

INTERACTIONS ENTRE LE *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* (BUTL.) BUTL. ET LES PLANTES SUPÉRIEURES

I. - AVANT LA CONTAMINATION

PAR

K. D. BABACAUH*

RÉSUMÉ

Les relations entre le Phytophthora palmivora et son environnement au cours de son cycle saprophytique sont analysées expérimentalement pour déterminer le rôle des facteurs physiques, chimiques et biologiques du milieu à chaque étape de son développement, depuis l'édification du mycélium végétatif jusqu'à la différenciation des sporocystes, l'émission des zoospores et leur arrivée au contact des plantes supérieures.

Cette analyse montre que les interactions entre le P. palmivora et les autres organismes vivant dans son habitat s'établissent dès l'édification de son appareil végétatif et qu'elles deviennent particulièrement étroites lors de l'émission des zoospores.

Les caractéristiques de l'environnement qui dépendent le plus directement de la présence d'autres végétaux, comme sa composition en substances organiques, jouent un rôle prépondérant dans le déroulement de son cycle saprophytique.

ABSTRACT

The relations between Phytophthora palmivora and its environment during its saprophytic cycle are investigated in laboratory conditions, with purpose to show the part of physical, chemical and biological environment factors, at every stage of its development, from vegetative mycelial setting up to sporangial formation, zoospores discharge and their coming in contact with higher plants.

This analysis shows that interactions between Phytophthora palmivora and other organisms living in its habit, establish themselves as early as the setting up of its vegetative apparatus and become specially closed during zoospores discharge.

Environmental characteristics such as its organic substances composition which depend most directly on presence of other plants, play a leading part in its saprophytic cycle.

* Centre O.R.S.T.O.M. de Brazzaville, B.P. 181, Brazzaville (Congo) et Faculté des Sciences d'Orsay-91 (France). Laboratoire de Biologie expérimentale associé au C.N.R.S.

INTRODUCTION

Les Champignons parasites du genre *Phytophthora* sont disséminés essentiellement par les zoospores qu'ils produisent à l'issue de la reproduction asexuelle et leur pénétration dans les plantes-hôtes est, dans beaucoup de cas, assurée par les tubes germinatifs que ces zoospores émettent. Ceci explique que de très nombreux travaux, notamment ceux de LEONIAN (1925), WATERHOUSE (1931), GOODING et LUCAS (1959), TARJOT (1965) aient été consacrés à l'analyse du rôle joué par des facteurs externes comme l'éclairement, la température, l'eau, la composition de l'atmosphère, les constituants du substrat dans la formation des sporocystes et l'émission des zoospores. Dans les conditions naturelles, nombre de ces caractéristiques de l'environnement sont modifiées, parfois profondément, par la présence de plantes supérieures. Aussi avons-nous tenté de déterminer dans quelle mesure et de quelle manière les plantes supérieures interviennent dans le déroulement du cycle saprophytique des *Phytophthora* jusqu'à ce que celui-ci s'achève par l'entrée en contact du parasite avec son hôte, c'est-à-dire jusqu'à l'amorce du cycle parasitaire.

Pour répondre à ces questions, nous nous sommes adressés au *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl., parasite réputé très polyphage et très répandu dans les régions intertropicales humides (CHEE, 1969). Dans une première phase, nous avons soumis ce Champignon à des variations contrôlées de l'environnement afin de déterminer les valeurs optimales et les valeurs limites compatibles avec l'accomplissement de la reproduction asexuée. Le choix des facteurs physiques et chimiques étudiés a été guidé par le souci de comparer les effets de caractéristiques du milieu en très grande partie indépendantes de la présence de plantes supérieures (température), partiellement dépendantes (pH) ou plus complètement liées à l'activité d'autres organismes vivants (composition du substrat en substances organiques). Dans la seconde partie de cette enquête, nous nous sommes attachés à définir le rôle des végétaux, qu'ils soient ou non sensibles aux attaques du *P. palmivora*, dans la période qui précède immédiatement l'établissement des relations parasitaires proprement dites.

Toutes les observations et toutes les expériences ont été conduites en faisant appel à des lignées du parasite qui constituent, selon toute probabilité, des clones homocaryotes. En effet, après vérification de l'état uninucléé de la quasi-totalité des zoospores, elles ont été obtenues par isollements monozoospores répétés. Six souches de provenances variées, ont été utilisées pour établir ces clones : A, B58 et 350 (Cacaoyer, Côte d'Ivoire), K (*Citrus*, sp., Côte d'Ivoire), L (Aubergine, Côte d'Ivoire), 570 (*Citrus aurantifolia*, Congo).

1. FORMATION DES SPOROCYSTES

Lorsque la croissance du *P. palmivora* s'effectue à l'obscurité et sur un milieu nutritif riche, le mycélium différencie très peu de sporocystes mais certains clones produisent des gemmes. En revanche, si le mycélium végétatif est privé d'aliments et exposé à la lumière, la sporogenèse est induite. Ces deux exigences ont été satisfaites de la façon suivante.

Le mycélium est toujours obtenu sur un milieu de culture synthétique solidifié par 1,5% de gélose. La composition de ce milieu en éléments minéraux est toujours celle adoptée par RONCADORI (1965) pour des études analogues sur des Pythiacées. Lorsque le facteur étudié est la température, l'azote est apporté sous forme de 1-asparagine (1,12 g/l), le carbone sous forme de glucose (10 g/l) ; de la thiamine (100 µg/l) et du β-sitos-

térol (20 µg/l) sont ajoutés. Lorsque le facteur étudié est la composition du substrat, des suppressions ou substitutions sont pratiquées ; elles seront indiquées avec leurs résultats.

