



Pouvoir pathogène de *Botrytis cinerea* sur *Catharanthus roseus* à différents stades végétatifs

Oumama KADRI, Amina OUZZANI TOUHAMI, Rachid BENKIRANE et Allal DOUIRA*

Université Ibn Tofaïl, Faculté des Sciences, Laboratoire de Botanique et de Protection des Plantes, B.P. 133, Kenitra, Maroc.

*Auteur correspondant, E-mail : douiraallal@hotmail.com

Original submitted in on 24th December 2013. Published online at www.m.elewa.org on 30th April 2014. <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v76i1.2>

RÉSUMÉ :

Objectifs : Ce travail vise à mettre en évidence le pouvoir pathogène de *Botrytis cinerea* vis-à-vis de *Catharanthus roseus*, espèce ornementale et médicinale, à différents stades végétatifs.

Méthodologie et résultats : Des plantules de 4 à 5 feuilles (Lot S1) et des plantes en fleurs (Lot S2) de *C. roseus* ont été inoculées par les suspensions sporales de trois isolats de *B. cinerea*. L'évolution de la maladie de la pourriture grise sur les deux lots a été suivie en fonction du temps. Les symptômes ont concerné toutes les parties de la plante. Les lésions, de forme circulaires à elliptiques et de couleur brun foncé à noirâtre, apparaissent sur les feuilles 7 jours après inoculation. Elles deviennent par la suite crispées, déformées et desséchées. Sur les tiges se développent des chancres colonisés par une moisissure grise. Les boutons floraux et les fleurs attaqués sont couverts d'un feutrage velouté et gris. Chez le lot S1, 49 plantules sur 90 ont pourries 30 jours après inoculation. Les indices de sévérité et les Coefficients d'infection ont également augmenté en fonction du temps. Ils sont faibles 7 jours après inoculation, ne dépassant pas 14,22% et 619,33. Au 19^{ème} jour, ils ont atteint respectivement 54,29% (BC1) et 2262 (BC2) sur les plantules et 38,37% et 1069 pour BC1 sur les plantes en fleurs et au 31^{ème} jour, ils devenus très importants, 83,83% et 3136 chez l'isolat BC1. La comparaison entre les indices de sévérité et les coefficients d'infection des deux lots pour chaque isolat et les jours d'inoculation confondus a montré sur les plantules du Lot S1 (I.S=51,85% pour BC1 et C.I=1987.92 pour BC2) sont plus sensibles aux isolats de *B. cinerea* que les plantes en fleurs du Lot S2 (I.S=38,53 et C.I=1274.41 pour BC1). Au 31^{ème} jour après inoculation, les indices de sévérité et les coefficients d'infection les plus importants sont marqués par l'isolat BC1 qui s'est montré très virulent aussi bien sur les plantules (I.S=83,83% et C.I=3136) que les plantes en fleurs (I.S=66,63% et C.I=2853,3).

Conclusion et application de la recherche : l'étude a montré le pouvoir pathogène de *B. cinerea* sur *C. roseus* à différents stades végétatifs et ajouté un autre hôte à la gamme d'hôte de ce pathogène. De plus, ces observations ont une application en épidémiologie et dans le contrôle de la pourriture grise.

Mots clés : *Catharanthus roseus*, *Botrytis cinerea*, pourriture grise, inoculation.

Abstract.

Objective: This work aims to demonstrate the pathogenicity of *Botrytis cinerea* on *Catharanthus roseus* (Madagascar periwinkle, Old maid, Rose periwinkle, Vinca), ornamental and medicinal species at different vegetative stages.

Methodology and Results: Plantlets of 4 to 5 sheets (Set S1) and flowering plants (Set S2) of *C. roseus* were inoculated with spore suspensions of the three isolates of *B. cinerea*. The evolution of the gray mold disease on the two sets was followed over time. Symptoms concerned all plant parts. Lesions

were dark blackish brown with a circular to elliptical form, appearing on the leaves after 7 days of inoculation. They then become tense, distorted and dried. On stems cankers develop colonized by gray mold. The buds and flowers are attacked covered with a velvety gray felting. In the S1 lot, 49 plantlets out of 90 were rotted after 30 days of inoculation. The severity indices and coefficients of infection also increased with time. They were low after 7 days of inoculation, not exceeding 14.22% and 619.33. In the 19th day, they have reached respectively 54.29% (BC1) and 2262 (BC2) on seedlings and 38.37% for 1069 and BC1 on flowering plants and the 31st day, they become very important, 83.83% and 3136 in BC1 isolate. The comparison between the severity indices and coefficients infection of the two lots for each isolate and days of inoculation showed confused on seedlings of the S1 Lot (SI = 51.85% for BC1 and BC2 for CI = 1987.92) are more sensitive to isolates of *B. cinerea* that flowering plants of the S2 Lot (SI = 38.53 and CI = 1274.41 for BC1).

Conclusion and application of the research : The study showed the pathogenicity of *B. cinerea* on *C. roseus* at different vegetative stages and added another host to the host range of this pathogen. In addition, these observations have an application in epidemiology and control of gray mold.

Key words. *Catharanthus roseus*, *Botrytis cinerea*, gray mold, inoculation.

INTRODUCTION

À la frontière du saprophytisme et du parasitisme, le champignon phytopathogène ubiquiste *Botrytis cinerea*, responsable de la pourriture grise, est un microorganisme polyphage qui cause d'énormes dégâts en agriculture. La maladie causée par cet agent pathogène est économiquement redoutable et importante car ce champignon attaque plus de 230 espèces de plantes (Jarvis, 1980). Il a été signalé sur *Phaseolus vulgaris* (Allen, 1995), *Vitis vinifera* (Kobayashi, 2007), *Fragaria vesca* L. et *Pisum sativum* L. (Crous et al., 2000) et sur *Solanum lycopersicum* L. (Trottin-Caudal et Capy, 2000). *Botrytis* peut attaquer également un très grand nombre de plantes ornementales, *Pelargonium graveolens* (pélargonium odorant, sweet-scented geranium, rose-scented pelargonium ou Malvarosa) (Zhang, 2006), *Senecio cruentus* (cinéraire des fleuristes, cineraria) (French, 1989), *Cyclamen europaeum* (*Cyclamen commun*) (Cho and Shin, 2004), *Chrysanthemum indicum* (chrysanthème de jardin) (Simonyan, 1981), *Primula malacoides* (primevère à petites fleurs) (Zhang, 2006), *Rosa acicularis* (rosier aciculaire, prickly wild rose) (Zhang, 2006). Les épidémies causées par *Botrytis cinerea* sont initiées en grande partie par les conidies produites localement à l'intérieur de la culture (Miller et Waggoner, 1957). Le pathogène infecte ainsi les différentes parties de la plante y compris les fruits (Powelson, 1960 ; Bristow et al., 1986). Le champignon existe dans plusieurs habitats sous différentes structures:

