

COMPARAISON DE DIFFERENTS ISOLEMENTS DE PHYTOPHTHORA
DE COTE D'IVOIRE

ORSTOM Fonds Documentaire

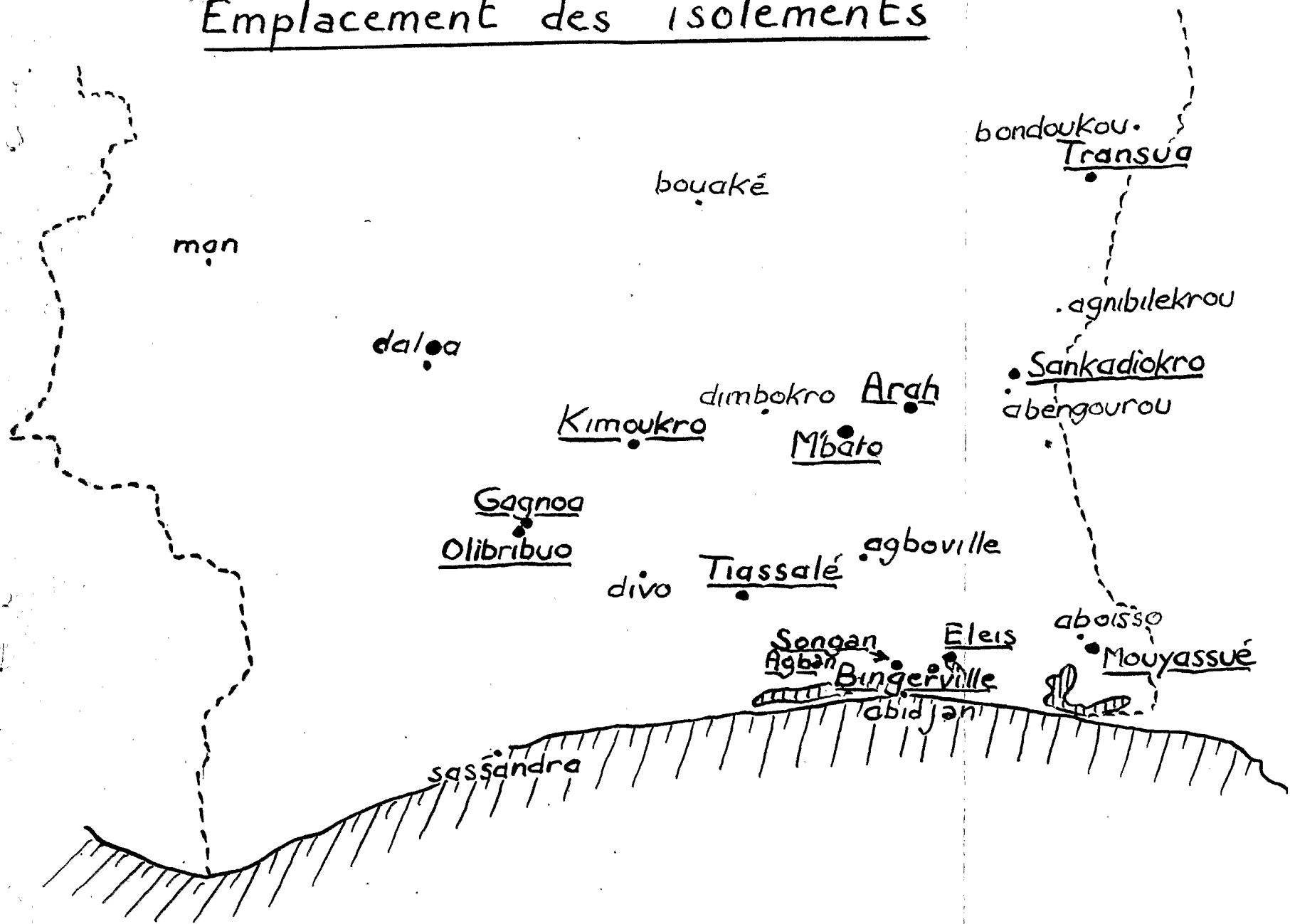
N° : 22818

Cote : B

Michel TARJOT

1965

Emplacement des isolements



COMPARAISON DE DIFFERENTS ISOLEMENTS

DE PHYTOPHTHORA DE COTE D'IVOIRE

INTRODUCTION -

Les essais d'inoculations expérimentales entrepris au laboratoire de Phytopathologie de l'IFCC en vue de rechercher des caractères de résistance de cacaoyers envers le Phytophthora palmivora, agent de la pourriture brune des cabosses, sont actuellement effectués. Il est bien évident que la connaissance des races physiologiques éventuelles du parasite présentes en Côte d'Ivoire était de première importance pour la poursuite de ces essais.

