

Modes d'invasion et d'expression de *Botrytis cinerea*, champignon pathogène de la Vigne

par Alphonsa C.-Manjiyil^{1,2}, Fabienne Remize¹, Hubert Dulieu², Jean Claude Fournioux², Charles Divies¹ & Maurice Bensoussan¹

¹ Laboratoire de Microbiologie, ENSBANA, 1, Esplanade Erasme;

² Institut Jules Guyot, IUVV, Université de Bourgogne, 21000 Dijon.

Reçu le 29 octobre 2001

RÉSUMÉ

Introduction : Le champignon phytopathogène *Botrytis cinerea* est un polyphage qui cause d'énormes dégâts en agriculture. La culture de la vigne représente en France des enjeux économiques importants. La vigne est touchée par la maladie de la pourriture grise due à *B. cinerea*, conduisant à des pertes de rendement importantes. L'objectif de cette étude est, compte tenu des effets sur le développement fongique de facteurs environnementaux (Sautour *et al.*, 2001a, b), la caractérisation du caractère pathogène et la comparaison des structures de populations de *B. cinerea* isolées de différentes régions de France : Bourgogne, Languedoc et Champagne.

Matériel et méthodes : Les suspensions de conidies à une concentration de 10^5 - 10^6 spores/ml sont déposées sur la surface extérieure de feuilles de vigne. Les étapes d'expansion de la nécrose sont suivies toutes les 24 h ; au bout de 10 jours, les symptômes sont classés selon leurs niveaux d'expression et leur mode de colonisation de la feuille. La liaison entre les caractères suivants : le début de l'infection, les symptômes, l'infection primaire, l'apparence du mycélium, la production des spores, a été testée sous l'hypothèse nulle d'une association aléatoire.

Résultats : Observation et classification de types des symptômes, selon le début de l'infection et les niveaux d'infection primaire :

Trois types de symptômes ont été identifiés : l'infection humide radiale (WN), l'infection ponctuelle (SN), et l'infection par les nervures (VN).

Les effets de l'infection primaire se manifestent au sixième jour suivant l'inoculation, comme une tache (*is*) ou comme une diffusion de lésion moyenne (*mi* < 40 mm) ou large (*li* > 40 mm).

Les tests statistiques de l'hypothèse nulle d'homogénéité (χ^2 d'homogénéité) montrent que certains couples de caractères ont une tendance à la corrélation : l'initiation de l'infection à 24 heures avec *li* ($\chi^2 = 31,98$), une forte association entre WN et *li* et *mi*, d'une part, avec SN et *is* d'autre part ($\chi^2 = 76,7$). On note une tendance à l'association entre WN et SN avec < 10, et VN avec > 10 jours ($\chi^2 = 14,9$) de l'apparition de mycéliums ; entre WN et SN, et < 10, VN et > 10 jours ($\chi^2 = 12,9$) de la production de spores. Ainsi, la vitesse d'apparition du mycélium et la formation des spores sont corrélés ($\chi^2 = 16,6$).

Perspectives : La variation de l'expression de la virulence pourrait être liée à la capacité d'infection du champignon pathogène, incluant la germination des spores, la pénétration dans les cellules hôtes vivantes et l'invasion tissulaire.

En combinaison avec des études de génétique moléculaire, le mécanisme de l'infection pourrait être expliqué. Ces recherches devraient conduire au contrôle efficace du développement de *B. cinerea*.

SUMMARY Modes of invasion and expression of *Botrytis cinerea*, a pathogenic fungus of vine

Introduction : *Botrytis cinerea* is a polyphagous pathogenic fungus, which causes enormous destruction in agriculture. Vine is one of the most economically important cultures in France. The disease, grey mould of vine caused by *B. cinerea* induces considerable quantitative and qualitative losses. The yield of grapes during harvest is reduced and the quality and the aroma of wine are highly affected. The objective of this study is, considering the effects of environmental parameters on fungal growth (Sautour *et al.*, 2001a, b), to characterize and compare the pathoge-

nic characters and the structure of the fungal populations of this pathogen from different regions of France : Burgundy, Languedoc and Champagne.

Materials and methods : The conidial suspensions (10^5 - 10^6 spores/ml) were inoculated on the outer surface of the leaves of vine. The stages of disease expansion and necrosed lesion formation were observed at every 24 h. At the end of 10 days the symptoms were named and classified according to their levels of expression and their mode of colonisation on the leaves. The relation between the characters, the ini-

tiation of infection, the symptoms, primary infection, appearance of mycelium, and the production of spores was tested under the null hypothesis of random association.

Results : Observation and classification of types of symptoms, considering the onset of infection and the levels of primary infection : three types of symptoms were identified, wet necrosis (WN), spot necrosis (SN), and vein necrosis (VN).

The expression of primary infection on sixth day followed inoculation manifested either as spot (*is*) or as medium expansion (*mi* < 40 mm) or as large expansion (*li* > 40 mm) of lesion.

Statistical tests of null hypothesis of homogeneity (χ^2 of homogeneity) revealed that certain pairs of characters have a tendency to correlate : the onset of infection at 24 hours with *li* ($\chi^2 = 31,98$), a strong

association between WN et *li* and *mi* on one hand and SN and *is* on the other hand ($\chi^2 = 76,7$). Likewise a tendency of association between WN and SN with < 10 days, and VN with > 10 days ($\chi^2 = 14,9$) of appearance of mycelium ; between WN and SN, and < 10 days, VN and > 10 days ($\chi^2 = 12,9$) of the production de spores. The rate of appearance of mycelium and the formation of spores are also correlated ($\chi^2 = 16,6$).

Perspectives : The variations of expression of virulence could be related to the capacity of the infection of the pathogen, which comprises germination of spores, penetration of the host cells and invasion of the tissues.

Combining the study of molecular genetics, the mechanisms of infection could be explained. This research might help to control the development of *B. cinerea* and concerned disease effectively.

BIBLIOGRAPHIE

- Sautour M., Rouget A., Dantigny Ph., Divies C. and M. Bensoussan, Prediction of conidial germination of *Penicillium chrysogenum* as influenced by temperature, water activity and pH. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2001a, 32, 131-134.
- Sautour M., Dantigny Ph., Divies C. and M. Bensoussan, A temperature-type model for describing the relationship between fungal growth and water activity. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001b, 67, 63-69.