Après 5 ou 10 jours de culture à l'obscurité et à une température comprise entre 22° et 23 °C, le mycélium est prélevé, avec la gélose nutritive sous-jacente et transféré dans des boîtes de Pétri contenant soit de l'eau distillée s'il s'agit d'observer les effets de conditions variées de température, soit une solution ou une suspension aqueuse d'asparagine, de thiamine ou de β-sitostérol s'il s'agit d'analyser les effets de la présence de ces substances sur la formation des sporocystes. Dans tous les cas, le mycélium est exposé à la lumière de tubes fluorescents.

Le mycélium des deux clones A et K, avec son support gélosé, a été soumis, dans l'eau distillée à des températures de 20°, 23° et 29 °C pendant 48 heures. Le dénombrement des sporocystes dans un champ de microscope de 1,5 mm de diamètre a alors fourni les résultats qui figurent dans le tableau I. Ils sont établis à partir de 10 mesures pour chaque condition.

TABLEAU I
Nombre de sporocystes en fonction de la température et de l'âge des cultures

Températures	Clones	Age des cultures	
		5 jours	10 jours
20 °C	A	25-40	> 100
	K	10-20	> 100
23 °C	A	25-40	> 100
	K	10-20	30-40
29 °C	A	25-40	80-100
	K	2-5	5-10

Le clone A est capable de se reproduire asexuellement dans une gamme étendue des températures : la plus élevée n'affecte que peu la production des sporocystes. Cette lignée isolée d'une pourriture noire des cabosses du Cacaoyer ne voit certainement pas sa dissémination freinée par cet élément du climat dans les régions où son hôte est cultivé. Le clone K est plus nettement défavorisé par une température élevée ; il provient cependant de la même zone climatique et de la même région géographique. Cette première observation montre déjà que la population de l'espèce *Phytophthora palmivora* vivent dans une même aire, la basse Côte d'Ivoire dans le cas présent, n'est pas homogène. D'autres observations, portant sur les relations entre le Champignon et les plantes supérieures, le confirmeront plus loin.

Il apparaît aussi que le nombre des sporocystes est, pour les deux clones, plus grand lorsqu'ils se forment sur le mycélium le plus âgé. Mais comme ce mycélium est transféré

dans l'eau distillée avec son support nourricier, ceci peut aussi bien traduire une différence d'activité liée à son âge qu'être l'effet indirect d'un plus grand épuisement ou d'une altération plus profonde du substrat. Cette dernière hypothèse est appuyée par le fait que le mycélium prélevé dans la marge jeune d'une culture âgée de cinq jours poursuit sa croissance dans l'eau distillée et régénère un nouvel appareil végétatif tandis que le même mycélium pris dans une culture vieille de dix jours cesse bientôt de s'allonger et que les apex de ses hyphes enflent et évoluent en sporocystes. Cette même interprétation paraît encore confirmée par deux séries d'expériences. Dans la première, des soustractions ont été opérées dans la composition du milieu nutritif sur lequel croît le mycélium. Dans la seconde, des composants de ce milieu sont ajoutés à l'eau distillée dans laquelle se différencient les sporocystes.

La suppression de l'asparagine dans le milieu de croissance interdit l'édification de l'appareil végétatif et par voie de conséquence, la différenciation ultérieure des sporocystes dans l'eau distillée. De son côté, la substitution d'une solution d'asparagine à l'eau distillée comme milieu de différenciation n'a pas d'effet sur la sporogénèse au sein du mycélium du clone *A* mais la stoppe complètement chez le clone *K* (tabl. II) et cela à toutes les températures.

Le défaut de thiamine ne ralentit pas l'élongation des filaments végétatifs mais ils sont peu nombreux, dispersés en un réseau lâche à l'intérieur de la gélose nutritive et dépourvus de rameaux dressés ; de très rares sporocystes naissent après transfert dans l'eau. L'addition de thiamine à l'eau distillée est sans effet sur la production de sporocystes.

La carence en β -sitostérol a peu d'effet sur la croissance du clone *K* : le mycélium aérien est légèrement moins abondant que sur le milieu complet, mais le nombre des sporocystes qui se différencient ultérieurement dans l'eau n'est pas significativement modifié. En revanche, cette même carence altère de manière sensible la croissance du clone *A* : les hyphes intramatriciellles de la marge des thalles se présentent, après quatre jours de culture, sous l'aspect de petites touffes éparses et non pas sous celui d'un tapis régulier ; la sporogénèse n'est pas perturbée.

TABLEAU II

Effets de l'asparagine et du β -sitostérol sur la production des sporocystes par un mycélium âgé de dix jours

Températures	Clones	Eau distillée	1-asparagine 1,1 mg/ml	β -sitostérol 20 μ g/ml
20 °C	<i>A</i>	> 100	> 100	> 100
	<i>K</i>	> 100	0	> 100
23 °C	<i>A</i>	> 100	> 100	> 100
	<i>K</i>	30-40	0	50-60
29 °C	<i>A</i>	80-100	80-100	80-100
	<i>K</i>	5-10	0	50-60

Le mycélium du clone *A* est indifférent à la présence de ce stérol dans le milieu où s'effectue la sporogénèse. En revanche, ce même stérol compense en très grande partie l'effet inhibiteur des températures élevées sur la reproduction asexuelle du clone *K* : à 20 °C, où celle-ci est très active, l'addition du β -sitostérol n'a pas d'effet mesurable mais à 23 °C, la stimulation est déjà nette et à 29 °C elle est telle qu'elle annule complètement la réduction entraînée dans l'eau distillée par cette nouvelle élévation de 6 °C de la température.

