

QUELQUES DONNEES SUR LA BIOLOGIE DU PHYTOPHTHORA PALMIVORA
AGENT DE LA POURRITURE BRUNE DES CABOSSES DU CACAOYER

MICHEL TARJOT

1965

QUELQUES DONNEES SUR LA BIOLOGIE DU PHYTOPHTHORA PALMIVORA,
AGENT DE LA POURRITURE BRUNE DES CABOSSES DU CACAOYER.

Les essais ont surtout porté sur la production, la libération et la germination des zoospores du Phytophthora palmivora ; les essais portant sur la pénétration dans la cabosse n'ont été qu'abordés et feront l'objet des travaux ultérieurs.

Génétique de la libération des zoospores.

a) en partant de sporanges prélevés sur cabosses atteintes.

Sur les cabosses pourries mise en chambre humide apparaissent de nombreux sporanges. Ces sporanges sont prélevés et mis dans de l'eau distillée.

A des temps donnés des prélèvements sont effectués et la concentration en zoospores mesurée à l'hématimètre.

Résultats de 5 essais

Temps	Nombre de zoospores /mm ³
0	0
20 mn.	20
50 mn.	210
40 mn.	480
1 h.	955
1 h 30	1.250
2 h.	1.510
2 h 30	1.610
3 h.	1 590
4 h.	1 580

b) en partant de cultures sur milieu pomme de terre gelosée

Moyenne de 5 essais :

Temps	Nombre de zoospores /mm ³
0	0
20 mn.	65
30 mn.	108
40 mn.	122
1 h.	165
1 h 10	169

.../...

La libération des zoospores est donc rapide : 1h à 1h 30 environ après que les sporanges soient entrés en contact avec l'eau toutes les zoospores susceptibles d'être libérées sont sorties des sporanges.

Cinétique de la germination des zoospores.

On part de sporanges prélevés sur des cabosses pourries. Au temps 0, ces sporanges sont mis dans l'eau. Au bout de 1h 30, la suspension obtenue est filtrée de manière à la débarasser en partie des sporanges n'ayant pas libéré leur zoospores et des fragments de mycélium. Le filtrat est alors placé en cellule de Van Tieghem dans les conditions du laboratoire.

Moyenne de 6 essais :

Temps	% de germination
1h 30	0
1h 45	0
2h	0
2h 15	Rares
2h 30	9
2h 45	17
3h	37
3h 15	47
3h 30	67
3h 45	70
4h	74
4h 15	80

On note donc une germination rapide puisque pratiquement au bout de 4h, on a atteint l'assymptote de la courbe de germination.

Action de la température

a) libération des zoospores

On a voulu voir l'influence de la température de l'eau sur la libération des zoospores. On utilise des cultures sur milieu pomme de terre gelosée âgée de 15j à 3 semaines.

Au temps 0, 2cm³ d'eau distillée sont mis dans chaque tube. On a fait des essais avec de l'eau aux températures suivantes :

7 à 10° - 14 à 18° - 23 à 25° - 28° - 30° - 35°

Au bout de 2heures, on mesure à l'hematinètre la concentration en zoospores obtenue.

.../...

Moyenne de 30 tubes.

température de l'eau dis- tillée	Nombre de zoospores/mm ³
7 à 10°	2
14 à 18°	545
23 à 25°	168
28°	4
30°	1
35°	0

Des essais ultérieurs ont permis de vérifier qu'il ne s'agit pas d'un simple retard dans la libération.

D'autres essais ont également été effectués pour voir si aux températures plus élevées où l'on obtient peu ou pas de zoospores, il n'y a pas une germination directe des sporanges. Il n'en est rien et le pourcentage de sporanges ayant germé directement qui est d'ailleurs faible, n'est pas plus élevé aux températures basses qu'aux températures plus élevées.

D'autre part on a voulu voir si plaçant les cultures à des températures basses avant leur mise en contact avec l'eau, on obtenait les mêmes résultats qu'avec apport d'eau à basse température.

Là encore il n'en est rien et c'est la température de l'eau qui seule joue.

Cultures à différentes températures

On a voulu voir dans quelles conditions de température la fertilité des cultures était la plus grande.

