

- Rev. 7(13): 1-10.
- 27-Sauveur B., 1988. Reproduction and eggs production in poultry. Reproduction des volailles et production d'œufs, INRA Editions, Paris, France, 449p.
- 28-Tadondjou D.A.C., Ngoula F., Kana J.R., Mube H.K., Tegua A., 2014. Characterization of reproduction of local Barred male chicken of the western Highlands of Cameroun: Sexual Maturity, Fertility and Sperm Storage Term in Female. *J. Phys.pharm. Adv.* 4: 323-331.
- 29-Tamboura H.H., 2006. Activité biologique des extraits aqueux de *Holarrhena floribunda* (G. Don) Durand & Schinz (Apocynaceae) : Etude des effets de type hormone mâle chez le rat Thèse : Doc. Sc. Appliquée : Ouagadougou –Burkina Faso, 170 p.
- 30-Tchoffo H., Kana J.R., Ngoula F and al., 2017. Effects of Ginger (*Zingiber officinale*) Rhizomes Essential Oil on Some Reproductive Parameters in Laying Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Advances in Reproductive Sciences* 5 : 64-74.
- 31-Tchoffo H., Kana J.R., Ngoula F., Folack T.L.V and al., 2018. Growth Performance, Serum Biochemical Profile, Oxidative Status, and Fertility Traits in Male Japanese Quail Fed on Ginger (*Zingiber officinale*, Roscoe) Essential Oil. *Veterinary Medicine International*: 1-6.
- 32-Wilks C & Issembé Y., 2000. Les arbres de la Guinée Equatoriale : Guide pratique d'identification : région continentale. Projet CUREF, Bata, Guinée Equatoriale. 546 p.
- 33-Yahav S., 2009. Alleviating heat stress in domestic fowl: different strategies. *World's Poult.Sci.J.* 65 : 719- 732.

# Caractérisation de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. agent pathogène associé au dessèchement du manguier au Burkina Faso

Dianda Z. O<sup>1,2,4\*</sup>, Wonni I<sup>1,2</sup>, Fernandez D.<sup>3</sup>, Zombré T. Cyrille<sup>1,2</sup>, Ouédraogo S. L<sup>1,2</sup>, Sankara P<sup>4</sup>

## Résumé

Le manguier (*Mangifera indica* L.) est l'un des arbres fruitiers les plus importants des régions tropicales et subtropicales du monde. Le dessèchement est l'une des principales maladies du manguier au Burkina Faso. Sept espèces de champignon dont *Lasiodiplodia theobromae* ont été déjà inventoriées sur des manguiers malades. Cette étude vise à caractériser *L. theobromae* champignon pathogène, du manguier. Les isolats ont été caractérisés sur la base du taux de croissance, la couleur et la texture de la colonie sur milieu de culture PDA et la dimension des conidies. Des tests PCRs ont été réalisés sur 150 isolats à l'aide des amorces spécifiques (Lt347-F et Lt347-R). Des explants mycéliens ont été inoculés sur des feuilles et des mangues détachées. Les résultats révèlent la présence des conidies ovoïdes à ellipsoïdes de teinte marron. Les conidies ont une dimension moyenne de 21,46 x 12,07 µm. Le mycélium est cotonneux à duveteux de coloration grisâtre ou noirâtre avec une croissance rapide. Ces caractéristiques morphologiques sont proches de celles de *L. theobromae*. Par ailleurs, l'identité de 110 isolats a été confirmée suite aux tests PCRs. Tous les isolats testés ont induit des lésions nécrotiques brunâtres sur les feuilles et mangues détachées avec un degré d'agressivité différent. Cette étude a permis d'identifier et surtout de confirmer la pathogénicité de *L. theobromae*. L'absence des amplicons observée sur certains isolats laissent croire la présence d'autres espèces. Ainsi, des analyses phylogénétiques des séquences sont en cours pour détecter la diversité des espèces de ce genre sur la maladie au Burkina Faso.

**Mots clés :** Dessèchement, Manguier, Caractérisation, *Lasiodiplodia theobromae*, Burkina Faso

## Abstract

**Characterization of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl, a pathogen associated with mango dieback disease in Burkina Faso.**

Mango (*Mangifera indica* L.) is one of the most important fruit trees in tropical and subtropical zones of the world. Dieback is one of the main disease of the mango trees in Burkina Faso. Seven species of fungus, including *Lasiodiplodia theobromae* was already identified from mango trees diseased. This study aims to characterize *L. theobromae*, mango pathogenic fungus of mango. Isolates were identified on the basis of growth rate, color and texture of colony on PDA culture, length and width of conidia. PCR tests were carried out from 150 isolates using specific primers (Lt347-F and Lt347-R). Mycelial explants were inoculated onto detached leaves and mangoes. The results showed the presence of brown ovoid to ellipsoid conidia. The conidia had an average size of 21.46 x 12.07 µm. The mycelium is cottony to fluffy grayish or blackish in color with rapid growth. These morphological characteristics are close to those of *L. theobromae*. In addition, the identity of 110 isolates was confirmed following PCR tests. All the isolates tested induced brownish necrotic lesions on the leaves and detached mangoes with a different degree of aggressiveness. This study allowed to identify and especially all confirm the pathogenicity of *L. theobromae*. The absence of amplicons notified in some isolates suggests the presence of other species. Phylogenetic analyzes of the sequences are underway to detect the diversity of species of this genus on the disease in Burkina Faso.

**Keywords :** Decline, Mango, Characterization, *Lasiodiplodia theobromae*, Burkina Faso

<sup>1,2,4</sup>Dr Oumarou Zoéyandé Dianda, Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA)/Centre National de Recherche Scientifique et Technologique (CNRST), Station de Farako-Ba, 01 BP 910 Bobo Dioulasso 01, Burkina-Faso, [oumarou.dianda@yahoo.fr](mailto:oumarou.dianda@yahoo.fr)

<sup>1,2</sup>Dr Issa Wonni, Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA)/ Centre National de Recherche Scientifique et Technologique (CNRST), Station de Farako-Ba, 01BP 910 Bobo Dioulasso 01, Burkina-Faso, [wonniissa@yahoo.fr](mailto:wonniissa@yahoo.fr)

<sup>3</sup>Dr Diana Fernandez Institut de Recherche pour le Développement (IRD) UMR 186 IIRD, Cirad, univ. Montpellier "Interactions Plante-Microorganismes Environnement" (IPME) [diana.fernandez@ird.fr](mailto:diana.fernandez@ird.fr)

<sup>1,2</sup> Dr Cyrille Tinkl Zombré, Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA)/ Centre National de Recherche Scientifique et Technologique (CNRST), Station de Farako-Ba, 01BP 910 Bobo Dioulasso 01, Burkina-Faso, [cyrille.zombre@yahoo.fr](mailto:cyrille.zombre@yahoo.fr)

<sup>1,2</sup>Dr. Léonard Ouédraogo, Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA)/ Centre National de Recherche Scientifique et Technologique (CNRST), Station de Farako-Ba, 01 BP 910 Bobo Dioulasso 01, Burkina-Faso, [tinkoglega@gmail.com](mailto:tinkoglega@gmail.com)

<sup>4</sup>Pr. Philippe Sankara, Université Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO, École doctorale Science et Technologie, Ouagadougou, Burkina Faso, [philippe.sankara@ird.fr](mailto:philippe.sankara@ird.fr)  
\*Auteur pour la correspondance : DIANDA Z. Oumarou Tel : 00226 73690211/75333401 Email : [oumarou.dianda@yahoo.fr](mailto:oumarou.dianda@yahoo.fr)

## Introduction

Les mangues (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae) sont considérées comme des fruits délicieux et constituent l'une des principales cultures fruitières des régions tropicales et subtropicales du monde (Syed *et al.*, 2014). Au Burkina Faso, la mangue occupe la première classe en termes de production fruitière (APROMAB, 2018). La production et la commercialisation de la mangue constituent aujourd'hui l'une des filières porteuses. En effet, la production de mangue fraîche a connu une hausse en passant de 90 000 tonnes environ en 2017 à 200 000 tonnes en 2018 (APROMAB, 2018). En termes de ressource, la commercialisation de mangues fraîches et séchées a généré, en 2018, la somme de 21 617 643,11 USD.