L'ensemble de ces observations et de ces expériences confirme, sur les quelques points étudiés, l'existence d'un lien étroit chez le *P. palmivora* entre les conditions offertes pour la croissance mycélienne et l'intensité des activités reproductrices asexuelles. Plus le milieu favorise la croissance et plus le nombre des sporocystes peut être élevé, mais cette potentialité ne s'exprime que si la croissance est interrompue par l'appauvrissement du substrat. De plus, si la sporogénèse de certains clones, dont l'exemple est ici le clone *A*, est indépendante de variations de la température d'une amplitude comparable à celle qui est réalisée dans son habitat naturel, la production des sporocystes par d'autres clones, comme le clone *K*, est, en revanche, très dépendante de la température mais elle peut en être affranchie par la présence de substances organiques du type de celles qui sont synthétisées par d'autres êtres vivants.

2. GERMINATION DES SPOROCYSTES

Pour juger de l'aptitude des sporocystes à germer en libérant des zoospores, nous avons choisi comme critère l'abondance des zoospores libérées, elle-même fonction du nombre des sporocystes, de leur âge et des conditions de leur formation. Aussi avons-nous réalisé toutes les expériences dans des conditions de sporogénèse identiques aussi bien pour l'âge que pour la température et l'éclairement.

Le mycélium est obtenu sur un bouillon de Pois liquide à 7%, plus favorable que le milieu synthétique gélosé utilisé jusqu'ici. En culture non agitée, on récolte un disque mycélien qui est découpé stérilement en quartiers de même surface. Ces quartiers sont déposés un à un dans des boîtes de Pétri, recouvertes de 10 ml d'eau distillée stérile et exposés à la lumière pour induire la différenciation des sporocystes ; un délai de 72 heures est amplement suffisant pour cette induction : les ébauches de sporocystes mûrissent en 24 à 48 heures, leur protoplasme se clive en zoospores tandis qu'une papille, généralement apicale, s'organise. Les zoospores se libèrent du sporocyste par cette papille. Très fréquemment leurs flagelles ne sont pas immédiatement fonctionnels : ou bien les zoospores demeurent quelques instants enrobées dans une vésicule commune formée apparemment par les matériaux de la papille, ou bien, surtout en fin de décharge, elles sortent passivement, une à une, hors du sporocyste, flagelles en avant, mais immobiles. La période de nage active ne débute, pour la majorité, que lors de leur libération de la vésicule ou qu'un peu après leur sortie individuelle.

L'effet de la température sur la germination des sporocystes a été étudié sur les clones *A* et *K*. Lorsque cette température est maintenue en permanence à 29 °C, il n'y a pas de germination, mais lorsqu'elle est abaissée à 22 °C, plus de 50% des sporocystes libèrent des zoospores en l'espace de 2 heures et 70% en 12 heures ; demeurent seuls clos les organes immatures.

Ce passage d'une température élevée à une température plus basse de 7 °C est également efficace pour déclencher la libération des zoospores des deux clones. L'amplitude de cette variation de la température est comparable à celle qui est mesurée entre le jour

et la nuit dans beaucoup de régions intertropicales, au moins à certaines périodes de l'année.

Des abaissements de température plus faible peuvent être suffisants pour assurer la propagation du *P. palmivora* par la voie asexuelle si la plus élevée des deux températures est modérée. 30% des sporocystes du clone *K* libèrent encore leurs zoospores lorsqu'ils sont formés à 23 °C et transférés à 20 °C. Une absence totale de variation de la température n'entrave pas totalement la germination si la température à laquelle se forment les sporocystes est encore un peu plus basse : maintenus en permanence à 20 °C, 20% des sporocystes du clone *K* émettent des zoospores.

L'influence du pH sur la germination des sporocytes a été étudiée selon les mêmes techniques et mesurée en adoptant le même critère que pour apprécier le rôle de la température. Mais dans ce cas particulier, à l'eau distillée stérile, on a substitué des solutions tamponnées dont les pH s'échelonnent régulièrement entre pH = 3,5 et pH = 8,0. Le tampon retenu est un mélange *acide citrique 0,001M/phosphate disodique 0,002M*. Il a été vérifié qu'à cette concentration, il n'est ni toxique ni stimulant pour aucun des trois clones soumis à cette expérience.

Après 72 heures de séjour du mycélium dans le tampon, à la lumière et à 26 °C, la température est abaissée à 20 °C, puis le mycélium est éliminé. Chaque suspension de zoospores reçoit alors quelques gouttes d'HCl N pour les immobiliser et faciliter leur dénombrement à l'hématimètre. Pour chaque valeur de pH, 6 à 13 comptages ont été effectués. La figure 1 rend compte des résultats observés.

Les sporocystes des trois clones étudiés sont inégalement sensibles aux variations du pH du milieu de germination. Pour le clone *L*, l'émission de zoospores atteint une valeur maximale entre pH = 5,5 et pH = 7,0 ; de part et d'autre de ces deux valeurs, la décroissance est rapide. En revanche, les sporocystes des clones *570* et *B58* libèrent des nombres statistiquement équivalents de zoospores entre pH = 5,0 et pH = 7,5. Pour les trois clones, la germination est très réduite à pH = 4,5 et nulle à pH = 3,5. A pH = 8,0, elle est faible pour les clones *570* et *B58* mais elle atteint encore la moitié de son maximum pour le clone *L*.