Les cultures sont placées 3 semaines environ aux températures suivantes : 15 à 18° - 23 à 25° - 28° - 30° Les comptages effectués à l'hématimètre ont montré que c'était aux températures de 23 à 25° et 28° que l'on obtenait la meilleure production de zoospores. A 30° = la fertilité, quoique moindre est encore bonne.

b) germination des zoospores

Là encore on part de cultures sur milieu pomme de terre gelosée. Au temps 0, du mycélium prélevé est mis dans de l'eau distillée. 2 séries sont effectuées.

- A - eau distillée à 23 - 25°
- B - eau distillée à 15 - 18°

.../...

Au bout de 1 heure des prélèvements sont effectués et mis en cellule de Van Tieghem aux températures suivantes :

15 à 18° - 23 à 25° - 28° - 30° 35°

Résultats

Temps de lecture Température	Série B				Série A			
	3h	4h	5h	6h	3h	4h	5h	6 h
15 à 18°	43	55	54	66	34	54	48	58
23 à 25°	62	70	73	81	65	66	81	77
28°	72	87	88	89	70	84	81	86
30°	73	86	90	90	63	84	77	83
35°	51	69	72	78	60	56	70	75

On a d'autre part noté que la température des cultures jouait peu sur le pouvoir germinatif des suspensions de zoospores obtenues.

Conclusion

Il semble donc que la mise en contact avec de l'eau à des températures relativement basse soit indispensable pour que les sporanges puissent libérer leur zoospores.

Les chercheurs du WACRI au Nigeria ont également noté qu'ils obtenaient beaucoup de zoospores en inondant leurs cultures avec de l'eau fraîche. Quant à la germination, il semble qu'il y ait là une beaucoup plus grande plasticité : l'optimum se situe vers 28 - 30°, mais aux autres températures essayées, on obtient également des pourcentages de germination corrects.

Action de la lumière

a) Production et libération des zoospores

Dans un premier temps, des essais ont été effectués pour voir si la lumière agissait sur la libération des zoospores : 2 lots sont préparés l'un à la lumière et l'autre à l'obscurité.

Les calibrage effectués à l'hematinètre au bout de 2 heures n'ont pas montré de différences importantes entre les 2 séries.

.../...

Dans un deuxième temps, on a voulu voir si la lumière jouait un rôle sur la fertilité des cultures. Des cultures sont faites dans les conditions du laboratoire, une partie étant mise à l'obscurité totale, l'autre étant éclairée par une lampe nuit et jour.

Les cultures laissées à la lumière se sont avérées beaucoup plus fertiles que celles laissées à l'obscurité totale.

Ainsi on a obtenu :

- Cultures à la lumière : 434 zoospores/mm³
- Cultures à l'obscurité : 64 zoospores/mm³

b) Germination des zoospores

On n'a pas obtenu de différences entre des essais de germination effectués à la lumière et à l'obscurité.

Action de la concentration en zoospores

Des essais ont été réalisés en faisant germer des suspensions de zoospores allant de 100 à 1.000 par mm³.

Aucune différence notable n'a été enregistrée.

Action de l'aération de l'eau

Lors des différents essais, on s'était aperçu que les suspensions de zoospores mises en cellule de Van Tieghem germaient bien mieux que celles laissées dans des erlenmeyers. Ces dernières restaient d'ailleurs beaucoup plus longtemps en mouvement et on en trouvait encore en mouvement au bout de 24 heures. Le rôle de l'aération dans le départ en germination était à envisager.

L'essai suivant en apporte la preuve :

2 suspensions de zoospores sont préparées dans 2 béchers. Dans l'un on fait barboter de l'air produit par un petit aérateur d'aquarium, l'autre sert de témoin.

Les pourcentages de germination suivants ont été notés :

Temps de lecture	3h	4h	5h
Avec aération	49	64	70
Sans aération	0	1	3

Quelques facteurs jouant sur la pénétration des zoospores dans la cabosse

I - Durée de virulence des suspensions de zoospores

Des suspensions de zoospores préparées soit à partir de sporanges prélevés soit sur cabosses pourries soit dans des cultures sur pomme de terre gelosée ont été laissées en béciers des temps plus ou moins longs avant que l'inoculation ne soit effectuée sur cabosse d'Amelonado.

