QUELQUES ASPECTS DE LA BIOLOGIE DU BOTRYTIS CINEREA PERS., AGENT DE LA POURRITURE GRISE DES RAISINS

J. BULIT et R. LAFON
Station de Pathologie Végétale
Centre de Recherches de Bordeaux - I.N.R.A.
Pont-de-la-Maye (France)

« La pourriture grise s'est manifestée de tous temps, d'une façon plus ou moins grave, dans le vignoble français ; mais c'est surtout depuis une vingtaine d'années, depuis que le vignoble a été reconstitué par la voie du greffage, que ses ravages sont devenus fréquents et considérables, et c'est depuis cette époque aussi que l'on s'inquiète réellement de la combattre ».

C'est par ces lignes que PERRIER de la BATHIE, Professeur d'Agriculture à Saintes, commence un article intitulé « Recherches sur le traitement de la pourriture grise », dans la Revue de Viticulture d'avril 1904.

Il poursuit en citant les nombreux produits essayés, sans succès d'ailleurs, pour combattre la maladie, depuis les sels de métaux lourds — cuivre, fer, mercure — les poudres les plus diverses — houille, coke, charbon de bois, cendres, ciment, plâtre — en passant par les bouillies à l'alun, la chaux, l'alumine, etc... sans oublier la « matarotine « » mixture complexe, bizarre, inefficace et coûteuse ».

Dans la même revue et vers la même époque, août 1906, GUILLON commente aussi dans ses « Recherches sur le développement et le traitement de la pourriture grise des raisins : « La pourriture des raisins cause des dégâts considérables. Il serait facile par une enquête de montrer combien de millions cette affection enlève chaque année à la viticulture ».

Les préoccupations soulevées par la pourriture grise ne sont donc pas nouvelles et ces écrits du début du siècle ont conservé un caractère d'actualité regrettable.

Il semble même que les dommages aillent en s'aggravant avec le temps. Certes, il est signalé des années anciennes remarquables par le développement de la pourriture, telles 1896, 1900, 1901, 1902, 1903, mais en 1905 (année « normale » il est vrai quant à la maladie) les dégâts dans les Charentes étaient évalués par GUILLON à un quart ou un tiers de la récolte. Ces dernières années, dans beaucoup de vignobles, les pertes ont été très supérieures à ces valeurs.

L'importance de la pourriture grise des raisins depuis plus de 80 ans a évidemment provoqué de nombreux travaux consacrés à la maladie et au champignon qui en est le responsable, le **Botrytis cinerea** Pers. Leur nombre est encore considérablement augmenté par le fait que ce champignon n'est pas spécifique de la vigne mais qu'il s'attaque également à d'autres plantes cultivées, arbres fruitiers, plantes maraîchères et ornementales, pour lesquelles il est fortement dommageable.

Tous ces travaux livrent sur le comportement et les exigences du parasite, des connaissances indispensables à mettre en œuvre pour arriver à une lutte efficace à son égard.

Dans ce qui suit, nous exposons quelques aspects de la biologie du **B. cinerea** tels qu'ils ressortent d'un certain nombre de données bibliographiques et des travaux en cours à la Station de Pathologie végétale du Centre I.N.R.A. de Bordeaux.

CONSERVATION DU PARASITE

La conservation du parasite, lorsque les conditions de milieu lui deviennent défavorables, est assurée de façon manifeste par les sclérotes qui, par définition, sont des organes de résistance. Mais elle peut être assurée aussi par le mycélium et les spores.

Chez la vigne, les sclérotes sont parfois nombreux sur les sarments, engagés plus ou moins dans les tissus corticaux, fixés solidement dans le rhytidome. Ils sont en général plus abondants vers l'extrémité distale des rameaux, mais se rencontrent aussi à leur base. Un cépage en particulier, l'Ugni blanc, en porte très souvent, localisés surtout au tiers supérieur des sarments. Il semble que l'aoûtement incomplet de l'extrémité des rameaux chez certains cépages soit un facteur favorable au développement de ces organes de conservation. Donc, si la taille supprime beaucoup de sclérotes, elle ne les élimine pas tous. ARNAUD (1931), VIENNOT-BOURGIN (1949) et d'autres auteurs sont unanimes à déclarer

que les sclérotes sont capables de rester en état de vie latente pendant plusieurs mois et peuvent par conséquent permettre sans difficulté la conservation du parasite pendant la période hivernale.

JAN (1967) précise les conditions optimales pour la formation **in vitro** des sclérotes. La température est le facteur déterminant, et c'est à 15° C que la plupart des souches de **Botrytis cinerea** forment le plus grand nombre de sclérotes. L'obscurité est un facteur favorisant très net. Ces conditions se trouvent remplies dans la nature dès l'automne, période plus fraîche et de jours courts à laquelle on observe l'apparition des sclérotes en abondance.

