

Effet des rotations culturales sur l'agressivité du *Verticillium dahliae*

Douira A.

Laboratoire de Botanique et de Protection des Plantes, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra, Maroc

Résumé

*Dans cette étude, on a observé l'influence des précédents culturaux sur les aptitudes parasitaires et pathogènes de *Verticillium dahliae*. Ainsi, les isolats provenant des régions où la culture de piment est pratiquée pendant des années consécutives avec la tomate ou la pomme de terre sont plus pathogènes pour le piment que ceux obtenus dans une région sans culture de piment.*

*Les changements qui affectent le pouvoir pathogène de *Verticillium dahliae* et les conséquences agronomiques de ces phénomènes sont discutées.*

Mots clés : *Verticillium dahliae*, tomate, piment, pomme de terre, rotation culturale, agressivité..

Abstract : Cropping system effect on the variation of parasitic and pathogenic aptitudes of *Verticillium dahliae*

*In this study, we have observed the influence of previous culture on diversification of pathogenic aptitudes of *Verticillium dahliae*. Thus isolates originating from a region where pepper was cultivated with tomato during consecutive years were more aggressive on pepper plants than other isolates obtained from regions with no pepper culture.*

*Changes that affect pathogenic aptitudes of *Verticillium* and the agronomic consequences of this phenomenon were discussed.*

Key words : *Verticillium dahliae*, tomato, pepper, cropping system, parasitic and pathogenic powers.

ملخص : أثر تناوب الدورات الزراعية على تغيير شراسة فيرتيسليوم دالية

Verticillium dahliae

أدوية ع.

مختبر علوم وقاية النباتات

في هذه الدراسة، تمت ملاحظة أثر الدورات الزراعية السابقة على تغير شراسة فيرتيسليوم دالية، قد أظهرت العزلات المنتقاة من منطقة يزرع فيها الفلفل و نبات الطماطم أوالبطاطس لسنوات متتالية، قدرة طفيلية ومرضية كبيرة على الفلفل مقارنة مع العزلات المنتقاة من مناطق لم يزرع فيها هذا النبات. نتائج ظواهر التغيرات التي تصيب القدرة المرضية لفطر الفيرتيسليوم دالية و أثرها على النباتات قد تمت مناقشتها أيضا.

الكلمات المفتاحية : فيرتيسليوم دالية، الفلفل، الطماطم، البطاطس، الدورة الزراعية، الشراسة

Introduction

Verticillium dahliae est une espèce polyphage, mais cette polyphagie n'exclue pas une spécialisation des souches au sein des espèces du genre *Verticillium* (Himelic, 1969). Ainsi, Evans et Mckeen (1975) ont rapporté que le piment n'est sensible qu'aux isolats provenant du piment. Nelson (1950), est arrivé même à distinguer une variété menthe chez l'espèce *V. albo-atrum*, qu'il l'a appelée : *V. albo-atrum* var. *mentea*, à la suite de sa constatation que seul *V. albo-atrum* isolé de la menthe était pathogène sur cette espèce, observation aussi faite par Skotland (1971) pour *V. dahliae* chez cette même espèce hôte. Il en est de même pour la luzerne (Mc Geary et Hastie, 1982 ; El Aïssami, 1990) et le poivron (Vigouroux, 1971).

Une relation entre la polyphagie et la spécificité chez *V. dahliae* a été signalée par Govora (1990). Cet auteur a mené des études, pendant 15 ans, sur les propriétés parasitaires et pathogènes chez *V. dahliae* et il a démontré en effectuant des infections croisées de la tomate, du piment doux, de l'aubergine et du fraisier avec des isolats collectés à partir de ces mêmes plantes, que tous ces isolats étaient hautement pathogènes surtout sur le fraisier. Ainsi, il a révélé l'existence de différences de virulence, chez ce pathogène de races hautement spécialisées.

Certains isolats de *V. dahliae* présentent une faible spécificité. En effet, ce pathogène peut être isolé à partir de la tomate, de la pomme de terre, de l'aubergine, de l'olivier, du pistachier et de l'abricotier lors des cultures associées ou par assolement (Pegg, 1974)..