conidies, ascospores, mycélium et sclérotés et la dispersion de l'inoculum se fait de diverses manières (Jarvis, 1980). Dans la grande majorité des cas, *B. cinerea* est un parasite de blessures, ces voies d'entrée permettent aux spores germées ou au mycélium de pénétrer et d'envahir plus rapidement les organes attaqués. La maladie qui en résulte est une moisissure très courante dans la nature, appelée pourriture grise. Le champignon développe sur les organes qu'il parasite un duvet blanc qui vire très rapidement au gris brun clair lorsque les conidies sont formées (Hmouni et al., 1999 ; Hmouni, 2000). *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. ou Pervenche de Madagascar est une plante vivace tropicale appartenant à la famille des Apocynaceae. Deux variétés de *C. roseus* peuvent être distinguées en fonction de la couleur de la fleur, la rosea à fleur rose (Figure 1A) et l'alba à fleurs blanches (Jaleel et Panneerselvam, 2007). *C. roseus* est une plante d'une importance commerciale grâce à la présence d'alcaloïdes médicinaux intéressants, et aussi en raison de sa valeur ornementale (Jaleel, 2006). En Mars 2008, pour la première fois dans les jardins de la ville de Kénitra (Maroc), un nombre important de plantes de *Catharanthus roseus* ont présenté des fructifications grisâtres dues à *Botrytis cinerea* sur les différentes parties de la plante (Figure 1). Les lésions sur les feuilles et les gousses (Figure 1F), apparaissent en premier lieu sur la périphérie ou sur le centre de la feuille, puis se

développent sur l'ensemble de celle-ci. Ces lésions sont de couleur jaune brunâtre à noirâtre et présentent une zone très sèche. Parfois les feuilles attaquées sont crispées, déformées et desséchées (Figure 1C). Par la suite, les feuilles, pourrissent et se couvrent d'un feutrage velouté et gris. Sur les tiges se développent des

chancres sous forme d'un feutrage gris (Figure 1B). Les boutons floraux et les fleurs attaqués sont aussi couverts d'un feutrage velouté et grisâtre (Figure 1 D et E) (Kadri et al., 2008). L'objectif de ce travail est de déterminer le pouvoir pathogène de *B. cinerea* sur les plantes de *C. roseus* à différents stades végétatifs.



Figure 1 : Symptômes développés sur les plantes de *Vinca rosea* (*Catharanthus roseus*) : la variété C. r. 'Little Pinkie' aux fleurs rose brillant, plante saine (A). Sur les tiges se développent des chancres colonisés par une moisissure grise, les lésions ne sont pas visibles (B). Les feuilles attaquées sont crispées, déformées et desséchées (C). Les boutons floraux (D) et les fleurs attaquées (E) sont couverts d'un feutrage velouté et gris. Sur la gousse apparaisse des taches semi circulaires à elliptiques de couleur noir dispersées (F).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel fongique : Trois isolats de *Botrytis cinerea* BC1, BC2, BC3 isolés respectivement à partir de la tige, la feuille et d'un bouton floral des plantes de *Catharanthus roseus* ramenées des jardins de la ville de Kénitra. Les isolats ont été cultivés sur milieu PSA (Pomme de terre : 200 g, Saccharose : 20 g, Agar-agar : 15 g, Eau distillée : 1000 ml) additionné de 100 mg/l de Chloramphénicol. L'incubation est réalisée à 20°C et à l'obscurité pendant 10 jours.

Matériel végétal : Des graines de la variété 'Little Pinkie' de *Catharanthus roseus* aux fleurs rose brillant sont désinfectées superficiellement à l'hypochlorite de sodium dilué à 1% pendant 10 minutes, rincées abondamment sous un courant d'eau puis séchées sur du papier filtre. Elles sont ensuite mises à germer dans des alvéoles contenant de la tourbe.

Deux lots ont été utilisés à deux stades végétatifs différents :

- **Le lot S1 :** 120 jeunes plantules sont gardées dans les alvéoles, à raison de 30 plantules par isolat en plus du témoin sain.

- **Le lot S2 :** 36 plantes en fleurs, à raison de 9 plantes par isolat en plus du témoin sain.

Trois (3) semaines après la germination, les plantules ont été repiquées dans des pots contenant le sol noir provenant de la forêt de la Mamora à raison de 3 plantes par pot.

Les plantules en alvéoles et en pots ont été mises en serre jusqu'au stade requis pour l'inoculation (4 à 5 feuilles) pour les premières et plantes en fleurs pour les deuxièmes. Elles ont été arrosées quotidiennement avec l'eau de robinet.

Production de l'inoculum : La surface des cultures des différents isolats de *B. cinerea*, âgées de 10 jours et chargées de conidies, est immergée avec de l'eau distillée stérile puis raclée à l'aide d'une spatule métallique stérile. Les suspensions sporales ainsi obtenues sont filtrées à travers une toile de mousseline. La concentration a été déterminée à l'aide d'une lame de Malassez et ajustée à 10⁶ conidies par ml avec de l'eau distillée, contenant 0,02% de Tween 20 et 1% de gélatine.

Inoculation : Les parties aériennes des plantes des deux lots S1 et S2 ont été inoculés par 100 ml de la suspension sporale de chaque isolat testé de *B. cinerea*. Les plantes témoins ont été inoculées avec l'eau distillée contenant le Tween 20 et la gélatine.

Les plantes sont ensuite placées pendant 48 heures sous des housses noires en plastique, pulvérisées d'eau stérile permettant de maintenir une humidité

relative élevée. Les pots ont été par la suite placés en serre.

Notation des résultats : Sept (7) jours après l'inoculation, l'apparition des symptômes a été suivi en fonction du temps. Tous les trois jours et pendant un mois, la surface foliaire malade a été estimée selon l'échelle de Stover modifiée par Gauhl et al. (1995) : 0 = aucun symptôme ; 1 = moins de 0,5% du limbe présentant des symptômes ; 2 = 0,6 à 5% du limbe avec symptômes ; 3 = 6 à 15% du limbe avec symptômes ; 4 = 16 à 30% du limbe avec symptômes ; 5 = 31 à 50% du limbe avec symptômes ; 6 = 51 à 80% du limbe avec symptômes ; 7 : 81 à 100% du limbe avec symptômes.

L'indice de sévérité de la maladie (IS) a été calculé selon la formule suivante :

$$IS (\%) = \frac{\sum nb}{(N-1) \times T} \times 100$$

n = nombre de feuilles pour chaque degré de l'échelle ; b = degré de l'échelle arbitraire représentant la sévérité ; N = nombre de degrés utilisés dans l'échelle et T = nombre total de feuilles évaluées.

Le coefficient d'infection (C.I.) de la maladie est déterminé selon l'équation :

C.I. = Sévérité × Incidence

Sévérité = Degré de l'échelle et l'Incidence : Nombre total des feuilles qui présentent des symptômes.

Analyse statistique : Le traitement des données a porté sur l'analyse de la variance. Quand le résultat de l'analyse de la variance enregistre au moins une différence significative au seuil de probabilité de 5%, un test de comparaison de moyennes est appliqué sur ces données.