Losque les conditions de milieu ambiant redeviennent favorables au développement du champignon, les sclérotes prennent une vie active, ils « germent » en quelque sorte, et théoriquement peuvent donner naissance à deux types de fructifications, des apothécies ou des conidiophores avec conidies.

La germination des sclérotes par formation d'apothécies est signalée (DE BARY, 1886 ; RAVAZ, 1922). DRAYTON (1937) donne la recette pour l'obtenir et par la suite GROVES et DRAYTON (1939), GROVES et LOVELAND (1953) reprenant cette technique d'obtention des apothécies peuvent établir définitivement le lien qui existe entre la forme imparfaite **Botrytis cinerea** et la forme parfaite **Botryotinia fuckeliana.** C'est là le fait essentiel à retenir sur ce mode de germination des sclérotes, car dans la nature il semble extrêmement rare, et les ascospores de **Botryotinia fuckeliana** ne peuvent jouer aucun rôle dans l'épidémiologie de la pourriture grise. Encore en 1968, HERISSE tente d'obtenir des apothécies à partir de sclérotes placés dans des conditions variées, mais qui toutes peuvent exister dans la nature. Il obtient seulement quelques ébauches qui avortent.

La germination des sclérotes se fait donc uniquement par production de conidiophores fructifères. Elle est déclenchée essentiellement par l'humidité. A 20° C, des sclérotes sur un substrat humide engendrent des conidiophores en trois à quatre jours. HERISSE (1968) et nous-mêmes (1969) avons fait chez la vigne une étude préliminaire sur le potentiel de fructification des sclérotes et les conditions de leur épuisement. Dès la fin de l'hiver ou le début du printemps, les sclérotes portés par les rameaux se couvrent de conidiophores et de conidies lorsque le temps est humide et doux. Cette fructification est facile à observer dans les fagots de sarments réunis en tas, mais elle se produit aussi sur les débris

de rameaux restés dans le vignoble à la surface du sol ou même légèrement enfouis. Pendant tout le mois de mai les sclérotes possèdent encore d'importantes facultés de sporulation, surtout ceux qui sont à l'abri de l'action directe de la pluie et du soleil. Plus tard, ils se vident et se décomposent. Mais ils ont largement rempli leur rôle puisque formés à la fin d'une année, ils émettent des spores l'année suivante, encore longtemps après le départ en végétation de la vigne. De ce point de vue, la destruction ou l'enfouissement précoce des bois de taille est certainement recommandable pour réduire l'inoculum à proximité des vignobles en début de saison.

Indépendamment des sclérotes qui permettent une conservation certaine de longue durée, le mycélium logé dans les anfractuosités de l'écorce peut avoir le même rôle (VIENNOT-BOURGUIN, 1949) ; il est capable de produire directement des conidiophores, ou si les conditions ambiantes sont moins bonnes, des sclérotes qui germeront plus tard.

On peut se demander aussi s'il n'existe pas du mycélium latent dans les bourgeons de la vigne comme il y en a dans ceux des arbres fruitiers ainsi que le montre BONDOUX. Pour répondre à cette question, nous avons procédé en 1969 et 1970, pendant l'hiver, à des analyses **in vitro** de la flore des bourgeons. Il est tout à fait remarquable de noter qu'en aucun cas le **B. cinerea** n'a été mis en évidence dans la mycoflore des bourgeons de la vigne. S'il s'y trouve, il doit être rare ce qui minimise l'importance de ce mode de conservation éventuel.

Enfin, les spores peuvent perpétuer le parasite. Elles conservent, au moins en partie, leur faculté germinative pendant un mois après leur dissémination (WILSON, 1937). Leur rôle est sans doute plus important au printemps et surtout à l'automne, que pendant l'hiver.

Quel que soit le mode de conservation de **Botrytis cinerea** — sclérotes ou mycélium — on voit qu'il y a toujours en fin de compte production de conidies qui sont des organes de dissémination.

Ce sont les conditions de cette dissémination qui vont nous retenir maintenant.

DISSEMINATION DES CONIDIES

Les conidiophores du **Botrytis cinerea,** qui mesurent de 1 à 3 mm et portent des grappes terminales de conidies, donnent prise au vent et à la pluie, agents atmosphériques très efficaces pour la dissémination.

En l'absence de pluie, la longueur des conidiophores est telle qu'elle place les bouquets terminaux de conidies au-dessus de la couche d'air calme, qui, selon INGOLD, enveloppe les organes végétaux sur une épaisseur de 50 à 100 μ et les expose directement à la turbulence de l'air. Les conidies peuvent alors être détachées de leur support et entraînées par le vent.

