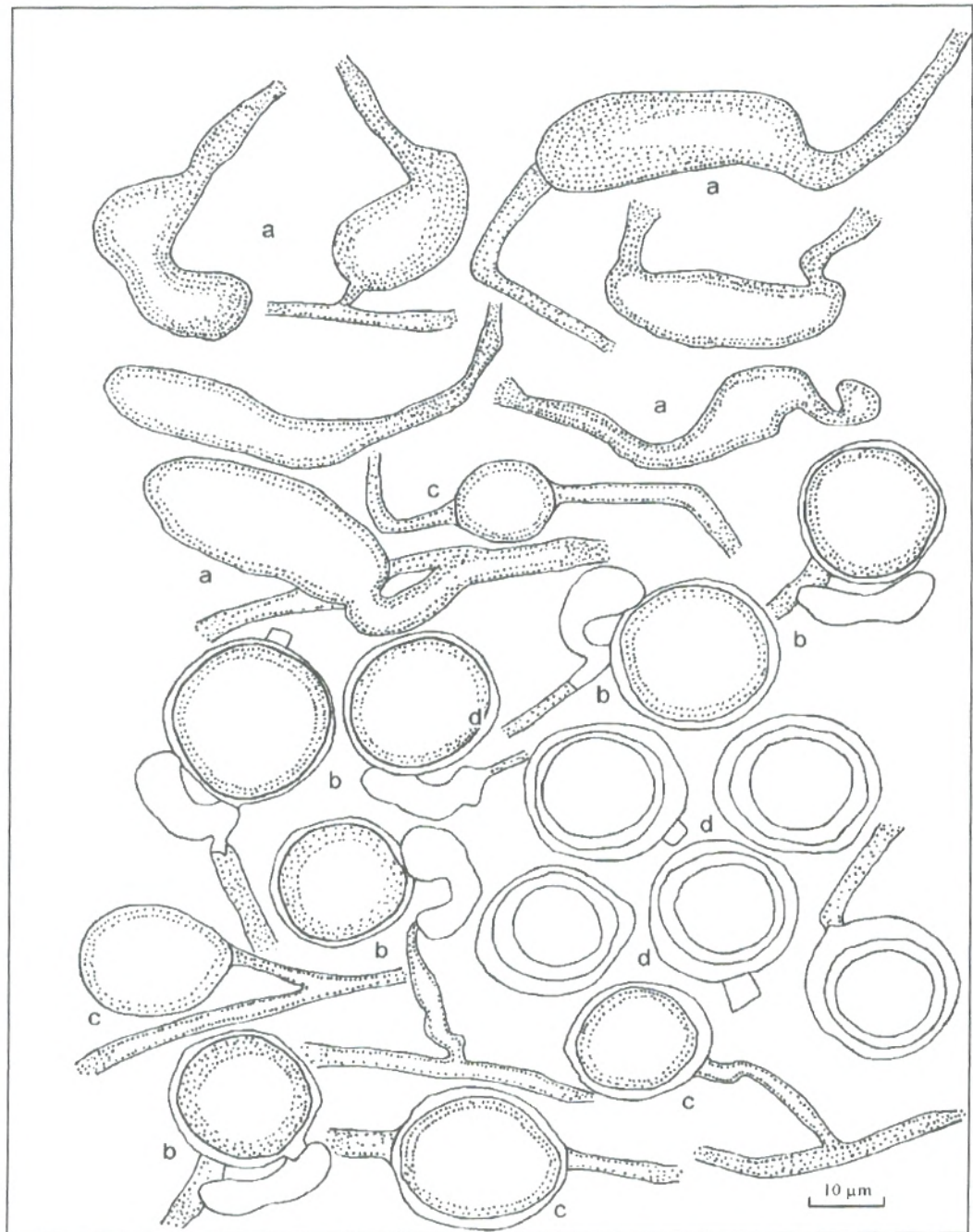
**Planche13: Observation microscopique *Globisporangium multimum*: A: Oospore, B: Appressorium.**



**Planche14: Observation microscopique de *Globisporangium ultimum*: C: Oogone, D: Anthéridie.**



**Planche 15:** Observation macroscopiques des colonies de *Globisporangium heterothallicum* (A, B) et *Globisporangium glomeratum* (C, D).



**Figure 24:** *Globisporangium ultimum* a) Appressorium, b) la position de l'antheridie, d) Oospore, c) Oogone.

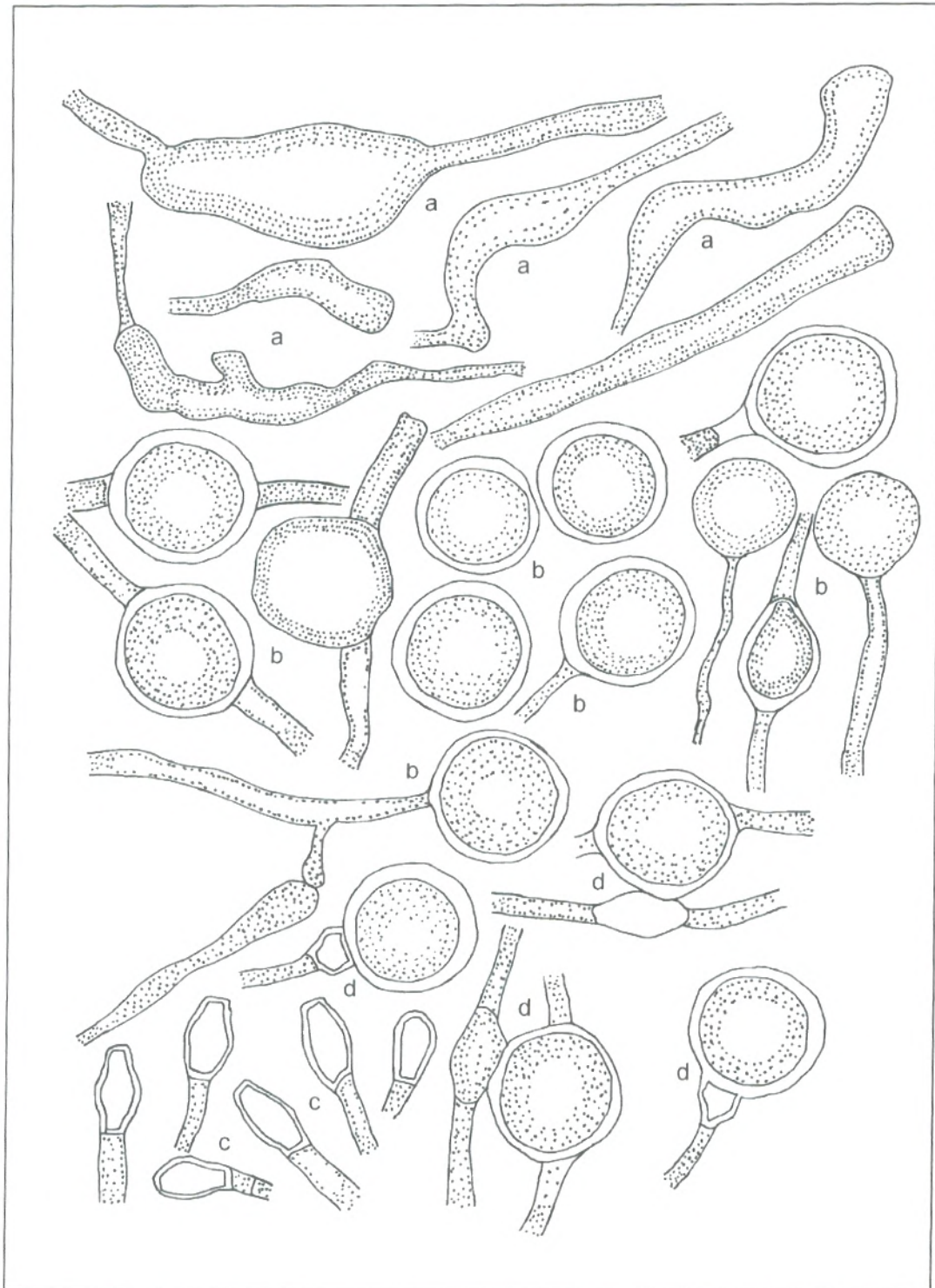


Figure 25: *Globisporangium heterothallicum* a) Appressorium, b) la position de l'antheridie, d) Oospore, c) Oogone.

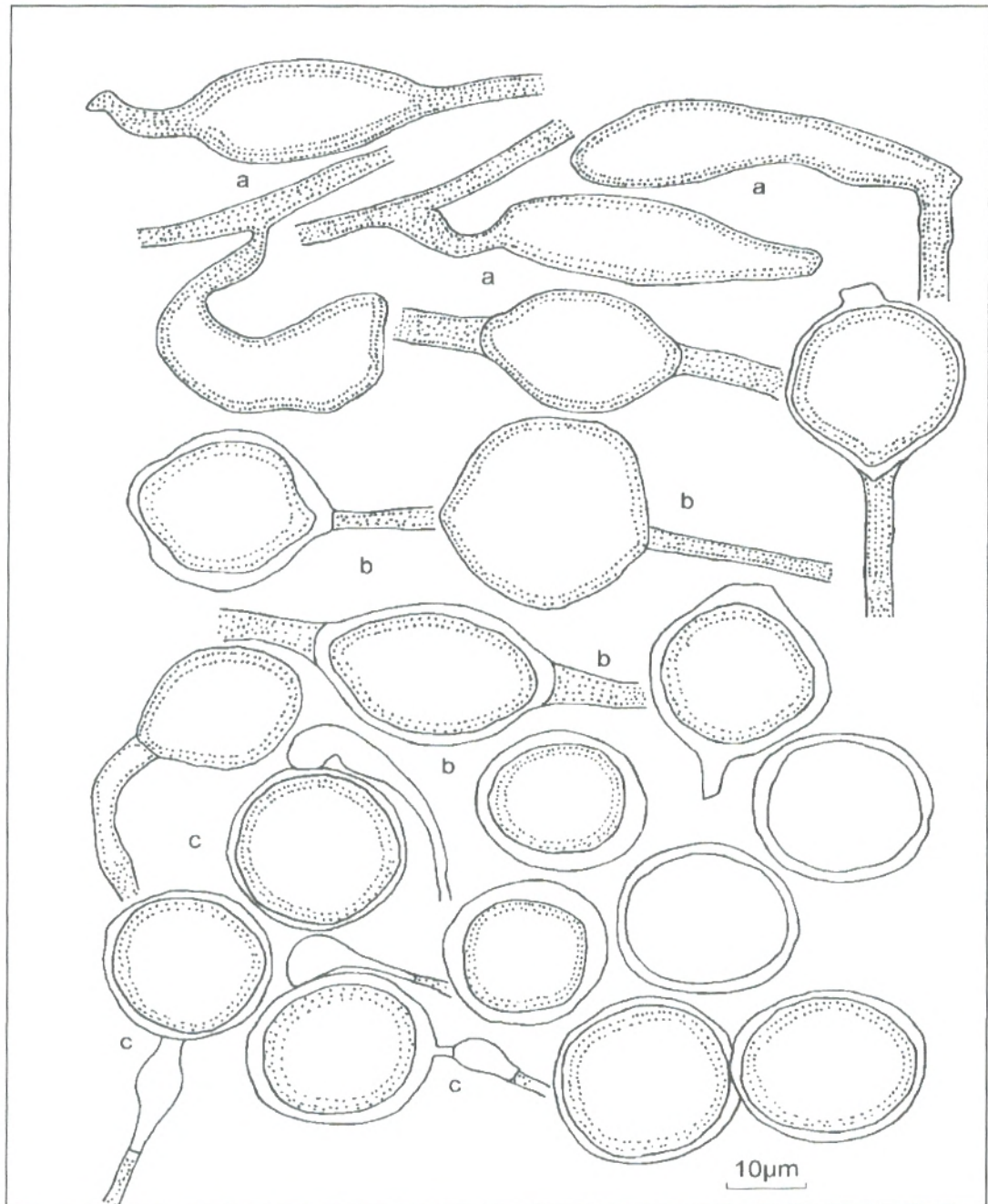


Figure 26: *Globisporangium glomeratuma*) Appressorium, b) Oogone, c) anthéridie, d) la position de l'anthéridie.

## II.4-Caractérisation moléculaire des isolats de *Globisporangium* sp.

### II.4.1-Identification moléculaire des espèces isolées

Afin de compléter l'identification morphologique, nous avons analysé les séquences ITS obtenues et ceci en deux étapes: Premièrement, la recherche dans toutes les banques de données, à l'aide de logiciel BLAST des espèces dont les ITS présentent le plus d'homologie avec la séquence analysée. Deuxièmement, la comparaison des séquences soit par l'alignement multiple avec le logiciel CLUSTALW. Cette étude nous a permis d'obtenir dix-sept séquences correspondant à nos isolats. Ces séquences ont été déposées dans le NCBI-Genbank sous les numéros d'accès indiqués dans le (**Tableau 17**). Ces séquences ne sont pas totalement complètes à cause des pertes au cours de la purification de l'ADN (**Tableau 17**). Une fois les différentes zones ITS et 5,8S localisées, les séquences sont soumises dans la banque de données internationales GenBank (NCBI).

Les résultats obtenus montrent que les isolats: U7CR, U6RR, U8CR, U6CR, U1RT, U5RT, U2CR, U2RR, U4CR, U12RT, U14CR, U7RT, U17CT avec les numéros d'accès JX191921, JX191922 et JX191924 jusqu'à JX191935, respectivement, présentent une homologie à 100% avec les espèces suivantes: *G. ultimum* var *ultimum* (NoUZ056 MAFF240024 (GenBank Accession No. AB468781) (**Uzhashi et al. 2010, Lazreg et al. 2013 d**). Les isolats de *G.ultimum* avec les numéros d'accès (JX191927, JX191929, JX191931) ont présentés 100% d'homologies (NoUZ056 MAFF240024 (GenBank Accession No. AB468781) (**Uzhashi et al. 2010**).

L'analyse de la séquence ITS de U16RS a montré qu'elle présente une similitude à 90% avec les souches: *G. heterothallicum* (NosHQ643543). En se basant sur la description morphologique présentée dans le chapitre précédent, nous avons aligné les séquences de U16RS avec *G. heterothallicum* ce qui nous a donné 97,8% d'homologies (**annexe 04**). La combinaison des deux caractérisations morphologiques et moléculaires nous a permis d'identifier la souche U16RS comme *G. heterothallicum*.

Les résultats ont montré que les isolats U35RS et U15RS à 84% d'homologie avec *G. glomeratum* (AY270032). L'analyse des séquences a montré également que les isolats U35RS et U15RS correspondent à *G. glomeratum* ce qui confirme notre identification morphologique.

**Tableau17:** Numéros d'accèsion donnée par NCBI-GENBANK et les caractéristiques des séquences des 17 isolats étudiés.

Taxon	Isolats	Taille pb	ITS1	ADNr 5.8s	ITS2	GenBank accession
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U3CR	787	1-192	193-351	352-787	JX191921
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U7CR	787	1-192	193-351	352-787	JX191922
<i>G. heterothallicum</i>	U15RS	764	1-183	184-341	342-764	JX191923
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U6RR	683	1-94	95-258	259-683	JX191924
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U8CR	726	1-193	194-352	353-726	JX191925
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U6CR	806	1-165	166-325	326-806	JX191926
<i>G. ultimum</i>	U1RT	751	1-169	170-328	329-751	JX191927
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U5RT	747	1-175	176-335	336-747	JX191928
<i>G. ultimum</i>	U2CR	751	1-169	170-328	329-751	JX191929
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U2RR	769	1-169	170-328	329-769	JX191930
<i>G. ultimum</i>	U4CR	751	1..169	170..327	328..750	JX191931
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U12RT	783	1-170	171-329	330-783	JX191932
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U14CR	787	1..192	193..351	352-787	JX191933
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U7RT	773	1-169	170-328	329-773	JX191934
<i>G. ultimum var uttimun</i>	U17RT	773	1-169	170-328	329-773	JX191935
<i>G. glomeratum</i>	U35RS	764	1..183	184..341	342-764	JX191936
<i>G. glomeratum</i>	U16RS	754	1-169	170-328	329-754	JX191937

Nous avons pu identifier quatre espèces: *G. ultimum var ultimum*, *G. ultimum*, *G. heterothallicum* et *G. glomeratum*. En se basant sur les descriptions mycologiques de **Plaats-Niterink (1981)**, ces quatre espèces appartiennent au groupe dont des Oogones sont à paroi lisse. Les mensurations des organes reproductrices des isolats de *G.ultimum var. ultimum* correspondent à ceux obtenues par **Sultan et al. (1997)**; **Abdul-Haq and Shahzad,**



(1998);Uzhashi et al. (2010). L'Oogone est lisse, parfois avec une papille et quelques-unes globuleuses intercalaires mesurant de 20 à 24  $\mu\text{m}$  de diamètre. Les anthéridies sont monoclines et parfois diclines. Pour cette espèce l'indice Aplerotic est de 72,9%, l'indice d'Ooplast est de 13% et l'indice de la paroi est de 27,4%. *G. ultimum* var. *ultimum* produit un mycélium aérien cotonneux sur le CMA (Abdul-Haq and Shahzad, 1998). La plupart des caractères cultureux et morphologiques de nos isolats U16RS U35RS sont identiques à ceux décrites par Paul (2003). *G. heterothallicum* est caractérisé par la présence des Oogones globuleux, terminal ou intercalaires, mesurant de 21 à 25 $\mu\text{m}$  de diamètre. Nous avons noté l'absence des sporanges et des zoospores (Plaats-Niterink, 1981).

Cependant, en Afrique du Nord, c'est la première fois que *G. ultimum* var *ultimum* a été isolée et décrite. La caractérisation moléculaire est basée principalement sur la comparaison des séquences ITS de l'ADNr ou nous avons obtenu de bons résultats. Premièrement, la comparaison des isolats de *G. ultimum* var *ultimum* a montré 100% d'homologie. L'analyse des séquences ITS obtenues nous a donné 100% d'homologie avec *G. ultimum* de 98% d'homologie avec *G. heterothallicum* et de 84% de *G. glomeratum*.

L'identification par l'étude morphologique est un travail de longue haleine et nécessite beaucoup de temps et de patience. Récemment, l'identification de tous les champignons fait appel à une caractérisation moléculaire en guise de confirmation (Rivierre et al. 2005). L'identification morphologique des Oomycètes est très complexe et représente un frein au développement des études concernant ces microorganismes. Basé sur les structures de la reproduction, ce mode d'identification est difficile parfois même impossible à réaliser (Johnson et al. 2002). En effet, certaines espèces ne forment pas de structures sexuées ni en culture simple ni en confrontation avec des espèces hétérothalliques connues (PlaatsNiterink, 1981). Grâce à la biologie moléculaire, les relations phylogénétiques et taxonomiques des champignons entamées depuis de nombreuses années ont pu être enfin achevées (James et al. 2000). Les gènes codant les ARN ribosomiques (ADNr), chez les Oomycètes, sont les régions les plus utilisées dans les études phylogénétiques et taxonomiques (Rivierre et al. 2005). Ces molécules interviennent dans le processus de synthèse des protéines. Les séquences sont organisées en unités répétées en tandem des gènes codant pour l'ARNr 18S, l'ARNr 5.8S, l'ARNr 28S.

Chaque gène ribosomique est séparé par des espaces intergéniques. Les espaces entre l'ADNr 18S et l'ADNr 5.8S et entre l'ADNr 5.8S et l'ADNr 28S, sont des espaces internes des régions ribosomiques transcrites (ITS1 et ITS2 respectivement) qui sont ensuite excisés au cours de la maturation des ARNr. Les séquences nucléotidiques des régions ITS sont excessivement utilisées depuis que **White et al. (1990)** ont développé des amorces universelles permettant leur amplification par PCR (réaction en chaîne de la polymérase).

En effet, plusieurs auteurs se sont intéressés au séquençage de ces régions surtout dans la caractérisation des agents pathogènes tels que les *Pythium* (**Paul et al. 2005, Uzuhashi et al. 2010**). Nous avons identifié dix-sept espèces en se basant sur l'étude moléculaire puis à la comparaison des résultats des deux caractérisations morphologiques et moléculaires. Pour cela, nous avons tout d'abord séquencé les régions ITS de l'ADNr des dix-sept espèces, ensuite comparé ces séquences entre elles et enfin comparé chacune des séquences obtenues avec la ou les séquences les plus proches en se référant au catalogue des ITS du GENBANK.

Il ressort de tout ce qui précède que la caractérisation morphologique est nécessaire pour différencier les espèces qui montrent des critères moléculaires identiques. En effet, récemment, certaines équipes se sont orientées vers d'autres régions dans leurs analyses phylogénétiques. Parmi les éléments d'études choisis, citons à titre d'exemple le gène codant pour le cytochrome oxydase I et II (**Martin et Tooley, 2003; Nechwatal et al. 2005**) ainsi que les gènes codant pour l'actine et la bêta-tubuline (**Harper et al. 2005**).

### Chapitre III: effet des facteurs physiques sur de *Fusarium* et *Globisporangium*

#### III.1- Effet de milieux de culture sur la croissance mycélienne les isolats de *Fusarium* et *Globisporangium*

##### III.1.1- Effet de milieux de culture sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium*

Les isolats de *Fusarium* ont présenté une croissance diamétrale plus élevée sur le milieu PDA (**Tableau 18**) où le mycélium est dense. La croissance diamétrale est aussi élevée sur les milieux KCL et SNA, mais la densité mycélienne est moyenne. La croissance mycélienne des espèces de *Fusarium* a été significativement différente après 2 jours d'incubation ( $F=19.51$ ;  $df=20$ ;  $P>0.0001$ ), 4 jours ( $F=16.79$ ;  $df=20$ ;  $P>0.0001$ ) et 6 jours ( $F=13.17$ ;  $df=20$ ;  $P>0.0001$ ). Les isolats de *F. redolens* et *F. acuminatum* ont présenté la meilleure croissance et sporulation sur les milieux PDA, SNA et KCL (**Tableau 18**). Les milieux synthétiques, SNA et KCL à base du glucose, comme source de carbone, favorisent le développement mycélien et la sporulation des isolats testés.

Les isolats se développent sur divers habitats dans la nature et nécessitant plusieurs éléments spécifiques pour leur croissance et reproduction. Les facteurs physiques et chimiques ont un effet prononcé sur les caractères physiologiques d'un champignon. Par conséquent, il est souvent nécessaire d'utiliser plusieurs milieux artificiels en tentant d'identifier un champignon, la croissance mycélienne et la sporulation sont des caractères biologiques importants (**St-Germain et Summerbell, 1996**). Une large gamme de milieux sont utilisés pour l'isolement des différents groupes des champignons qui influent la croissance végétative et la morphologie, la pigmentation et la sporulation en fonction de la composition du milieu de culture, le pH, la température, la lumière et la disponibilité de l'eau (**Kuhn et Ghannoum, 2003; Kumara et Rawal, 2008, Zain et al. 2009**).

Le PDA est l'un des milieux de culture les plus couramment utilisés en raison de sa formulation simple et sa capacité à provoquer la croissance mycélienne d'un large éventail de champignons. Plusieurs chercheurs ont démontré que le milieu de PDA est le meilleur support pour la croissance mycélienne (**Xu et al. 1984; Maheshwari et al. 1999; Saha et al. 2008**).

Tableau 18: Effet de milieux de cultures sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium*.

Milieux Isolats	SNA			KCL			PDA		
	2j	4j	6j	2j	4j	6j	2j	4j	6j
F5RS3	1.61±0.13 PQ	2.40± 0.15M	5.25 ±0.13I	2.50±0.00 IJK	5.25±0.05 EFG	7.58±0.00 ABC	2.48± 0.36 JKL	5.25±0.14 EFG	7.58±0.30ABC
F8RS3	3.11 ± 0.11 DEF	4.68± 0.26 EFG	8.13±0.20ABC	4.41±0.04 BCD	7.20±0.04 ABC	8.50±0.07 AB	3.40± 0.65CDE	6.35±0.05 ABC	7.63± 0.14 ABC
F09SS1	3.933± 0.24 BCDE	5.88± 0.18 BCD	8.13±0.07ABC	3.08± 0.03 DEF	6.11± 0.52 ABC	8.38± 0.33 AB	4.58± 0.08 ABC	6.11±0.04 ABC	8.50±0.00 AB
F91SR	3.40± 0.12 CDEF	7.20±0.10ABCD	8.50±0.00AB	3.03± 0.16 DEF	5.50± 0.13 CDE	7.71± 0.00 ABC	2.61± 0.45 IJK	5.46±0.27 DEF	8.06±0.06 ABC
F55RS1	2.55± 0.13 IJKLM	6.01± 0.14 BCDE	8.13±0.21ABCD	2.91± 0.16 FGH	6.26± 0.19 ABC	8.50±0.00 AB	3.16±0.08 DEF	4.88± 0.19 EFG	8.00±0.14 ABC
F12SS1	2.75± 0.21 HIJ	4.21±0.71FGH	7.23±0.62ABC	4.05± 0.43 BCD	6.35±0.26 ABC	8.50± 0.19 AB	4.05± 0.16BCD	6.35±0.19 ABC	8.50±0.00 AB
F30SS3	3.90± 0.23 BCD	5.33± 0.18 EFG	7.91±0.30ABC	3.80± 0.26 BCD	6.01±0.14 ABC	8.11±0.14 ABC	4.25±0.14 BCD	5.90± 0.20 BCD	7.61± 0.44 ABC
F25RS3	2.13± 0.08 LMN	5.10±0.57 EFG	8.25± 0.14 ABC	2.78±0.23 GHI	4.75±0.29 EFG	7.23± 0.48 BC	3.76±0.14 BCD	4.75±0.14 EFG	7.23± 0.14 ABC
F14SS3	1.85± 0.05 NOP	4.25± 0.16 FGH	6.71± 0.14 CDE	2.55± 0.38 IJK	4.93±0.38 EFG	6.96±0.19 BCD	4.93± 0.29 ABC	6.31± 0.16 ABC	8.16± 0.33 ABC
F2RR	3.31± 0.19 DEF	5.23± 0.38 EFG	7.83± 0.36 ABC	2.75±0.20 HIJK	4.75±0.42 EFG	7.33± 0.29 BC	1.91±0.13 MNO	3.48± 0.26 JKL	7.33±0.19 ABC
F44SS3	3.51± 0.10BCD	5.70±0.40BCD	8.08±0.10 ABC	2.90± 0.20 FGH	4.65± 0.08 EFGH	7.55± 0.39ABC	2.90± 0.20FGHI	4.65±0.42 EFG	8.05± 0.05ABC
F39SS3	3.01± 0.04EFG	5.61± 0.48 BCD	8.31± 0.18 ABC	3.16± 0.14 DEF	5.16±0.49 EFG	7.80± 0.06 ABC	3.16± 0.20DEF	7.40±0.18AB	8.50±0.00 AB
F12RR	3.46± 0.08CDE	4.66± 0.23 EFG	7.61± 0.31 ABC	3.25±0.06 DEFG	5.73± 0.26 BCD	7.86±0.39 ABC	4.31± 0.22 BCD	7.36± 0.29 AB	8.26± 0.23 ABC
F4RS1	2.88± 0.21 FGH	3.31± 0.09KLM	6.13± 0.18 GHI	2.03± 0.18 LMN	4.78± 0.45 EFG	6.90±0.33 BCD	2.03±0.06 LMN	4.78±0.26 EFG	6.90±0.39 BCD
F16RS3	3.86± 0.26 BCD	4.68±0.39 EFG	7.48±0.07ABC	3.73±0.45 BCD	6.13±0.20 ABC	7.83± 0.04 ABC	6.13±0.45A	7.83± 0.33 A	8.50±0.10 A
F3PRT	4.25± 0.35 BCD	6.25±0.10ABC	8.26±0.12ABC	2.61±0.16 IJKL	5.55±0.32BCD	7.93±0.16ABC	3.03±0.03DEF	4.83±0.22EFG	7.85±0.31ABC
F6RS3	1.36±0.01Q	3.11±0.06 LM	5.83±0.32HI	2.66± 0.29 IJK	5.03±0.29EFG	7.83±0.29ABC	3.83±0.16BCD	5.03± 0.32 EFG	7.83±0.16 ABC
F20ST	2.58±0.21IJKL	3.86± 0.16 HIJ	7.13±0.07ABC	2.50± 0.40 IJKL	4.00±0.43GHI	7.50±0.10ABC	4.00± 0.29 BCD	6.16±0.16ABC	8.50±0.00AB
F12RT	4.00±0.08BCD	4.93±0.23 EFG	8.03±0.39ABC	3.76±0.50BCDE	5.63±0.29BCD	8.20±0.62ABC	5.06± 0.29AB	7.35± 0.10 ABC	8.50±0.00AB
F3RS1	2.26±0.14KLM	3.83±0.16IJK	6.66±0.44DEF	2.50± 0.29 IJK	4.50±0.33EFG	6.35±0.17FGH	4.50± 0.29 BCD	6.35±0.62 ABC	7.51±0.29ABC
F19RS1	1.81±0.31OPQ	3.83±0.44IJKL	6.45±0.24EFG	3.45± 0.36 CDE	5.05±0.14 EFG	7.15±0.30ABC	2.13±0.08 LMN	3.96± 0.28 GHIJ	7.20±0.31 ABC

La présente étude a indiqué que le PDA était le meilleur milieu pour la croissance mycélienne de nos isolats. Ces résultats sont confirmés par ceux obtenus par **Ingole (1995)** qui a trouvé que les deux milieux de culture PDA et Richard sont les meilleurs milieux pour la croissance mycélienne de *Fusarium*. **Jamaria (1972)** a également montré que les milieux PDA, Richard et Czapek donnent une croissance et une sporulation maximale de *F. oxysporum*. **Anjaneya Reddy (2002)** a observé une croissance maximale de *F. udum* sur le PDA et le milieu Richard. Récemment **Chittem et Kukarni (2008)**; **Imran Khan et al. (2011)** ont étudié l'effet des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *F. oxysporum* et ont constaté que le milieu PDA est le meilleur milieu pour la croissance de différentes souches.

### III.1.2- Effet du pH sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium*

Selon les résultats présentés dans le **Tableau 19** nous avons remarqué que le pH 4.5 et 8.5 ont une influence sur la croissance mycélienne de quelques isolats. La croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* a été significativement variable après 2 jours d'incubation ( $F=89.13$ ;  $df=20$ ;  $P>0.0001$ ), 4 jours ( $F=166$ ;  $df=20$ ;  $P>0.0001$ ) et après 6 jours ( $F=210.17$ ;  $df=20$ ;  $P>0.0001$ ). Nous avons enregistré que le pH 6.5 a favorisé une bonne croissance pour la plupart des isolats. Les isolats des espèces étudiées se comportent différemment aux différents pH. L'optimum de croissance mycélienne est observé à un pH neutre et les isolats sont capables de tolérer les pH acides et alcalins.

Les résultats de l'effet du pH sur la croissance mycélienne sont similaires à ceux qui sont rapporté par **Moore (1924)**. **Gangadhara et al. (2010)** ont étudié l'effet du pH sur la croissance de *Fusarium* sp. ils ont montré que le pH 6.5 a donné une meilleure croissance que le pH 8.5. **Imran Khan et al. (2011)** ont montré que le pH optimal pour la croissance de *F. oxysporum* est variable entre 6.5 et 7. Par contre, **Agarwal et Sarbhoy (1978)** ont rapporté que les pH acides comprises entre 4.5 et 6.0 favorisant la croissance de tous les *Fusarium* spp.

*F. graminearum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum* et *F. solani* peuvent se développer sur des milieux à pH acide et neutre (3.5 à 6.5). **Farkya et al. (1996)** ont montré que la croissance et la sporulation maximale de *F. solani* a été enregistrées sur un milieu à pH 5.5. Cependant, un pH de 6.5 et 7.0 ont favorisé une croissance et une sporulation optimale du *F. solani* (**Chauhan, 1997 ; Pandav, 2002**).

Tableau 19: Effet du pH sur la croissance mycélienne de *Fusarium* sp.

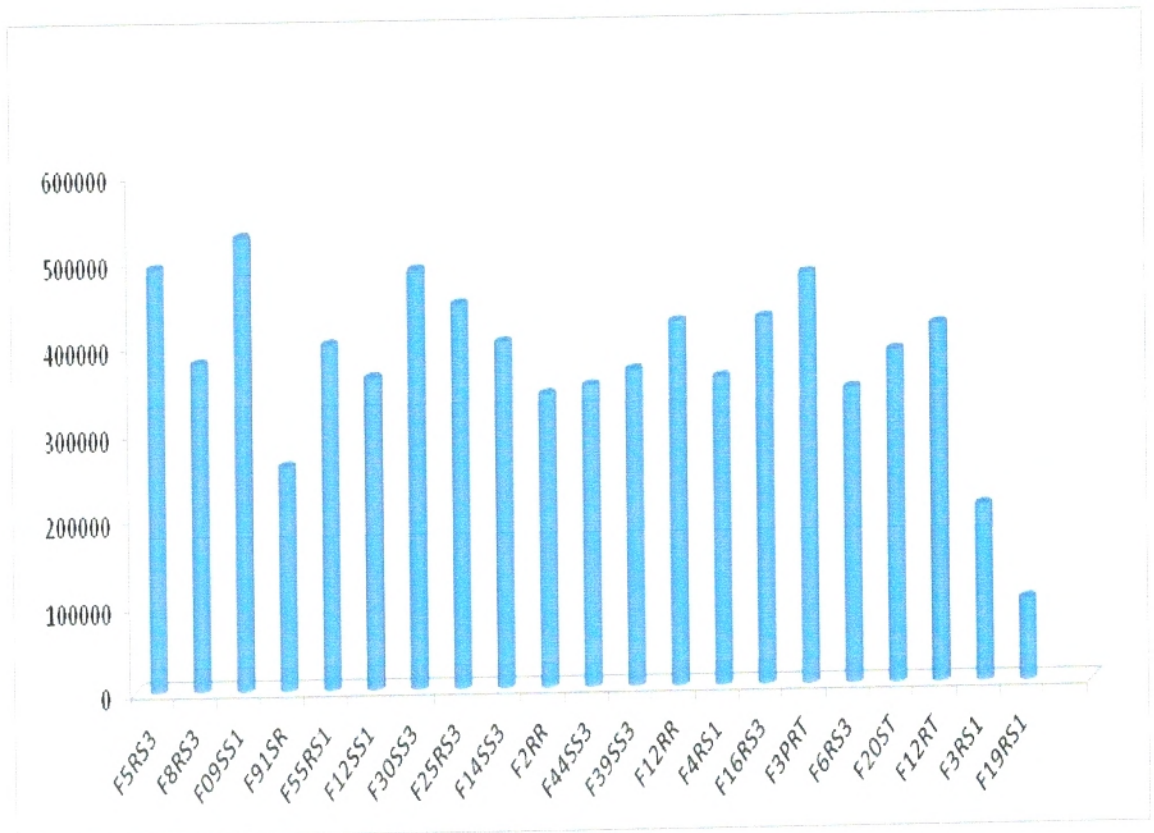
Isolats \ pH	4.5			6.5			8.5		
	2j	4j	6j	2j	4j	6j	2j	4j	6j
<b>F5RS3</b>	2.4 ±0.05 IJKL	6.40± 0.05 CDEF	7.52±0.01 ABCD	2.1± 0.00 KLM	6.25±0.00DEFG	7.42 ±0.01 ABCD	2.83±0.16 DEFG	5.73± 0.25 HIJK	7.98 ±0.3 ABCD
<b>F8RS3</b>	3.1±0.05 BCDE	7.05±0.02 BCDE	8.25±0.02 AB	2.45 ±0.00HIJK	5.47± 0.04 IJKL	6.52± 0.01 GHIJ	3.5±0.28 BCD	6.18± 0.18 DEFG	8.00 ±0.28 ABCD
<b>F09SS1</b>	3.55±0.00 BCD	6.53±0.33 CDEF	8.40 ±0.00 A	3.37 ±0.01 BCDE	8.12±0.01 AB	8.37± 0.01 A	4.61± 0.19 A	6.96±0.37 BCDE	8.46 ±0.03 A
<b>F91SR</b>	2.4 ±0.00 IJKL	7.12 ± 0.36 BCD	7.97± 0.10 ABC	2.27±0.01JKLM	5.44±0.01 IJKL	6.50 ±0.00 HIJK	2.68± 0.28EFG	5.29± 0.45 LMN	7.16 ± 0.33 DEFG
<b>F55RS1</b>	1.72 ±0.01PQRS	5.85 ± 0.08 GHIJ	7.10 ±0.02 EFGH	1.7±0.00 QRST	4.02 ±0.18 OP	5.70 ±0.02 LMN	3.5± 0.28 BCD	5.50±0.28IJKL	7.91± 0.12 ABC
<b>F12SS1</b>	1.65±0.02 RSTU	3.67±0.15 P	4.12± 0.12 PQR	1.60 ±0.02 RSTU	3.15±0.02 PQ	3.56± 0.03 QR	3.33±0.20BCD	5.50±0.40IJK	8.18 ±0.16 ABCD
<b>F30SS3</b>	3.22 ±0.10 BCDE	8.32±0.01 A	8.40 ±0.00 A	6.25±0.00 DEFG	6.25± 0.00 DEFG	7.82 ±0.04 ABC	6.41±0.13 CDEF	6.25 ±0.30 DEFG	8.25 ±0.14 AB
<b>F25RS3</b>	1.47 ±0.01 TUVW	3.16±0.01 PA	4.20±0.31 PQR	3.65± 0.00 P	2.95± 0.05 PA	3.95± 0.02 QR	3.16±0.26 PQ	3.60±0.16 PQ	5.417±0.22 MNO
<b>F14SS3</b>	1.5±0.00 TUVW	6.58±0.05 CDE	3.50 ±0.00 QR	3.6±0.02 PQ	7.1±0.11BCDE	4.52± 0.04 OPQ	6.58±0.15 CDEF	6.7±0.18 CDEF	7.98 ±0.01 4ABC
<b>F2RR</b>	2.75 ±0.00EFGH	5.5 ±0.02 IJKL	8.12±0.01 ABCD	2.55± 0.00 GHIJ	5.67±0.08 HIJ	7.92±0.04 ABCD	3.5± 0.28 BCD	5.17±0.28 MNO	8.21±0.14ABC
<b>F44SS3</b>	2.2 ±0.00 JKL	5.17±0.01 MNO	6.67± 0.01 GHI	2.25±0.00 JKLM	3.02±0.01PQ	6.10± 0.05 KLM	2.25± 0.00 JKL	3.57±0.01 PQ	6.10 ±0.05 KLM
<b>F39SS3</b>	1.47 ±0.01 TUVW	3.47±0.01 PQ	3.47 ±0.01 R	1.62±0.01 RSTU	3.07±0.01PQ	4.37± 0.01 OPQR	1.62± 0.04 RST	3.67 ± 0.17 P	4.53 ±0.11 OPQ
<b>F12RR</b>	1.45 ±0.00 UVW	3.85 ±0.01P	3.60± 0.02 QR	1.9 ±0.00 MNOP	6.72 ±0.00CDEF	3.47±0.00 R	1.9±0.07 MNOP	6.55 ±0.15 CDEF	6.14 ±0.21 JKLM
<b>F4RS1</b>	2.57 ±0.01GHIJ	7.18±0.01 ABCD	7.77± 0.01 ABCD	2.6 ±0.05 FGHI	6.75±0.00CDEF	7.45±0.00 ABCD	3.16±0.16 BCDE	6.72 ± 0.31 CDEF	7.98 ±0.30 ABCD
<b>F16RS3</b>	2.62 ±0.01 FGHI	6.55 ±0.00CDEF	8.00±0.02 ABCD	2.67±0.04 EFG	7.57±0.00ABC	7.77±0.00 ABCD	2.9±0.15 DEFG	6.12±0.18 DEFG	7.95 ±0.05 ABCD
<b>F3PRT</b>	3.1±0.00 BCDE	6.11±0.01 DEFG	8.32±0.01A	2.82 ±0.04 DEFG	5.95±0.01EFGH	7.20 ±0.00 CDEF	2.93±0.06 CDEF	5.60±0.06 HIJK	7.55 ±0.24 ABCD
<b>F6RS3</b>	2.45 ±0.00 HIJK	5.21±0.00 LMN	6.62± 0.01 GHIJ	2.1 ±0.02 KLMN	6.77±0.14 CDEF	6.32± 0.01 IJKL	2.53±0.23 GHIJ	6.25±0.14 DEFG	7.23 ±0.04 BCDE
<b>F20ST</b>	3.07 ±0.01CDEF	6.45±0.04 CDEF	7.50 ±0.02 ABCD	3.65 ±0.02 BC	5.92 ±0.12 FGHI	8.40± 0.00 A	3.81± 0.09 B	5.6±0.27 HIJK	8.46± 0.03 A
<b>F12RT</b>	2.55 ±0.00 GHIJ	5.41 ± 0.04 JKLM	6.75± 0.02 FGHI	2.32 ±0.04 JKLM	2.43±0.05 QR	6.67 ± 0.01 GHI	2.3±0.15 JKLM	1.36±0.14R	7.26± 0.15 BCDE
<b>F3RS1</b>	1.56 ±0.23 STUV	3.38±0.53 P	5.66±0.44 LMN	1.03 ±0.03 W	3.63±0.07 P	3.50± 0.28 QR	1.9± 0.05 LMN	2.43± 0.44 QR	5.70± 0.35 LMN
<b>F19RS1</b>	1.86±0.18 NOPQ	3.63±0.32 P	7.11± 0.19 EFGH	1.13± 0.18 VW	3.03±0.31 PQ	5.08± 0.54 NOP	1.8±0.11 OPQR	4.13 ±0.07 NOP	6.13 ±0.07 JKLM

Tableau 20: Effet de températures sur la croissance mycélienne les isolats de *Fusarium* sp.

Isolats	15°C			25°C			30°C		
	2J	4J	6J	2J	4J	6J	2J	4J	6J
F5RS3	1.25± 0.12N	1.57 ±0.01NO	3.50 ±0.28 O	3.15±0.05NOPQ	6.65 ±0.05 DEFG	7.86±0.04ABCD	3.03±0.03 OPQR	5.50± 0.02 HIJK	7.95±0.05 AB
F8RS3	3.40± 0.41 LMNO	7.70± 0.55 ABCD	8.01±0.38AB	2.85±0.07PQRST	5.58± 0.24 GHIJK	7.93±0.20 ABC	3.56±0.07 LMN	5.08± 0.04 KLMN	6.41±0.22BCD
F09SS1	4.90 ±0.02 GHIJ	7.267±0.07 ABC	8.01±0.04AB	4.13± 0.01 JKLM	6.51±0.01 EFGHI	8.33± 0.01A	3.63±0.18 LMN	5.43± 0.04 HIJKL	7.60±0.37ABC
F91SR	3.983 ±0.11 KLMNO	5.68± 0.15 GHIJK	7.81±0.15ABCD	3.13± 0.04 NOPQ	5.51 ±0.06 GHIJ	7.63± 0.10 ABCDE	2.21±0.14 VWXY	3.59±0.20 TUVW	7.11±0.56 ABC
F55RS1	3.00± 0.42 OPQR	7.10 ±0.11 ABCD	7.95±0.02 AB	2.35 ± 0.25TUVW	4.01 ±0.11 QRST	5.58± 0.27 HIJK	2.91 ±0.04 OPQR	4.86± 0.07LMNO	5.88± 0.19 GHIJ
F12SS1	3.33± 0.08LMNO	5.150±0.10JKLM	5.68±0.04 HIJK	1.98±0.13 Z	3.26± 0.10 UVWX	4.70 ± 0.17 LMNO	2.02±0.01 XYZ	4.59±0.04 MNOP	7.16±0.60ABCD
F30SS3	3.85 ±0.02 KLM	6.13 ±0.16 FGHI	6.21 ±1.00CDEF	3.23 ± 0.06 MNOP	5.56 ±0.03 GHIJ	8.16± 0.03A	3.06±0.03 NOPQ	4.48±0.24 MNOP	6.16± 0.16 DEF
F25RS3	2.50 ±0.05 STUV	4.53 ±0.26 MNOP	8.400±0.00 A	3.71± 0.01 LMNO	4.23±0.01 OPQR	4.80 ±0.05 LMNO	2.68 ±0.15 QRST	3.93 ±0.04 QRS	6.03±0.26 FGHI
F14SS3	3.50± 0.10 LMNO	5.13± 0.08 KLMN	8.40±0.00A	5.36 ±0.03 DEFG	6.23 ±0.16 FGHI	6.86 ±0.03 ABCDE	1.40± 0.07	2.21± 0.14	5.36± 0.18 JKLM
F2RR	2.68± 0.14 QRST	3.81± 0.07 STUV	7.50±0.02ABC	5.16± 0.04 EFGHI	6.10±0.05 FGHI	7.15±0.08 ABCD	1.83±0.08	3.06±0.03 WXYZ	6.13±0.40 EFGH
F44SS3	2.51± 0.03 STUV	3.96±0.11 QRST	5.16 ±0.01 KLM	5.11 ±0.04 FGHI	6.18 ±0.08 FGHI	6.98 ±0.04 ABCD	2.04 ±0.12 XYZ	2.63 ±0.18 Z	5.50 ±0.28 IJKL
F39SS3	3.03 ± 0.04 OPQRS	7.083± 0.16 BCDEF	7.55±0.20 ABCD	2.71±0.01 QRSTU	3.68±0.04 TUVW	4.36 ±0.01 MNO	1.46±0.06MN	2.00± 0.00Z	4.16±0.16 NO
F12RR	6.20± 0.05 BCD	7.26±0.01 ABCDE	8.40±0.05 A	2.61±0.03 RSTUV	5.08±0.01 KLM	7.60±0.05ABCD	1.54± 0.02MN	2.35±0.32 XYZ	5.58± 0.26 HIJK
F4RS1	5.917±0.26BCDE	6.81± 0.36 CDEFG	8.20±0.07 A	6.31±0.06 BCD	7.61±0.03 ABCDE	8.33± 0.01A	2.07±0.03 WXYZ	2.93± 0.06 XYZ	5.16± 0.47 KLMN
F16RS3	6.51± 0.21 BC	8.11±0.07 ABC	8.4 ±0.05A	6.01±0.11 BCDE	7.01±0.07 CDEF	7.90± 0.02 ABC	2.10± 0.02WXYZ	2.88±0.07 YZ	7.05±0.52ABCD
F3PRT	5.40± 0.07 DEFG	6.45± 0.05 EFGH	7.47±0.06ABCD	6.03±0.04 BCDEF	7.20±0.05ABCDEF	8.06± 0.01 AB	2.97± 0.03 OPQR	4.55±0.22 MNOP	7.00±0.28ABCDE
F6RS3	8.10± 0.30A	8.33±0.16AB	8.5±0.00A	5.53±0.04CDEF	6.66±0.04 DEFG	7.63± 0.07 ABCD	1.80± 0.10	2.96± 0.27 XYZ	5.50 ±0.34 IJKL
F20ST	4.30 ±0.17 IJKL	5.35± 0.18IJKLM	6.83± 0.10 ABCD	8.08± 0.03 A	8.40±0.00 A	8.50± 0.00 A	3.08 ±0.04 NOPQ	4.38±0.06 MNOP	7.83±0.09ABCD
F12RT	6.71± 0.30B	7.91± 0.10 ABCD	8.38±0.06A	3.10± 0.54 NOPQR	4.11± 0.65 PQRS	5.35±0.55 JKL	2.30±0.35 UVW	3.16 ±0.24 VWXY	5.50 ±0.28 IJKLM
F3RS1	4.36± 0.40 HIJKL	5.56± 0.53 GHIJK	8.00 ±0.28 AB	2.08 ±0.22 WXYZ	3.83±0.44 RSTUV	7.23± 0.14 ABCDE	2.00 ±0.00 YZ	3.86± 0.43 QRSTU	7.46±0.23ABCDE
F19RS1	2.85±0.28 PQRS	5.50±0.28 HIJK	6.83± 0.44 ABCD	2.667±0.16 QRSTU	4.33± 0.44 NOPQR	7.16± 0.44 ABCD	3.50± 0.28LMNO	4.83± 0.16LMNO	6.83±0.44ABCD

### III.1.4- La Production des spores des isolats de *Fusarium*

Le dénombrement des conidies a été effectué après la période d'incubation de six jours des cultures sur le milieu PDA par l'utilisation de la cellule de malassez. Le milieu de PDA a favorisé la production des spores des isolats de *Fusarium* (Figure 27).

