

Pouvoirs parasitaire et pathogène de *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold

Allal DOUIRA*

(Reçu le 08/08/1994 ; Accepté le 18/05 /1995)

القدرة الممرضة والطفيلية لفرطسليوم البو-اطروم

يؤدي الاتصال الدائم لسلسلة نقية من الفريسيليوم البو-اطروم، مصدرها الطماطم، مع العائل المقاوم (الفلفل) الى:

- توسيع الكفاءة الطفيلية وظهور قدرة ممرضة تدريجيا ازاء الفلفل الحلو.

- نقص تدريجي في عدوانية ازاء الطماطم.

يبرهن تحليل اعراض النباتات المطعمة بعدد كبير من اللماط، التي خضعت لضغوط انتقائية مختلفة خلال اتصالها الدائم مع الفلفل

الحلو، ان عدة مركبات للعدوانية تتدخل وأن هذه المركبات مستقلة عن بعضها البعض.

الكلمات المفتاحية : فرطسليوم البو-اطروم ، طماطم ، فلفل حلو ، عدوانية ، ضغط انتقائي

Pouvoirs parasitaire et pathogène de *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold

Des passages successifs d'une lignée de *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold (origine tomate) chez des piments résistants ont conduit à:

- un élargissement de ses aptitudes parasitaires et à l'apparition d'un pouvoir pathogène de plus en plus important vis-à-vis du piment ;
- une réduction graduelle de son agressivité à l'encontre de la tomate.

L'analyse des symptômes des plantes, inoculées avec un grand nombre de clones ayant subi des pressions sélectives différentes au cours des passages sur le piment, démontre que plusieurs composantes de l'agressivité sont mises en œuvre. Ces composantes sont indépendantes.

Mots clés: *Verticillium* - Tomate - Piment - Agressivité - Pression sélective

Parasitic and pathogenic aptitudes of *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold

The successive passages of *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold clone, the causal agent of tomato wilt, in resistant pepper plants lead to an increase in their parasitic aptitude and to the appearance of a pathogenicity to become more and more strong with respect to pepper, the unusual host. These variations are observed along with a progressive reduction of the aggressivity of *Verticillium* on tomato. The analysis of symptoms of inoculated plants by a great number of clones submitted to different selective pressures during successive passages in pepper, proves that several components of the aggressivity are taking place. These components are independent.

Key words: *Verticillium albo-atrum* - Tomato - Pepper - Agressivity - Selective pressure

* Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences de Kénitra, Université Ibn Tofail, Maroc.

INTRODUCTION

Dans le cas du couple formé par la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) et le *Verticillium albo-atrum* (forme à microsclérotos (ou *Verticillium dahliae*, selon Klebahn (1913) Lahlou (1983) a signalé que les mécanismes de défense de la plante sont de type vertical et horizontal et que le pouvoir pathogène du parasite met en œuvre des phénomènes d'agressivité et de virulence, ces termes étant pris dans le sens que leur a donné Van Der Plank (1968). De son côté Beye (1985) a montré, pour le même couple, que l'agressivité de l'agent pathogène et la résistance générale de la plante sont constituées d'un ensemble de composantes qui interviennent à différentes étapes du cycle infectieux.

Par ailleurs, les variations du pouvoir pathogène des espèces parasites ont été attribuées à des modifications génétiques qui, elles-mêmes, peuvent résulter de processus naturels ou artificiels. Ainsi, les traitements mutagènes peuvent conduire à des modifications profondes des diverses composantes de l'agressivité du *Verticillium* (Sebti, 1982).

Face à cette variabilité de l'agent pathogène, les variétés résistantes sont largement utilisées depuis longtemps pour lutter contre la verticilliose de la tomate due au *V. dahliae* (Talboys, 1984). La base génétique de la résistance présente, chez de nombreuses variétés, est constituée de plusieurs gènes d'action partielle (Beye, 1985) qui peuvent servir à la création de nouveaux hybrides résistants.

L'absence d'attaque notable observée sur le piment cultivé dans des champs ayant porté des tomates attaquées par *V. dahliae* pendant plusieurs années (Evans & Mckeen, 1975) fait penser que son système de défense est incontournable par le parasite. Mais, il a été observé qu'une lignée de *V. albo-atrum* (origine tomate) après passages successifs sur le piment, peut donner naissance à des clones présentant des niveaux d'agressivité très différents (Douira & Lahlou, 1989).

L'étude des pouvoirs pathogènes d'un grand nombre de clones (d'une souche de *V. albo-atrum*, forme à microsclérotos, d'origine tomate) soumis à des pressions croissantes de la part de piment (hôte inhabituel) peut faciliter la compréhension des phénomènes de variation connus chez le *Verticillium*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Agents pathogènes

Le clone P3S a été sélectionné à partir d'une culture *in vitro* de *V. albo-atrum* (d'origine tomate) maintenue pendant treize mois sur PDA en tube. Il produit des microsclérotos en grande quantité et s'identifie, par ce caractère, à la forme à microsclérotos *sensu* Lahlou (1974). Très pathogène à l'égard de la tomate, il ne provoque aucun dommage chez le piment.

Les différentes inoculations et les réisolements du clone P3S effectués sur le piment âgé de 70 jours (en pépinière) ont fourni les lignées P3R1, P3R2, P3R3, ..., P3R6 et P3R7. Les passages de la lignée P3R3 sur le piment jeune (âgé de 23 jours en pépinière) ont donné successivement les lignées P3R3a1, P3R3a2, P3R3a3 et P3R3a4 (Douira & Lahlou, 1989). Le chiffre accompagnant la lettre "R" et "a" indique le nombre de passage sur le piment âgé et jeune.

Toutes les cultures sont faites sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar), en boîte de Pétri ou en tubes, à 25°C + 1°C et à l'obscurité.