PAWSEY et HEATH (1964) rendent compte d'un essai de capture de spores réalisé dans la région de Nottingham. Tous les jours pendant un an une boîte de Pétri contenant un milieu nutritif gélosé est laissée ouverte pendant cinq minutes au milieu d'une prairie d'un hectare et demi environ. Après incubation, les colonies développées dans la boîte sont identifiées et dénombrées. Les spores du **B. cinerea** représentent sur un an 5 p. 100 du total des captures (350 sur 7200) — 73 p. 100 appartiennent au **Cladosporium herbarum** — et leur concentration varie selon les saisons. A partir de juin, il y a une brusque augmentation du nombre des conidies dans l'air et pendant les quatre mois de juin, juillet, août et septembre, 70 p. 100 des captures de toute l'année sont réalisées.

HERISSE s'inspire de la technique précédente et tente dans l'été de 1968 des captures de spores de **Botrytis** dans le vignoble. Bien qu'utilisant une dizaine de boîtes de Pétri, il ne capture qu'un très petit nombre de conidies et ne met en évidence aucune variation sensible de juin à septembre.

L'étude des variations de la sporée aérienne dans le vignoble renseigne sur la dispersion des conidies du **B. cinerea** dans le temps et l'espace en fonction des facteurs du climat et indique les périodes et les conditions dans lesquelles le parasite est le plus abondant et par conséquent le plus menaçant. Devant le peu de connaissances acquises actuellement sur ce sujet, nous en avons repris l'étude en utilisant des appareils capteurs de spores (appareil de Hirst et appareils I.N.R.A.). Sur un an d'observations on constate que :

- il n'y a pratiquement pas de conidies de **B. cinerea** dans l'air pendant les mois d'hiver,

- elles font leur apparition dans la sporée aérienne du vignoble vers le mois de mai et leur nombre par mètre cube d'air reste relativement faible jusqu'à fin août,

- mais en septembre, il augmente rapidement et reste très élevé encore en octobre, après quoi il diminue progressivement pour être quasiment nul à partir de décembre.

De ces premières observations il semble se dégager que l'inoculum aérien dans un vignoble augmente considérablement au moment où la vigne arrive au stade particulièrement sensible de la véraison, ce qui rend compte de la difficulté éprouvée pour combattre la pourriture à l'approche de la vendange. Comme au printemps l'inoculum est faible, le niveau élevé qu'il atteint à la fin de l'été résulte certainement d'un processus cyclique de multiplication du champignon. On peut alors penser que la lutte chimique ne doit pas viser seulement à protéger les baies mûrissantes mais aussi à entraver précocement l'installation et le développement du **B. cinerea** sur tous les organes sensibles de la vigne.

Dans le cas de pluie, lorsque les gouttes d'eau heurtent la surface des organes végétaux portant le champignon sporulé, les chocs provoquent le détachement des spores des conidiophores et leur mise en suspension dans l'air. Il se produit aussi des éclaboussures de gouttelettes qui entraînent des spores.

D'après HIRST et STEDMAN (1963), la dispersion des spores par les gouttes de pluie peut résulter de deux effets, qui se complètent et s'équilibrent, un secouage mécanique des conidiophores et des mouvements d'air qui atteignent la vitese de 100 mètres par heure pour des périodes brèves et sur des distances courtes. Pour beaucoup de champignons, la pluie au début fait augmenter la concentration des spores dans l'air, puis ensuite la fait diminuer par lessivage. Ce phénomène est surtout sensible lors des fortes pluies qui comportent une proportion importante de grosses gouttes, et pendant la première moitié environ du temps des averses. En ce qui concerne **Botrytis cinerea,** HIRST et STEDMAN montrent à l'aide d'un dispositif expérimental que la quantité de spores capturées pendant la chute de gouttes d'eau est de 3 à 8 fois ce qu'elle est avant, et qu'ensuite elle diminue énormément.

En résumé, si la dissémination des spores de **Botrytis cinerea** est possible par le vent, elle est favorisée par la pluie, qui apparaît ainsi comme un des facteurs importants du développement de la pourriture grise, et dont l'importance se confirme lorsqu'on étudie la germination des spores et la contamination.

GERMINATION DES CONIDIES

La germination des conidies du **Botrytis cinerea** est sous la dépendance de facteurs externes, tels que la température, l'eau, la lumière, etc., et de facteurs internes, inhérents aux spores elles-mêmes, l'âge par exemple.

Nous allons évoquer successivement l'action de ces divers facteurs.