La comparaison des indices de sévérité et des coefficients d'infection de la maladie obtenus le 31^{ème} jour après inoculation pour les deux stades est réalisée par le test PPDS (plus petite différence significative).

La comparaison entre les indices de sévérité de la maladie et les coefficients d'infection obtenus en fonction du temps a été réalisée par la détermination des intervalles de confiance au seuil de 95%.

Les pourcentages ont été transformés en Arcsin \sqrt{P} (où P désigne la proportion du pourcentage) avant l'analyse statistique.

Le test t des échantillons appariés a été réalisé pour comparer entre les données du stade 1 et du stade 2.

RÉSULTATS

L'inoculation artificielle des plantules du lot S1 de *Catharanthus roseus* par les isolats de *B. cinerea* obtenus a induit les mêmes symptômes que ceux observés dans la nature. Les symptômes induits par ce pathogène ont concerné toutes les parties de la plante (Figure 2). 7 jours après inoculation, les lésions sur les feuilles sont de forme circulaires à elliptiques (de 1 à 5 mm), de couleur brun foncé à noirâtre (Figure 2B). Après 15 jours, les lésions se sont élargies sur les feuilles et ont occupé presque la

totalité de la surface foliaire selon le degré de la virulence de chaque isolat (Figure 2C) qui s'est desséchée à la fin. 7 plantules sur les trente inoculées par l'isolat BC1 ont pourries et se sont couvertes d'un feutrage velouté et gris (Figure 2D). 30 jours après inoculation, la plupart des plantules inoculées ont pourris, 22/30, 12/30 et 8/30 respectivement pour BC1, BC2 et BC3 (Figure 2E et F) et se sont couvertes d'un feutrage velouté et gris, seules quelques unes ont persisté.



Figure 2 : Symptômes provoqués par *Botrytis cinerea* sur les organes des plantules du lot S1 de *Catharanthus roseus*, (A) Témoin, (B) 7 jours, (C et D) 15 jours et (E et F) 30 jours après inoculation.

Botrytis cinerea s'est attaqué à toutes les parties des plantes du lot S2 de *Catharanthus roseus*, tiges, feuilles et fleurs à l'exception des racines, qu'il a

détruites après un mois de l'inoculation selon le degré de la virulence de l'isolat. Les feuilles sont crispées, déformées et desséchées et les boutons

floraux et les fleurs attaqués sont couverts d'un feutrage velouté et gris (Figure 3).