L'analyse de la descendance de chaque clone est réalisée après la mise en suspension des microconidies dans l'eau distillée stérile. Cette suspension est étalée en stries perpendiculaires sur 5 boîtes de Pétri. Vingt quatre heures plus tard, les jeunes thalles issus de la germination d'une microconidie unique sont prélevés un par un sous la loupe et disposés à raison de quatre thalles par boîte de Pétri. Ces microconidies sont qualifiées de clones, de lignées ou de descendants.

2. Plantes hôtes

Les cultures ont été effectuées dans une chambre dont la température et l'humidité relative sont stabilisées: 25° C ± 2°C, 55-65% H. R. sous une photopériode de 12 H avec une luminosité de 23000 lux (Lahlou, 1983).

Les semences, piment doux d'Espagne et tomate "variété Marmande", sont commercialisées par la société VITA. Après la levée, les plantes sont repiquées en pots de 250 ml remplis de sable qui est au préalable traité à l'acide chlorhydrique, lavé plusieurs fois à l'eau et stérilisé par la chaleur sèche (24h à 180°C) avant d'être imprégné par la solution nutritive (Lahlou, 1983). Des lots de 21 plantes, sont constitués pour étudier l'agressivité de *V. albo-atrum*.

3. Inoculation

Le pouvoir pathogène du clone P3S et de 20 clones de chacune des lignées P3R2, P3R3, P3R5, P3R7, P3R3a1, P3R3a2, P3R3a3 et P3R3a4 est testé sur des plantes de piment et de tomate. Le choix des 20 clones est fait plutôt pour des raisons pratiques.

Les plantes sont inoculées par trempage du système racinaire pendant 15 minutes dans une suspension de microconidies (10^6 spores /ml) récoltées par lavage des cultures âgées de 4 jours. Elles sont repiquées en pots et arrosées ensuite avec 10 ml de la suspension. Les plantes témoins subissent les mêmes traitements, mais l'eau stérile remplace la suspension contaminante. Les plantes sont arrosées, tous les 2 jours avec une solution nutritive (Lahlou, 1983).

4. Évaluation de l'agressivité

L'évaluation générale du niveau de la résistance de l'hôte et de l'agressivité du parasite ne peut être fondée sur l'estimation d'un seul effet de la maladie (Beye, 1986). Dans toutes les expériences, on a distingué entre les deux éléments essentiels de l'agressivité qui sont le pouvoir parasitaire (aptitude du parasite à vivre aux dépens de l'hôte) et le pouvoir pathogène (aptitude du parasite à induire des symptômes caractéristiques de la verticilliose chez les plantes) (Douira *et al.*, 1994 et 1995). Chaque élément de l'agressivité peut être divisé en plusieurs composantes qui peuvent être subdivisées également en plusieurs sous-unités (Douira & Lahlou, 1989 et 1990). Dans ce sens, on a identifié diverses manifestations de la résistance générale de la tomate et du piment à la verticilliose.

• Présence de *V. albo-atrum* dans les plantes

Des coupes de racines et de tiges sont déposées dans l'alcool à 95°C pendant 2 min, rincées plusieurs fois à l'eau stérile, séchées rapidement sur un papier absorbant stérile puis déposées dans l'eau gélosée (20 g de gélose par litre d'eau distillée). Des expériences préliminaires ont montré que le trempage de ces coupes dans l'alcool pendant un temps court n'a aucun effet sur le champignon. Les observations des coupes sont faites après une semaine.

• Croissance des plantes

La réduction de la taille de l'épicotyle des plantes inoculées par rapport à celle des témoins est estimée par l'indice de rabougrissement (I.R.) calculé selon la formule (Douira & Lahlou, 1989):

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

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

• Altération des feuilles

L'expression des symptômes foliaires est estimée par un indice foliaire (I.f.) en utilisant l'échelle de notation suivante (Douira *et al.*, 1994):

- 0 : feuille d'apparence saine ;
- 1 : feuille cotylédonaire : flétrissement ou jaunissement de la feuille cotylédonaire ;
- 2 : chute de la feuille cotylédonaire ;
- 3 : flétrissement ou jaunissement de la vraie feuille ;
- 4 : nécrose de la vraie feuille ;
- 5 : chute de la vraie feuille.

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

1. Pouvoirs parasitaire et pathogène de *Verticillium* chez les piments jeunes

• Manifestations du pouvoir parasitaire

Les descendants de P3R2, obtenus après deux passages de la lignée P3S sur le piment âgé, n'ont montré aucun pouvoir parasitaire vis-à-vis des piments jeunes (Tableau 1). Après un autre passage sur le piment âgé, 7 descendants parmi les 20 testés de P3R3 ont acquis le pouvoir parasitaire et ont pu être réisolés à partir des racines des plantes jeunes de piment ; un clone a pu atteindre même l'hypocotyle (Tableaux 1 et 2).

D'autres passages supplémentaires de *Verticillium* sur les piments jeunes et âgés ont favorisé la pénétration du parasite dans les racines et l'hypocotyle d'un grand nombre de jeunes plantes de piment.

En effet, les réisollements effectués chez ces plantes ont montré que les 20 descendants testés de P3R7 se retrouvaient dans les racines et dans l'hypocotyle des plantes 36 jours après l'inoculation. Deux parmi eux ont été réisolés de l'épicotyle. Quinze descendants sur vingt de P3R3a2 ont pu être réisolés à partir des racines et même de l'hypocotyle du piment jeune, et tous les descendants de P3R3a4 ont parasité le piment jusqu'à l'épicotyle.