FACTEURS EXTERNES

1° La température, l'eau et l'humidité

— En ce qui concerne la température, la germination ne montre pas d'exigences particulières et se manifeste dans une gamme très large : elle peut débuter entre — 1° C et + 1° C et se poursuivre jusqu'à 40° C, mais en dessous de 8° C et au-dessus de 28° C, elle est ralentie et faible (ISTVANFFI, 1905 ; WILSON, 1937 ; D. LOUIS, 1963). D'après D. LOUIS — pour ne citer qu'un auteur parmi ceux qui traitent de la question et qui s'accordent à peu près tous — l'optimum de germination se situe à 18° C, température à laquelle 100 p. 100 des spores germent en 20 heures. Il suffit d'un faible écart de température pour ralentir sensiblement la vitesse de germination, puisqu'à 16° C et 20° C, il faut 28 heures pour atteindre le taux de 100 p. 100 de germination.

— Si la germination s'accomode de températures diverses, les besoins en eau qu'elle requiert sont par contre plus précis.

En nous référant à JARVIS (1962), nous apprenons qu'à 21° C, des spores sèches saupoudrées sur des fraises, germent difficilement dans une atmosphère voisine de la saturation alors que dans un film d'eau, le pourcentage de spores germées est déjà appréciable au bout de deux heures et relativement élevé après quatre heures. Ces résultats de JARVIS concordent avec ceux de SNOW (1949) qui avait montré précédemment que des conidies sèches sur une pellicule de gélatine ne commencent à germer qu'au bout d'un jour à 100 % d'humidité relative, et de deux jours à 93 et même 95 % d'humidité.

Il est donc établi que l'eau sous son état liquide, si elle n'est pas absolument indispensable pour permettre la germination des spores, accélère cependant beaucoup le phénomène et joue par conséquent un rôle de premier plan dans le développement de la pourriture grise. Nous devons toutefois préciser que l'eau chimiquement pure n'est pas hautement favorable à la germination des spores. D. LOUIS, dans ses essais, obtient avec de l'eau du robinet de meilleurs résultats qu'avec de l'eau distillée, sans doute parce que la première contient en solution des substances qui font défaut dans la seconde. Comme dans la nature l'eau pure n'existe pas, ou du moins ne le reste pas, c'est en fait dans des solutions variées que se trouvent placées les spores de champignons. Ces solutions ont une action sur la germination des conidies du **B. cinerea.**

2° Les solutions nutritives

Signalons pour commencer que de nombreux auteurs mentionnent l'effet stimulant sur la germination des spores du **B. cinerea** des jus de plantes, jus de navet (BLACKMAN et WELSFORD, 1916), de laitue (WOOD, 1951), de fraise (GILLES, 1959), ainsi que des bouillons, bouillon de carotte par exemple (Mlle CHANCOGNE et FRUCHARD, 1965).

Des solutions chimiques plus ou moins complexes ont également la même action. KOSUGE, DUTRA et HEWITT (1962) rapportent qu'une solution tamponnée à pH 5,2 à base de l-sérine, d-glucose et acétate de sodium (chaque substance à 0,002) est très efficace pour déclencher le processus de germination.

Ce sont ces observations sur l'action stimulante de solutions nutritives naturelles ou artificielles qui ont conduit à une étude du milieu où se trouvent les spores lorsqu'elles arrivent au contact des organes végétaux à contaminer. Déjà BROWN (1922) fait valoir que les gouttes d'eau — pluie, brouillard ou rosée — en restant sur les organes végétaux, se chargent de résidus de la transpiration, tels que carbonates de potassium et de calcium (ARENS, 1934, ENGEL, 1939) et de produits d'excrétion, en particulier de phosphates et de substances de croissance (ARENS, 1939). Et plus les gouttes persistent sur les organes végétaux, plus la concentration de ces substances augmente. Dans la plupart des cas, les substances dissoutes ont une action stimulante, mais elles peuvent aussi être neutres, ou avoir une action inhibitrice.

Des expériences de lavage de feuilles, fleurs et fruits sont concluantes à cet égard. D'après KOSUGE, DUTRA et HEWITT (déjà cités), l'analyse de l'eau de lavage (eau additionnée d'éthanol) de baies de raisins met en évidence des sucres (glucose et fructose), des acides aminés (acides glutamique et aspartique, alanine, valine, proline et sérine) ainsi que probablement d'autres acides aminés et organiques non identifiés. Plusieurs de ces composés, seuls ou en combinaison, les sucres notamment, sont capables d'augmenter le pourcentage et la vitesse de germination des conidies de **B. cinerea.** ORELLANA et THOMAS (1962) citent dans l'eau de lavage de capsules de ricin, toujours des sucres, glucose et fructose, et des acides aminés, acides glutamique et aspartique, alanine, histidine et un composé voisin de la tyrosine. DEVERALL (1967) cite en plus, l'acide galacturonique parmi les excrétions foliaires stimulantes de la fève. On peut donc conclure avec GAÜMANN, que les organes végétaux stimulent par leurs propres sécrétions la germination des agents pathogènes qui se trouvent à leur surface.