En 2016, la valeur ajoutée de la filière mangue était estimée à 30 milliards FCFA avec une contribution au PIB de l'ordre de 0,5% et l'emploi de 27 809 personnes (Parrot *et al.*, 2017). En dépit de toutes ces données encourageantes la filière mangue est confrontée à de nombreuses difficultés phytosanitaires susceptibles de compromettre sa parfaite évolution. En effet, le dessèchement du manguier, encore appelé syndrome de mort subite ou mortalité des plantes du manguier (Khaskheli *et al.*, 2011) est considéré comme l'une des menaces les plus sérieuses dans toutes les régions productrices de mangues (Kazmi *et al.*, 2005). L'explosion de cette maladie a été constatée en 2015 et n'a cessé de prendre de l'ampleur dans différentes localités de productions de mangues du Burkina Faso. En 2016, l'incidence du dessèchement du manguier variait de 43,6% à 81,6% dans

les principales zones de production (Dianda *et al.*, 2018). Cette pathologie se traduit par des brunissements des feuilles évoluant progressivement vers les dessèchements des rameaux et des branches avec ou sans défoliation, les gommoses à travers l'apparition des exsudats brunâtres sur les troncs et branches, les brunissements des troncs et des branches, les craquelures des écorces, et les pourritures racinaires constituent les symptômes caractéristiques de cette maladie (Ploetz *et al.*, 1996 ; Masood *et al.*, 2010 ; Syed *et al.*, 2014).

Généralement, les manguiers atteints dépérissent complètement et meurent en quelques semaines ou quelques mois après l'infestation (Saeed *et al.*, 2017).

Selon Ploetz, (2003), le dépérissement est considéré comme la maladie la plus destructrice entraînant d'importantes pertes de rendements. Des études ont permis d'identifier *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Grión et Maubl. (Sutton, 1980) comme agent pathogène responsable de la maladie dans différentes régions productrices du monde telles que : le Brésil, la Corée, l'Inde, l'Oman, le Pakistan les Etats Unis d'Amérique, l'Égypte, le Ghana, les Emirats Arabes Unis et le Pérou (Sharma and Gupta, 1994 ; Ploetz *et al.*, 1996 ; Al Adawi *et al.*, 2003 ; Khanzada *et al.*, 2004 ; de Oliveira Costa *et al.*, 2010 ; Hong *et al.*, 2012 ; Ismail *et al.*, 2012 ; Ablormeti, 2016 ; Saeed *et al.*, 2017 ; Rodríguez-Gálvez *et al.*, 2017). Dans les champs, une mauvaise gestion des vergers et certaines contraintes abiotiques telles que : la sécheresse, les fortes températures, l'ensoleillement, les stress hydriques, la salinité et les carences nutritionnelles peuvent contribuer au développement et à la progression de la maladie (Naqvi and Perven, 2015 ; Paolinelli-Alfonso *et al.*, 2016). En outre, de la pathologie du dessèchement, *L. theobromae* attaque la quasi-totalité des organes de certaines cultures tels que l'anacardier, le bananier, les citrus etc. et produit divers types de symptômes (Alam *et al.*, 2001 ; Cardoso *et al.*, 2006 ; Alwindia and Natsuaki, 2007). En effet, ce champignon a été signalé comme responsable des maladies de taches foliaires (Haquet *et al.*, 2005). Il a été aussi signalé comme responsable des maladies de post-récoltes notamment des pourritures de fruits pour certaines espèces fruitières tels que la mangue (Galsurker *et al.*, 2018). Sutton, (1980) et Phillips *et al.* (2008) ont signalé que les principales caractéristiques qui distinguent *Lasiodiplodia* des autres genres étroitement apparentés sont la présence de paraphyses pycnidiales et de stries longitudinales sur les conidies matures. Ils ont indiqué que *L. theobromae* se distingue par la taille de ses conidies. Selon Punithalingam (1980) les conidies de *L. theobromae* sont initialement hyalines, unicellulaires, ellipsoïdale à oblongues, à parois épaisses et à contenu granuleux.

À maturité, elles deviennent bicellulaires, brun foncé, avec des tailles généralement comprises entre 20-30 x 10-15 µm, avec des bandes longitudinales différenciellement pigmentées ressemblant à des stries (Punithalingam, 1980).

Twumasi *et al.* (2014) ont conclu que les colonies mycéliennes de *L. theobromae* sont initialement de couleur blanche et deviennent progressivement gris foncé avec le temps sur milieu de culture PDA. L'identification morphologique est rapide et moins coûteuse. Néanmoins, elle présente des limites. En effet, les téléomorphes de beaucoup d'espèces de *Botryosphaeriaceae* dont relève le genre *Lasiodiplodia* sont rarement rencontrées et les anamorphes présentent souvent des chevauchements au niveau des caractéristiques morphologiques entraînant des confusions au sein des espèces (Slippers *et al.*, 2005;

Ramos *et al.*, 1991). Ainsi, pour remédier à ces problèmes, la recommandation actuelle est de combiner l'observation des caractéristiques morphologiques avec des analyses moléculaires (Hyde *et al.*, 2010; Cai *et al.*, 2011). En effet, l'utilisation d'un couple d'amorce spécifique à *L. theobromae* (Lt347-F et Lt347-R) décrit par Xu *et al.* (2015) a permis de confirmer la présence de *L. theobromae* sur le dessèchement du manguiers au Ghana (Ablormeti, 2016). Des inoculations avec des spores de *L. theobromae* ont entraîné l'apparition des nécroses sur des feuilles de manguiers détachées aux Emirats Arabes Unies (Saeed *et al.*, 2017). Des symptômes similaires ont été observés après un dépôt de l'explant mycélien sur des mangues détachées en Malaisie (Munirah *et al.*, 2017). Une étude préliminaire réalisée sur la maladie dans les principales zones de production de mangues du Burkina Faso a permis d'inventorier *Pestalotiopsis microspora*, *L. theobromae*, *Fusarium* sp, *Curvularia* sp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Aspergillus niger*, et de *Botrytis cinerea* (Dianda *et al.*, 2018). Ce présent travail a pour but de contribuer à un diagnostic fiable de *L. theobromae* à travers une caractérisation morphologique, des tests moléculaires et de pathogénicité *in vitro* sur des échantillons de feuilles et de fruits du manguiers.

## Matériel et méthodes

### Zone d'étude

Les prospections ont été réalisées d'Avril à Août 2016 et 2017. La Figure 1 illustre les sites prospectés dans les sept (07) provinces représentant des zones de production de mangues au Burkina Faso. Elles appartiennent à deux zones agroclimatiques différentes (Dianda *et al.*, 2018).

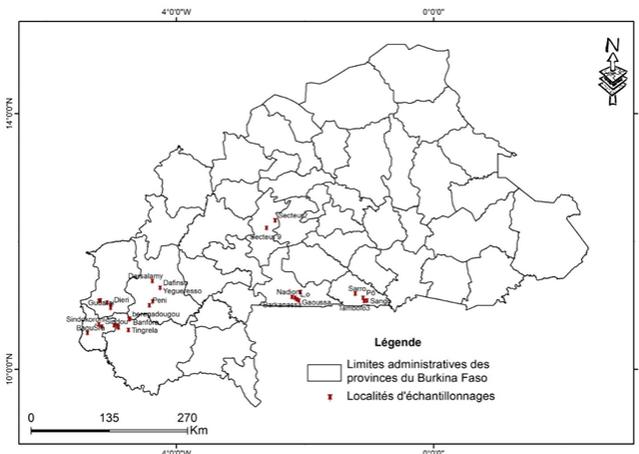


Figure 1 : sites de prospections et de collectes des échantillons de manguiers souffrant du dépérissement

### Matériel fongique et végétal

Le Tableau I présente les caractéristiques des trente deux (32) isolats utilisés dans les différentes études de caractérisation. Ils proviennent des principaux organes du manguiers précédemment isolés et en conservation au laboratoire de mycologie de l'INERA Farako-Bâ (Dianda *et al.*, 2018).