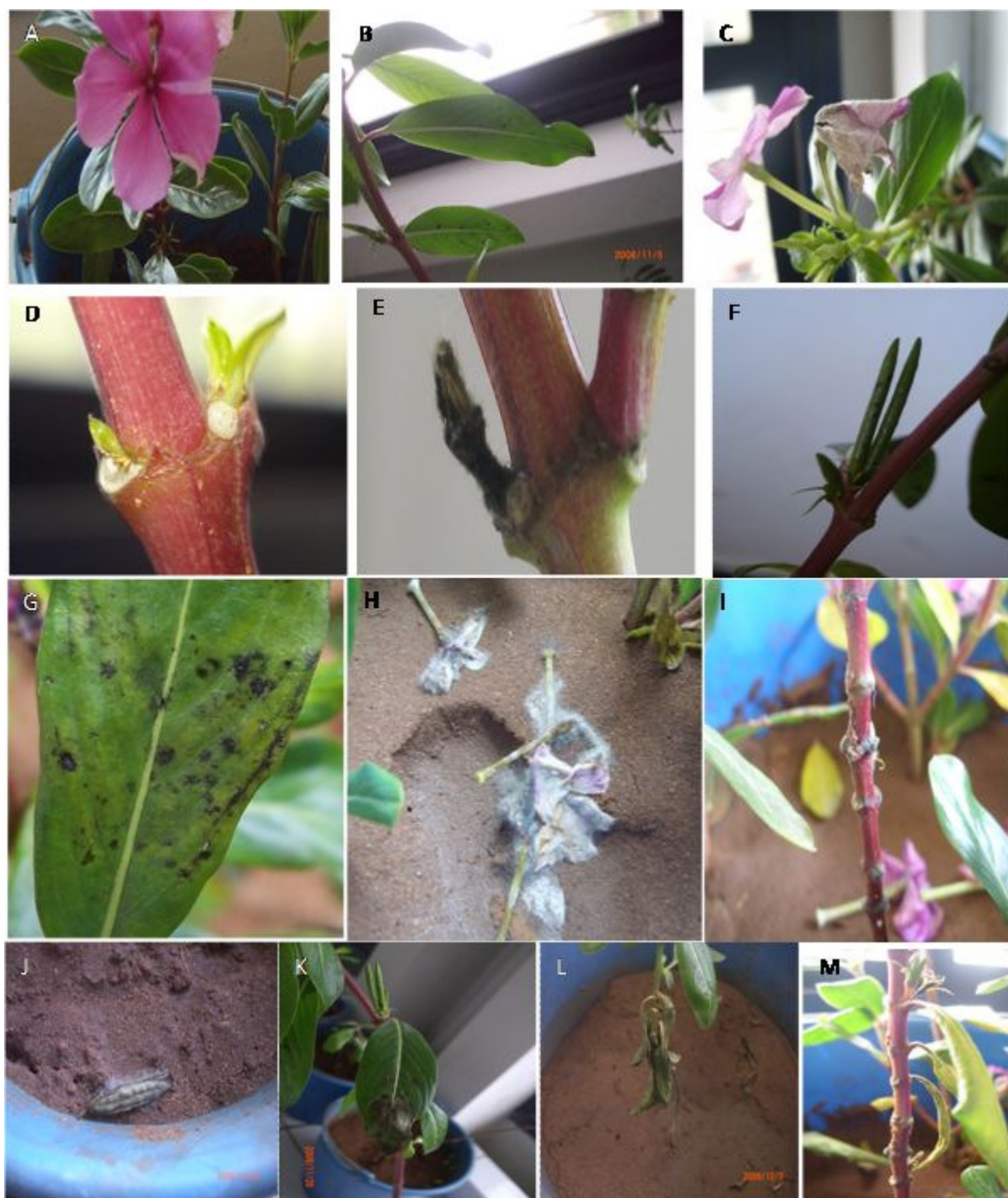


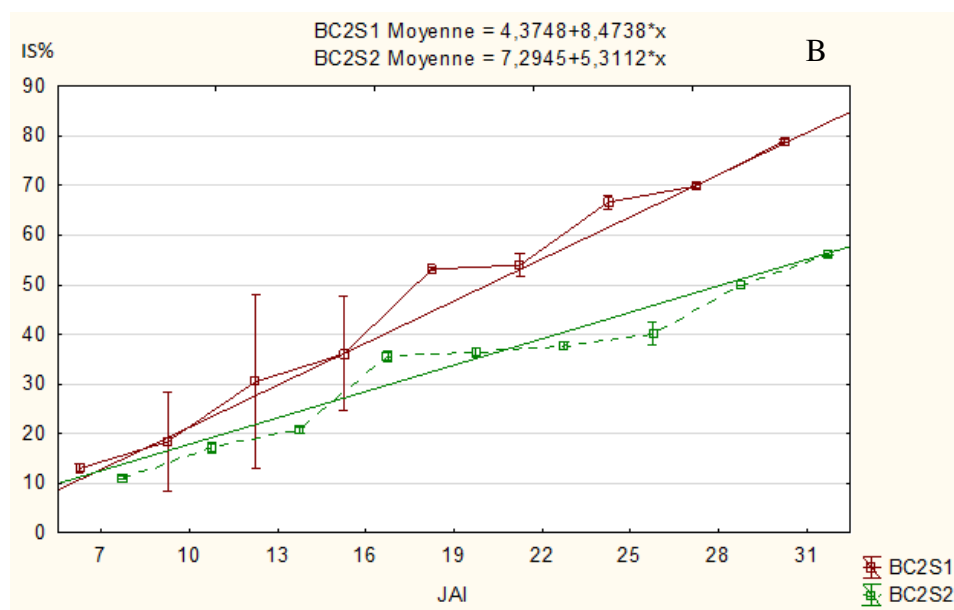
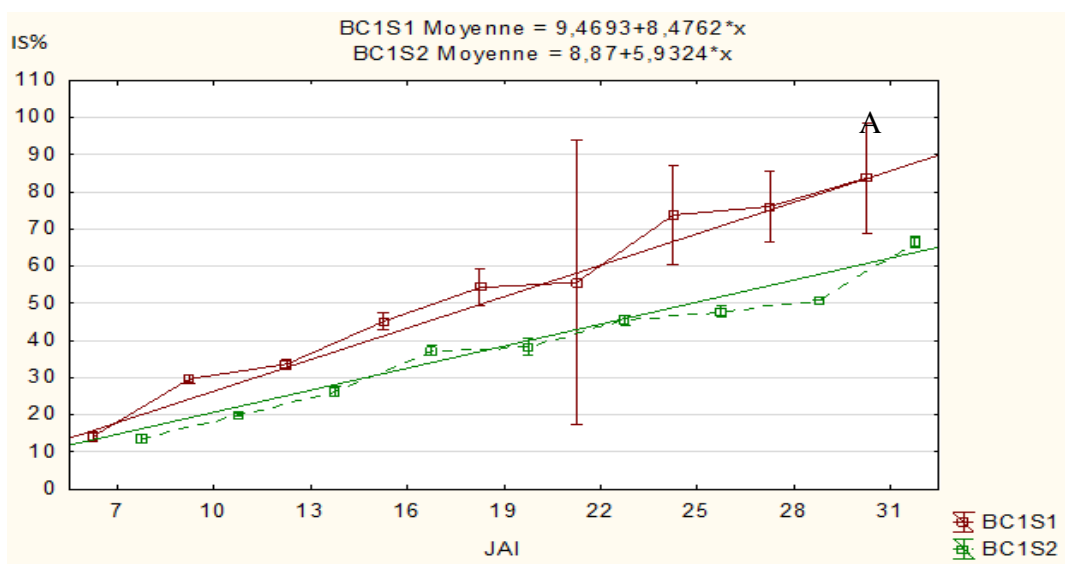
Figure 3 : Symptômes provoqués par *Botrytis cinerea* sur les différents organes des plantes en fleurs du lot S2 de *Catharanthus roseus*, (A) Témoin, (B, C et D) 7 jours, (E, F, G, H et I) 15 jours et (J, K, L et M) 30 jours après inoculation.

Ainsi, 7 jours après inoculation, les lésions sur les feuilles sont souvent nombreuses à la marge ou au centre des feuilles, circulaires à elliptiques (de 1 à 5 mm), de couleur brun foncé à noirâtre (Figure 3B). Un feutrage velouté et gris est visible sur les boutons floraux, les fleurs et les nœuds des tiges attaquées

(Figure 3C et D). 15 jours après inoculation, les boutons floraux sont attaqués et couverts d'un feutrage velouté et gris (Figure 3E). Sur les gousses, les taches sont dispersées semi-circulaires à elliptiques et de couleur noir (Figure 3F). Les lésions sur les feuilles sont semi-circulaires à elliptiques (de 1 à 5

mm), de couleur brun foncé à noirâtre et qui sont devenues de plus en plus nombreuses (Figure 3G). Les symptômes ont débuté sur les tiges au niveau des nœuds par des chancres colonisés par une moisissure grise (Figure 3H) et toutes les fleurs affectées deviennent rapidement couvertes d'une masse de spores grises ayant un aspect poudreux (Figure 3I). Trente (30) jours après inoculation, les boutons floraux attaqués sont couverts d'un feutrage velouté et gris et les lésions se sont élargies avec le temps (Figure 3J). Sur les feuilles, les lésions ont augmenté de taille et occupé presque la totalité de la surface foliaire, selon le degré de la virulence de chaque isolat. A la fin, les feuilles sont crispées,

déformées et desséchées (Figure 3K) et couvertes d'un feutrage velouté et gris (Figure 3L). Sur les tiges se sont développés des chancres colonisés par une moisissure grise (Figure 3M). Le flétrissement des plants se produit soudainement et le chancre de la tige peut être confondu avec la flétrissure phytophthoréenne. Toutes les lésions développées sont sporulantes et *B. cinerea* a été constamment réisolé de ces lésions. Le suivi de l'évolution des indices de sévérité de la maladie (Figure 4) et des coefficients d'infection (Figure 5) des isolats de *Botrytis cinerea* sur les plantes de *Catharanthus roseus* a montré une augmentation progressive de ces deux paramètres en fonction du temps.