Vigouroux (1971) a signalé que le pouvoir pathogène des isolats de *V. dahliae* d'un sol dépend étroitement des systèmes de culture utilisés, s'il fait intervenir en rotation des plantes variées, les lignées de *Verticillium* sont très hétérogènes en ce qui concerne leur spécificité parasitaire; en revanche, dans une région de monoculture, elles sont beaucoup plus homogènes. Les résultats de Tjamos (1981) sont compatibles avec les précédents. Cet auteur a montré que les isolats provenant de monoculture de plantes autres que les solanacées n'étaient plus pathogènes ou peu pathogènes vis-à-vis de la tomate tandis que, récoltés dans les régions où sont

pratiquées des rotations culturales variées incluant la tomate et d'autres plantes de la même famille, les isolats étaient généralement pathogènes sur la tomate

Au Maroc, le *V. dahliae* apparaît parmi les principaux agents responsables des trachéomycoses aussi bien en plein air (Pineau, 1976; Besri, 1976) que sous tunnels plastiques (Zrouri, 1981; Besri et al., 1984). Ces études n'ont été faites que dans les zones où la monoculture de tomate est presque totale (Besri, 1976, 1977; Zrouri, 1981; Beye, 1982; Besri et al., 1984; Tika, 1984). Les isolats de *V. dahliae* (d'origine tomate) collectés à partir de l'une de ces zones (Dar Bouazza) n'ont montré aucun pouvoir pathogène vis-à-vis du piment (Al Figuiqui, 1986).

Dans la présente étude, nous nous proposons d'élucider si la culture de piment pendant plusieurs années en rotation avec la tomate ou avec la tomate et la pomme de terre, fait augmenter le pourcentage des pathotypes pathogènes vis-à-vis du piment.

Matériel et méthodes

Isolats de *V. dahliae* testés

La prospection a concerné 20 parcelles dans la zone Bouknadel-El Hancha (région de Salé) et 10 parcelles dans la région d'El Mohammadia. Dans la première région, seules les parcelles qui ont porté le piment en rotation avec la tomate seule ou avec la tomate et la pomme de terre, au moins pendant 10 ans, ont été choisies, alors que dans la deuxième région, la tomate revient sur elle-même et parfois 2 fois par an. Ces parcelles ne dépassent pas en général 0,25 ha. Les observations sont faites entre juin et août. 10 à 16 plantes, présentant ou non les symptômes externes spécifiques de la verticilliose, sont prélevées de chaque parcelle et ramenées au laboratoire pour analyse.

Après isolement de *Verticillium* à partir des plantes de tomate, de la pomme de terre et de piment provenant de la zone de Bouknadel-El Hancha, 150 isolats ont été purifiés. 100 isolats sont collectés dans la région d'El Mohammadia et proviennent tous de la tomate. Toutes les cultures de ces isolats produisent des microsclérotés sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) et s'identifient par ce caractère au *V. dahliae*.

Matériau végétal

Nous avons travaillé sur le piment doux d'Espagne. Les graines sont désinfectées à l'aide de l'hypochlorite de sodium pendant 15 min et rincées vigoureusement à l'eau stérile. Les graines sont par la suite mises à germer dans des cuvettes remplies de terre noire de Maamora, stérilisée à sec, au four pasteur durant 4 heures à 180°C., puis refroidie et imbibée avec l'eau de robinet avant ensemencement.

Inoculation

Tous les isolats collectés ont été utilisés pour inoculer les plantes de piment. Une pré-culture est réalisée en étalant une suspension concentrée de conidies à partir des cultures mères de ces isolats, sur des boîtes de Petri contenant du milieu PDA. Pour détacher les spores de leurs sphérules, les cultures d'origine polyspore sont lavées quatre jours plus tard avec l'eau distillée stérile. La densité de la suspension des conidies obtenue est ajustée à la valeur désirée (10^6 spores/ml) par estimation de la densité initiale (comptage à l'aide d'une cellule de Malassez) puis dilution.