Les inoculations *in vitro* ont été effectuées sur les feuilles et mangues détachées de la variété Amélie. Le choix de cette variété s'explique par le fait qu'elle figure parmi les plus commercialisées et a enregistré les plus forts taux d'incidence et de sévérité de la maladie (Dianda *et al.*, 2018).

**Tableau I :** Les caractéristiques des différents isolats utilisés pour les différentes études.

Code isolat	Organes d'isolement	Localités	Provinces
H32BT	Feuilles	Dafinso	Houet
H17BT	Rameaux	Santidouougou	Houet
N6BT	Rameaux	Tombolo3	Nahouri
C24BT	Feuilles	Bérègua	Comoé
I6BT	Racines	Léo	Sissili
L13BT	Racines	Wolokonto	Léraba
L12BT	Rameaux	Kangoura	Léraba
L8BT	Feuilles	Sindou	Léraba
K6BT	Rameaux	Koloko	Kéné Dougou
K21BT	Feuilles	Kartasso	Kéné Dougou
C4BT	Racines	Toumousseni	Comoé
N17BT	Racines	Tombolo3	Nahouri
H6BT	Racines	Péni	Houet
I8BT	Feuilles	Léo	Sissili
N3BT	Feuilles	Tombolo3	Nahouri
N15BT	Rameaux	Tombolo3	Nahouri
N14BT	Feuilles	Tombolo3	Nahouri
N13BT	Rameaux	Tombolo3	Nahouri
I1BT	Feuilles	Léo	Sissili
I2BT	Feuilles	Léo	Sissili
I4BT	Feuilles	Léo	Sissili
C17BT	Rameaux	Toumousseni	Comoé
C26BT	Feuilles	Toumousseni	Comoé
C27BT	Feuilles	Toumousseni	Comoé
H5BT	Racines	Peni	Houet
H16BT	Feuilles	Peni	Houet
H17BT	Rameaux	Peni	Houet
N8BBT	Rameaux	Pô	Nahouri
K9BT	Rameaux	Koloko	Kéné Dougou
K12BT	Rameaux	Koloko	Kéné Dougou
K21BT	Feuilles	Diéri	Kéné Dougou
K27BT	Feuilles	Diéri	Kéné Dougou

## Méthodologie

### Identification morphologique des isolats

Au total 20 isolats représentatifs des zones d'échantillonnages ont été retenus pour apprécier les paramètres morphologiques. A l'aide de l'emporte-pièce stérilisé 5 mm de marges actives du mycélium des champignons âgé de sept jours a été prélevée puis déposée au centre du milieu de culture PDA initialement coulé dans des boîtes de Pétri. Chaque isolat a été répété dans quatre boîtes de Pétri. Les examens des caractères culturels des isolats ont été réalisés à travers la vitesse de croissance du mycélium, sa couleur et sa texture.

Les mesures des croissances mycéliennes ont été réalisées à l'aide d'un double décimètre et ont été faites au troisième et au cinquième jour après incubation. Deux droites perpendiculaires passant par le centre de l'explant mycélien ont été tracées sur le couvercle des boîtes de Pétri. L'évolution du mycélium dans chaque boîte est obtenue en faisant la moyenne des deux diamètres  $D = \frac{(d1+d2)}{2}$  ( $D$  : diamètre moyen de l'isolat dans une boîte,  $d1$  et  $d2$  les mesures des deux droites perpendiculaires (Dianda, 2019)). La moyenne de la croissance mycélienne de chaque isolat a été calculée à partir des diamètres moyens provenant des quatre boîtes. La taille, la couleur et la présence ou l'absence des cloisons ont été les paramètres microscopiques des conidies évalués après deux semaines de mise en incubation. Les mesures ont été effectuées sur 30 spores par isolat à l'aide d'un microscope muni d'un micromètre. L'ADN des isolats a été soumise à des tests moléculaires pour

confirmer ou infirmer l'identité de *L. theobromae*.

### Identification moléculaire des isolats de *L. theobromae*

L'ADN fongique a été extrait à l'aide du Kit Wizard Genomic (Kit ® Promega) à partir du mycélium sur un milieu PDA incubé à 25 °C pendant dix jours suivant le protocole de (Freitas, 2016). La PCR a été réalisée dans un volume réactionnel de 25 µL contenant 5 µL de Fire Hot Mixte, 1 µL de chacune des deux amorces Lt347-F (AACGTACCTCTGTTGCTTTGGC) (10 µM) et Lt347-R (TACTACGCTTGAGGGCTGAACA) (10 µM) (Xu *et al.*, 2015), 2 µL d'ADN matrice et 16 µL de l'eau. Les cycles réactionnels de la PCR ont été : (i) une étape initiale de dénaturation de 95°C pendant 10 min; suivie de (ii) 30 cycles comprenant une dénaturation à 94 °C pendant 60 secondes; une hybridation à 60 °C pendant 30 secondes ; une extension à 72 °C pendant 60 secondes et (iii) une étape finale de 72 °C pendant 10 min. Après amplification, l'électrophorèse des produits PCR a été réalisée dans un gel d'agarose à 1% (p / v) (agarose Ultra Pure TM, Invitrogen, Espagne) dans un tampon 1 x Tris-Acétate-EDTA (TAE) à 0,5X.

Le poids moléculaire des amplicons de PCR a été estimé à l'aide d'une échelle de 100 bp (Solis Biodyne Data Sheet). Les isolats dont l'identité a été confirmée, ont été inoculés sur des organes détachés pour leur pathogénicité.

### Pathogénicité *in vitro* sur les deux organes du manguier

**Pathogénicité sur les feuilles :** Des feuilles âgées d'environ 1 mois ont été utilisées pour les inoculations (Ismail, 2011). Elles ont été désinfectées dans une solution d'hypochlorite de sodium (5%) au bout de 2 min puis rincées dans l'eau distillée stérilisée. Les feuilles ont été disposées dans des boîtes de Pétri Pétri (ø : 90 mm) contenant de l'agar à (1%) solidifié. Ces conditions permettent de garder l'humidité relative favorable au développement des symptômes. Trois feuilles ont été utilisées par traitement (isolat). Sur chaque feuille, un explant mycélien de 5 mm de diamètre a été déposé à l'aide d'un scalpel stérile. Des morceaux du PDA stériles ont été appliqués sur les mangues témoins. Deux droites perpendiculaires suivant la longueur et la largeur des feuilles ont été tracées sur le couvercle de la boîte pour mesurer la taille des lésions. Les boîtes de Pétri ont été placées entre 24 à 28 °C au laboratoire. Les observations ont été réalisées quotidiennement pour suivre l'apparition des nécroses.

L'évolution des lésions dans chaque boîte a été évaluée à travers la formule suivante :  $D = \frac{(d1+d2)}{2}$  ( $D$  : diamètre moyen de la souche dans une boîte,  $d1$  et  $d2$  les mesures des deux droites perpendiculaires). Une moyenne est calculée à partir des diamètres moyens dans les trois boîtes pour chaque souche.

**Pathogénicité sur mangues :** Des mangues mûres non mûres apparemment saines présentant une taille uniforme ont été utilisées pour les inoculations *in vitro* (Munirah *et al.*, 2017). Elles ont été récoltées à 24h de l'essai expérimental. Ces mangues proviennent des vergers de références dont les itinéraires de productions, les conditions de récoltes et de conservations sont respectés pour garantir des fruits de bonne qualité sanitaire destinés à l'exportation au terminal fruitier de Bobo-Dioulasso. Les fruits ont été lavés à l'eau de robinet puis désinfectés en surface avec de l'hypochlorite de sodium à 1% (NaOCl) pendant 5 min, avant d'être rincés deux fois avec de l'eau distillée stérile. Ils ont été ensuite placés dans des récipients stériles sous une hotte à flux laminaire avant les inoculations. Des légères ouvertures ont été provoquées à l'aide

d'une aiguille suivant les méthodes « inoculations brutales » de (Kouame *et al.*, 2010).