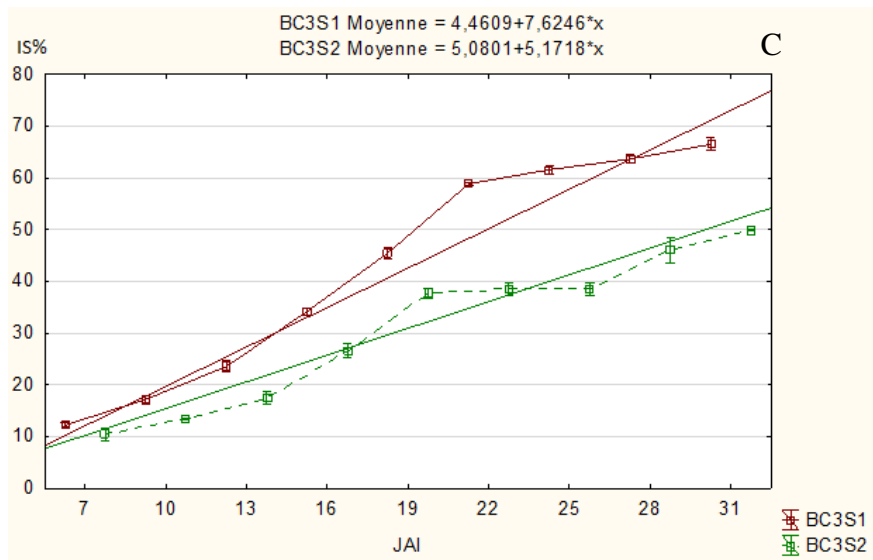
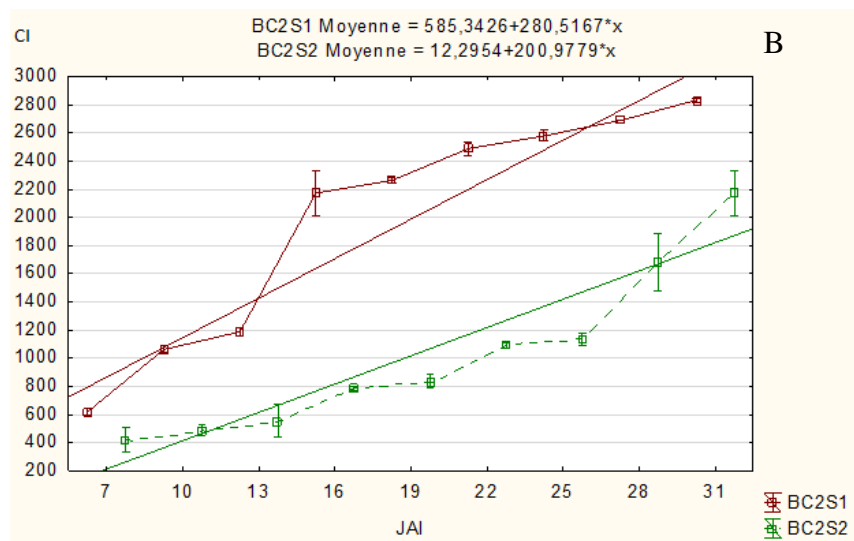
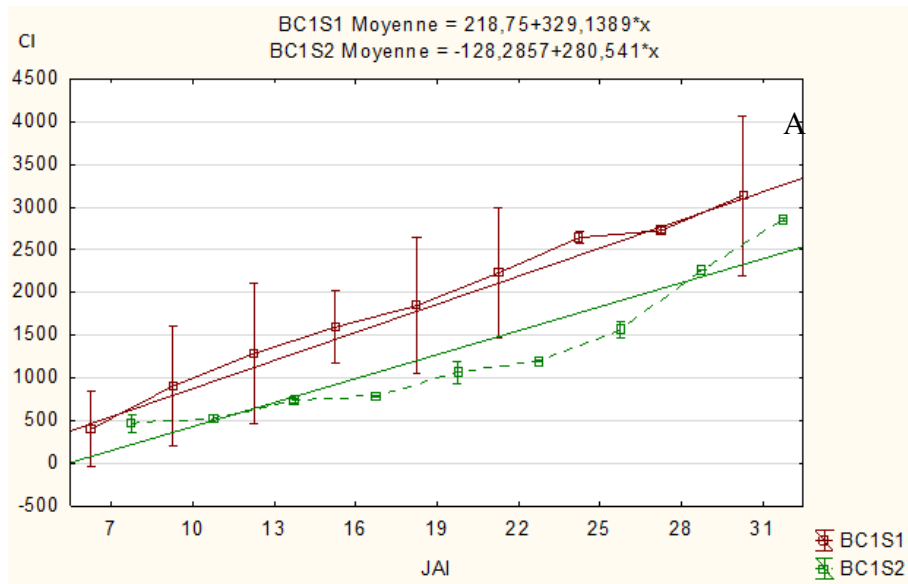


Figure 4 : Evolution de l'indice de sévérité (IS%) de la maladie causée par les isolats de *Botrytis cinerea*, BC1 (A), BC2 (B) et BC-(C), sur les plantules du lot S1 et les plantes en fleurs du lot S2 de *Catharanthus roseus* en fonction du temps.



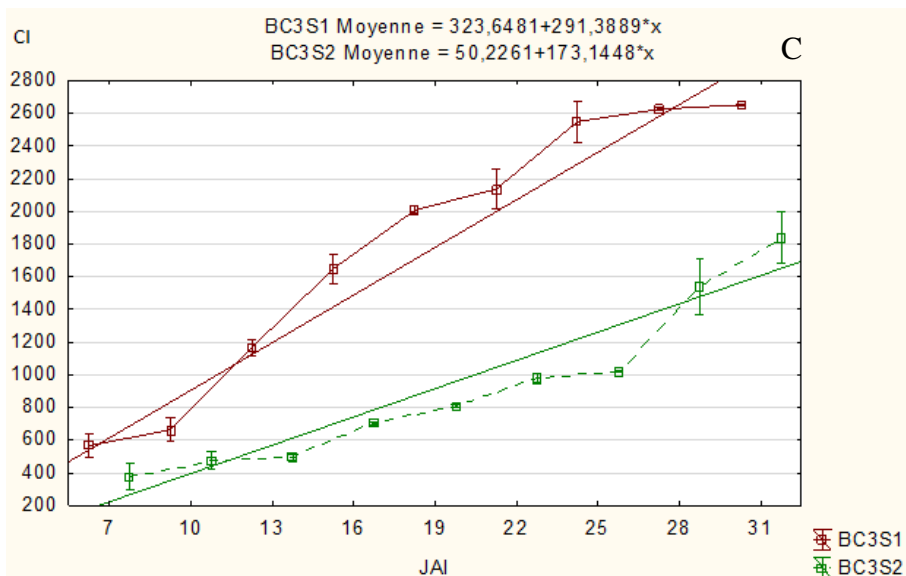


Figure 5 : Evolution du coefficient d'infection (C.I.) de la maladie causée par les isolats de *Botrytis cinerea*, BC1 (A), BC2 (B) et BC3 (C), sur les plantules du lot S1 et les plantes en fleurs du lot S2 de *Catharanthus roseus* en fonction du temps.

Sept (7) jours après inoculation, les indices de sévérité de la maladie et les coefficients d'infection des isolats de *Botrytis cinerea* sont faibles aussi bien au stade plantules (lot S1) (respectivement 14,22% pour BC1 et 619,33 pour BC2) qu'au stade plantes en fleurs (lot S2) où ils n'ont pas dépassé 13,63% et 467,66 pour l'isolat BC1).

Au 19^{ème} jour après inoculation, les indices de sévérité et les coefficients d'infection ont atteint 54,29% (BC1) et 2262 (BC2) sur les plantules et 38,37% et 1069 pour BC1 sur les plantes en fleurs.

Trente et un (31) jours après inoculation, les indices de sévérité et les coefficients d'infection ont été très importants. Les valeurs les plus élevées ont été

notées chez l'isolat BC1 respectivement 83,83% et 3136.

La comparaison entre les indices de sévérité et les coefficients d'infection pour chaque isolat sur les plantules du lot S1 et les plantes du lot S2 par le test t des échantillons appariés a montré que les deux paramètres sont plus importants au 1^{er} stade qu'au 2^{ème} stade.