RECOLTE D'ECHANTILLON -

TURNER dans ses essais sur les races physiologiques du parasite avait utilisé quelques échantillons en provenance de Côte d'Ivoire.

De façon à avoir un inventaire précis en ce qui concerne la Côte d'Ivoire, des échantillons nombreux ont été ramenés en 1962 et 1963 de la zone cacaoyère du pays.

Ces échantillons proviennent en général de cabosses pourries. On dispose également d'échantillons en provenance de jeunes cacaoyers attaqués en pépinière.

Des isollements ont été effectués qui ont permis dans un premier stade d'avoir des cultures "en masse". Le milieu de culture employé consiste en une décoction de pommes de terre gélosée (200 g. de pommes de terre - 20 g. de gélose par litre de milieu).

De façon à travailler sur des souches bien définies, on a effectué un certain nombre d'isollements monospores à partir de ces cultures "en masse".

On a procédé de la manière suivante :

- une suspension diluée de zoospores est préparée à partir des cultures en ajoutant quelques cm³ d'eau dans le tube. Par calibrage à l'hématimètre et dilutions on s'arrange pour n'avoir que quelques zoospores par mm³.
- cette suspension est étalée sur lame gélosée et laissée 5 à 6 heures dans les conditions du laboratoire de façon à ce que la germination survienne, mais que la longueur des tubes germinatifs ne soit pas trop grande ce qui générerait les prélèvements.
- au microscope à faible grossissement (10 x 12,5) un carré de

gélose est découpé avec une fine aiguille de verre autour de la zoospore en germination.

- ce carré de gélose est visible à la loupe binoculaire alors que la zoospore ne l'était pas. Il est prélevé et mis en culture en tube sur le même milieu que précédemment.

ISOLEMENTS OBTENUS -

La carte jointe permettra de situer l'emplacement des souches :

Souches	lieu d'origine	Organe d'origine
A1 à A5	ARAH	Cabosses pourries
B1 à B5	BINGERVILLE	"
JB (isolement "en masse")	"	Jeunes cacaoyers
G1 à G5	GAGNOA	Cabosses pourries
JG	"	Jeunes cacaoyers
K1 à K5	KIMOUKRO	Cabosses pourries
M1 à M5	MOUYASSUE	"
MB1 à MB5	M' BATO	"
O1 à O5	OLIBRIBUS	"
S1 à S5	SANKADIOKRO	"
T1 à T5	TRANSUR	"

On dispose également de 3 isolements de Phytophthora sp. fournis par l'ORSTOM ou l'IFAC :

- H : panneaux de saignée d'Hévéas (Elacis)
- An : pourriture du coeur d'ananas (Tiassalé)
- Ag : gomose sur agrumes (Songan-Agban).

ISOLEMENTS EN PROVENANCE DU CACAOYER : Etude bisométrique des sporanges -

Des prélèvements ont été effectués soit à partir de cultures sur milieu pomme de terre gélosée, soit directement à partir de cabosses atteintes placées en chambre humide. On mesure la longueur et la largeur des sporanges, ainsi que le rapport longueur/largeur.

- à partir de cultures

La longueur moyenne des échantillons examinés se situe aux en-

virons de 45 μ (42, 5 - 49, 2) la largeur moyenne est de l'ordre de 29 μ (27, 7-32, 0) et le diamètre moyen est de l'ordre de 1, 54 (1, 40-1, 66).

- à partir de sporanges prélevés sur cabosses atteintes

Dans un premier temps les différentes souches ont été inoculées sur cabosses de cacaoyer Amelonado en découpant à l'emporte pièce un petit cylindre dans les tissus du péricarpe de la cabosse et en mettant un petit fragment de culture à la place. Les cabosses sont placées en chambre humide et les sporanges prélevés sur la tache de pourriture au bout de 5 à 6 jours.

La largeur moyenne se situe aux environs de 41, 5 μ (38, 2-44, 1), la largeur de 25, 5 μ (24, 3-27, 3) et le rapport L/l de 1, 63 (1, 45-1, 72).

Dans un deuxième temps, on a voulu éliminer les variations possibles dues à la cabosse, de façon à opérer dans des conditions précises.