Tableau 1. Pouvoir parasitaire vis-à-vis du piment jeune de la descendance par conidies d'isolats de plus en plus adaptés au piment

Lignées de <i>Verticillium</i> testées	Isolat							
	P3R2	P3R3	P3R5	P3R7	P3R3a1	P3R3a2	P3R3a3	P3R3a4
1	-	-	+R3	+R12H7	+R16H8	-	+R.H.E.	+R.H.E.
2	-	-	-	+R16H11	-	+R10	+R.H.E.	+R.H.E.
3	-	+R7	-	+R16H10E4	+R5	+R8	+R.H.E.	+R.H.E.
4	-	-	+R12H8	+R14H11	+R8	+R9H1	+R.H.E.	+R.H.E.
5	-	+R4	-	+R9H5	-	+R6	+R.H.E.	+R.H.E.
6	-	+R8	+R8H2	+R10H6	-	+R4	+R.H.E.	+R.H.E.
7	-	-	+R2	+R14H10	-	-	+R.H.E.	+R.H.E.
8	-	-	+R8	+R14H5	+R4	+R10H2	+R15H10	+R.H.E.
9	-	-	-	+R15H10	+R14H10	-	+R15H12	+R.H.E.
10	-	+R6	+R3	+R15H10	-	R14H2	+R.H.E.	+R.H.E.
11	-	-	-	+R9H5	-	+R2	+R.H.E.	+R.H.E.
12	-	-	+R5	+R10H8	-	+R16H11	+R.H.E.	+R.H.E.
13	-	-	+R15H12	+R9H7	-	-	+R16H12	+R.H.E.
14	-	-	-	+R15H6	+R2	+R12H3	+R.H.E.	+R.H.E.
15	-	-	-	+R15H12E2	-	+R18H8E6	+R.H.E.	+R.H.E.
16	-	+R5H2	+R12H10	+R10H8	+R6	+R6	+R.H.E.	+R.H.E.
17	-	+R8	-	+R16H6	-	+R9H3	+R17H13	+R.H.E.
18	-	-	+R15H8	+R13H10	+R10H2	-	+R.H.E.	+R.H.E.
19	-	+R8	+R5	+R15H6	-	+R16H10E8	+R14H11	+R.H.E.
20	-	-	+R13H7	+R4H5	-	+R15H5	+R.H.E.	+R.H.E.

Tableau 2. Manifestations du pouvoir parasitaire et du pouvoir pathogène vis-à-vis du piment de la descendance par conidies des différents isolats de *Verticillium* obtenus après différents passages sur le piment

Isolats	Inoculation sur piment			
	Réisolement (36j) *	I.R. (29j)	I.f.(29j)	Nombre de clones pathogènes I.R.** I.f.**
P3R2	-	0	0	20[0]
P3R3	-	0	0	20[0]
	13- 6R+ 1R+H+	0	0	20[0]
P3R5	8- 6R+ 6R+H+	0 ↓ 18,02	0 5[+]	15[0]
P3R7	18R+H+ 2R+H+E+	12,61 ↓ 38,28	0	2[0] 18[+]
P3R3 a1	12- 5R+ 3R+H+	0 ↓ 27,49	0 0	18[0] 2[+]
P3R3 a2	5-, 6R+ 7R+H+2R+H+ E+	0 ↓ 56,58	0 ↓ 0,10	16[0] 4[+]
P3R3 a3	5R+H 15R+H+E+	28,73 ↓ 80,87	0 ↓ 0,66	20[+] 19[+]
P3R3 a4	20R+H+E+	73,00 ↓ 81,37	0,35 ↓ 0,66	20[+] 20[+]

*: +/-: Nombre de plantes où le réisolement est positif/négatif à partir des racines (R), de l'hypocotyle (H) et de l'épicotyle (E).
 **: I.R. et I.f.: indice de rabougrissement, indice foliaire. [+]: Nombre de clones significativement plus pathogènes que le type P3S. ; [0]: Nombre de clones ayant un pouvoir pathogène nul; ↓: Varie entre.

Il apparaît donc que la pénétration du champignon et son installation, à différents niveaux d'un grand nombre de plantes de piment jeune, est fonction du nombre de passages du *Verticillium* sur le piment et surtout sur le piment jeune. En effet, 15 descendants de P3R7 sur 20, obtenus après 6 passages sur le piment (3 sur le piment âgé et 3 sur le piment jeune) atteignent l'épicotyle alors que 2 descendants sur 20 seulement de P3R7 l'atteignent. Il faut donc 7 passages sur le piment pour que tous les descendants arrivent à parasiter le piment jeune. Ce nombre de passages peut diminuer quand le passage de *Verticillium* se fait sur le piment jeune.

2. Manifestation du pouvoir pathogène

• Croissance des plantes

L'augmentation du pouvoir parasitaire s'est accompagnée d'une altération de la croissance des piments jeunes. En effet, la croissance de l'épicotyle est normale (I.R. nul par rapport aux plantes témoins) chez les plantes de piment inoculées quel que soit le descendant de P3R2 ou de P3R3 (Tableau 2). Mais au fur et à mesure que le nombre de passages augmente, le nombre de clones parasitant le piment, sans occasionner de déficit de croissance, diminue : 2 descendants sur 20 de P3R7 et aucun descendant de P3R3a3 de P3R3a4 .

Les plantes inoculées avec les descendants des lignées de *Verticillium* dont les ascendants n'ont jamais été hébergés par les plantes jeunes ont des I.R. inférieurs à ceux des lots contaminés avec les descendants des lignées individualisés à la suite des passages du *Verticillium* chez les plantes jeunes. Ainsi, la croissance des plantes est peu altérée (I.R. varie entre 18 et 38%) avec 18 descendants sur 20 de P3R7 (7 passages sur le piment âgé). Elle devient très altérée (I.R. > 50) chez les plantes parasitées avec 2 descendants sur 20 de P3R3a2 (3 passages sur le piment âgé et 2 sur le piment jeune) et avec 18 descendants sur 20 de P3R3a3 (3 passages sur le piment âgé et 3 sur le piment jeune). Tous les descendants de P3R3a4 sont très pathogènes sur le piment.