Ces différences notées entre clones n'en laissent pas moins ressortir le fait que les sporocystes du *P. palmivora* supportent des variations importantes de pH sans retentissement profond sur leur aptitude à libérer leurs zoospores. L'étendue de ces variations embrasse les valeurs du pH qui sont mesurées dans les sols et dans les extraits de plantes. Ce facteur ne joue donc probablement pas un rôle plus décisif que la température dans la propagation du *P. palmivora* dans son milieu naturel.

Mais le comportement des sporocystes, dans les conditions d'environnement qui autorisent leur germination, dépend considérablement des conditions qui ont présidé à leur formation. Les sporocystes formés à 29 °C sur le substrat synthétique gélosé défini plus haut mais dépourvu de β -sitostérol ne germent pas, même lorsque la température est abaissée à 20 °C : leur protoplasme ne se clive pas en zoospores. En revanche, la présence de ce stérol lors de la formation des sporocystes peut dispenser d'un abaissement de la température pour déclencher leur germination : les sporocystes formés à 23 °C sur le milieu synthétique complet émettent des zoospores en abondance dans un délai de 20 minutes quand on recouvre la culture d'eau à la même température, aucune zoospore n'apparaît à cette même température permanente si le substrat ne contient pas de stérol. Ceci apporte une précision nouvelle aux observations d'HENDRIX (1965) qui a signalé que les stérols facilitent la décharge des sporocystes du *P. palmivora*.

Ces faits indiquent clairement que pour la germination comme pour la formation des sporocystes, les caractéristiques de l'environnement qui dépendent étroitement de

la présence d'autres êtres vivant dans l'entourage du *P. palmivora* ont l'influence la plus déterminante.

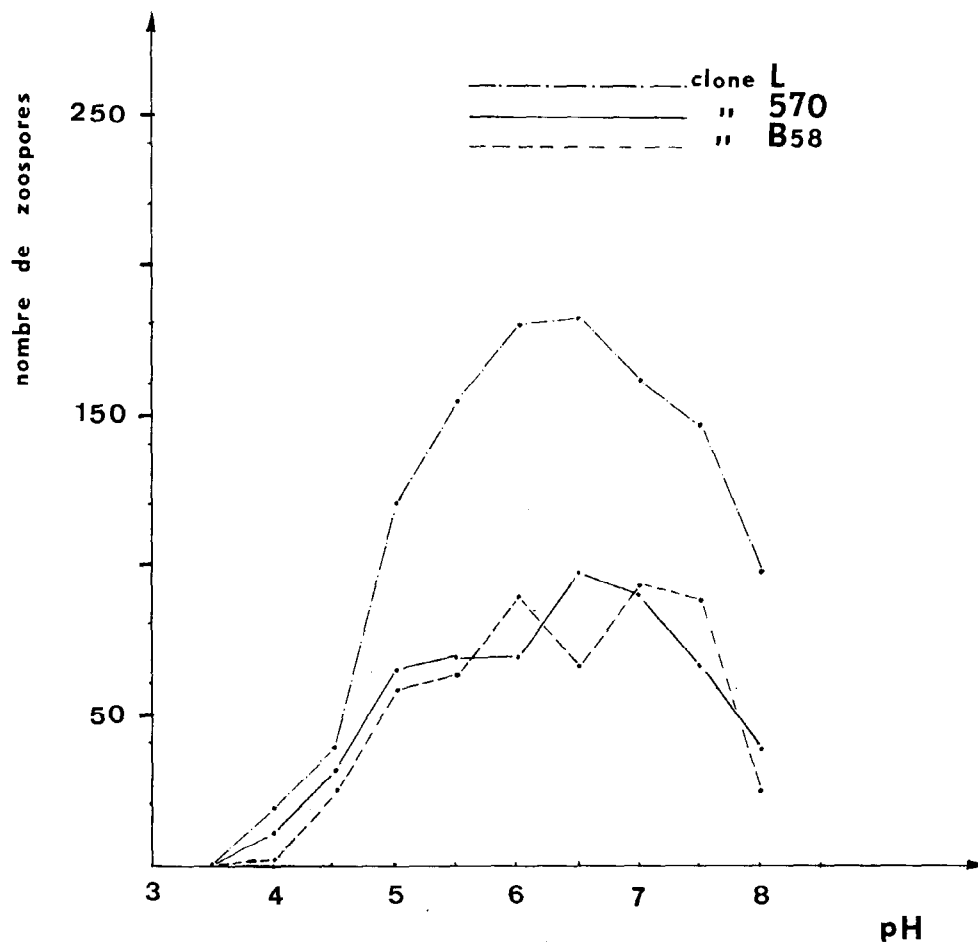


FIG. 1. - Influence du pH sur la germination des sporocystes : nombre de zoospores libérées (par 1 μ l de suspension) en fonction du pH

3. COMPORTEMENT DES ZOOSPORES

Comme aux étapes précédentes du cycle saprophytique du *P. palmivora*, les rôles de la température, de la réaction du milieu et de sa composition chimique ont été comparés. Mais, puisque les zoospores sont les organes du Champignon qui assurent habituellement la contamination des plantes-hôtes la comparaison a été étendue à l'observation des effets *in vitro* de fragments végétaux sur le comportement des zoospores.