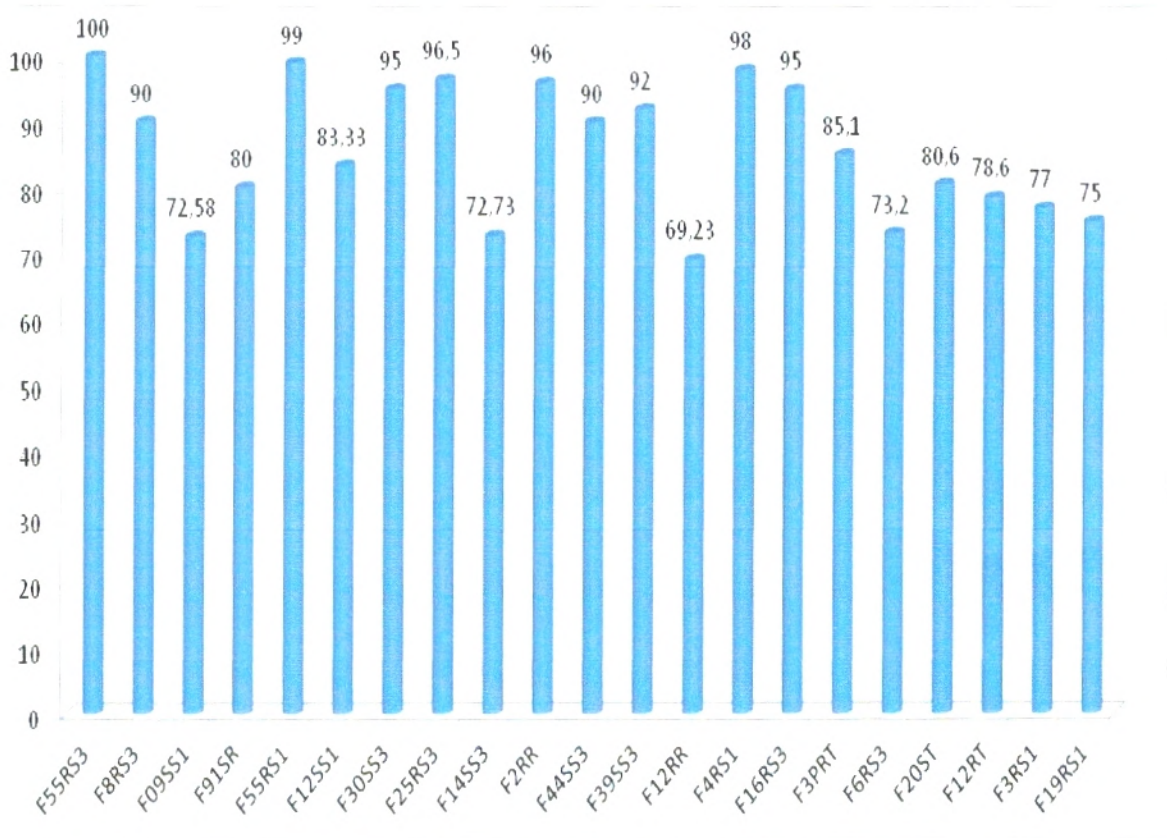


**Figure 27:** Production des spores des isolats de *Fusarium* sur le milieu de PDA.



## III.1.5- Taux de germination

La viabilité des spores est un caractère physiologique très important, les résultats de la germination des isolats de *Fusarium* sont présentés dans la **Figure 28** nous avons remarqué que le nombre de spore viable est différent selon l'espèce. L'isolat de *F. redolens* (F5RS3) à une germination de 100% qui était très élevés par rapport aux autres isolats.



**Figure 28:** Taux de germination des isolats de *Fusarium* sur le milieu de PDA.

### III.2-Effet de milieux de culture, pH et température sur la croissance mycélienne les isolats de *Globisporangium*

#### III.2.1-Effet de milieux de culture sur la croissance mycelienne des isolats de *Globisporangium*

Les milieux de culture utilisés ont favorisé le développement mycélien des isolats de *Globisporangium*. Cependant, la croissance mycélienne a varié significativement sur le milieu PCA par contre nous n'avons enregistré aucune différence significative sur le milieu CMA (**Tableau 21**) après 2 jours ( $F=4.54$ ;  $df=16$  ;  $P=0.000$ ), 4jours ( $F=6.34$ ;  $df=16$  ;  $P=0.000$ ) et 6jours ( $F=2.02$ ;  $df=16$  ;  $P=0.000$ ). La meilleure croissance a été enregistrée sur le milieu CMA après deux jours d'incubation. Le PCA était également un meilleur milieu pour la croissance mycélienne, la production et la germination des Oospores. La présente étude comparative sur la croissance radiale des espèces sur les deux milieux a révélé que les isolats de *Globisporangium* généralement ont progressé rapidement sur les deux milieux de culture, ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Fernando et Linderman, (1993)** où ils ont signalé que *P. vignae* et *P. aphanidermatum* ont une croissance optimale sur CMA et PDA.

**Tableau 21:** Effet de milieux de culture sur la croissance mycélienne les isolats de *Globisporangium*.

Isolats	PCA			CMA		
	2j	4j	6j	2j	4j	6j
U3CR	4.86±0.12ABC	6.83± 0.23 ABC	8.10 ±0.20A	7.86±0.00 A	8.50± 0.00A	8.50 ±0.00A
U7CR	4.10±0.78ABC	5.20 ±0.39ABC	5.96 ± 0.00ABC	6.73±0.00 A	8.20 ± 0.00A	8.46 ±0.00 A
U15RS	4.30± 1.03ABC	6.63±0.20ABC	7.90±0.00 AB	8.10±0.00 A	8.50±0.00A	8.50 ±0.00 A
U6RR	3.33±0.85 ABC	7.00±0.79ABC	7.10 ±0.60 ABC	7.43±0.00 A	8.36 ±0.00A	8.50±0.00 A
U8CR	2.43±0.37 C	6.06 ±0.17ABC	6.66 ±0.30ABC	5.50±0.00 A	8.26 ±0.00A	8.40±0.00A
U6CR	5.06± 0.32ABC	5.73±0.60ABC	7.83± 0.17 AB	7.93±0.00 A	8.43 ±0.00 A	8.50±0.00 A
UIRT	3.93 ±0.35ABC	4.83±0.19ABC	6.80±0.12 ABC	8.00±0.00 A	8.16 ±0.00A	8.50 ±0.00A
U5RT	3.16±0.21 BC	6.20±0.19ABC	6.46 ± 0.34ABC	6.63±0.39 A	8.33± 0.60 A	8.50±0.00 A
U2CR	6.00 ±0.30ABC	6.56±0.39ABC	7.66 ±0.19AB	8.43±0.60 A	8.50 ±0.00 A	8.50 ±0.00A
U2RR	5.23±0.16ABC	5.33 ±0.21ABC	7.00± 0.04 ABC	7.56 ±0.00A	8.36 ±0.00 A	8.50 ±0.00A
U4CR	3.16 ±0.35BC	6.03±0.15 ABC	6.73 ±0.00ABC	6.83±0.00A	8.46 ±0.00A	8.50 ±0.00A
U12RT	5.80±0.09ABC	6.13 ±0.25ABC	7.86±0.00 AB	8.26 ±0.00A	8.50 ±0.00A	8.50 ±0.00 A
U14CR	4.83 ±0.14ABC	5.93±0.34ABC	7.06±0.04ABC	7.90±0.00 A	8.23±0.00 A	8.50 ±0.00 A
U7RT	3.73±0.22ABC	6.86 ± 0.09ABC	7.13± 0.19ABC	7.40 ±0.21 A	8.43±0.22 A	8.50±0.00 A
U17RT	6.03 ± 0.29AB	6.10 ±0.36ABC	6.63±0.14ABC	8.40 ± 0.21A	8.50±0.00 A	8.50 ±0.00A
U35RS	5.30±0.04ABC	6.40±0.12ABC	6.80 ±0.11 ABC	7.73± 0.51 A	8.36±0.22 A	8.50± 0.00 A
U16RS	4.66±0.19ABC	5.30 ±1.12ABC	6.73±0.19ABC	7.90± 0.6 A	8.40±0.00 A	8.50± 0.00 A

Le milieu V8 est le plus utilisable dans les études pathologique et physiologique de *Globisporangium* (Guo et al. 1991). Le milieu de tomate a été relevé un meilleur milieu pour la croissance et la sporulation de *Pythium splendens* et aussi pour la formation des Oospores de *Pythium aphanidennatum*. Le milieu de soja a été aussi prouvé mieux que le milieu V8 pour la production de sporanges de *Pythium splendens*. Le milieu de tomate et soja étaient les meilleurs que le milieu V8 qui promettre la croissance et à la fois la reproduction sexuée et asexuée de *Pythium* sp. (Guo et Ko, 1993).

Tableau 22: Effet de pH sur la croissance mycélienne les isolats de *Globisporangium*.

pH Isolats	4.5			6.5			8.5		
	2j	4j	6j	2j	4j	6j	2j	4j	6j
U3CR	6.83± 1.33 ABCD	8.50±0.00 A	8.50±0.00 A	7.88±0.45 ABC	8.50± 0.00 A	8.50± 0.00 A	5.96±1.12ABCD	8.47± 0.03 A	8.50±0.00 A
U7CR	7.07±1.07ABCD	8.50±0.00 A	8.50±0.00 A	7.83±0.60 ABC	8.50±0.00A	8.50±0.00 A	6.06±1.18ABCD	8.40±0.13 A	8.50±0.00 A
U15RS	6.78±1.33 ABCD	8.50±0.00 A	8.50±0.00 A	7.66± 0.81 ABC	8.50±0.00A	8.50±0.00 A	6.45±0.95ABCD	8.50± 0.00 A	8.50± 0.00 A
U6RR	7.00± 1.22 ABCD	8.50± 0.00 A	8.50±0.00 A	7.86±0.55ABC	8.50±0.00A	8.50±0.00 A	6.01± 1.36 ABCD	8.46±0.04 A	8.50±0.00 A
U8CR	7.05±1.07ABCD	8.50±0.00 A	8.50±0.00A	8.03±0.32 AB	8.50± 0.00 A	8.50± 0.00 A	6.88±1.16 ABCD	8.50±0.00 A	8.50±0.00A
U6CR	6.77±1.34 ABCD	8.50±0.00A	8.50± 0.00 A	8.10± 0.28 A	8.50± 0.00 A	8.50± 0.00A	6.71± 1.25 ABCD	8.50± 0.00 A	8.50±0.00A
U1RT	4.10±2.37 ABCD	6.71± 1.15 CDE	8.00±0.39 ABC	7.00± 0.39 ABCD	8.36± 0.12 AB	8.50±0.00 A	6.65± 0.98 ABCD	8.50±0.00 A	8.50±0.00 A
U5RT	2.442±0.93D	5.47± 0.68 E	7.76±0.19 BC	4.83± 0.22 ABCD	8.00±0.15ABCD	8.50±0.00 A	5.71± 1.53 ABCD	8.41±0.11 A	8.50±0.00 A
U2CR	3.13±1.15 CD	6.58±0.65 DE	8.30±0.14 ABC	5.23± 0.19 ABCD	7.53±0.23 ABCD	8.50±0.00 A	6.56±0.97ABCD	8.50±0.00 A	8.50±0.00 A
U2RR	3.16± 0.81 BCD	6.81±0.97 BCDE	7.70±0.77C	5.93±0.86ABCD	8.21±0.14 ABC	8.50±0.00 A	5.78± 1.41 ABCD	8.48±0.02 A	8.50±0.00 A
U4CR	3.71± 1.14 ABCD	7.38±0.69 ABCD	8.20±0.20ABC	6.40± 1.18 ABCD	7.73±0.31 ABCD	8.33±0.00 ABC	6.62± 1.28 ABCD	8.36± 0.00 AB	8.50± 0.00 A
U12RT	4.66±1.38ABCD	7.88 ±0.45 ABCD	8.41±0.11AB	5.18±0.46ABCD	8.18± 0.15 ABC	8.50± 0.00A	4.86±1.02ABCD	7.86±0.43ABCD	8.36±0.09AB
U14CR	4.26± 1.24ABCD	8.10±0.41 ABCD	8.33±0.22ABC	6.66±0.81 ABCD	8.26±0.19 ABC	8.50±0.00 A	3.33±1.29ABCD	7.42±0.86ABCD	8.35±0.14 ABC
U7RT	5.05± 0.71 ABCD	7.91± 0.49 ABCD	8.15±0.25ABC	6.18±0.33 ABCD	8.33±0.22 AB	8.50±0.00A	3.91±1.69ABCD	8.16 ±0.45 ABC	8.50±0.00 A
U17RT	5.98±1.28 ABCD	8.43±0.09Ab	8.50± 0.00 A	6.73± 0.33 ABCD	8.50±0.00 A	8.50 ±0.00A	5.30±1.35 ABCD	8.36±0.42AB	8.50±0.00 A
U35RS	6.10±0.84ABCD	8.27±0.30 ABC	8.50±0.00 A	7.10±0.06ABCD	8.41±0.11 A	8.46± 0.14A	4.83±1.35ABCD	7.88±0.42ABCD	8.25± 0.19 ABC
U16RS	6.08±1.08 ABCD	8.38±0.15 AB	8.50±0.00A	6.33±0.81ABCD	8.38± 0.15 AB	8.50± 0.00 A	5.28±1.40ABCD	8.37±0.17AB	8.46±0.04 A

### III.2.3-Effet de la température sur la croissance mycélienne des isolats de *Globisporangium*

La croissance radiale la plus élevée des isolats de *Globisporangium* a été observée à 15°C, la croissance mycélienne à cette température était nettement mieux que d'autres niveaux de températures testées au niveau de signification à 0,05%. D'après les résultats obtenus nous avons remarqué qu'il n'y avait pas de différence significative ( $P= 0.000$ ) entre 25°C et 30°C (**Tableau 23**). La température 5°C a favorisée une croissance mycélienne très lente par rapport aux autres températures. La température optimale pour la croissance et la germination des oospores était cependant constaté 15°C. Il est possible que le processus tels que la formation de tube germinatif, la formation de l'appressorium et l'infection de l'hôte réagissent à la température, d'où le résultat ci-dessus a rapporté l'effet de la température sur la croissance mycélienne.

**Wei et al. (2011)**, ont évalué l'effet de quatre températures (4, 12, 20 et 28°C) sur la croissance de *Pythium* sp. Ils ont noté que *P. ultimum* détenait une importante croissance, alors que *P. arrenomanes*, *P. coloratum* et *P. dissotocum* étaient moins développés. L'influence de la température était plus prononcée chez *P. aphanidermatum*, qui montrait un pourcentage de croissance très élevé avec l'augmentation de la température, et chez *P. irregulare*, *P. macrosporum* et *P. sylvaticum*, qui ont montré une diminution de la croissance avec l'augmentation de la température. Les résultats obtenus ont montré que nos isolats de *Globisporangium* peuvent se développés à 30°C, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Boa, (1993)**.

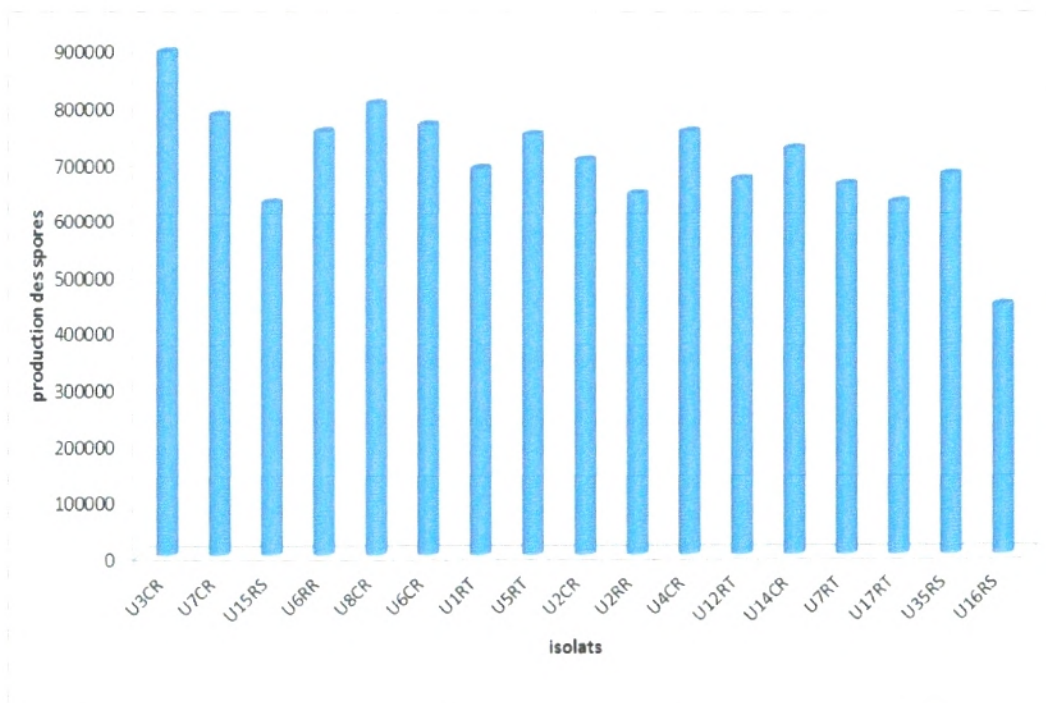
Tableau 23: Effet de la température sur la croissance mycélienne des isolats de *Globisporangium*.

T °C Isolats	5°C			15°C			25°C			30°C		
	2j	4j	6j	2j	4j	6j	2j	4j	6j	2j	4j	6j
U3CR	1.61±1.52 PQ	2.40±0.68 M	5.25±0.68 I	6.73±1.26 A	8.20±0.10 A	8.50±0.00A	2.50±1.81IJK	5.25±0.04 EFG	7.58±0.00 ABC	2.48±1.15 JKL	5.25±0.04 EFG	7.58±0.00 ABC
U7CR	3.11± 1.56 DEF	4.68±0.57 EFG	8.13±0.22 ABC	8.10± 1.24 A	8.46±0.04 A	8.50±0.00 A	4.41±1.91BCD	7.20±0.04ABC	8.50±0.00 AB	3.40±1.44 CDE	6.35±0.04 ABC	7.63±0.00 ABC
U15RS	3.93± 1.34 BCD	5.88± 0.62BCD	8.13±0.61ABC	7.43 ± 0.19 A	8.36±1.12 A	8.50±0.00A	3.08±2.18DEF	6.11±0.04ABC	8.38±0.00 AB	4.58±1.62 ABC	6.11±0.04 ABC	8.50±0.00 AB
U6RR	3.40 ± 1.27 CDEF	7.20± 0.79ABC	8.50±0.49 AB	5.50± 1.64 A	8.26±0.06 A	8.50±0.00 A	3.03±1.62DEF	5.50±0.04CDE	7.71±0.00AB C	2.61±1.05 IJKL	5.46±0.04 DEF	8.06±0.00 ABC
U8CR	2.55± 1.07 IJKL	6.01± 1.06ABC	8.13±0.40 ABC	5.50±1.73 A	7.93±0.07 A	8.40 ± 0.00 A	2.91±1.62FGH	6.26±0.04ABC	8.50±0.00AB	3.16±1.25 DEF	4.88±0.04 EFG	8.00±0.00ABC
U6CR	2.75± 1.15 HIJK	4.21±1.00 FGH	7.23±0.29ABC	8.00±1.38 A	8.16±0.13 A	8.50± 0.00 A	4.05±1.69 BCD	6.35±0.04 ABCD	8.50±0.00AB	4.05±1.33 BCD	6.35±0.44AB C	8.50±0.00AB
U1RT	3.90±1.14 BCD	5.33± 0.84 EFG	7.91±0.28 ABC	6.63 ± 1.38 A	8.33 ± 0.13 A	8.50± 0.00 A	3.80±1.88 BCD	6.01±0.04	8.11±0.00AB C	4.25±1.42 BCD	5.90± 0.04BCD	7.61±0.00 ABC
U5RT	2.13±1.32 LMN	5.10±0.59 EFG	8.25±0.15 ABC	8.43±1.35 A	8.50 ± 0.00 A	8.50±0.00A	2.78±2.20GHI	4.75±0.04EFG	7.23±0.00 ABC	3.76±1.33 BCD	4.75±0.04 EFG	7.23±0.00 ABC
U2CR	1.85±0.80 NOPQ	4.25± 0.89FGH	6.71±0.88 CDE	7.56 ±1.87 A	8.36± 0.04 A	8.50±0.00 A	2.55±1.68 IJKL	4.93±0.04 EFG	6.96±0.00BC D	4.93±1.07 ABC	6.31±0.72 ABC	8.16±0.31 ABC
U2RR	3.31±0.70 DEF	5.23± 1.13 EFG	7.83±0.79ABC	6.83±1.28A	8.46±0.20 A	8.50±0.00 A	2.75±1.53 HIJK	4.75±0.00 EFG	7.33±0.00 ABC	1.91±1.13 MNO	3.48±0.60 JKL	7.33±0.63 ABC
U4CR	3.51±0.74 BCD	5.70±1.23 BCD	8.08±0.74 ABC	8.26±0.58A	8.50±0.00 A	8.50±0.00A	2.90±1.8 FGHI	4.65±1.09 EFG	7.55±0.45 ABC	2.90±0.97 FGH	4.65±0.58 EFG	8.05±0.49ABC
U12RT	3.01± 1.34 EFG	5.61±0.8BCD	8.31±0.22 ABC	7.90 ±A	8.23 ± A	8.50±0.00A	3.16±1.16 DEF	5.16 ± 0.98 EFG	7.80±0.29 ABC	3.16±1.10 DEF	7.40±0.04 AB	8.50±0.00 AB
U14CR	3.46± 1.55 CDE	4.66±0.96EFG	7.61±0.45 ABC	7.40±0.84A	8.43±1.45A	8.50±0.00 A	3.25±1.15 DEF	5.73±0.97 BCD	7.86±0.22 ABC	4.31±1.24 BCD	7.36±0.04 AB	8.26± 0.00ABC
U7RT	2.88 ±1.50 FGH	3.31±0.72KLM	6.13±0.45 GHI	8.40±0.93A	8.50±0.00 A	8.50±0.00A	2.03±1.34 LMN	4.78±0.41 EFG	6.90±0.15BC D	2.03±1.33 LMN	4.78±0.02 EFG	6.90±0.00 BCD
U17RT	3.86 ± 1.57BCD	4.68± 0.89 EFG	7.48±0.68ABC	7.73±1.18 A	8.36 ±0.40 A	8.50±0.00 A	3.73±1.57 BCD	6.13±0.11 ABC	7.83±0.00 ABC	6.13±1.33 A	7.83± 0.02 A	8.60±0.00 A
U35RS	4.25±1.42 BCD	6.25±1.11ABC	8.26±0.68 ABC	7.90±1.28A	8.40±1.55 A	8.50± 0.00 A	2.61±1.67 IJKL	5.55±0.15 BCD	7.93±0.00 ABC	3.03±1.43 DEF	4.83±0.12 EFG	7.85±0.00 ABC
U16RS	1.367± 1.51 Q	3.17±0.71 LM	5.83±0.45 HI	7.86± 2.01 A	8.40±0.13 A	8.50±0.00 A	2.66±1.50 IJKL	5.03±0.22 EFG	7.83±0.15 ABC	3.83±1.04 EFG	5.03±0.12 EFG	7.83±0.00 ABC

### III.2.4- Production des oospores

Les résultats obtenus montrent que le milieu CMA a influencé significativement le nombre d'oospores produites par les isolats de *Globisporangium*. Dans ce cas le CMA a augmenté significativement le nombre des Oospores produites (**Figure 29**). **Fernando et Linderman (1993)** ont trouvé aussi que le milieu CMA est le plus favorable pour la production de sporanges.

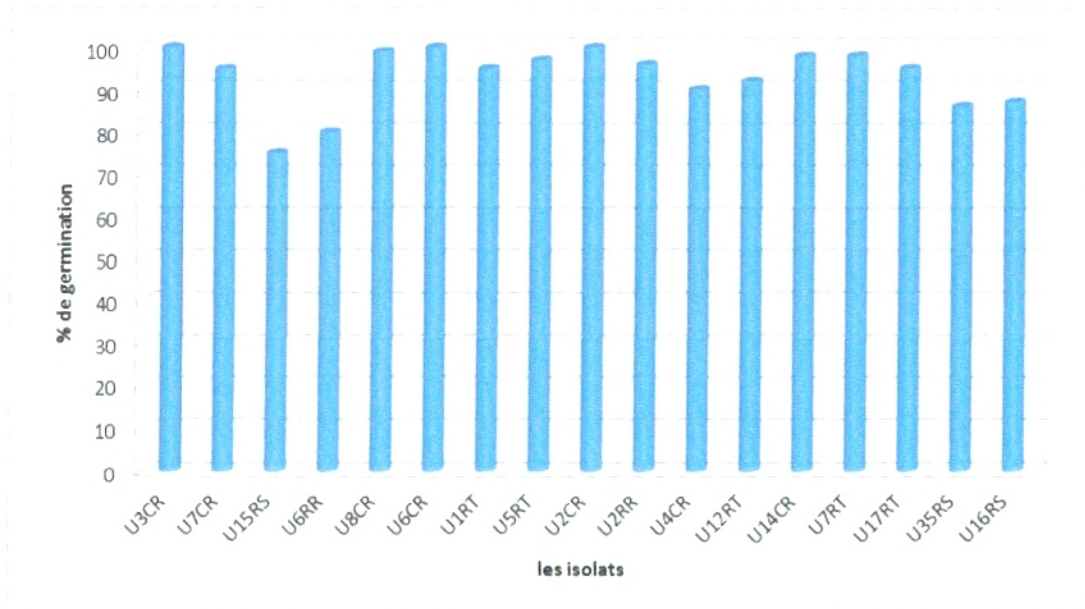
À la lecture des résultats obtenus, il apparaît évident que nos isolats ont produit un nombre variable d'oospores. Nous avons enregistré que l'isolat U3CR a produit  $9 \times 10^5$  oospore/ml par rapport l'isolat U16RS ou nous avons mentionné une production faible d'oospore soit  $4 \times 10^5$  oospore/ml. D'après **Sophie Cliquet et Yves Tirilly, (2002)** la production d'oospores a été optimisé après une croissance de 7 jours soit de  $4 \times 10^6$  oospores  $ml^{-1}$



**Figure 29:** Nombre d'oospores produites par les isolats de *Globisporangium* sur le milieu CMA.

### III.2.5- Taux de germination des oospores

Le taux de germination d'Oospores produites par les isolats de *Globisporangium* sont présentés dans la **figure 30**, nous avons noté que les isolats U3CR, U6CR et U2CR ont le taux maximale de germination des oospores (100%), alors que l'isolat U15RS n'a présenté que 75% de germination.



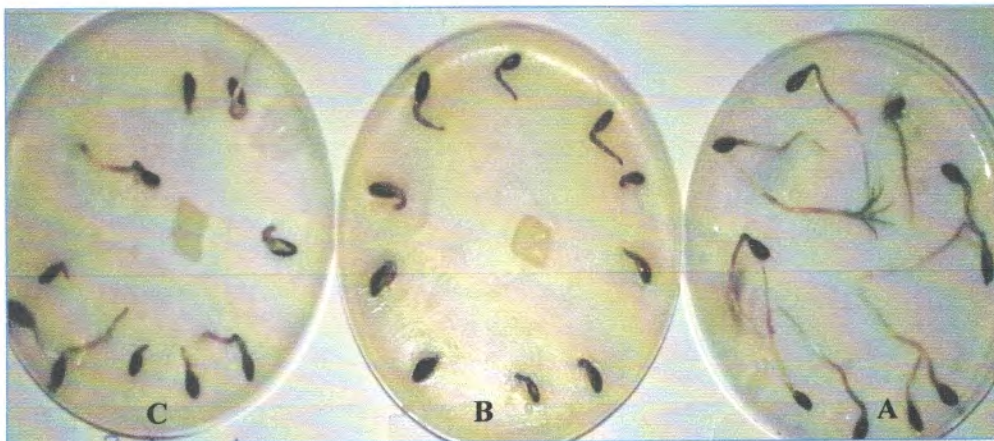
**Figure 30:** Taux de sporulation des isolats de *Globisporangium* sur le milieu CMA.



## Chapitre IV: Etude du pouvoir pathogène des isolats

### IV.1-Effet des isolats de *Fusarium* sp sur les plantules de pin d'Alep en pré et post émergence (*in vitro*)

Le tableau 24 montre les résultats de l'inhibition de la germination et la croissance racinaire causés par les isolats de *Fusarium* sp. Les pourcentages d'inhibition de la germination des graines varient de 38.45 à 80.76%, par contre un pourcentage moyen de germination de 86% pour le témoin. Les isolats de *F. redolens* ont causé une forte inhibition de la germination des graines. Nous avons enregistré au même temps un pourcentage d'inhibition de la germination un peu élevé pour les isolats de *F. solani* avec un pourcentage allant de 46.14 à 73.07 %. Les isolats *F. acuminatum* ont montré des taux d'inhibition variable entre 46.14 et 65.38%. Les isolats de *Fusarium* ont réduit significativement la germination des graines ( $df=20$ ,  $F=0.98$ ,  $P=0.4898$ ). Nous avons observé aussi une différence significative entre les deux stades de développement ( $df=20$ ,  $F=1.75$ ,  $P=0.0408$ ). La germination des graines en post émergence a été affectée significativement par les différents isolats. Les graines de pin d'Alep ayant réussi à germer ont subi une altération de leur racine (**photo 1**). Les isolats de *Fusarium* tend à inhiber la formation des racines, de manière cependant non significative pendant les deux stades de contamination. Dans le stade de pré levé les isolats de *Fusarium* (*F. redolens*, *F. solani*, *F. acuminatum*, *F. tricinctum* et *F. equiseti*) ont inhibée la croissance racinaire avec des pourcentages de 95.38, 90.20, 87.60, 85.37 et 81.41% respectivement, alors qu'en stade de post émergence les racines ont été inhibés avec 84.58, 81.41, 64.46, 73.02 et 62.03% respectivement.



**Photo 1:** Contamination des graines de pin d'Alep. A) Témoin B) en pré; C) post émergence.

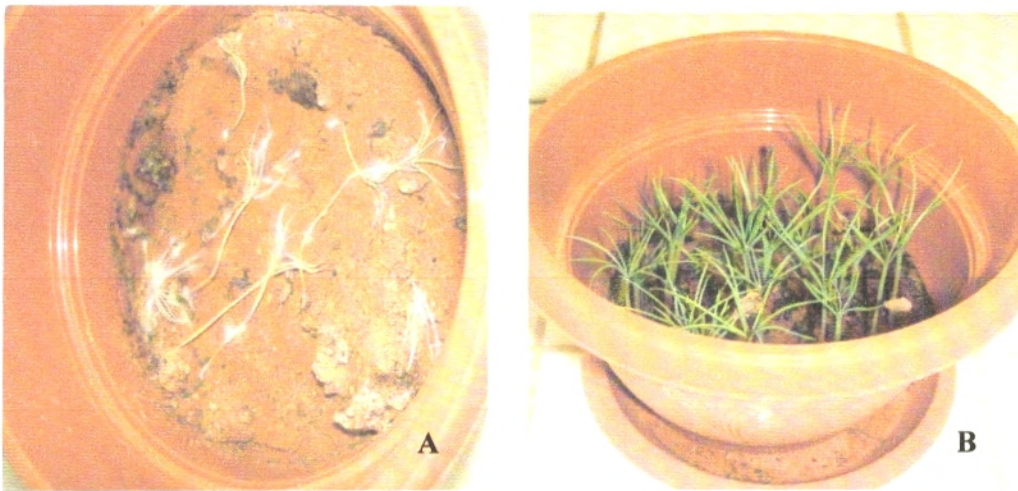
**Tableau 24:** moyenne d'inhibition de la germination et la croissance racinaire de plantules de pin d'Alep causée par les isolats de *Fusarium*.

N°	Isolats	Pré émergence		Post émergence	
		Inhibition de la Germination Moy±SE	Inhibition de la croissance racinaire Moy±SE	Inhibition de la Germination Moy±SE	Inhibition de la croissance racinaire Moy±SE
1	<i>F. redolens</i>	80.76± 3.84	95.38±2.68	69.22±7.69	84.58±1.35
2	<i>F. redolens</i>	69.22± 3.84	89.70± 1.22	53.84±6.66	66.30±2.34
3	<i>F. redolens</i>	53.84± 6.66	81.63 ± 3.58	34.61± 3.84	60.03±2.28
4	<i>F. redolens</i>	38.45± 10.17	63.88 ± 2.23	30.76±0.00	47.49±3.41
5	<i>F. redolens</i>	61.53± 3.84	73.56± 0.84	53.84 ±6.66	65.52±10.63
6	<i>F. oxysporum</i>	42.30± 6.66	29.37± 6.88	26.91± 3.84	14.52±3.25
7	<i>F. oxysporum</i>	53.84±0.00	79.43 ±1.78	34.61±7.69	44.60±1.43
8	<i>F. oxysporum</i>	57.68 ± 7.69	75.37 ± 6.79	38.45± 3.84	41.72±4.00
9	<i>F. acuminatum</i>	57.68±3.84	72.18± 0.47	46.14± 3.84	66.02±3.70
10	<i>F. acuminatum</i>	46.14±3.84	68.70 ± 2.51	34.61 ±3.84	52.53± 3.90
11	<i>F. acuminatum</i>	65.38±6.66	76.27±5.22	42.30±6.66	52.38±3.91
12	<i>F. acuminatum</i>	65.38± 0.00	87.60 ± 5.88	42.30 ±6.66	64.46±2.69
13	<i>F. solani</i>	73.07±3.84	90.20± 0.52	65.38 ±0.00	81.41±5.22
14	<i>F. solani</i>	46.14± 10.17	68.98±1.82	42.30±6.66	61.95±0.76
15	<i>F. equiseti</i>	65.38± 0.00	74.34± 1.87	46.14 ±3.84	62.03±10.57
16	<i>F. equiseti</i>	61.53±7.69	81.41 ± 1.19	49.99±3.84	72.42±5.55
17	<i>F. tricinctum</i>	65.38±6.66	85.37± 3.74	53.84± 6.66	73.02±7.68
18	<i>F. tricinctum</i>	61.53±3.84	74.92±2.47	38.45± 3.84	57.00±3.08
19	<i>F. tricinctum</i>	57.68± 3.84	72.02±7.10	42.30± 0.00	54.83±4.60
20	<i>F. chlamydosporum</i>	46.14±7.69	50.41± 9.07	30.76±6.66	35.03±0.84
21	<i>F. chlamydosporum</i>	38.45± 7.69	66.16± 1.51	49.99± 7.69	62.58±4.33

#### IV.2-Effet des isolats de *Fusarium* sp sur les plantules de pin d'Alep (*in vivo*)

Au cours des tests de pathogénicité les isolats de *Fusarium* les résultats obtenus montrent des taux d'agressivités différents vis-à-vis les plantules de pin d'Alep. Les isolats de *F. redolens* ont un pouvoir pathogénique très important que les autres isolats. Ceci est mis en évidence par une inhibition élevée de la germination, une réduction significative de la croissance racinaire et par un grand nombre de plantules mortes (**Tableau 25**). *F. solani* et *F. acuminatum* ont montré aussi une agressivité très importante sur les plantules de pin d'Alep qui se traduit principalement par l'inhibition du taux de germination et une mortalité très élevée. Il faut noter également que l'attaque des plantules de pin d'Alep par le *Fusarium* est beaucoup plus sévère à l'état de graine qu'à l'état de plantule. Les isolats de *Fusarium* ont réduit significativement la germination des graines de pin d'Alep ( $n=20$ ,  $F=6.51$ ,  $P<0.0001$ ) et ont réduit significativement leur croissance racinaire ( $n=20$ ,  $F=5.20$ ,  $P<0.0001$ ) (**Tableau 25**). Nous avons remarqué une pourriture ou un petit collet boudinée rougeâtre ou brun à la base de la tige des plantules de pin d'Alep se traduit par des diminutions des parties aériennes.

Les parties aériennes sont significativement réduites ( $n=20$ ,  $F=8.31$ ,  $P<0.0001$ ). Les isolats de *Fusarium* ont une influence sur la germination, la croissance racinaire et la croissance des parties aériennes qui se traduit sur l'indice de la vigueur des plantules de pin d'Alep. L'indice de la vigueur des plantes a été significativement différent pour toutes les espèces de *Fusarium* ( $n=20$ ,  $F=7.31$ ,  $P<0.0001$ ) (**Planche16**). L'incidence de la maladie est très important est variable (49.88 et 91%) (**Lazreg et al. 2013 a, b, c**).



**Planche 16:** Pathogénicité de *Fusarium redolens* (isolat F5RS3) sur la croissance de plantule de pin d'Alep (**A:** plantules attaquées **B:** témoin).

**Tableau 25:** Paramètres de développement des plantules de pin d'Alep influencés par les isolats de *Fusarium* sp.

Isolats	Inhibition de la Germination (%)	Inhibition de la croissance racinaire (%)	Inhibition de la croissance de la partie aérienne (%)	Indice de la Vigeur	Incidence de la maladie (%)
<i>F. redolens</i>	80.000 ±4A	77.46±3.78 BA	72.65 ±1.69 A	455.8± 123.57 F	91.00 ±3.33 A
<i>F. redelons</i>	44.00 ±4 EDCF	47.31 ±0.49 DC	42.62±2.73 BC	2710.0 ±244.40 BDAC	53±3.60 FGE
<i>F. redolens</i>	48.00±4 EBDCF	52.90±9.25BDAC	44.12±10.04 BC	2381.9±526.65 EBDAC	61.66 ± 4.40FGEDC
<i>F. redelons</i>	44.00 ±4 EDCF	47.31 ±0.49 DC	42.62±2.73 BC	2710.0 ±244.40 BDAC	57.00±3.60 FGE
<i>F. redolens</i>	60.00±8 EBDAC	55.95±7.23BDAC	46.96±3.73 BC	1750.0 ±464. 57EDFC	73.33 ±1.66 BEDC
<i>F. oxysporum</i>	32.00±4 F	42.26±6.99 DC	26.59±4.47 C	3710.0±434.66 BA	54.00 ±4.61 G
<i>F. oxysporum</i>	44.00±4 EDCF	42.26±4.11 DC	37.76±1.76 BC	2970.0±263.12 BDAC	60.33±2.60 FGEDC
<i>F. oxysporum</i>	40.00 ±6.92 EDF	45.65±2.57 DC	36.04±1.36 BC	3116.7± 345.89 BAC	54.00± 3.05 FG
<i>F. acuminatum</i>	44.00±4 EDCF	51.44±8.67BDC	42.62 ±6.17 BC	2650.0±507.18 BDAC	53.33 ±1.00 G
<i>F. acuminatum</i>	60.00± 4 EBDAC	64.25±1.24BDAC	55.72 ±0.34 BA	1413.3±163.33 EDFC	63.33±4.33 FBEDC
<i>F. acuminatum</i>	56.00 ±4 EBDACF	64.593±4.49BDAC	57.57±5.18 BA	1540.0± 305.66 EDFC	60.00±3.88 FGEDC
<i>F. acuminatum</i>	48.00± 8 EBDCF	42.40±3.38 DC	39.64±3.32 BC	2666.7± 391.93 BDAC	56.66±4.88 FGE
<i>F. solani</i>	72.00±4 BA	78.76 ±4.58A	70.04± 4.59 A	660.2±200.68 EF	90.00±1.92 BA
<i>F. solani</i>	36.00 ± 4EF	44.36±2.32 DC	35.25± 3.88 BC	3632.2 ± 463.36 BA	50.44 ± 1.55 G
<i>F. chlamydosporum</i>	52.00± 0 EBDCF	50.70±2.05 BDC	35.63 ±4.58 BC	2793.3±114.64 BDAC	65.66±3.17 FGED
<i>F. chlamydosporum</i>	52.00±6.92EBDCF	51.94±2.68BDAC	47.24± 3.03 BC	2116.7± 294.75EBDFC	77±0.77 FGEDC
<i>F. tricinctum</i>	64.00±6.92 BDAC	45.67 ± 0.88 DC	35.75±3.11 BC	1887.8± 385.47 EBDF	77.77 ±2.22 BAC
<i>F. tricinctum</i>	44.00± 4 EDCF	51.25±7.70 BDC	41.30±1.86 BC	2678.6±396.45 BDAC	63.33±1.66 FGED
<i>F. tricinctum</i>	44.00 ±4 EDCF	51.31±4.85 BDC	42.57±4.96 BC	2400.9±140.97 EBDA	58.88±4.84 FGEDC
<i>F. equiseti</i>	32.00±4 F	38.87±1.96 D	26.99± 3.08 C	4033.3 ± 268.59 A	59 ±4.84 G
<i>F. equiseti</i>	40.00±6.92 EDF	44.61±2.03 DC	37.40±1.16 BC	3116.7 ±399.05 BAC	65±2.58 G

#### IV.3- Effet des isolats de *Globisporangium* sp sur les graines de pin d'Alep en pré et post émergence (*in vitro*).

D'après les résultats présentés dans le **tableau 26**, les isolats de *Globisporangium* ont un effet sur la germination des graines de pin d'Alep avec une différence significative ( $P < 0.0001$ ). En effet, l'inhibition de la germination des graines est variable ente 87.61 et 65.38% pour *G. ultimum* var *ultimum* et *G. heterothallicum* respectivement. Les résultats présentés dans le **tableau 26** montrent que l'inhibition de la germination des graines par *G. ultimum* var *ultimum* varie considérablement selon les différents types d'inoculation. L'effet inhibiteur de *G. ultimum* var *ultimum* est effectivement, beaucoup plus important en pré-levée et en post-levée avec des taux d'inhibition qui varie de 87.61 à 83.61% respectivement. Par contre, l'effet inhibiteur de *G. glomeratum* ne est pas très élevé, où l'inhibition en stade de

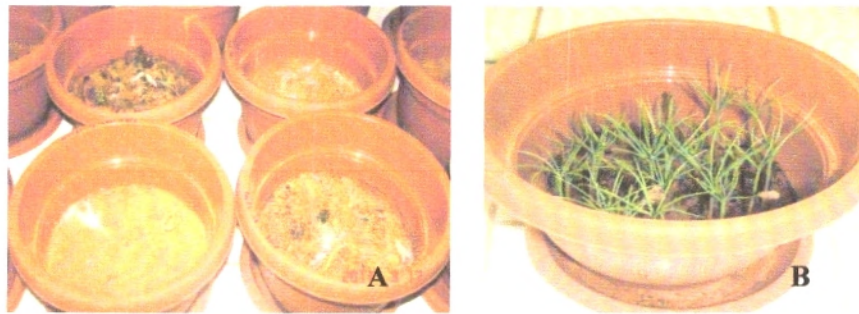
pré-émergence est de 30.76 et en stade de post-émergence est de 39.35%. Les résultats obtenus montrent que les isolats de *Globisporangium* n'agissent pas uniquement sur la germination mais aussi sur la croissance racinaire des plantules. La croissance racinaire des plantules inoculées avec les isolats de *Globisporangium* testés montre une grande différence par rapport à celle des témoins. L'isolat de *G.ultimum* var *ultimum* (l'isolat U7CR) a provoqué une inhibition racinaire très importante avec 92.2% en stade de pré émergence alors que l'isolat de *G. ultimum* (U2CR) a inhibé la croissance racinaire avec 85.36%. Une inhibition importante a été enregistrée pour l'isolat U15RS avec 86.60%.

**Tableau 26:** Effet des isolats de *Globisporangium* sur la germination des graines de pin d'Alep en pré et en post émergence.

N°	Isolats	Pré émergence		Post émergence	
		% Inhibition de la germination	% d'inhibition de la croissance racinaire	% Inhibition de la germination	% d'inhibition de la croissance racinaire
1	<i>G. ultimum</i> var <i>ultimum</i>	73.09±3.85	83.90±3.90	61.53±3.84	75.08±3.21
2	<i>G. ultimum</i> var <i>ultimum</i>	87.61±3.84	92.2±1.58	76.92±6.66	83.61±2.62
3	<i>G. heterothallicum</i>	65.38±6.66	86.60±2.02	57.68±3.84	79.61±2.61
4	<i>G. ultimum</i> var <i>ultimum</i>	38.45±10.17	74.87±0.98	30.76±0.00	72.93±5.17
5	<i>G. ultimum</i> var <i>ultimum</i>	53.84±6.66	69.14±2.23	34.60±3.84	63.72±1.58
6	<i>G. ultimum</i> var <i>ultimum</i>	57.68±3.84	76.65±1.28	46.14±3.84	63.55±1.94
7	<i>G. ultimum</i>	69.22±3.84	79.61±1.83	61.53±3.84	74.41±1.70
8	<i>G. ultimum</i> var <i>ultimum</i>	30.76±6.65	44.87±4.33	34.61±7.69	42.44±3.40
9	<i>G. ultimum</i>	73.07±10.17	85.36±2.50	49.99±3.84	41.16±1.56
10	<i>G. ultimum</i>	61.53±3.84	75.66±4.97	53.84±6.66	61.53±3.84
11	<i>G. ultimum</i>	49.99±3.84	84.17±1.09	42.14±6.53	74.43±0.80
12	<i>G. ultimum</i> var <i>ultimum</i>	57.68±3.84	77.72±3.30	46.14±10.17	75.26±6.52
13	<i>G. ultimum</i> var <i>ultimum</i>	73.07±3.84	80.63±3.82	34.60±13.86	41.10±6.37
14	<i>G. ultimum</i> var <i>ultimum</i>	65.38±6.66	84.70±2.37	57.68±3.84	78.71±4.16
15	<i>G. ultimum</i> var <i>ultimum</i>	46.14±3.84	62.26±4.21	42.30±0.00	47.83±7.40
16	<i>G. glomeratum</i>	30.76±6.66	47.96±1.52	26.91±10.17	39.35±1.51
17	<i>G. glomeratum</i>	38.45±3.84	46.92±8.25	26.91±3.84	36.93±11.42

**IV.4- Effet des isolats de *Globisporangium* sp sur les plantules de pin d'Alep (*in vivo*).**

Les isolats de *Globisporangium* ont réduit significativement la germination des graines de pin d'Alep ( $n=16$ ,  $F=4.76$ ,  $P<0.0001$ ) et la croissance racinaire ( $n=16$ ,  $F=6.63$ ,  $P<0.0001$ ). Les isolats de *G. glomeratum* sont montrés non pathogènes. En effet, nos isolats de *Globisporangium* ont affecté significativement la croissance des parties aériennes des plantules de pin d'Alep ( $n=16$ ,  $F=6.64$ ,  $P<0.0001$ ). La pathogénicité de nos isolats de *Globisporangium* se traduit significativement sur l'indice de vigueur ( $n=16$ ,  $F=5.39$ ,  $P<0.0001$ ). L'incidence de la maladie est significativement différent entre les isolats de *Globisporangium* ( $n=16$ ,  $F=8.64$ ,  $P<0.0001$ ). L'isolat *G. ultimum* var *ultimum* U3CR a une incidence très élevée, de 89.67% (**Planche 17;Tableau 27**), alors que l'isolat de *G. glomeratum* a montré une incidence très faible de 34.92%.



**Planche 17:** Test de pathogénicité des isolats de *Globisporangium* sur la croissance des plantules de pin d'Alep (**A:** mortalité des plantules, **B:** témoin)

**Tableau 27:** Effet des isolats de *Globisporangium* sur la vigueur des plantules de pin d'Alep.

Isolate	Inhibition de la germination (%)	Inhibition de la croissance racinaire (%)	Inhibition de croissance des parties aériennes (%)	Indice de la Vigour	Incidence de la maladie (%)
<i>G. ultimum var uttimun</i>	72± 4.00 A	68.38± 2.98 A	66.39± 2.98A	800±125.94 J	89.67±10.33A
<i>G. ultimum var uttimun</i>	60±4.00 AB	50.87± 2.58 BCD	41.31± 8.83CD	1850±152.75 GHI	77.78±11.11 ABC
<i>G. heterothallicum</i>	48±4.00 BCD	47.72±2.35BCDE	40.51± 0.14CD	2716±190.42EFGH	62.50±4.16 BCDEF
<i>G. ultimum var uttimun</i>	40±0.00 CDE F	45.11±6.21 CDE	38.78±4.15 CD	2990±245.83CDEF	57.78±4.44 DEFG
<i>G. ultimum var uttimun</i>	44±4.00 BCDE	41.96±1.57 DEF	34.97± 1.41CD	2987±183.33 CDEF	56.11±12.18 DEFG
<i>G. ultimum var uttimun</i>	32±10.58 DEF	46.14±2.93 CDE	30.97±3.02D	3757±638.61BCD	51.06±2.35EFGH
<i>G. ultimum</i>	56± 4.00 ABC	54.65±2.68BC	54.71±2.09 AB	1730± 194.25HIJ	72.22±5.55 BCD
<i>G. ultimum var uttimun</i>	44±4.00 BCDE	46.74±8.07CDE	41.31±5.85CD	2810± 400.55DEFG	64.82±1.85 BCDE
<i>G. ultimum</i>	32±4.00 DEF	47.53±2.11BCDE	35.57±4.54 CD	3457±219.42 BCDE	59.26± 4.89 DEFG
<i>G. ultimum</i>	52± 12.00 BC	51.55±4.09 BCD	44.21±3.37 BC	2240±710.86 FGHI	70.37± 3.70 BCD
<i>G. ultimum</i>	28± 6.92 EF	38.23 ±4.62 EFG	37.51± 7.44 CD	3840±376.44 BC	44±4.44 H
<i>G. ultimum var uttimun</i>	60±4.00 AB	57.25±2.69 B	54.52± 2.93AB	1527 ±138.60 IJ	79.63± 6.67 AB
<i>G. ultimum var uttimun</i>	44±8.00 BCDE	42.40±2.58DEF	40.04±3.73 CD	2873 ±503.01CDEF	60.74± 3.22 CDEFG
<i>G. ultimum var uttimun</i>	40±0.00 CDEF	39.15±2.05 EFG	31.22±5.33D	3377±147.69BCDE	48.89±1.11EFGH
<i>G. ultimum var uttimun</i>	32±4.00 DEF	32.85± 1.16 FG	30.19±5.00 DE	4040±158.22B	46± 6.66 FGH
<i>G. glomeratum</i>	23±8.00 DEF	29.25±1.53G	17.51±0.60E	5070±575.02A	34.92±1.58 H
<i>G. glomeratum</i>	48±4.00 BCD	46.94±2.74 CDE	35.98±5.28 CD	2640 ±160.73EFGH	56.66± 1.66 DEFG

L'inoculation des graines de pin d'Alep par les isolats de *Fusarium* sp a provoqué des inhibitions très importantes de la germination et de la croissance racinaire. Des lésions sont observées sur les racines. Ces lésions sont à mettre en rapport avec le mauvais développement des plantules. Les graines sévèrement attaquées par ce champignon sont décolorées. D'après les pourcentages d'inhibition de la croissance racinaire des plantules, présentées dans le **tableau 27**, nous avons remarqué que l'effet inhibiteur des isolats de *Fusarium* est beaucoup plus accentué en pré-levée. L'évaluation de l'agressivité des différents isolats a révélé l'existence de grandes variations entre ces isolats. Cette étude a montré un spectre d'agressivité très important qui caractérise nos isolats. Un niveau élevé notamment remarqué chez la plupart des isolats collectés. Ces variations d'agressivité sont remarquées chez les isolats des deux genres *Fusarium* et *Globisporangium* de localités différentes ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Cohen et al. (1990)** et **Kadich et al. (1990)**.