Les indices de sévérité des isolats BC1, BC2 et BC3 de *Botrytis cinerea* calculés pour les jours d'inoculation confondus au stade plantules (lot S1) (respectivement 51,85 ; 46,74 et 42,58%) sont significativement supérieurs à ceux du stade plantes en fleurs (lot S2) (respectivement 38,53 ; 33,85 et 30,93%) (Tableau 1).

Tableau 1 : Comparaison entre les indices de sévérité de la maladie causée par les isolats de *Botrytis cinerea*, BC1, BC2 et BC, sur les plantules du lot S1 et les plantes en fleurs du lot S2 de *Catharanthus roseus* par le Test t pour des Échantillons Appariés.

Isolat/stade	Moyenne	Ec-Type	N	Différ.	Ec-Type - Différ.	t	dl	Confiance -95,000%	Confiance +95,000%
BC1S1	51,85037	23,07022							
BC1S2	38,53222	15,90783	27	13,31815	9,574370	7,227956	26	9,530654	17,10564
BC2S1	46,74370	22,63461							
BC2S2	33,85037	14,33408	27	12,89333	9,868808	6,788634	26	8,989363	16,79730
BC3S1	42,58370	20,53299							
BC3S2	30,93926	13,93587	27	11,64444	7,512330	8,054267	26	8,672666	14,61622

Différences significatives marquées à $p < ,05000$

Tableau 2 : Comparaison entre les coefficients d'infection de la maladie causée par les isolats de *Botrytis cinerea*, BC1, BC2 et BC, sur les plantules du lot S1 et les plantes en fleurs du lot S2 de *Catharanthus roseus* par le Test t pour des Échantillons Appariés.

Isolat/stade	Moyenne	Ec-Type	N	Différ.	Ec-Type - Différ.	t	dl	Confiance -95,000%	Confiance +95,000%
BC1S1	1864,444	896,1705							
BC1S2	1274,419	785,7144	27	590,0252	418,4497	7,326714	26	424,4920	755,5584
BC2S1	1987,926	781,1825							
BC2S2	1017,185	562,8496	27	970,7411	451,3780	11,17493	26	792,1819	1149,300
BC3S1	1780,593	786,8201							
BC3S2	915,950	479,1426	27	864,6426	437,2990	10,27401	26	691,6529	1037,632

Différences significatives marquées à $p < ,05000$

Le même résultat est obtenu pour les coefficients d'infection des isolats BC1, BC2 et BC3 de *Botrytis cinerea* calculés pour les jours d'inoculation confondus au stade plantules (lot S1) (respectivement 1864,44 ; 1987,92 et 1780,95), ils sont significativement supérieurs à ceux du stade plantes en fleurs (lot S2) (respectivement 1274,41 ; 1017,18 et 915,95) (Tableau 2). Les résultats décrits dans la Figure 6 montrent qu'après 31 jours de l'inoculation, l'indice de sévérité de la maladie le plus important sur les plantules est obtenu pour l'isolat BC1 de *B. cinerea* (83,83%), alors que ceux inoculés

par BC2 et BC3 présentent respectivement des indices de sévérité de l'ordre de 78,97% et 66,51%. Chez les plantes en fleurs, l'indice de sévérité observé sur BC1 est de 66,63 %, suivi par BC2 (55,91%), alors que BC3 a présenté un indice de sévérité égale à 49,97%. De même, les coefficients d'infection les plus élevés sont observés chez l'isolat BC1 aussi bien au stade plantules (3136) que plantes en fleurs (2853,3), alors que BC2 et BC3 ont montré les coefficients d'infection les moins importants aux deux stades (respectivement 2838,7 et 2653 au stade 1 et 2173,3 et 1840 au stade 2) (Figure 7).

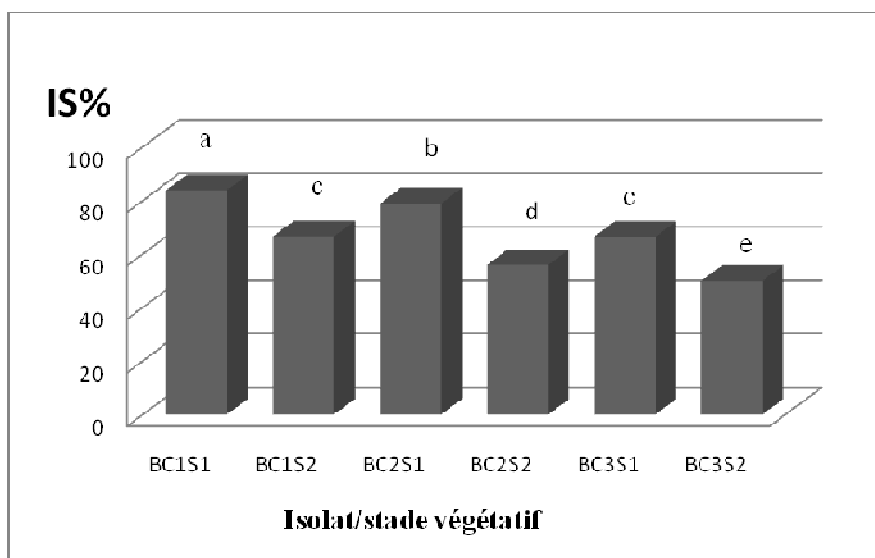


Figure 6 : Indice de sévérité (IS%) de la maladie causée par les isolats de *Botrytis cinerea*, BC1, BC2 et BC, sur les plantules du lot S1 et les plantes en fleurs du lot S2 de *Catharanthus roseus* après 31 jours de inoculation. Deux résultats différents significativement au seuil de 5%, s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

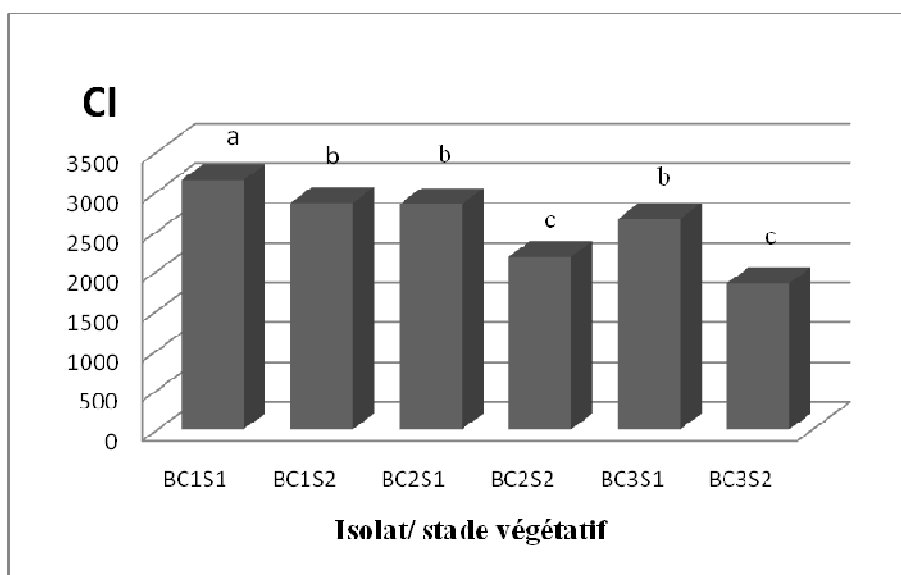


Figure 7 : Coefficient d'infection (CI) de la maladie causée par les isolats de *Botrytis cinerea*, BC1, BC2 et BC3, sur les plantules du lot S1 et les plantes en fleurs du lot S2 de *Catharanthus roseus* après 31 jours de l'inoculation.