Des cabosses d'Amelonado vertes et bien développées sont inoculées à l'opposé l'une de l'autre avec deux souches différentes qui seront ainsi comparées. Les prélèvements de sporanges sont effectués au bout de 6 jours.

Conclusion :

Il ressort des essais effectués et spécialement des comparaisons deux à deux, qu'il existe une assez grande plasticité dans les mensurations des sporanges et spécialement dans leur forme traduite par le rapport L/l.

On trouve des formes très allongées (1, 93) à beaucoup plus arrondies (1, 56). Il semble donc que des mensurations effectuées à partir de sporanges prélevés sur une cabosse atteinte ne puisse fournir un caractère précis quant à la détermination de la race physiologique éventuelle.

Par contre, par comparaison de deux souches inoculées sur une même cabosse et dans les mêmes conditions, on obtient de bons résultats. Dans les essais effectués de cette manière, on voit que les isollements présentent des caractères de longueur, largeur et forme très voisins, montrant une grande uniformité du point de vue biométrique; bien que les échantillons proviennent de régions très éloignées les unes des autres de la cacaoyère ivoirienne.

Seul un isolement, S5, montre des caractères différents, dans toutes les comparaisons effectuées ses sporanges ont une forme beaucoup plus arrondie que celle des autres isolements (rapport L/l de l'ordre de 1,40).

ISOLEMENTS EN PROVENANCE DU CACAOYER : Vitesse de croissance en culture pure -

A partir des isolements, des cultures sont préparées en boîtes de Pétri. Au bout de 8 jours ces cultures sont utilisées pour mettre en place les essais de vitesse de croissance.

On découpe à l'emporte pièce de 5 mm de diamètre un petit disque à la périphérie de la culture. Ce disque est ensemencé au centre de boîtes de Pétri sur milieu pomme de terre gélosée. Une dizaine de boîtes sont ensemencées par souche testée.

On compare les souches 4 par 4 en utilisant à chaque fois un des isolements de l'essai précédent et un témoin.

Les boîtes ont été placées au début des essais dans les conditions du laboratoire puis en étuve à 28° C. Pour chaque boîte, on mesure le diamètre minimum et le diamètre maximum de la colonie qui donneront le diamètre moyen.

Aspect cultural :

Sur milieu pomme de terre gélosée, les isolements en provenance du cacaoyer présentent tous un aspect semblable : mycélium aérien très abondant pouvant atteindre plusieurs centimètres de hauteur et formant une épaisse couche blanche, présence de nombreuses chlamydospores et de nombreux sporanges. Toutes ces cultures sont très fertiles et donnent par immersion dans l'eau de nombreuses zoospores.

Vitesse de croissance au bout de 3 jours :

Elle est de l'ordre de 50 à 51 mm en moyenne (43-68). Les comparaisons des différentes souches 4 par 4 ont donné des chiffres très voisins les uns des autres.

... /

ISOLEMENTS EN PROVENANCE DU CACAOYER : Inoculations Expérimentales par blessure.

- sur cabosses d'Amelonado :

On a utilisé des cabosses d'Amelonado vertes et bien développées. On découpe à l'emporte pièce de 6 mm de diamètre un petit cylindre dans la cabosse, à la place duquel on met un fragment de culture du champignon. De façon à éliminer l'influence possible de la cabosse sur le développement de la tache produite par chaque souche du parasite, on pratique sur une même cabosse 2 inoculations à l'opposé l'une de l'autre, comme on l'avait déjà fait pour l'étude de la biométrie des sporanges.

Toutes les combinaisons possibles entre les différentes souches sont effectuées.

Dans chaque groupe d'essai, on reprend une souche de l'essai précédent comme témoin. Les cabosses sont placées en chambre humide, elle-même située dans une pièce climatisée de façon à avoir des conditions de température assez stables au cours d'une série d'essais.

Aspect de la tache de pourriture

L'aspect de la tache obtenue est très voisin pour toutes les souches expérimentées : couleur marron foncé, bords bien délimités, apparition de mycélium et de sporanges appliqués contre la surface de la cabosse et assez important dans des conditions d'humidité saturante.

Vitesse de développement de la tache de pourriture

On a effectué 3 séries d'essais et les chiffres expriment en millimètres le diamètre moyen de la tache de pourriture produite expérimentalement (diamètre maximum + diamètre minimum).