*Fusarium* sp. est un agent pathogène responsable des fontes des semis en pré et post-émergence des conifères (**James 1985, Perterson, 2004**). Le *Fusarium* sp a provoqué la pourriture des semis et les racines de jeunes conifères, ce qui entraîne de graves pertes

économiques dans les pépinières forestières (James et al. 2000). La croissance racinaire a été inhibée en pré et post-émergence où l'isolat de *F. redolens* F5RS3 a causé une réduction maximale des racines au cours les deux stades de pré et post-émergence avec 5,5 et 1,29 mm respectivement. Les autres espèces de *Fusarium* ont montré également un effet inhibiteur sur la croissance racinaires en pré et en post-émergence où le *F. solani* F20ST a réduit la longueur des racines avec 5.9 et 2.7 mm respectivement alors que l'isolat de *F. acuminatum* a inhibé la croissance racinaire avec 10.4 et 9.4mm respectivement, tandis que la longueur des racines des plantes de témoins était 27.8mm nos résultats sont accordés à celle trouvés par Maisuria et Patel (2009); Rajput et al. (2008).

L'essai *in vivo*, a confirmé la pathogénicité de nos espèces de *Fusarium* et leurs transmissions. Dans cette étude nous avons rapporté pour la première fois que *F. redolens* et *F. acuminatum* sont des agents de fonte de semis de pin d'Alep dans la région méditerranéenne (Lazreg et al. 2013 a et b), en effet ces deux espèces ont été rapportées sur d'autres cultures par Bienapfl et al. (2010), Hamini et al. (2010). *Fusarium redolens* peut provoquer la pourriture racinaire d'un grand nombre d'espèces végétales (Baayen et al, 2000b, Booth. et Sutton, 1984, Clarkson, 1978, Larsson et Olofsson, 1994). L'indice de la vigueur des plantules témoins est plus élevé 8748.24, alors que l'indice de la vigueur des plantules infectées par *F. redolens* et *F. solani* est de 455.8 et 660.2 respectivement, ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Chen et Chung (2008); Chen et al. (2008, 2009).

Les isolats de *G. ultimum* var *ultimum* sont plus agressifs par rapport aux autres isolats, ces isolats ont inhibé fortement la germination et la croissance racinaire. Le pouvoir pathogène des isolats de *P. glomeratum* est plus faible ces résultats concordent parfaitement avec ceux trouvés par Raynal (1980). Les tests de pathogénicité *in vitro* et *in vivo* que nous avons entrepris ont été utilisés par plusieurs auteurs pour leurs rapidités et leurs reproductibilités, en effet Altiers et Thies (1995), Zhang et Yang (2000) et Dorrance et al. (2004), ont utilisé ces tests de pathogénicité pour évaluer l'agressivité des isolats de *Globisporangium* sur les graines de maïs et de soja. D'après les estimations de l'incidence de la maladie, nous avons remarqué que les isolats de *Globisporangium* sont les plus virulents, ce qui est en accord avec ceux trouvées par Dorrance et al. (2004).

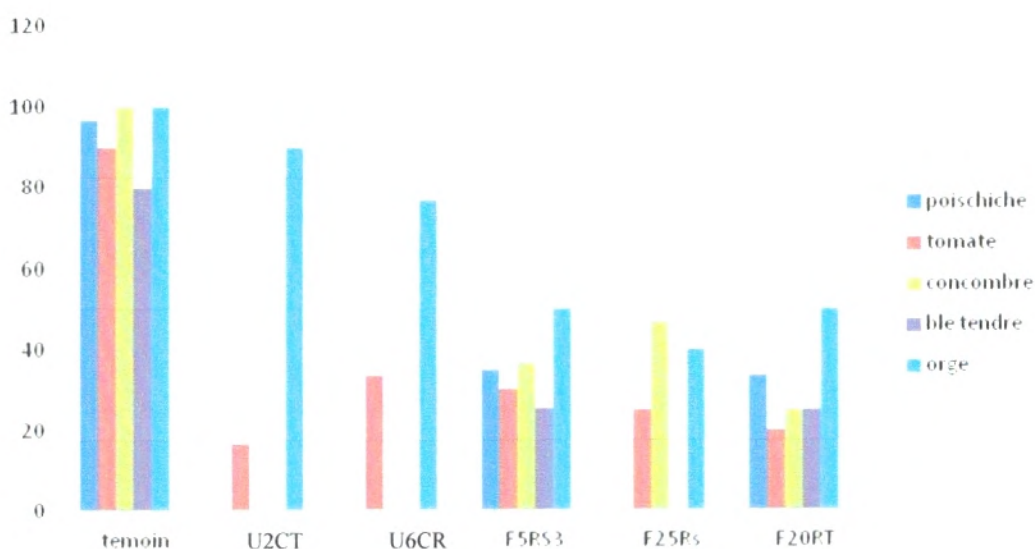
*G. ultimum* est un agent pathogène terricole commun qui peut attaquer un grand nombre d'espèces végétales (Green et Jenson, 2000). *G. ultimum* a infecté l'embryon et cette infection est l'une des caractéristiques les plus remarquables de la fonte des semis (Huet et al.



1995, Stasz et Harman, 1980). L'infection des grains par *Globisporangium* provoque une pourriture accompagnée de petites taches moins sur leur tégument d'après **McKellar et Nelson (2003)**. L'espèce *G.ultimum* attaque les grains après 2h du semis et colonise la totalité après 12 à 24h.

### Chapitre V: Étude de la polyphagie de quelques isolats de *Fusarium* et *Globisporangium*

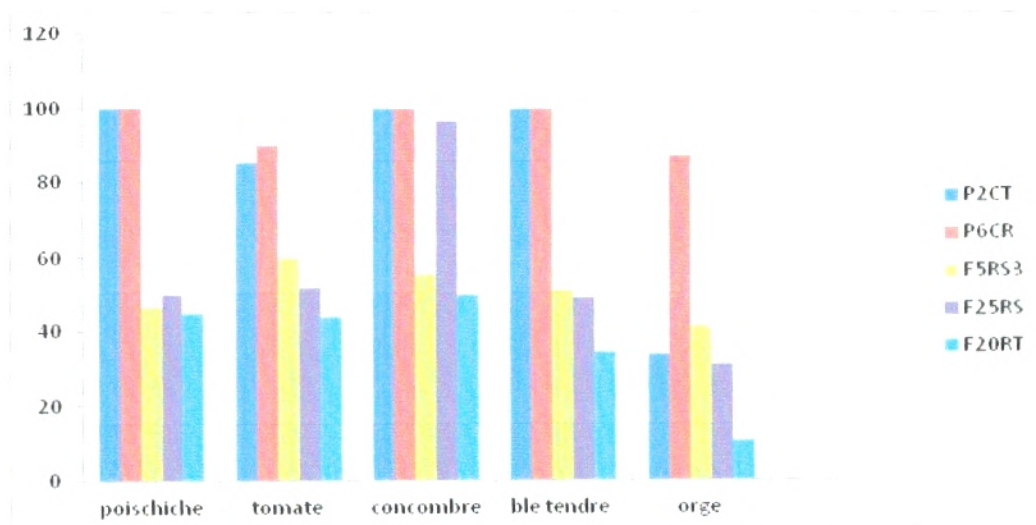
Les résultats consignés sur les **Figures 31** et **32** montrent que l'inoculation des graines, avec les deux isolats de *Globisporangium* et les isolats de *Fusarium* sont totalement sensibles. L'isolat U2CT a montré une agressivité très importante (**Planche 18**). Les graines de la tomate, blé et concombres s'avèrent les plus sensibles vis-à-vis les isolats de *Globisporangium* U2CT et U6CR, ces derniers inhibent totalement la germination des graines de pois chiche, concombre, et le blé tendre. Les graines de l'orge ont montré une résistance vis-à-vis les deux isolats où la germination a été enregistrée de 90 à 76.66% respectivement. Les isolats de *G. ultimum var ultimum* altèrent les racines des plantules inoculées. Les racines ont présentées des lésions marron foncé et des taches noires. Dans les cas les plus critiques, nous avons noté une inhibition totale de la croissance racinaire de la tomate, blé et le concombre provoqué par les isolats U6CR et U2CT. Ces deux isolats provoquent la pourriture totale des graines (**Figure 31**) et affectent leur taux de germination. Lors des contaminations en pré-levée, nous avons observé une très grande différence entre la germination des graines inoculées avec ces deux isolats. Les taux d'inhibition de la croissance racinaire sont très élevés sur les plantules de pois chiche, concombre, blé tendre allant jusqu'à 100% (**Planche 18**). Nous avons remarqué également que l'effet inhibiteur des isolats de *Globisporangium* testés est beaucoup plus accentué.



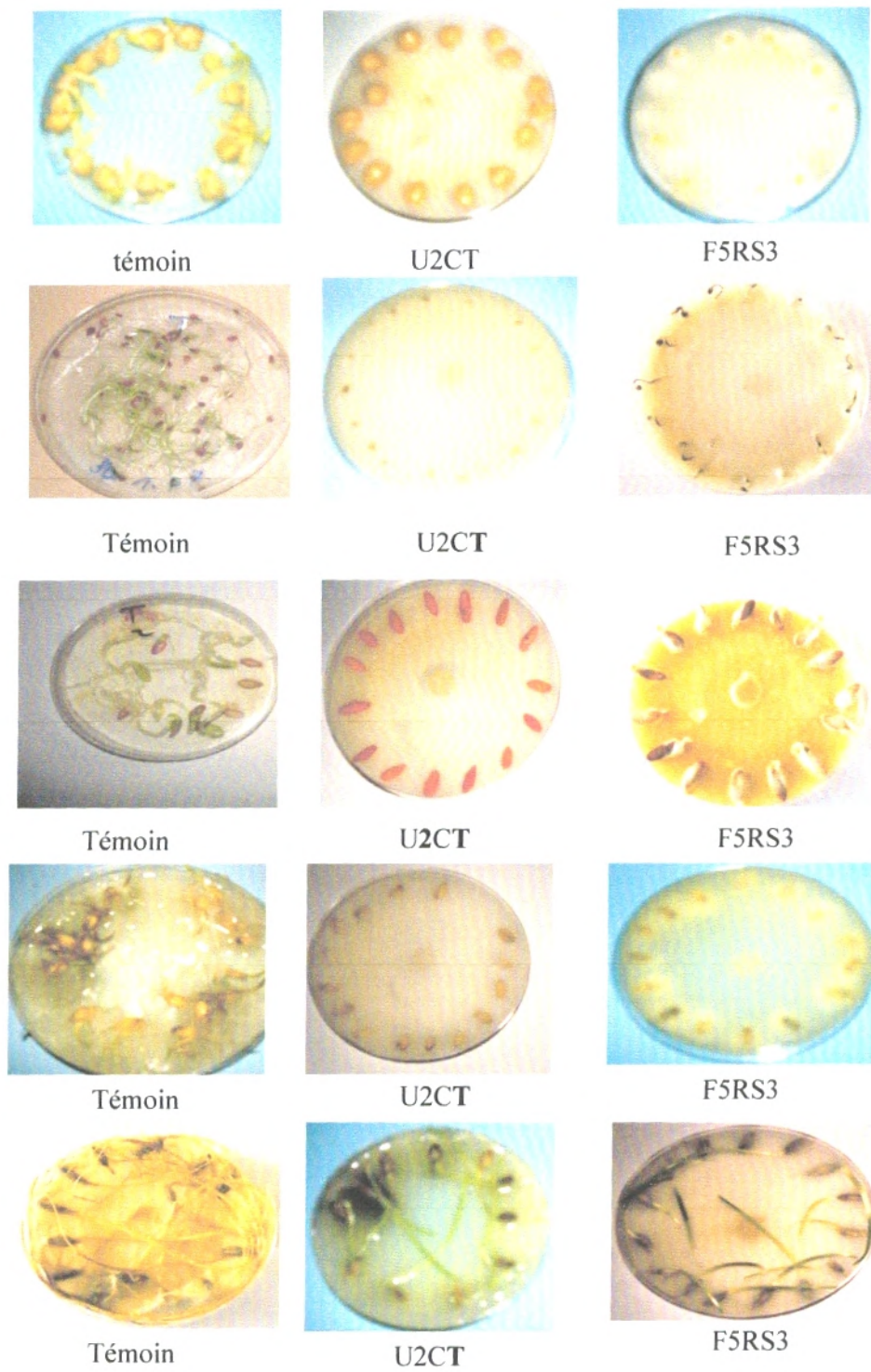
**Figure 31:** Germination des graines inoculées par les isolats de *Globisporangium* (U2CT et U6CR) et de *Fusarium* (F5RS3, F25RS et F20RT).

Le pourcentage de germination des graines inoculées par le *F. redolens*, *F. acuminatum* et *F. solani* varient selon l'espèce de l'agent pathogène, le stade de développement et l'espèce végétale. Le pourcentage de la germination des graines de tomate est de 35, 0 et 33.33% par *F. redolens*, *F. acuminatum*, *F. solani* provoquent respectivement, par contre un pourcentage moyen de germination des témoins de est de 96,66 %. Les isolats de *F. redolens* et *F. acuminatum* affectent la germination des graines (**Figure 31**). Le pourcentage d'inhibition de la germination des graines de concombre varie entre 36.66 ; 46.66 et 20% pour le *F. redolens*, *F. acuminatum* et *F. solani*, respectivement (**Figure 32**).

Les isolats utilisés de *Fusarium* ont manifesté également des effets sur la croissance racinaire des plantules de tomate, concombre, pois chiche, blé tendre et l'orge. Le fait que ces isolats soient capables de réduire le développement racinaire et provoquent des lésions sur les racines. L'inhibition de la croissance racinaire des plantules est variable selon les espèces du pathogène et l'espèce végétale.



**Figure 32:** Inhibition de la croissance racinaire après le traitement avec les isolats de *Globisporangium* et de *Fusarium*



**Planche 18 :** La polyphagie de *Globisporangium* (U2CT) et *Fusarium* (F5RS3)

L'effet de *Fusarium* sp. s'est manifesté essentiellement par l'inhibition de la germination des graines. Ce champignon provoque également une inhibition presque totale des semences de *Striga hermonthica* (Ahmed et al. 2001). Il entraîne une pourriture racinaire et des nécroses sur les collets de l'haricot vert (Gray, 1999).

Les graines sévèrement attaquées par le *Fusarium* sp sont décolorées et exhibent parfois une teinte liée à une production conidienne abondante (Sy et Seré, 1996). *Fusarium oxysporum* et *F. camptoceras* ont manifesté également des effets sur la germination, la rhizogenèse et le développement des racines sur les graines. Le fait que ces espèces soient capables d'induire des lésions sur les coléoptiles des plantules de certaines variétés de Riz constitue une menace potentielle pour la culture du Riz pendant les premiers stades de développement (Zehhar et al. 2006). *F. oxysporum* peut toucher d'autres hôtes, où il cause la pourriture et de sévères pertes de récoltes (Dubois, 1997). Les isolats utilisés de *Fusarium* ont manifesté également des effets sur la croissance racinaire des plantules de tomate, concombre.

Plusieurs espèces de *Globisporangium* sont redoutables agents pathogènes des végétaux. En effet, de nombreuses cultures sont parasitées telles que le blé (Abdelzaher, 2004), le concombre, le coton (Howell, 2002), la carotte (Davis et Nunez, 1999), la betterave à sucre (Lee et Hoy, 1992), le soja (Zhang et Yang, 2000; Dorrance et al. 2004), la tomate (Eden et Hill, 1998), le maïs (Zhang et Yang, 2000; Dorrance et al. 2004), la pomme de terre (Peters et al. 2005), la luzerne (Larkin et al. 1995) etc. Ces agents sont d'autant plus dangereux qu'une même espèce peut s'attaquer à plusieurs cultures (Eden et Hill, 1998). D'après les résultats obtenus nous avons remarqué que les isolats de *Globisporangium* ont un effet sur la germination et la croissance racinaire des semences testées.

La pathogénicité de *Globisporangium* sp a été étudiée sur différents végétaux à travers le monde. *P. middletonii* a été identifié parmi les agents responsables de la fonte de semis du soja en Égypte (Plaats-Niterink, 1981). *G. torulosum* qui est fréquemment isolé, il attaque plusieurs cultures notamment le soja, le maïs, la tomate, l'aubergine, le céleri, la carotte, la laitue et le petit pois (Eden et Hill, 1998 ; Dorrance et al. 2004). Sur ces cultures, il a montré une agressivité variable selon l'hôte testé. L'infection par les *Globisporangium* se manifeste principalement par la fonte des semis que ce soit en pré ou en post-levé (Bazireau-Galland, 2000; Dorrance et al. 2004).

D'après les résultats obtenus nous avons remarqué que les isolats de *Globisporangium* et *Fusarium* sont polyphages, et plus agressifs surtout en stade de pré-levée. Les dégâts occasionnés se traduisent principalement par des inhibitions totales de la germination et une croissance racinaire très faible.

Les *Globisporangiums* occupent une place importante au sein des Oomycètes, leur grande répartition dans le monde et leur impact économique est considérable. Ces microorganismes font un matériel de choix pour de nombreuses études particulièrement les métabolites secondaires. En effet, de nombreux composés ont été mis en évidence principalement ceux impliqués dans la pathogenèse de ces espèces, tels les phytotoxines et les enzymes lytiques (**Chen et al. 1998; Rey et al. 2001; Bell et Walker, 2004**). Les *Globisporangiums* infectent en générale les graines en germination, en provoquant leur pourriture. Un stade plus avancé du développement végétal, lorsque les cellules des tiges et des racines ont développés une paroi secondaire, l'infection est limitée aux jeunes tissus et aux extrémités racinaires (**Hendrix et Cambell, 1973**). Dans la majorité des cas, c'est la fonte de semis qui est observée. Elle débute dès le stade de semence et menace ensuite les jeunes plantules pendant une courte période de 15 à 20 jours avant la lignification des tissus.

## Chapitre VI: Moyens de lutte contre les agents de fonte de semis du pin d'Alep

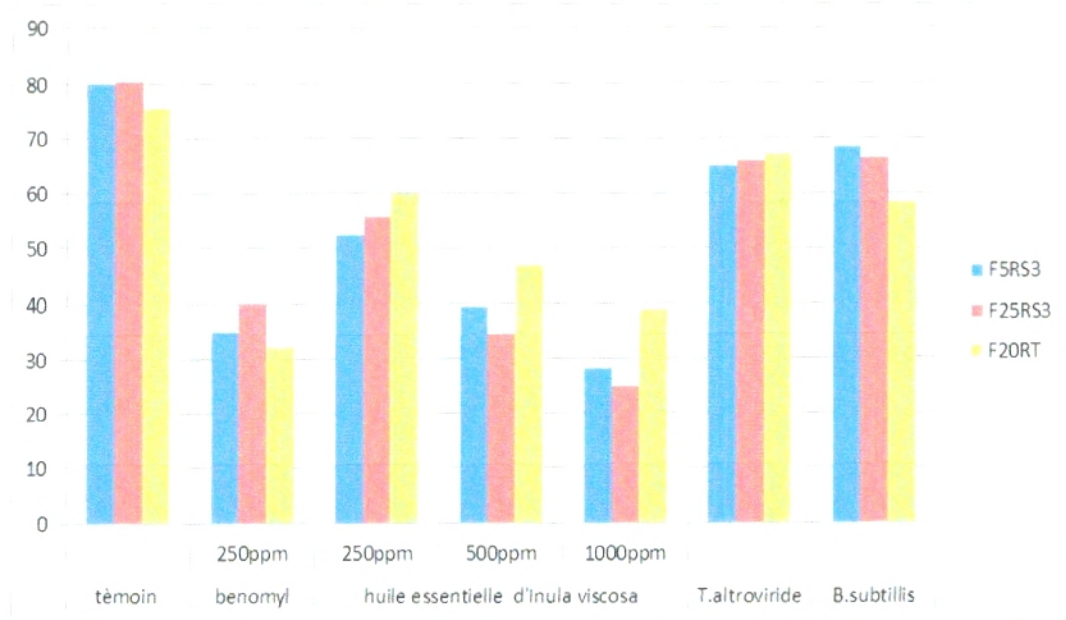
L'objectif de ce chapitre est de rechercher des méthodes de lutte contre les agents responsable de la fonte de semis. Pour atteindre cet objectif, nous avons testé l'efficacité: de huile essentielle de l'inule (*Inula viscosa* L.), et des agents de lutte biologique (*T. alroviride* et *B. subtilus*) sur la germination des conidies et la croissance mycélienne.

### VI.1-Effet de différents traitements (l'huile essentielle de l'inule, *T. alroviride* et *B. subtilus* ) sur la germination des conidies de *Fusarium sp.*

#### VI.1.1- Effet sur la germination des conidies

Le pourcentage de germination des conidies avec les différents traitements en comparaison avec les témoins sont montre dans la **figure 33**. Le traitement avec huile essentielle a montré que la concentration 1000 ppm s'est avérée la plus importante par rapport aux autres concentrations avec des pourcentages de germination de 38.88%, 28.35 % et 25% pour les isolats *F. solani*, *F. redolens* *F. acuminatum* respectivement. Le traitement avec le benomyl a provoqué une inhibition totale de la germination des conidies à partir de 500ppm.

Les conidies des *Trichoderma* testés ont inhibé la germination des conidies des isolats de *Fusarium*. La germination des conidies de *F. solani* est fortement inhibée 67.25%, *F.* suivie de celle de *F. acuminatum*, 66% *redolens* 65%. La germination des conidies a été inhibe par *B. subtilus* avec 68.35% pour *F. redolens*, 66.5% pour *F. acuminatum* et 58% pour *F. solani*.



**Figure 33 :** Effet des différents traitements (huile essentielle, *T. altroviride* et *B. subtilis*) sur la germination des conidies des isolats de *Fusarium* (*F5RS3*, *F25RS3*, *F20RT*).



**Planche 19:** Inhibition de la germination des conidies à gauche et témoin à droite



### VI.1.2-Effet sur la croissance mycélienne

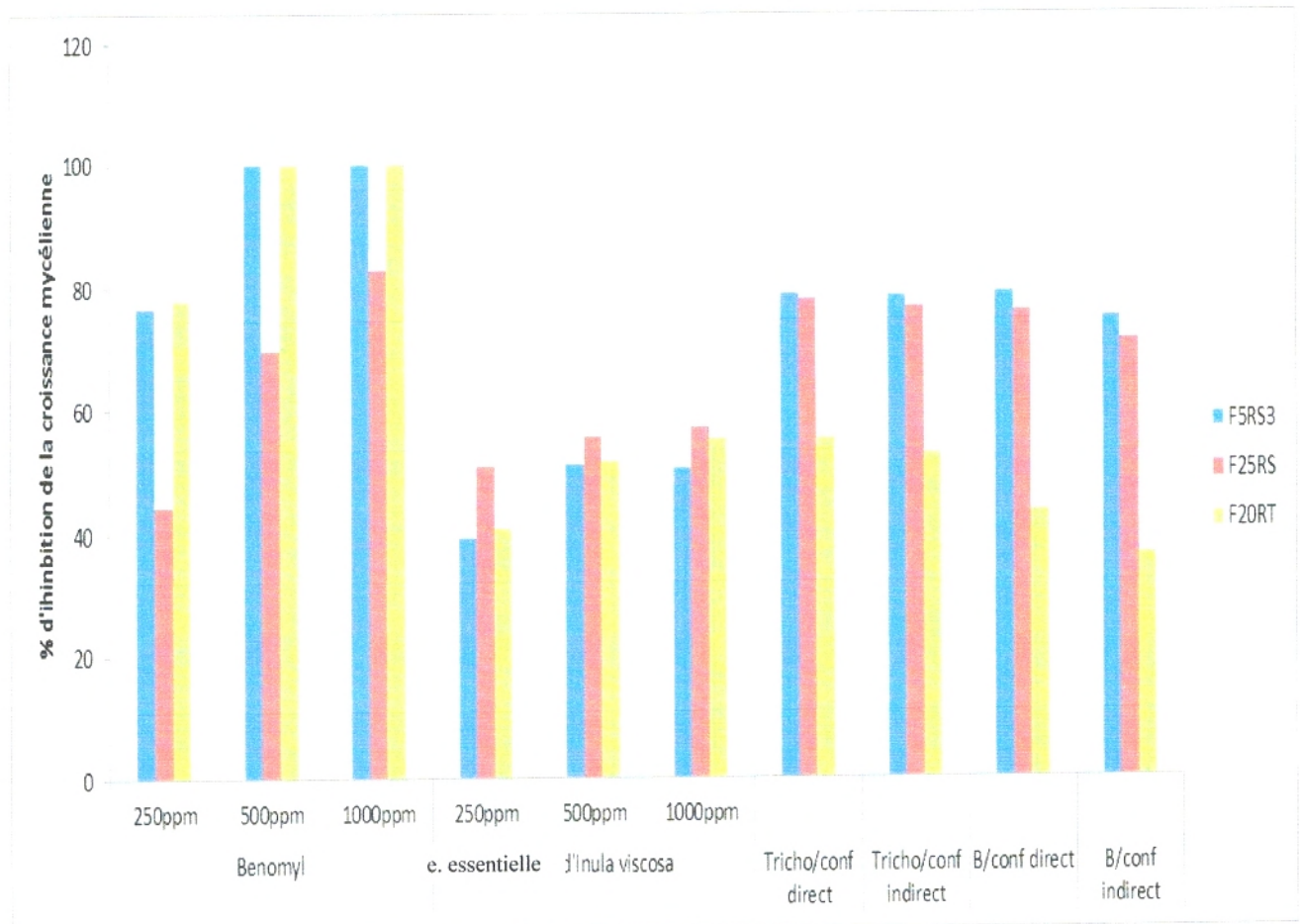
L'effet des huiles essentielles d'*Inula viscosa* sur la croissance mycélienne a été estimé par une méthode basée sur l'incorporation de la substance testée dans le milieu de culture à des concentrations croissantes allant de 250 à 1000 ppm. L'effet de la concentration de l'huile essentielle a été bien déterminé suite à l'augmentation de la zone d'inhibition avec l'évolution de la concentration appliquée. Les photos présentes dans **la planche 20** montrent l'effet de l'huile sur la croissance mycélienne.

Les espèces de *Fusarium* ont montré des zones d'inhibitions à 1000ppm plus ou moins importante avec des valeurs de 2.4 ; 2.48 et 2.43 cm respectivement pour *F. redolens*, *F. solani* et *F. acuminatum*.

Les deux antagonistes *T. altroviride* et *B. subtilis* testés se sont révélés efficaces vis à vis les isolats de *Fusarium* en inhibant leur croissance mycélienne. La réduction de croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* causée par *T. altroviride* est variable de 52.94 à 78.82 % alors que celle causée par *B. subtilis* est variable de 43.52 à 79.30%. Les deux agents de lutte (*T. altroviride* et *B. subtilis*) sont plus efficace contre les isolats de *Fusarium*.

*T. altroviride* a montré un enroulement intense à la zone de contact avec *F. redolens* et *F. acuminatum*, alors qu'il est moyen à l'égard de *F. solani*. L'interaction hyphale est importante sur *F. redolens*, suivi de *F. acuminatum*. Il ressort que, malgré l'absence d'un contact direct entre les isolats de *Fusarium* testés et *T. altroviride*, ce dernier a pu exercer une activité inhibitrice sur le développement des colonies des isolats de *Fusarium* (**Figure 34**). Ceci s'expliquerait par l'aptitude de *Trichoderma* à produire des substances volatiles qui sont capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène.

Le bénomyl présente une action sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium*. À 250ppm, la croissance de ces isolats est inhibée largement en-dessous de 50%. À 500 et 1000 ppm, la croissance mycélienne a été inhibée totalement.

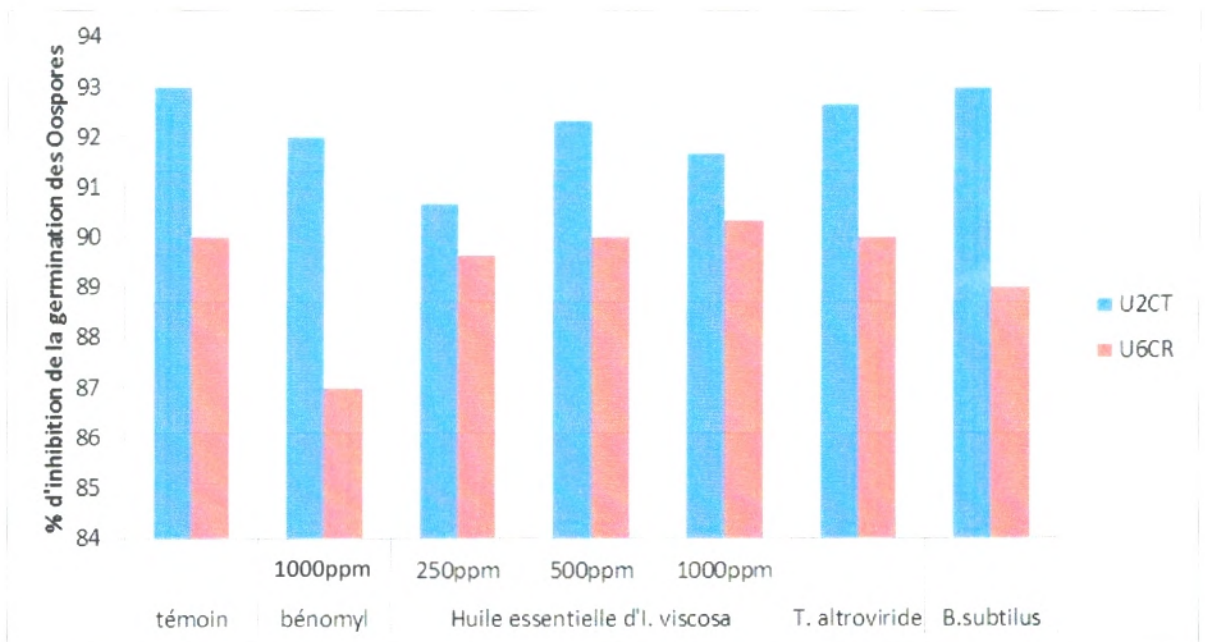


**Figure 34:** Inhibition (%) de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* testés.

## VI.2-Effet de l'huile essentielle de l'inule, *T. altroviride* et *B. subtilis* sur la germination des conidies de *Globisporangium sp.*

### VI.2.1-Effet sur la germination des Oospores

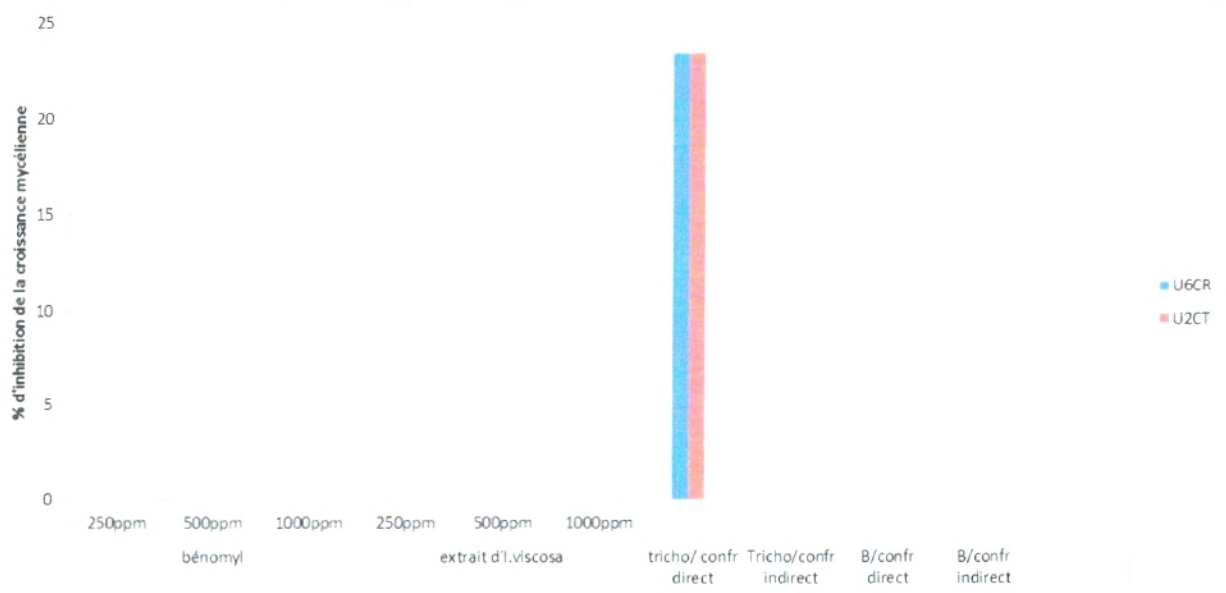
Les résultats obtenus de la germination des oospores de deux isolats de *Globisporangium* sont présentés dans la **Figure 35**. Nous avons remarqué que la germination des oospores ne sont inhibés par les différents traitements utilisés. Ainsi le pourcentage de la germination enregistré pour le témoin est à l'ordre de 93 et de 90% pour les isolats U2CT et U6CR respectivement, alors que ceux enregistrés pour les traitements avec *T. altroviride* et *B. subtilis* sont 92.66 et 93% pour l'isolat U2CT et de 90 et 89% pour l'isolat U6CR respectivement. La germination des oospores de l'isolat U6CR a été réduite un petit peu par le bénomyl où la germination est de 87%. Les traitements avec l'huile essentielle d'*I. viscosa* n'ont réduit pas la germination des oospores de l'isolat U2CT en comparaison avec le témoin où les pourcentages de germination sont 90.66, 92.3 et 91.66% respectivement pour les concentrations 250ppm, 500ppm et 1000ppm.



**Figure 35:** Effet des différents traitements (huile essentielle, *T. altroviride* et *B. subtilis*) sur la germination des oospores des isolats de *Globisporangium* (U2CT et U6CR).

### VI.2.2-Effet sur la croissance mycélienne

Les différents traitements utilisés n'ont pas affecté la croissance mycélienne de deux isolats de *Globisporangium*. D'après les résultats obtenues ces traitements ont été relevé inefficace vis-à-vis le *Globisporangium* sauf que *T. altroviride* inhibe la croissance mycélienne de l'isolat U6CR avec 23.23% où la zone d'inhibition enregistré est de 2cm (**Figure 36**). La croissance mycélienne de deux isolats de *Globisporangium* est de 8.5cm au bout de 2jours d'incubation à 25°C où la croissance mycélienne de l'isolat de *T. altroviride* est de 8.5cm au bout de 4jours d'incubation.



**Figure 36:** inhibition (%) de la croissance mycélienne des deux isolats de *Globisporangium* (U2CT et U6CR) testés.

### VI.3- Mode d'action

Des observations microscopiques réalisées au niveau du mycélium des isolats de *Fusarium* en présence de *T. altroviride* ont révélé la présence d'une lyse importante et une transformation en cordons du mycélium du pathogène et ce comparativement au témoin non traité. Cela confirme les observations de la confrontation directe illustrées à la **planche 20**.

Ces résultats rejoignent ceux obtenus par **Chérif et Benhamou (1990)** qui ont signalé la présence d'altérations avec une perte cytoplasmique du mycélium de *F. oxysporum* suite à l'action du *T. harzianum*, malgré l'absence de contact direct entre les deux champignons.

Les métabolites volatils de *T. atrovide* et *B. subtilis* inhibent surtout la croissance mycélienne (**Planche 18**) et la germination conidienne de *F. redolens* et *F. acuminatum*.



Efficacité de *T. atrovide* sur le développement de *F. redolens* (isolat F5RS3).

Efficacité de *B. subtilis* sur le développement de *F. redolens* (isolat F5RS3).

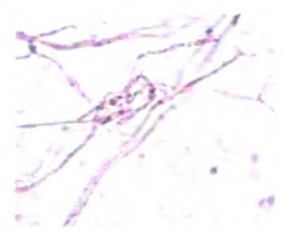
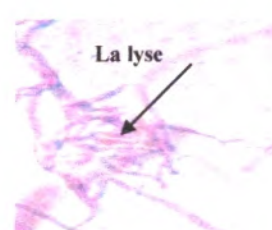
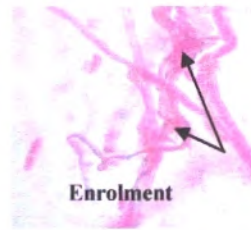
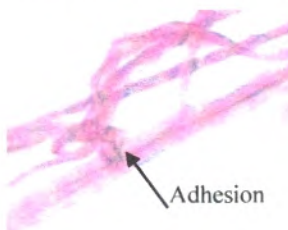


Effet du benomyl sur la croissance mycélienne de *F. redolens* et *F. acuminatum*.



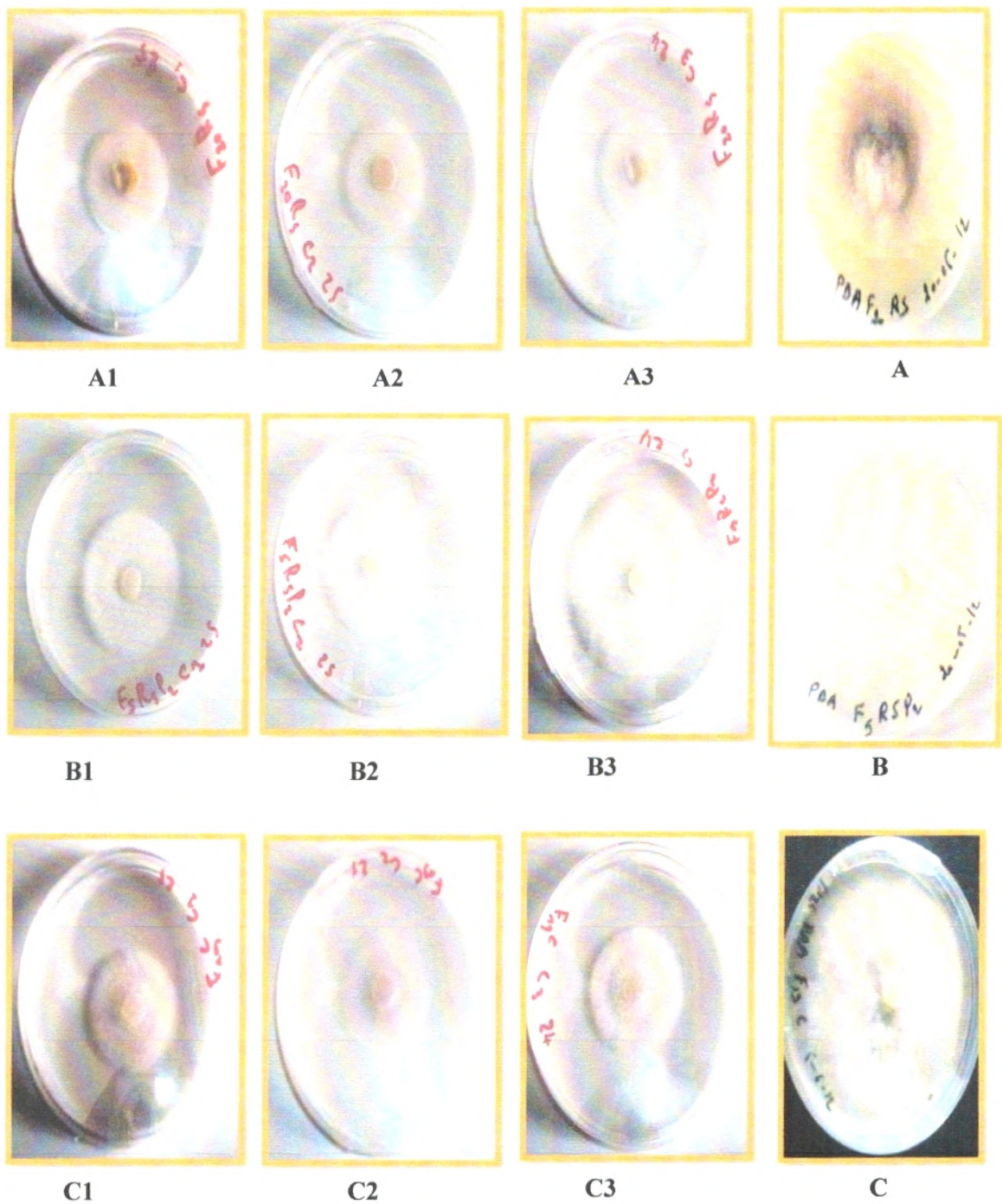
Efficacité de *T. atrovide* sur le développement de *F. acuminatum* (isolat F25RS3).

Efficacité de *B. subtilis* sur le développement de *F. acuminatum* (isolat F25RS3).



Observation microscopique du mode d'action par adhésion, enrôlement et lyse de *T. atrovide* sur les filaments mycéliens de *Fusarium* sp.

**Planche 20:** Effet des différents traitements sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium*.



**Planche 21:** Traitements avec l'huile essentielle d'*I. viscosa* (A1, B1, C1: concentration 1000 ppm, A2, B2, C2: concentration 500 ppm A3, B3, C3: concentration 250 ppm); témoin (A, B, C).

Les extraits de plantes peuvent agir sur des caractères quantitatifs tels que le pourcentage de germination des conidies, la croissance mycélienne et la sporulation mais aussi sur les caractères qualitatifs de l'agent pathogène qui est lié à la pathogénicité ou le pouvoir pathogène. L'extrait de cette plante s'est montré aussi efficace contre *Fusarium solani* (Serhane et Saadoun, 1999; Serhane, 2006).

Les résultats obtenus ont montré que les traitements avec huile essentielle d'*I. viscosa* ne sont efficace vis-à-vis le *Globisporangium* notre résultat sont en contradiction avec ceux trouvés par Wang et al. (2004) où ils ont montré l'efficacité de l'extrait des feuilles d'*Imula viscosa* pour contrôler la maladie du mildiou de la vigne causée par *Plasmopara viticola*.

L'activité inhibitrice de l'huile essentielle d'*I. viscosa* est puissante, les travaux de Benhammou, 1999 ont montré que les pourcentages d'inhibition dépassent 50 % chez tous les isolats étudiées (*Fusarium sp*).

L'activité antifongique des extraits de plantes est parfaitement liée aux composés actifs qu'elles contiennent. L'analyse quantitative et qualitative de l'huile essentielle d'*I. viscosa* par CPG explique cette efficacité par la présence des concentrations élevée des sesquiterpènes et particulièrement les carboxydesmadienes dans les feuilles de cette plante (Cafarchia et al. 2002). Les travaux d'Abu Zarga et al. (1998 et 2002) ont décrit la présence de plus de 14 composés identifiés dans l'huile essentielle d'*I. viscosa* de la région jordanien, six nouveaux sesquiterpeniques de type eudesmane. Ces composés sont l'acide 3 $\beta$ -hydroxyicique, l'acide 3 $\alpha$ -hydroxy-epilicique, l'acide 2 $\alpha$ - hydroxyicique, l'acide 9 $\beta$ -hydroxy-2- oxoisocostique, l'acide 1 $\beta$ -hydroxyicique et l'acide2 $\beta$ -hydroxyicique. Maoz et al. (1999) ont isolé et identifié un nouveau sesquiterpène (le tayunin) à partir des feuilles d'*I.viscosa*, ce composé a inhibé la croissance de *Microsporium canis* à 10  $\mu$ g/ml et *Tricophyton rubrum* à une concentration de 50  $\mu$ g/ml.

L'application de benomyl pour la lutte contre les isolats de *Fusarium* à un effet très important. Les résultats obtenus dans les conditions expérimentales montrent que les isolats de *Fusarium* sont très sensibles que les isolats de *Globisporangium*. Selon Serghat et al (2003) la croissance mycélienne de *F. oxysporum* et *P. intermedium* est affectée par les différentes molarités de glyphosate testées (0.01 - 0.08 - 0.1 - 0.4 - 1 et 2 mM).

Sanogo et al. (1995) ont montré que l'inhibition de la croissance mycélienne de *F. solani* f.sp. *pisi* et de *P. ultimum* correspond à l'inhibition de la sporulation à la concentration de 2 mM du glyphosate, et à 39 g/l pour *F. solani* f.sp. *glycine*.

**Frochot (1982)** préconise une association avec oxyfluorène ou avec simazine pour améliorer l'efficacité du propyzamide sur des espèces de fonte de semis de Pin d'Alep.

Les fongicides de la famille des benzimidazoles tels que le bénomyl et le méthyl-thiophanate ont été largement utilisés pour lutter contre les champignons phytopathogènes appartenant aux Ascomycota (**Keinath, Zitter, 1998**). **Daami-Remadi et El Mahjoub (1997)** ont signalé l'existence d'une interaction entre certains benzimidazoles testés (thiabendazole, méthyl-thiophanate et bénomyl) et les différents *Fusarium* spp utilisés. Le bénomyl s'est montré efficace *in vitro* contre *F. solani*, *F. graminearum*, *F. culmorum* et *F. sambucinum*. Plus tard, **Chérif et al. (2001)** ont démontré la grande efficacité du bénomyl vis-à-vis de la germination, de la croissance mycélienne et de la sporulation de *F. sambucinum*.

**Hanson et Loria (1995)** ont signalé que 155 isolats appartenant à *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. crookwellence*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum* et *F. solani* ont réagi différemment vis-à-vis de trois fongicides benzimidazoles utilisés : le bénomyl et le thiabendazole (à 5 mg.l<sup>-1</sup>) et le méthyl-thiophanate (à 25 mg.l<sup>-1</sup>).

Les isolats de *F. solani*, de *F. oxysporum* et de *F. graminearum* testés se sont montrés sensibles au bénomyl apportés à 5 mg.l<sup>-1</sup>, où une inhibition totale est notée. En effet, la croissance mycélienne est plus faible. Des travaux de **Hanson et Loria (1996)** ont montré que certains isolats de *F. sambucinum* (64 sur 71) et de *F. solani* (9 sur 47) ont toléré 10 mg.l<sup>-1</sup> de thiabendazole et de bénomyl exprimant ainsi une résistance croisée. **Kawchuck et al. (2002)** ont expliqué que ce phénomène a généralement lieu chez des fongicides tels que les benzimidazoles ayant des structures proches et un mode d'action similaire.

L'isolat de *Trichoderma* a inhibé efficacement la croissance mycélienne et la germination des conidies des isolats de *Fusarium*, à des degrés variables et par le biais de différents mécanismes. Le test de confrontation directe a mis en évidence le pouvoir mycoparasitaire de l'isolat de *Trichoderma*. *T. altroviride* n'a pas été en mesure de compétitionner avec *G. ultimum* var *ultimum* puisque l'effet positif généré par *T. altroviride* n'a pas été noté. Pourtant, *in vitro*, *T. altroviride* avait montré une vitesse de croissance très importantes. *T. altroviride* est caractérisé par une croissance rapide, une grande capacité à la compétition saprophytique (**Mouria et al. 2005**) et de parasiter le mycélium des autres champignons.



Des tests préliminaires *in vitro* ont confirmé que *Trichoderma* a limité la propagation du pathogène *F. avenaceum* au niveau du milieu de culture sur des boîtes de Pétri (PDB). (Ganesan et al. 2007).