3.1. Facteurs physiques et chimiques.

L'influence de la température sur la mobilité des zoospores, leur immobilisation et leur production de filaments germinatifs a été observée, au microscope stéréoscopique sur des suspensions placées à 10°, 20°, 22°, 26° et 29 °C.

A 10 °C, les zoospores cessent de nager entre 45 et 100 minutes après leur libération dans l'eau et aucune production de tubes germinatifs n'est notée à cette température ; cette température est létale car réchauffées jusqu'à 23 °C, elles demeurent inertes. En revanche, entre 20° et 29 °C, leur comportement est tout à fait normal ; elles sont toutes mobiles pendant 100 minutes au moins, la moitié se déplacent pendant plus de 4 h 30, quelques-unes nagent encore 11 heures après leur émission ; le tube germinatif, généralement unique, apparaît de 20 à 40 minutes après l'arrêt des flagelles. La dissémination du *P. palmivora* est donc probablement aisément assurée par les zoospores à toutes les températures qui peuvent régner dans les régions intertropicales humides.

Le devenir des zoospores a été également examiné dans des solutions tamponnées (acide citrique 0,001M/phosphate disodique 0,002M) dont les pH étaient échelonnés entre les deux valeurs extrêmes pH = 3,5 et pH = 8,0.

La mobilité des zoospores du clone 570 est très affectée par l'acidité du milieu. A pH = 3,5 et pH = 4,0, elles cessent instantanément de se déplacer et elles ne germent pas ou tout à fait exceptionnellement. A pH = 4,5 et pH = 5,0, les zoospores s'éloignent très peu et très lentement du sporocyste d'où elles se sont échappées ; le temps de natation est réduit et 45 minutes après leur émission, 75% d'entre elles sont arrêtés ; elles germent rarement. Aux pH égaux ou supérieurs à pH = 7,0, la fin de la phase mobile survient également très tôt mais la germination est fréquente et d'autant meilleure que la réaction du milieu est plus éloignée de la neutralité. Entre ces deux groupes de pH, c'est-à-dire de pH = 5,5 à pH = 6,5, la phase mobile est longue, la majorité nage encore activement après 75 minutes, les arrêts sont très espacés dans le temps et ils sont suivis d'une germination normale.

Le même comportement des zoospores a été observé pour les clones *A*, *K*, *L*, *350* et *B58*. Les solutions les plus acides inhibent les mouvements et la germination, les solutions neutres ou faiblement alcalines provoquent la cessation des déplacements actifs mais permet la sortie des tubes germinatifs. Les plus longs parcours accomplis le plus activement sont notés entre pH = 5,5 et pH = 6,5. Ils sont associés à un fort pourcentage de germination.

Les effets de la présence de certaines plantes supérieures, qui seront rapportés ultérieurement, nous ont incité à observer le comportement des zoospores en présence de saponines et d'un alcaloïde.

En présence de saponines (1‰), la germination des sporocystes est entravée et les zoospores libérées cessent instantanément de nager. La libération des zoospores n'est identique à ce qu'elle est dans l'eau distillée qu'à des concentrations égales ou inférieures à 0,25 mg/ml mais la durée de la phase mobile demeure encore réduite ; la germination des zoospores intervient après le même délai que chez le témoin mais la croissance de leur tube germinatif est plus active.

La strychnine inhibe l'émission des zoospores à partir d'une concentration de 0,5 mg/ml mais ni la durée de leurs mouvements ni leur germination ne sont affectées.

3.2. Facteurs biotiques.

Depuis les travaux d'ARENS (1929) sur l'attraction des zoospores du *Plasmopara viticola* par les stomates des feuilles de la Vigne, le même phénomène a été retrouvé chez

nombre de Péronosporales, en particulier les *Phytophthora fragariae* (GOODE, 1956), *cinnamomi* (ZENTMYER, 1961) et *parasitica* (DUKES et APPLE, 1961). Enfin, TURNER (1963) a montré que des exsudats des racines du Cacaoyer et de plantes non sensibles favorisent la germination des zoosporocystes et attirent les zoospores du *P. palmivora*. Aussi avons-nous étendu notre analyse du comportement des zoospores à cinq clones du *P. palmivora* et à un grand nombre de plantes supérieures sensibles ou résistantes.

3.2.1. Matériels et méthodes.

Les expériences ont porté sur des racines, des feuilles et des organes de réserve de vingt plantes appartenant à des familles botaniques très diverses. Ces espèces ont été choisies soit parce que ce sont des hôtes habituels du *P. palmivora*, soit parce qu'elles se sont révélées sensibles ou résistantes aux inoculations réalisées avec nos clones, soit parce qu'elles produisent des alcaloïdes ou des saponines dont les propriétés fongicides sont reconnues, soit encore parce que ce sont des adventives de plantes cultivées sensibles.

Les organes soumis aux expériences sont des racines, des feuilles ou des tubercules. Pour les racines, les parties utilisées sont les extrémités en pleine croissance, obtenues stérilement lorsqu'elles proviennent de plantules, soigneusement lavées à l'eau stérile pour éliminer les effets éventuels de la présence d'une microflore associée lorsqu'il s'agit de plantes plus âgées. Les feuilles sont découpées en lanières ou utilisées entières lorsque leur taille est réduite, ce qui est notamment le cas pour les feuilles cotylédonaire. Les tubercules sont toujours mis en expérience sous forme de fragments.