Deux résultats différents significativement au seuil de 5%, s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le pouvoir pathogène de *Botrytis cinerea* sur *Catharanthus roseus* est étudié pour la première fois au Maroc. Les plantules et les plantes en fleurs inoculées par les isolats de *B. cinerea* ont présenté les symptômes de la pourriture grise sur les feuilles, les tiges, les boutons floraux et les fleurs. En Italie, Garibaldi et al. (2009) ont réalisé des tests de pouvoir pathogène sur les plantes de *C. roseus* âgées de 8 mois et ont montré la capacité de ce pathogène à provoquer des lésions foliaires sur les feuilles inoculées par des boutures de *B. cinerea*. La même maladie a été rapportée aux Etats Unies d'Amérique (Daughtrey et al., 1995) et en Chine (Zhang, 2006). En effet, ce pathogène s'attaque à toutes les parties des plantes hôtes (tiges, feuilles, fleurs...) qu'il détruit. Les taches sont grisâtres à noirâtres, suivant leur stade de développement (Champion, 1997). La pourriture grise, maladie fréquente et largement étudiée sur les plantes ornementales, se développe généralement sur les feuilles infectées, l'agent responsable est connu par son pouvoir d'attaquer de nombreuses espèces de plantes ornementales (Chase, 1987). Les principaux symptômes de la maladie sont le brunissement de la fleur et la tige et la pourriture de la tige (Hausbeck, 1993 ; Stider, 1985). Les isolats de *Botrytis cinerea* testés ont tous induits l'apparition de lésions foliaires nécrosées au départ et qui pourrissent avec le temps. Cependant, il y a une variabilité dans le degré de virulence des isolats. L'isolat de *B. cinerea* isolé à partir de la tige de *C. roseus* s'est montré plus virulent que les autres. De plus, les jeunes plantules de *C. roseus* sont plus sensibles à la pourriture grise que les plantes en fleurs. Les relations qui existent entre *B. cinerea* et les feuilles sont d'une importance critique dans le développement des épidémies de pourriture grise (Sutton, 1990). Les espèces de genre *Botrytis* peuvent se maintenir sous forme de mycélium latent sur les tissus apparemment sains, ne présentant pas de symptômes (Anderson, 1924 ; Coley-Smith, 1980). Sur fraisier, les tissus infectés restent souvent sans symptômes et la colonisation n'est pas progressive (Bristow et al., 1986). Les observations microscopiques confirment que *B. cinerea* infecte les feuilles vertes mais reste quiescent dans les cellules épidermiques, au moins jusqu'à la sénescence des feuilles (Braun et Sutton, 1988). Il sporule abondamment sur les feuilles justes après leur mort (Braun et Sutton, 1987). Les mécanismes de transition de l'état de quiescence à la colonisation progressive de la feuille restent méconnus (Sutton, 1990). En effet, 11 jours après l'inoculation de *B. cinerea* à des plantules de *Picea abies*, âgées de 3 et 6 semaines, la maladie est survenue plus sur les

plantules inoculées que sur les plantules témoins. Elle a aussi tendance à se produire proportionnellement plus sur les aiguilles des plantes âgées et à se concentrer davantage sur les sommets des rameaux des jeunes plantules (Petäistö et Heiskanen, 2012). Les exigences nutritionnelles influencent aussi le pouvoir pathogène de *Botrytis cinerea*. La présence de nutriments tels que le glucose et le fructose favorise la germination et l'élongation du filament germinatif (Clark et Lorbeer, 1977; Kosuge et Hewitt, 1964). Et permettent à des conidies âgées de retrouver leur pouvoir germinatif (Shiraishi et al., 1970b). Selon Clark et Lorbeer (1977), la pulvérisation de feuilles d'oignon avec des conidies de *B. cinerea* en suspension dans l'eau n'aboutit pas à des lésions, mais l'ajout d'une source d'éléments nutritifs riche en sucres et éléments minéraux entraîne la formation de lésions. Yoder et Whalen (1975) ont montré que la germination des spores et la croissance mycélienne des souches de *B. cinerea* obtenues sur le chou nécessitaient une source externe de nutriment. La concentration des éléments nutritifs influence la capacité de *B. cinerea* à provoquer la pourriture des tissus (Yoder et Whalen, 1975). De plus, Blakman (1972) a montré que la germination des spores de *B. cinerea* est inhibée par les bactéries existantes dans des gouttes d'eau placées sur des plantes matures de betterave (âgées de 9 semaines ou plus) mais pas sur les jeunes plantules (âgées de 6 semaines). En effet, le nombre de bactéries a été plus élevé dans les gouttes d'eau sur les plantes matures et la composition des espèces a changé en relation avec l'âge de la plante. Le suivi de l'évolution des symptômes provoqués par *Botrytis cinerea* sur les plantes des deux stades végétatifs en fonction du temps a montré une augmentation progressive de la sévérité de la maladie et que les plantules de *Catharanthus roseus* sont plus sensibles que les plantes en fleurs. Ainsi, les résultats obtenus concordent avec ceux de Sirjusingh et al. (1996), l'infection exprimée par l'incidence de la sporulation sur les feuilles inoculées par les conidies ou les pétales traitées par les conidies de *B. cinerea* a été élevée sur les feuilles âgées d'une semaine et a diminué quand l'âge a été de 4 semaines. Mais cette incidence a augmenté quand l'âge des feuilles est passé de 4 à 10 semaines. De plus, la réceptivité des feuilles de fraisier à l'infection par *B. cinerea* a été également trouvée pour être plus élevée lorsque les feuilles sont apparues et faible sur les feuilles entièrement développées. Néanmoins, la réceptivité est restée faible quand les feuilles âgées ont été stérilisées en surface avant l'inoculation (Braun et