Les *Trichoderma* sont connus de longue date pour leurs activités antagonistes à l'égard de nombreux champignons, *Botrytis cinerea* (Dubordieu, 1983), *Armillaria obscura* et *Armillaria mellea* (Lanusse et al. 1983); *Rosellina nectarix* et *Phomopsis viticola* (Besselat, 1985); *Phytophthora citrophthora* et *Phytophthora parasitica* (Chet, 1984). Dennis et Webster (1971) mettent en évidence des antibiotiques sécrétés par les *Trichoderma*, solubles dans le chloroforme et extractibles à partir du milieu de culture. *T. harzianum* est efficace contre tous les agents pathogènes testés *in vitro*, ce champignon lutte par contre plus difficilement *P. ultimum* et *P. nicotiana* var. *parasitica*. (Caron et al. 2003).

Les *Trichoderma* sont très efficaces pour la lutte contre les maladies des plantes reliées aux sols, aussi bien que pour la dégradation de composés toxiques présents dans les sols. Les sols inoculés protègent les cultures et garantissent un milieu sain pour un développement normal de la végétation (Harman, 2000). En effet, ce champignon sécrète de multiples enzymes, antibiotiques, hormones qui sont utiles pour la croissance des plantes et leur confèrent une protection contre les pathogènes. Il en résulte aussi une amélioration du contenu du sol en nutriments. La présence de *Trichoderma* dans le sol joue à la fois un rôle préventif et curatif (Harman et al. 2004; Singh et al. 2007).

Des cas d'enroulement et de pénétration de *Trichoderma* contre les isolats de *Fusarium* ont été observés au microscope optique. L'affaissement des hyphes a été noté dans certains de ces systèmes. En outre, la littérature ne cite que les métabolites importants de *Trichoderma* sp. sont principalement des enzymes et des molécules bioactives et des métabolites non volatils diffusibles: polyacétates (antifongiques, antibiotiques), trichotécènes (variété de toxines actives sur microorganismes) notamment les trichodermines (Blumenthal, 2004). Leur production dépend de conditions environnementales régissant des facteurs intrinsèques et extrinsèques (composition des substrats naturels, température, pH, taux d'O<sub>2</sub> et de CO<sub>2</sub>).

Les cellules vivantes de *B. subtilis* produisent des lypopeptides qui ont un effet antifongique et un effet antibactérien. Ces lypopeptides sont des iturins, des agrastatins, des plipastatins et des surfactins. Les agrastatins et les surfactins agissent en synergie avec les iturins pour inhiber la germination des spores, la croissance des tubes germinatifs, la

croissance du mycélium, le développement bactérien et l'attachement de l'agent pathogène au niveau foliaire (Marrone, 2002).

En 2001, Olsen et al ont évalué *B. subtilis* en tant qu'agent de lutte biologique contre l'oïdium (*Oidiopsis taurica*) dans les serres commerciales de poivrons. Les plants étaient traités tous les 10 à 14 jours. À la fin de l'expérience, dix feuilles étaient prélevées sur chaque plant afin d'évaluer le pourcentage de couverture de la surface foliaire par l'agent pathogène. Il en est ressorti que *B. subtilis* a significativement diminué la gravité et l'incidence de la maladie en comparaison avec le témoin.

Daami-Remadi (2001) a montré l'effet fortement antagoniste du même isolat de *T. harzianum* vis-à-vis des *Fusarium* responsables de la pourriture sèche sur des tubercules de pomme de terre. Cette inhibition était plus marquée (près de 93 %) si l'antagoniste était apporté sous forme d'une suspension de spores dans le milieu de culture. Dans le cas de *Pythium* spp. qui possède une vitesse de croissance plus importante que *T. harzianum*, cette inhibition n'était pas bien marquée, toutefois, une lyse plus ou moins importante est observée au niveau des filaments mycéliens du *Pythium* spp. (Daami-Remadi et El Mahjoub, 2001).

### Conclusion

Au cours de cette étude, nous avons effectué des isollements à partir des semences, sol et plantules infectées au niveau de quatre pépinières de pin d'Alep. Le *Fusarium* sp et le *Globisporangium* sp sont les plus fréquemment isolés à partir des quatre pépinières forestières prospectées.

L'identification des espèces isolées a été effectuée en premier lieu par la caractérisation morphologique, en se basant des observation microscopique des structures de reproduction. La clé de **Leslie et Summerell (2006)** a été utilisé pour identifier les espèces de *Fusarium*, et la clé taxonomique de **Plaats-Niterink (1981)** a été consultée pour déterminer les espèces de *Globisporangium*. Plusieurs espèces de *Fusarium* ont été isolé à partir des plantules malades. L'identification morphologiques est nécessaire et très importante, car elle est permet de trier les isolats de *Fusarium* en petits groupes avant d'appliquer d'autres méthodes d'identification.

Les espèces identifiées ont été rapporté pour la première fois comme des agents de fonte de semis de pin d'Alep en Algérie et dans le bassin méditerranéen (**Lazreg et al. 2013 a, b, c, d, e**). En complément à cette étude morphologique, il était nécessaire de procéder à l'étude moléculaire de ces espèces.

Depuis quelques années des méthodes d'identification basées sur des techniques de biologie moléculaire ont fait leurs preuves et se sont imposées par leur fiabilité. Ces techniques sont majoritairement basées sur l'ADN. L'amplification par la PCR de régions spécifiques est une méthode puissante pour l'analyse ciblée d'un type de champignon .

Notre étude moléculaire a été basée sur la comparaison des séquences ITS de l'ADNr et nous a permis de constater en premier que la comparaison des ces espèces de *Pythium* et *Fusarium* présente une homologie de 99 % et 100% avec les séquences du GENE BANK.

Une large gamme de milieux sont utilisés pour l'isolement des différents groupes des champignons qui influent la croissance végétative et la morphologie de la colonie, la pigmentation et la sporulation en fonction de la composition du milieu de culture, le pH, la température, la lumière et la disponibilité de l'eau. Les résultats obtenus montre que le milieu PDA est un milieu favorable pour la croissance et la sporulation de la plupart des isolats de *Fusarium* et le milieu de CMA a favorisé la croissance les isolats de *Globisporangium*. Nous avons trouvé que le pH 6.5 est le plus favorable pour la croissance des isolats. La température 25°C est favorable pour la croissance des isolats de *Fusarium*. La température 15°C a été favorable pour la croissance des isolats de *Globisporangium* .

Le *Fusarium* et le *Globisporangium* sont largement étudiés en raison de leur importance économique. En effet, ils peuvent causer des dégâts très importants sur les végétaux, ils peuvent être de redoutables parasites des cultures forestières. Nos résultats ont montré que les espèces de ces deux genres sont redoutables sur les plantules de pin d'Alep. L'analyse de la polyphagie de quelques isolats confirme leur pouvoir pathogène d'infecter d'autres cultures. Ces espèces sont pathogènes vis à vis de plusieurs cultures notamment le blé, la tomate, l'aubergine l'haricot vert, le concombre. Ceci est mis en évidence par une inhibition élevée de la germination, une réduction significative de la croissance racinaire, inhibition de la croissance des parties aérienne et indice de vigueur. Ces isolats ont provoqué toutefois d'importants dégâts sur les plantules de pin d'Alep. Les attaques sont beaucoup plus sévères ou l'incidence des maladies est de 91% pour le *F. redolens* et 90% pour le *F. solani*.

Dans le but de lutter contre les agents de fonte de semis du pin d'Alep, nous avons testé des moyens de lutte biologiques afin de choisir la méthode la plus fiable pour l'utiliser. Nous avons tenté d'étudier *in vitro* l'antagonisme de quelques agents telluriques vis à vis de cette espèce (*B. subtilis* et *T. altoviride*), un fongicide (benomyl), un extrait de plante (huile essentielle d'*I. viscosa*). En effet, les essais de confrontations entre *Fusarium* et (*T. altoviride* et *B. subtilis*) d'une façon directe sur le milieu de culture, ont révélé une inhibition de la croissance mycélienne du pathogène testé. Lorsqu'il y a contact direct entre les deux champignons, *T. altoviride* envahit les colonies de *Fusarium* avec un pourcentage d'inhibition égale 78.82% au bout de six jours d'incubation. *B. subtilis* a inhibé la croissance mycélienne jusqu'à 79.30%. L'huile essentielle a fortement inhibé la croissance mycélienne de *Fusarium*. La confrontation *in vitro* des isolats de *Globisporangium* avec chacune de ces deux agents de lutte biologique (*B. subtilis* et *T. altoviride*) a révélée un effet antagoniste négative par contre sur les isolats de *Globisporangium* nous avons montré une importante activité antagoniste pour les deux agents de lutte. L'huile essentielle de l'Inule et le benomyl n'inhibe pas la croissance des isolats de *Globisporangium* mais par contre des zones d'inhibition très importantes ont été observées contre les isolats de *Fusarium*.

Sur la base des résultats obtenus *in vitro* dans les conditions expérimentales, *T. altoviride* et *B. subtilis* réduisent significativement la croissance mycélienne du *Fusarium*. Le *Fusarium* paraît plus sensible que le *Globisporangium*. Les résultats obtenus lors de ce travail sont fort intéressants et mériteraient d'être complétés par une étude *in vivo* afin de lutter contre les agents de fonte de semis.

-A-

- Abbas H., Barbero M., Loisel R et Quezel P. 1985 a. Les forêts de pin d'Alep dans le sud-est méditerranéen français. Analyses écodendrométriques, première partie. Forêt méditerranéenne 7 (1): 35-42.
- Abbas H., Barbero M., Loisel R. et Quezel P. 1985 b. Les forêts de pin d'Alep dans le sud-est méditerranéen français. Analyses éco dendrométriques, deuxième partie. Forêt méditerranéenne 7 (2) : 123-130.
- Abbas H.K., Mouhi M.N., Al-Roubaie J.T., Hama N.N et El-Bahadli A.H. 1991. *Phomopsis phoenicola* and *Fusarium equiseti*, new pathogens on date palm in Iraq. Mycological Research. 95: 509.
- Abbas H.K., Ocamb C.M., Xie W., Mirocha C.J et Shier W.T. 1995. First report of fumonisin B1, B2, and B3 production by *Fusarium oxysporum* var. *redolens*. Plant Disease. 79: 968.
- Abbott E.V. 1926. Taxonomic studies of soil fungi. Iowa State Coll. J. Sci. 1:15–36.
- Abdelzaher H.2004. Occurrence of damping-off of wheat caused by *Pythium diclinum* to kunaga in El-Minia, Egypt and its possible control by *Gliocladium roseum* and *Trichoderma harzianum*. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 37 (2): 147-159.
- Abdul-Haq, M. and S. Shahzad. 1998. Oomycetes from soil of Bajour Agency, FATA, Pakistan. Pakistan Journal of Botany. 30: 305-306.
- Abourouh M et Morelet M. 1999. Les champignons parasites du cedre de l'atlas en Afrique du nord et en France forêt méditerranéenne t. xx, n° 4, décembre 1999.
- Abu Zarga M.H, Sabri S.S, Hamed E.M, Khanfar M.A, Zeller K.P et Atta-UrRahman 2002. A new eudesmane type sesquiterpene from *Inula viscosa*. Natural Product Research. 17: 99-102.
- Abu Zarga M.H., Hamed E.M., Sabri S.S., Voelter W et Zeller K.P. 1998. New sesquiterpenoids from the Jordanian medicinal plant *Inula viscosa*. Natural Product Research. 61:798-800
- Ademez L. 1886. Untersuchungen über die niederen Pilze des Ackerkrume. Inaugural dissertation. 1-78. Leipzig Alimentaire. Polytechnica. Paris. Pp: 15-20.
- Agarwal D.K., Sarboj A.K. 1978. Physiological studies on four species of *Fusarium* pathogenic to soyabean. Indian Phytopathology. 31: 24–31.
- Agrios G.N. 1988. Plant pathology. 3rd edition. San Diego (CA): Academic Press, Inc. 803 pp.
- Agrios G.N. 2005. Plant Pathology, 5 éditions. Académie Press, San Diego. 922 pages

- Ahmed N.E., Sugimoto Y., Babiker A.G.T., Mohamed O.E., Inanaga Y.Ma.S et Nakajima H. 2001. Effects of *Fusarium solani* isolates and metabolites on *Striga* germination. *Weed Science*. 49: 354-358.
- Alabouvette C., Schippers B., Lemanceau P et Bakker P.A.H.M. 1996. Biological control of Fusarium wilts toward development of commercial product Mercel Dekker In: Hall R (Ed) principals and practice of managing soil borne plant pathogens APS Press St Paul Minnesota, USA. 192-211. INC New York pp.
- Alexander M. 1977. Introduction to soil Microbiology, John Wiley and Sons, New York. 207.
- Ali-Shtayeh M.S et Saleh A.S.F. 1999. Isolation of *Pythium acanthicum*, *P. oligandrum*, and *P. periplocum* from soil and evaluation of their mycoparasitic activity and biocontrol efficacy against selected phytopathogenic *Pythium* species. *Mycopathologia*. 145: 143-153.
- Altier N.A et Thies J.A., 1995. Identification of resistance to *Pythium* seedling diseases in alfalfa using a culture plate method. *Plant Disease*. 79:341-346.
- Altschul S.F., Madden T. L., Schäffer A. A., Zhang J., Zhang Z., Miller W et Lipman D. J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Oxford Journals. Life Sciences Nucleic Acids Research* 17: 3389-3402.
- Anderson J.A., Sorrells M.E et Tanksley S.D. 1993. RFLP analysis of genomic regions associated with resistance to preharvest sprouting in wheat. *Crop Science*. 33: 453-459.
- Anderson R.L. 1986. Check list of microorganisms associated with tree seeds. In: the world, 1985. Asheville, NC. USDA Forest Service, Southeastern Forest Experiment Station. General Technical Report. 39.
- Andrade D.S., Colozzi-Filho A et Giller K.E. 2003. The Soil Microbial Community and soil tillage. Pp. 51-81. In: El Titi A. (Ed). *Soil Tillage in Agroecosystems*. CRC Press LLC, Boca Raton.
- Anjaneya R.B. 2002. Variability of *Fusarium udum* and evaluation of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L). Mills) genotypes. M. Sc Agriculture Thesis, University of Agril. Science Bangalore. Pp.115.
- Anonyme I. <http://www.aujardin.org/techniques-f31.html>. 17 déc. 2005.
- Apetorgbor M.M., Turco E., Cobbinah J. R et Ragazzi A. 2004. Potential factors limiting viability of *Milicia excelsa* (Welw.) Berg seeds in plantation establishment in West Africa. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. 111: 238-246.
- Armstrong G.M et Armstrong J.K. 1981. Formae specialis and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt disease: in Nelson P.E., Toussoun T.A and Cook R.J (Ed) *Fusarium: diseases, biology and taxonomy* Pennsylvania state university Press: University Park and London. Pp: 391-399.

-B-

- Baayen R.P et Gams W. 1988. The Elegans Fusaria causing wilt disease of carnation. Taxonomy. Netherlands Journal of Plant Pathology. 94: 273-288.
- Baayen R.P., O'Donnell K., Breeuwsma S., Geiser D.M et Waalwijk C. 2001. Molecular relationships of fungi within the *Fusarium redolens* F. *hostae* clade. Phytopathology. 91: 1037-1044.
- Baayen R.P., van der Boogert P.H.J.F., Bonants P.J.M., Poll J.T.K., Blok W.J et Waalwijk C. 2000. *Fusarium redolens* f. sp. *asparagi*, causal agent of asparagus root rot, crown rot and spear rot. European Journal of Plant Pathology. 106: 907-12.
- Badoc C., De Meeu T., Bertout S., Odds F.C., Mallie M et Bastide J.M. 2002. Clonality structure in *Candida dubliniensis*. FEMS Microbiology Letters. 10394: 1-6
- Bagga S et Straney D. 2000. Modulation of cAMP and phosphodiesterase activity by flavonoids which induce spore germination of *Nectria haematococca* MP VI (*Fusarium solani*). Physiological and Molecular Plant Pathology. 56: 51-61.
- Bahorun T. 1997. Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research. Pp: 83-94.
- Baker R. 1988. *Trichoderma* spp. as plant-growth stimulants, CRC. Critical Reviews in Biotechnology. 2: 97-106.
- Bakry M et Abourouh M. 1992. La fonte des semis premiers résultats sur les pertes en pépinières forestières. Annales Recherche Forestière Maroc, T. 26. Pp. 11: 3-126.
- Barber D.A et Lynch J.M 1977. Microbial growth in the rhizosphère. Soil Biology and Biochemistry. 9: 305-308.
- Barbero M., Bonin G., Loisel R et Quezel P.1990. Changes and disturbances of forest ecosystems caused by human activities in the western part of the mediterranean basin. Vegetatio 87: 151-173.
- Barbéro M., Loisel R., Quézel P., Richardson D.M. et Romane F. 1998. Pines of the Mediterranean Basin. In: Ecology and biogeography of Pinus (ed): Richardson D.M Cambridge University Press, Cambridge. Pp. 153-170.
- Bashar M. A. et Baharat R. 1992. Antifungal property of *Clematis gouriana* against some pathogenic root infecting fungi of chickpea. Journal of the Indian Botanical Society. 71: 307-308.
- Belghazi L., Lahlou N., Ismaili M., Abousa ouiria T., Habti N., Tantaoui Iraki A., Talbi M., Blaghen M et Fellat Z. 2002. extraction et analyse par la chromatographie en phase

gazeuse de l'huile essentielle de la menthe pouliot. Test antifongique. Congrès de biochimie. Casablanca. biochimie et santé. Pp: 38-40.

- Bell C et Walker T. 2004. Production of cellulase by *Pythium irregulare* growing on flax shive substrate. 3rd Annual SPRI Research Poster, Friday, July 16, Hendrix Student Center, Clemson University, Clemson, SC.
- Benayache S., Benayache F., Dendouguy H. et Jay M. 1991. Les flavonoides d'*Inula viscosa* L. Plantes Médecinales Phytothérapie. XXV (4): 170-176.
- Benhamou N et Chet I. 1997. Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. Applied and Environmental Microbiology. 63: 2095–2099.
- Benhamou N., Garand C et Goulet A. 2002. Ability of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 to induce résistance against *Pythium ultimum* infection in cucumber. Applied and Environmental Microbiology.68: 4044-4060.
- Benizri E., Baudoin E., Di Battista-Leboeuf C et Guckert A. 2001. Des bactéries pour la santé des plantes. Biofutur. 210: 52-56.
- Benkada M. 2006. evaluation du risque fongique en zones conchylicoles: substances toxiques de souches marines du genre trichoderma. these de doctoract.
- Bentouati A. 2006. Croissance, productivité et aménagement des forêts de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) du massif de l'Ouled Yagoub (Kenchela-Aurès). Mémoire Doctorat. Agronomie BATNA. Pp: 116.
- Bernard J. 1972. Analyse pollinique d'une séquence marine wurmienne provenant de Méditerranée occidentale. Comptes Rendu de l'Académie des Sciences III. 273: 1151-1154.
- Besselat B., 1985. Résultats obtenus par le service de la protection des végétaux dans le cadre de la lutte contre la pourriture grise de la vigne avec utilisation du *Trichoderma*. L'emploi des ennemis naturels dans la protection des cultures. INRA. Paris (FR). Pp: 51-58.
- Bhutta A. R., Bhatti M. H. R et Ahmad I. 1999. Effect of seed diffusates on growth of seedborne fungi of sunflower. Helia. 22: 143-50
- Bienapfl J.C., Malvick D.K et Percich J. A. 2010. First Report of *Fusarium redolens* Causing Root Rot of Soybean in Minnesota Plant Disease. 8: 1069.
- Bissett J. 1984. A revision of the genus *Trichoderma*. L. Section Longibrachiatum Canadian Journal of Botany. 62: 924-931.
- Bissett J. 2004. Commentaires de l'adresse internet suivante: [http://www. Medical glossary .org/fungi-mitosporic -fungi-definitions.htm](http://www.Medicalglossary.org/fungi-mitosporic-fungi-definitions.htm)



- Blackman J.P et Fokkema N.J. 1982. Potential for biological control of diseases on phylloplane. Annual Review of Phytopathology. 20: 167-192.
- Blakeman J.P. 1993. Pathogens in the foliar environment. Plant Pathology. 42: 479-493.
- Blumenthal C.Z. 2004. Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 39: 214-228.
- Bonmatin J.M., Laprevote O et Peypoux F. 2003. Diversity among microbial cyclic lipopeptides: iturins, and surfactins. Activity structure relationships to design new bioactive agents. Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening. 6: 541-556.
- Bonner F.T., Mclemore B.F et Barnett J.P. 1974. Presowing treatment of seed to speed germination. In: Seeds of Woody Plants in the United States. Agriculture Handbook N° 450. Forest Service, USDA, Washington D.C.
- Booth C et Sutton B.C. 1984. *Fusarium pallidoroseum*, the correct name for *F. semitectum* Auct. Mycological research. 91: 543-740.
- Booth C. 1971. The genus *Fusarium*. Kew (surrey): Commonwealth Mycological Institute, England. Pp: 137.
- Booth C. 1981. Perfect states (teleomorph) of *Fusarium* species pages 446-452. In *Fusarium: Diseases, biology and taxonomy*. Nelson P.E, Toussoun T.A et Cook R.J (Ed). Pennsylvania states. University Press. University Park. Pp: 457.
- Borghetti M., Cinnirella S., Magnani F et Saracino A. 1998. Impact of long term drought on xylem embolism and growth in *Pinus halepensis* Mill. Trees, structures and functions 12: 187-195.
- Botstein D., White R.L., Skolnick M et Davis R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics. 3:314-331.
- Boudy P. 1955. Economie forestière Nord africaine. Tome: 4. Description forestière de l'Algérie et de la Tunisie (Ed). Larose. Pp: 453.
- Boughalleb N. 2001. Sudden decay of watermelon in Tunisia identification of fungi and biology of *Fusarium* spp. Proceedings of the Post Graduate Certificate in Protection of Plants and Environment. (PGCPPE'2001) Sousse, Tunisie. Pp: 83-83.
- Boulenouar N., Cheriti A. et Marouf A. 2009. Effect of some poisonous plants extractson *Fusarium oxysporum* f. sp.albedinis. Journal of Biological Sciences. 9: 594-600.
- Boutte B et Durand-Gillmann D.S.F. 2012. INRA Avignon pour la partie *T. destruens* Pin d'Alep les principaux problèmes sanitaires information santé des forêts.

- Britz H., Wingfield B.D., Coutinho T.A et Wingfield M.J. 2002. Sequence characterized amplified polymorphic markers for the pitch canker pathogen, *Fusarium circinatum*. *Molecular Ecology Notes*. 2: 577-580.
- Burd G.I., Dixon D.G et Glick B.R. 1998. A plant growth promoting bacterium that decreased nickel toxicity in seedling. *Applied in environment*. Pp: 64.
- Burgess L.W et Summerell B.A. 1992. Mycogeography of *Fusarium*: Survey of *Fusarium* species from subtropical and semi-arid grassland soils from Queensland, Australia. *Mycological Research* 96: 780-784.
- Burgess L.W., Forbes G. A., Windels C., Nelson P. E., Marasas W. F. O., et Gott K. P. 1993. Characterization and distribution of *Fusarium acuminatum* subsp. *armenicum*. *Mycologia* 85: 119-124.
- Burgess L.W., Summerell, B. A., Bullock, S., Gott, K. P., and Backhouse, L. W. 1994. *Laboratory Manual for Fusarium Research*, 3rd edition. University of Sydney Royal Botanic Gardens. Sydney, Australia.
- Butler E. J.1907. An account of the genus *Pythium* and some Chytridiaceae. *Memoirs of the Departement of Agriculture. India* 1:1-160.
- Buyer J.S., Roberts D.P., Russek-Cohen E. 2002. Soil and plant effects on microbial community structure. *Canadian Journal of Microbiology*. 48:955-964.

-C-

- Cafarchia C., De Laurentis N., Milillo M.A., Losacco V et Puccini V. 2002. Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Imula viscosa* (Asteraceae) by Apulian region. *Parassitologia*. 44: 153-156.
- Çakmakçı R., Dönmez F., Aydın A et Fahin F. 2006. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. *Soil Biology and Biochemistry*. 38: 1482-1487
- Campbell R. 1989. *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge Univ. Press. UK.
- Camporota P. 1985. Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Agronomie*. 5: 613-620.
- Carballido-López R et Formstone A. 2007. Shape determination in *Bacillus subtilis*. *Current Opinion in Microbiology*.10: 611-6.
- Carisse O., Bernier J et Benhamou N. 2003. Sélection of biological agents from composts for control of damping-off of cucumber caused by *Pythium ultimum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 25: 258-267.

- Carlile M. J., Watkinson S. C et Gooday G.W. 2001. The Fungi, 2 editions. Academic. Pres. London. 588 pages.
- Carnegie A. J., Ades P.K et Ford R. 2001. The use of RAPD-PCR analysis for the differentiation of *Mycosphaerella* species from Eucalyptus in Australia. *Mycological*. 105: 1313-1320.
- Caron J., Laverdière L et Thibodeau P.O. 2003. Amélioration des qualités nutritionnelles du milieu de culture utilisé pour produire *Trichoderma*, afin d'en maximiser le potentiel antagoniste. Rapport de recherche. CRAAQ. Pp 44.
- Caron J., Laverdière L., Thibodeau, P.O et Bélanger R.R. 2002. Use of an indigenous strain of *Trichoderma harzianum* against five plant pathogens on greenhouse cucumber and tomato in Québec. *Phytoprotection*. 83: 73-87.
- Carrillo A.E., Li C.Y., Bashan Y. 2002. Increased acidification in the rhizosphere of cactus seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Die Naturwissenschaften*. 9:428-32.
- Cartwright D.K., Chilton C et Benson D.M. 1995. Pyrrolnitrin and phenazine production by *Pseudomonas cepacia*, strain 5.5B a biological agent of *Rhizoctonia solani*. *Applied in Microbiology and Biotechnology*. 43: 211-6
- Castañares E., Wehrhahne L et Stenglein S.A. 2012. *Fusarium pseudograminearum* Associated with Barley Kernels in Argentina. *Plant disease*. 96: 763
- Cavaglieri L, Orlando J, Rodríguez MI, Chulze S et Etcheverry M. 2005. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* *in vitro* and at the maize root level. *Research in Microbiology*. 6:748-754.
- Cavaglieri L., Passone A et Etcheverry M. 2004. Correlation between screening procedures to select root endophytes for biological control of *Fusarium verticillioides* in *Zea mays* L. *Biological Control*.3: 259-267.
- Cavaglieri L., Passone A et Etcheverry M. 2004a. Screening procedures to select rhizobacteria with biocontrol activity upon *Fusarium verticillioides* growth and fumonisin B1 production. *Research in Microbiology*. 9: 747-754.
- Cavaglieri L.R., Passone A. et Etcheverry M.G. 2004b. Correlation between screening procedures to select root endophytes for biological control of *Fusarium verticillioides* in *Zea mays* L. *Biological Control*. 31, 259-267.
- Chaba B., Ouanouki B et Belaib D. 1994. Maîtrise de la végétation indésirable en pépinière forestière : application aux semis de pin d'Alep rev. for. fr . xlvii - 6-1994.
- Chakroum M.L. 1986. Le pin d'Alep en Tunisie. Ingénieur en chef. Directeur des reboisements. Direction des forêts Tunis. CHIHEAM. Options Méditerranéennes.

- Chandra S., Raisada M et Gaur A.K.S. 1983. Pathological variability in *Fusarium oxysporum* and *F. solani*. Indian Phytopathology. 1: 36-40.
- Chang Y.C., Chang Y.C et Baker R. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant Disease. 70 : 145- 148.
- Chauhan M.U. 1997. Investigations on wilt disease of bottle gourd caused by *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. M.Sc. Agriculture thesis. G.A.U., S.K. Nagar, India, 68 pp.
- Chelkowski J., Zawadzki M., Zajkowski P., Logrieco A et Bottalico A. 1990. Moniliformin production by *Fusarium* species. Mycotoxin Research. 6: 41-45.
- Chen C., Bélanger R.R., Benhamou N et Paulitz T.C. 1998. Induced systemic résistance (ISR) by *Pseudomonas* spp. impairs pre- and post-infection development of *Pythium aphanidermatum* on cucumber roots. European Journal of Plant Pathology. 104: 877-886.
- Chen S., Gao J., Halicka H.D., Traganos F. et Darzynkiewicz Z. 2008. Down regulation of androgen receptor and PSA by phytochemicals, International Journal of Oncology. 32: 405-411.
- Chen W., Hoitink H.A.J., Schmitthenner A.F et Tuovinen O.H. 1988. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. Phytopathology. 78:314-322.
- Chen W.C., Hsieh H.J et Tseng T.C. 1998. Purification and characterization of a pectin lyase from *Pythium splendens* infected cucumber fruits. Botanical bulletin of academic science. 39: 181-186.
- Chen ZM, Wu HX, Zeng HF, Zhang SS, 2009. Identification of *Pythium aphanidermatum* isolated from tobacco field and the screening of *Trichoderma* spp. for antagonistic agent. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University (Natural Science Edition)*, 38(1): 11-15 (in Chinese)
- Chérif M et Benhamou N. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Phytopathology. 80: 1406–1414.
- Chérif M., Omri N., Hajlaoui MR., Mhamdi M et Boubaker A. 2001. Effet de quelques fongicides sur un agent de pourriture sèche des tubercules de pomme de terre *Fusarium roseum* var. *sambucinum* et sur les *Trichoderma* antagonistes. Annales de l'Institut national de la recherche agronomique. Tunisie.74: 131–149.
- Chermette R. et Bussieras J. 1993. Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'École Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- Chet I et Baker R. 1980. Induction of suppressiveness *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology, 70, 994-998.

- Chet I. 1984. Application of *Trichoderma* as a bio control agent. Pp. 110-111 Proc. 6th Congress. Phytopathology Mediterrareen. Cairo (Egypt)
- Chi C.C et Hansen E.W. 1964. Relation of temperature, pH and nutrition to growth and sporulation of *Fusarium* spp. From red clover. *Phytopathology*. 54: 1053-1058.
- Chiarlo B. 1988. Sui costituenti dell *Inula viscosa* Ait. *Bulletino Chimico Farmaceutico*. n° 107. pp 370-380.
- Chittem K et Kulkarni S. 2008. Effect of Media on the Growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gerberae* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Karnataka Journal of Agriculture Science*. 21: 303-304.
- Clarkson J.D.S. 1978. Pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with foot-rots of peas and beans. *Plant Pathology*. 27:110-117.
- Cohen Y., Ginsi U et Mosinger E. 1991. Systemic resistance of potato plants against *Phytophthora infestans* induced by unsaturated fatty acids. *physiological and molecular plant pathology*. 38: 255-363.
- Cournut B. 1984. Le genre *Trichoderma* hyphomycètes. Th : Pharmacie: Marseille. Pp: 77.
- Coutte F. 2009. Production sélective de lipopeptides par *Bacillus subtilis* en bioréacteur a membrane du génie moléculaire au génie des procédés

-D-

- Daami-Remadi M et El Mahjoub M. 2004. Appearance in Tunisia of *Fusarium oxysporum* f. sp. *tuberosi* causing vascular wilting and tuber dry rot of potato. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 34: 407-411.
- Daami-Remadi M., 2001, Lutte biologique contre les *Fusarium* spp. agents pathogènes responsables de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en Protection des Plantes et Environnement. Ecole Supérieure d'Horticulture et d'Elevage de Chott Mariem. Pp: 72.
- Daami-Remadi M et El Mahjoub M. 1997. Fusariose de la pomme de terre en Tunisie (IV). Activité de quatre fongicides vis-à-vis des souches locales de *Fusarium*. *Annales de l'Institut national de la recherche agronomique*. Tunisie. 70 : 3-19.
- Daami-Remadi M et El Mahjoub M. 2001. Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. *Annales de l'INRAT*. Pp: 167-186.
- Dammi-Remadi M., Jabnoun-Khiareddine H., Ayed F et EI Mahjoub M. 2006. Effect of temperature on aggerressivity of Tunisian *Fusarium* sp. causing potato (*Solanum tuberosum*). *European Journal of Agronomy*. 5: 350-355.

- Davet P. 1986. Activité parasitaire des *Trichoderma* vis-à-vis des champignons à sclérotés; corrélation avec l'aptitude à la compétition dans un sol non stérile. *Agronomie*. 6:863-867.
- Davis R.M et Nunez J.J. 1999. Influence of crop rotation on the incidence of *Pythium* and *Rhizoctonia*-induced carrot root dieback. *Plant Disease* 83:146-148.
- De Meyer G., Bigirimana J., Elad Y et Hofte M. 1998. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*. 104: 279-286.
- Deacon J.W et Mitchell R.T. 1985. Toxicity of oat roots, oat root extracts, and saponins to zoospores of *Pythium* spp. and other fungi. *Transactions of the British Mycological Society*. 84: 479-487.
- Dennis C et Webster J. 1971a. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*. 57: 25-39.
- Dennis C et Webster J. 1971b. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*. 57: 41-48
- Dennis C et Webster J. 1971c. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interactions. *Transactions of the British Mycological Society*. 57: 363-369.
- Derr, H.J. and Mann, W.F. 1971. Direct-seeding pines in the south. *Agriculture Handbook* N° 391, Forest Service USDA. Washington D.C.
- DGF. 2005. Superficies, potentialités, et bilan d'incendies des forêts algériens. Rapport Février 2005. Pp: 8-9.
- Dick M.W. 1990. Keys to *Pythium*. University of Reading, School of Plant Science, Department of Botany. Pp: 64.
- Dobbelaere S., Vanderleyden J et Okon Y. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 22: 107-149.
- Domsch K.H., Gams W et Anderson T.H. 1980. *Compendium of soil fungi*. Volume 1, Academic press a subsidiary of Harcourt brace.
- Domsch K.H., Gams W et Anderson T.H. 1993. *Compendium of soil Fungi*, volume I & II, IHW – Verlag in Eching.
- Dorrance A.E., Berry S.A., Bowen P et Lipps P.E. 2004. Characterization of *Pythium* spp. from three Ohio fields for pathogenicity on corn and soybean and metalaxyl sensitivity. *Plant Health Progress*. 10: 1094.

- Dubois M. 1997. Étude de la variabilité génétique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, champignon pathogène du cotonnier. Thèse Doctorat University de Paris IX Orsay. Pp: 135.
- Dubourdiou D., 1983. Dégradation du glucane de *Botrytis cinerea* par les  $\beta$ 1,3glucanase de *Trichoderma* sp. Pp : 35-49. XXIV colloque de la société Française de phytopathologie. n°34, Bordeaux (FR).
- Duffy B., Schouten A et Raaijmakers J.M. 2003. Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. Annual Review of Phytopathology. 41: 501-38.
- Duval J. 1991. Les fusarioses de la tomate. Ecological Agriculture Project. Agro-Bio. 320-05.
- Duvauchelle S., Lherbier V., Sarniguet C., Lebreton L et Andrivon D. 1997. Evolution of phenylamide resistance in French populations of *Phytophthora infestans*, 1981-1996. ANPP-Cinquième Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes. Tours- 3-4-5. Pp: 471-478.

-E-

- Eden M.A et Hill R.A., 1998. First record of *Pythium mastophorum* in New Zealand and its pathogenicity relative to other *Pythium* spp. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. 26: 253-256.
- EL androusse A et EL aissami A .2006 . Etude *in vitro* de l'activité antagoniste de quelques microorganismes à l'encontre de *Pythium diclinum*. Proceeding du 6ème congrès de l'association Marocaine de protection des plantes, IAV Hassan II, Rabat.
- EL Androusse A. 2006. Contribution à l'étude de quelques Oomycètes du barrage Sidi Mohammed Ben Abdellah: Aspects mycologique et phytopathologique. Thèse de doctorat, Rabat. N° d'ordre 2321, 2006.
- El Aouni M. 1980. Processus déterminant la production du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.): photosynthèse, croissance et répartition des assimilât. Thèse d'état, Université de Montpellier France. Pp: 164.
- Elad Y et Chet I. 1987. Possible rôle of competition for nutrients in biocontrol of *Pythium* damping-off by bacteria. Phytopathology. 77: 190-195.
- Elad Y et Stewart A. 2004. Microbial control of *Botrytis* spp. In: Elad Y., Williamson B., Tudzynski P et Delan N (eds). *Botrytis: biology, pathology and control*. Dordrecht the Netherlands. Kluwer Academic Press. 223–41.
- Elad Y., Chet I et Baker R. 1987. Increased growth response of plants induced by
- Ellis B.M. 1976. More dematiaceous hyphomycetes", Ed. Common wealth Mycological Institute, Kew, England.

- Ellis et Everh. 1895. *Fusarium acuminatum* Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. 47: 441.
- Engelbrecht M.C., Smit W. A et Knox-Davies P.S.1983. Damping off of rooibos tea, *Aspalathus linearis*. Phytomycolactica. 15: 121-124.
- Epstein L., Kwon Y.H., Almond D. E., Schached L.M et Jones M.J. 1994. Genetic and biochemical characterization of *Nectria haematococca* strains with adhesive and adhesion reduced macroconidia. Applied and Environmental Microbiology. 60: 524-530.
- Esitken A., Karlidag H., Ercisli S et Sahin F.2002. Effects of foliar application of *Bacillus subtilis* Osu-142 on the yield, growth and control of shot-hole disease (*Coryneum* blight) of apricot. Gartenbauwissenschaft.67: 139–142.

-F-

- FAO, Projet de Développement de l'Imbo – Nord. Mission d'identification, octobre 1992
- Farkya S., Pandey A.K et Rajak R.S. 1996. Mycoherbicides potential of *Fusarium* spp. against *Parthenium*: Factors affecting *in vitro* growth and sporulation. Bioved Reaserch Society. 7: 1–9.
- Fernando W.G et Linderman R.G. 1993. Occurrences, Distribution and Pathogenicity of the cowpea Root and stem Rot Pathogen, *Phytophthora vignae*, in soils of Sri Lanka, Plant Disease. 77:1158-1164
- Filonow A.B. 1998. Role of competition for sugars by yeasts in the biocontrol of gray mold of apple. Biocontrol Science and Technology. 8: 243-256.
- Forrest W.G. 1964. The effect of pretreatment on germination of slash pine seed. Research. Note N° 14. Forestry Commission of New South Wales.
- Fournier P. 1947. Livre des plantes médicinales et veneneuses de France. Ed. Lechevalier. Tome 1. Pp: 176-178.
- Fraedrich S.W et Miller T. 1995. Mycoflora associated with slash pine seeds from cones collected at seed orchards and cone processing facilities in the southeastern USA. European Journal of Forest Pathology. 25:7382.
- Francis D.M et Clair St.D.A. 1997. Population genetics of *Pyihium ultimum*. Phytopathology .87: 454-461.
- Fries E. M., 1821 - Systema mycologicum 1.Lundae.
- Fries E.M. 1832. Systema mycologicum Vol. 3. Sectio 2. Greifswald. Pp 261–524.
- Frochot H.1982. Quelques nouvelles possibilités du désherbage chimique en pépinière forestière -Orléans: Hortiforum. Pp:1-8.



- Fuller M et Jaworski A. 1987. Zoospore fungi in teaching and research. Southeastern Publishing Corp. Athens, Georgia. Pp: 303.

-G-

- Ganesan S., Kuppusamy R.G et Sekar R. 2007. Integrated management of stem rot disease (*Sclerotium rolfsii*) of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) using *Rhizobium* and *Trichoderma harzianum* (ITCC-4572). Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 31: 103-108.
- Gangadhara N.B., Nagaraja R., Basavaraja M.K et Krishna N.R. 2010. Variability studies of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* isolates. International Journal of Science and Nature. 1:12-16.
- Garraway M.O et Evans R.C. 1991. Fungal nutrition and physiology. Krieger Publishing Company, Malabar, FL, pages 71-211.
- Georgakopoulos D.G., Fiddaman P., Leifert C et Malathrakis N.E. 2002. Biological control of cucumber and sugar beet damping-off caused by *Pythium ultimum* with bacterial and fungal antagonists. Journal of Applied in Microbiology. 92: 1078-1086.
- Gerlach W et Nirenberg H. 1982. The genus *Fusarium* A pictorial atlas. Mitteilungen aus der biologischen Bundesanstalt Fur Land and Forstwirtschaft (Berlin Dahlem)
- Gerlach W et Nirenberg H. 1982. *The genus Fusarium. A pictorial atlas*. Paul Parey, Berlin and Hamburg, Germany.
- Gerlach W. 1981. Present concept of *Fusarium* classification. Pp. 413-426. In Nelson P. E., Toussoun T.A et Cook R.J (eds). *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. The Pennsylvania State University Press.
- Gevers W., Kleinkauf H et Lipmann F. 1968. The activation of amino acids for biosynthesis and gramicidin S. Proceedings of National Academy of Science. U.S.A. 60:269-276.
- Gezahgne A., Coetzee M.P.A., Wingfield B.D., Wingfield M.J et Roux J. 2004. Identification of the Armillaria root rot pathogen in Ethiopian plantations Forest Pathology.34 133-145.
- Ghazi A et Lahouati R .1997. Algérie 2010. Sols et ressources biologiques. Institut. Nationale des Etudes de Stratégie Globale.Pp: 45.
- Gilman J.C. 1957. A Manual of Soil Fungi. Iowa State University Press, Ames. Pp: 450.
- Gordon W. L. 1952. The occurrence of *Fusarium* species in Canada. II. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seed. Canadian Journal of Botany 30: 209-251.
- Graham J. H et Linderman R.G. 1983. Pathogenic seedborne *Fusarium oxysporum* from Douglas- fir. Plant Disease 67: 323-325.

- Graumann P. 2007. Bacillus: Cellular and Molecular Biology, ed. G. Peter Graumann University of Freiburg. Caister Academic Press. 454.
- Gray L. E., Achenbach L. A., Duff R.J et Lightfoot D. 1999. Pathogenicity of *Fusarium solani* f. sp. *glycines* isolates on soybean and green bean plants. Journal of Phytopathology. 147: 281-284.
- Green H et Jensen D.F. 2000. Disease progression by active mycelial growth and biocontrol of *Pythium ultimum* var. *ultimum* studied using a rhizospheric System. Phytopathology. 90: 1049-1055.
- Grulois S et peeters J. 2004. dynamiser la gestion du pin d'alep en PACA AFOCEL fiche information foret n° 682. Pp: 6.
- Guarro J., Gene J et Stchigel A.M. 1999. Developments in Fungal Taxonomy, Clinical Microbiology Reviews. 12: 454-500.
- Guarro J., Pujol I., et Mayayo E. 1999. *In vitro* and *in vivo* experimental activities of antifungal agents against *Fusarium solani*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 43:1256-1257.
- Guo L.Y et Wen-Hsiung.Ko. 1991. Hormonal regulation of sexual reproduction and mating type change in heterothallic *Pythium splendens*. Mycological Research. 95:452-456.
- Guo L.Y et Ko W. H. 1993. Two Widely Accessible Media for Growth and Reproduction of *Phytophthora* and *Pythium* species. Applied of Environment and Microbiology. 59: 2323.
- Gupta O, Khare M.N et Kotasthane S.R. 1986. Variability among six isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* causing wilt of chickpea. Indian Phytopathology. 39:279-281.

-H-

- Haas D et Keel C. 2003. Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. Annual Review of Phytopathology 41: 117-153.
- Hamini-Kadar N., Edel-Hermann V., Gautheron N et Steinberg C. 2010. First report of *Fusarium commune* and *Fusarium redolens* causing crown and root rot on tomato in Algeria. New Disease Report. 22: 3.
- Handelsman J., Raffel S., Mester E. H., Wunderlich L et Grau C.R.1990. Biological control of damping-off of alfalfa seedlings with *Bacillus cereus* UW85. Applied of Environment of Microbiology. 56:713-718.
- Hanson L.E et Loria R. 1996. Lack of cross resistance to benzimidazole fungicides in *Fusarium sambucinum* and *Fusarium solani* isolates from potato tubers. Phytopathology. Pp: 86.
- Harman G.E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Plant Disease. 84: 377-393.

- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I et Lorito M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts, A reviews. Nature Reviews Microbiology. 2: 43-56.
- Harman G.E., Mattick L.R., Nash G et Nedrow B.L.1980. Stimulation of fungal spore germination and inhibition of sporulation in fungal vegetative thalli by fatty acids and their volatile peroxidation products. Canadian Journal of Botany. 58: 1541-1547.
- Harper J.T., Waanders E et Keeling P.J. 2005. On the monophyly of chromalveolates using a six-protein phylogeny of eukaryotes International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 55: 487-496.
- Harz C.O. 1871. Einige neue Hyphomyceten Berlins und Wiens nebst Beiträgen zur Systematik derselben. 44:88-147
- Haware M.P., Nene Y.L. et Mathur S.B. 1986. Seed borne diseases of chickpea .Technical Bulletin from the Danish Government Institute of seed Pathology for developing Countries. Copenhagen Denmark. 1:14.
- Hendrix F.F et Campbell W. 1973. *Pythiums* as plant pathogens. Annual Review of Phytopathology. 11: 77-98.
- Hibbett D.S., Binder M., Bischoff J.F., Blackwell M., Cannon P.F., Eriksson O.E., Huhndorf S., James T., Kirk P.M., Lücking R., Lumbsch T., Lutzoni F., Matheny P.B., McLaughlin D.J., Powell M.J., Redhead S., Schoch C.L., Spatafora J.W., Stalpers J.A., Vilgalys R., Aime M.C., Aptroot A., Bauer, R., et al. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. Mycological Research. 111: 509-547.
- Hmouni A., Massoui M et Douira A. 1999. Étude de l'activité antagoniste de *Trichoderma* spp et de *Gliocladium* spp. à l'égard de *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise de la tomate. Al Awamia. 100 : 75-92.
- Hmouni A., Oihabi L., Badoc A et Douira A. 2003. Étude de la résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles, dicarboximides et dithiocarbamates dans les cultures abritées de tomate de la région du Gharb (Maroc). Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux. 142: 79-100.
- Howell C.R et Stipanovic R.D. 1980. Suppression of *Pythium ultimum* induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. Phytopathology. 70:712-715.
- Howell C.R. 2002. Cotton seedling pre-emergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. Phytopathology. 92:177-180.
- Hsu M.C., Chen K.W., Lo H.J., Chen Y.C., Liao M.H., Lin Y.H et Li S.Y. 2003. Species identification of medically important fungi by use of real-time Light Cycler PCR. Journal of Medical Microbiology. 52: 1071-1076.

- Huang J. W et Kuhlman E. G. 1990. Fungi associated with damping-off of slash pine seedlings in Georgia. *Plant Disease*. 74:27-30.
- Huet J.C., Lecaer J.P., Nespoulous C et Pernollet J.C. 1995. The relationships between the toxicity and the primary and secondary structures of elicitinlike protein elicitors secreted by the phytopathogenic fungus *Pythium vexans*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 8:302-310.

-I-

- Ibekwe A.M., Kennedy A.C., Frohne P.S., Papiernik S.K., Yang C.H et Crowley, D.E., 2002. Microbial diversity along a transect of agronomic zones. *FEMS Microbiology Ecology*. 39:183-191.
- Idrees M., Zaidi S.S., Khan A.U et Akhtar A.S. 2006. Studies on Mycoflora of Shisham and Development of Dieback Disease. Pp: 43-51. Proceeding of the third national seminar on Shisham Dieback 11th May 2006 (PFRI), Faisalabad .
- Imran Khan H. S., Saifulla M., Mahesh, S.B et Pallavi, M.S 2011. Effect of different media and environmental conditions on the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* causing *Fusarium* wilt of chickpea
- Inbar J et Chet I. 1991. Evidence that chitinase produced by *Aeromonas caviae* is involved in the biological control of soil borne plant pathogens by this bacterium. *Soil Biology and Biochemistry*. 23: 973-978.
- Ingole M.N. 1995. Estimation of losses, variability among isolates and management of pigeon pea wilt caused by *Fusarium udum* Butler. M.Sc. Agriculture Thesis, Dr. PDKV, Akola, pp.146

-J-

- Jacobsen B.J. 2006. Biological control of plant diseases by phyllosphere applied biological control agents. Pp. 133-147. In: *Microbial ecology of aerial plant surfaces*. M. J. Bailey, A. K. Lilley, T. M. Timms-Wilson and P. T. N. Spencer-Phillips, (eds). Athenaeum Press, Gateshead, UK.
- Jacques P., Hbid C., Destain J., Razfindralambo H., Paquot M., DePauw E et Thonart P. 1999. Optimization of biosurfactant lipopeptide production from *Bacillus subtilis* S499 by Plackett-Butman design. *Applied of Biotechmistry and Biotechnology*. 77: 223-233.
- Jamaría S.L. 1972. Nutritional requirement of *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*. *Indian Phytopathology*. 25: 29- 32.
- James R.L and Gilligan C.J. 1985. Containerized Engelmann spruce seedling diseases at the USDA Forest Service Nursery, Coeur d'Alene, Idaho. USDA Forest Service, Northern Region. Rept. 85-17. Pp: 15. Timber, Cooperative Forestry and Pest Management, Missoula, MT.