Le comportement des zoospores a été observé dans des boîtes de Pétri, de 30 ou 45 mm de diamètre où l'on introduit stérilement 5 ml d'une suspension aqueuse de zoospores (150 000/ml) récemment émises et encore au début de leur phase mobile. Comme ces zoospores ont tendance à nager en surface, les organes des plantes supérieures sont disposés de façon à émerger partiellement. Un éclat de lame de verre placé dans la suspension sert de témoin. La température est stabilisée à 22°-23 °C.

L'observation, qui commence immédiatement, porte sur la durée de la phase mobile, l'orientation des mouvements, la localisation du pôle germinatif et la direction adoptée par le tube germinatif.

3.2.2. Orientation des mouvements des zoospores.

L'ensemble des effets observés permet de ranger les organes des plantes supérieures en trois catégories : ils attirent, repoussent ou n'ont aucune action sur les trajets accomplis par les zoospores. Les organes d'une même plante n'exercent pas toujours un effet de même sens.

Un exemple type d'action attractive est offert par les racines et les feuilles du Piment (*Capsicum annuum*). Dès que la racine est introduite dans la suspension, les zoospores qui se trouvent au voisinage immédiat de sa partie en cours d'élongation voient leur liberté de mouvement restreinte : elles s'agitent sur place puis viennent s'appliquer contre elle ; celles qui s'en trouvent éloignées se dirigent vers elle. Ce rassemblement est achevé en 5 à 10 minutes. Après un bref temps d'agitation, la plupart s'immobilisent et forment des amoncellements aux points les plus attractifs : les centres de rassemblement sont d'une part la zone d'allongement des cellules de la racine, et d'autre part la zone blessée lors de la section de la racine. A la fin de cette période d'aggrégation, l'arrêt des battements des flagelles est d'autant plus précoce que la zoospore est plus proche de la racine. La germination des zoospores débute peu après.

Le phénomène décrit pour la racine se reproduit avec la feuille. Il est moins intense, mais son déroulement est identique : attraction, arrêt, germination. Les parties de la

feuille qui provoquent cette attraction sont essentiellement la pointe de la nervure centrale des feuilles cotylédonnaires et les zones blessées. Ce sont les nervures sectionnées qui attirent le plus efficacement les zoospores.

Quatre variétés de Piment ont été soumises à ces expériences. Toutes les quatre exercent la même action sur les zoospores des trois clones A, K et L du *P. palmivora*. Or, ces quatre variétés répondent différemment aux inoculations expérimentales (tabl. III).

TABLEAU III

Réactions de quatre variétés de Piment aux clones A, K et L du *Phytophthora palmivora*

Variétés-hôtes	Clones du <i>P. palmivora</i>		
	A	K	L
28-17	sensible	sensible	sensible
Carré doux d'Amérique	sensible	tolérant	
Long ordinaire	insensible	insensible	sensible
Cayenne	insensible	insensible	

L'attraction exercée sur les zoospores est donc sans relation directe ni avec la virulence du parasite ni avec les réactions de l'hôte.

Beaucoup de plantes ont le même effet que le Piment : Aubergine (trois variétés), Cacaoyer, Oranger, Mandarinier, *Costus* sp., *Hibiscus sabdariffa*, *Stylosanthes gracilis*, *Crotalaria longithyrsa*, *Centrosema pubescens*. De petites différences ont été notées pour le Cotonnier (*Gossypium hirsutum*) ; l'attraction est faible et les zoospores se dirigent aussi bien vers la zone d'élongation des racines que vers leur apex et ces racines perdent toute leur activité lorsqu'elles sont complètement immergées. L'effet attractif de la racine de *Tradescantia zebrina* est encore plus faible.

La répulsion est une réponse apparemment plus rare à la présence de plantes supérieures au voisinage des zoospores. Elle a été observée dans le cas des feuilles du Gombo (*Hibiscus esculentus*), des tubercules de la Pomme de terre et de l'Igname (*Dioscorea alata*).

Les racines du Gombo agissent comme celles du Piment. En revanche, lorsqu'on introduit un lambeau de feuille de cette Malvacée dans une suspension de zoospores, quelques-unes sont attirées et viennent au contact immédiat de la partie blessée, elles s'agitent sur place un court instant puis s'en éloignent de quelques dixièmes de millimètres et s'immobilisent brutalement. Le reste des zoospores vient rapidement s'immobiliser à quelque distance de la feuille en laissant un espace libre qui ne sera franchi que par les tubes germinatifs des zoospores.

La répulsion est plus accentuée vis-à-vis des tubercules de la Pomme de terre et de l'Igname : les zoospores s'en éloignent progressivement et finissent par se rassembler le plus loin possible du fragment de la plante. La durée de la phase mobile est comparable à celle mesurée chez le témoin.

Enfin, des plantes n'ont aucun effet attractif ou répulsif sur les mouvements des zoospores : Concombre (deux variétés), *Milletia laurentii*, *Canthium arnoldianum*, *Strychnos pungens*. Ceci n'implique pas qu'elles n'exercent aucune autre action sur les zoospores.