L'inoculation a consisté à déposer directement sur chaque mangue un fragment de 5mm de diamètre du mycélium âgé de 5 jours cultivé sur du PDA à l'aide d'un scalpel stérile. Des morceaux du PDA stériles ont été appliqués sur les mangues témoins (Saeed *et al.*, 2017). Trois essais ont été menés au cours de cette expérience. Au cours de chaque essai, chaque traitement (isolat) a été répété quatre fois correspondant à quatre mangues. Pendant, les expériences les mangues ont été incubées dans une salle obscure à 27 ± 1°C. Les observations ont été réalisées quotidiennement jusqu'au sixième jour après incubation. La pathogénicité des isolats a été évaluée sur la base d'une échelle de 0 à 4 établie par (Amadi *et al.*, 2009) modifiée suivant celle de (Munirah *et al.*, 2017). Le Postulat de Koch a été vérifié au huitième jour après incubation.

L'agressivité de chaque isolat a été évaluée à travers le calcul de l'indice de sévérité de la maladie :  $I_s$  selon la formule de (Abu Bakar *et al.*, 2013) :  $I_s = \sum (\frac{Xixni}{Nxy}) \times 100$  avec:  $I_s$  Indice de sévérité de la maladie provoqué par une souche donnée,  $X_i$  : Sévérité  $i$  de la maladie sur une mangue,  $n$  : Nombre de mangues de sévérité  $i$ ,  $N$  : Nombre total de mangues observé ( $N = 4$ ) et  $Y$  : Échelle de sévérité la plus élevée la note (4). L'indice moyen de sévérités de la maladie pour chaque isolat est calculé à partir des trois essais réalisés dans cette expérience.

**Analyses statistiques :** Les diamètres moyens à partir des lésions sur les feuilles, ainsi que les indices de sévérités moyens à partir des mangues des différents isolats ont été soumis à des analyses de variances (ANOVA) à l'aide du logiciel XLSTAT 2007. La séparation des moyennes a été faite à l'aide du test de Newmans Keuls 5%.

**Résultats**

**Caractéristiques morphologiques des isolats**

**Aspects macroscopiques :** Au tout début, les isolats sont caractérisés par un mycélium blanc, clairsemé sur la face frontale de la boîte de Pétri (Figure 2A). Cette suspension mycélienne augmente au fur et à mesure pour atteindre le couvercle de la boîte de pétri et la coloration initiale vire progressivement en grisâtre avec un aspect contonneux (Figure 2B) ou noirâtre, avec une structure duveteuse (Figure 2C).

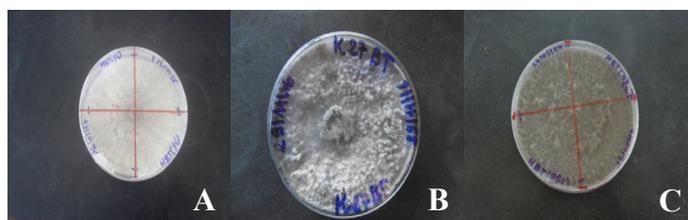
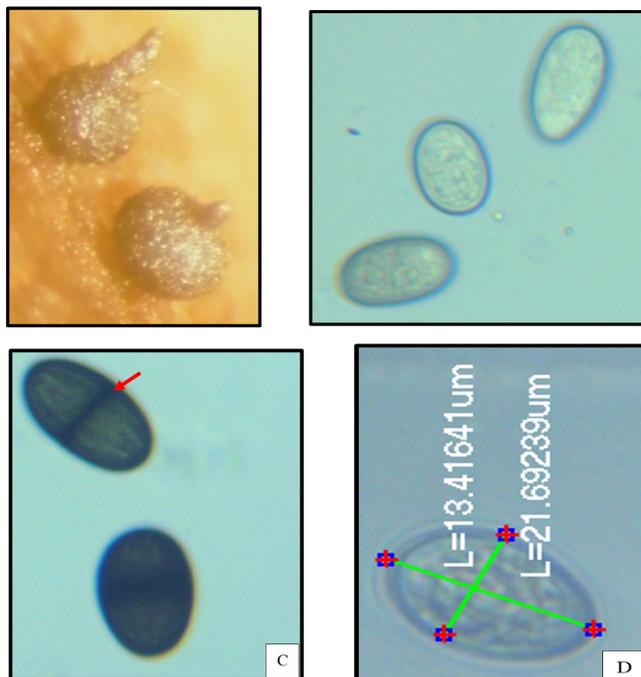


Figure 2: Principaux aspects du mycélium observés sur milieu de culture PDA. A: Mycélium blanc clairsemé de l'isolat à 3 Jours Après Inoculations (JAI), B: Mycélium grisâtre avec un aspect cotonneux à 10JAI; C: Mycélium noirâtre avec la structure duveteuse à 10JAI.

**Aspects microscopiques :** Des pycnides grisâtre, rondes présentant des bouts légèrement pointus et semblables à des poires ont été observées à la loupe (Figure 3A). Les observations au microscope ont permis de distinguer des conidies ovoïdes à ellipsoïdes. Elles se répartissent en deux groupes : d'une part on

a des conidies à paroi épaisse avec du cytoplasme granulé. Elles sont hyalines et ne possèdent pas de septa (Figure 3B). D'autre part, des conidies ont présenté une teinte marron foncé ou clair avec une cloison et des stries longitudinales irrégulières (Figure 3C). La (Figure 3D) présente la mensuration des conidies.



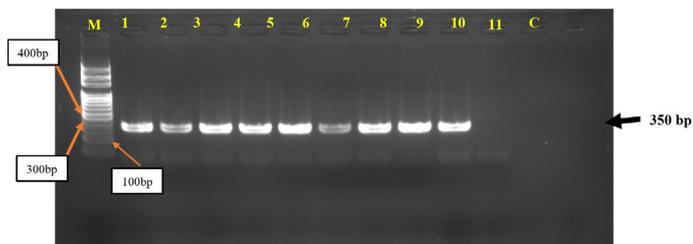
**Figure 3 : Vues microscopiques des isolats de Lasiodiplodia.**  
**A :** Pycnides rondes grisâtre avec des bouts pointus observées à la loupe x 50.  
**B :** Conidies à paroi épaisse avec du cytoplasme granulé, hyalines sans septa,  
**C :** Conidies de teinte marron foncé ou clair avec une cloison et des stries longitudinales et **D :** Mensuration d'une conidie, observés au microscope x 40.

**Variabilité des paramètres morphologiques :** Le Tableau II illustre les paramètres morphologiques obtenues au cours de cette étude. Les longueurs moyennes des conidies des isolats étaient comprises entre 19,53 à 22,79 µm. En ce qui concerne les largeurs moyennes, elles étaient comprises entre 10,46 à 13,65 µm. A 3 JAI, l'isolat I4B a enregistré la plus forte croissance mycélienne 8,4 cm tandis que la plus faible 5,6 cm a été notifiée chez K9B et C27B. Tous les isolats ont atteint la croissance mycélienne maximale 8,5 cm à 5JAI.