- James R.L. 2000. Pathogenic characteristics of *Fusarium acuminatum* isolated from inland Pacific Northwest nurseries. USDA Forest Service, Northern Region, Forest Health Protection. Report 00-16. Pp: 8.
- James R.L. 2004. *Fusarium* colonization of seeds, seedpods, and diseased seedlings of *Acacia koa* from Hawaii. Missoula (MT): USDA Forest Service, Northern Region, Forest Health Protection. Nursery Disease Notes No. 159. Pp: 22.
- James R.L., Dudley N.L et Yeh A. 2006. Investigating koa wilt in Hawaii: Examining *Acacia koa* seeds and seed-pods for *Fusarium* species. *Native Plants*. 7:315-323.
- Jarvis W.R. 1988. *Fusarium* crown and root rot of tomatoes. *Phytoprotection*. 69: 49-64
- Jayakumar O.D., Gopalakrishnan I.K., Kadam R.M., Vinu A., Asthana A et Tyagi A. K. 2007. Surfactant-induced-enhanced-room-temperature-ferromagnetism-in  $Zn_{0.96}Mn_{0.03}Li_{0.01}O$ -nanoparticles-Prepared-by-solid-state-pyrolitic. *Journal of Crystal Growth*. 307: 300 -358.
- Jensen H.L. 1931. The fungus flore of the soil. *Soil Science*. 31: 123-158.
- Jeschke N., Nelson P.E et Marasas W.F.O. 1990. *Fusarium* spp. isolated from soil samples collected at different altitudes in the Transkei, southern Africa. *Mycologia*. 82: 727-733.
- Jijakli M.H. 2003. La lutte biologique contre les agents phytopathogènes. In: Lepoivre P (Ed): *Traité de Phytopathologie*. deboek et Presses agronomiques de Gembloux, Bruxelles. 289-317.
- Joffe A.Z et Palti J. 1977. Species of *Fusarium* found in uncultivated desert-type soils in Israel. *Phytoparasitica*. 5: 119-122.
- Joffe A.Z. 1986. *Fusarium* Species: Their Biology and Toxicology. John Wiley and Sons, New York City.
- Johnson T.W.J.R., Seymour R.L et Padgett D.E. 2002. Biology and systematic of the Saprolegniaceae. On-line publication:<http://www.ilumina-dlib.org>. 1028p.

-K-

- Kadik B. 1987. Contribution a l'étude du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill) en Algérie: écologie; dendrométrie, morphologie. Office des publications universitaires (Alger). Pp: 5-222.
- Kadish D., Grinberger M et Cohen, Y. 1990. Fitness of Metalaxyl-Sensitive and Metalaxyl-Resistant Isolates of *Phytophthora infestans* on Susceptible and Resistant Potato Cultivars. *Phytopathology*. 80 : 200-205
- Kageyama K et Nelson E.B. 2003. Differential inactivation of seed exudate stimulation of *Pythium ultimum* sporangium germination by *Enterobacter cloacae* influences biological

control efficacy on different plant species. Applied of Environment and Microbiology. 69: 1114-1120

- Kamiya A., Kikuchi A., Tomita Y et Kanbe T. 2004. PCR and PCR-RFLP techniques targeting the DNA topoisomerase II gene for rapid clinical diagnosis of the etiologic agent of dermatophytosis, Journal of Dermatological Science. 34: 35-48.
- Kanaan Y.M et Bahkali A.H 1993. Frequency and cellulolytic activity of seed-borne *Fusarium* species isolated from Saudi Arabian cereal cultivars. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. 100: 291-298.
- Kawchuk L.M., Hutchison L.J., Verhaeghe C.A., Lynch D.R., Bains P.S et Holley J.D. 2002. Isolation of the b-tubulin gene and characterization of thiabendazole resistance in *Gibberella pulicaris*. Canadian Journal of Plant Pathology. 24: 233-238.
- Keinath AP., Zitter A.Z. 1998. Resistance to benomyl and thiophanate-methyl in *Didymelle bryoniae* from South Carolina and New York. Plant Disease. 82: 479-484.
- Kemp R.F.O. 1975. Breeding of coprinus species in section lanatuli- transaction of the British Mycological Society. 65:375-388.
- Kerényi Z., Moretti A., Waalwijk C., Oláh B et Hornok L. 2004. Mating type sequences in asexually reproducing *Fusarium* species. Applied and Environmental Microbiology. 70: 4419-4423.
- Khulbe R.D. 2001. A manual of aquatic fungi (Chytridiomycetes & Oomycetes). Daya Publishing House, India. Pp: 255.
- Kim M.S., Stewart J.E., Dumroese R.K et Klopfenstei N.B. 2012. Occurrence of the root rot pathogen *Fusarium commune* in forest nurseries of the Mid Western and Western United States. Journal of Phytopathology. 160: 112-114.
- Kirk B.R. 2008. Seed and seedling disease of corn and soybean in OHIO: the role of *Fusarium graminearum*, Pythium species diversity, fungicide sensitivity, Pythium community composition and soil properties in disease severity. PhD thesis the Ohio state University 2008.
- Kirk T. K. 1971. Effects of microorganisms on lignin. Annual Review of Phytopathology. 9: 185-210.
- Kirkpatrick M.T., Rothrock C.S., Rupe J.C et Gbur E.E. 2006. The effect of *Pythium ultimum* and soil flooding on two soybean cultivars. Plant Disease. 90: 597-602.
- Kleifeld O et Chet I. 1992. *Trichoderma harzianum* interaction with plants and effect on growth response. Plant Soil. 144 : 267-272
- Kloepper JW., Ryu C.M et Zhang S. A.2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology. 94: 1259-1266.

- Knust F., Ogasawara N., Moszer, I., Albertini, A.M., Alloni G et al. 1997. The complete genome sequence of the gram positive bacterium *Bacillus subtilis*. Nature 390:249-256.
- Komada H. 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. Review of Plant Protection Research. 8:114-125.
- Kommedahl T., Abbas H.K., Burnes P.M et Mirocha C.J. 1988. Prevalence and toxigenicity of *Fusarium* spp. from soils of Norway near the Arctic Circle. Mycologia 80: 790-794.
- Kornerup A, Wanscher J.H.1978. Methuen handbook of colour. London: Eyre Methuen. Pp: 252.
- Korolev N et Katan T. 1997. Improved medium for selecting nitrate non-utilizing (nit) mutants of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 87: 1067-1070.
- Kosiak B., Torp M., Skjerve E et Thrane U. 2003. The prevalence and distribution of *Fusarium* species in Norwegian cereals: A survey. Acta Agriculturae Scandinavica Section B. Soil and Plant Science. 53: 168-176.
- Kubicek C.P., Bissett J., Druzhinina I., Kullnig-Gradinger C et Szakacs G. 2003. Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* sp: a case study on South-East Asian isolates. Fungal Genetics and Biology. 38: 310-319.
- Kuhn D.M and Ghannoum M.A. 2003. "Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: Infectious disease perspective. Clinical Microbiology Reviews. 16:144-172.
- Kumara K.L.W et Rawal R.D. 2008. Influence of carbon, nitrogen, temperature and pH on the growth and sporulation of some Indian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease of papaya (*Carrica papaya* L). Tropical Agricultural Research and Extension. 11: 7-12.
- Kunst F., Ogasawara N., Moszer I., Albertini A.M., Alloni G., Azevedo V., Bertero, MG et al. 1997. The complete genome sequence of the gram positive bacterium *Bacillus subtilis*. Nature. 390: 249-259.
- Kurtzman, C.P.1992. DNA relatedness among species of the genus *Zygosaccharomyces*. Yeast 6: 213-219

-L-

- Labbe N. 2002. Organiques du pin maritime par résonance magnétique nucléaire domaines temps : mise au point d'une nouvelle méthode de dosage de l'eau dans le bois et caractérisation des composés Thèse septembre)

- Lai W., Allen G., Xue E., Cober R., Carolyn B., Jinxiu Z., Shuzhen Z., Wenbin L., Junjiang W et Lijun L. 2011. Pathogenicity of *Pythium* species causing seed rot and damping-off in soybean under controlled conditions. *Phytoprotection*. 91: 3-1
- Lamy K. P et Roquebert M.F. 1981. Analyse des interactions entre deux champignons antagonistes: *Trichoderma viride* Pers. et *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr. Études préliminaires. *Cryptogam and Mycology*. 2 : 137-151.
- Landa B.B., Navas-cortés J.A., Hevas A et Jiénew-Diaz R.M. 2001. Influence of temperature and inoculum density of *F.oxysporum* f.sp ciceris on suppression of Fusarium wilt of chickpea by rhizosphère bacteria. *Phytopathologie*. 91:807-816.
- Landreau A. 2001. Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii* Oudemans isolée du milieu marin : Etude chimique, biologique et risques pour les coquillages en culture. Th: Pharmacie: Nantes. Pp: 201.
- Lanusse M., Lung-escarmant B., Dubot B. et Taris B., 1983. Etude *in-vitro* des propriétés antagonistes de 8 espèces de *Trichoderma* à l'égard de deux souches d'*Armillaria mellea*. Pp 179-192. XXIV colloque de la société Française de phytopathologie, n°34, Bordeaux (FR).
- Larkin R.P., English J.T. et Mihail J.D. 1995. Effects of infection by *Pythium* spp. on the root system morphology of alfalfa seedlings. *Phytopathology*. 85: 430-435.
- Larsson M et Olofsson J. 1994. Prevalence and pathogenicity of spinachroot pathogens of the genera *Aphanomyces*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Cylindrocarpon*, and *Rhizoctonia* in Sweden. *Plant Pathology*. 43:251-260.
- Lazreg F., Belabid L., Sanchez J., Gallego E., Garrido-Cardenas J.A., Elhaitoum A. 2013a. First report of *Fusarium redolens* as a causal agent of Aleppo pine damping off in Algeria. *Plant Disease*.7:997-997.
- Lazreg F., Belabid L., Sanchez J., Gallego E., Garrido-Cardenas J.A., Elhaitoum A. 2013b. First report of *Fusarium equiseti* causing damping off disease on Aleppo pine in Algeria. *Plant Disease*.dx.dio.org/10.1094/PDIS-02-13-0194-PDN.
- Lazreg F., Belabid L., Sanchez J., Gallego E., Garrido-Cardenas J.A., Elhaitoum A. 2013c. First report of *Fusarium acuminatum* causing damping off disease on Aleppo pine in Algeria. *Plant Disease*.4:557-557.
- Lazreg F., Belabid L., Sanchez J., Gallego E., Garrido-Cardenas J.A., Elhaitoum A. 2013d. First report of *Glosporangium ultimum* causing pythium damping off disease on Aleppo pine in Algeria, Africa, and the Mediterranean Region. *Plant Disease*.8:1111-1111.
- Lee P.H., Chang M.C., Chang W.H., Wang T.M., Wang Y.J., Hohn L.J., Ho Y.S., Lin C.Y et Jeng J.H. 2006. Prolonged exposure di arecoline arrested human KB epithelial cell growth: regulatory mechanisms of cell cycle and apoptosis. *Toxicology*. 15: 81-89.



- Lee S.B et Taylor J.W 1992. Phylogeny of five fungus-like protocistan *Phytophthora* species inferred from the internal transcribe space of ribosomal DNA. *Molecular Biology and Evolution*. 9: 636-653.
- Lee Y.S et Hoy J.W. 1992. Interactions among *Pythium* species affecting root rot of sugarcane. *Plant Disease*. 76: 735-739.
- Leelasuphakul W., Sivanunsakul P et Phongpaichit S. 2006. Purification, characterization and synergistic activity of b-1,3-glucanase and antibiotic extract from an antagonistic *Bacillus subtilis*. *Enzyme and Microbial Technology*. 38: 990-997
- Lenon G.B., Li C.G., Xue C.C., Thien F.C et Story D.F. 2008. Inhibition of inducible nitric oxide production and iNOS protein expression in lipopo LysAccharide-stimulated rat aorta and Raw 264.7 macrophages by ethanol extract of a Chinese herbal medicine formula (RCM-101) for allergic rhinitis. *Journal of Ethnopharmacol* 116: 547-553.
- Leslie J.F et Summerell B.A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Iowa, USA.
- Leslie J.F., Zeller K. A et Summerell B.A. 2001. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 59: 107-117.
- Leutrech N.B. 1982 Cours de sylviculture approfondie 4<sup>ème</sup> année forêt. Institut National Agronomique Alger.Pp: 22.
- Lévesque C.A et De Cock A.W.A.M. 2004. Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. *Mycological Research*. 108: 1363-1383.
- Lin C.Y et Lay C.H. 2005. A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microXora. *Int. J. Hydrogen Energy* 30: 285-292.
- Lindahl B.D et Finlay R.D. 2006. Activities of chitinolytic enzymes during primary and secondary colonization of wood by basidiomycetous fungi. *New Phytology*. 169 : 389-397
- Loffler H. J. M et Schippers B. 1984. Ammonia induced mycostasis is not mediated by enhanced release of carbon compounds. *Canadian Journal of Microbiology*. 30: 1038-1041.
- Lori G. A et Salerno M. I. 2003 *Fusarium* species on seeds of *Pinus taeda* L. and *Pinus elliottii* Engelm in Argentina. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 110: 437-443.
- Luo Y., Chen X., Szilvasi A et O'Donnell M.A. 2000. Co-expression of interleukin-2 and green fluorescent protein reporter in mycobacteria: *in vivo* application for monitoring antimycobacterial immunity. *Molecular Immunology*. 9: 527-536.
- Lynch J.M., Lumsden R.D., Atkey P.T et Ousley M.A. 1991a. Prospects for control of *Pythium* damping-off of lettuce with *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Enterobacter* spp. *Biol. Fertil. Soils*. 12: 95-99.

- Lynch J.M., Wilson K.L., Ousley M.A et Whipps J.M. 1991b. Response of lettuce to Trichoderma treatment. Letters of Applied Microbiology. 12 : 56-61.

-M-

- Magini E. 1962. Le traitement des graines forestières, équipement et méthodes. II. Traitement, conservation, essai et transport des graines. Unasyuva. 16: 20-35.
- Maheshwari SK, Singh DV, Sahu AK 1999. Effect of several nutrient media, pH and carbon sources on growth and sporulation of *Alternaria alternata*. Journal of Mycopathology Research. 37: 21-23.
- Mahrotra, M. D., Mahrotra A. and Mahrotra A. 2000. Seed borne fungi of forest trees and their management an overview. Indian Journal of Forest. 23:78-97.
- Maisuria K.M et Patel S.T. 2009. Seed germinability, root and shoot length and vigour index of soybean as influenced by rhizosphere Fungi, Karnataka Journal of Agriculture Science. 22: 1120-1122.
- Makoto S. 2000. Bacterial control of plant diseases. Journal of Bioscience and Bioengineering. 6:515–521.
- Mandeel Q.A., Abbas J. A et Saeed A.M. 1995. Survey of Fusarium species in an arid environment of Bahrain: II. Spectrum of species on five isolation media. Sydowia. 47:223-239.
- Mandeel Q. A. 1996. A survey of Fusarium species in an arid environment of Bahrain. IV. Prevalence of Fusarium species in various soil groups using several isolation techniques. Cryptogamie Mycologie. 17: 149-163.
- Maoz M., Kashman Y. et Neeman I. 1999. Isolation and identification of a new antifungal sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. PlanaMed.65: 281-282.
- Mar Jimenez-Gasco M.D et Jimenez-Diaz R.M. 2003. Development of a specific polymerase chain reaction-based assay for the identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and its pathogenic races 0, 1 A, 5, and 6. Phytopathology. 2 :200-209.
- Marchal R., Negri M et Deces-Petit C. 1989. La coupe du bois par déroulage : vers une commande adaptative.
- Marrone P.G. 2002. An effective biofungicide with novel modes of action. Pesticide-Outlook. 13: 193-194.
- Martin F.N et Tooley P.W. 2003. Phylogenetic relationships among *Phytophthora* species inferred from sequence analysis of mitochondrially encoded cytochrome oxidase I and II genes. Mycologia. 95:269–284.

- Mason G.N et Van Arsdel E.P. 1978. Fungi associated with *Pinus taeda* seed development. Plant Disease Reporter. 62:864-867.
- Matias A.R., Betancourt A., Zayas A., Pena A et Rivero R. 1973. Forest seed in Cuba. In "Seed Processing", Proc. Symposium IUFRO Wkg. Group on Seed Problems, Bergen. 2:31.
- McMullen M.P et Stack R.W. 1984. The effects of surface mining and reclamation on *Fusarium* populations of grassland soils. Reclamation and Revegetation Research 2:253-266.
- McSpadden G.B.B et Fravel D.R. 2002. Biological control of plant pathogens: Research, commercialization, and application in the USA. Online. Plant Health Progress. 3:58-49.
- Mebalds M. I. 1987. Mycoflora of *Medicago truncatula*, *M. rugosa* and *M. littoralis* seed produced in Victoria, Australia. Seed Science and Technology. 15: 175-183.
- Mee-Sook K., Jane E.St., Dumroese R. K et Klopfenstei B. 2012. Occurrence of the Root Rot Pathogen, *Fusarium commune*, in Forest Nurseries of the mid western and Western United States. Journal of Phytopathology. 160:112-114.
- Menzies J.G; Koch C et Seywerd F. 1990. Additions to the host range of *Fusarium oxysporum* f sp *radicis lycopersici*. Plant Disease. 74: 569-572.
- Messiaenc M et Cassini R. 1968. Recherches sur les fusarioses. IV. La systematique des *Fusarium*. Annales des Epiphytes pathologie végétale. 19: 387-454.
- Mezali M. 2003. Rapport sur le secteur forestier en Algérie. 3<sup>ème</sup> session du forum des nations unis sur les forets.Pp:9.
- 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.
- Mohamed-benkada M. 2006. Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles: substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Pharmacie: Nantes: Pp: 9-13.
- Montesinos E., Bonaterra A et Moselio S. 2009. Pesticides, microbial. Pp. 110-120. In: Encyclopedia of microbiology. Academic Press, Oxford, UK.
- Moore E. S. 1924. The physiology of *Fusarium coeruleum*. Annals of Botany. 149: 137-161.
- Morelet M. 1978. Comparative study of canker due to *Crumenulopsis sororia* on Aleppo pine in Provence and on black pines in Lozere, Journal Annales de la Societe des Sciences Naturelles et d'Archeologie de Toulon et du Var. Pp. 155-162.
- Morita Y et tojo M. 2007. Modifications of RAPD medium using fluazinam, micozanol and nystanin for detection of *pythium* sp in soil. Plant disease. 91: 1591-1599.

- Motta E. 1985. Présence de champignons pathogènes sur les graines de quelques espèces forestières en Italie. O.E .P.P.
- Mouria B., Ouazzani Touhami A., Badoc A et Douira A. 2005. Effet de diverses farines sur la compétitivité des inoculums de trois souches de *Trichoderma* vis-à-vis des champignons phytopathogènes du sol. Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux. 144: 211-224.
- Mouria A., Ouazzani-Touhami A., Douira A., Benkirane R., Mlaiki A et El Yachioui M. 1997. Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *P. oryzae* Al. Awamia. 96 :9-17
- Mouria A., Ouazzani-Touhami A., Douira A., Benkirane R., Mlaiki A et El Yachioui M. 1997a. Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *P. oryzae*.Al. Awamia 96 :917.
- Mouria A., Ouazzani-Touhami A., Mlaiki A., El Yachiouiet M et Douira A. 1997b. Lutte biologique contre *Helminthosporium oryzae*: Antagonisme *in vivo* des *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *H.oryzae*. Troisième congrès de l'Association Marocaine de Protection des Plantes, Rabat, 23-24 déc. P. 113-116.
- Moussouris Y et Regato P. 1999. Forest Harvest: An Overview of Non Timber Forest Products in the Mediterranean Region. Forest Harvest. WWF. 25Pp.
- Mugnozza S. 1986. Recherche sur l'écophysiologie de *Pinus halepensis* Mill. Dans: Séminaire sur le pin d'Alep et le pin brutia dans la sylviculture méditerranéenne, Tunis. Pp: 340.
- Muhammad S et Amusa N.A. 2003. *In vitro* inhibition of growth of some seedling blight inducing pathogens by compost inhabiting microbes. African Journal of Biotechnology. 6: 161-164.

-N-

- Nagai T., Tomioka K., Takeuchi K., Iida M., Kawada M et Sato T. 2005. Evaluation of preservation techniques of microorganism resources in the MAFF Genebank. JARQ. 1: 19-27.
- Nagy R et Hornok L. 1994. Electrophoretic karyotype differences between two subspecies of *Fusarium acuminatum*. Mycologia. 86: 203-208.
- Nahal B. 1986. Taxonomie et aire géographique des pins du groupe halepensis. Option Méditerranéennes. Serie Etude CIHEAM. 1:1-9.
- Nahal I. 1962. Le pin d'Alep. Etude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. Annales de l'Ecole Nationale des Eaux et Forêts. 4 : 533-627.

- Ndzoumba B., Conca G et Porta-Puglia A. 1990. Observations sur la mycoflore des semences produites au Gabon. FAO, 38 4 : 203-212.
- Nechwatal J., Wielgoss A et Mendgen K. 2005. *Pythium phragmitis* sp. nov. a new species close to *P. arrhenomanes* as a pathogen of common reed (*Phragmites australis*). Mycological Research. 109: 1337-1346.
- Neish G.A. 1987. Neotypification of *Fusarium tricinctum*. Canadian Journal of Botany. 65: 589-591.
- Nelson P.E., Desjardins A.E et Plattner R.D. 1993. Fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium* species: Biology, chemistry and significance. Annual Review of Phytopathology. 31: 233-252.
- Nelson P.E., Toussont A et Marasas W.F.O.1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press.USA. Pp: 193.
- Nicault A., Rathgeber C., Tessier L. et Thomas A. 2001. Croissance radiale et densité du bois du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) en relation avec les facteurs climatiques. Analyse in situ de la mise en place du cerne. Annals of Forest Sciences 58: 769-784.
- Nicoletti R., Raimo F et Cozzolino E. 2002. *In vitro* evaluation of fungal antagonists of *Phytophthora nicotianae*. Plant Protection Science. 2: 634-637.
- Northolt M.D et Bullerman L.B. 1982. Prevention of mold growth and toxinproduction through control of environmental condition. Journal of Food Protection. 6: 519-526.
- Notteghem J.L., Andriatampo G.M., Chatel M et Dechanet R. 1980. Techniques utilisées pour la sélection des variétés de riz possédant la résistance horizontale à la pyriculariose. Annales of Phytopathology. 12:199-226.
- Novak A.S., Matic S., Krpan A. P. B and Gracan J. 2001. Common oak seed mycosis and protection possibilities. Znanost-u-potrarnom-gospodarenju-hrvatskimsumama. znastvena-knjiga. 343-51.

-O-

- O'Donnell K., Cigelnik E., et Nirenberg H.I. 1998. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. Mycologia. 90: 465-493.
- O'Mara J.K et Munkvold G.P. 1997. Fungal colonization of alfalfa stubble following harvest. Journal of the Iowa Academy of Science. 104: 1-3.
- 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.
- Oksuz S. 1976. Psi-taraxasterol acetate from *Inula viscosa*. Planta Medica. 29: 343-345

- Oliva T et Ricard C. 1995. Valorisation du bois de pin d'Alep aix en Provence, école nationale supérieure d'arts et métiers. Pp: 44.
- Olsen M.W., Oehler J et Rorabaugh. P. 2001. Evaluation of fungicide for control of powdery mildew of greenhouse pepper. University of Arizona College of Agriculture, Vegetable Report. Page consultée le 12 septembre 2003.
- Ongena M et Jacques P. 2008. Bacillus lipopeptides versatile weapons for plant disease biocontrol. Trends microbial. 16: 115-125.
- Ongena M., Jaques P., Toure Y, Destain J., Jabrane A et Thonart P. 2005. Involvement of fengycin type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of *Bacillus subtilis*. Applied of microbiology and biotechnology. 69:29-38.
- Ongena M., Jourdan E., Adam A., Paquet M., Brans A., Jonis B., Arpigny S.L et Thonart P. 2007. Surfactin and fengicin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. Environement and Microbiology. 9:1084-1090.
- Orhan E., Esitken A., Ercisli S., Turan M et Sahin F.2006.Effects of plant growth Promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in Organically growing rasp berry.Science of Horticulture.111: 38-43.
- Ouazzani-Touhami A., Douira A., Benkirane R., El Oirdi M., Bouslim F., Zidane L., Gmira N et El Haloui N. E. 1994. Antagonisme *in vivo* de certaines espèces fongiques vis-à-vis de *Verticillium dahliae*. Rev. Rés. APAMA 7 : 197-211

-P-

- Palumbo J.D., O'Keeffe T.L et Mahoney N.E. 2007. Inhibition of ochratoxin A production and growth of *Aspergillus* species by phenolic antioxidant compounds. Mycopathologia 164, 241-248.
- Pandav F.J. 2002. Investigation on wilt [*Fusarium solani* (Mart.) Sacc.] on cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) under South Gujarat condition. M.Sc. Agriculture thesis. G.A.U., S.K. Nagar, India. Pp: 262.
- Pandey A., Palni L.M.S et Hebbar K.P. 2001. Suppression of damping-off in maize seedlings by *Pseudomonas corrugata*. Microbiology Research. 156: 191-194.
- Papavizas G.C. 1985. Trichoderma and Gliocladium: Biology, ecology and potential for biocontrol. Annales Reviews of Phytopathology. 23 : 23-54
- Pattanath, P.G. 1982. Personal communication.
- Paul B. 2003. *Pythium glomeratum*, a new species isolated from agricultural soil taken in north-eastern France, its ITS region and its comparison with related species. FEMS Microbiology Letters. 225:47-52.

- Paul B., Bala K., Gognies S et Belbarbi A. 2005. Morphological and molecular taxonomy of *Pythium longisporagium* sp nov isolated from Burgundia region of France FEMS Microbiology Letters. 246:207-218.
- Paulitz T.C et Baker R. 1987. Biological control of Pythium damping-off of cucumbers with *Pythium nunn*: influence of soil environment and organic amendments. Phytopathology. 77:341-346.
- Pawuk W.H. 1978. Damping-off of container grown longleaf pine seedlings by seed home Fusaria. Plant Disease Reporter. 62:82-84.
- Peeters J et thivolle-Cozat A. 2005. Le pin d'Alep en région Provence alpes cote d'azur: étude prospective de la ressource et mécanisation de la récolte AFOCEL, fiche informations foret n 717. Pp: 6.
- Perrin R et Sampangi R. 1986. Les fontes des semis en pépinière forestière - European Journal of Forest Pathology, (sous presse).
- Perrin R. 1979. Les agents pathogènes du sol en pépinières forestières prévision des risques. Station de recherches sur la Flore pathogène dans le sol. Institut national de la recherche agronomique. 21034 Dijon Cedex.
- Perrin R. 1985. L'aptitude des mycorhizes à protéger les plantes contre les maladies : panacée ou chimère ? -Annales des Sciences forestières. 4: 453-470.
- Persoon C.H. 1794. Dispositio methodica fungorum. *Neues Magazin für die Botanik*. 1: 81-128
- Peters R.D., Platt H.W et Lévesque C. A. 2005. First Report of *Pythium Sylvaticum* Causing Potato Tuber Rot. Rednova. Online: <http://www.rednova.com/news/display/?id=148424>
- Peterson M. 2004. [Unpublished data]. Located at: Applied Forest Science Limited, Victoria, British Columbia.
- Peterson M. 2008. Fusarium species a British Columbia perspective in forest seedling production. In: Dumroese R.K et Riley L.E. technical coordinators. National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations 2007. USDA Forest Service Proceedings: RMRS-P-57.
- Peypoux F., Bonmatin J.M et Wallach J. 1999. Recent trends in the biochemistry of surfactin. Appl. Microbial. Microbiotechnol. 51:553-563.
- Phillips N.J., Goodwin J.T., Fraiman A., Cole R. J et Lynn D.G. 1989. Characterization of the Fusarium toxin equisetin: The use of phenylboronates in structure assignment. Journal of the American Chemical Society. 111: 8223-8231.

- Pieterse C.M.J., Van Wees S.C.M., Ton J., Van Pelt J.A et Van Loon L.C. 2002. Signaling in rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biology*. 4:535-544
- Ping L.Y et Boland W. 2004. Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Trends Plant Science*. 9:263-266.
- Pipert C et Vennetier M. 2001. Croissance et écologie du pin d'alep en France. Rapport finale. Cemagref Aix en provence. Pp: 38.
- Pivkin M.V. 2000. Filamentous fungi associated with holoturians from the Sea of Japan, off the Primorye coast of Russia. *Biological Bulletin*. 198: 101-109
- Plaats-Niterink A.J. Vander. 1981. Monograph on the genus *Pythium*. *Studies in Mycology Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn*. Pp 242.
- Pons A. 1992. Les enseignements des données historiques concernant le pin d'Alep. *Forêt méditerranéenne*. 13: 155-157.
- Prevosto B., Ripet et Favand G. 2007. Régénération et diversification des peuplements à pin d'Alep en région méditerranéenne: impact des travaux sylvicoles. Cemagref UR écosystèmes méditerranéens et risques 3275 route Gézanne BP 31 le tholonet 13612 Aix-povence.

-Q-

- Quezel P et Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris
- Quezel P. 1986. Les pins du groupe «halepensis»: Ecologie, Végétation, Ecophysiologie. *Options Méditerranéennes. Série Etude CIHEAM 86/1*, 11-25.
- Quezel P., Barbero M. 1992. Le pin d'Alep est les essences voisines : répartition et caractères écologiques généraux, sa dynamique récente en France méditerranéenne. *Forêt méditerranéenne*, XIII (3), 158-170.
- Quezel P. 1980. Biogéographie et écologie des conifères sur le pourtour méditerranéen. Dans: *Actualités d'Ecologie Forestière* (ed: PESSON), édition Gauthier Villars, Paris, Pp: 205-256.

-R-

- Raaijmakers J.M et al. 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek*. 81: 537-547.



- Raaijmakers J.M., deBruijn I et deKock M.J.D. 2006. Cycliclipopeptide production by plant associated *Pseudomonas* species: diversity, activity, biosynthesis and regulation .*Molecular Plant MicrobInteract.* 19:699-710.
- Rabie C.J., Sydenham E. W., Thiel P. G., Lübben A et Marasas W.F.O. 1986. T-2 toxin production by *Fusarium acuminatum* isolated from oats and barley. *Applied and Environmental Microbiology.* 52: 594-596.
- Rahman M.A., Kadir J., Mahmud T.M.M., Abdul Rahman R et Begum M.M. 2007. Screening of antagonistic bacteria for biocontrol activities on *Colletotrichum gloeosporioides* in papaya. *Asian Journal of Plant Science.* 6: 12-20.
- Rajput I N.A., Pathan M.A., Jiskani M.M., Rajput A.Q et Arain R.R. 2008. pathogenicity and host range of *Fusarium solani* (mart.) sacc. causing dieback of shisham (*Dalbergia sissoo* roxb.). *Pakistan Journal of Botanic.* 40: 2631-2639.
- RAP (Réseau d'Avertissements Phytosanitaires). 2006. Pesticides Homologués dans les Cultures en Serres en 2006. (Bulletin d'information No 11) Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec. Québec. 9 pages.
- Rapilly F. 1968. Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Ann. Epiphyt.*, Institut National de la Recherche Agronomique. Pp: 19-101.
- Rataj-Guranowska M et Wolko B. 1991. Comparisons of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium oxysporum* var. *redolens* by analyzing the isozyme and serological patterns. *Journal of Phytopathology* 132: 287-293.
- Raynal G., 1980. Evaluation en conditions artificielles de la résistance des plantules de Luzerne aux *Pythium*. Possibilités de lutte chimique. *Annals of Phytopathology.* 12:119-130.
- Rey P., Leucart S., Désilets H., Bélanger R.R., Larue J.P. et Tirilly Y., 2001. Production of Indole-3-acetic Acid and Tryptophol by *Pythium ultimum* and *Pythium Group F*: Possible Role in Pathogenesis. *European Journal of Plant Pathology* 107: 895-904.
- Rheeder J.P., Marasas W.F.O et Vismer H.F. 2002. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied of Environment and Microbiology.* 68: 2101-2105.
- Richard C et Boivin G. 1994. Maladies et Ravageurs des Cultures Légumières au Canada. The Canadian Phytopathological Society and the Entomological Society of Canada, Ottawa. Pp: 590.
- Rifai M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycology.* 116: 1-56.
- Rivierre C., Laprie C., Guiard-Marigny O., Bergeaud P., Berthelemy M. et Guillot J. 2005 *Pythiosis In Africa. Emerging Infectious Diseases.* 3: 479-481.

- RNE 2000. Rapport national sur l'état et l'avenir de l'Environnement. Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. Algérie. 253p.
- Roquebert M.F. 1996. Interactions antagonistes des *Trichoderma* sp. dans les systèmes telluriques: Systématique, biologie et écologie des organismes. Compte rendu des 4èmes Rencontres en Toxinologie, Paris, 13-15.
- Roquebert M.F. 1998. Taxonomie des moisissures; Méthodes de culture et techniques d'observation; Identification. In : Moisissures des aliments peu hydratés, Edition Tec et Doc. 39-95
- Rossman A.Y., Samuels G.J., Rogerson C.T., et Lowen R. 1999. Genera of Bionectriaceae, Hypocreaceae and Nectriaceae (Hypocreales, Ascomycetes). *Studies in Mycology*. 42: 1-248.
- Roux J., Steenkamp E.T., Marasas W. F. O., Wingfield M. J., et Wingfield B.D. 2001. Characterization of *Fusarium graminearum* from Acacia and Eucalyptus using  $\beta$ -tubulin and histone gene sequences. *Mycologia*. 93: 704-711.
- Ryu C.M., Farag M.A., Hu C.H., Reddy M.S., Kloepper J.W et Paré P.W. 2004. Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidopsis. *Plant Physiology*. 134:1017-1026.

-S-

- Safar W., Serre- Bachet F et Tessier L. 1992. Les plus vieux pins d'Alep vivants connus. *Dendrochronologia*. 10: 41-52.
- Saha A, Mandal P, Dasgupta S et Saha D. 2008. Influence of culturemedia and environmental factors on mycelial growth and sporulationof *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon and Maubl. *Journal of Environment and Biology*. 29: 407-410.
- Sahu R.K. et Agarwal V.K. 2004. Mycoflora associated with the seeds of *Leucaena leucocephala*. *Indian Forester* 130:1040-1044.
- Samuels G. J., Nirenberg H. I et Seifert K.A. 2001. Perithecial species of *Fusarium*. Pp: 1-14. In Summerell B.A., Leslie J.F., Backhouse D., Bryden W. L., et Burgess L.W., (eds.), *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. APS Press, St. Paul, Minnesota. (9, 10).
- Sandgren M., Stahlberg J et Mitchinson C. 2005. Structural and biochemical studies of GH family 12 cellulases: improved thermal stability, and ligand complexes. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 89: 246-291
- Sangalang A.E., Backhouse D et Burgess L.W. 1995. Survival and growth in culture of four *Fusarium* species in relation to occurrence in soils from hot climatic regions. *Mycological Research*. 99: 529-533.
- Santos F.E.M., Sobrosa R.D.C et Costa I.F.D. 2001. Pathogenic fungi detection in seed of black wattle (*Acacia mearnsii* De Wild). *Ciencia Floresta* 11:13-20.

- Saremi H, Burgess LW, Backhouse D 1999. Temperature effects on the relative abundance of *Fusarium* species in a model plant-soil ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*. U.S. A.31: 941- 947.
- Seifert K. 2001. *Fusarium* and anamorph generic concepts. pp. 15 - 28 en: *Fusarium*. Summerell B. A et al. (eds). APS Press. St. Paul, Minnesota.
- Seigue A .1985. Le foret circumméditerranéenne et ses problèmes. Maison neuve et Larousse Edition. Paris. Pp: 502.
- Senda M., Kageyama K., Suga H et Lévesque C.A 2009. Two new species of *Pythium*, *P. senticosum* and *P. takayamanum*, isolated from cool temperate forest soil in Japan. *Mycologia*.4:439-448.
- Serghat A., Mouria A., Ouazzani Touhami A., A. Badoc A., Douira A. 2004. Effet de quelques fongicides sur le développement *in vitro* de *pyricularia grisea* et *helminthosporium oryzae*. *Bulletin de Société et Pharmacie Bordeaux*. 143: 7-18.
- Serre F. 1973. Contribution à l'étude dendro-climatologique du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.). Thèse de doctorat, Université d'Aix-Marseille III, France. Pp: 236.
- Shah-Smith D.A et Burns R.G. 1996. Biological control of damping-off of sugar beet by *Pseudomonas putida* applied to seed pellets. *Plant Pathology*. 45: 572-582.
- Shakya D.D., Lamgade C., Khanal N.R et Lakhey P.B. 2005. Detection of *Fusarium solani* in *Dalbergia sissoo* pods and seedlings. 5th ISTA Seed Health Symposium 10-13 May 2005, Angers France. Pp: 13.
- Si Moussa L. 2008. Effet inhibiteur de quelques extraits de plantes sur trois formes spéciales de *fusariumoxysporumschlechtendal*. agent de la fusariose vasculaire. Mémoire pour l'obtention de diplôme de magister Spécialité: Interactions plantesmicro-organismes. Université de Mascara pp 101.
- SI Moussa L., Belabid L et Meddah B. 2009. Effet des extraits de dix plantes médicinales sur *Fusariumoxysporumf. sp. lentis* agent du flétrissement vasculaire de la lentille. *Revue des substances naturelles et innovation thérapeutique*. 42-46.
- Si Moussa L.L. Belabid A. Tadjeddine M. Bellahcene et Bayaa B. 2010. Effect of Some Botanical Extracts on the Population of *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, the Causal Agent of Bayoud Disease in Algeria. *Arab Journal of Plant Protection*, 28: 71-79.
- Singh J. et Tripathi N.N. 1993. Efficacy of plant extracts against *Fusarium oxysporum f.sp. lentis* on *Lens esculenta*. *Journal of the Indian Botanical Society*. 72: 51-53.
- Singh V et al .2007. Mass multiplication of *Trichoderma harzianum* on sugarcane press mud. *Indian Phytopathology*. 60: 530-531

- Snyder W.C and Hansen H.N. 1941. The species concept in *Fusarium* with reference to section *Marteilla*. *American Journal of Botany*. 28:738-742.
- Snyder W.C et Hansen H.N. 1940. The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*. 27: 64-67.
- Song W., Zhou L., Yang C., Cao X., Zhang L et Liu X. 2004. Tomato *Fusarium* and its chemical control strategies in hydroponic system. *Crop Protection*. 23: 243-247.
- Sory samassekou 1981 .contribution a l'etude de certains champignons parasites de racines d'especes ligneuses cultivees en côte d'ivoire rapport d'eleve 2 eme annee OFFICE DE LA recherche scientifique et technique outre-mer centre d'adiopodoume bp v-51 abidjan (este d'ivoire) Abidjan
- Spizizen J. 1958. Transformation of biochemically deficient strains of *Bacillus subtilis* by deoxyribonucleate. *Proceedings of the National Academy of Science. U.S.A.* 44: 1072-1078.
- Stasz, T.E et Harman G.E. 1980. Interactions of *Pythium ultimum* With Germinating Resistant or Susceptible Pea *Pisum sativum* Seeds. *Phytopathology*.70 (1): 27-31.
- St-Germain G et Summerbell R.C. 1996. Champignons filamenteux d'intérêt médical (Identifying filamentous fungi). Star Publishing, Belmont, CA.
- Sugiyama J. 1987. Pleomorphic fungi: the diversity and its taxonomic implications. Tokyo: Elsevier.Pp: 29-56.
- Sultan A., Iqbal S.H et Khalid A.N. 1997. *Fungi of Pakistan*. Sultan Ahmed Mycological Society of Pakistan, Deptt. of Botany, Uni. of Punjab, Lahore 54590, Pakistan. Pp: 248.
- Summerell B. A et Rugg C. A. 1992. Vascular wilt of *Helichrysum* species caused by *Fusarium oxysporum*. *Australasian Plant Pathology* 21: 18-19.
- Summerell B. A., Rugg C. A et Burgess L.W. 1993. Mycogeography of *Fusarium*: A survey of *Fusarium* species in forest and woodland soils in north Queensland, Australia. *Mycological Research*. 97: 1015-1019.
- Summerell B.A., Salleh B et Leslie J.F.2003. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant Disease*. 87: 117-128.
- Sutherland J.R., Miller T et Quenard R.S. 1987. Cone and seed disease of North American conifers. North American Forestry Commission Pub Number 1; Publication 1.
- Sutton J.C. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 4: 195–209.
- Sy A. A et Seré Y. 1996. *Manuel de formation en pathologie du riz*. Bouaké : ADRAO (Association pour le Développement de la Riziculture en Afrique de l'Ouest) Pp: 94.
- Sy A.A. 1976. Contribution à l'étude de *Pyriculari oryzae* Cav. Recherche in vitro d'antagonistes dans une perspective de lutte biologique. Thèse Doct. Ingénieur INP Toulouse. Pp: 236.

-T-

- Tambong J.T., De Cock A.W.A.M, Tinker N et Levesque C.A. 2006. Oligonucléotide Array For Identification And Detection Of *Pythium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 4: 2691-2706.
- Taylor J.W., Jacobson D.J., Kroken S., Kasuga T., Geiser D. M., Hibbett D. S., et Fisher M. C. 2000. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fungal Genetics and Biology*. 31: 21-32.
- Thomas M et Peeters J. 2006. evolution spatiotemporelle des surfaces de pin d'alep en PACA AFOCEL fiche d'information foret n° 730. Pp: 6.
- Thompson J.D., Higgins D.G et Gibson T.C. 1994. CLUSTALW: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment through Sequence Weighting, Position Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice. *Nucleic Acids Research*. 22: 4673-4680.
- Thrane C., Nielsen T.H., Nielsen M.N., Sorensen J et Olsson S. 2000. Viscosinamide-producing *Pseudomonas fluorescens* DR54 exerts a biocontrol effect on *Pythium ultimum* in sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiology and Ecology*. 33: 139-146.
- Thrane U. 2001. Developments in the taxonomy of *Fusarium* species based on secondary metabolites, p. 29-49. In B. A. Summerell, J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden, and L. W. Burgess (eds.), *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. APS Press, St. Paul, Minnesota. (9, 11, 12)
- Tinline R.D., Wildermuth G. B et Spurr D. T. 1988. Inoculum density of *Cochliobolus sativus* in soil and common root rot of wheat cultivars in Queensland. *Australian Journal of Agricultural Research*. 39: 569-577.
- Torp M. et Langseth W., 1999. Production of T-2 toxin by a *Fusarium* resembling *Fusarium poae*. *Mycopathologia*. 147: 89-96.
- Trait H. 1969. Les restes végétaux des sédiments de remplissage du port hellénistique de Marseille. I Les pollens. *Bulletin de la société Linnéenne de Provence*. 25 : 97-100.
- Tulasne L.R. 1860. De quelques Sphéries fungicoles, à propos d'un mémoire de M. Antoine de Bary sur les *Nyctalis* (1). *Annales des Sciences Naturelles Botaniques* 13:5-19.

-U-

*acacia nilotica* seedlings in nursery. *Indian Forest*. 13:95-100.

- UKNCC, 1998 Quality Manual November.
- Ulubelen A et Goun S. 1986. Sesquiterpene acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*. 26: 1223-1224.
- Uniyal, K., N. S. K. Harsh, D. P. Uniyal and S. Verma, 2004. Canker and die back of

- Upadhyay A et Srivastava S. 2008. Characterization of a new isolate of *Pseudomonas fluorescens* strain Psd as a potential biocontrol agent. Letters of Applied Microbiology. 47: 98-105.
- Uzuhashi S, Tojo M, Kakishima M, 2010. Phylogeny of the genus *Pythium* and description of new genera. Mycoscience. 51:337–365.

-V-

- van der Plaats-Niterink A. J. 1981. Monograph of the Genus *Pythium*. Studies in Mycology. Baarn, Netherlands. Centraalbureau voor Schimmelculture.
- Van der plaats-niterink A.J. 1991. Monograph of the genus *Pythium*. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Baarn. Récupéré de: <http://www.univbrest.fr/esmisab/sitesc/Myco/fiches/pytholig.html>.
- van Dijk K et Nelson E.B. 1998. Inactivation of seeds exudate stimulants of *Pythium ultimum* sporangium germination by biocontrol strains of *Enterobacter cloacae* and other seed-associated bacteria. Soil Biology and Biochemistry. 30: 183-192.
- Van Loon L.C, Bakker P.A.H.M et Pieterse C.M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annales Reviews of Phytopathology. 36:453-483.
- Vizcaino J.A, Sanz L., Cardoza R.E., Monte E et Gutierrez S. 2005. Detection of putative peptide synthetase genes in *Trichoderma* species: Application of this method to the cloning of a gene from *T. harzianum* CECT 2413. FEMS Microbiology Letters, 244:139-148.
- Von der Schulenburg J.H.G., Hancock J.M., Pagnamenta A., Sloggett J.J., Majerus M.E.N et Hurst G.D.D. 2001. Extreme length and length variation in the first ribosomal internal transcribed spacer of ladybird beetles (Coleoptera; Coccinellidae). Molecular Biology and Evolution. 18: 648-660.

-W-

- Wakelin S.A., Macdonald L.M., Rogers S.L., Gregg A.L., Bolger T.P et Baldock J.A. 2008. Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils. Soil Biology and Biochemistry. 40:803.
- Waksman S.A. 1916. Do fungi live and produce mycelium in the soil. Natural Science. 44:320-322.
- Walker R., Powell A. A et Seddon B. 1998. *Bacillus* isolates from the spermosphere of peas and dwarf French beans with antifungal activity against *Botrytis cinerea* and *Pythium* species. Journal of Applied Microbiology. 84: 791-801.
- Wang W.Q., Ben-Daniel B.H et Cohen Y., 2004. Extracts from *Inula viscosa* control downy mildew caused by *Plasmopara viticola* in grapevines. Phytoparasitica. 32-208.

- Wei L., Xue A. G., Cober E.R., Babcock C., Zhang J., Zhang S., Li W., Wu J et Liu L.2011. Pathogenicity of *Pythium* species causing seed rot and damping-off in soybean under controlled conditions. *Phytoprotection*. 91: 3-10.
  - Weindling R. 1934. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other fungi. *Phytopathology*. 24: 1153-1179.
  - Whipps J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 52:487-511.
  - White T.J., Bruns T., Lee S.B. et Taylor J.W., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols A guide to Methods and Application* (Innis, M.A., Ed.). 315-322.
  - White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J.1990.Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics .In:Innis Gelfand M.A., Sninsky D.H., White J.J.T.J. (eds). *PCR protocols: a guide to methods and applications*.NewYork:AcademicPress.p315–322.
  - Wick R. L et Schroeder D.B. 1982. *In vitro* production of pectolytic and cellulolytic enzymes by *Fusarium tricinctum*. *Mycologia*. 74: 460-466.
  - Wieland G., Neumann R et Backhaus H. 2001. Variation of Microbial Communities in Soil, Rhizosphere and Rhizoplane in Response to Crop Species, Soil Type, and Crop Development. *Applied of Environment and Microbiology*. 67:5849-5854.
  - Wilhelm S. 1965. *Pythium ultimum* and the soil fumigation growth response phytopathology. 55: 1016-1020.
  - Windels C.E., Barnes P. M et Kommedahl T. 1993. *Fusarium* species stored for silica gel and soil for ten years. *Mycologia* 85: 21-23.
  - Wing N., Bryden W. L., Lauren D.R et Burgess L.W. 1994. Toxigenicity of *Fusarium* species and subspecies in section *Gibbosum* from different regions of Australia. *Mycological Research*. 97: 1441-1446.
  - Wollenweber H.W et Reinking O.A. 1935. *Die Fusarien, ihre beschreibung, Schadwirkung, und Bekämpfung*, Paul Parey, Berlin. Pp: 355.
  - Wollenweber H.W. 1913. Studies on the *Fusarium* problem. *Phytopathology*. 3: 24-50.
- Z-
- Zagory, D. et J.R. Parmeter. 1984. Fungitoxicity of smoke. *Phytopathology*, 74:1027-1031.

- Zain M.E., Razak A.A., El-Sheikh H.H., Soliman H.G et Khalil A.M. 2009. Influence of growth medium on diagnostic characters of *Aspergillus* and *Penicillium* species. African. Journal of Microbiology Research. 3: 280-286.
- Zehhar G., Touhami A.O., Badoc A., Douira A. 2006. Effet des Fusarium des eaux de rizière sur la germination et la croissance des plantules de riz, Bulletin de la Société et de la Pharmacie. Bordeaux. 145: 7-18.
- Zeigler D.R, Pragai Z, Rodriguez S, Chevreux B, Muffler A, Albert T, Bai R, Wyss M et Perkins J.B. 2008. The origin of 168 W23 and other *Bacillus subtilis* legacy strains. Journal of Bacteriology. 190:6983-6995.
- Zhang B.Q et Yang X.B. 2000. Pathogenicity of Pythium populations from corn-soybean rotation fields. Plant Disease. 84: 94-99.
- Zhou Y.Y et Yang H.Y. 2010. Biobological characterization and chemical on the control of 9 *F.acuminatum* pathogen of *Polygonatum odoratum*. Chinese Agricultural Science Bulletin. 26:315-318

Y

- Yli-Mattila T., Paavanen-Huhtala S., Parikka P., Konstantinova P., Gagkaeva T., 2004. Molecular and morphological diversity of *Fusarium* species in Finland and northwestern Russia. European Journal of Plant Pathology. 110: 573-585.