Les mesures sont effectuées au bout de 2, 3, 4 et 5 jours après l'inoculation.

Les résultats sont très voisins les uns des autres pour une même série d'essais :

diamètre moyen de l'ordre de 25 à 45 mm au bout de 2 jours, 55 à 65 mm au bout de 3 jours, 85 à 95 mm au bout de 4 jours, 105 à 120 mm au bout de 5 jours.

- sur autres cabosses de Cacaoyer

On a également expérimenté sur 2 Trinitarios l'un à pigmentation rouge (C 409) et l'autre sans pigmentation (C 410) et sur des Haut Amazoniens de la série 400 de Bingerville. Ne pouvant disposer d'un nombre suffisant de cabosses pour répéter le protocole précédent, on s'est contenté sur une même cabosse de faire 2 inoculations à l'opposé l'une de l'autre : d'un côté la souche B2 servant de témoin de l'autre les différentes souches à comparer.

Là encore des résultats très voisins ont été obtenus tant dans l'aspect de la tache de pourriture que dans sa vitesse de développement.

ISOLEMENTS EN PROVENANCE DU CACAOYER : Inoculations expérimentales par dépôt d'une suspension de zoospores -

On a surtout voulu étudier le temps de latence s'écoulant entre l'inoculation et l'apparition de la tache de pourriture sur la cabosse pour les différentes souches, de même que la vitesse de développement de la tache de pourriture dans des conditions d'infection proches des conditions naturelles.

On dépose sur le dessus de la cabosse une goutte de suspension de zoospores. Cette suspension est obtenue en mettant du mycélium prélevé à partir de cultures dans de l'eau distillée.

Avant inoculation, les suspensions de zoospores sont calibrées à l'hématimètre et éventuellement diluées avec de l'eau distillée pour avoir une concentration de l'ordre de 200 à 300 zoospores/mm³. Sur le dessus de la cabosse on trace avec de la vaseline un petit anneau autour du point d'inoculation de façon à éviter que la goutte de suspension de zoospores ne tombe au cours des manipulations.

Les cabosses sont placées en chambre humide. Elles sont examinées tous les jours et quand la tache de pourriture se développe, on mesure son diamètre moyen.

Les souches sont comparées 4 par 4, en reprenant comme précédemment une des souches de l'essai précédent comme témoin.

Là encore on a obtenu des résultats proches les uns des autres :

temps de latence moyen : de 4 à 8 jours

vitesse de développement de la tache de
pourriture : de 24 à 30 mm par jour environ.

Seule la souche B4 a produit des suspensions de zoospores qui donnent un pourcentage d'infection assez faible, se différenciant ainsi des autres souches à ce point de vue.

ISOLEMENTS NE PROVENANT PAS DU CACAOYER

- biométrie des sporanges : en culture

"souche An : l'aspect culturel semblable à celui des isollements du cacaoyer. Rares chlamydozoospores.

Ces dimensions moyennes des sporanges ont été de :

L : 39,5 - l : 27,5 - $\frac{L}{l}$ - 1,44

"souche H : l'aspect culturel est différent le mycélium aérien est moins abondant et forme un feutrage blanc à la surface du milieu gélosé.

On note la présence de chlamydozoospores :

L : 34,0 - l : 23,9 - $\frac{L}{l}$: 1,44

"souche Ag : aspect semblable à celui des souches provenant du cacaoyer.

L : 37,0 - l : 22,8 - $\frac{L}{l}$: 1,64

- vitesse de croissance des cultures :

Les comparaisons sont effectuées avec la souche B2 du cacaoyer.

On ne note pas de différences dans la vitesse de croissance.

- inoculations expérimentales par blessure :

Avec les souches An et H, la tache de pourriture se développe beaucoup plus lentement qu'avec la souche B2 servant de point de comparaison :

D. moyen de 50 à 70 mm environ au bout de 5 jours.
souche B2 : 110 à 115.

Avec la souche Ag, on a un développement extrêmement faible; de l'ordre de 10 à 15 mm au bout de 5 jours.

.../.

p- inoculations par suspension de zoospores

On a opéré soit en déposant la goutte de suspension de zoospores comme pour les souches en provenance du Cacaoyer, soit en effectuant au niveau de la goutte, une légère scorification de l'épiderme de la cabosse au scalpel.

Avec les souches An et H, on a obtenu des infections avec blessure au scalpel, et quelques rares infections sans blessure.