Les populations représentées par l'échantillon de 20 descendants appartenant à la même génération d'isolement, retenus après passage du champignon sur les plantes jeunes, sont très hétérogènes.

En effet, il ressort des résultats concernant les descendants de P3R3a3, consignés dans la figure 1, que tous les descendants sont devenus pathogènes vis-à-vis du piment et que les comparaisons 2 à 2 des lots inoculés avec les 20 descendants montrent que les descendants 3, 7, 11 et 18 ont un pouvoir pathogène qui diffère significativement de ceux des descendants 8, 9, 12, 13, 17, 19 et 20.

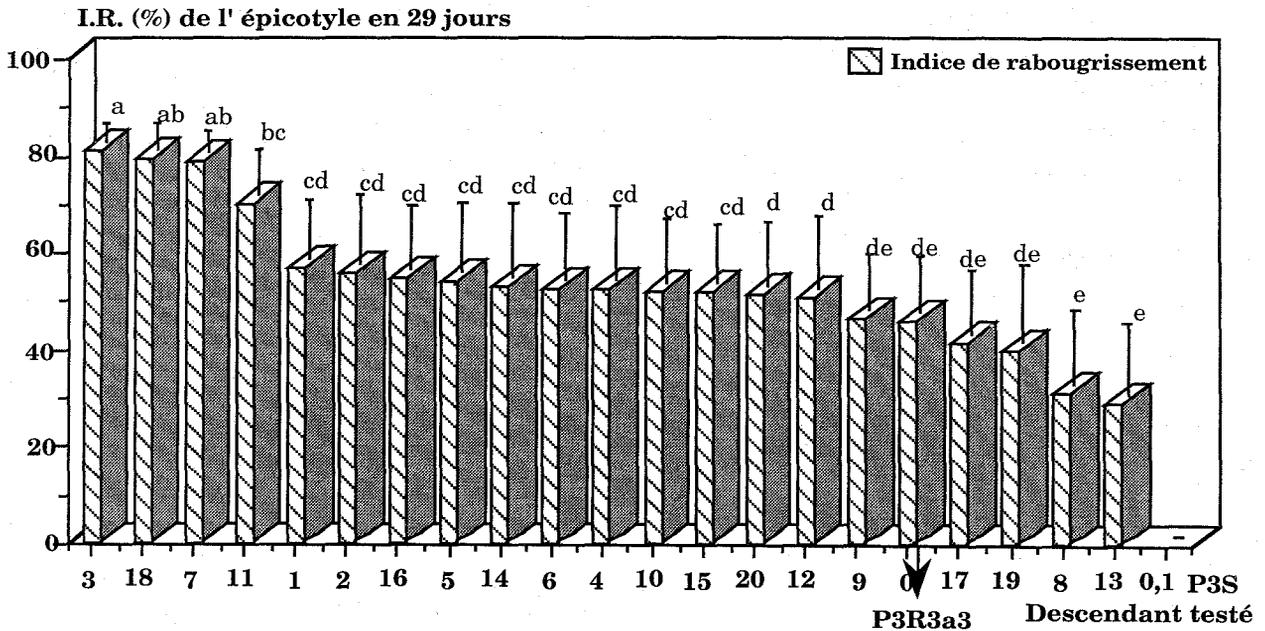


Figure 1. Pouvoir pathogène (estimé par l'I.R.) vis-à-vis du piment jeune de 20 descendants par conidies de l'isolat P3R3a3

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

- Le trait vertical sur chaque barre indique l'intervalle de confiance au seuil de 5%.

Par ailleurs, quatre ont un pouvoir pathogène significativement supérieur à celui du clone parental. Le pouvoir pathogène des seize autres ne diffère pas significativement de celui de P3R3a3.

• Symptômes foliaires

La troisième composante de l'agressivité, relative aux altérations foliaires, a manifesté également des variations de grande amplitude mais elle n'a été observée qu'après la composante traduite par l'altération de la croissance (Figure 2 et Tableau 2).

En effet, aucun descendant des lignées P3R2, P3R3, P3R5, P3R7 et P3R3a1 n'a provoqué des altérations foliaires chez les plantes jeunes de piment. En revanche 2, 19 et 20 descendants sur les 20 testés issus respectivement des lignées P3R3a2, P3R3a3 et P3R3a4 ont induit des symptômes foliaires chez ces plantes (I.f. varie entre 0,10 et 0,66).

D'un autre côté, l'étude des manifestations du pouvoir parasitaire et du pouvoir pathogène de la descendance par microconidies des différents lignées (Tableau 2) permet de conclure qu'à chaque passage sur le piment de nouveaux descendants peuvent être détectés et sont à la fois significativement mieux équipés que leur culture mère (P3S) pour pénétrer dans les plantes jeunes et plus aptes à engendrer des rabougrissements et des altérations foliaires.

2. Manifestations des pouvoirs parasitaire et pathogène des descendants des lignées de *Verticillium* de plus en plus adaptés au piment vis-à-vis de la tomate

• Manifestation du pouvoir parasitaire

Les premières fonctions du parasite, c'est-à-dire

ses aptitudes à pénétrer et à s'installer dans les différents niveaux des plantes n'ont pas été altérées vis-à-vis de la tomate, au cours des passages de la lignée P3S sur le piment âgé (Tableaux 3 et 4).

Ainsi, tous les descendants de *Verticillium albo-atrum* nés des lignées P3R2, P3R3, P3R5 et P3R7 pénètrent dans toutes les parties des plantes contaminées (racine, hypocotyle et épicotyle).

Par contre, le nombre de passage sur le piment jeune semble diminuer la possibilité qu'avait le champignon à atteindre l'épicotyle des plantes contaminées. En effet, les descendants de P3R3a3 n'arrivent pas tous dans l'épicotyle : 10 descendants parmi 20 testés. De même, aucun descendant de P3R3a4 n'atteint l'épicotyle.