La question qui se pose logiquement maintenant est de connaître la nature des substances stimulantes dans le cas du **B. cinerea.** Des travaux déjà mentionnés, ceux de KOSUGE, DUTRA et HEWITT, ceux d'ORELLANA et THOMAS, il ressort que les sucres solubles sont parmi les substances les plus actives pour stimuler la germination des conidies. ORELLANA et THOMAS attribuent même le peu de sensibilité des capsules vertes de ricin à un taux trop faible de sucres solubles qui nuit à une germination rapide des spores. Il faut pourtant signaler que l'unanimité n'est pas faite sur l'action prépondérante des sucres. JARVIS (1962) dans ses essais sur fraises, précise que le stade de maturité des fruits — vert, blanc-rose et rouge — n'influence pas la germination des spores.

Il est peut être difficile alors d'arrêter son opinion. Cependant, les observations que l'on fait dans le vignoble montrent souvent un développement brutal de la pourriture grise à partir de la véraison et on est enclin à penser que la maturation débutante du raisin n'y est pas totalement étrangère.

Des analyses de la mycoflore interne de baies de raisins intactes extérieurement, prises au hasard dans un vignoble (analyses que nous avons réalisées en 1969) ont révélé qu'à la mi-août, soit au début de la véraison, aucune baie n'hébergeait le **Botrytis,** alors que le 9 septembre, le champignon était présent dans la plupart des grains.

Nous ne terminerons pas ce paragraphe sans rapporter les conclusions nuancées de deux auteurs, KOVACS et SZEOKE (1956), qui ont étudié l'excrétion cuticulaire de sept plantes différentes et son action sur trois champignons, dont le **B. cinerea.** Ces conclusions sont que tous les produits de l'excrétion présentent une action stimulante et aussi une action inhibitrice, le sens de l'action dépendant de la concentration de la substance et de la plus ou moins grande sensibilité du parasite à cette substance. Ils ajoutent que ces substances sont libérées assez lentement par les plantes.

On peut en déduire une explication séduisante de l'effet de pluies prolongées sur le développement de la pourriture grise : les pluies prolongées apportent non seulement l'eau indispensable à la germination des spores mais encore une eau qui se charge des substances convenablement diluées, susceptibles d'activer cette germination.

3° La lumière et le pH

Le rôle du pH semble assez peu important étant donné que le **B. cinerea** est accomodant. Nous avons fait état d'expériences avec des solutions tamponnées à pH 5,2 (KOSUGE, DUTRA et HEWITT, 1962) et parlé des excrétions cuticulaires qui sont neutres ou légèrement alcalines, à pH de 7,2 à 7,8. Quant à la lumière, elle favorise la germination et exerce une action particulièrement intéressante sur le filament germinatif : le phototropisme négatif du filament germinatif, mis en évidence par CARLILE en 1965, pourrait contribuer à la pénétration de **B. cinerea** dans l'hôte.

FACTEURS INTERNES

1° L'âge des spores

D. LOUIS, déjà citée, montre nettement qu'à 18° C, des spores âgées de 8 jours, donc jeunes, germent à 100 % alors que le taux de germination de spores âgées d'un mois atteint à peine 10 %. De même, Mlle CHANCOGNE et LEFUMEUX (1967), pour des essais de fongicides, utilisent des spores encore plus jeunes, formées sur des cultures de 5 à 6 jours seulement. Et la plupart des auteurs se servent de cultures sporulantes d'une semaine environ. MUNIO (1968) pourtant, dans ses essais de sensibilité de **B. cinerea** aux fongicides, est moins strict et indique des résultats équivalents avec des spores de une à quatre semaines.

2° Concentration en spores des suspensions

Le plus souvent les auteurs apprécient globalement l'effet de la concentration en spores sur la contamination, sans en dissocier nettement le phénomène de germination.

On relève cependant des données assez précises, mais qui varient dans la proportion de 1 à 100 : par exemple, des essais sont réalisés avec 10.000 spores par ml (Mlle CHANCOGNE et LEFUMEUX, 1967), 10.000 à 20.000 (Mlle CHANCOGNE et FRUCHARD, 1965), 30.000 (BOHNEN, 1967), et aussi de 100.000 à 1.000.000, ce qui pour DEVERALL serait un optimum. MUNIO (1968) pour sa part expérimente avec 500.000 spores par ml et toujours avec succès.