Les plantes de piment ayant atteint le stade physiologique désiré sont enlevées délicatement de la pépinière avec leurs racines. Ces dernières sont débarrassées de la terre et mise à tremper pendant 15 min dans l'inoculum fraîchement préparé à partir des isolats testés (21 plantes pour chaque isolat). Les plantes sont ensuite repiquées en seaux, de trois litres remplis de terre stérile, et arrosées au niveau du collet avec 10 ml du même inoculum. Les lots témoins subissent simultanément les mêmes manipulations, mais l'eau stérile remplace l'inoculum. Toutes les plantes sont placées dans une chambre de culture et arrosées avec l'eau de robinet.

Notation des résultats

Présence de *V. dahliae* dans les plantes

Le champignon est recherché dans chaque niveau des plantes inoculées (racines, hypocotyle et épicotyle) 40 jours après l'inoculation. Des coupes minces des racines et de tiges sont déposées dans l'alcool à 95° pendant 1 à 2 min, rincées plusieurs fois à l'eau stérile, séchées rapidement sur du papier absorbant stérile puis déposées sur eau gélosée (20 g de gélose/ l d'eau distillée). L'observation des coupes est faite après une semaine.

Croissance des plantes et altération foliaire

L'évaluation de l'agressivité des isolats, exprimée en indices de rabougrissement et foliaire (I.R. et I.f.), est effectuée 40 jours après l'inoculation.

L'I.R., exprimé en %, est calculé comme suit:

$$I.R. = \frac{M - X}{M} \times 100$$

où X représente l'accroissement de l'épicotyle des plants inoculés et M l'accroissement moyen des témoins.

L'échelle choisie pour le calcul de l'indice d'altération foliaire (I.f.) est celui retenue par Douira (1995). Une note est attribuée à chaque feuille: feuille d'apparence saine- 0; feuille cotylédonaire: flétrissement ou jaunissement-1, chute- 2; feuille vraie: flétrissement ou jaunissement- 3, nécrose- 4, chute- 5.

La somme des notes rapportée au nombre de feuilles constitue l'indice d'altération foliaire. Un indice moyen est ensuite calculé pour chaque lot de plants.

Résultats

Variation des aptitudes parasitaires des isolats de *V. dahliae* testés

Pour sélectionner les isolats de *V. dahliae* collectés, nous avons pris en considération uniquement leur pouvoir parasitaire vis-à-vis de piment qui se définit par l'aptitude du champignon à pénétrer dans les différents organes des plantes et s'installer pendant une durée de 20 jours au moins après l'inoculation. 17 isolats parmi les 180 testés ont été sélectionnés (tableau 1). Ces isolats, tous collectés de la région de Bouknadel- El Hancha, ont montré un pouvoir parasitaire variable vis-à-vis de piment. Les isolats tomate de la région d'El Mohammadia, qui sont en nombre de 100, n'ont montré qu'un pouvoir parasitaire faible à nul vis-à-vis de piment.

Tableau 1. Liste des isolats de *Verticillium* ayant présenté un pouvoir parasitaire vis-à-vis du piment.

N° (collection)	Provenance	
	Hôte	Lieu
1a	tomate	Bouknadel
3d	tomate	El Hancha
4b	tomate	El Hancha
5b	tomate	Bouknadel
6e	tomate	Bouknadel
8b	tomate	Bouknadel
14c	tomate	El Hancha
15a	tomate	El Hancha
2b	piment	Bouknadel
9c	piment	Bouknadel
10a	piment	Bouknadel
13e	piment	El Hancha
16e	piment	El Hancha
7a	pomme de terre	El Hancha
12b	pomme de terre	Bouknadel
17a	pomme de terre	El Hancha
18b	pomme de terre	Bouknadel

Tous les isolats sélectionnés sont inoculés aux plants de piment. 40 jours après l'inoculation, la présence de *V. dahliae* au niveau de l'épicotyle des plantes de piment n'a pas été systématiquement prouvée pour tous les isolats de pomme de terre et pour 6 isolats de tomate (1a, 3d, 4b, 5b, 6e et 8b) parmi les 8 testés (tableau 2). Pour ces isolats, le champignon reste confiné

soit au niveau des racines, soit au niveau des racines et de l'hypocotyle. Cependant, le *Verticillium* a été ré-isolé de l'épicotyle des plantes inoculées successivement avec 2 isolats de tomate (14c, et 15a) et 2 isolats de piment (13e et 16e).