**Tableau II :** Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des isolats

Isolats	Caratéristiques microscopiques			Caratéristiques macroscopiques	
	Longueur Moy* (µm)	Largeur Moy* (µm)	Couleur conidies	Croissance mycélienne (cm) (3JAI)	Couleur et textures des colonies mycéliennes sur milieu de culture PDA
C26B	22,79	12,48	Marron foncé	5,8	Cotonneuses, grisâtre
N8B	22,71	12,08	Marron foncé	7,6	Cotonneuses, grisâtre
C27B	22,37	12,25	Marron foncé	5,6	Cotonneuses, grisâtre
K12B	22,35	12,66	Marron foncé	8,02	Duveteuses, noirâtre
L12B	22,35	12,66	Marron foncé	7,7	Duveteuses, noirâtre
I6B	22,33	12,37	Marron clair	8,4	Cotonneuses, grisâtre
H5B	22,32	11,96	Marron foncé	8,2	Cotonneuses, grisâtre
N15B	22,18	13,05	Marron foncé	7,7	Cotonneuses, gris foncé
L13B	21,95	11,28	Marron foncé	8,08	Duveteuses, noirâtre
L8B	21,85	11,37	Marron foncé	5,9	Cotonneuses, grisâtre
K9B	21,21	11,66	Marron foncé	5,6	Cotonneuses, grisâtre
N13B	21,19	11,22	Marron foncé	6,6	Duveteuses, noirâtre
I1B	21,10	12,23	Marron foncé	6,7	Cotonneuses, grisâtre
H17B	20,84	13,23	Marron foncé	8,2	Cotonneuses, grisâtre
K27B	20,73	13,30	Marron clair	8,02	Duveteuses, noirâtre
I4B	20,54	12,25	Marron clair	7,3	Cotonneuses, grisâtre
K21B	20,24	11,44	Marron foncé	6,3	Cotonneuses, grisâtre
H32B	20,15	13,65	Marron clair	6,6	Duveteuses, noirâtre
C24B	19,54	10,85	Marron foncé	6,2	Duveteuses, noirâtre
C17B	19,53	10,46	Marron foncé	6,9	Duveteuses, noirâtre
Moy	21,36	12,07		7,10	

\* : moyenne; JAI : Jour Après Incubation



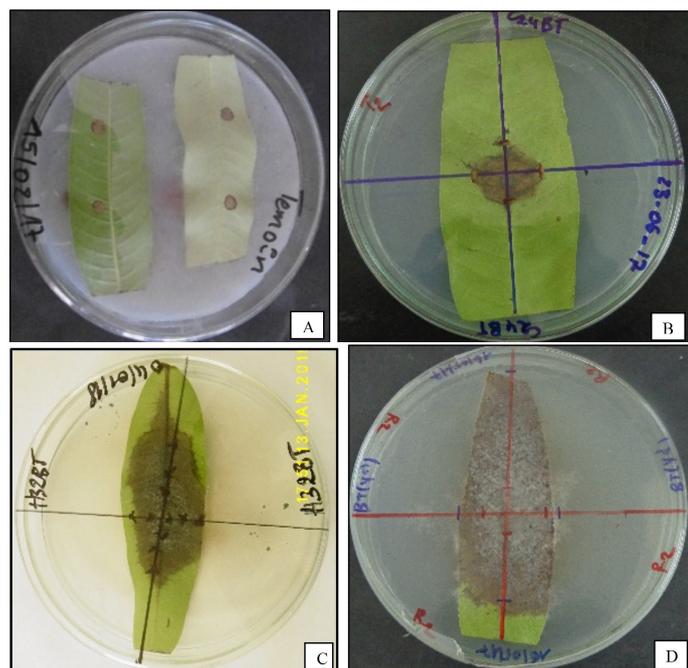
**Figure 4:** Gel d'agarose montrant l'amplification avec le couple d'amorces spécifiques à *L. theobromae* de 11 isolats M : marqueur de taille ; 1 à 9 : isolats ayant présenté des amplicons ; 10 : Absence de bandes C : Contrôle négatif.

**Identification moléculaire des isolats**

Les tests de PCR classiques d'amplification avec des amorces spécifiques à *L. theobromae* ont révélé la présence des amplicons chez cent dix (110) isolats avec une taille amplification d'environ 350 bp. La Figure 4 illustre l'électrophorèse sur un gel d'agarose à partir de 11 isolats et un contrôle négatif.

**Pathogénie in vitro sur les organes**

**Lésions sur les feuilles inoculées :** Tous les isolats testés ont été pathogènes *in vitro* sur ces organes. Aucun symptôme n'a été observé dans les boîtes témoin (Figure 5A). Initialement, les symptômes sont rouges briques (Figure 5B). Ils évoluent généralement le long de la nervure principale et peuvent virer à la couleur noirâtre (Figure 5C). On a également observé dans certaines boîtes au 7<sup>ème</sup> JAI un dépôt blanchâtre avec parfois des points noirâtre correspondant respectivement au mycélium et aux acervules du champignon (Figure 5D).



**Figure 5 :** Symptômes après les inoculations *in vitro* sur les feuilles. A : Absence de nécroses au niveau des témoins, B : Apparition des nécroses rouges briques à 3 JAI, C : Evolution des nécroses le long de la nervure principale D : Dépôt mycélien avec parfois la mise en place des pycnides sur les feuilles.

**L'agressivité des isolats sur feuilles :** Les nécroses sont apparues à partir du 3 JAI. Ces lésions induites ont connu une évolution au cours de la période d'incubation avec des vitesses de croissances variables traduisant une différence d'agressivité. En effet, l'analyse de variance avec le test de Newman Keuls au seuil de 5% a montré des différences significatives entre les traitements à 3 JAI et à 7 JAI (Tableau III). Les isolats (H17BT et C24BT) sont considérés comme les plus agressifs durant les

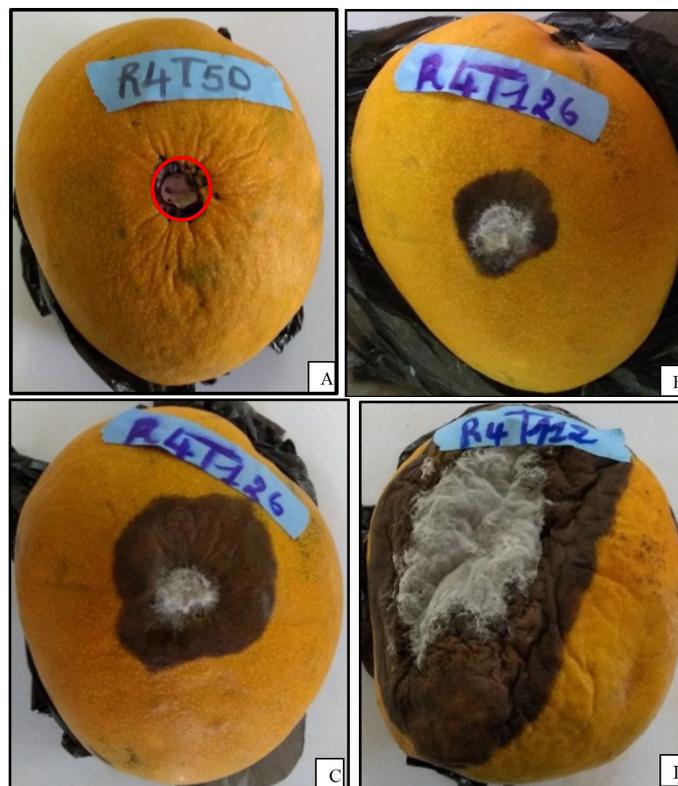
deux périodes d'évaluation. En effet, H17BT qui a enregistré les plus fortes lésions à 3 JAI ( $3,08 \pm 0,26$  cm) et à 7 JAI ( $8,5 \pm 0,14$  cm) ne présente aucune différence significative avec C24BT.

**Tableau III :** Longueurs moyennes des lésions causées par les isolats de *L. theobromae*

Traitements	Longueurs des lésions Moy (cm) (3JAI)	Traitements	Longueurs des lésions Moy(cm) (7JAI)
Témoin	0,5 a	Témoin	0,5 a
L13BT	1,03 ± 0,04 ab	C26BT	2,9 ± 3,97 b
I6BT	1,2 ± 0,18 ab	C27BT	3,5 ± 1,79 b
N14BT	1,25 ± 0,20 ab	L13BT	4,3 ± 0,66 bc
C26BT	1,3 ± 0,07 ab	N14BT	4,35 ± 2,56 bcd
H32BT	1,37 ± 0,18 ab	H6BT	4,67±1,96 bcd
I8BT	1,6 ± 0,08 abc	N17BT	4,73±1,72 bcd
C4BT	1,63 ± 0,13 abc	C4BT	4,8±0,48 bcd
H6BT	1,65 ± 0,43 abc	I8BT	5,4±0,09 bcd
N17BT	1,66 ± 0,31 abc	L12BT	6,23±0,80 bcd
K21BT	1,68±0,49 abc	I2BT	6,25±0,25 bcd
I2BT	1,86±0,18 abc	L8BT	6,28±0,51 bcd
N3BT	1,6±0,42 abc	K6BT	6,31±0,30 bcd
C27BT	1,83±0,47 abc	K21BT	6,45±0,30 bcd
K6BT	1,98±1,21 abc	I6BT	6,56±0,33 bcd
L8BT	2,1±0,47 bc	N3BT	6,98±0,25 bcd
L12BT	2,18±0,4 bc	H32BT	7,1±1,58 cd
N6BT	2,56±0,51 bc	C24BT	7,51±1,27 cd
C24BT	2,75±0,73 c	N6BT	7,71±0,61 cd
H17BT	3,08±0,26 c	H17BT	8,5±0,14 d
F	4,02		5,99
P	< 0.0001		< 0.0001

Dans ce tableau les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% selon le test de Newman keuls.