Nous n'insisterons pas davantage sur les facteurs internes, car leur importance est purement théorique. Dans la nature, le renouvellement de l'inoculum et sa densité variable font que les meilleures conditions pour la germination des spores se trouvent certainement toujours réalisées.

CONTAMINATION DE LA PLANTE-HOTE

Nous supposons que le **Botrytis cinerea** est au contact de la plante-hôte, soit sous la forme de spores en germination, soit sous la forme de mycélium végétatif.

Les conditions de la contamination, les modes de pénétration et les mécanismes mis en jeu ont fait l'objet d'études dont nous allons maintenant rapporter l'essentiel.

CONDITIONS DE LA CONTAMINATION

1° Action de la température et de l'humidité

BUTLER et JONES (1949) montrent que l'infection du haricot, qui aboutit à l'extériorisation des symptômes « taches de chocolat «, dépend de la température : 1° C est le minimum nécessaire, 20° C l'optimum et 30° C environ le maximum. A 20° C, l'infection est réalisée en 8 à 12 heures, alors qu'à 5° C il faut de 32 à 48 heures. LOUVET et DUMAS (1958) arrivent à la même conclusion à propos de l'infection de la laitue par les conidies du **Botrytis,** infection qui peut se produire de 0 à 30° C avec un optimum entre 15° C et 20° C. Selon GILLES (1959), la contamination de fraises à l'aide de spores est possible si l'hygrométrie atteint 90 % et si la température se maintient entre 15 et 20° C.

En reprenant ces éléments, HERVE et MOYSAN (1967) tentent de déterminer les époques de contamination par le **Botrytis,** dans la nature. Dans plusieurs champs de fraisiers en Bretagne, ils relient l'évolution de la maladie aux données climatiques enregistrées, et ils constatent que des contaminations se produisent lorsque pendant deux jours au moins la température oscille entre 14 et 16° C et que simultanément un degré hygrométrique supérieur à 90 se maintient pendant 14 à 16 heures. HERVE et MOYSAN indiquent de plus que la pourriture fait son apparition dans les champs de fraisiers à la suite de deux périodes favorables à la contamination et qu'elle atteint son maximum de développement à la suite de trois périodes de contamination. Les deux auteurs concluent qu'il ne semble pas impossible de prévoir l'évolution de la pourriture en culture, conclusion évidemment très importante qui est à souligner.

Il y a donc unanimité remarquable dans la définition des conditions optimales de température et d'humidité pour la contamination.

A ce point de l'exposé, il convient de revenir sur les travaux de JARVIS, auteur déjà cité à propos de la germination des conidies, travaux

selon lesquels le film d'eau qui favorise grandement la germination des spores est également nécessaire pour que la contamination ait lieu. Et HENNEBERT et GILLES (1958) donnent les précisions désirées : à 13-14° C et avec une humidité relative maximum, si le film d'eau sur des fraises persiste 1,5 heures, les symptômes d'attaque des fruits apparaissent au bout de 4 jours, s'il persiste 10 heures, les lésions sont visibles dès le deuxième jour. On voit ainsi toute l'importance de l'eau sous la forme d'un film liquide adhérent à la surface des organes sensibles. Des observations de plein champ indiquent que de tels films liquides ne persistent pas toujours suffisamment longtemps pour permettre la contamination : les spores germent, mais la contamination n'a pas lieu. Ils peuvent persister plus longtemps en certaines localisations des organes végétaux où l'eau s'accumule. C'est le cas par exemple des bords et extrémités de limbes foliaires ; et de fait, sur la vigne, il n'est pas rare de voir des attaques de **Botrytis** localisées à la partie marginale des feuilles (brûlure de la vigne décrite par VIALA en 1894). C'est le cas encore des inflorescences compactes, comme la grappe. Chez la vigne, toujours, on observe les dégâts de pourriture les plus graves à partir de l'époque où lés grappes de raisins se ferment et on constate que les cépages qui fructifient en grappes serrées sont plus atteints que ceux qui forment des grappes lâches. Un travail d'ORELLANA et THOMAS (1963) est particulièrement démonstratif à ce sujet. Les auteurs comparent les degrés d'attaque par le **Botrytis ricini,** de deux catégories de ricin, les uns à inflorescences lâches, les autres à inflorescences très compactes.

Pourcentage de racèmes infectés

Ricins à entre-nœuds normaux	
à inflorescences lâches	31
— compactes	54
Ricins à entre-nœuds courts	
à inflorescences lâches	54
— compactes	80

(le raccourcissement des entre-nœuds exagère encore la sensibilité).