**Annexe 1 – Milieux de culture****Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)****Composants pour 1L:**

200g de pomme de terre,

20g d'agar,

20g de dextrose.

Le milieu a été autoclave pendant 20 min à 121°C.

**Milieu SNA (Synthetischer Nährstoff Agar)**

**Composants pour 1L:** 1g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1g de  $\text{KNO}_3$ , 0,5g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,5g de  $\text{KCl}$ , 0,2g de glucose, 0,2g de saccharose, 15g d'agar. Les composants sont mélangés puis le milieu est autoclavé pendant 20 min à 121°C.

**Milieu CMA**

CMA (Corn Meal Agar) (**Plaats-Niterink, 1981**):

- |                 |         |
|-----------------|---------|
| - Mais moulu    | 60g     |
| - Agar          | 15g     |
| - Eau distillée | 1000 ml |

Le milieu a été autoclave pendant 30 min à 121°C.

**Milieu PCA**

1. PCA (Potato carrot agar) (**Plaats-Niterink, 1981**):

- |                  |         |
|------------------|---------|
| - Pomme de terre | 20g     |
| - Carotte        | 20g     |
| - Agar           | 15g     |
| - Eau distillée  | 1000 ml |

Le milieu a été autoclavé à 120°C pendant 20 minutes.

**Milieu de Komada**

- |                                             |        |
|---------------------------------------------|--------|
| - $\text{K}_2\text{HPO}_4$                  | 1g     |
| -Kcl                                        | 0.5g   |
| - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.5g   |
| -L-asparagine                               | 2g     |
| -D galactose                                | 20g    |
| -Fe-Na-EDTA                                 | 10mg   |
| -Gelose                                     | 20g    |
| -Eau distillée                              | 1000ml |

**Milieu WA**

- |                |        |
|----------------|--------|
| -Agar          | 20g    |
| -Eau distillée | 1000ml |

**Annexe 2-****Caractérisation chimique du Tampon FG1**

**Description:** Mélange des substances mentionnées à la suite avec des additifs non dangereux.

**Les composants dangereux :**

1 t-Octylphenoxy polyethoxy ethanol Xn, Xi, N; R 22-41-51/53 (1,0-2,5%).

**Caractérisation chimique du Tampon FG2**

**Description:** Mélange des substances mentionnées à la suite avec des additifs non dangereux.

**Les composants dangereux**

CAS: 50-01-1

EINECS: 200-002-3

chlorure de guanidinium

Xn, Xi; R 22-36/38 25-50%

**Washing Buffer:** 25 mM (0.303g/100ml) Tris, 10 mM (2.92g/100ml) EDTA, 0.3M (2.46g/100ml) Sodium Acetate in 100mls (You can equally just make 3M Sodium Acetate solution (24.6g/100ml) and add to nine parts of whatever solution contains your DNA).

**Préparation du TAE 50X et TAE 1X**

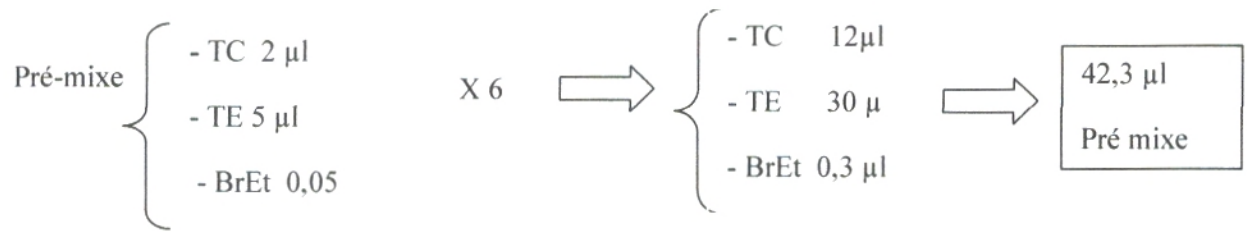
Pour préparer TAE 50X on a pesé 0.186g d'EDTA, 0.82g d'acétate de sodium et 2,422g de Tris par l'utilisation d'une balance modèle PB303 SDR. Ces ingrédients ont été dissous dans 500ml d'eau distillée stérile puis agité en utilisant un agitateur magnétique J.P CHOISIE modèle Agimatic-E. Le TAE1X a été préparé par mélanger 2 ml de TAE 50X avec 98 ml d'eau distillée stérile.

**Préparation du gel d'agarose à 1%**

1g d'agarose a été mélangé avec 100ml de TAE1X puis bouillit par l'utilisation d'une microonde LG à 700 watts. Le gel d'agarose a été laissé refroidit pendant 15 minutes où leur température a atteint 50°C. Ce gel a été incorporé horizontalement dans hublot du système d'électrophorèse Biocom Ltd modèle multiSUB. La cuvette du système d'électrophorèse a été rempli préalablement avec TAE1X préparé précédemment. Quand le gel d'agarose a été solidifié on l'introduit dans la cuvette.

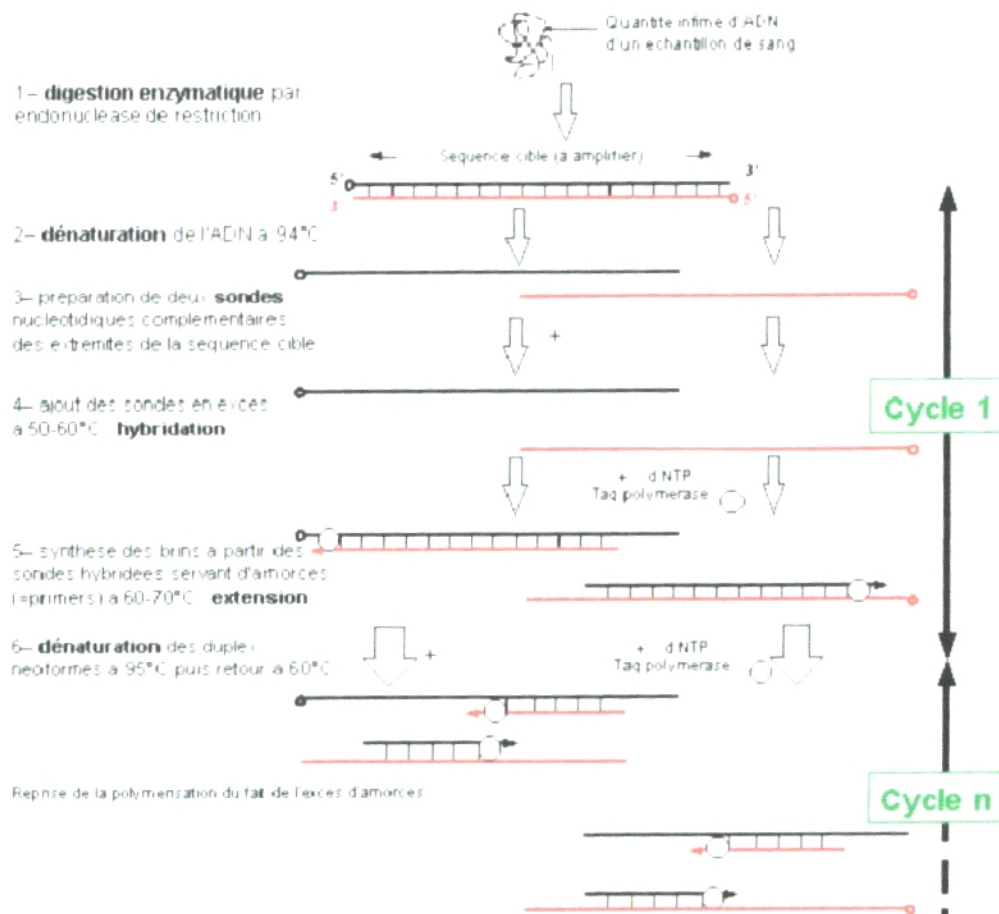
**Préparation les échantillons pour l'électrophorèse**

À partir du produit de PCR nous avons préparé nos échantillons pour l'électrophorèse. Chaque échantillon a contient 3 µl d'ADN du produit de PCR, 2 µl (TC), 5µl de tampon tris (TE) et 0.05 µl de bromure d'ethidium (BrEt). Pour comparer la taille d'ADN de nos échantillons nous avons utilisé un comparateur moléculaire de 250 à 10.000 paires de bases (pb) Euro Lone modèle EMR812050 SHARPMASSTM 1. Nous avons effectué un pré-mixe avec les réactifs cités précédemment. Comme exemple pour 6 échantillons (4 échantillons + ladder + un reste) on a utilisé le pré mixe suivant :



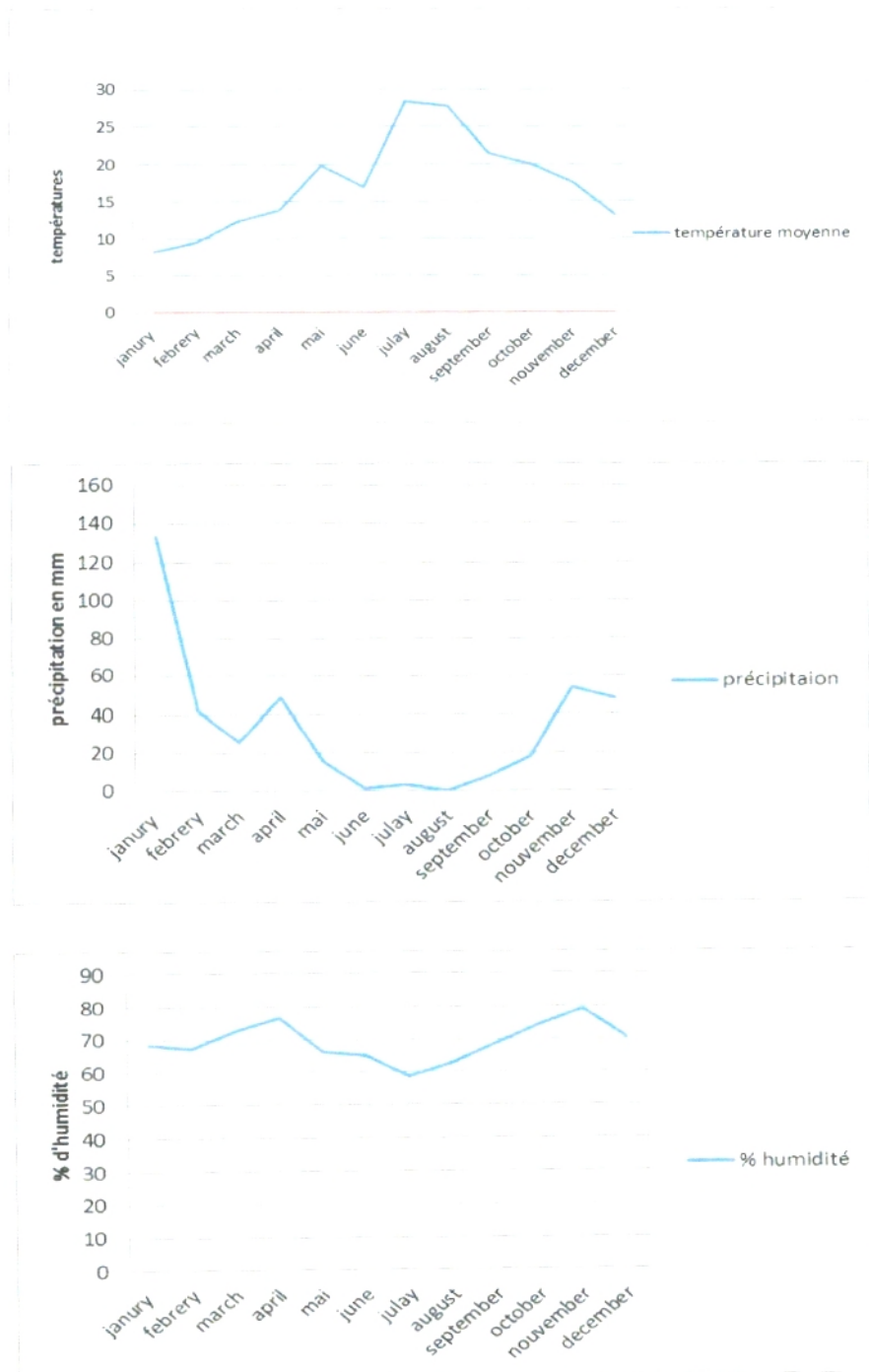
En divisant 42.3 µl de pré mixe sur 6 qui va donner 7.06µl de pré mixe pour chaque échantillon. Dans un tube d'Eppendorf on a ajouté 7.06 µl de pré mixe, 3 µl d'ADN et de 2 µl TE. Dans un autre tube d'Eppendorf on a ajouté 7.06 µl de pré mixe, 2.5 µl de ladder et 2.5 µl de TE.

## Annexe3- processus de PCR

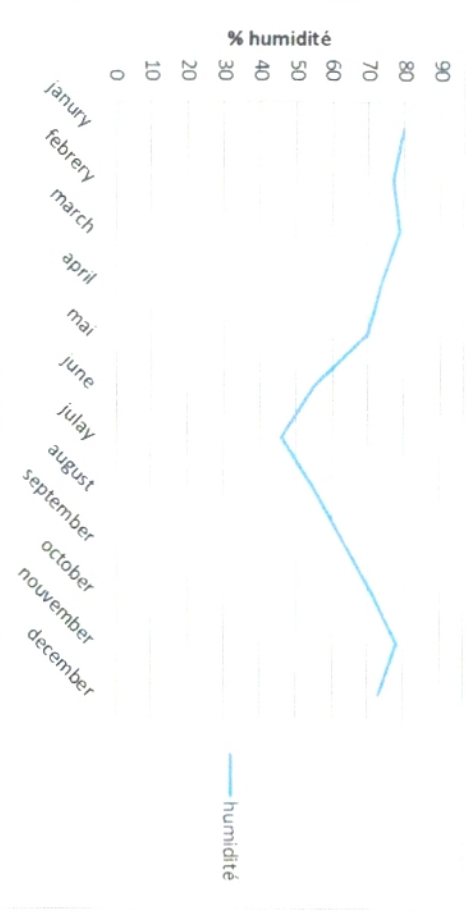
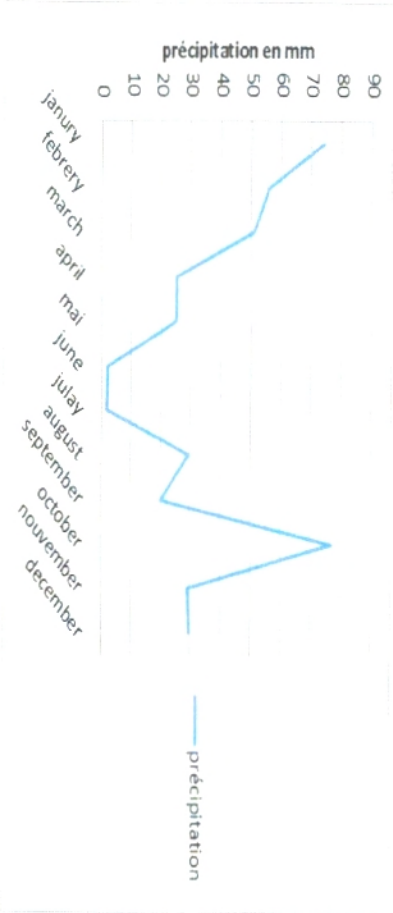
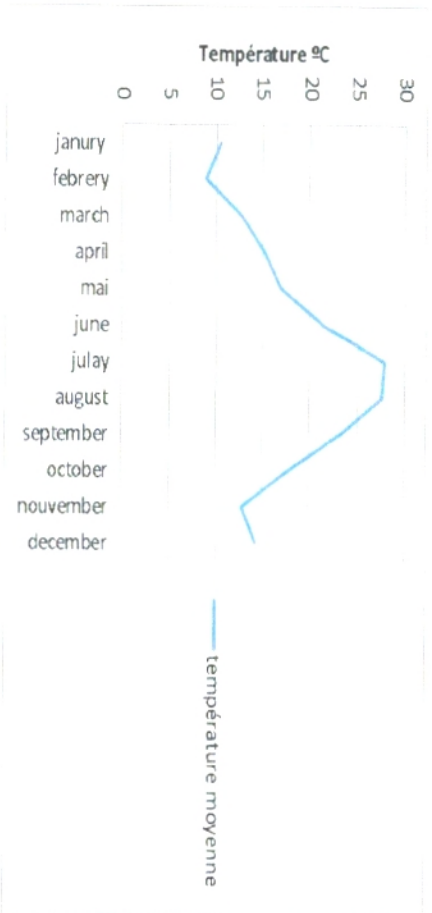


## Annexe 4: Conditions climatiques

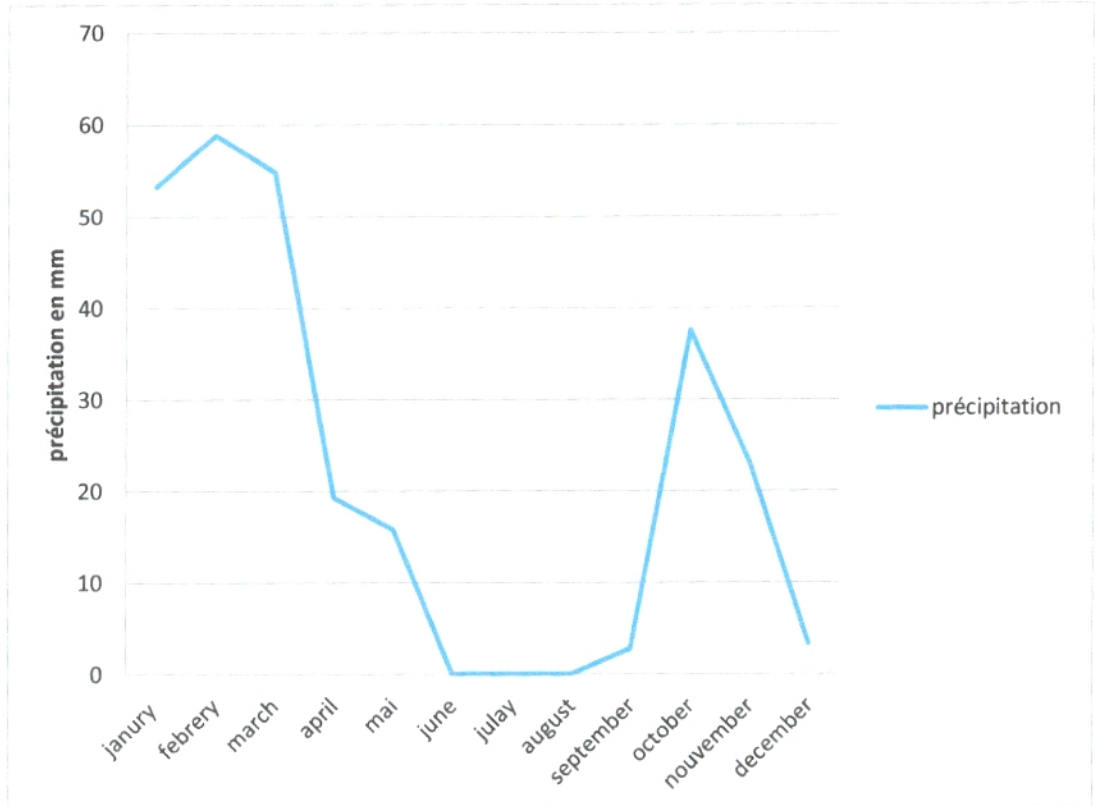
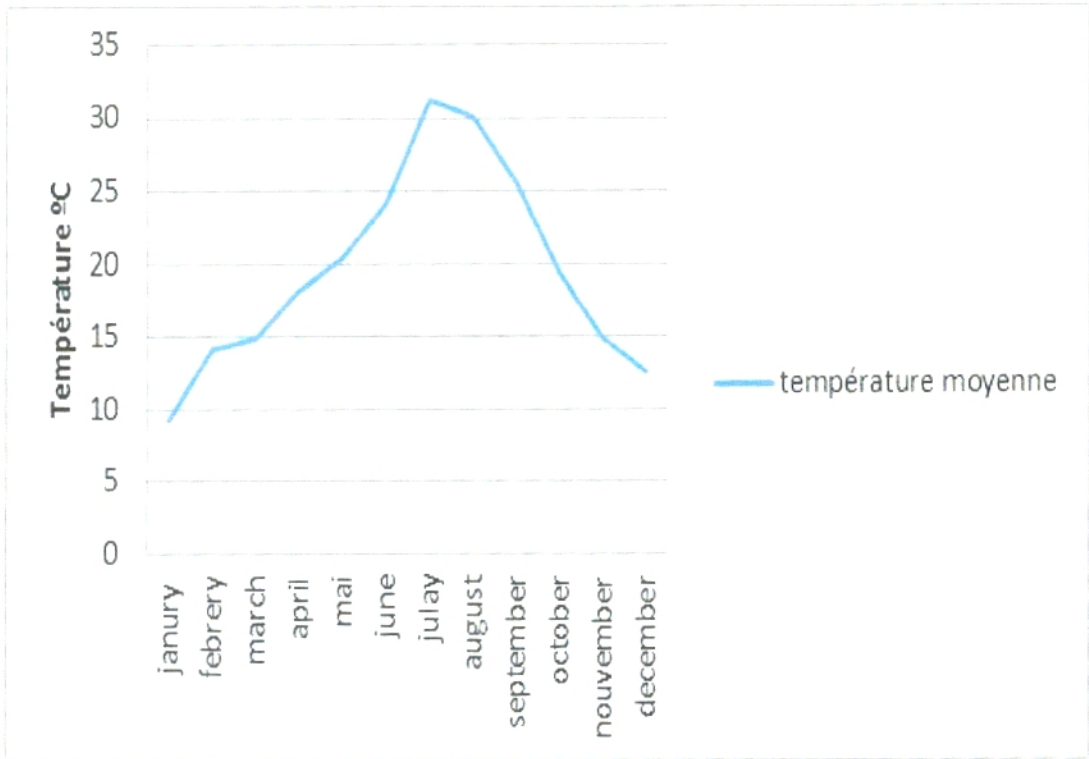
## I- condition climatique de Tlemcen



II-Condition climatique de Sidi belabess



## III-Condition climatique de Relizane



Annexe 5 Aligement des séquences des isolats de *Fusarium* par Logiciel CLUSTERW

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

seq10 -----
seq12 -----
seq5 -----CT
      188
seq22 TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCACACTTTAAAAAAGTGTCCACGTGAACT
seq1 -----T
seq2 -----T
seq13 -----T
seq6 -----
seq8 -----
seq14 -----
seq15 -----
seq7 -----
seq9 -----
seq11 -----
seq4 -----
seq3 -----
seq16 -----
seq17 -----

seq10 -----TGGCTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq12 -----TGGCTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq5  GTAAGCAAGTCTAGCGCTGTCACTGAGCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq22  GTAAGCAAGTCTAGCGCTGTGACTGAGCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq1  GTAAGCAAGTCTAGCGCTGTGACTGAGCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq2  GTAAGCAAGTCTAGCGCTGTGACTGAGCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq13  GTAAGCAAGTCTAGCGCTGTGACTGAGCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq6  -----GCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq8  -----CTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq14  -----CTGAGCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq15  -----CTGAGCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq7  -----CTGAGCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq9  -----CTGAGCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq11  -----CTGAGCTGGTGTTTTCA-TTTTTGGACACTGGAACGGG
seq4  -----
seq3  -----GATTTGGGGCTTTGGGCAGGGTCTGCGGTTTTCGGAACGCCGACGCG
seq16  -----GATTTGGGGCTTTGGGCAGGGTCTGCGGTTTTCGGAACGCCGACGCG
seq17  -----GTACTGTGCTT-GTGCTGGGT-CTGCG-TTTTCGGA-CGC-GGACGCG

seq10  CAGTCACTCAGGACGAAGG--TTGGGTCTGTTGTAATGCAAAGTTAT-GATGG-ACTAG-
seq12  CAGTCACTCAGGACGAAGG--TTGGGTCTGTTGTAATGCAAAGTTAT-GATGG-ACTAG-
seq5  -AGTCAG-CAGGACGAAGG--TTGG-TCTCTTGTAAATGCAA-GTTAT-GAGGG-ACTAGC
seq22  -AGTCAG-CAGGACGAAGG--TTGG-TCTGTTGTAATGCAA-GTTAT-GATGG-ACTAGC
seq1  -AGTCAG-CAGGACGAAGG--TTGG-TCTGTTGTAATGCAA-GTTAT-GATGG-ACTAGC
seq2  -AGTCAG-CAGGACGAAGG--TTGG-TCTGTTGTAATGCAA-GTTAT-GATGG-ACTAGC
seq13  -AGTCAG-CAGGACGAAGG--TTGG-TCTGTTGTAATGCAA-GTTAT-GATGG-ACTAGC
seq6  AG-TCAG-CAGGACGAAGG--TTGGT-CTGTTGTAATGC-AAGTTAT-AATGG-ACTAGC
seq8  AGCTCAG-CAGGACGAAGGG-TTGGTCTGTTGTAATGCCAAGTTATCAATGGGACTAGC
seq14  AG-TCAG-CAGGACGAAGG--TTGGT-CTGTTGTAATGC-AAGTTAT-GATGG-ACTAGC
seq15  AG-TCAG-CAGGACGAAGG--TTGGT-CTGTTGTAATGC-AAGTTAT-GATGG-ACTAGC
seq7  AG-TCAG-CAGGACGAAGG--TTGGT-CTGTTGTAATGC-AAGTTAT-GATGG-ACTAGC
seq9  AG-TCAG-CAGGACGAAGG--TTGGT-CTGTTGTAATGC-AAGTTAT-GATGG-ACTAGC
seq11  AG-TCAG-CAGGACGAAGG--TTGGT-CTGTTGTAATGC-AAGTTAT-GATGG-ACTAGC
seq4  -----AGGCCGA
seq3  GGGCAGGCTGAACCACAGCGTTGGTTTTCTTCTTGTGA-----GAGACCTAC
seq16  GGGCAGGCTGAACCACAGCGTTGGTTTTCTTCTTGTGA-----GAGACCTAC
seq17  GTGG-AGGCTGAACGAAGG--TTGGTTTTCTTCTTGTGA-----GAGACCAGC

seq10  TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TACC-TGATTTAT-ACTGGGG--
seq12  TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TACC-TGATTTAT-ACTGGGG--

```



```

seq5      TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGATTTAT-ACTGTGG--
seq22     TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGATTTAT-ACTGTGG--
seq1      TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGATTTAT-ACTGTGG--
seq2      TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGATTTAT-ACTGTGG--
seq13     TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGATTTAT-ACTGTGG--
seq6      TGATGAACTTT-GTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGAATTTT-TCTGTGG--
seq8      TGATGAACTTTTGGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAAATAC--TGATTTATACCTGTGG--
seq14     TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGATTTAT-ACTGTGG--
seq15     TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGATTTAT-ACTGTGG--
seq7      TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGATTTAT-ACTGTGG--
seq9      TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGATTTAT-ACTGTGG--
seq11     TGATGAACTTT-TGTTTTTAAACCCTTA--CCTAAA-TAC--TGATTTAT-ACTGTGG--
seq4      TGGAACCTTTTTTTTTTAAACCCTTAACCCTAAA-TACTGGAATTTATACCGGGG--
seq3      TGATATATTTT----TCAAACCCCTTTTTTACCAAA-TGAC-CGATCACTACGTGTGCA
seq16     TGATATATTTT----TCAAACCCCTTTTTTACCAAA-TGAC-CGATCACTACGTGTGCA
seq17     TGATATATTTT----TCAAACCCCTTTTTTACCAAA-TGAC-TGATCAATAC-TGTG--A
          **      ***      * * * * *      * * * * *      * * * * *      *
                                     rRNA 5.8S
seq10     GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTTACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq12     GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTTACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq5      GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq22     GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq1      GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq2      GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq13     GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq6      GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq8      GGACGAAA-GTCCCTTGCTTTTACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq14     GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq15     GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq7      GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq9      GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq11     GGACGAAA-GTCC-TTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTC-AGCAGTGG-ATGT-CTA
seq4      GGGCGAAA-GTCCTTGCTTTT-ACTAG-ATAA-CAACTTTCAGCAGTGGGATGTCTAA
seq3      GAACGTAAAGTTC-TTGCTTTAAACTATTATAA-CAACTTTC-AGTGCAGGGATGT-TTA
seq16     GAACGTAAAGTTC-TTGCTTTAAACTATTATAA-CAACTTTC-AGTGCAGGGATGT-TTA
seq17     GAACG-AAAGTTC-TTGCTTTAAACTA--ATAA-CAACTTTC-AGCA-GTGGATGT-CTA
          * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
seq10     GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq12     GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq5      GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq22     GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq1      GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq2      GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq13     GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq6      GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq8      GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTGGCGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq14     GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq15     GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq7      GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq9      GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq11     GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq4      GGCTCGCACATCGGATGAAGAACGCTGCGAACTG-CGATACGTAATGCGAATTGCAGAAT
seq3      GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCCAA-TG-CCAT-CGTAATGCCAATTGCAAA-T
seq16     GGCTCGCACATCG-ATGAAGAACGCTGCCAA-TG-CCAT-CGTAATGCCAATTGCAAA-T
seq17     GGCTCGCACATCG-ATGAA-AACGCTGCGAACTG-CGATACGTA-A-GCGAATTGCAAAAT
          ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
seq10     TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACTTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq12     TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACTTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq5      TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACTTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq22     TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACTTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq1      TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACTTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq2      TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACTTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq13     TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACTTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq6      TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACTTTCGGGT-TATGCCCTGGAAGT
seq8      TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACTTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq14     TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACTTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT

```

```

seq15 TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACCTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq7 TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACCTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq9 TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACCTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq11 TCAGTGAGTCATCG-AAATTTTGAACGCATATTGCACCTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq4 TCAGTGAGTCATCGAAATTTTGAACGCATATTGCACCTTCGGGT-TATGCC-TGGAAGT
seq3 TCATGGTGTCTCAATTTTGAAT-CATATTGCCCTTCGGGTGTAGACCCGGCAAGT
seq16 TCATGGTGTCTCAATTTTGAAT-CATATTGCCCTTCGGGTGTAGACCCGGCAAGT
seq17 TCAGTGAGTCATCGAAATTTTGAACGC-CATATTGCACCTTCGGGT-TAGACCTGG-AAGT
*** * *** ** * *** * ***** ** * *** ** * * ***

seq10 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-T-GGGGAATCCGGGAG
seq12 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-T-GGGGAATCCGGGAG
seq5 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-TCGGGGAATCC-----
seq22 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq1 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq2 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq13 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq6 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq8 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq14 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq15 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq7 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq9 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq11 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq4 ATGCTCTGTATCAGTGTCCGTAATCAAACCTGCCTTCTTTTT-CTGTGTAGTCAGGGAT
seq3 AGGTCTGTCTCAGGGTCCG-GCCTCAAACCTGCCGCTCTTTTTCTGGG-ACTCCGGTAT
seq16 AGGTCTGTCTCAGGGTCCG-GCCTCAAACCTGCCGCTCTTTTTCTGGG-ACTCCGGTAT
seq17 ATGCTCTGTATCAGGGTCCGTACATCAAACCTGCCTCTCTTTTTCTGTGTAGTCAGGATT
* ***** ** * *** ***** ** * ***

seq10 GGC-AAAGG-GCAAAGT-TAAATGTCT-CCCCAGGGTGTGTTTTGTTTTTCGATCGAGAA
seq12 GGC-AAAGG-GCAAAGT-TAAATGTCT-CCCCAGGGTGTGTTTTGTTTTTCGATCGAGAA
seq5 -----TTTTTCGATCGAGAA
seq22 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq1 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq2 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq13 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq6 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq8 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq14 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq15 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq7 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq9 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq11 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCT-CGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq4 GGA-ATGTG-CAGATGT-GAAGTGTCTTCGCATGGTTGCGTTCGTTTTTCGATCGAGAA
seq3 GGA-ACGTGACAGATGTGCAAGTGGCT-CGC-----CACTTGCGTCTTCGGACGACAA
seq16 GGA-ACGTGACAGATGTGCAAGTGGCT-CGC-----CACTTGCGTCTTCGGACGACAA
seq17 GGAGACGTG-CAAATGT-GAAGTGTCT-CGCG-----CACTTGCGTCTTCGGACGACAA
* **** * ** **

seq10 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TAGTATG---AACG
seq12 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TAGTATG---AACG
seq5 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq22 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq1 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq2 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq13 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq6 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq8 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq14 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq15 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq7 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq9 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq11 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq4 TCTGTCGAGTCCTTTTAAATGGACACGGTCTTTTC-TATGGTTTC-TATGAAGTGAATG
seq3 GCTGTCGATCCTTTTAAAGCGACACTATCTTTCTATATGACTTCGCGTGGAACTTAAT
seq16 GCTGTCGATCCTTTTAAAGCGACACTATCTTTCTATATGACTTCGCGTGGAACTTAAT
seq17 GCTGTCGATCCTTTTAAAGCGACACTATCTTTCTATATGACTTCGCGTGGAACTTAAT

```



```

seq13      TGAA-CC-GTAA-GTGA---TTGTTTAGTAG-AGCATT TTC-----ACGATGT-ATGGAG
seq6       TGAAACCCGTAAAGTGA---TTGTTTAGTAAAAGCATT TTCACC-----AATGTTATGGAG
seq8       TGAA--CCGTAA-GTGA---TTGTTTAGTAGA-GCATT TTCAC-----GATGT-ATGGAG
seq14      TGAA--CCGTAA-GTGA---TTGTTTAGTAGA-GCATT TTCAC-----GATGT-ATGGAG
seq15      TGAA--CCGTAA-GTGA---TTGTTTAGTAGA-GCATT TTCAC-----GATGT-ATGGAG
seq7       TGAA--CCGTAA-GTGA---TTGTTTAGTAGA-GCATT TTCAC-----GATGT-ATGGAG
seq9       TGAA--CCGTAA-GTGA---TTGTTTAGTAGA-GCATT TTCAC-----GATGT-ATGGAG
seq11      TGAA--CCGTAA-GTGA---TTGTTTAGTAGA-GCATT TTCAC-----GATGT-ATGGAG
seq4       TGAA--CCGTAA-GTGA---TTGTTTAGTAGA-GCATT TTCAC-----GATGT-ATGGAG
seq3       TAAC--CTGGGC-ATGG-----GTGTGAAAAAACCGGG--CAC-----CATGC-ATGGGT
seq16      TAAC--CTGGGC-ATGG-----GTGTGAAAAAACCGGG--CAC-----CATGC-ATGGGT
seq17      TGAC--CTGGGA-GTTG-----GGGTGTAGAGACGGGGGCAC-----CATGC-ATGGTT
          * *   * *   *           * *           *           **   *

seq10      AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq12      AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq5       AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATC- TT-GTC
seq22      AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq1       AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq2       AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq13      AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq6       ACCGCTGCATT TAGTTGCGTCA TAGAAGATTGATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq8       AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCA-----
seq14      AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq15      AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq7       AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq9       AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq11      AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq4       AC-GCTGCATT TAGTT-GCGT-AGAGAG-ATT-GATT TGGGAAATTTGTATCATT-GTC
seq3       TC---CCCTTTTAAAA-----AAGAGAGACGTTTATTTGGGAAAGGTG-CACTTTT-GGC
seq16      TC---CCCTTTTAAAA-----AAGAGAGACGTTTATTTGGGAAAGGTG-CACTTTT-GGC
seq17      AC---CCCTTTTATTA-----A-GAGAAATGCCTATTTGGGAAAGTTGGTACTTTTTGGC
          *   * * * * *           * * *           * * * * * * * * * * * * * *

seq10      AAT-GCAAGA-----
seq12      AAT-GCAAGA-----
seq5       AA-----
          28S
seq22      AATTGCAAGATTGTGTATGGTATCTCAA TGGACCTGATATCAGACAAGACTACCCGCTG
seq1       AATTGCAAGATTGTGTATG-----
seq2       AATTGCAAGATTGTGTATG-----
seq13      AATTGCAAGATTGTGTATG-----
seq6       AATTGCAAGATTGTGTATGG-ATCTCAA TGGACCTGATATCAGAC-----
seq8       -----
seq14      AATTGCAAGATTGTGTATGGTATCTCAA-----
seq15      AATTGCAAGATTGTGTATGGTATCTCAA-----
seq7       AATTGC-----
seq9       AATTGC-----
seq11      AATTGC-----
seq4       AACAGGA-----
seq3       AA--GCGACCTTGCCG-----
seq16      AA--GCGACCTTGCCG-----
seq17      CA--GCATCTTGCCCT-----

seq10      -----
seq12      -----
seq5       -----
seq22      AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA
seq1       -----
seq2       -----
seq13      -----
seq6       -----
seq8       -----
seq14      -----
seq15      -----
seq7       -----

```



rRNA 5.8S

```

seq7      -CAAGCAAATAAATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAA
seq12     -CAAGCAAATAAATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAA
seq3      ACAAGCAAATAAATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAA
seq6      -CAAGCAAATAAATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAA
seq2      ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq5      AAAAACAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq13     ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq1      ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq11     ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq9      ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq14     ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq16     AACCATAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq17     AACCATAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq4      ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq15     ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq8      ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
seq10     ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
*****

```

```

seq7      CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq12     CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq3      CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq6      CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq2      CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq5      CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq13     CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq1      CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq11     CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq9      CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq14     CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq16     CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq17     CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq4      CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq15     CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq8      CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
seq10     CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
*****

```

## rRNA 5.8S

```

seq7      ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq12     ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq3      ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq6      ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq2      ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq5      ACGCACATTGCG-----
seq13     ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq1      ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq11     ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq9      ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq14     ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq16     ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq17     ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq4      ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq15     ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq8      ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq10     ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
*****

```

```

seq7      TCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTT-GGGGATCGGCAGAAGCCCCCTGTGGGCACA-CGCCGT
seq12     TCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTT-GGGGATCGGCAGAAGCCCCCTGTGGGCACA-CGCCGT
seq3      TC-----
seq6      TCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTT-GGGGATCGGCAGAAGCCCCCTGTGGGCACAACGCCGT
seq2      TCAAGCCCCCGGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGGG----CGGTGCCGC
seq5      -----GTTTGGTGTTTGGGATCGGG-CTGTACTCCAG-----CCCGG
seq13     TCAAGCCCCCGGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGG-----CGGTGCCGC
seq1      TCAAGCCCCCGGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGG-----CGGTGCCGC
seq11     TCAAGCCCCCGGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGG-----CGGTGCCGC
seq9      TCAAGCCCCCGGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGG-----CGGTGCCGC

```

seq14 TCAAGCCCCCGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGGG----CGGTGCCGC  
 seq16 TCAAGCCCTCGGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGC-GAGCCTTCTGG-----CAAGCCGG  
 seq17 TCAAGCCCTCGGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGC-GAGCCTTCTGG-----CAAGCCGG  
 seq4 TCAAGCTC--AGCTTGGTGTT--GGGACTCGCGGTAACCCG-----CGT  
 seq15 TCAAGCTC--AGCTTGGTGTT--GGGACTCGCGGTAACCCG-----CGT  
 seq8 TCAAGCTC--AGCTTGGTGTT--GGGACTCGCGGTAACCCG-----CGT  
 seq10 TCAAGCTC--AGCTTGGTGTT--GGGACTCGCGGTAACCCG-----CGT

seq7 CCCTCAAATACAGTGGCGGTCCCGCCGAGCTTCCATTGCGTAGTAGTA-ACACCTCGC  
 seq12 CCCTCAAATACAGTGGCGGTCCCGCCGAGCTTCCATTGCGTAGTAGTA-ACACCTCGC  
 seq3 -----  
 seq6 CCCCCAAATACAGTGGCGGTCCCGCCGAGCTTCCATTGCGTA-TAGTA-ACACCTCGC  
 seq2 CCCCCAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTA-ACACCTCGC  
 seq5 CCCCCAAATCTAGTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTA-ACACCCG--  
 seq13 CCCCCAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTA-ACACCTCGC  
 seq1 CCCCCAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTA-ACACCTCGC  
 seq11 CCCCCAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTA-ACACCTCGC  
 seq9 CCCCCAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTA-ACACCTCGC  
 seq14 CCCCCAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTA-ACACCTCGC  
 seq16 CCCCCAAATCTAGTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTAA-AACCTCGC  
 seq17 CCCCCAAATCTAGTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTAA-AACCTCGC  
 seq4 TCCCCAAATCGATTGGCGGTACAGTCG-AGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGT  
 seq15 TCCCCAAATCGATTGGCGGTACAGTCG-AGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGT  
 seq8 TCCCCAAATCGATTGGCGGTACAGTCG-AGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGT  
 seq10 TCCCCAAATCGATTGGCGGTACAGTCG-AGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGT

## rRNA28S

seq7 AACTGGAGAGCGGCGCGGCCATGCCGTA AAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGAAT  
 seq12 AACTGGAGAGCGGCGCGGCCATGCCGTA AAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGAAT  
 seq3 -----  
 seq6 AACTGGAGAGCGGCGCGGCCACGCCGTA AAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGAAT  
 seq2 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
 seq5 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAA-CCGTA AAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
 seq13 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
 seq1 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGAC-----  
 seq11 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
 seq9 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
 seq14 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
 seq16 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAAGCCG-----  
 seq17 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAAGCCGTTAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
 seq4 TACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTA AAAAC-CCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
 seq15 TACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTA AAAAC-CCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
 seq8 TACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTA AAAAC-CCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
 seq10 TACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTA AAAAC-CCCTTCTT-----

seq7 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAA-----  
 seq12 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCA-----  
 seq3 -----  
 seq6 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCA-----  
 seq2 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATAC-----  
 seq5 CAGGTAGGAATACCCGC-----  
 seq13 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCAT-----  
 seq1 -----  
 seq11 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGG----  
 seq9 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCATTA-----  
 seq14 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCA-----  
 seq16 -----  
 seq17 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCATT-----  
 seq4 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATA-----  
 seq15 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA  
 seq8 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCAT-----  
 seq10 -----

Annexe 4 Alignement des séquences des isolats de *Glopiosporangium* par Logiciel CLUSTERW

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

                                rRNA18S
seq7      -----CCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTATACTCACTCATC
seq12     -----GCGGAGGGATCATTACCGAGTTATACTCACTCATC
seq3      -----CTCATC
seq6      -----
seq2      -----
seq5      -----
seq13     -----CTCCCAA
seq1      -----CCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAA
seq11     -----CTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAA
seq9      -----CTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAA
seq14     -----GGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAA
seq16     -----
seq17     AACCCCAAACCTTCTGAATGTTGAFCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAA
seq4      -----
seq15     -----
seq8      -----CATTACCGAGTTTACAACCTCCCAA
seq10     -----CTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAA

seq7      AACCCCTGTGAACATACCTAAAACGTTGCTTCGGCGGGAACAGACGGC--CCTGTAACAAC
seq12     AACCCCTGTGAACATACCTAAAACGTTGCTTCGGCGGGAACAGACGGC--CCTGTAACAAC
seq3      AACCCCTGTGAACATACCTAAA--CGTTGCTTCGGCGGGAACAGACGGC--CCCCTGA-AAC
seq6      ---CCTGTGAACATACCTATAACGTTGCCTCGGCGGGAACAGACGGC--CCCCTGA-AAC
seq2      -CCCCTGTGA-CATA-CCTTAATGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAC
seq5      -----GTGA-CATA-CCTTATGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAC
seq13     ACCCCTGTGAACATA-CCTTAATGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAC
seq1      ACCCCTGTGAACATA-CCTTAATGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAC
seq11     ACCCCTGTGAACATA-CCTTAATGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAC
seq9      ACCCCTGTGAACATA-CCTTAATGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAC
seq14     ACCCCTGTGAACATA-CCTTAATGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAC
seq16     -----G-ATCAGCCCGCTCCCGGTAA-AAC
seq17     ACCCCTGTGAACATA-CCTTACTGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCTCCCGGTAA-AAC
seq4      ---CCCTGTGACATA-CCTATACGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAA
seq15     -----ACATA-CCTATACGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAA
seq8      ACCCCTGTGAACATA-CCTATACGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAA
seq10     ACCCCTGTGAACATA-CCTATACGTTGCCTCGGCGG-ATCAGCCCGCGCCCCGTAA-AAA
                                * * * * * * * * * *

seq7      GGGCCGCCCCCGCCAGAGGACCC-C-TAACTCTGTTTTTATAATGTTT-TTCTGAGTAAA
seq12     GGGCCGCCCCCGCCAGAGGACCC-C-TAACTCTGTTTTTATAATGTTT-TTCTGAGTAAA
seq3      GGGCCGCCCCCGCCAGAGGACCC-C-TAACTCTGTTTCTATAATGTTTCTTCTGAGTAAA
seq6      GGGCCGCCCCCGCCAGAGGACCC-CCTAACTCTGTTTCTATAATGTTTCTTCTGAGTAAA
seq2      GGGACGGCCC-GCCAGAGGACCCAAACTCTAATGTTTCT-TATTGTAACTTCTGAGTAAA
seq5      GGGACGGCCC-GCCGAGGACCCAAACTCTGATT-T-TAGTGAACTTCTGAGTCTA
seq13     GGGACGGCCC-GCCAGAGGACCCAAACTCTAATGTTTCT-TATTGTAACTTCTGAGTAAA
seq1      GGGACGGCCC-GCCAGAGGACCCAAACTCTAATGTTTCT-TATTGTAACTTCTGAGTAAA
seq11     GGGACGGCCC-GCCAGAGGACCCAAACTCTAATGTTTCT-TATTGTAACTTCTGAGTAAA
seq9      GGGACGGCCC-GCCAGAGGACCCAAACTCTAATGTTTCT-TATTGTAACTTCTGAGTAAA
seq14     GGGACGGCCC-GCCAGAGGACCCAAACTCTAATGTTTCT-TATTGTAACTTCTGAGTAAA
seq16     GGGACGGCCC-GCCAGAGGACCC-CTAAACTCTGTTTCT-ATATGTAACTTCTGAGTAA-A
seq17     GGGACGGCCC-GCCAGAGGACCC-CTAAACTCTGTTTCT-ATATGTAACTTCTGAGTAA-A
seq4      GGGACGGCCC-GCCGAGGACCC-CTAAACTCTGTTTTT--AGTGAACTTCTGAGTAAA
seq15     GGGACGGCCC-GCCGAGGACCC-CTAAACTCTGTTTTT--AGTGAACTTCTGAGTAAA
seq8      GGGACGGCCC-GCCGAGGACCC-CTAAACTCTGTTTTT--AGTGAACTTCTGAGTAAA
seq10     GGGACGGCCC-GCCGAGGACCC--TAAACTCTGTTTTT--AGTGAACTTCTGAGTAAA
*** ** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

                                rRNA 5S
seq7      -CAAGCAAA'TAAAT'AAAACTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAA

```



```

seq12 -CAAGCAAATAAATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAA
seq3 ACAAGCAAATAAATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAA
seq6 -CAAGCAAATAAATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAA
seq2 ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq5 AAAAACAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq13 ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq1 ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq11 ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq9 ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq14 ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq16 AACCATAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq17 AACCATAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq4 ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq15 ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq8 ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA
seq10 ACAACCAAATAAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAA

```

\*\*\*\*\*

```

seq7 CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq12 CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq3 CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq6 CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq2 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq5 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq13 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq1 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq11 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq9 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq14 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq16 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq17 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq4 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq15 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq8 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA
seq10 CGCAGCAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCCTTTGA

```

\*\*\*\*\*

#### rRNA 5S

```

seq7 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq12 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq3 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq6 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq2 ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq5 ACGCACATTGCG-----
seq13 ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq1 ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq11 ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq9 ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq14 ACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq16 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq17 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq4 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq15 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq8 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC
seq10 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCC

```

\*\*\*\*\*

```

seq7 TCAGGCCCCCGGGCTGGCGTT-GGGGATCGGCAGAAGCCCCCTGTGGGCACA-CGCCGT
seq12 TCAGGCCCCCGGGCTGGCGTT-GGGGATCGGCAGAAGCCCCCTGTGGGCACA-CGCCGT
seq3 TC-----
seq6 TCAGGCCCCCGGGCTGGCGTT-GGGGATCGGCAGAAGCCCCCTGCGGGCACAACGCCGT
seq2 TCAAGCCCCCGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGGG----CGGTGCCGC
seq5 -----GTTTGGTGTTTGGGATCGGG-CTGTACTCCAG-----CCCGG
seq13 TCAAGCCCCCGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGG-----CGGTGCCGC
seq1 TCAAGCCCCCGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGGG----CGGTGCCGC
seq11 TCAAGCCCCCGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGGG----CGGTGCCGC
seq9 TCAAGCCCCCGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGCTCTGCCCTTCTGGG----CGGTGCCGC
seq14 TCAAGCCCCCGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGC-GAGCCTTCTGG-----CAAGCCGG
seq16 TCAAGCCTCGGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGC-GAGCCTTCTGG-----CAAGCCGG