**Nécroses sur les mangues inoculées :** Tout comme au niveau des feuilles, tous les isolats ont pu induire des nécroses sur les fruits détachés. Aucune nécrose n'a été observée sur les mangues témoins (inoculées avec du PDA sans champignon) (Figure 6A). Les nécroses initiales sont généralement brune foncées (Figure 6B) tendant vers la couleur noirâtre (Figure 6C). A partir de 6 JAI, un important dépôt blanchâtre correspondant au mycélium du champignon est observé à la surface des fruits (Figure 6D).



**Figure 6 :** Nécroses observées sur les mangues après la mise en incubation. A : Absence de nécrose sur la mangue témoin ; B & C : Lésions noirâtres respectivement observées au 2<sup>ème</sup> JAI et au 3<sup>ème</sup> JAI ; D : Evolution de la lésion nécrotique noirâtre avec un dépôt blanchâtre correspondant au mycélium.

**L'agressivité des isolats sur mangues :** Les lésions sont apparues à partir du 2<sup>ème</sup> JAI. L'analyse de la variance révèle

des différences significatives entre les indices de sévérités des différents traitements (isolats) avec le témoin au 6<sup>ème</sup> JAI.

La majorité des isolats ont présenté des plus forts indices de sévérités 100% traduisant leur agressivité. Le plus faible indice 75% a été enregistré chez C26B. Certains isolats ont atteint la vitesse maximale de progression dès le 4<sup>ème</sup> JAI. Le Tableau IV présente les indices de sévérités respectivement à 2 et 6 JAI. Les

Traitements	2JAI	Traitements	6JAI
Témoin	0,00 a	Témoin	0,00 a
C26BT	0,00 a	C26BT	75,00 ab
C27BT	8,33 ab	N14BT	89,58 abc
L13BT	8,33 ab	C24BT	93,75 abc
N14BT	10,42 abc	I8BT	95,83 abc
H6BT	14,58 abc	N3BT	97,92 abc
N17BT	14,58 abc	H6BT	97,92 abc
C4BT	14,58 abc	N17BT	97,92 abc
L12BT	18,75 abc	L13BT	97,92 abc
I2BT	18,75 abc	L12BT	97,92 abc
I8BT	18,75 abc	I8BT	100,00 bc
K21BT	20,83 abc	K21BT	100,00 bc
L8BT	20,83 abc	L8BT	100,00 bc
K6BT	20,83 abc	K6BT	100,00 bc
I6BT	22,92 abc	I6BT	100,00 bc
N3BT	25,00 abc	C4BT	100,00 bc
H32BT	25,00 bc	H32BT	100,00 bc
C24BT	28,13 bc	I2BT	100,00 bc
N6BT	28,13 bc	N6BT	100,00 bc
H17BT	29,17 c	H17BT	100,00 bc
F	3,903		19,803
P	0,000		< 0,0001

analyses de variances révèlent des différences significatives entre les isolats aux premières périodes d'incubation traduisant une variabilité d'agressivité entre les isolats. La majorité des isolats ont présenté le plus fort indice de sévérité à 6 JAI (Tableau IV).

## Discussion

Le mycélium des différents isolats observés sur milieu de culture a un aspect quasi similaire à ceux décrits dans les études précédentes. En effet, Norhayati *et al.* (2015) ont également observé que la croissance mycélienne de *L. theobromae* était rapide sur milieu de culture PDA. Par ailleurs, ils ont signalé que les mycéliums se sont développés et ont entièrement recouvert la surface du support après 3 à 4 jours de mis en incubation. De surcroît, la couleur de la colonie est passée progressivement de gris clair après 4 à 7 jours d'incubation à noir après deux semaines d'incubation. En outre, les caractéristiques microscopiques, notamment la couleur brune, la présence et parfois l'absence de septa, ainsi que l'intervalle de la taille 19,53- 22,79 x 10,46-13,65µm des conidies, enregistrées au cours de notre étude corroborent celles de ces auteurs. Selon Punithalingam, (1980) les conidies de *L. theobromae* sont initialement hyalines, unicellulaires, ellipsoïdes à oblongues, à parois épaisses et à contenu granuleux. À maturité, elles deviennent bicellulaires, brun foncé, avec des tailles généralement comprises entre 20-30 x 10-15 µm, avec des bandes longitudinales différenciellement pigmentées. Néanmoins, il a été noté un nombre variable des groupes constitué à partir des longueurs et les largeurs moyennes des conidies des 20 isolats. Par ailleurs, leur répartition dans les différents groupes ne sont pas homogènes pour les deux paramètres mesurés laissant voir une confusion. Selon Phillips *et al.* (2013), la discrimination de *L. theobromae* basant uniquement sur les caractéristiques morphologiques est considérée non fiable car elles se chevauchent avec celles des

autres espèces du genre. Ainsi, le recours aux tests moléculaires s'avère nécessaire pour plus de fiabilité.

Les amplifications observées au niveau des isolats suite à la PCR avec les amorces spécifiques de *L. theobromae* confirment l'identité de cette espèce de champignon associée au dessèchement du manguiier au Burkina Faso.

Des études similaires ont participé à la caractérisation de cet agent pathogène comme responsable du dessèchement du manguiier au Ghana et aux Emirats Arabes Unis (Ablormeti, 2016, Saeed *et al.*, 2017). Cependant, certains de ces champignons isolés sur la base des caractéristiques morphologiques de *L. theobromae* n'ont pas présenté des amplicons suite aux mêmes tests moléculaires. Cela laisse croire la présence d'autres espèces du genre *Lasiodiplodia* présentes sur la maladie au Burkina Faso. En effet, des études de phylogénies ont permis d'identifier en plus de *L. theobromae*, respectivement *L. egyptiaca*; et *L. pseudotheobromae* en Egypte (Ismail *et al.*, 2012) et *L. brasiliense*, *L. egyptiaca*, *L. iraniensis*, *L. pseudotheobromae* et *Lasiodiplodia* sp. au Pérou (Rodríguez-Gálvez *et al.*, 2017) des nouvelles espèces responsables du dépérissement du manguiier. Des études sont en cours pour détecter la diversité des espèces de *Lasiodiplodia* et évaluer leur pathogénicité *in vivo* notamment sur les plants de manguiiers au Burkina Faso.

Les inoculations de *L. theobromae* sur les feuilles et les mangues détachées ont permis de constater des nécroses sur ces deux organes. Les lésions foliaires sont quasi similaires aux symptômes rouges briques observées sur les manguiiers attaqués dans les vergers (Dianda *et al.*, 2018). Les nécroses sur les mangues inoculées évoluent et couvrent une bonne partie de leur surface souvent à partir de 4 JAI. Ces manifestations sont proches des symptômes de pourritures parfois observées sur certaines mangues en stockage. Des études antérieures ont révélé la pathogénicité *in vitro* de *L. theobromae* notamment sur les feuilles et fruits détachés. En effet, Saeed *et al.* (2017) ont constaté des nécroses sur des feuilles de manguiier suite à des inoculations *in vitro* avec des spores de *L. theobromae* isolées à partir du dépérissement du manguiier aux Emirats Arabes Unies. Au Brésil, des tests de pathogénies *in vitro* sur des pousses de raisins de table détachées ont révélé la pathogénicité de huit espèces de *Lasiodiplodia* dont *L. theobromae* isolées à partir des échantillons provenant du dépérissement de cette espèce de plante (Correia *et al.*, 2016).