3.2.3. Germination des zoospores.

Beaucoup de plantes ou de parties de plantes qui orientent vers elles les mouvements des zoospores abrègent aussi la durée de cette phase mobile. Il en est ainsi notamment pour les racines et les feuilles du Piment, pour les racines du Gombo. Mais il en est également de même pour les feuilles de cette dernière plante qui, attractives dans un premier temps, sont finalement répulsives et pour les racines et les feuilles de végétaux qui n'exercent aucune action de cette nature : *Caloncoba welwitschii*, *Milletia laurentii*, *Canthium arnoldianum*, *Strychnos pungens*. En présence des racines ou des feuilles de ces quatre plantes, l'arrêt des zoospores intervient (tabl. IV) entre 5 et 40 minutes après la mise en présence des partenaires alors que chez les témoins le même phénomène demande une heure.

TABLEAU IV

Influence de plantes non attractives sur la durée de la phase mobile des zoospores du clone K et sur leur germination

	Durée de la phase mobile en minutes	Délai entre l'arrêt des zoospores et la germination en minutes
<i>Caloncoba welwitschii</i> (Oliv.) Gilg. racines feuilles	38 33	7
<i>Milletia laurentii</i> de Wild. racines feuilles	12 10	15
<i>Canthium arnoldianum</i> (de Wild.) Heffer racines	5 à 10	10
<i>Strychnos pungens</i> feuilles	28	
Témoin (eau désionisée pH = 5,3)	60	20-40

Habituellement, l'émission d'un tube germinatif par les zoospores immobilisées se produit, chez le témoin, entre 20 et 40 minutes après la fin des déplacements. Ce délai est réduit à 7 minutes par le *Caloncoba*, 10 par le *Canthium* et 15 par le *Milletia*.

Les plantes supérieures exercent encore deux autres types d'effets sur les zoospores du *P. palmivora*. En présence d'un fragment de feuille de Gombo, la formation d'une zone libre de zoospores autour de ce fragment permet d'observer la germination de la spore : le pôle germinatif se différencie toujours sur la face de la spore tournée vers la feuille et le tube qui est émis se dirige droit vers la zone blessée. Enfin, en présence du *Tradescantia zebrina* la durée de la phase mobile est égale à celle observée chez les témoins mais la germination est tout à fait exceptionnelle.

4. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les observations et les expériences témoignent toutes de l'aptitude du *Phytophthora* à accomplir sa croissance et à se reproduire asexuellement dans des conditions aisées à réunir au laboratoire. Les valeurs des composantes physiques du milieu qui sont compatibles *in vitro* avec ces deux phases de son développement montrent que dans les conditions naturelles réalisées dans son aire géographique, ces mêmes composantes ne sont certainement pas susceptibles de limiter sa vie saprophytique. Les températures qui règnent en zone tropicale humide et les pH des sols cultivés sont compris dans les limites tolérées par la plupart des clones que nous avons utilisés et permettent aussi bien la formation et la germination des zoosporocystes que le maintien de la motilité des zoospores pendant un temps suffisant pour qu'elles atteignent un hôte.

En revanche, la dépendance du *P. palmivora* vis-à-vis d'autres organismes est très étroite. Sa croissance n'est convenable qu'en présence de la thiamine qu'il ne synthétise pas. La germination des zoosporocystes est améliorée par un apport de stérols et entravée par les saponines et un alcaloïde.

Les interactions directes entre le Champignon et les plantes supérieures vivantes commencent dès l'émission des zoospores et revêtent plusieurs formes : orientation des déplacements, interruption des mouvements, réduction du délai de germination après l'arrêt, localisation du pôle germinatif, orientation de la croissance des filaments germinatifs.

En ce qui concerne l'attractivité, les plantes se répartissent en trois groupes : leurs racines et leurs feuilles attirent, repoussent ou laissent les zoospores indifférentes. Mais une plante attractive n'est pas forcément sensible. La variété *long ordinaire* du Piment est résistante au clone A tandis que la variété 28-17 est sensible ; toutes deux sont cependant aussi attractives. De même, une plante sensible n'est pas nécessairement attractive (Concombre). Il faut toutefois remarquer à ce propos que les plantes dont les organes sont à la fois sensibles et attractifs provoquent elles-mêmes leur contamination et leur attaque. Il y a là un aspect du parasitisme du *P. palmivora* qui ne devrait pas être négligé lorsqu'on se propose d'améliorer certaines plantes cultivées.

Il n'y a pas non plus de relation constante entre les diverses actions exercées par les végétaux sur le *P. palmivora*. La réduction de la durée des déplacements peut être le fait d'une plante attractive (Piment), d'un organe répulsif (feuille d'*Hibiscus esculentus*), d'un végétal sans effet sur la direction des déplacements (racines du *Canthium arnoldianum*). Une plante faiblement attractive, comme le *Tradescantia zebrina*, n'a pas d'influence sur le temps de natation mais inhibe totalement la germination. Une

plante non attractive, comme le *Caloncoba welwitschii* réduit la durée des mouvements et accélère la germination des zoospores.

Rien n'indique donc que les effets exercés par les plantes supérieures aux phases successives de l'émission des zoospores hors du sporocyste, de leur progression dans le milieu, de leur arrêt et de leur germination sont de même nature et font appel au même déterminisme.

Beaucoup de nos observations conduisent à penser que l'attraction est provoquée par des substances contenues dans la racine et la feuille. Chez le Piment, l'attraction est plus forte au niveau des blessures (feuilles et racines) et les zoospores se rassemblent plus massivement au niveau des nervures des feuilles blessées ; tout se passe comme si ces substances étaient soit plus concentrées au niveau des blessures soit plus aptes à diffuser hors de la plante aux endroits lisses. De même, la zone d'allongement cellulaire des racines, partie la plus attractive d'une racine intacte, est soit plus riche en substances attractives soit plus perméable. Il s'agirait dans tous ces cas, d'un chimiotactisme, les zoospores s'orienteraient dans un gradient de concentration.