L'effet prépondérant de l'eau et de la température pour la contamination étant bien démontré, la connaissance des limites d'action de ces facteurs est indispensable pour conduire une lutte chimique à l'égard du **B. cinerea.** A côté des travaux cités plus haut qui intéressent le fraisier, STELLWAAG-KITTLER (1969), à propos de la vigne, donne comme conditions pouvant déclencher la contamination un optimum de température

d'environ 20° C et une durée d'humectation des organes sensibles de 16 heures, mais il ajoute que la contamination peut s'effectuer à 12° C si la durée d'humectation est de 24 heures.

En 1969, nous avons réalisé dans un vignoble un essai dont le but était de reconnaître **a posteriori** les périodes au cours desquelles des contaminations avaient eu lieu et de définir les conditions de température et d'humectation qui s'étaient trouvées remplies à ces périodes. Il est apparu que les contamination s'étaient faites lorsque la température était entre 15 et 20° C et la durée d'humectation au moins égale à 15 heures. On a constaté que quatre traitements préventifs (à la dichlofluanide) effectués à la veille des contaminations avaient protégé le vignoble de façon aussi efficace que toutes les combinaisons de traitements essayées, y compris celle de quatorze traitements qui, dans le protocole expérimental, représentait la couverture fongicide maximum (un traitement tous les dix jours). En 1970, des essais sont en place, dont les résultats devraient compléter les précédents.

Remarquons pour terminer que l'action de la température, de l'eau et de l'humidité est la même sur la germination des spores et la contamination et que ces facteurs s'exercent sensiblement dans les mêmes limites. Un autre facteur retentit de la même façon sur germination et contamination : c'est la base nutritive, dont il est question maintenant.

2° La base nutritive

Une des caractéristiques du **B. cinerea** est d'avoir un comportement de saprophyte aussi important que le comportement de parasite. Déjà en 1925, STEVENS indique que le **B. cinerea** ne contamine les tissus végétaux en croissance et ne devient un parasite agressif qu'après avoir développé un mycélium saprophyte vigoureux. Un processus qui est souvent observé est le suivant : le champignon colonise des débris végétaux divers sur le sol, des plantes ou parties de plantes sénescentes ou mortes, s'y développe vigoureusement et à partir de cette base contamine des organes verts et sains. Il y a de nombreuses remarques faites à ce sujet. Citons :

— à propos de la laitue : LOUVET et DUMAS (1958), attaque du collet par le champignon installé d'abord sur des débris végétaux au sol, ou les feuilles sénescentes de la base ;

LAFON (1967), même constatation à partir également des feuilles de la base et aussi des lésions accidentelles

ou dues à d'autres parasites. C'est ainsi que les nécroses marginales du Tip burn sont souvent couvertes de pourriture grise.

— à propos du tabac : taches de pourriture sur les feuilles aux endroits où sont tombés des pétales flétris (BUTLER et JONES, 1949).

— à propos du fraisier : BHATT et VAUGHAN (1962), envahissement des fraises saines après une période préliminaire de croissance saprophyte sur des organes morts ;

GILLES (1967), installation du champignon sur les organes floraux flétris après la fécondation, point de départ des attaques ultérieures.

— à propos de la vigne : on observe souvent des foyers de pourriture ayant comme origine une feuille morte emprisonnée par une grappe au cours de son développement. Signalons cependant que le raisin est contaminé expérimentalement aussi bien par le mycélium que par les spores, que ces dernières soient dans une solution nutritive ou non (Mlle CHANCOGNE et FRUCHARD, 1967).

En résumé, il semble ressortir que la contamination des organes verts, sains et vigoureux, exige un potentiel infectieux important. Elle est surtout le fait du mycélium qui s'est développé à partir d'une base nutritive substantielle. Les spores ont un pouvoir infectieux plus limité, mais suffisant malgré tout pour contaminer des tissus âgés, débiles ou lésés, et elles assurent la première installation du champignon.

MODES DE PENETRATION

Les modalités de pénétration du **B. cinerea** dans les plantes ont retenu l'attention de nombreux auteurs. Et des avis ont été énoncés : pénétration directe à travers la cuticule des feuilles de fève (WILSON, 1937) et des fruits de tomate (AINSWORTH et collab., 1948), pénétration par les stomates des feuilles de lilas (PAUL, 1929), pénétration par les blessures des baies de raisin (NELSON, 1951). Ces résultats peuvent paraître contradictoires, ils ne le sont qu'en apparence. En 1963, D. LOUIS, déjà citée, a repris l'étude en expérimentant sur diverses plantes et avec plusieurs souches de **B. cinerea.** Selon ses conclusions, il existe trois principaux processus de pénétration :

— pénétration directe des filaments germinatifs des spores à travers les cellules épidermiques.

— pénétration également directe du mycélium.