Les résultats des tests de pathogénie du champignon *in vitro* sur les mangues sont analogues à ceux obtenus au Pakistan et en Malaisie (Naqvi *et al.*, 2014 ; Munirah *et al.*, 2017).

En effet, ces auteurs ont observé des lésions après inoculations avec du mycélium de *L. theobromae* et de *L. pseudotheobromae* isolées à partir des pourritures pédonculaires de la mangue. Par ailleurs, le genre *Lasiodiplodia* renferme des espèces de champignon émergentes, associées aux pourritures pédonculaires des fruits dans le monde entier (Galsurker *et al.*, 2018). Ces agents pathogènes ont entraîné récemment des lourdes pertes dans des industries de fruits au Brésil (Coutinho *et al.*, 2017), en Chine (Zhang *et al.*, 2018) au Pérou (Rodríguez-Gálvez *et al.*, 2017) et en Malaisie (Munirah *et al.*, 2017). Les isolats de *L. theobromae* utilisés dans la présente étude proviennent des feuilles, de brindilles et de racines collectées sur des manguiiers présentant des symptômes typiques de dessèchement. Cette espèce de champignon pourrait être le principal agent pathogène ayant contribué de manière significative à la maladie au Burkina Faso. En effet,

*L. theobromae* infecte plus de 500 espèces de plantes et est associée à diverses maladies au champ et en post-récolte telles que la fonte des semis, le dessèchement, la rouille, le flétrissement, les pourritures des racines, et des collets, la nécrose des tiges et des fleurs, les taches foliaires, le balai de sorcière, la gommose, les pourritures des fruits, des gousses, des capsules et des semences dans différentes cultures causant d'importantes pertes (de Oliveira Costa *et al.*, 2010; Sakalidis *et al.*, 2011; Ismail *et al.*, 2012; Suresh, 2014). En tant que pathogène opportuniste, *L. theobromae* est capable de rester en infection latente sur des plantes saines, et provoquer des maladies lorsque celles-ci sont stressées (Denman *et al.*, 2000; Slippers et Wingfield, 2007). Ainsi, des investigations doivent se poursuivre sur cet agent pathogène fréquemment rencontré sur le dessèchement du mangoier au Burkina Faso.

## Conclusion

Cette étude a permis de confirmer la présence de *L. theobromae* associée au dessèchement du mangoier au Burkina Faso. Les symptômes observés après inoculations artificielles sur les feuilles et les mangues détachées confirment la pathogénicité de ce champignon sur le mangoier. La fréquence d'observation de *Lasiodiplodia* spp. à partir des organes de mangoiers présentant les symptômes caractéristiques du dessèchement laisse croire leur capacité à provoquer la maladie au Burkina Faso. De ce fait, des études sont en cours pour détecter la diversité des espèces de *Lasiodiplodia* à travers des séquences de gènes et de leur pathogénicité *in vivo* sur des plants de mangoiers.

## Remerciements

Cette étude a été financée par la Fondation Internationale pour la Science (FIS) à travers la subvention No. 1I3\_C\_039006\_REV. Le Fonds National pour la Recherche et l'Innovation pour le Développement (FONRID) ainsi que l'Agence Universitaire de la Francophonie (L'AUF) et l'Institut de la Recherche pour le Développement (L'IRD) ont également contribué à la réalisation des activités. Nous leur témoignons nos sincères remerciements.

## Référence bibliographique

- Ablometi, F., 2016. Aetiology, Economic Importance and Control of Mango (*Mangifera indica* L.) Tree decline disease in Northern region of Ghana. University Of Ghana.
- Abu Bakar, A., Nur Ain Izzati, M., And, Umi Kalsom, Y., 2013. Diversity of *Fusarium* species associated with post-harvest fruit rot disease of tomato. *Sains Malaysiana* 42, 911–920.
- Al Adawi, A., Deadman, M., Al Rawahi, A., Khan, A., And, Al Maqbali, Y., 2003. *Diplodia theobromae* associated with sudden decline of mango in the Sultanate of Oman. *Plant Pathol* 52, 419.
- Alam, M., Begum, M., Sarkar, M., Islam, M., And Alam, M., 2001. Effect of temperature, light and media on growth, sporulation, formation of pigments and pycnidia of *Botryodiplodia theobromae* Pat. Sciences. *Pakistan Journal Biol.* 4, 1224–1227.
- Alvandia, D., Natsuaki, K., 2007. Control of crown rot-causing fungal pathogens of banana by inorganic salts and a surfactant. *Crop Prot.* 26, 1667–1673.
- Amadi, J., Adebola, M., And, Eze, C., 2009. Isolation and identification of a bacterial blotch organism from watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai). *African J. Agric. Res.* 4, 4, 1291–1294.
- APROMAB (L'Association Interprofessionnelle Mangues du Burkina), 2018. Lancement de la campagne mangue 2018 sous le thème: Réduire la pression parasitaire pour la campagne mangue 2018 au Burkina. *faso.net* 2018 consulté le 13/02/2019.
- Cai, L., Udayanga, D., Manamgoda, D, S Maharachchikumbura, S., McKenzie, E., Guo, L., Liu, X., Bahkali, A., And, Hyde, K., 2011. The need to carry out re-inventory of plant pathogenic fungi. *Trop Plant Pathol* 36, 205–213.
- Cardoso, J., Paiva, J., Cavalcanti, J., Santos, A., And, Vidal, J., 2006. Evaluation of resistance in dwarf cashew to gummosis in north-eastern Brasil. *Crop Prot.* 25, 855–859.
- Correia, K.C., Silva, M.A., de Moraes, M.A., Armengol, J., Phillips, A.J., Câmara, M.P., And, Michereff, S.J., 2016. Phylogeny, distribution and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback of table grape in the main Brazilian exporting region, *Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/ppa.12388>.
- Coutinho, I., Freire, F., Lima, C., Lima, J., Gonçalves, F., Machado, A., Silva, A., Cardoso, 2017. Diversity of genus *Lasiodiplodia* associated with perennial tropical fruit plants in northeastern Brazil. *Plant Pathol* 66, 90–104.
- de Oliveira Costa, S., Michereff, V., Martins, R., Gava, C.A., Mizubuti, E.S., and, Câmara, M.P., 2010. Species of Botryosphaeriaceae associated on mango in Brazil. *J. Plant Pathol. Eur.* 127, 509-519.
- Denman, S., Crous, P.W., Taylor, J.E., Kang, J.C., Pascoc, I., And, Wingfield, M.J., 2000. An overview of the taxonomic history of Botryosphaeria, and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny. *Mycology* 45, 129–140.
- Dianda Z.O. 2019. Caractérisation des agents pathogènes associés au dessèchement du mangoier et essai de méthode de lutte contre la maladie au Burkina Faso. Thèse de doctorat Unique de l'Université Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou, p.246.
- Dianda, Z.O., Wonni, I., Zombré, C., Traoré, O., Sérémé, D., Boro, F., Ouédraogo, I., 2018. Prévalence du dessèchement du mangoier et evaluation de la fréquence des champignons associés à la maladie au Burkina Faso. *J. Appl. Biosci.* 126, 12686–12699.
- Freitas, G.R., 2016. Diversidade genética e agressividade de isolados de *Calonectria pteridis* no Brasil. Viçosa au Brésil.
- Galsurker, O., Diskin, S., Maurer, D., Feygenberg, O., Alkan, N., 2018. Fruit stem-end rot. *Horticulturae* 4, 1–16. <https://doi.org/10.3390/horticulturae4040050>
- Haqueet, M.M., Mridha, M.A., Bhuiyan, M., Huda, S., Uddin, M.B., 2005. Studies on the occurrence and severity of leaf blight of Jack fruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) Caused by *Botryodiplodia theobromae* pat. *J. Mycopathol. Res.* (1), 91-94.
- Hong, S., Lee, S., Choi, H., Lee, Y., Joa, J., And, Shim, H., 2012. Occurrence of stem-end rot on mango fruits caused by *Lasiodiplodia theobromae* in Korea. *Plant Pathol. J.* 28, 455.