Il ressort de ces résultats, que certains isolats, collectés à partir des parcelles qui ont porté aussi bien la tomate que le piment, peuvent coloniser les niveaux supérieurs des plantes de piment connues par leur grande résistance vis-à-vis des isolats d'origine tomate

Altération de la croissance des plantes

Les isolats de *V. dahliae*, d'origine tomate, affectent d'une manière différente la croissance des plantes de piment (tableau 2), mais les isolats 6e, 14c et 15a sont les plus pathogènes vis-à-vis de cette espèce hôte (les I.R. varient entre 39.71 et 50.57%). Les isolats de piment sont peu ou moyennement pathogènes sur piment, mais un d'entre eux (13e) a pu altérer la croissance de piment (I.R. = 52.57 %). Par contre, toutes les plantes de piment inoculées avec les isolats de *Verticillium*, originaires de la pomme de terre, ont montré un rabougrissement inférieur à 29%.

Tableau 2. Aptitudes parasitaires et pathogènes des isolats de *Verticillium dahliae* sélectionnés vis-à-vis du piment.

Hôte	Isolats	Ré-isolément	I.R. (%)	I.f
Tomate	1a	14R	10,42 ef	-
	3d	18R	13,14 ef	-
	4b	17R RH1	29,01 b	-
	5b	18R	16,42 de	-
	6e	16R 3RH	46,28 a	-
	8b	19R	21,85 cd	-
	14c	12R 3RH 5RHE	50,57 a	-
	15a	5R 8RH 4RHE	39,71 ab	0,31 k
	2b	12R	14,71 e	-
Piment	9c	15R 2RH	17,71 cd	-
	10a	9R 5RH	7,57 f	-
	13e	5R 10RH 6RHE	52,57 a	-
	16e	10R 3RH 2RHE	35,14 b	0,20 k
Pomme de terre	7a	8R	21,76 cd	-
	12b	10R 2RH	28,84 bc	-
	17a	13R 2RH	14,76 e	-
	18b	8R 6RH	14,76 e	-

Le ré-isolément a été effectué à partir de 21 plantes inoculées par chaque isolat.

Les chiffres qui accompagnent R (racines), RH (racine- hypocotyle) et RHE (racine- hypocotyle et épicotyle) indiquent le nombre de cas où le ré-isolément est positif.

I.R. et I.f., (-) : Indice de rabougrissement, indice foliaire, pas de symptômes.

Deux résultats, lus sur la même colonne, sont significatifs (seuil de 5%) s'ils ne sont pas affectés de la même lettre, non significatifs dans le cas contraire.

Si l'on considère l'altération de la croissance comme l'une des expressions de l'agressivité de *V. dahliae*, certains isolats d'origine tomate (6e, 14c et 15a) et piment (13e et 16e) ont tendance à perturber la croissance des plantes de piment.

Altération foliaire

Les plantes de piment inoculées par les différents isolats de *V. dahliae* n'ont montré aucun signe de la maladie au niveau de leur feuillage au cours des cinq semaines d'observation, à l'exception de deux isolats: 15a, d'origine tomate, (I.f.= 0.13) et 16ee, d'origine piment, (I.f. = 0.20) (tableau 2).

Ainsi, il apparaît, une autre fois, que lorsque le piment est cultivé en rotation avec la tomate, certains isolats de *V. dahliae* peuvent se montrer capables d'altérer le feuillage des plantes de piment.