— pénétration (des filaments germinatifs et du mycélium) par les lésions, naturelles ou provoquées.

Quant à la pénétration par les ostioles des stomates, son importance est réduite. Elles est possible, mais relève du hasard, aucune attraction particulière n'émane des stomates.

La pénétration directe des filaments germinatifs à travers l'épiderme est fréquente lorsque la cuticule est peu épaisse et n'offre pas une résistance mécanique trop grande. C'est le cas, par exemple, des feuilles de fève et de fuchsia, des pétales de cyclamen et de géranium, des très jeunes fruits de tomate (de 1 cm de diamètre) ; chez tous ces organes végétaux, l'épaissur de la cuticule va de 1,5 à 2,5 μ.

Le mycélium végétatif a un pouvoir contaminant supérieur à celui des filaments germinatifs — confirmation de ce qui a été dit plus haut — et sa pénétration directe est observée au travers de cuticules atteignant 4 à 5 μ d'épaisseur (feuilles de cyclamen, tomates de 3 cm de diamètre). Ce mode de contamination par le mycélium est très répandu, et certainement le plus important dans la nature.

Qu'il s'agisse de filaments germinatifs ou de mycélium, la pénétration est toujours facilitée par les lésions. Parmi les lésions naturelles, il faut compter les cicatrices foliaires, surtout juste après la chute des feuilles.

MECANISME DE LA PENETRATION

L'hypothèse d'une action chimique du filament germinatif ou du mycélium sur la cuticule à traverser, est évidemment très séduisante et les premiers auteurs l'ont adoptée d'abord, suivant les travaux de DE BARY (1886) sur le **Sclerotinia libertiana.** WARD (1888) admet que **B. cinerea** secrète un enzyme qui lui permet de pénétrer les parois cellulaires. SMITH (1902) pense que la pénétration du champignon se fait après qu'il ait tué les cellules de l'hôte par une sécrétion d'acide oxalique. Pour PELTIER (1912), il ne s'agit pas d'acide oxalique, mais d'un autre acide organique. BROWN (1915) fait des extraits de tubes germinatifs et trouve que ces extraits sont très actifs pour décomposer les tissus parenchymateux de beaucoup de fruits et légumes, mais qu'ils n'attaquent pas les cuticules. Il ne sépare pas d'enzymes et ne reconnaît pas d'acide oxalique. Il conclut que l'élément actif doit être une pectinase et que l'hypothèse de DE BARRY, SMITH, etc., sur la pénétration après que les cellules soient tuées, n'est pas fondée.

A partir de cette idée, on note une évolution. BLACKMAN et WELSFORD (1916), puis BOYLE (1921) procèdent à un examen cytologique des tissus attaqués par **B. cinerea.** Ils observent qu'un hyphe de pénétration précède toujours la mort des cellules. BLACKMAN et WELSFORD précisent de plus que le champignon perce la cuticule par pression mécanique (sur feuilles de fève). BROWN (1922), reprenant ses travaux précédents indique que les tissus parasités n'émettent de substances solubles que s'ils sont d'abord pénétrés par un hyphe.

Est-ce à dire que le débat soit clos et que la thèse de la pénétration mécanique soit totalement admise ? Il ne semble pas, puisqu'en 1959 HUSAIN et KELMANN reprennent l'hypothèse de WARD et ne rejettent pas l'idée d'une dissolution de la cuticule par des sécrétions chimiques. D'autres auteurs expriment des avis concordants bien que plus nuancés (THOMAS et ORELLANA, 1964).

Il n'est pas indispensable de prolonger le débat, et on peut admettre que la pénétration directe de l'épiderme par action mécanique est un fait acquis, même si dans certains cas elle est plus ou moins favorisée par une action chimique. L'action enzymatique est, par contre, importante à considérer dans l'installation du parasite dans la plante-hôte, où elle provoque une désorganisation des tissus en s'exerçant essentiellement au niveau de la lamelle moyenne des cellules.

***

Comme on le voit, pourriture grise et **Botrytis cinerea** suscitent continuellement des recherches et des expérimentations aussi nombreuses que variées. Et chaque fois qu'une mise au point des résultats acquis est réalisée, elle enregistre de nouveaux progrès (une mise au point récente fort bien documentée et illustrée est celle de GARTEL, 1970). On tend donc vers une connaissance de plus en plus approfondie de la maladie et du parasite. Comme par ailleurs, l'industrie chimique des produits antiparasitaires découvre des fongicides spécifiques du **B. cinerea,** préventifs ou même systémiques, et que dans ce domaine les progrès sont également substantiels, on peut espérer raisonnablement atteindre dans un avenir que chacun essaie de rendre aussi proche que possible, à une méthode de lutte efficace et économique contre la pourriture grise.