On a pu noter que la virulence se maintenait très longtemps (jusqu'à 7 heures après le moment où les sporanges étaient mis en contact avec l'eau). Nous avons vu précédemment que les suspensions de zoospores laissées en béciers germent mal et que leur motilité demeure longtemps. Elles doivent alors conserver leur virulence ; dès le dépôt de la goutte de suspension sur la cabosse, l'aération étant meilleure, la germination débute suivie de la pénétration.

2 - Temps minimum de contact de la suspension de zoospores avec la cabosse pour la réussite de l'infection.

Au temps 0, des suspensions de zoospores sont déposées sur des cabosses d'Amelonado.

Au bout de temps donnés, on lave fortement l'endroit où la goutte de suspension avait été déposée, de façon à éliminer toutes les zoospores n'ayant pas pénétré dans les tissus.

Entre 2 et 4 heures après le dépôt de la goutte de suspension, des pénétrations ont déjà eu lieu, puisque même après lavage violent on obtient apparition d'une tache de pourriture.

3 - Sensibilité des cabosses en fonction de leur âge.

On a travaillé sur cabosses d'Amelonado, et les essais ont porté sur :

- des cabosses approchant de la maturité et commençant à jaunir.
- des cabosses vertes bien développées
- de jeunes cabosses d'environ 10 cm de longueur.
- des cabosses n'ayant pas atteint leur développement maximum et se trouvant donc dans un état intermédiaire entre les deux précédents.

.../...

Il ne semble pas y avoir de différences importantes dans les pourcentages d'infections réussies et il apparaît que la sensibilité varie peu en fonction de l'âge de la cabosse.

4 - Sensibilité de la cabosse en fonction de l'endroit infecté

Des inoculations expérimentales par dépôt d'une goutte de suspension de zoospores ont été effectuées sur cabosses d'Amelonado.

La suspension de zoospores a été déposée en trois endroits différents :

- autour du pédoncule (infection proximale)
- sur le dessus de la cabosse (infection latérale)
- à la pointe de la cabosse (infection distale)

On a trouvé des pourcentages d'infection semblables pour les infections latérale et proximale, plus faibles pour les infections distales.

Les chiffres relevés sur le terrain par Delassus, Belin et Bonaventure avaient été de :

- Infection proximal : 82 %
- Infection distale : 11 %
- Infection latérale : 7 %

On peut en conclure que la réussite de l'infection est surtout due à la possibilité pour la goutte d'eau renfermant les zoospores de rester en contact avec la cabosse et non à une sensibilité particulière d'un emplacement de celle-ci.

Sur le terrain, la cabosse se présente le plus souvent la pointe dirigée vers le sol; les gouttes d'eau se maintiendront le mieux autour du pédoncule d'où les chiffres relevés.

Dans les essais au laboratoire, les gouttes de suspensions de zoospores restent facilement autour du pédoncule (les cabosses sont alors pendues par celui-ci) et sur le dessus (les cabosses étant posées dans des cristallisoirs), plus difficilement à la pointe (cabosses pendues par le pédoncule) d'où les chiffres obtenus.

5 - Rôle de l'épiderme dans la pénétration

Des essais d'infection ont été réalisés sur cabosses d'Amelonado. Dans une série, on procède à une légère scarification au scalpel à l'emplacement où la goutte de spores est déposée; dans l'autre série, il n'y a pas scarification.

.../...

On note alors une apparition rapide de la tache de pourriture dans le premier cas, alors que dans le second un certain temps de latence est noté avant le développement de la tache de pourriture. Il semble donc qu'il y ait un blocage du parasite au niveau de l'épiderme et que le champignon a besoin de plusieurs jours pour vaincre cet obstacle avant d'envahir les tissus.

Conclusion générale

Ces études sur la biologie du Phytophthora palmivora qui n'ont été abordées ont cependant permis de préciser certains facteurs jouant un rôle important dans la biologie du parasite.

Deux d'entre eux semblent surtout jouer un rôle de premier plan :

- la température de l'eau pour que les sporanges libèrent leurs zoospores.
- l'aération de l'eau pour que le départ en germination puisse avoir lieu.

L'étude de la pénétration qui n'a été qu'abordée sera poursuivie ultérieurement.

Tarjot Michel. (1965).

Quelques données sur la biologie du
Phytophthora palmivora, agent de la
pourriture brune des cabosses du cacaoyer.

sl : sn, 8 p. multigr.