• Manifestation du pouvoir pathogène

* Croissance des plantes

Malgré la persistance du pouvoir parasitaire vis-à-vis de l'hôte d'origine, une perte progressive du pouvoir pathogène (estimée par l'I.R.) a été observé au cours des passages successifs de P3S sur le piment (Tableau 4).

En effet, la croissance de l'épicotyle reste très altérée chez les tomates inoculées avec n'importe quel descendant de P3R2 et diminue progressivement chez les plantes parasitées avec les descendants des lignées P3R3, P3R7 et avec 19 et 13 descendants sur 20 testés respectivement pour les lignées P3R3a2 et P3R3a3. Elle devient normale chez les plantes inoculées avec 1, 7 et 20 descendants sur 20 respectivement pour les lignées P3R3a2, P3R3a3 et P3R3a4.

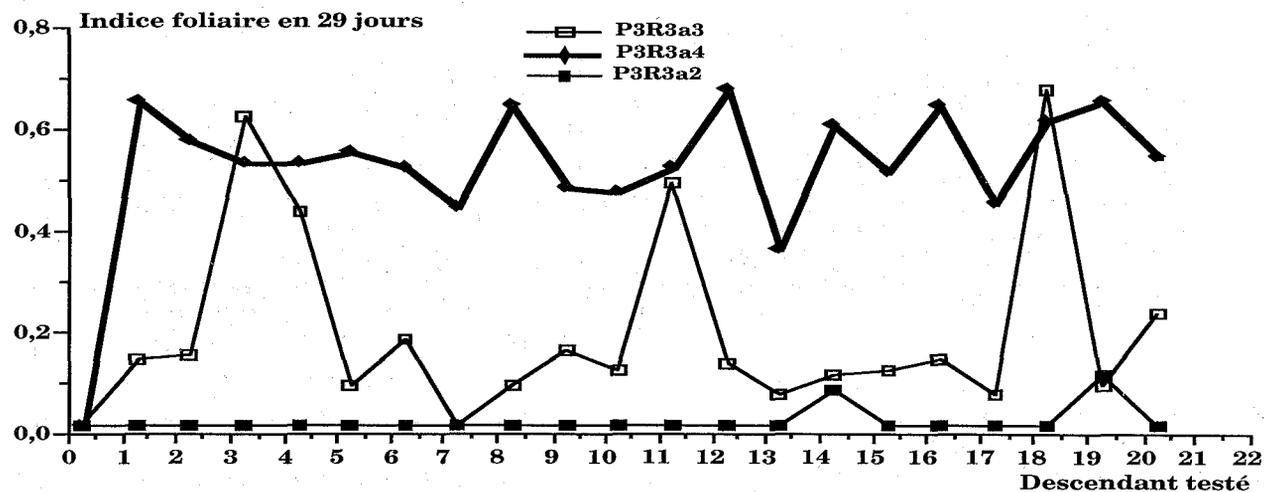


Figure 2. Analyse du pouvoir pathogène (estimé par l'I.f) vis-à-vis du piment jeune de la descendance par conidies d'isolats de *Verticillium* de plus en plus adaptés au piment

Tableau 3. Pouvoir parasitaire vis-à-vis de la tomate de la descendance par conidies d'isolats de plus en plus adaptés au piment

Descendants de <i>Verticillium</i> testés	Isolats							
	P ₃ R ₂ **	P ₃ R ₃ **	P ₃ R ₅ **	P ₃ R ₇ **	P ₃ R _{3a1} **	P ₃ R _{3a2} **	P ₃ R _{3a3} *	P ₃ R _{3a4} *
1	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+15H13	+R16H12
2	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R16H12	+R16H11
3	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R16H13	+R17H15
4	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R17H14	+R14H10
5	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R16H12E5	+R17H14
6	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R15H1E4	+R18H10
7	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R17H10	+R15H12
8	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R12H10E3	+R18H13
9	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R17H9	+R15H13
10	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R18H14	+R18H10
11	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R16H11E2	+R15H13
12	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R15H12E4	+R18H16
13	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R15H12E5	+R16H13
14	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R14H12E2	+R15H13
15	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R15H10E2	+R17H13
16	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R16H14	+R16H15
17	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R14H12	+R16H13
18	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R16H10	+R18H12
19	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R14H12E4	+R16H14
20	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+RHE	+R15H11E6	+R14H12

+/- : réisolement positif/négatif à partir des racines (R), de l'hypocotyle (H) et de l'épicotyle (E). Les chiffres indiquent le nombre de cas positifs à partir de 21 plantes testées pour le réisolement (36 jours après l'inoculation).

* : Toutes les plantes inoculées ont été testées pour le réisolement

** : 5 plantes des 21 inoculées ont été testées pour le réisolement

Tableau 4. Manifestations des pouvoirs parasitaire et pathogène vis-à-vis de la tomate de la descendance par conidies des différents isolats de *Verticillium* obtenus après différents passages sur le piment