```

seq17 TCAAGCCCTCGGGTTTGGTGTT-GGGGATCGGC-GAGCCTTTCTGG-----CAAGCCGG  
seq4 TCAAGCTC---AGCTTGGTGTT--GGGACTCGCGGTAACCCG-----CGT  
seq15 TCAAGCTC---AGCTTGGTGTT--GGGACTCGCGGTAACCCG-----CGT  
seq8 TCAAGCTC---AGCTTGGTGTT--GGGACTCGCGGTAACCCG-----CGT  
seq10 TCAAGCTC---AGCTTGGTGTT--GGGACTCGCGGTAACCCG-----CGT

seq7 CCCTCAAATACAGTGGCGGTCCC GCCCGCAGCTTCCATTGCGTAGTAGCTA-ACACCTCGC  
seq12 CCCTCAAATACAGTGGCGGTCCC GCCCGCAGCTTCCATTGCGTAGTAGCTA-ACACCTCGC  
seq3 -----  
seq6 CCCCAGAAATACAGTGGCGGTCCC GCCCGCAGCTTCCATTGCGTA-TAGCTA-ACACCTCGC  
seq2 CCCCAGAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGCTA-ACACCTCGC  
seq5 CCCCAGAAATCTAGTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGCTA-ACACCCG--  
seq13 CCCCAGAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGCTA-ACACCTCGC  
seq1 CCCCAGAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGCTA-ACACCTCGC  
seq11 CCCCAGAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGCTA-ACACCTCGC  
seq9 CCCCAGAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGCTA-ACACCTCGC  
seq14 CCCCAGAAATACATTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGCTA-ACACCTCGC  
seq16 CCCCAGAAATCTAGTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTAA-AACCCTCGC  
seq17 CCCCAGAAATCTAGTGGCGGTCTCGCTGCAGCCTCCATTGCGTAGTAGTAA-AACCCTCGC  
seq4 TCCCCAAATCGATTGGCGGTACGTCG-AGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGT  
seq15 TCCCCAAATCGATTGGCGGTACGTCG-AGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGT  
seq8 TCCCCAAATCGATTGGCGGTACGTCG-AGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGT  
seq10 TCCCCAAATCGATTGGCGGTACGTCG-AGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGT

**rRNA28S**

seq7 AACTGGAGAGCGGCGCGGCCATGCCGTA AAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGAAT  
seq12 AACTGGAGAGCGGCGCGGCCATGCCGTA AAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGAAT  
seq3 -----  
seq6 AACTGGAGAGCGGCGCGGCCACGCGCGTAAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGAAT  
seq2 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
seq5 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAA-CCGTTAAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
seq13 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
seq1 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGAC-----  
seq11 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
seq9 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
seq14 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAT-GCCGTA AAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
seq16 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAAGCCG-----  
seq17 AACTGGAACGCGGCGCGGCCAAGCCGTTAAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
seq4 TACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCGGTA AAAAC-CCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
seq15 TACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCGGTA AAAAC-CCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
seq8 TACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCGGTA AAAAC-CCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGAT  
seq10 TACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCGGTA AAAAC-CCCTTCTT-----

seq7 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAA-----  
seq12 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA-----  
seq3 -----  
seq6 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCA-----  
seq2 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAC-----  
seq5 CAGGTAGGAATACCCGC-----  
seq13 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAT-----  
seq1 -----  
seq11 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGG-----  
seq9 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATT-----  
seq14 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA-----  
seq16 -----  
seq17 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATT-----  
seq4 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT-----  
seq15 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA-----  
seq8 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCAT-----  
seq10 -----

*Fusarium redolens* isolate F5RS3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX051323.1

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS JX051323 536 bp DNA linear PLN 27-JUN-2013  
DEFINITION *Fusarium redolens* isolate F5RS3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION JX051323  
VERSION JX051323.1 GI:402810499  
KEYWORDS .  
SOURCE *Fusarium redolens*  
ORGANISM *Fusarium redolens*  
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; mitosporic Nectriaceae; *Fusarium* .  
REFERENCE 1 (bases 1 to 536)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E., Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.  
TITLE First Report of *Fusarium redolens* as a Causal Agent of Aleppo Pine Damping-Off in Algeria  
JOURNAL Plant Dis. 97 (7), 997 (2013)  
REFERENCE 2 (bases 1 to 536)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (10-MAY-2012) Research Laboratory on biological systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000, Algeria., Mascara, MASCARA 29000, Algeria  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..536  
/organism="Fusarium redolens"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="F5RS3"  
/isolation\_source="pine seedling"  
/host="Aleppo pine"  
/db\_xref="taxon:48865"  
/country="Algeria: NW Algeria"  
/PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgcgg, rev\_name: its4, rev\_seq: tcctccgcttattgatatgc"  
rRNA <1..17  
/product="18S ribosomal RNA"  
misc RNA 18..177  
/product="internal transcribed spacer 1"  
rRNA 178..322  
/product="5.8S ribosomal RNA"  
misc RNA 323..497  
/product="internal transcribed spacer 2"  
rRNA 498..>536  
/product="28S ribosomal RNA"  
ORIGIN  
1 ctgctggagg atcattaccg agtttacaac tcccaaacc ctgtgaacat accttactgt  
61 tgectcggcg gatcagcccg ctcccggtaa aacgggacgg cccgccagag gaccctaaa  
121 ctctgtttct atatgtaact tctgagtaaa accataaata aatcaaaact ttcaacaacg  
181 gatctcttgg ttctggcatc gatgaagaac gcagcaaaat gcgataagta atgtgaattg  
241 cagaattcag tgaatcatcg aatctttgaa cgcacattgc gcccgccagt attctggcgg  
301 gcatgcctgt tcgagcgtca tttcaaccct caagccctcg ggtttggtgt tggggatcgg  
361 cgagccttctc tggcaagccg gccccgaaat ctagtggcgg tctcgtgca gcctccattg  
421 cgtagtagta aaacctcgc aactggaacg cggcgcggcc aagccgttaa accccaact  
481 tctgaatggt gacctcggat caggtaggaa taccgctga acttaagcat atcatt

*Fusarium redolens* isolate F8RS3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX051326.1

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS JX051326 535 bp DNA linear PLN 27-JUN-2013  
DEFINITION *Fusarium redolens* isolate F8RS3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION JX051326  
VERSION JX051326.1 GI:402810502  
KEYWORDS .  
SOURCE *Fusarium redolens*  
ORGANISM *Fusarium redolens*  
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; mitosporic Nectriaceae; *Fusarium* .  
REFERENCE 1 (bases 1 to 535)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E., Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.  
TITLE First Report of *Fusarium redolens* as a Causal Agent of Aleppo Pine Damping-Off in Algeria  
JOURNAL Plant Dis. 97 (7), 997 (2013)  
REFERENCE 2 (bases 1 to 535)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (10-MAY-2012) Research Laboratory on biological systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000, Algeria., Mascara, MASCARA 29000, Algeria  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..535  
/organism="Fusarium redolens"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="F8RS3"  
/isolation\_source="pine seedling"  
/host="Aleppo pine"  
/db\_xref="taxon:48865"  
/country="Algeria: NW Algeria"  
/PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtagtgtaacctgcgg, rev\_name: its4, rev\_seq: tcctccgcttattgatatgc"  
rRNA <1..17  
/product="18S ribosomal RNA"  
misc RNA 18..177  
/product="internal transcribed spacer 1"  
rRNA 178..322  
/product="5.8S ribosomal RNA"  
misc RNA 323..497  
/product="internal transcribed spacer 2"  
rRNA 498..>535  
/product="28S ribosomal RNA"  
ORIGIN  
1 ctgcggaggg atcattaccg agtttacaac tcccaaacc ctgtgaacat accttactgt  
61 tgcctcggcg gatcagcccg ctcccggtaa aacgggacgg cccgccagag gaccctaaa  
121 ctctgtttct atatgtaact tctgagtaaa accataaata aatcaaaaact ttcaacaacg  
181 gatctcttgg ttctggcatc gatgaagaac gcagcaaaat gcgataagta atgtgaattg  
241 cagaattcag tgaatcatcg aatctttgaa cgcacattgc gcccgccagt attctggcgg  
301 gcatgcctgt tegagegtea tttaaacct caagccctcg ggtttggtgt tggggatcgg  
361 cgagccttc tggcaagccg gccccgaaat ctagtggcgg tctcgctgca gcctccattg  
421 cgtagtagta aaaccctcgc aactggaac cggcgggcc aagccgtaa accccaact  
481 tctgaatggt gacctcgat caggtaggaa taccgctga acttaagcat tcatt

//

*Fusarium redolens* isolate F09SS1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX114783.1

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS JX114783 396 bp DNA linear PLN 27-JUN-2013  
 DEFINITION *Fusarium redolens* isolate F09SS1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.  
 ACCESSION JX114783  
 VERSION JX114783.1 GI:401871125  
 KEYWORDS.  
 SOURCE *Fusarium redolens*  
 ORGANISM *Fusarium redolens*  
 Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; mitosporic Nectriaceae; Fusarium .  
 REFERENCE 1 (bases 1 to 396)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E., Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.  
 TITLE First Report of *Fusarium redolens* as a Causal Agent of Aleppo Pine Damping-Off in Algeria  
 JOURNAL Plant Dis. 97 (7), 997 (2013)  
 REFERENCE 2 (bases 1 to 396)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara 29000, Algeria  
 FEATURES Location/Qualifiers  
 source 1..396  
 /organism="Fusarium redolens"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /isolate="F09SS1"  
 /isolation\_source="crown of Aleppo pine seedling"  
 /db\_xref="taxon:48865"  
 /country="Algeria"  
 /collection\_date="20-Mar-2009"  
 /collected\_by="F. Lazreg"  
 /PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgctg, rev\_name: its4, rev\_seq: tctccgcttattgatatgc"  
 misc RNA <1..107  
 /product="internal transcribed spacer 1"  
 rRNA 108..252  
 /product="5.8S ribosomal RNA"  
 misc RNA 253..>396  
 /product="internal transcribed spacer 2"  
 ORIGIN  
 1 gatcagcccg ctcccgttaa aacgggacgg cccgccagag gaccctaaa ctctgtttct  
 61 atatgtaact tctgagtaa accataaata aatcaaaact ttcaacaacg gatctcttgg  
 121 ttctggcatc gatgaagaac gcagcaaaat gcgataagta atgtgaattg cagaattcag  
 181 tgaatcatcg aatctttgaa cgcacattgc gcccgcagc attctggcgg gcatgcctgt  
 241 tgcagcgtca tttcaacct caagccctcg ggtttggtgt tggggatcgg cgagcctttc  
 301 tggcaagccg gccccgaaat ctagtggcgg tctcgtgca gcctccattg cgtagtagta  
 361 aaaccctcgc aactggaacg cggcgcggcc aagccg

*Fusarium redolens* isolate F91SR1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX051324.1

#### FASTA Graphics

##### Go to:

LOCUS JX051324 534 bp DNA linear PLN 27-JUN-2013  
 DEFINITION *Fusarium redolens* isolate F91SR1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence.  
 ACCESSION JX051324  
 VERSION JX051324.1 GI:402810500  
 KEYWORDS.  
 SOURCE *Fusarium redolens*  
 ORGANISM *Fusarium redolens*  
 Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; mitosporic Nectriaceae; Fusarium .  
 REFERENCE 1 (bases 1 to 534)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E., Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.  
 TITLE First Report of *Fusarium redolens* as a Causal Agent of Aleppo Pine Damping-Off in Algeria  
 JOURNAL Plant Dis. 97 (7), 997 (2013)  
 REFERENCE 2 (bases 1 to 534)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (10-MAY-2012) Research Laboratory on biological systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000, Algeria., Mascara, MASCARA 29000, Algeria  
 FEATURES  
 Location/Qualifiers  
 source 1..534  
 /organism="Fusarium redolens"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /isolate="F91SR1"  
 /isolation\_source="pine seedling"  
 /host="Aleppo pine"  
 /db\_xref="taxon:48865"  
 /country="Algeria: NW Algeria"  
 /PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtagggtgaacctgctgg, rev\_name: its4, rev\_seq: tctctcgcttattgatatgc"  
 rRNA <1..17  
 /product="18S ribosomal RNA"  
 misc RNA 18..177  
 /product="internal transcribed spacer 1"  
 rRNA 178..322  
 /product="5.8S ribosomal RNA"  
 misc RNA 323..497  
 /product="internal transcribed spacer 2"  
 rRNA 498..>534  
 /product="28S ribosomal RNA"  
 ORIGIN  
 1 ctgcggaggg atcattaccg agtttacaac tcccaaacc cgtggaacat accttactgt  
 61 tgctcggcg gatcagcccg ctcccggtaa aacgggacgg cccgccagag gaccctaaa  
 121 ctctgtttct atatgtaact tctgagtaaa accataaata aatcaaaact tcaacaacg  
 181 gatctcttgg ttctggcatc gatgaagaac gcagcaaaat gcgataagta atgtgaattg  
 241 cagaattcag tgaatcatcg aatctttgaa cgcacattgc gcccgccagt attctggcgg  
 301 gcatgcctgt tcgagcgtca tttcaaccct caagccctcg ggtttggtgt tggggatcgg  
 361 cgagcctttc tggcaagccc gccccgaaat ctagtggcgg tctcgctgca gcctccattg  
 421 cgtagtagta aaacctcgc aactggaacg cggcgggcc aagccgttaa accccaact  
 481 tctgaatggt gacctcggat caggtaggaa taccgctga acttaagcat tcat

*Fusarium redolens* isolate F55RS1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX051325.1

### FASTA Graphics

#### Go to:

LOCUS JX051325 535 bp DNA linear PLN 27-JUN-2013  
DEFINITION *Fusarium redolens* isolate F55RS1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION JX051325  
VERSION JX051325.1 G: 402810501  
KEYWORDS.  
SOURCE *Fusarium redolens*  
ORGANISM *Fusarium redolens*  
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; mitosporic Nectriaceae; Fusarium .  
REFERENCE 1 (bases 1 to 535)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E., Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.  
TITLE First Report of *Fusarium redolens* as a Causal Agent of Aleppo Pine Damping-Off in Algeria  
JOURNAL Plant Dis. 97 (7), 997 (2013)  
REFERENCE 2 (bases 1 to 535)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (10-MAY-2012) Research Laboratory on biological systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000, Algeria., Mascara, MASCARA 29000, Algeria  
FEATURES  
source Location/Qualifiers  
1..535  
/organism="Fusarium redolens"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="F55RS1"  
/isolation\_source="pine seedling"  
/host="Aleppo pine"  
/db\_xref="taxon:48865"  
/country="Algeria: NW Algeria"  
/PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgcg, rev\_name: its4, rev\_seq: tctccgcttattgatatgc"  
rRNA <1..17  
/product="18S ribosomal RNA"  
misc RNA 18..177  
/product="internal transcribed spacer 1"  
rRNA 178..322  
/product="5.8S ribosomal RNA"  
misc RNA 323..497  
/product="internal transcribed spacer 2"  
rRNA 498..>535  
/product="28S ribosomal RNA"  
ORIGIN  
1 ctgaggagg atcattaccg agtttacaac tcccaaacc ctgtgaacat accttactgt  
61 tgcctcggcg gatcagcccg ctcccggtaa aacgggacgg cccgccagag gaccocctaaa  
121 ctctgtttct atatgtaact tctgagtaaa accataaata aatcaaaact ttcaacaacg  
181 gatctcttgg tctggcatc gatgaagaac gcagcaaaat gcgataagta atgtgaattg  
241 cagaattcag tgaatcatcg aatctttgaa cgcacattgc gcccgccagt attctggcgg  
301 gcatgcctgt tcgagcgtca tttcaaccct caagccctcg ggtttggtgt tggggatcgg  
361 cgagccttc tggcaagccc gccccgaat ctagtggcgg tctcgtgca gctccattg  
421 cgtagtagta aaaccctcgc aactggaacg cggcggcggc aagccgttaa acccccaact  
481 tctgaatgtt gacctcggat caggtaggat acccgtgaa cttaaagcata tcatt

//

*Fusarium acuminatum* isolate F12SS1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX114788.1 [FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS JX114788 547 bp DNA linear PLN 27-MAR-2013  
DEFINITION *Fusarium acuminatum* isolate F12SS1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION JX114788  
VERSION JX114788.1 GI:401871130  
KEYWORDS.  
SOURCE *Fusarium acuminatum*  
ORGANISM *Fusarium acuminatum*  
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; mitosporic Nectriaceae; *Fusarium* ; *Fusarium tricinctum* species complex.  
REFERENCE 1(bases 1 to 547)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E., Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.  
TITLE First Report of *Fusarium acuminatum* Causing Damping-Off Disease on Aleppo Pine in Algeria  
JOURNAL Plant Dis. 97 (4), 557 (2013)  
REFERENCE 2(bases 1 to 547)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems and Geomatics, Agronomie Science, University of Mascara, Mascara 29000, Algeria  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..547  
/organism="Fusarium acuminatum"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="F12SS1"  
/isolation\_source="crown of Aleppo pine seedling"  
/db\_xref="taxon:5515"  
/country="Algeria"  
/collection\_date="09-Mar-2009"  
/collected\_by="F. Lazreg"  
/PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgctg, rev\_name: its4, rev\_seq: tctccgcttattgatatgc"  
rRNA <1..17  
/product="18S ribosomal RNA"  
misc RNA 18..179  
/product="internal transcribed spacer 1"  
rRNA 180..324  
/product="5.8S ribosomal RNA"  
misc RNA 325..493  
/product="internal transcribed spacer 2"  
rRNA 494..>547  
/product="28S ribosomal RNA"  
ORIGIN  
1 ctgctggagg atcattaccg agtttacaac tcccaaacc ctgtgaacat accttaatgt  
61 tgctcggcg gatcagcccg cgcctcgtaa aacgggacgg cccgccagag gacccaaact  
121 ctaatgtttc ttattgtaac ttctgagtaa aacaacaaa taaatcaaaa ctttcaacaa  
181 cggatctctt ggttctggca tcgatgaaga acgcagcaaa atgcgataag taatgtgaat  
241 tgcagaattc agtgaatcat cgaatctttg aacgcacatt gcgcccgtg gtattccggc  
301 gggcatgccc gttcgagcgt catttcaacc ctcaagcccc cgggtttggt gttggggatc  
361 ggctctgccc ttctggggcg tgccgcccc gaaatacatt ggcggtctcg ctgcagcctc  
421 cattgctgag tagctaacac ctgcgaactg gaacggcgcg cggccatgcc gtaaaacccc  
481 aacttctgaa tgttgacctc ggatcaggta ggaatacccg ctgaacttaa gcatatcaat  
541 aagcggg





## ORIGIN

```

1 cccctgtgac ataccttaat gttgcctcgg cggatcagcc cgcgcccgt aaaacgggac
61 ggccccccag aggaccaaa ctctaagtgt tcttattgta acttctgagt aaaacaaca
121 aataaatcaa aactttcaac aacggatctc ttggttctgg catcgatgaa gaacgcagca
181 aaatgcgata agtaatgtga attgcagaat tcagtgaatc atcgaatctt tgaacgcaca
241 ttgcgcccgc tggattccg gcgggcatgc ctggttcgagc gtcatttcaa ccctcaagcc
301 cccgggtttg gtgttgggga tcggctctgc ccttctgggc ggtgccgccc ccgaaatata
361 ttggcggctc cgctgcagcc tccattgcgt agtagctaac acctcgcaac tggaacgcgg
421 cgcggccatg ccgtaaaacc ccaacttctg aatggtgacc tcgcatcag taggaatacc
481 cgctgaactt aagcatac

```

*Fusarium tricinctum* isolate F44SS3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX114781.1

FASTA GraphicsGo to:

```

LOCUS       JX114781                498 bp    DNA        linear    PLN 18-OCT-2012
DEFINITION  Fusarium tricinctum isolate F44SS3 18S ribosomal RNA gene, partial
            sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,
            and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   JX114781
VERSION     JX114781.1  GI:401871123
KEYWORDS    .
SOURCE      Fusarium tricinctum
ORGANISM    Fusarium tricinctum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae;
            mitosporic Nectriaceae; Fusarium ; Fusarium tricinctum species
            complex.
REFERENCE   1(bases 1 to 498)
AUTHORS    Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
TITLE      Fusarium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
            in North Western Algeria
JOURNAL     Unpublished
REFERENCE   2(bases 1 to 498)
AUTHORS    Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
TITLE      Direct Submission
JOURNAL     Submitted (28-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems
            and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara
            29000, Algeria
FEATURES             Location/Qualifiers
     source           1..498
                     /organism="Fusarium tricinctum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="F44SS3"
                     /isolation_source="stem of Aleppo pine seedling"
                     /db_xref="taxon:61284"
                     /country="Algeria"
                     /collection_date="26-Dec-2009"
                     /collected_by="F. Lazreg"
                     /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
                     tccgtagggtgaacctgcgg, rev_name: its4, rev_seq:
                     tcctccgcttattgatatgc"
     rRNA             <1..18
                     /product="18S ribosomal RNA"
     misc RNA         19..180
                     /product="internal transcribed spacer 1"
     rRNA             181..325
                     /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc RNA         326..494
                     /product="internal transcribed spacer 2"
     rRNA             495..>498

```

```

                                /product="28S ribosomal RNA"
ORIGIN
  1 cctgctggagg gatcattacc gagtttaca ctcccaaacc cctgtgaaca taccttaatg
  61 ttgcctcggc ggatcagccc gcgccctgta aaacgggacg gcccgcaga ggacccaac
 121 tctaattggtt cttattgtaa cttctgagta aaacaaacaa ataatcaaa actttcaaca
 181 acggatctct tggttctggc atcgatgaag aacgcagcaa aatgcgataa gtaatgtgaa
 241 ttgcagaatt cagtgaatca tcgaatcttt gaacgcacat tgcgcccgtt ggtattccgg
 301 cgggcatgcc tgttcgagcg tcatttcaac cctcaagccc cggggttgg tgttggggat
 361 cggtctgcc cttctgggcg gtgccgccc cgaatacat tggcggcttc gctgcagcct
 421 ccattgcgta gtagtaaca cctcgcaact ggaacgcggc gcggccatgc cgtaaaacc
 481 caacttctga atgttgac

```

*Fusarium tricinctum* isolate F39SS3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX114786.1

#### FASTA Graphics

#### Go to:

```

LOCUS       JX114786 508 bp DNA linear PLN 18-OCT-2012
DEFINITION  Fusarium tricinctum isolate F39SS3 internal transcribed spacer 1,
              partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
              spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial
              sequence.
ACCESSION   JX114786
VERSION     JX114786.1  GI:401871128
KEYWORDS    .
SOURCE      Fusarium tricinctum
ORGANISM    Fusarium tricinctum
              Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
              Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae;
              mitosporic Nectriaceae; Fusarium ; Fusarium tricinctum species
              complex.
REFERENCE   1 (bases 1 to 508)
AUTHORS    Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
TITLE      Fusarium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
              in North Western Algeria
JOURNAL     Unpublished
REFERENCE   2 (bases 1 to 508)
AUTHORS    Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
TITLE      Direct Submission
JOURNAL     Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems
              and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara
              29000, Algeria
FEATURES             Location/Qualifiers
     source           1..508
                     /organism="Fusarium tricinctum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="F39SS3"
                     /isolation_source="crown of Aleppo pine seedling"
                     /db_xref="taxon:61284"
                     /country="Algeria"
                     /collection_date="20-Mar-2009"
                     /collected_by="F. Lazreg"
                     /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
                     tccgtagtgaaacctgcgg, rev_name: its4, rev_seq:
                     tctccgcttattgatatgc"
     misc RNA       <1..150
                     /product="internal transcribed spacer 1"
     rRNA           151..295
                     /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc RNA       296..462
                     /product="internal transcribed spacer 2"
     rRNA           463..>508
                     /product="28S ribosomal RNA"

```



ORIGIN  
 1 ccctgtgaca tacctatacg ttgcctcggc ggatcagccc ggcgcccgta aaaagggacg  
 61 gcccgcccga ggaccctaa actctgtttt tagtggaact tctgagtaaa acaaacaat  
 121 aatcaaaac ttcaacaac ggatctcttg gttctggcat cgatgaagaa cgcagcaaaa  
 181 tgcgataagt aatgtgaatt gcagaattca gtgaatcadc gaatctttga acgcacattg  
 241 cgcccgcag tattctggcg ggcatgcctg ttcgagcgtc attcaacctc tcaagctcag  
 301 cttggtgttg ggactcgcgg taaccgcggt tccccaaatc gattggcggg cacgctcagc  
 361 ttccatagcg tagtaatcat acacctcgtt actggtaatc gtcgcgcca cgcgtaaaa  
 421 cccaacttc tgaatgttga cctcggatca ggtaggaata cccgctgaac ttaagcata

*Fusarium chlamyosporum* isolate F4RS1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX114789.1

#### FASTA Graphics

LOCUS JX114789 467 bp DNA linear PLN 07-NOV-2013  
 DEFINITION *Fusarium chlamyosporum* isolate F4RS1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.  
 ACCESSION JX114789  
 VERSION JX114789.1 GI:401871131  
 KEYWORDS.  
 SOURCE *Fusarium chlamyosporum*  
 ORGANISM *Fusarium chlamyosporum*  
 Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; mitosporic Nectriaceae; *Fusarium* ; *Fusarium chlamyosporum* species complex.  
 REFERENCE 1 (bases 1 to 467)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E., Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.  
 TITLE First Report of *Fusarium chlamyosporum* Causing Damping-Off Disease on Aleppo Pine in Algeria  
 JOURNAL Plant Dis. 97 (11), 1506 (2013)  
 REFERENCE 2 (bases 1 to 467)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara 29000, Algeria  
 FEATURES Location/Qualifiers  
 source 1..467  
 /organism="*Fusarium chlamyosporum*"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /isolate="F4RS1"  
 /isolation\_source="root of Aleppo pine seedlings"  
 /db\_xref="taxon:86545"  
 /country="Algeria"  
 /collection\_date="09-Mar-2009"  
 /collected\_by="F. Lazreg"  
 /PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgcgg, rev\_name: its4, rev\_seq: tcctccgcttattgatatgc"  
 rRNA <1..17  
 /product="18S ribosomal RNA"  
 misc RNA 18..176  
 /product="internal transcribed spacer 1"  
 rRNA 177..321  
 /product="5.8S ribosomal RNA"  
 misc RNA 322..>467  
 /product="internal transcribed spacer 2"

## ORIGIN

```

1 ctgcggaggg atcattaccg agtttacaac tcccaaacc cgtggaacat acctatacgt
61 tgcctcggcg gatcagcccg cgcctgttaa aaagggacgg cccgcccag gaccctaaac
121 tctgttttta gtggaacttc tgagtaaaac aaacaaataa atcaaaactt tcaacaacgg
181 atctcttggg tctggcatcg atgaagaacg cagcaaaatg cgataagtaa tgtgaattgc
241 agaattcagt gaatcatcga atctttgaac gcacattgcg cccgccagta ttctggcggg
301 catgctgttt cgagcgtcat ttcaaccctc aagctcagct tgggtgttggg actcgcggta
361 acccgcgttc cccaaatcga ttggcgggtca cgctcgagctt ccatagcgta gtaatcatac
421 acctcgttac tggtaatcgt cgcggccacg ccgtaaacc ccttctt

```

*Fusarium oxysporum* isolate F16RS3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX114787.1

## FASTA Graphics

## Go to:

```

LOCUS       JX114787 539 bp DNA linear PLN 18-OCT-2012
DEFINITION Fusarium oxysporum isolate F16RS3 18S ribosomal RNA gene, partial
            sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,
            and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   JX114787
VERSION     JX114787.1 GI:401871129
KEYWORDS    .
SOURCE      Fusarium oxysporum
  ORGANISM  Fusarium oxysporum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae;
            mitosporic Nectriaceae; Fusarium ; Fusarium oxysporum species
            complex.
REFERENCE   1 (bases 1 to 539)
  AUTHORS   Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
  TITLE     Fusarium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
            in North Western Algeria
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2 (bases 1 to 539)
  AUTHORS   Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems
            and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara
            29000, Algeria
FEATURES    Location/Qualifiers
  source     1..539
             /organism="Fusarium oxysporum"
             /mol_type="genomic DNA"
             /isolate="F16RS3"
             /isolation_source="root of Aleppo pine seedlings"
             /db_xref="taxon:5507"
             /country="Algeria"
             /collection_date="09-Mar-2009"
             /collected_by="F. Lazreg"
             /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
             tccgtaggtgaacctgcgg, rev_name: its4, rev_seq:
             tcctccgcttattgatatgc"
  rRNA      <1..15
             /product="18S ribosomal RNA"
  misc RNA  16..176
             /product="internal transcribed spacer 1"
  rRNA      177..321
             /product="5.8S ribosomal RNA"
  misc RNA  322..494
             /product="internal transcribed spacer 2"
  rRNA      495..>539
             /product="28S ribosomal RNA"

```

## ORIGIN

```

1 gcgagggat cattaccgag ttatacaact catcaaccct gtgaacatac ctaaacggt
61 gcttcggcgg gaacagacgg cctgtaaca acgggccgcc cccgccagag gaccctaac
121 tctgttttta taatgttttt ctgagtaaac aagcaataa attaaaactt tcaacaacgg
181 atctcttggc tctggcatcg atgaagaacg cagcgaaatg cgataagtaa tgtgaattgc
241 agaattcagt gaatcatcga atctttgaac gcacattgcg cccgccagta ttctggcggg
301 catgcctggt cgagcgtcat tacaaccctc agggccccgg gcttggcggt ggggatcggc
361 agaagcccc tgtgggcaca cgccgtccct caaatacagt ggcggtccc cgcagcttc
421 cattgcgtag tagctaacac ctcgcaactg gagagcggcg cggccatgcc gtaaacacc
481 caacttctga atgttgacct cgaatcaggt aggaataccc gctgaactta agcatatca

```

*Fusarium oxysporum* isolate F3PRT internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX114794.1

FASTA GraphicsGo to:

LOCUS JX114794 409 bp DNA linear PLN 18-OCT-2012  
DEFINITION *Fusarium oxysporum* isolate F3PRT internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION JX114794  
VERSION JX114794.1 GI:401871136  
KEYWORDS.  
SOURCE *Fusarium oxysporum*  
ORGANISM *Fusarium oxysporum*  
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; mitosporic Nectriaceae; *Fusarium* ; *Fusarium oxysporum* species complex.  
REFERENCE 1(bases 1 to 409)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
TITLE *Fusarium* sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings in North Western Algeria  
JOURNAL Unpublished  
REFERENCE 2(bases 1 to 409)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara 29000, Algeria  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..409  
/organism="*Fusarium oxysporum*"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/isolate="F3PRT"  
/isolation\_source="root of Aleppo pine seedlings"  
/db\_xref="taxon:5507"  
/country="Algeria"  
/collection\_date="10-Feb-2009"  
/collected\_by="F. Lazreg"  
/PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgagg, rev\_name: its4, rev\_seq: tcctccgcttattgatatgc"  
misc RNA <1..135  
/product="internal transcribed spacer 1"  
rRNA 136..239  
/product="5.8S ribosomal RNA"  
misc RNA 240..381  
/product="internal transcribed spacer 2"  
rRNA 382..>409  
/product="28S ribosomal RNA"

## ORIGIN

```

1 gtgacataacc tttatgttgc ctgggcggat cagcccgcg cccgtaaaac gggacggccc
61 gccgcaggaa ccacaaaact ctgatttttag tgtaacttct gagtctaaaa aacaaataaa
121 tcaaaacttt caacaacgga tctcttggtt ctggcatcga tgaagaacgc agcaaatgc
181 gataagtaat gtgaattgca gaattcagtg aatcatcgaa tctttgaacg cacattgcgg
241 tttgggtgttt ggggatcggg ctgtactcca gcccgcccc gaaatctagt ggcggtctcg
301 ctgcagcctc cattgcgtag tagctaacac ccgaactgga acgcggcgcg gccaacctt
361 aaacccccaa cttctgaatg ttgacctcgg atcaggtagg aataccgc

```

*Fusarium solani* isolate F6RS3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX114792.1

FASTA Graphics

```

LOCUS       JX114792 547 bp DNA linear PLN 18-OCT-2012
DEFINITION  Fusarium solani isolate F6RS3 18S ribosomal RNA gene, partial
              sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,
              and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S
              ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   JX114792
VERSION     JX114792.1 GI:401871134
KEYWORDS    .
SOURCE      Fusarium solani

ORGANISM    Fusarium solani
              Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
              Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae;
              mitosporic Nectriaceae; Fusarium ; Fusarium solani species complex.

REFERENCE   1 (bases 1 to 547)
AUTHORS    Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
TITLE      Fusarium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
              in North Western Algeria
JOURNAL    Unpublished

REFERENCE   2 (bases 1 to 547)
AUTHORS    Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
TITLE      Direct Submission
JOURNAL    Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems
              and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara
              29000, Algeria

FEATURES             Location/Qualifiers
     source            1..547
                       /organism="Fusarium solani"
                       /mol_type="genomic DNA"
                       /isolate="F6RS3"
                       /isolation_source="root of Aleppo pine seedlings"
                       /db_xref="taxon:169388"
                       /country="Algeria"
                       /collection_date="22-Feb-2009"
                       /collected_by="F. Lazreg"
                       /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
tccgtaggtgaacctgcgg, rev_name: its4, rev_seq:
tctccgcttattgatatgc"

     rRNA              <1..18
                       /product="18S ribosomal RNA"

     misc_RNA          19..179
                       /product="internal transcribed spacer 1"

     rRNA              180..324
                       /product="5.8S ribosomal RNA"

     misc_RNA          325..497
                       /product="internal transcribed spacer 2"

     rRNA              498..>547
                       /product="28S ribosomal RNA"

```



## ORIGIN

```

1 cctgcgagg gatcattacc gagttataca actcatcaac cctgtgaaca tacctaaaac
61 gttgcttcgg cggaacaga cggccctgta acaacgggcc gccccgcca gaggaccct
121 aactctgtt ttataatggt tttctgagta acaagcaaa taaattaaaa ctttcaacaa
181 cggatctctt ggctctggca tcgatgaaga acgcagcgaa atgcgataag taatgtgaat
241 tgcagaattc agtgaatcat cgaatctttg aacgcacatt gcgcccgcca gtattctggc
301 gggcatgcct gttcgagcgt cattacaacc ctcaggcccc cgggcctggc gttggggatc
361 ggcagaagcc cctgtggggc acacgccgtc cctcaaatac agtggcggtc ccgccgcagc
421 ttccattgcy tagtagctaa cacctcgcaa ctggagagcg gcgcgccat gccgtaaac
481 acccaacttc tgaatgttga cctcgaatca gtaggaata cccgctgaac ttaagcatat
541 caataaa

```

*Fusarium solani* isolate F20ST internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX114796.1

FASTA GraphicsGo to:

```

LOCUS       JX114796 302 bp DNA linear PLN 18-OCT-2012
DEFINITION Fusarium solani isolate F20ST internal transcribed spacer 1,
partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and
internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION  JX114796
VERSION    JX114796.1  GI:401871138
KEYWORDS   .
SOURCE     Fusarium solani
  ORGANISM Fusarium solani
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae;
            mitosporic Nectriaceae; Fusarium ; Fusarium solani species complex.
REFERENCE  1 (bases 1 to 302)
  AUTHORS  Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
  TITLE    Fusarium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
  JOURNAL  Unpublished
REFERENCE  2(bases 1 to 302)
  AUTHORS  Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
  TITLE    Direct Submission
  JOURNAL  Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems
            and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara
            29000, Algeria
FEATURES   Location/Qualifiers
  source   1..302
            /organism="Fusarium solani"
            /mol_type="genomic DNA"
            /isolate="F20ST"
            /isolation_source="crown of Aleppo pine seedling"
            /db_xref="taxon:169388"
            /country="Algeria"
            /collection_date="26-Dec-2009"
            /collected_by="F. Lazreg"
            /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
            tccgtaggtgaacctgagg, rev_name: its4, rev_seq:
            tcctccgcttattgatatgc"
  misc RNA <1..148
            /product="internal transcribed spacer 1"
  rRNA     149..293
            /product="5.8S ribosomal RNA"
  misc RNA 294..>302
            /product="internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
1 ctcatcaacc ctgtgaacat acctaaacgt tgcttcggcg ggaacagacg gccccgtgaa
61 acgggcccgc cccgccagag gaccctaac tctgtttcta taatgtttct tctgagtaaa
121 acaagcaaat aaattaaaac tttaacaac ggatctcttg gctctggcat cgatgaagaa

```

```

181 cgcagcgaaa tgcgataagt aatgtgaatt gcagaattca gtgaatcatc gaatctttga
241 acgcacattg cgcccgccag tattctggcg ggcattgctg ttcgagcgtc attacaaccc
301 tc

```

*Fusarium solani* isolate F12RT internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX114793.1

#### FASTA Graphics

#### Go to:

```

LOCUS       JX114793 498 bp DNA linear PLN 18-OCT-2012
DEFINITION  Fusarium solani isolate F12RT internal transcribed spacer 1,
              partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
              spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial
              sequence.
ACCESSION   JX114793
VERSION     JX114793.1  GI:401871135
KEYWORDS    .
SOURCE      Fusarium solani
ORGANISM    Fusarium solani
              Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
              Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae;
              mitosporic Nectriaceae; Fusarium ; Fusarium solani species complex.
REFERENCE   1(bases 1 to 498)
AUTHORS     Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
TITLE       Fusarium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
              in North Western Algeria
JOURNAL      Unpublished
REFERENCE   2(bases 1 to 498)
AUTHORS     Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.
TITLE       Direct Submission
JOURNAL      Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems
              and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara
              29000, Algeria
FEATURES             Location/Qualifiers
     source            1..498
                       /organism="Fusarium solani"
                       /mol_type="genomic DNA"
                       /isolate="F12RT"
                       /isolation_source="root of Aleppo pine seedlings"
                       /db_xref="taxon:169388"
                       /country="Algeria"
                       /collection_date="10-Feb-2009"
                       /collected_by="F. Lazreg"
                       /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
                       tccgtaggtgaacctgcgg, rev_name: its4, rev_seq:
                       tcctccgcttattgatatgc"
     misc_RNA          <1..140
                       /product="internal transcribed spacer 1"
     rRNA              141..285
                       /product="5.8S ribosomal RNA"
     misc_RNA          286..458
                       /product="internal transcribed spacer 2"
     rRNA              459..>498
                       /product="28S ribosomal RNA"
ORIGIN
1  cctgtgaaca tacctataac gttgcctcgg cggaacaga cggccccgta acacgggccg
61  cccccgccag aggacccctt aactctgttt ctataatggt tcttctgagt aaacaagcaa
121 ataaattaaa actttcaaca acggatctct tggctctggc atcgatgaag aacgcagcga
181 aatgcgataa gtaatgtgaa ttgcagaatt cagtgaatca tcgaatcttt gaacgcacat
241 tgcgccccgc agtattctgg cgggcatgcc tgtgagagcg tcattacaac cctcaggccc
301 ccgggcctgg cgttggggat cggcgggaag ccctgcggg cacaacgccg tcccccaaat
361 acagtggcgg tcccgccgca gcttccattg cgtatagcta acacctcgca actggagagc
421 ggcgcgccca cgccgtaaaa caccacactt ctgaatggtg acctogaatc aggtaggaat

```

*Pythium glomeratum* isolate U16RS internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191937.1

### FASTA Graphics

#### Go to:

LOCUS JX191937 754 bp DNA linear PLN 09-SEP-2012  
 DEFINITION *Pythium glomeratum* isolate U16RS internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.  
 ACCESSION JX191937  
 VERSION JX191937.1 GI:402810519  
 KEYWORDS.  
 SOURCE *Pythium glomeratum*  
 ORGANISM *Pythium glomeratum*  
 Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae; Pythium.  
 REFERENCE 1(bases 1 to 754)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
 TITLE *Pythium* sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings in North Western Algeria  
 JOURNAL Unpublished  
 REFERENCE 2(bases 1 to 754)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (20-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000, Mascara 29000, Algeria  
 FEATURES Location/Qualifiers  
 source 1..754  
 /organism="Pythium glomeratum"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /isolate="U16RS"  
 /isolation\_source="Aleppo pine seedlings"  
 /db\_xref="taxon:228749"  
 /country="Algeria"  
 /collection\_date="22-Feb-2009"  
 /collected\_by="F. Lazreg"  
 /PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgcgg, rev\_name: its4, rev\_seq: tcctccgcttattgatatgc"  
 misc RNA <1..169  
 /product="internal transcribed spacer 1"  
 rRNA 170..328  
 /product="5.8S ribosomal RNA"  
 misc RNA 329..>754  
 /product="internal transcribed spacer 2"  
 ORIGIN  
 1 gtactgtgct tgtgctgggt ctgcgctttc ggacgcggac gcggtggagg ctgaacgaag  
 61 gttggctttc ttctgtgag agaccagctg atatattttt caaacccctt ttttacaaaa  
 121 tgactgatca atactgtgag aacgaaagt ctgtcttaa actagataac aactttcagc  
 181 agtggatgtc taggctcgca catcgatgaa gaacgctgcg aactgcgata cgtaatgcga  
 241 attgcaaat tcagtgagtc atcgaaattt tgaacgcata ttgcactttc gggttagacc  
 301 tggaagtatg tctgtatcag ggtccgtaca tcaaacttgc ctctctttt tctgtgtagt  
 361 caggattgga gacgtgcaaa tgtgaagtgt ctgcgcact tgcgtcttcg gacgacaagc  
 421 tgtcgagtcc ttttaaagcg acacgatctt tctattgitt ctgtgaagcg tattgctcga  
 481 acgcggggat tttcggatcg ctgcagctcg tcggcgactt cggtgagaac ataaaggagg  
 541 aaacctcaat tcgcggtatg ttcggcttcg gctcgacaat gttgcttatt gtgtgtgaa  
 601 atctgttttt cgcccttgag gtgtactgat ggttgtgtgc ttgacctggg agttggggtg  
 661 tagtagagcg ggggcacat gcatggttac cccttttatt aagagaaatg cctatttggg  
 721 aaagttgta ctttttgcc agcatcttgg ccct

*Pythium glomeratum* isolate U35RS internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191936.1

### FASTA Graphics

#### Go to:

LOCUS JX191936 764 bp DNA linear PLN 10-OCT-2012  
 DEFINITION *Pythium glomeratum* isolate U35RS internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.  
 ACCESSION JX191936  
 VERSION JX191936.1 GI:402810518  
 KEYWORDS.  
 SOURCE *Pythium glomeratum*  
 ORGANISM *Pythium glomeratum*  
 Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae; *Pythium*.  
 REFERENCE 1(bases 1 to 764)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
 TITLE *Pythium* sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings in North Western Algeria  
 JOURNAL Unpublished  
 REFERENCE 2(bases 1 to 764)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (20-JUN-2012) Research Laboratory on Biological Systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000, Mascara 29000, Algeria  
 FEATURES Location/Qualifiers  
 source 1..764  
 /organism="*Pythium glomeratum*"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /isolate="U35RS"  
 /isolation\_source="Aleppo pine seedlings"  
 /db\_xref="taxon:228749"  
 /country="Algeria"  
 /collection\_date="26-Dec-2009"  
 /collected\_by="F. Lazreg"  
 /PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgagg, rev\_name: its4, rev\_seq: tcctccgcttattgatatgc"  
 misc RNA <1..183  
 /product="internal transcribed spacer 1"  
 rRNA 184..341  
 /product="5.8S ribosomal RNA"  
 misc RNA 342..>764  
 /product="internal transcribed spacer 2"  
 ORIGIN  
 1 gatttggggc tttgggcagg gttctgagg tttcggaacg cgggacgagg gggcaggctg  
 61 aaccacagcg ttggttttct tcttgtgaga gacctactga tatatttttc aaacccttt  
 121 ttaccacaaat gaccgatcac tacgtggtgc agaacgtaaa gttcttgctt taaactatta  
 181 taacaacttt cagtgcaagg atgtttaggc tcgcacatcg atgaagaacg ctgccaatgc  
 241 catcgtaatg ccaattgcaa attcatggtg tcgtctcaat ttttgaatca tattgcctt  
 301 tcgggtgtag acccgcaag taggtctgtc tcagggtccg gctcaaaact tgccgctctt  
 361 ttttctggga ctccggtatg gaacgtgaca gatgtcgaag tggctcgcca ctgctgctt  
 421 cggacgacaa gctgtcgatc cttttaaag cgacactatc tttctatag acttcgctg  
 481 gaacttaatt gcatcgaagc ggggaatttt cgatcgctcg gcagtcacg gcgacttcgg  
 541 ggagaactta aaggaggaaa cctcaattct cggtatggtc ggcttcggct cgcacaagtt  
 601 gcttatggtg ggtggaatct gttttccgcc ttgaggggaa ctgatggtt tgtgctaac  
 661 ctgggcatgg gtgtgaaaaa accgggacc atgcatgggt tccccttta aaaagagag  
 721 acgtttattt gggaaaggtg cacttttggc aagcgacctt gccg

SOURCE *Pythium ultimum* var. *ultimum*  
 ORGANISM *Pythium ultimum* var. *ultimum*  
 Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae;  
 Pythium.

REFERENCE 1(bases 1 to 773)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E.,  
 Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.  
 TITLE First Report of Globisporangium ultimum Causing Pythium Damping-Off  
 on Aleppo Pine in Algeria, Africa, and the Mediterranean Region  
 JOURNAL Plant Dis. 97 (8), 1111 (2013)

REFERENCE 2(bases 1 to 773)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
 TITLE Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings  
 in North Western Algeria  
 JOURNAL Unpublished

REFERENCE 3(bases 1 to 773)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (20-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems  
 and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000,  
 Mascara 29000, Algeria

FEATURES Location/Qualifiers  
 source 1..773  
 /organism="Pythium ultimum var. ultimum"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /variety="ultimum"  
 /isolate="U17RT"  
 /isolation\_source="Aleppo pine seedlings"  
 /db\_xref="taxon:162153"  
 /country="Algeria"  
 /collection\_date="22-Feb-2009"  
 /collected\_by="F. Lazreg"  
 /PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq:  
 tccgtaggtgaacctgctgg, rev\_name: its4, rev\_seq:  
 tcctccgcttattgatatgc"  
 misc RNA <1..169  
 /product="internal transcribed spacer 1"  
 rRNA 170..328  
 /product="5.8S ribosomal RNA"  
 misc RNA 329..>773  
 /product="internal transcribed spacer 2"

ORIGIN  
 1 ctgagctggt gttttcattt ttggacactg gaacgggagt cagcaggacg aaggttggtc  
 61 tgttgaatg caagttatga tggactagct gatgaacttt tgtttttaa cccttaccta  
 121 aatactgatt tatactgtgg ggacgaaagt ccttgctttt actagataac aactttcagc  
 181 agtggatgtc taggctcgca catcgatgaa gaacgctgcg aactgcgata cgtaatgcga  
 241 attgcagaat tcagtgagtc atcgaaattt tgaacgcata ttgcactttc gggttatgcc  
 301 tggagtatg tctgtatcag tgtccgtaaa tcaaacttgc ctttctttt ctgtgtagtc  
 361 agggatggaa tgtgcagatg tgaagtgtct cgcatggttg cgttcgtttt ttcgatcgag  
 421 aatctgtcga gtccttttaa atggacacgg tcttttctat ggtttctatg aagtgtaatg  
 481 gttggaagc agtgattttc ggattgctgg cggcttttgg cgacttcggt atgaacgcat  
 541 ggagactagc tcaattcgtg gtatgttagg cttcggctcg acaatgttgc gtaattgtgt  
 601 gtggtctttg tttgtgcctt gaggtgtact agaggttgtc ggtttgaacc gtaagtgatt  
 661 gtttagtaga gcattttcac gatgtatgga gacgctgcat ttagttgcgt agagagattg  
 721 atttgggaaa ttttgtatca ttgtcaattg caagattgtg tatggtatct caa

on Aleppo Pine in Algeria, Africa, and the Mediterranean Region  
 JOURNAL Plant Dis. 97 (8), 1111 (2013)  
 REFERENCE 2(bases 1 to 773)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
 TITLE Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings  
 in North Western Algeria  
 JOURNAL Unpublished  
 REFERENCE 3(bases 1 to 773)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (20-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems  
 and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000,  
 Mascara 29000, Algeria  
 FEATURES Location/Qualifiers  
 source 1..773  
 /organism="Pythium ultimum var. ultimum"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /variety="ultimum"  
 /isolate="U7RT"  
 /isolation\_source="Aleppo pine seedlings"  
 /db\_xref="taxon:162153"  
 /country="Algeria"  
 /collection\_date="20-Mar-2009"  
 /collected\_by="F. Lazreg"  
 /PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq:  
 tccgtaggtgaacctgcgg, rev\_name: its4, rev\_seq:  
 tcctccgcttattgatatgc"  
 misc RNA <1..169  
 /product="internal transcribed spacer 1"  
 rRNA 170..328  
 /product="5.8S ribosomal RNA"  
 misc RNA 329..>773  
 /product="internal transcribed spacer 2"  
 ORIGIN  
 1 ctgagctggt gttttcattt ttggacactg gaacgggagt cagcaggacg aaggttggtc  
 61 tgttgtaatg caagttatga tggactagct gatgaacttt tgtttttaa cccttaccta  
 121 aatactgatt tatactgtgg ggacgaaagt ccttgctttt actagataac aactttcagc  
 181 agtggatgtc taggctcgca catcgatgaa gaacgctgcg aactgcgata cgtaatgcga  
 241 attgcagaat tcagtgaatc atcgaaatth tgaacgcata ttgcactttc gggttatgcc  
 301 tggaaagtatg tctgtatcag tgtccgtaaa tcaaacttgc ctttctttt ctgtgtagtc  
 361 agggatggaa tgtgcagatg tgaagtgtct cgcattggtt cgttcgtttt ttcgatcgag  
 421 aatctgtcga gtccttttaa atggacacgg tcttttctat ggtttctatg aagtgtaatg  
 481 gttggaaggc agtgattttc ggattgctgg cggcttttgg cgacttcggt atgaacgtat  
 541 ggagactagc tcaattcgtg gtatgttagg cttcggctcg acaatggtgc gtaattgtgt  
 601 gtgggtcttg tttgtgcctt gaggtgtact agaggttgct ggtttgaacc gtaagtgatt  
 661 gtttagtaga gcattttcac gatgtatgga gacgctgcat ttagtgcgt agagagattg  
 721 atttgggaaa ttttgatca ttgtcaattg caagattgtg tatggtatct caa

*Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U17RT internal transcribed spacer 1, partial  
 sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed  
 spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191935.1

[FASTA Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS JX191935 773 bp DNA linear PLN 29-JUL-2013  
 DEFINITION *Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U17RT internal transcribed  
 spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete  
 sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.  
 ACCESSION JX191935  
 VERSION JX191935.1 GI:402810517  
 KEYWORDS .

AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (20-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000, Mascara 29000, Algeria

FEATURES Location/Qualifiers  
 source 1..787  
 /organism="Pythium ultimum var.ultimum"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /variety="ultimum"  
 /isolate="U14CR"  
 /isolation\_source="Aleppo pine seedlings"  
 /db\_xref="taxon:162153"  
 /country="Algeria"  
 /collection\_date="20-Mar-2009"  
 /collected\_by="F. Lazreg"  
 /PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtagtgtaacctgctgg, rev\_name: its4, rev\_seq: tcctccgcttattgatatgc"  
 misc RNA <1..192  
 /product="internal transcribed spacer 1"  
 rRNA 193..351  
 /product="5.8S ribosomal RNA"  
 misc RNA 352..>787  
 /product="internal transcribed spacer 2"

ORIGIN  
 1 tgtaagcaag tctagcgctg tgactgagct ggtgttttca tttttggaca ctggaacggg  
 61 agtcagcagg acgaaggttg gtctgttgta atgcaagtta tgatggacta gctgatgaac  
 121 ttttgTTTT aaacccttac ctaaatactg atttatactg tggggacgaa agtccttgc  
 181 ttactagat aacaactttc agcagtgat gtctaggctc gcacatcgat gaagaacgct  
 241 gcgaactgcg atacgtaatg cgaattgcag aattcagtga gtcacgaaa ttttgaacgc  
 301 atattgcact ttccgggttat gcctggaagt atgtctgtat cagtgtccgt aaatcaaact  
 361 tgcctttctt tttctgtgta gtcagggatg gaatgtgcag atgtgaagtg tctcgcgatg  
 421 ttgcgttctt tttttcgatc gagaatctgt cgagtccttt taaatggaca cggctttttc  
 481 tatggtttct atgaagtga atggttggaa ggcagtgatt ttcggattgc tggcggcttt  
 541 tggcgacttc ggtatgaacg tatggagact agctcaattc gtggatgtt aggcttcggc  
 601 tcgacaatgt tgcgtaattg tgtgtgtct ttgtttgtgc cttgaggtgt actagaggtt  
 661 gtcggtttga accgtaagtg attgtttagt agagcatttt cacgatgtat ggagacgctg  
 721 catttagttg cgtagagaga ttgatttggg aaattttgta tcattgtcaa ttgcaagatt  
 781 gtgtatg

*Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U7RT internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191934.1

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS JX191934 773 bp DNA linear PLN 29-JUL-2013  
 DEFINITION *Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U7RT internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.  
 ACCESSION JX191934  
 VERSION JX191934.1 GI:402810516  
 KEYWORDS.  
 SOURCE *Pythium ultimum* var. *ultimum*  
 ORGANISM *Pythium ultimum* var. *ultimum*  
 Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae; *Pythium*.  
 REFERENCE 1(bases 1 to 773)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E., Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.  
 TITLE First Report of *Globisporangium ultimum* Causing *Pythium* Damping-Off

```

/mol_type="genomic DNA"
/variety="ultimum"
/isolate="U12RT"
/isolation_source="Aleppo pine seedlings"
/db_xref="taxon:162153"
/country="Algeria"
/collection_date="26-Dec-2009"
/collected_by="F. Lazreg"
/PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
tccgtaggtgaacctgcg, rev_name: its4, rev_seq:
tcctccgcttattgatatgc"
misc RNA <1..170
/product="internal transcribed spacer 1"
rRNA 171..329
/product="5.8S ribosomal RNA"
misc RNA 330..>783
/product="internal transcribed spacer 2"

ORIGIN
1  tggctgtttt  catttttggg  cactggaacg  ggcagtcact  caggacgaag  gttgggctcg
61  ttgtaatgca  aagttatgat  ggactagctg  atgaactttt  gtttttaaac  ccttacctaa
121  atacctgatt  tatactgggg  ggacgaaagt  ccttgctttt  tactagataa  caactttcag
181  cagtggatgt  ctaggctcgc  acatcgatga  agaacgctgc  gaactgcat  acgtaatgcg
241  aattgcagaa  ttcagtgagt  catcgaaatt  ttgaacgcat  attgcacttt  cgggttatgc
301  ctggaagtat  gtctgtatca  gtgtccgtaa  atcaaacttg  cctttctttt  tctggggaat
361  ccgggagggc  aatggggcaa  atgttaaatg  tctccccagg  gtgtgttttg  tttttcgatc
421  gagaatctgt  cgagtccttt  taaatggaca  cggctctttc  tattggtttc  tatgtagtgt
481  aacgtaatgg  aagactactc  aatttcgtgg  tatgtagcgc  gcttctggct  cgacaatggt
541  atgaacgtat  ggagactacc  tcaattcgtg  gtatgttaag  gcttcggctc  gaccaatggt
601  tgcgtaattg  tgggtggtcc  tttgttttgt  gccttgaagg  tgtactagag  ggttggtcgg
661  gtttgaacc  gtaagtggaa  ttggtttagt  aggagcattt  ttcccgatg  ataggggaag
721  acgtgcatt  tagttgcgta  gagagattga  tttgggaaat  tttgtatcat  tgtcaatagc
781  aag

```

*Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U14CR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191933.1

#### FASTA Graphics

Go to:

```

LOCUS      JX191933 787 bp DNA linear PLN 29-JUL-2013
DEFINITION Pythium ultimum var. ultimum isolate U14CR internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION  JX191933
VERSION    JX191933.1 GI:402810515
KEYWORDS.
SOURCE     Pythium ultimum var.ultimum
            ORGANISM Pythium ultimum var. ultimum
            Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae;
            Pythium.
REFERENCE  1(bases 1 to 787)
AUTHORS    Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E.,
            Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.
TITLE      First Report of Globisporangium ultimum Causing Pythium Damping-Off
            on Aleppo Pine in Algeria, Africa, and the Mediterranean Region
JOURNAL    Plant Dis. 97 (8), 1111 (2013)
REFERENCE  2(bases 1 to 787)
AUTHORS    Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE      Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
            in North Western Algeria
JOURNAL    Unpublished
REFERENCE  3(bases 1 to 787)

```



```

/organism="Pythium ultimum"
/mol_type="genomic DNA"
/isolate="U4CR"
/isolation_source="Aleppo pine seedlings"
/db_xref="taxon:65071"
/country="Algeria"
/collection_date="26-Dec-2009"
/collected_by="F. Lazreg"
/PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
tccgtaggtgaacctgctg, rev_name: its4, rev_seq:
tcctccgcttattgatatgc"
misc RNA <1..169
/product="internal transcribed spacer 1"
rRNA 170..327
/product="5.8S ribosomal RNA"
misc RNA 328..>751
/product="internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
1 ctgagctggt gttttcattt ttggacactg gaacgggagt cagcaggacg aaggttggtc
61 tgttgtaatg caagtatga tggactagct gatgaacttt tgtttttaa cctttacct
121 aatactgatt tatactgtgg ggacgaaagt ccttgctttt actagataac aactttcagc
181 agtggatgtc taggctcgca catcgatgaa gaacgctgcg aactgcgata cgtaatgcga
241 attgcagaat tcagtgaatc atcgaaattt tgaacgcata ttgcactttc gggttatgcc
301 tggaagtatg tctgtatcag tgtccgtaa tcaaacttgc ctttctttt ctgtgtagtc
361 agggatggaa tgtgcagatg tgaagtgtct cgcattggtg cgttcgtttt ttcgatcgag
421 aatctgtcga gtccttttaa atggacacgg tcttttctat ggtttctatg aagtgtaatg
481 gttggaagc agtgattttc ggattgctgg cggcttttgg cgacttcggt atgaacgtat
541 ggagactagc tcaattcgtg gtatgtagg cttcggctcg acaatgttgc gtaattgtgt
601 gtggtccttg tttgtgcctt gaggtgtact agaggttgtc ggtttgaacc gtaagtgtat
661 gtttagtaga gcattttcac gatgtatgga gacgctgcat ttagttgcgt agagagattg
721 atttgggaaa tttgtatca ttgtcaattg c

```

*Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U12RT internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191932.1

[FASTA Graphics](#)

[Go to:](#)

```

LOCUS       JX191932 783 bp DNA linear PLN 09-SEP-2012
DEFINITION Pythium ultimum var. ultimum isolate U12RT internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION  JX191932
VERSION    JX191932.1  GI:402810514
KEYWORDS.
SOURCE     Pythium ultimum var. ultimum
            ORGANISM Pythium ultimum var. ultimum
            Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae;
            Pythium.
REFERENCE  1(bases 1 to 783)
            AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
            TITLE   Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
            in North Western Algeria
            JOURNAL Unpublished
REFERENCE  2(bases 1 to 783)
            AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
            TITLE   Direct Submission
            JOURNAL Submitted (20-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems
            and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000,
            Mascara 29000, Algeria
FEATURES   Location/Qualifiers
            source          1..783
                               /organism="Pythium ultimum var. ultimum"

```

```

/country="Algeria"
/collection_date="20-Mar-2009"
/collected_by="F. Lazreg"
/PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
tccgtaggtgaacctgctgg, rev_name: its4, rev_seq:
tcctccgcttattgatatgc"
misc RNA <1..169
/product="internal transcribed spacer 1"
rRNA 170..328
/product="5.8S ribosomal RNA"
misc RNA 329..>769
/product="internal transcribed spacer 2"

```

## ORIGIN

```

1  tggctgtttt catttttggg cactggaacg ggcagtcact caggacgaag gttgggtctg
61  ttgtaatgca aagttatgat ggactagtga tgaacttttg tttttaaac cttacctaaa
121 tacctgattt atactggggg gacgaaagtc cttgcttttt actagataac aactttcagc
181 agtggatgtc taggctcgca catcgatgaa gaacgctgcg aactgcgata cgtaatgcga
241 attgcagaat tcagtgagtc atcgaaattt tgaacgcata ttgcactttc ggtttatgcc
301 tggaaagtatg tctgtatcag tgtccgtaaa tcaaacttgc ctttcttttt tggggaatcc
361 gggaggggcaa agggcaaagt taaatgtctc cccaggggtg gttttgtttt tcgatcgaga
421 atctgtcgag tccttttaaa tggacacggg cttttctatg gtttctagta tgaacgtatg
481 gagactactc aattcgtggt atgttaggct tcggctcgac aatggtatga acgtatggag
541 actacctcaa ttcgtggtat gttaaggctt cggctcgacc aatggttgcg taattgtggg
601 tggctcctttg ttttgtcctt tgaaggtgta ctagaggggt ggctcgggtt gaaccgtaa
661 gtggaattgg ttttagtagg gcatttttcc cggatgatat gggaagacgc tgcatttagt
721 tgcgtagaga gattgatttg gaaattttg tatcattgtc aatgcaaga

```

*Pythium ultimum* isolate U4CR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191931.1

FASTA GraphicsGo to:

```

LOCUS      JX191931 751 bp DNA linear PLN 29-JUL-2013
DEFINITION Pythium ultimum isolate U4CR internal transcribed spacer 1, partial
sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal
transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION JX191931
VERSION   JX191931.1 GI:402810513
KEYWORDS.
SOURCE    Pythium ultimum
ORGANISM  Pythium ultimum
           Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae;
           Pythium.
REFERENCE 1(bases 1 to 751)
AUTHORS   Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E.,
           Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.
TITLE     First Report of Globisporangium ultimum Causing Pythium Damping-Off
           on Aleppo Pine in Algeria, Africa, and the Mediterranean Region
JOURNAL   Plant Dis. 97 (8), 1111 (2013)
REFERENCE 2(bases 1 to 751)
AUTHORS   Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE     Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
           in North Western Algeria
JOURNAL   Unpublished
REFERENCE 3(bases 1 to 751)
AUTHORS   Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE     Direct Submission
JOURNAL   Submitted (20-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems
           and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000,
           Mascara 29000, Algeria
FEATURES  Location/Qualifiers
           source          1..751

```

```

/collected_by="F. Lazreg"
/PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
tccgtaggtgaacctgagg, rev_name: its4, rev_seq:
tcctccgcttattgatatgc"
misc RNA <1..169
/product="internal transcribed spacer 1"
rRNA 170..328
/product="5.8S ribosomal RNA"
misc RNA 329..>751
/product="internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
1 ctgagctggt gttttcattt ttggacactg gaacgggagt cagcaggacg aaggttggtc
61 tgttgtaaat caagttatga tggactagct gatgaacttt tgtttttaaa cccttaccta
121 aatactgatt tatactgtgg ggacgaaagt ccttgctttt actagataac aactttcagc
181 agtgggatgct taggctcgca catcgatgaa gaacgctgcg aactgcgata cgtaatgcga
241 attgcagaat tcagtgagtc atcgaattt tgaacgcata ttgcactttc gggttatgcc
301 tggaaagtat tctgtatcag tgtccgtaaa tcaaacttgc ctttctttt ctgtgtagtc
361 agggatggaa tgtgcagatg tgaagtgtct cgcattggtg cgttcgtttt ttcgatcgag
421 aatctgtcga gtccttttaa atggacacgg tcttttctat ggtttctatg aagtgtaatg
481 gttggaagcc agtgattttc ggattgctgg cggcttttgg cgacttcggt atgaacgcat
541 ggagactagc tcaattcgtg gtatgttagg cttcggctcg acaatgttgc gtaattgtgt
601 gtggtccttg tttgtgcctt gagggtgact agaggttgtc ggtttgaacc gtaagtgatt
661 gtttagtaga gcattttcac gatgtatgga gacgctgcat ttagttgcgt agagagattg
721 atttgggaaa ttttgatca ttgtcaattg c

```

*Pythium ultimum* var.*ultimum* isolate U2RR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191930.1

#### FASTA Graphics

#### Go to:

```

LOCUS       JX191930 769 bp DNA linear PLN 09-SEP-2012
DEFINITION Pythium ultimum var. ultimum isolate U2RR internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   JX191930
VERSION     JX191930.1  GI:402810512
KEYWORDS.
SOURCE      Pythium ultimum var. ultimum
            ORGANISM Pythium ultimum var. ultimum
            Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae;
            Pythium.
REFERENCE   1 (bases 1 to 769)
            AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
            TITLE   Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
            in North Western Algeria
            JOURNAL Unpublished
REFERENCE   2 (bases 1 to 769)
            AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
            TITLE   Direct Submission
            JOURNAL Submitted (19-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems
            and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000,
            Mascara 29000, Algeria
FEATURES             Location/Qualifiers
     source           1..769
                     /organism="Pythium ultimum var. ultimum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /variety="ultimum"
                     /isolate="U2RR"
                     /isolation_source="Aleppo pine seedlings"
                     /db_xref="taxon:162153"

```



```

misc RNA      /product="5.8S ribosomal RNA"
              329..>751
              /product="internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
1 ctgagctggg gttttcattt ttggacactg gaacgggagt cagcaggacg aaggttggtc
61 tgttgaatg caagttatga tggactagct gatgaacttt tgtttttaa ccocttaccta
121 aatactgatt tatactgtgg ggacgaaagt ccttgctttt actagataac aactttcagc
181 agtggatgtc taggctcgca catcgatgaa gaacgctgcg aactgcgata cgtaatgcga
241 attgcagaat tcagtgagtc atcgaattt tgaacgcata ttgcactttc gggttatgcc
301 tggaaagtatg tctgtatcag tgtccgtaaa tcaaacttgc ctttctttt ctgtgtagtc
361 agggatggaa tgtgcagatg tgaagtgtct cgcattggtg cgttcgtttt ttcgatcgag
421 aatctgtcga gtccttttaa atggacacgg tcttttctat ggtttctatg aagtgtaatg
481 gttggaaggc agtgattttc ggattgctgg cggcttttgg cgacttcggt atgaacgat
541 ggagactagc tcaattcgtg gtatgttagg ctccggctcg acaatggtgc gtaattgtgt
601 gtggctcttg tttgtgcctt gaggtgtact agaggttgct ggtttgaacc gtaagtgtt
661 gtttagtaga gcattttcac gatgtatgga gacgctgcat ttagtgcgt agagagattg
721 atttgggaaa tttgtatca ttgtcaattg c

```

*Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U5RT internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191928.1

#### FASTA Graphics

#### Go to:

```

LOCUS      JX191928 747bp DNA linear PLN 09-SEP-2012
DEFINITION Pythium ultimum var. ultimum isolate U5RT internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION  JX191928
VERSION    JX191928.1 GI:402810510
KEYWORDS.
SOURCE     Pythium ultimum var. ultimum
            ORGANISM Pythium ultimum var. ultimum
            Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae;
            Pythium.
REFERENCE  1(bases 1 to 747)
            AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
            TITLE   Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
            in North Western Algeria
            JOURNAL  Unpublished
REFERENCE  2(bases 1 to 747)
            AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
            TITLE   Direct Submission
            JOURNAL  Submitted (19-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems
            and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000,
            Mascara 29000, Algeria
FEATURES   Location/Qualifiers
            source      1..747
                       /organism="Pythium ultimum var. ultimum"
                       /mol_type="genomic DNA"
                       /variety="ultimum"
                       /isolate="U5RT"
                       /isolation_source="Aleppo pine seedlings"
                       /db_xref="taxon:162153"
                       /country="Algeria"
                       /collection_date="26-Dec-2009"
                       /collected_by="F. Lazreg"
                       /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
                       tccgtaggtgaacctgctgg, rev_name: its4, rev_seq:
                       tcctccgcttattgatatgc"
misc RNA   <1..175
            /product="internal transcribed spacer 1"
rRNA       176..335

```

```

241 cagaattcag tgagtcacgc aaattttgaa cgcataattgc actttcgggt tatgccttgg
301 aagtatgtct gtatcagtg ccgtaaatca aacttgcctt tctttttctg tgtagtcagg
361 gatggaatgt gcagatgtga agtgtctcgc atgggttgcgt tcgttttttc gatcgagaat
421 ctgtcagatc cttttaaatg gacacggctt tttctatggt ttctatgaag tgtaatgggt
481 ggaaggcagt gattttcggg ttgctggcgg cttttggcga cttcggtaat gaacgatggg
541 gagactagct caattcgtgg tatgttaagg cttcggctcg acaatgttgc gtaattgtgt
601 gttggctctt gtttgcct tgagggtgg actaaaagg tgcgggtt gaaaccgta
661 aagtattgt ttagtaaaag cattttcacc aatgttatgg agaccgctgc atttagttg
721 cgtcatagaa gatttgattt gggaaaattt gtatcattgt caattgcaag attgtgatg
781 gatctcaatt ggacctgata tcagac

```

*Pythium ultimum* isolate U1RT internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191927.1

#### FASTA Graphics

#### Go to:

```

LOCUS       JX191927 751 bp DNA linear PLN 29-JUL-2013
DEFINITION Pythium ultimum isolate U1RT internal transcribed spacer 1, partial
            sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal
            transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   JX191927
VERSION     JX191927.1  GI:402810509
KEYWORDS.
SOURCE      Pythium ultimum
ORGANISM    Pythium ultimum
            Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae;
            Pythium.
REFERENCE   1(bases 1 to 751)
AUTHORS     Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E.,
            Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.
TITLE       First Report of Globisporangium ultimum Causing Pythium Damping-Off
            on Aleppo Pine in Algeria, Africa, and the Mediterranean Region
JOURNAL     Plant Dis. 97 (8), 1111 (2013)
REFERENCE   2(bases 1 to 751)
AUTHORS     Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE       Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
            in North Western Algeria
JOURNAL     Unpublished
REFERENCE   3(bases 1 to 751)
AUTHORS     Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE       Direct Submission
JOURNAL     Submitted (19-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems
            and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000,
            Mascara 29000, Algeria
FEATURES    Location/Qualifiers
            source          1..751
                        /organism="Pythium ultimum"
                        /mol_type="genomic DNA"
                        /isolate="U1RT"
                        /isolation_source="Aleppo pine seedlings"
                        /db_xref="taxon:65071"
                        /country="Algeria"
                        /collection_date="26-Dec-2009"
                        /collected_by="F. Lazreg"
                        /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
                        tccgtaggtgaacctgcgg, rev_name: its4, rev_seq:
                        tcctccgcttattgatatgc"
            misc_RNA        <1..169
                        /product="internal transcribed spacer 1"
            rRNA            170..328

```

```

241 tgcgaactgc gatcacgtaat gcgaattgca gaattcagtg agtcatcgaa attttgaacg
301 catattgcac tttcgggta tgcctggaag tatgtctgta tcagtgtccg taaatcaaac
361 ttgcctttct tttttcgggg aatccttttt cgatcgagaa tctgtcgagt ccttttaaat
421 ggacacggtc ttttctatgg tttctatgaa gtgtaatggt tggaaaggcag tgattttcgg
481 atcgctggcg gcttttggcg aacttcggta tgaacgtatg gagactacct caattcgtgg
541 tatgttaggc ttcggctcga caatgttgcg taaatgtgtg tggcttttgt ttgtgccttg
601 aggtgtacta gaggntggtc ggtttgaacc gtaagtatt gtttagtaaa accatttcac
661 gatgtatgga gacgctgcat ttagtgcgt agagagattg atttgggaaa ttttgcattc
721 tgtcaa

```

*Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U6CR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191926.1

#### FASTA Graphics

#### Go to:

```

LOCUS       JX191926 806 bp DNA linear PLN 09-SEP-2012
DEFINITION  Pythium ultimum var. ultimum isolate U6CR internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   JX191926
VERSION     JX191926.1  GI:402810508
KEYWORDS    .
SOURCE      Pythium ultimum var. ultimum
ORGANISM    Pythium ultimum var. ultimum
            Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae;
            Pythium.
REFERENCE   1(bases 1 to 806)
AUTHORS     Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE       Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
            in North Western Algeria
JOURNAL     Unpublished
REFERENCE   2(bases 1 to 806)
AUTHORS     Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE       Direct Submission
JOURNAL     Submitted (19-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems
            and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000,
            Mascara 29000, Algeria
FEATURES    Location/Qualifiers
            source                1..806
                                   /organism="Pythium ultimum var. ultimum"
                                   /mol_type="genomic DNA"
                                   /variety="ultimum"
                                   /isolate="U6CR"
                                   /isolation_source="Aleppo pine seedlings"
                                   /db_xref="taxon:162153"
                                   /country="Algeria"
                                   /collection_date="26-Dec-2009"
                                   /collected_by="F. Lazreg"
                                   /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
                                   tccgtaggtgaacctgcgg, rev_name: its4, rev_seq:
                                   tcctccgcttattgatatgc"
            misc_RNA              <1..165
                                   /product="internal transcribed spacer 1"
            rRNA                   166..325
                                   /product="5.8S ribosomal RNA"
            misc_RNA              326..>806
                                   /product="internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
1  gctgggtggtt tcatttttgg aactggaac gggagtcagc aggacgaagg ttggtctggt
61 gtaatgcaag ttataatgga ctagctgatg aactttgggt tttaaaccct tacctaaata
121 ctgaattttt ctgtggggac gaaagtcctt gcttttacta gataacaact ttcagcagtg
181 gatgtctagg ctgcacatc gatgaagaac gctgcgaact gcgataccta atgcgaattg

```

```

181 tcagtgagtc atcggaatt ttgaacgcat attgcacttc gggttatgcc tggaaagtatg
241 tctgtatcag tgtccgtaaa tcaaacttgc ctttcttttt ctgtgtagtc agggatggaa
301 tgtgcagatg tgaagtgtct tcgcatgggt gcggttcggtt tttcgatcga gaatctgtcg
361 agtcctttta aatggacacg gtcttttcta tggtttctat gaagtgtaat ggttgggaag
421 cagtgatttt cggattgctg gcggcttttg gcgacttcgg tatgaacgta tggagactag
481 ctcaattcgt ggtatgtag gcttcggctc gacaatggtg cgtaattgtg tgtggtcttt
541 gtttgtgcct tgaggtgtac tagaggttgt cggtttgaac cgtaagtgat tgttagtag
601 agcattttca cgatgtatgg agacgctgca tttagttgct tagagagatt gatttgggaa
661 atttgtatc attgtcaaca gga

```

*Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U8CR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191925.1

#### FASTA Graphics

Go to:

LOCUS JX191925 726 bp DNA linear PLN 09-SEP-2012  
DEFINITION *Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U8CR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.  
ACCESSION JX191925  
VERSION JX191925.1 GI:402810507  
KEYWORDS.  
SOURCE *Pythium ultimum* var. *ultimum*  
ORGANISM *Pythium ultimum* var. *ultimum*  
Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae; *Pythium*.  
REFERENCE 1(bases 1 to 726)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
TITLE *Pythium* sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings in North Western Algeria  
JOURNAL Unpublished  
REFERENCE 2(bases 1 to 726)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (19-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000, Mascara 29000, Algeria  
FEATURES  
source Location/Qualifiers  
1..726  
/organism="*Pythium ultimum* var. *ultimum*"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/variety="ultimum"  
/isolate="U8CR"  
/isolation\_source="Aleppo pine seedlings"  
/db\_xref="taxon:162153"  
/country="Algeria"  
/collection\_date="20-Mar-2009"  
/collected\_by="F. Lazreg"  
/PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgctg, rev\_name: its4, rev\_seq: tcctccgcttattgatatgc"  
misc RNA <1..193  
/product="internal transcribed spacer 1"  
rRNA 194..352  
/product="5.8S ribosomal RNA"  
misc RNA 353..>726  
/product="internal transcribed spacer 2"  
ORIGIN  
1 ctgtaagcaa gtctagcgt gtcactgagc tgggtgtttc atttttggac actggaacgg  
61 gagtcagcag gacgaaggtt ggtctcttgt aatgcaagtt atgagggact agctgatgaa  
121 cttttgtttt taaaccctta cctaatact gatttatact gtggggacga aagtccttgc  
181 ttttactaga taacaacttt cagcagtgga tgtctaggct cgcacatcga tgaagaacgg



```

181 taacaacttt cagtgcaggg atgtttaggc tcgcacatcg atgaagaacg ctgccaatgc
241 catcgtaatg ccaattgcaa attcatgggt tcgtctcaat ttttgaatca tattgccctt
301 tcgggtgtag acccggcaag taggtctgtc tcagggtccg gcctcaaaact tgccgctctt
361 ttttctggga ctccggtatg gaacgtgaca gatgtcgaag tggctcgcca cttgctctt
421 cggacgacaa gctgtcgatc cttttaaag cgacactatc tttctatatg acttcgctg
481 gaacttaatt gcatcgaagc ggggaatttt cgatcgctcg gcagtcacg gcgacttcg
541 ggagaactta aaggaggaaa cctcaattct cggtagttc ggcttcggct cgcacaagt
601 gcttatgggt ggtggaatct gttttccgcc ttgaggggaa ctgatggttg tgtgctaac
661 ctgggcatgg gtgtgaaaa accgggcacc atgcatgggt tccccttta aaaagagag
721 acgtttattt gggaaagggt cacttttggc aagcgacct gccg

```

*Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U6RR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191924.1

#### FASTA Graphics

##### Go to:

LOCUS JX191924 683 bp DNA linear PLN 09-SEP-2012  
DEFINITION *Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U6RR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.  
ACCESSION JX191924  
VERSION JX191924.1 GI:402810506  
KEYWORDS.  
SOURCE *Pythium ultimum* var. *ultimum*  
ORGANISM *Pythium ultimum* var. *ultimum*  
Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae; *Pythium*.  
REFERENCE 1(bases 1 to 683)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
TITLE *Pythium* sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings in North Western Algeria  
JOURNAL Unpublished  
REFERENCE 2(bases 1 to 683)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (19-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000, Mascara 29000, Algeria  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..683  
/organism="Pythium ultimum var. ultimum"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/variety="ultimum"  
/isolate="U6RR"  
/isolation\_source="Aleppo pine seedlings"  
/db\_xref="taxon:162153"  
/country="Algeria"  
/collection\_date="20-Mar-2009"  
/collected\_by="F. Lazreg"  
/PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtagtgaacctgcgg, rev\_name: its4, rev\_seq: tcctccgcttattgatatgc"  
misc RNA <1..94  
/product="internal transcribed spacer 1"  
rRNA 95..258  
/product="5.8S ribosomal RNA"  
misc RNA 259..>683  
/product="internal transcribed spacer 2"  
ORIGIN  
1 aggccgatgg aaaccttttt ttttttaaac ccttaacctt aaatactgga atttataccg  
61 gggggggcga aagtcctttg cttttactag ataaacaact ttccagcagt gggatgtcta  
121 aggctcgcac atcggatgaa gaacgctgcg aactgcgata cgtaatgcga attgcagaat

```

301 atattgcaact ttcgggttat gcctggaagt atgtctgtat cagtgtccgt aatcaaact
361 tgcctttctt tttctgtgta gtcagggatg gaatgtgcag atgtgaagtg tctcgcatgg
421 ttgcgttcgt tttttcgatc gagaatctgt cgagtccttt taaatggaca cggctctttc
481 tatggtttct atgaagtgta atggttgaa ggcagtgatt ttcggattgc tggcggttt
541 tggcgacttc ggtatgaacg tatggagact agctcaattc gtggtatgtt aggcttcggc
601 tgcacaatgt tgcgtaattg tgtgtggtct ttgtttgtgc cttgaggtgt actagaggtt
661 gtcggtttga accgtaagtg attgtttagt agagcatttt cacgatgtat ggagacgctg
721 catttagttg cgtagagaga ttgatttggg aaattttgta tcattgtcaa ttgcaagatt
781 gtgtatg

```

*Pythium heterothallicum* isolate U15RS internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191923.1

#### FASTA Graphics

#### Go to:

```

LOCUS          JX191923 764 bp DNA linear PLN 09-SEP-2012
DEFINITION     Pythium heterothallicum isolate U15RS internal transcribed spacer
                1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence;
                and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION      JX191923
VERSION        JX191923.1  GI:402810505
KEYWORDS.
SOURCE         Pythium heterothallicum
ORGANISM       Pythium heterothallicum
                Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae;
                Pythium.
REFERENCE      1(bases 1 to 764)
AUTHORS        Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE          Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
                in North Western Algeria
JOURNAL        Unpublished
REFERENCE      2(bases 1 to 764)
AUTHORS        Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE          Direct Submission
JOURNAL        Submitted (19-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems
                and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000,
                Mascara 29000, Algeria
FEATURES       Location/Qualifiers
                source                1..764
                                        /organism="Pythium heterothallicum"
                                        /mol_type="genomic DNA"
                                        /isolate="U15RS"
                                        /isolation_source="Aleppo pine seedlings"
                                        /db_xref="taxon:115416"
                                        /country="Algeria"
                                        /collection_date="10-Feb-2009"
                                        /collected_by="F. Lazreg"
                                        /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
                                        tccgtaggtgaacctgcgg, rev_name: its4, rev_seq:
                                        tcctccgcttattgatatgc"
                misc RNA            <1..183
                                        /product="internal transcribed spacer 1"
                rRNA                184..341
                                        /product="5.8S ribosomal RNA"
                misc RNA            342..>764
                                        /product="internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
                1  gatttggggc tttgggcagg gttctgcggt tttcggaacg cggacgcgg gggcaggctg
                61  aaccacagcg ttggttttct tcttgtgaga gacctactga tatatttttc aaacccttt
                121  ttaccacaaat gaccgatcac tacgtgttgc agaacgtaaa gttcttgctt taaactatta

```

```

601 tcgacaatgt tgcgtaattg tgtgtggtct ttgtttgtgc cttgaggtgt actagaggtt
661 gtcggtttga accgtaagtg attgtttagt agagcatttt cacgatgtat ggagacgctg
721 catttagttg cgtagagaga ttgatttggg aaattttgta tcattgtcaa ttgcaagatt
781 gtgtatg

```

*Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U7CR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191922.1

#### FASTA Graphics

```

LOCUS          JX191922          787 bp    DNA     linear   PLN 29-JUL-2013
DEFINITION    Pythium ultimum var. ultimum isolate U7CR internal transcribed
              spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
              sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION     JX191922
VERSION       JX191922.1  GI:402810504
KEYWORDS.
SOURCE        Pythium ultimum var. ultimum
ORGANISM      Pythium ultimum var. ultimum
              Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae;
              Pythium.
REFERENCE     1(bases 1 to 787)
AUTHORS       Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E.,
              Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.
TITLE        First Report of Globisporangium ultimum Causing Pythium Damping-Off
              on Aleppo Pine in Algeria, Africa, and the Mediterranean Region
JOURNAL       Plant Dis. 97 (8), 1111 (2013)
REFERENCE     2(bases 1 to 787)
AUTHORS       Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE        Pythium sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings
              in North Western Algeria
JOURNAL       Unpublished
REFERENCE     3(bases 1 to 787)
AUTHORS       Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.
TITLE        Direct Submission
JOURNAL       Submitted (19-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems
              and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000,
              Mascara 29000, Algeria
FEATURES
  source       Location/Qualifiers
               1..787
               /organism="Pythium ultimum var. ultimum"
               /mol_type="genomic DNA"
               /variety="ultimum"
               /isolate="U7CR"
               /isolation_source="Aleppo pine seedlings"
               /db_xref="taxon:162153"
               /country="Algeria"
               /collection_date="26-Dec-2009"
               /collected_by="F. Lazreg"
               /PCR_primers="fwd_name: its1, fwd_seq:
               tccgtagtggaacctgcgg, rev_name: its4, rev_seq:
               tcctccgcttattgatatg"
  misc RNA   <1..192
               /product="internal transcribed spacer 1"
  rRNA       193..351
               /product="5.8S ribosomal RNA"
  misc RNA   352..>787
               /product="internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
1  tgtaagcaag tctagcgctg tgactgagct ggtgttttca tttttggaca ctggaacggg
61  agtcagcagg acgaaggttg gtctgtttga atgcaagtta tgatggacta gctgatgaac
121 ttttgttttt aaacccttac ctaaatactg atttatactg tggggacgaa agtccttgct
181 ttactagat aacaactttc agcagtggat gtctaggctc gcacatcgat gaagaacgct
241 gcgaactgcg atacgtaatg cgaattgcag aattcagtga gtcacgaaa ttttgaacgc

```

*Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U3CR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: JX191921.1

FASTA Graphics

LOCUS JX191921 787 bp DNA linear PLN 29-JUL-2013  
DEFINITION *Pythium ultimum* var. *ultimum* isolate U3CR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.  
ACCESSION JX191921  
VERSION JX191921.1 GI:402810503  
KEYWORDS .  
SOURCE *Pythium ultimum* var. *ultimum*  
ORGANISM *Pythium ultimum* var. *ultimum*  
Eukaryota; Stramenopiles; Oomycetes; Pythiales; Pythiaceae; Pythium.  
REFERENCE 1 (bases 1 to 787)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E., Garrido-Cardenas,J.A. and Elhaitoum,A.  
TITLE First Report of *Globisporangium ultimum* Causing Pythium Damping-Off on Aleppo Pine in Algeria, Africa, and the Mediterranean Region  
JOURNAL Plant Dis. 97 (8), 1111 (2013)  
REFERENCE 2 (bases 1 to 787)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
TITLE *Pythium* sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings in North Western Algeria  
JOURNAL Unpublished  
REFERENCE 3(bases 1 to 787)  
AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J. and Gallego,E.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (19-JUN-2012) Research Laboratory on biological systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, 29 000, Mascara 29000, Algeria  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..787  
/organism="Pythium ultimum var. ultimum"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/variety="ultimum"  
/isolate="U3CR"  
/isolation\_source="Aleppo pine seedlings"  
/db\_xref="taxon:162153"  
/country="Algeria"  
/collection\_date="26-Dec-2009"  
/collected\_by="F. Lazreg"  
/PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgctg, rev\_name: its4, rev\_seq: tctccgcttattgatatgc"  
misc RNA <1..192  
/product="internal transcribed spacer 1"  
rRNA 193..351  
/product="5.8S ribosomal RNA"  
misc RNA 352..>787  
/product="internal transcribed spacer 2"  
ORIGIN  
1 tgtaagcaag tctagcgtg tgactgagct ggtgttttca tttttggaca ctggaacggg  
61 agtcagcagg acgaagggtg gctctgttga atgcaagtta tgatggacta gctgatgaac  
121 ttttgttttt aaacccttac ctaaatactg atttatactg tggggacgaa agtccttgct  
181 tttactagat aacaactttc agcagtggtat gtctaggctc gcacatcgat gaagaacgct  
241 gcgaactgcg atacgtaatg cgaattgcag aattcagtga gtcacgaaa ttttgaacgc  
301 atattgcact ttcgggttat gcctggaagt atgtctgtat cagtgtccgt aatcaaact  
361 tgcctttctt tttctgtgta gtcagggatg gaatgtgcag atgtgaagtg tctcgcatgg  
421 ttgcgctcgt tttttcgatc gagaatctgt cgagtccttt taaatggaca cggcttttc  
481 tatggtttct atgaagtga atggttgaa ggcagtgatt ttcggattgc tggcggcttt  
541 tggcgacttc ggtatgaacg tatggagact agctcaattc gtggtatggt aggcttcggc

*Fusarium equiseti* isolate F19RS1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX114791.1

#### FASTA Graphics

##### Go to:

LOCUS JX114791 505 bp DNA linear PLN 18-OCT-2012  
 DEFINITION *Fusarium equiseti* isolate F19RS1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence.  
 ACCESSION JX114791  
 VERSION JX114791.1 GI:401871133  
 KEYWORDS.  
 SOURCE *Fusarium equiseti*  
 ORGANISM *Fusarium equiseti*  
 Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; mitosporic Nectriaceae; *Fusarium* ; *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex.  
 REFERENCE 1(bases 1 to 505)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
 TITLE *Fusarium* sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings in North Western Algeria  
 JOURNAL Unpublished  
 REFERENCE 2(bases 1 to 505)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara 29000, Algeria  
 FEATURES  
     source Location/Qualifiers  
         1..505  
             /organism="Fusarium equiseti"  
             /mol\_type="genomic DNA"  
             /isolate="F19RS1"  
             /isolation\_source="root of Aleppo pine seedlings"  
             /db\_xref="taxon:61235"  
             /country="Algeria"  
             /collection\_date="22-Feb-2009"  
             /collected\_by="F. Lazreg"  
             /PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgacg, rev\_name: its4, rev\_seq: tcctccgcttattgatatgc"  
     rRNA <1..5  
         /product="18S ribosomal RNA"  
     misc RNA 6..165  
         /product="internal transcribed spacer 1"  
     rRNA 166..310  
         /product="5.8S ribosomal RNA"  
     misc RNA 311..464  
         /product="internal transcribed spacer 2"  
     rRNA 465..>505  
         /product="28S ribosomal RNA"  
 ORIGIN  
     1 cattaccgag tttacaactc ccaaaccctt gtgaacatac ctatacgttg cctcggcgga  
     61 tcagcccgcg ccccgtaaaa agggacggcc cgcccaggga cccctaaact ctgttttag  
     121 tggaaattct gagtaaaaca aacaaataaa tcaaaacttt caacaacgga tctcttggt  
     181 ctggcatcga tgaagaacgc agcaaatgca gataagtaat gtgaattgca gaattcagtg  
     241 aatcatcgaa tctttgaacg cacattgccc ccgccagtat tctggcgggc atgcctgttc  
     301 gagcgctcatt tcaaccctca agctcagctt ggtggtggga ctgcgggtaa cccgcgttc  
     361 ccaaactgat tggcggtcac gtcgagcttc catagcgtag taatcataca cctcgttact  
     421 ggtaactgtc gggccaacgc cgtaaaacc caactctga atggtgacct cggatcaggt  
     481 aggaataccc gctgaactta agcat

481 acccgctgaa cttaagca

*Fusarium equiseti* isolate F3RS1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: JX114784.1

#### FASTA Graphics

##### Go to:

LOCUS JX114784 488 bp DNA linear PLN 18-OCT-2012  
 DEFINITION *Fusarium equiseti* isolate F3RS1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence.  
 ACCESSION JX114784  
 VERSION JX114784.1 GI:401871126  
 KEYWORDS.  
 SOURCE *Fusarium equiseti*  
 ORGANISM *Fusarium equiseti*  
 Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae; mitosporic Nectriaceae; *Fusarium*; *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex.  
 REFERENCE 1 (bases 1 to 488)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
 TITLE *Fusarium* sp. causing damping off diseases on Aleppo pine seedlings in North Western Algeria  
 JOURNAL Unpublished  
 REFERENCE 2 (bases 1 to 488)  
 AUTHORS Lazreg,F., Belabid,L., Sanchez,J., Gallego,E. and Elhaitoum,A.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (30-MAY-2012) Research Laboratory on Biological Systems and Geomatics, Agronomique Science, University of Mascara, Mascara 29000, Algeria  
 FEATURES Location/Qualifiers  
 source 1..488  
 /organism="Fusarium equiseti"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /isolate="F3RS1"  
 /isolation\_source="root of Aleppo pine seedlings"  
 /db\_xref="taxon:61235"  
 /country="Algeria"  
 /collection\_date="20-Mar-2009"  
 /collected\_by="F. Lazreg"  
 /PCR\_primers="fwd\_name: its1, fwd\_seq: tccgtaggtgaacctgctg, rev\_name: its4, rev\_seq: tctccgcttattgatatgc"  
 misc RNA <1..131  
 /product="internal transcribed spacer 1"  
 rRNA 132..276  
 /product="5.8S ribosomal RNA"  
 misc RNA 277..430  
 /product="internal transcribed spacer 2"  
 rRNA 431..>488  
 /product="28S ribosomal RNA"  
 ORIGIN  
 1 acatacctat acgttgccctc ggcggatcag cccgcgcccc gtaaaaaggg acggcccgcc  
 61 cgaggacccc taaactctgt ttttagtgga acttctgagt aaaacaaaca aataaatcaa  
 121 aactttcaac aacggatctc ttggttctgg catcgatgaa gaacgcagca aaatgcgata  
 181 agtaatgtga attgcagaat tcagtgaatc atcgaatctt tgaacgcaca ttgcccgcgc  
 241 cagtattctg gcgggcatgc ctgttcgagc gtcatttcaa ccctcaagct cagcttggtg  
 301 ttgggactcg cggtaacccg cgttccccaa atcgattggc ggtcacgctc agcttccata  
 361 gcgtagtaat catacacctc gttactggta atcgtcgcgg ccacgccgta aaacccaac  
 421 ttctgaatgt tgacctcgga tcaggtagga ataccgcgtg aacttaagca tatcaataag  
 481 cgaggaaa

## Résumé

L'étude de la maladie de fonte de semis de pin d'Alep au niveau des pépinières forestière dans nord West de l'Algérie, nous a permis de chercher l'origine de la maladie par la réalisation d'isolements à partir du sol, semences et plantules infectes. Un grand nombre d'isolats obtenus qui se sépare en deux genres principaux *Fusarium* et *Globisporangium*. Vingt et un isolat de *Fusarium* et dix-huit isolat de *Globisporangium* ont été identifiés morphologiquement en se basant sur les structures de reproduction asexuées et sexuées et la biologie de champignons par leur croissance sur un milieu de culture favorable, température et pH. Cette étude a été complétée par une étude moléculaire basée sur le séquençage des régions ITS de l'ADN ribosomal. *F. redolens*, *F. acuminatum* sont isolées pour la première fois en Algérie notamment dans le bassin méditerranéen. L'étude de la pathogénicité de ces isolats a montré que ces isolats sont plus agressifs. Ces isolats s'est montré aussi polyphagie sur d'autres espèces.

La confrontation avec des agents telluriques (*T.altroviride* et *B.subtillus*) a mis en évidence une importante activité antagoniste vis-à-vis le *Fusarium* par contre que ces agents n'agissent pas sur *Globisporangium*. L'huile essentielle d'*I. viscosa* a montré un effet inhibiteur seulement sur les isolats de *Fusarium*.

**Mots clés :** fonte de semis, pin d'Alep, *Fusarium*, *Globisporangium*, l'ADN ribosomal, *T. altroviride* et *B. subtillus*, *Inula viscosa*

## Abstract

The study of damping-off disease of Aleppo pine in forest nurseries located in North West Algeria, has allowed us to look for the origin of the disease by carrying isolates from soil, seeds and infected seedlings. Many isolates are separated into two major genus *Fusarium* and *Globisporangium*. Twenty-one isolates of *Fusarium* and eighteen *Globisporangium* were identified morphologically based on structures of asexual and sexual reproduction and biology of fungi by the mycelial growth on a culture media temperature and pH. Our isolates were identified by molecular study based on the sequencing of ITS regions of ribosomal DNA. *F. redolens*, *F. acuminatum* were reported for the first time in Algeria particularly in the Mediterranean basin. The study of the pathogenicity of these isolates showed aggressive and polyphagy on other species.

The confrontation with (*T.altroviride* and *B.subtillus*) showed a significant antagonistic activity against *Fusarium* and the *Globisporangium* was very resistant. The essential oil extracted from *I. viscosa* showed an inhibitory effect only on *Fusarium* isolates.

**Key words:** *Pinus halepensis*, damping off, pathogenic, *Fusarium*, *Globisporangium*, l'ADN ribosomal, *T. altroviride* et *B. subtillus*, *Inula viscosa*

## ملخص :

دراسة مرض موت البادرات لأشجار الصنوبر الحلبي في المشاتل الغابية في النطاق الشمال الغربي للجزائر وجهنا إلى البحث عن الرئسية المؤدية إلى هذا المرض وذلك بالعزل من التربة، البذور والنباتات الحاملة للأعراض. عدد كبير من العزلات تم الحصول عليها من جنس *Fusarium* و *Globisporangium*.

حوالي 21 عزلة من جنس *Fusarium* و 17 من جنس *Globisporangium* صنفت مورفولوجيا بالاعتماد على تكاثرها في ولاء جنسي وبيولوجيا من خلال نمو الفطر على وسط غذائي ملائم (درجة حرارة ودرجة الحموضة) ومن ثم تم تصنيف هذه الفطريات بصفة تامة من خلال دراسة طابعها الجيني باستعمال المنطقتين ITS و ADN ribosomal *F. redolens* و *F. acuminatum* لأول مرة بالجزائر وحوض البحر الأبيض المتوسط، هذه العزلات كانت لها شراسة عالية على الصنوبر الحلبي وتعدت أجناس من النباتات.

البيولوجية باستعمال *T. altroviride* و *B. subtillus* أظهرت نتائج إيجابية ضد *Fusarium* ماعدا *Globisporangium* قد له درجة مقاومة عالية. الزيت المستخلص من *I. viscosa* أعطى نتائج جيدة لمقاومة *Fusarium* ونتائج سلبية لمقاومة *Globisporangium*.

**الكلمات المفتاحية :** موت البادرات، الصنوبر الحلبي، *Fusarium*, *Globisporangium*, l'ADN ribosomal, *T. altroviride* et *B. subtillus*, *Inula viscosa*