Une telle interprétation rejoint les observations de GOODE (1956) sur le *Phytophthora fragariae*, de ZENTMYER (1961) chez le *P. cinnamomi*, les travaux de DUKES et APPLE (1961), de CUNNINGHAM et HAGEDORN (1962), et ceux plus récents de ROYLE et HICKMAN (1964), travaux effectués respectivement sur le *P. parasitica*, l'*Aphanomyces euteiches*, le *Pythium aphanidermatum*.

Si tous les chercheurs s'accordent sur la nature chimique de ces attractions, les substances n'ont cependant pas encore été identifiées. On sait seulement que certains sucres et acides aminés déclenchent *in vitro* des phénomènes analogues à ceux provoqués par les plantes supérieures. S'il est vrai que ces substances sont des constituants normaux de cellules végétales, on ne peut cependant pas conclure que ce sont nécessairement celles-là qui agissent sur les zoospores.

Quant aux réactions de répulsion que nous avons décrites en présence des tubercules de la Pomme de terre et de l'Igname, elles pourraient aussi s'expliquer par la libération de composés chimiques par ces plantes, mais nous ne pouvons pas exclure qu'il s'agisse d'une réponse des zoospores à l'acidification du milieu par les produits que libèrent ces plantes. Nous avons en effet constaté qu'en milieu acide, les zoospores s'éloignent très peu du sporocyste qui les a émises : tout se passe comme si l'environnement était répulsif. Or, par exemple, nous avons mesuré des valeurs du pH de l'ordre de 5,0 pour le suc extrait d'organes comme le tubercule de la Pomme de terre.

Enfin, la réduction de la durée de la phase mobile des zoospores provoquée notamment par des plantes à alcaloïdes ou à saponines peut être attribuée à ces composés : les saponines réduisent effectivement ce temps proportionnellement à leur concentration et si la strychnine s'est montrée inefficace de ce point de vue, ce n'est pas le seul alcaloïde produit par les végétaux soumis aux expériences. Mais il se pourrait aussi qu'à l'action physiologique de ces molécules se superpose ou se substitue l'effet des modifications de la réaction du milieu que leur présence entraîne : en milieu acide ou basique, la longueur de la phase mobile est réduite.

Directe ou indirecte, l'interaction entre les substances libérées par les végétaux dans leur rhizosphère ou dans leur phyllosphère et le *Phytophthora palmivora* n'en est pas moins importante à prendre en considération pour organiser sur des bases rationnelles la lutte contre ce parasite. Elle joue un rôle bien avant l'entrée en contact des deux partenaires car elle gouverne en partie le déroulement du cycle saprophytique du Champignon.

BIBLIOGRAPHIE

- ARENS (K.) – 1929 – Physiologische Untersuchungen an *Plasmopara viticola* unter besonderer Berücksichtigung der Infektionsbedingungen. *Jb. wissenschaft. Botan.* 70, 93-157.
- CHEE (K. H.) – 1969 – Hosts of *Phytophthora palmivora*. *Rev. Appl. Mycol.* 48, 337-344.
- CUNNINGHAM (J. L.), HAGEDORN (D. J.) – 1962 – Penetration and infection of pea roots by zoospores of *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology*, 52, 827-834.
- DUKES (P. D.), APPLE (J. L.) – 1961 – Chemotaxis of zoospores of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* by plant roots and certain chemical solutions. *Phytopathology*, 51, 195-196.
- GOODE (P. M.) – 1956 – Infection of strawberry roots by zoospores of *Phytophthora fragariae*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 39, 367-377.
- GOODING (G. V.), LUCAS (G. B.) – 1959 – Factors influencing sporangial formation and zoospores activity in *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Phytopathology*, 49, 277-281.
- HENDRIX (J. W.) – 1965 – Influence of sterols on growth and reproduction of *Pythium* and *Phytophthora*. *Phytopathology*, 55, 653-657.
- LEONIAN (L. H.) – 1925 – Physiological studies on the genus *Phytophthora*. *Amer. J. Bot.* 12, 444-495.
- ROYLE (D. J.), HICKMAN (C. J.) – 1964 (a) – Analysis of factors governing (*in vitro*) accumulation of zoospores of *Pythium aphanidermatum* on roots. I – Behaviour of zoospores. *Canad. J. Microbiol.* 10, 151-162.
- ROYLE (D. J.), HICKMAN (C. J.) – 1964 (b) – Analysis of factors governing (*in vitro*) accumulation of zoospores of *Pythium aphanidermatum* on roots. II – Substances causing response. *Canad. J. Microbiol.* 10, 201-219.
- RONCADORI (R. W.) – 1965 – A nutritional comparison of some species of *Phytophthora*. *Phytopathology*, 55, 595-599.
- TARJOT (M.) – 1965 – Quelques données sur la biologie du *Phytophthora palmivora*, agent de la pourriture brune des cabosses du Cacaoyer. Conférence internationale sur les recherches agronomiques cacaoyères, Abidjan, 177-183.
- WATERHOUSE (G. M.) – 1931 – The production of conidia in the genus *Phytophthora*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 15, 311-322.
- ZENTMYER (G. A.) – 1961 – Chemotaxis of zoospores for root exudates. *Sciences*, 133, 1595-1596.