Isolats	Réisolement (36) *	Inoculation sur piment		Nombre de clones pathogènes	
		I.R.(29j)	I.F.(29j)	I.R.**	I.F.**
P ₃ R ₂	20	82,43	0,81	20 [#]	16 [#]
	R+H+E+	↓	↓		
P ₃ R ₃	20	66,17	0,33		4[-]
	R+H+E+	↓	↓	1 [#]	7 [#]
P ₃ R ₅	20	47,76	0,21	19 [-]	13 [-]
	R+H+E+	↓	↓	1 [#]	2 [#]
P ₃ R ₇	20	66,09	0,37		
	R+H+E+	↓	↓		
P ₃ R ₃ a1	20	44,36	0,15	19 [-]	18 [-]
	R+H+E+	↓	↓	20 [-]	1 [#]
P ₃ R ₃ a2	20	57,30	0,35		
	R+H+E+	↓	↓		
P ₃ R ₃ a3	20	37,14	0,15		19 [-]
	R+H+E+	↓	↓	20 [-]	2 [#]
P ₃ R ₃ a4	20	63,77	0,45		
	R+H+E+	↓	↓		
P ₃ R ₃ a3	20	36,44	0,20		18 [-]
	R+H+E+	↓	↓	19 [-]	1 [#]
P ₃ R ₃ a3	10R+H	54,18	0,40		
	10R+H+E+	↓	↓	1 [0]	5 [5]
P ₃ R ₃ a3	10R+H	9,14	0	1 [0]	5 [5]
	10R+H+E+	↓	↓	13 [-]	8 [-]
P ₃ R ₃ a4	20 R+H+	54,75	0,22		
		↓	↓	7 [0]	12 [0]
P ₃ R ₃ a4	20 R+H+	4,32	0		
		↓	↓	20 [0]	20 [0]

* +/- : Nombre de plantes où le réisolement est positif/négatif à partir des racines (R), de l'hypocotyle (H) et de l'épicotyle (E). ** I.R. et I.F. : indice de rabougrissement, indice foliaire. [#] : Nombre de clones de même pouvoir pathogène que P3S. [-] : Nombre de clones significativement moins pathogènes que le type P3S. [0] : Nombre de clones qui ont un pouvoir pathogène nul. ; ↓ : Varie entre.

L'amplitude de la variation paraît très importante dans les populations des microconidies récoltées dans les lignées issues après trois passages sur le piment jeune. Dans le cas des descendants de P3R3a3 (Figure 3), les I.R. des lots inoculés avec les différents descendants peuvent être significativement différents (test au seuil 5%). Par exemple, les I.R. des lots inoculés avec les descendants 17, 19 et 13 diffèrent significativement de chacun des lots inoculés avec les 14 descendants 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 18, et 20. Cette hétérogénéité recouvre en partie des variations du pouvoir pathogène des descendants de la population de microconidies par rapport à celui de la lignée

initiale (P3R3a3). La comparaison entre l'I.R. des plants inoculés avec la lignée initiale et celui des lots inoculés avec chacun des 20 descendants prouve que, parmi ces derniers, les descendants 18, 3, 7 et 1 ont perdu leur pouvoir pathogène vis-à-vis de la tomate (la croissance des plantes inoculées ne diffère pas significativement des plantes témoins). Notons que ces descendants ont montré les I.R. les plus élevés vis-à-vis du piment jeune (Cf. Figure 2).

* Symptômes foliaires

Parallèlement à la perte de l'aptitude à perturber la croissance de l'hôte d'origine, l'aptitude à induire les symptômes foliaires va en s'atténuant (Tableaux 4 et 5).

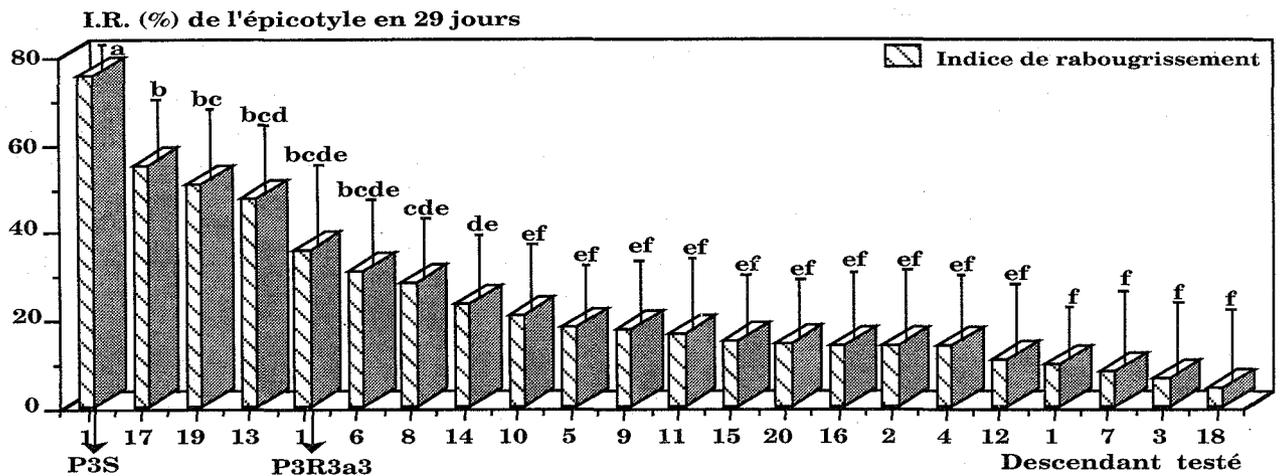


Figure 3. Pouvoir pathogène (estimé par l'I.R.) de 20 descendants de l'isolat P3R3a3 vis-à-vis de la tomate

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

*Le trait vertical sur chaque barre indique l'intervalle de confiance au seuil de 5%.

Tableau 5. Analyse du pouvoir pathogène (estimé par l'indice foliaire:I.f.) vis-à-vis de la tomate de la descendance par conidies d'isolats de *Verticillium*