Sutton, 1988). Petäistö et Heiskanen (2012) ont inoculé *B. cinerea* à des plantules de *Picea abies* (L.) Karst âgées de 3 à 6 mois. L'appartition de la maladie sur les aiguilles est examinée 11 jours après inoculation. Elle est survenue plus sur les plantules inoculées que sur les témoins. La maladie des aiguilles a eu tendance à se produire proportionnellement plus sur les plants âgés et à se concentrer d'avantage sur les sommets des jeunes

rameaux. L'âge des organes de l'hôte est une variable importante qui influence l'infection de plusieurs hôtes par le pathogène (Braun et Sutton, 1988 ; Hunter et al., 1972 ; Jarvis, 1977). Cependant, elle n'a pas été explorée chez *Catharanthus roseus* alors que c'est une importante composante en épidémiologie encore mal comprise et qui permet de comprendre le processus d'établissement du parasite sur l'hôte.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- Allen D.J., 1995. An annotated list of diseases, pathogens and associated fungi of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in eastern and southern Africa. *Phytopathol. Pap.*, 34: 1-42.
- Anderson J.P., 1924. *Botrytis cinerea* in Alaska. *Phytopathology*, 14 : 152-155.
- Blakman J. P., 1972. Effect of plant age on inhibition of *Botrytis cinerea* spores by bacteria on beetroot leaves. *Physiological Plant Pathology* 2 (2): 143-152.
- Braun P.G. and Sutton J.C., 1988. Infection cycles and population dynamics of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Can. J. Plant Pathol.*, 10 : 133-141.
- Bristow P.R., McNichol R.J. and Williamson B., 1986. Infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* and its relevance to Grey mould development. *Ann. App. Biol.*, 109 : 545-554.
- Champion R., 1997. Identifier les champignons transmis par les semences. INRA, Paris, 398 pages
- Chase A.R., 1987. Compendium of ornamental Foliage plant Diseases. (Ed.), American phytopathological Society, 92 pages
- Cho W.D. and Shin H.D. (Eds.), 2004. List of plant diseases in Korea. Fourth edition. Korean Society of Plant Pathology, 779 pages.
- Clark C.A. and Lorbeer J.W., 1977. Comparative nutrient dependency of *Botrytis squamosa* and *Botrytis cinerea* for germination of conidia and pathogenicity on onion leaves. *Phytopathology*, 67: 212-218.
- Coley – Smith J.R., 1980. Sclerotia and other structure in survival. Pages 85-114. in : The biology of *Botrytis*. Coley- Smith, J.R., Verhoeff, K. et Jarvis, W. (eds.) Academic Press, New York.
- Crous P.W., Phillips A.J.L. and Baxter A.P., 2000. *Phytopathogenic Fungi from South Africa*. University of Stellenbosch, Department of Plant Pathology Press, 358 pages.
- Daughtrey M. L., Wick R. L. and Peterson J., 1995. Compendium of Flowering Potted Plant Diseases. Pathological Society (APS) Press; St. Paul, MN, 90 pages.
- French A.M., 1989. California Plant Disease Host Index. Calif. Dept. *Food Agric.*, Sacramento, California, 394 pages.
- Garibaldi A., Bertetti D. and Gullino M. L., 2009. First report of Botrytis blight caused by *Botrytis cinerea* on periwinkle (*Catharanthus roseus*) in Italy. *Plant Disease* 93 (5) : 554.
- Gauhl F., Pasberg-Gauhl C., Vuylsteke D. and Ortiz R., 1995. Multilocational evaluation of black Sigatoka resistance in banana and plantain. IITA Research Guide 47. 2nd edition. Training Program, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ibadan, Nigeria. 59 pages.
- Hmouni A., 2000. Recherches sur *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise de la tomate : résistance aux fongicides et alternatives de la lutte biologique. Thèse de Doctorat. Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences, Kénitra, Maroc, 112 pages.
- Hmouni A., Massoui M. et Douira A., 1999. Étude de l'activité antagoniste de *Trichoderma* spp. et de *Gliocladium* spp. A l'égard de *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise de la tomate. *Al Awamia* 99 : 75-92.
- Hunter J. E., Rohrbach K. G. and Kunimoto R. K., 1972. Epidemiology of Botrytis blight of macadamia racemes. *Phytopathology* 62: 316-319.
- Jaleel R.C.A. and Panneerselvam R., 2007. Variations in the antioxidative and indole alkaloid status in different parts of two varieties of *Catharanthus roseus*, an important folk herb. *Chin. J. Pharmacol. Toxicol.*, 21: 487-494.
- Jaleel R.C.A., Gopi G.M.A., Lakshmanan R. and Panneerselvam R., 2006. Triadimefon induced changes in the antioxidant metabolism and ajmalicine production in

- Catharanthus roseus* (L.) G. Don., *Plant Sci.* 171: 271–276.
- Jarvis W. R., 1977. Botryotinia and Botrytis species: Taxonomy, Physiology, and Pathogenicity. Monograph No. 15. Canada Department of Agriculture, Ottawa, ON.
- Jarvis W. R., 1980. Epidemiology. Pages: 219-250 In: Coley-Smith J. R. et al. (eds.). The biology of *Botrytis*, Academic Press, New York.
- Kadri O., Benkirane R., Ouazzani Touhami A. et Douira A., 2008. La pourriture grise de *Catharanthus roseus* au Maroc. 5ème Journées Internationales de Biodiversité, Faculté des Sciences et Techniques de Fès, 18-20 décembre, page 73.
- Kobayashi T., 2007. Index of fungi inhabiting woody plants in Japan. Host, Distribution and Literature. Zenkoku-Noson-Kyoiku Kyokai Publishing Co., Ltd., 1227 pages
- Kosuge T., and Hewitt W.B., 1964. Exudates of grape berries and their effect on germination of conidia of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 54: 167-172.
- Miller P. and Waggoner P.E., 1979. The relationship of saprophytic antagonism to control of *Botrytis cinerea* among strawberries. *Phytopathology* 47 : 24-25
- Petäistö R.-L. and Heiskanen J., 2012. Needle damage development in Norway spruce seedlings as affected by humidity, temperature, and gray mold: A preliminary study. *International Scholarly Research Network*, Volume 2012, Article ID 810675, doi: 10.5402/2012/810675, 9 pages.
- Powelson R.L., 1960. The initiation of strawberry fruit rot caused by *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 50 : 491-494.
- Shiraishi M., Fukutomi M. and Akai S., 1970. Recovery of germinability of aged conidia of *Botrytis cinerea* Pers. by several saccharides. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 36 : 297-303.
- Simonyan S.A., 1981. Mycoflora of Botanical Gardens and Arboreta in Armenia. Hayka, 232 p.
- Sirjusingh C., Sutton J. C: and Tsujita M. J., 1996. Effects of inoculum concentration and host age on infection of *Geranium* by *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, 80: 154-159.
- Sutton J. C., 1990. Epidemiology and management of Botrytis leaf blight of onion and gray mold of strawberry: a comparative analysis. *Can. J. Plant Pathol.*, 12 : 100-110.
- Trottin-Caudal Y. et Capy A., 2000. La protection intégrée de la tomate sous abri. *Infos. CTIFL* 159 : 39-43
- Yoder O.C. and Whalen M.L., 1975. Factors affecting postharvest infection of stored cabbage tissue by *Botrytis cinerea*. *Canadian Journal of Botany*, 53: 691-699.
- Zhang Z., 2006. *Flora Fungorum Sinicorum. Botrytis, Ramularia*. Science Press, Beijing, Vol. 26: 277 pages.