- Hyde, K., Abd-Elsalam, K., And, Cai, L., 2010. Morphology: still essential in a molecular world. *Mycotaxon* 114, 439–451.
- Ismail, A.M., 2011. Studies on the fungal diseases of mango with particular reference to diseases caused by botryosphaeria species. University of Catania.
- Ismail, A.M., Cirvilleri, G., Polizzi, G., Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Lombard, L., 2012. *Lasiodiplodia* species associated with dieback disease of mango (*Mangifera indica*) in Egypt. *Australas. Plant Pathol.* 41, 649–660. <https://doi.org/10.1007/s13313-012-0163-1>
- Kazmi, M.R., Fateh, F.S., Majeed, K., Kashkhely, A.M., Hussain, I., Ahmad, I., Jabeen, A., 2005. Incidence and etiology of mango sudden death phenomenon. *Pak. J. Bot* 17, 154–158.
- Khanzada, M., Lodhi, A., And, Shahzad, S., 2004. Decline and gummosis diseases of mango in Sindh caused by *Lasiodiplodia theobromae*. *Plant Heal. Prog.* 10.
- Khaskheli, M.I., Jiskani, M.M., Soomro, M.H., Talpur, M.A., Poussio, G.B., 2011. Prevalence of Mango Sudden Decline / Death Syndrome ( Msds ) on Various Varieties At the Orchards of Different Age in the Vicinity of Tando Qaiser, Hyderabad, Sindh. *Pak. J. Agri., Eng., Vet. Sci.*, 27, 160–167.
- Kouame, G.K., Sorho, F., Kone, D., Bomisso, L., Ake, S., Yatty, J., 2010. Activité pathologique comparée de deux isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* (PENZ.) sur deux variétés de mangues (*Mangifera indica* L.). *Agron. Africaine* (1), 33–41.
- Masood, A., Saeed, S., Iqbal, N., Malik, M.T., And, Kazmi, M.R., 2010. Methodology for the evaluation of symptoms severity of mango sudden death syndrome in *Pakistan*. *Pak. J. Bot.*, 42, 1289–1299.
- Munirah, M., Azmi, A., Yong, S., And, Nur, Izzati, M., 2017. Characterization of *Lasiodiplodia theobromae* and *L. pseudotheobromae* causing fruit rot on pre-harvest mango in Malaysia. *Plant Pathol. Quar.* 7, 202–213. <https://doi.org/10.5943/ppq/7/2/14>.
- Naqvi, A.H.S., Perven, R., 2015. Mango quick decline manifestation on various cultivars at plants of particular age in the Vicinity of district Multan. *Pak. J. Phytopathol.* 27, 31–39.
- Naqvi, S.A.H., Perveen, R., Malik, M.T., Malik, O., Umer, ud D.U., Wazeer, M.S., Rehman, A. ur, Majid, T., Abbas, Z., 2014. Characterization of symptoms severity on various mango cultivars to quick decline of mango in district Multan. *Int. J. Biosci.* 4, 157–163.
- Norhayati, M., Erneeza, M.H., And, Kamaruzaman, S., 2015. Morphological , Pathogenic and Molecular Characterisation of *Lasiodiplodia theobromae* : A Causal Pathogen of Black Rot Disease on Kenaf Seeds in Malaysia Morphological , A Causal Path. *Int. J. Agric. Biol.* 7pages. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0065>.
- Paolinelli-Alfonso, M., Villalobos-Escobedo, J M Rolshausen, P., Herrera-Estrella, A., Galindo-Sánchez, C., López-Hernández, J F Hernandez-Martinez, R., 2016. Global transcriptional analysis suggests *Lasiodiplodia theobromae* pathogenicity factors involved in modulation of grapevine defensive response. [CrossRef] [PubMed]. *BMC Genom* 17, 615.
- Parrot, L., Biard, Y., Kabré, E., Klaver, D., Vannière, H., 2017. Analyse de la chaîne de valeur mangue au Burina Faso. Rapport pour la Commission Européenne, DG DEVCO. Value Chain Analysis for Development Project (VCA4D CTR 2016/375-804), 174p + annexes.
- Phillips, A., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Al., E., 2013. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Stud. Mycol.* 76, . 51–167.
- Phillips, A., Alves, A., Pennycook, S., Johnston, P., Ramaley, A., Akulov, A., And, Crous, P., 2008. Resolving the phylogenetic and taxonomic status of dark-spored teleomorph genera in the Botryosphaeriaceae. *Persoonia* 21, 29–55.
- Ploetz, R., 2003. Diseases of mango. In: Ploetz R.C. Diseases of tropical fruit crops. Ploetz R.C (Ed.). *Am. Phytopathol. Soc.* 327–363.
- Ploetz, R., Bensch, D., Vazquez, A., Colls, A., Nagel, J., And, Schaffer, B.A., 1996. reexamination of mango decline in Florida. *Plant Dis.* 80, 664–668. *Mycol. Ser.* no 71.j. Cramer, Vaduz, Liecht einstein no 71. J.
- Punithalingam, E., 1980. Plant diseases attributed to *Botryodiplodia theobromae*. Vaduz: Pat. J. Cramer.
- Ramos, L., Lara, P., McMillan, R., Narayanan, K., 1991. Tip dieback of mango (*Mangifera indica*) caused by *Botryosphaeria ribis*. *Plant Dis.* 75, 315–318.
- Rodríguez-Gálvez, E., Guerrero, P., Barradas, C., Crous, P.W., Alves, A., 2017. Phylogeny and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback of mango in Peru. *Fungal Biol.* 121, 452–465. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.06.004>.
- Saeed, E.E., Sham, A., AbuZarqa, A., Khawla, A.A.S., Tahra, S.A.N., Rabah, I., Khaled, E.-T., AbuQamar, S.F., 2017. Detection and Management of Mango Dieback Disease in the United Arab Emirates. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 2086. <https://doi.org/10.3390/ijms18102086>.
- Sakalidis, M.L., Ray, J.D., Lanoiselet, V., Hardy, G.E.S., Burgess, T.I., 2011. Pathogenic Botryosphaeriaceae associated with *Mangifera indica* in the Kimberley Region of Western Australia. *Eur. J. Plant Pathol.* 130, 379–391. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9760-z>.
- Sharma, I.M., Gupta, V.K., 1994. Evaluation of different fungicides on *Botryodiplodia theobromae* Pat. causal organism of canker and dieback of mango. *Indian J. Mycol. Plant Pathol.* 24, 146–147.
- Slippers, B., Johnson, G.I., Crous, P., Coutinho, T.A., Wingfield, B., And, Wingfield, M., 2005. Phylogenetic and morphological re-evaluation of the Botryosphaeria species causing diseases of *Mangifera indica*. *Mycologia* 97, 99–110.
- Slippers, B., Wingfield, M., 2007. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and their impact. *Fungal Biol Rev* 21, 90–106.
- Suresh, V., 2014. Studies on mango gummosis with special reference to *Lasiodiplodia theobromae* ( Pat .) Griffon. Acharya N.G Ranga Agricultura .
- Sutton, B.C., 1980. The Coelomycetes, Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata; Commonwealth

- 696pages, Commonwealth Mycological Institute. UK.
- Syed, N., Rehana, N., Mansha, N., Muhammad, A.K., Abdul, M.L., 2014. Chemical control of stem end rot of mango caused by *Lasiodiplodia theobromae*. *Pak. J. Phytopathol* (02), 201-206.
- Twumasi, P., Godfried, O., And, Moses, E., 2014. The rot fungus *Botryodiplodia theobromae* strains cross infect cocoa , mango , banana and yam with significant tissue damage and economic losses. *African J. Agric. Res.* 9, 613–619. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7528>.
- Xu, C., Zhang, H., Chi, F., Ji, Z., Dong, Q., Cao, K., And, Zhou, Z., 2015. Species-specific PCR- based assays for identification and detection of Botryosphaeriaceae species causing stem blight on blueberry in China. *J. Integr. Agric.* 15, 61177–7. <https://doi.org/Doi:10.1016/S2095-3119>.
- Zhang, H., Wei, Y., Qi, Y., Pu, J., Liu, X., 2018. First report of *Lasiodiplodia Brasiliense* associated with stem-end rot of mango in China. *Plant Dis* 102, 679.