Discussion et conclusion

Les résultats obtenus montrent que les isolats tomate peuvent attaquer le piment, mais cette aptitude n'a été observée que chez les isolats collectés à partir de la zone Bouknadel-El Hancha où le système de culture fait intervenir le piment en rotation avec la tomate. En revanche, les isolats issus des parcelles où le piment n'a jamais été cultivé (El Mohammadia), semblent par contre homogènes quant à leur pouvoir parasitaire qui est nul ou faible vis-à-vis de piment. Ces résultats vont dans le même sens que ceux signalés par Tjamos (1981). En effet, cet auteur a remarqué en étudiant le pouvoir pathogène de 334 souches de *Verticillium*, isolées à partir d'espèces appartenant à 11 familles, à l'égard de la tomate sensible "Early Pak", que la monoculture d'hôtes autres que les solanacées, comme le pistachier, l'olivier, le pastèque, sélectionnent des souches pathogènes sur tomate.

Les réactions différentes de piment à l'infection par les isolats de *V. dahliae* issus de la zone Bouknadel-El Hancha, les font ranger en plusieurs pathotypes. Le pathotype prédominant dans la population de *Verticillium* n'a aucun pouvoir parasitaire vis-à-vis de piment et sera remplacé peut être au cours des cultures répétées de piment par d'autres pathotypes ayant un pouvoir parasitaire et pathogène différent. En effet, si l'on s'intéressait aux multiples effets de la verticilliose, on pourrait constater qu'un pathotype peut se montrer très efficace pour induire une manifestation parasitaire et pathogène et très peu apte à provoquer d'autres manifestations. Ainsi, des isolats capables de s'installer à différents niveaux des plantes de piment sont mal équipés pour induire des rabougrissements importants chez ces plantes. Par exemple, l'isolat 16a été ré-isolé à partir de l'épicotyle des plantes de piment, mais il n'a provoqué qu'un rabougrissement de l'ordre de 35% chez ces plantes.

L'altération de la croissance paraît peut être déterminée chez le piment par des éléments du génome indépendants de ceux contrôlant la pénétration et l'installation du *V. dahliae*. La co-

lonisation d'une plante par l'agent pathogène sans développement de symptômes est conforme à l'idée qu'il n'y a pas forcément un rapport entre le parasitisme et la pathogénicité (Katan, 1971; Sebti, 1983; Douira, 1995).

Des isolats capables de s'installer à différents niveaux des plantes de piment et d'être à l'origine de rabougrissements chez ces plantes sont mal équipés pour provoquer des altérations foliaires 40 jours après l'inoculation. C'est ainsi que les isolats 14c et 13e qui ont été ré-isolés de l'épicotyle des plantes de piment et qui ont induit un rabougrissement supérieur à 50% étaient incapables de procurer des symptômes foliaires chez ces plantes. La même observation a été constatée avec l'isolat 6e vis à vis du piment. En effet, cet isolat qui n'a atteint l'épicotyle des plantes de piment et qui n'a pas induit de symptômes foliaires, a provoqué un rabougrissement de l'ordre de 46% chez ces plantes.

L'origine de ces symptômes foliaires paraît peut être déterminée par des éléments du génome indépendants de ceux contrôlant d'une part la pénétration et l'installation du *V. dahliae* dans les différents niveaux des plantes et d'autre part ceux responsables de la croissance de ces plantes.

Ce qui ressort de ces résultats, c'est la possibilité pour une espèce parasite confrontée à plusieurs espèces de plantes hôtes, d'élargir ses aptitudes parasitaires et pathogènes et de donner, avec le temps, d'autres pathotypes plus agressifs. Ce ci peut expliquer comment de nouvelles espèces ou de nouvelles variétés introduites peuvent modifier la structure d'une population pathogène et orienter son pouvoir pathogène.