DVT	Isolats							
	P3R2 I.f	P3R3 I.f	P3R5 I.f	P3R7 I.f	P3R3a1 I.f	P3R3a2 I.f	P3R3a3 I.f	P3R3a4 I.f
1	0,59	0,30	0,34	0,30	0,17	0,24	-	-
2	0,33	0,40	0,37	0,22	0,32	0,40	-	-
3	0,61	0,44	0,37	0,15	0,24	0,23	-	-
4	0,45	0,48	0,21	0,16	0,43	0,35	-	-
5	0,33	0,28	0,26	0,21	0,24	0,33	0,02	-
6	0,34	0,37	0,28	0,31	0,29	0,26	0,12	-
7	0,39	0,38	0,28	0,23	0,31	0,15	0,15	-
8	0,48	0,36	0,31	0,24	0,24	0,12	0,22	-
9	0,49	0,26	0,26	0,25	0,20	0,16	0,09	-
10	0,39	0,41	0,32	0,31	0,32	0,09	0,22	-
11	0,63	0,28	0,29	0,23	0,39	0,26	0,02	-
12	0,47	0,28	0,19	0,25	0,25	0,03	-	-
13	0,36	0,21	0,20	0,35	0,21	0,17	0,16	-
14	0,46	0,38	0,31	0,22	0,29	0,24	0,09	-
15	0,36	0,33	0,33	0,17	0,36	-	0,03	-
16	0,39	0,24	0,22	0,31	0,30	0,19	0,01	-
17	0,81	0,36	0,31	0,15	0,24	0,05	0,15	-
18	0,47	0,35	0,27	0,19	0,25	0,17	-	-
19	0,57	0,30	0,28	0,28	0,24	0,05	0,03	-
20	0,57	0,32	0,15	0,20	0,28	0,28	0,19	-

En effet, les indices foliaires sont assez élevés chez les plantes contaminées avec les descendants de P3R2, diminuent progressivement chez les plantes inoculées avec les descendants des lignées P3R3, P3R7 et P3R3a2 et deviennent nuls chez les plantes parasitées avec la plupart des descendants de P3R3a3 et par l'ensemble des descendants de P3R3a4.

En définitive, l'étude des manifestations du pouvoir parasitaire et du pouvoir pathogène de la descendance par microconidies des différentes lignées (Tableau 4) permet donc de conclure que chaque passage sur le piment fait apparaître de nouveaux descendants moins aptes que leur parent (P3S), d'une part, à coloniser les niveaux supérieurs des plantes et, d'autre part, à engendrer des rabougrissements et des altérations foliaires vis-à-vis de leur hôte d'origine.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les essais précédents font clairement apparaître la variabilité potentielle de la lignée P3S de *Verticillium* obtenue à partir d'un hôte peu sélectif (la tomate) (Vigouroux, 1971). Cette variabilité peut s'exprimer bien au niveau de l'agressivité (Douira *et al.*, 1995).

L'amplitude de la variation du pouvoir parasitaire et du pouvoir pathogène est fonction de l'âge des plantes de piment. En effet, si le champignon est constamment confronté avec les plantes âgées de piment, son agressivité augmente plus que s'il est mis au contact des plantes jeunes. Les plantes âgées de piment disposent donc d'un système de défense moins important que les plantes jeunes.

Les plantes âgées semblent plus réceptives que les plantes jeunes : elles n'opposeraient pas à l'agent pathogène un système de défense aussi efficace. Ainsi, l'apparition des lignées capables de parasiter le piment jeune n'a été observée que chez les descendants de P3R3, obtenu après 3 passages successifs de la lignée P3S sur les plantes âgées de piment.

Les passages successifs de P3R3 sur les plantes jeunes de piment ont favorisé l'apparition de nouvelles lignées douées d'un plus grand pouvoir parasitaire vis-à-vis de ces plantes. Ainsi, les descendants de P3R3 ont pu s'installer dans les racines, ceux des lignées P3R3a2 et R3R7 ont été réisolés à partir des racines et de l'hypocotyle et ceux des lignées P3R3a3 et P3R3a4 ont acquis

l'aptitude à coloniser l'épicotyle des piments jeunes infectés. Ces premières fonctions du parasite (aptitudes parasitaires) ont subi une légère altération vis-à-vis de la tomate.

L'aptitude parasitaire paraît peut être déterminée par un ensemble de gènes, ceux qui contrôlent la pénétration du champignon et ceux qui sont responsables de l'installation du parasite dans les racines puis dans l'hypocotyle et ensuite dans l'épicotyle des plantes. Ceci s'accorde avec l'idée que l'aptitude parasitaire acquise vis-à-vis du piment n'est pas en tout point identique à celle manifestée vis-à-vis de la tomate.

De ces résultats, il faudrait donc distinguer entre l'aptitude du parasite à pénétrer dans l'hôte et son aptitude à coloniser tel ou tel niveau des plantes. Aleksic *et al.* (1972) ont examiné la pénétration de *V. albo-atrum* dans les différents organes des plantes de poivron. Ils ont montré que le mycélium de *V. albo-atrum* (souche d'origine poivron) pénètre dans tous les organes végétatifs des plantes sensibles.

Chez les plantes tolérantes, le champignon pénètre seulement jusqu'au premier entre-nœud de la première branche latérale, alors que, chez les plantes résistantes, la pénétration du champignon est empêchée.

D'après Sebti (1982), il faudrait distinguer chez l'hôte entre les composantes de la résistance qui s'opposent à la pénétration du parasite au niveau des racines et celles qui s'opposent à sa progression ultérieure. Cet auteur a noté qu'il faut bien distinguer chez le parasite entre les composantes de l'agressivité qui permettent la pénétration et celles qui permettent sa progression au niveau de la tige.

En prenant en compte un autre paramètre d'observation symptomatologique, il a été noté que les descendants des lignées de *Verticillium* entraînent des réponses différentes de la part du piment et de la tomate. Il en est ainsi pour la croissance de l'épicotyle :

- elle est normale chez les plantes du piment inoculées avec les descendants des lignées P3R2 et R3R3;
- peu déprimée chez les plantes infectées avec certains descendants de P3R3a2 et avec tous les descendants de P3R7;
- très altérée chez les plantes contaminées avec certains descendants de P3R3a3 et avec tous les descendants de P3R3a4.

Il apparaît donc que les passages successifs de *Verticillium* sur le piment ont pu dissocier la composante "altération de la croissance" en plusieurs sous-unités.