Références bibliographiques

- Al Figuigui (J.), 1986. Pathogénie comparée de quelques isolats marocains de *Verticillium dahliae* (Kleb.) race 1 et 2 sur quelques espèces maraîchères. D.E.A. Univ. Paris Sud, 23p.
- Besri (M.), 1976. Comportement des principales variétés de tomate utilisées au Maroc vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et de *Verticillium dahliae*. Comptes rendus du quatrième congrès de l'union phytopathologique Méditerranéenne, Zadar (Yougoslavie), 5-11 Octobre 1975, Agriculturae Conspectus Scientificus, 39, 89-99.
- Besri (M.), Zroui (M.) et Beye (I.), 1984. Appartenance raciale et pathogénie comparée de quelques isolats de *Verticillium dahliae* (Kleb.) obtenus à partir de tomates résistantes au Maroc. Phytopath. Z., 109 :289-294.
- Besri (M.), 1977. Etude de quelques aspects de l'écologie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et de *Verticillium dahliae* (Kleb.), le long du littoral atlantique marocain. Thèse du Doctorat es-Sciences, Univ. de Nancy, 199p.
- Beye (I.), 1982. Etude du comportement de deux hybrides de tomate (H204 et Vémone) cultivés sous tunnels plastique vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et de *Verticillium dahliae*, le long du littoral atlantique. Mémoire de 2ème cycle I.A.V. Hassan II, Rabat (Maroc), 44p.
- Douira (A.), 1995. Pouvoir parasitaire et pathogène de *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold. Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc), 15 (3) : 39-49.

- El Aissami (A.), 1990. Contribution à l'étude de la verticilliose de la luzerne : variabilité de la spécificité parasitaire et analyse de quelques mécanismes d'action du parasite. Diplôme de spécialité de 3ème cycle. Univ. Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat (Maroc) , 187p.
- Evans (G.) et Mckeen (C.D.), 1975. A strain of *Verticillium dahliae* pathogenic to sweet pepper in south western ontario Canada, J. Pl. Sc., 55 : 857-859.
- Gorova (G.F.), 1990. Specific and specialization of *Verticillium fungi*. 5th International *Verticillium Symposium*, 25th -30th June Leningrad, USSR (Abstracts) p-25.
- Himelek (E. B.) 1969. Tree and shrub hosts of *Verticillium albo-atrum.*, 111. Nat. Hist. Surv. Bionotes, 66:3-8.
- Katan (J.), 1971. Symptomless carriers of the tomato *Fusarium* wilt pathogen. *Phytopathology*, 61: 1213-1217.
- McGeary (F. M.) et Hastie (A. C.), 1982. Hybridation of *Verticillium albo-atrum*, strains from tomato and lucerne. *Physiol. Pl. Pathol.*, 21 : 437-444.
- Nelson (R.), 1950. *Verticillium* wilt of peppermint. Michigan State. Uni. Agr. Exp. Tech. Bull., 221 : 1-259.
- Pegg (G. F.), 1974. *Verticillium* diseases. *Rev. Plant Pathol.*, 53 : 157-182.
- Pineau (R.), 1976. Etude sur les trachéomycoses de la tomate au Maroc. Thèse de Docteur Ingénieur. Université de Nancy, 128p.
- Sebti (S.), 1982. Essai d'analyse des composantes du pouvoir pathogène de *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold. Thèse Doctorat 3ème cycle, Université Paris Sud, Orsay, 93p.
- Skotland (C. B.), 1971. Pathogenic and non pathogenic *Verticillium* species fom south central Washington. *Phytopathology*, 61, 453 (Abstract).
- Tika (N.), 1984. Ecologie de *Verticillium dahliae* (kleb.) dans le sol : Relation entre la densité de l'inoculum et l'incidence de la maladie. Mémoire de 3ème cycle Agronomie. Inst. Agr. Hassan II , Rabat (Maroc), 51p.
- Tjamos (E. C.). 1981. Virulence of *Verticillium dahliae* and *Verticillium albo-atrum* isolates in tomato seedling relation to their host of origin and the applied cropping system. *Phytopathology*, 71: 98-100.
- Vigouroux (A.), 1971. Hypothèse pour expliquer la diversité du comportement pathogène des souches *Verticillium*. *Symposium International du Verticillium*; sept., Wye College-Londres : 21-24.
- Zrouri (M.) 1981. Importance et distribution de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et *Verticillium dahliae* sur tomate en plein air et sous tunnels plastiques. Thèse de troisième cycle, I. A. V. Hassan II, Rabat (Maroc), 59p.