Des lignées capables de s'installer à différents niveaux des plantes de tomate sont mal équipées pour induire le rabougrissement chez ces plantes. Par exemple, un descendant de P3R3a2 a été réisolé à partir de l'épicotyle des plantes de tomate inoculées, mais il a provoqué un faible rabougrissement chez ces plantes.

L'altération de la croissance paraît peut être déterminée chez la tomate par des éléments du génome indépendants de ceux contrôlant la pénétration et l'installation de *V. albo-atrum*.

L'aptitude à provoquer des altérations foliaires chez le piment jeune a présenté elle aussi, des variations: les descendants des lignées P3R2, P3R3, P3R7 n'ont pas manifesté cet aspect de l'agressivité.

Cependant, deux descendants parmi 20 testés de P3R3a2 l'ont manifesté avec un faible degré et tous les descendants de P3R3a4 ont exprimé cette forme d'agressivité avec un degré élevé. Ce sont donc les passages sur le piment jeune qui favorisent cette activité.

Des descendants capables de s'installer à différents niveaux des plantes de piment et d'être à l'origine de rabougrissements importants chez ces plantes sont mal équipés pour provoquer des altérations foliaires 29 jours après l'inoculation. Ainsi, un descendant de P3R3a3, qui a été réisolé de l'épicotyle des plantes de piment et qui a provoqué un indice de rabougrissement de l'ordre de 80%, était incapable de procurer des symptômes foliaires chez ces plantes.

La même observation a été constatée avec un autre descendant de P3R3a3 vis-à-vis de la tomate. En effet, il a été retrouvé 36 jours après l'inoculation dans l'épicotyle des plantes, mais ces dernières n'ont pas présenté de rabougrissement important, ni de symptômes foliaires.

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 de *V. albo-atrum* dans les différents niveaux des plantes et d'autre part ceux responsables de l'altération de la croissance de ces plantes.

L'agressivité appréciée par le pouvoir pathogène des descendants des lignées obtenus après passages successifs du *Verticillium* sur le piment peut être réduite vis-à-vis de l'hôte naturel : la tomate. C'est le cas de tous les descendants de P3R3a4. À la fin de l'expérimentation aucune plante n'a manifesté le moindre trouble de croissance ou d'altérations foliaires. À l'inverse, ces descendants sont tous pathogènes vis-à-vis du piment.

Il apparaît donc qu'il existe un lien entre l'augmentation du pouvoir pathogène vis-à-vis du piment jeune et sa diminution vis-à-vis de la tomate. L'altération de la croissance du piment peut aller de pair avec l'élimination de ce symptôme chez la tomate.

Ce qui ressort de ces travaux, c'est la possibilité pour une espèce parasite confrontée d'une manière continue à un hôte inhabituel, d'élargir progressivement ses aptitudes parasitaires et pathogènes et de donner de nouvelles lignées plus agressives. Ceci peut expliquer comment de nouvelles variétés introduites peuvent modifier la structure de la population d'un agent pathogène.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Aleksic Z., Aleksic D. & Sutic D. (1972) La pénétration du *Verticillium albo-atrum* R. et B. dans le poivron (*Capscium* sp.) différemment résistant au parasite. *Actas III. Congrès Un. Fitopatol. Méditerran.*, Oeiras, 22-28 Outubro, 535-539
- Beye I. (1985) Analyse des interactions entre la résistance générale de l'hôte et l'agressivité du parasite: Cas de la verticilliose de la tomate. Thèse Docteur Ingénieur, Univ. Paris-Sud
- Douira A. & Lahlou H. (1989) Variabilité de la spécificité parasitaire chez *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold, forme à microscélérotés. *Cryptogamie Mycol.* 10 (1): 19-32
- Douira A. & Lahlou, H. (1990) Effects of selective pressure exerted by the host on the pathogene. Case of tomato and pepper wilt disease. *8th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union Agadir Morocco* : 133-136
- Douira A., Lahlou H., Elhaloui N.E. & Bompeix G. (1994) Mise en évidence de la variabilité du pouvoir pathogène dans la descendance d'une souche de *Verticillium albo-atrum*, forme à microscélérotés, après son adaptation à une nouvelle plante hôte et retour sur la plante d'origine. *Rev. Fac. Sci. Marrakech* (8): 107-118

- Douira A, Ben Kirane R., Ouazzani Touhami A., Okeke B. & Elhaloui N.E. (1995) *Verticillium* wilt of pepper (*Capsicum annum*) in Morocco. *J. Phytopathology* 143 : 1-4
- Evans G. & McKeen C.D. (1975) A strain of *Verticillium dahliae* pathogenic to sweet pepper in south western Ontario Canada. *J. Pl. Sc.*, 55 : 857-859
- Klebahn H. (1913) Beitrage zur kenntnis der fungi imperfecti. I. Eine *Verticillium*. Krankheit anf Dahlien. *Mykol. zbl*, III, 49-66
- Lahlou H. (1974) Étude des caractéristiques morphologiques et biologiques de champignons parasites du genre *Verticillium*. Leur valeur taxonomique pour identifier les souches isolées au Maroc. *Al Awamia* 50: 1-87
- Lahlou H. (1983) Variabilité intraclonale de la morphologie et du pouvoir pathogène de *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold, forme à microsclérotés. Thèse Doctorat d'État, Univ. Mohammed V, 229p
- Sebti S. (1982) Essai d'analyse du pouvoir pathogène de *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold. Thèse Doctorat 3ème cycle. Univ. Paris Sud-Orsay
- Talboys P.W. (1984) Chemical contr of *Verticillium* wilt. *Phytopathologia Mediterranea* 23: 163-175
- Van Der Plank J.E. (1968) Disease resistance in plants. Academic Press, New York and London, 211p
- Vigouroux A. (1971) Hypothèse pour expliquer la diversité du comportement pathogène des souches de *Verticillium*. *Symposium International de Verticillium*, 21-24 sept., Wye College, Londres