Avec la souche Ag, on n'a pas obtenu de taches de pourriture, avec et sans blessure.

CROISEMENTS ENTRE LES DIFFERENTES SOUCHES

L'examen des cultures des différents isollements de Phytophthora palmivora à Bingerville sur milieu pomme de terre et dans les conditions du laboratoire n'a pas permis de mettre en évidence d'organes sexués.

On a d'abord essayé des cultures du champignon dans des conditions différentes et sur des milieux différents pour voir si la reproduction sexuée ne surviendrait pas.

- 1- cultures à basse température (14 à 18°) sur milieu pomme de terre.
- 2- milieu de culture divers :
 - a) milieu avoine : 20 g. de flocons d'avoine/litre.
 - b) milieu avoine + décoction de feuilles de cacaoyer broyées au mixer et filtrées.
 - c) milieu avoine + décoction de fragments de péricarpe de cabosses d'Amelonado, broyées au mixer et filtrés.
 - d) milieu avoine + broyat de racines de jeunes cacaoyers filtré.
 - e) milieu avoine + broyat de feuilles de jeunes hévéas filtré.
 - f) milieu avoine + décoction de sol prélevé dans la cacaoyère de Bingerville.

Toutes ces cultures sont effectuées à basse température (14-18°).

- 3- milieu de dureté différente.

On a utilisé du milieu avoine avec différentes concentrations en gélose à 14°-18°C. .

10 g/1 - 15 g/1 - 20 g/1 - 25 g/1 - 30 g/1 - 40 g/1

...

4- Croisement entre cultures d'âge différent - cultures sur milieu avoine, avec la souche B2 on a effectué des croisements entre des cultures d'âge suivant :

- 15 jours x 15 jours
- deux mois et demi x 2 mois et demi
- deux mois et demi x 15 jours.

5- Cultures à l'obscurité totale

Sur milieu pomme de terre dans les conditions du laboratoire.

Résultats : pour tous ces essais, les résultats se sont avérés négatifs et aucun organe sexué n'a été mis en évidence.

Croisements entre les différentes souches en provenance du Cacaoyer

On croise deux par deux les différentes souches en culture, ces croisements sont effectués en boîte de Pétri sur milieu avoine à température basse.

Cette série d'essais, qui représente plus de 2000 combinaisons possibles, n'est pas encore terminée les 2/3 environ des croisements possibles ont été effectués et aucune formation d'organes de reproduction sexuée n'a été jusqu'ici notée.

Croisements entre souches en provenance du Cacaoyer et souches originaires d'autres plantes

Des croisements entre la souche B2 et la souche Ag sur milieu avoine à basse température ont été effectués.

L'examen des croisements au bout de 15 jours de culture a permis de noter la formation d'oogones et d'anthéridies en grande quantité. On obtient les mêmes résultats que ceux obtenus par le laboratoire de Phytopathologie de l'IFAC.

CONCLUSION GENERALE -

Les différents essais effectués avec des isollements de Phytophthora palmivora en provenance de régions très diverses de la cacaoyère ivoirienne montrent dans l'ensemble une grande uniformité tant du point de biométrie des sporanges que de la vitesse de croissance en culture pure, de l'aspect et de la vitesse de développement de la tache de pourriture obtenue.

.../.

Cette uniformité est assez étonnante pour des isollements venant d'emplacements souvent très éloignés les uns des autres.

A quoi faut-il l'attribuer ? Il est vraisemblable que l'absence de reproduction sexuée si elle se confirme doit déjà jouer un rôle important : la disjonction des caractères qui surviendrait si l'on partait d'oospores et qui conduirait à l'apparition de souches différentes est ainsi évitée. Cependant même avec la reproduction par sporanges et zoospores qui est une reproduction végétative, on devrait arriver à l'obtention de souches de caractères différents. Des essais effectués dans ce sens au laboratoire y conduiraient certainement; rien que dans l'examen de nos souches, on a pu noter deux petites différences : la souche S5 dont les sporanges sont plus arrondis et la souche B4 dont les zoospores semblent avoir une virulence un peu inférieure à celle des autres souches.

Si tous les isollements obtenus sont assez homogènes, il est vraisemblable qu'une sélection naturelle doit se produire, seules les zoospores présentent, pour les conditions de la cacaoyère ivoirienne la meilleure affinité envers le cacaoyer ne subsistant.

TURNER dans ses essais classe ses isollements de Côte d'Ivoire dans la race A.

Les études entreprises au laboratoire de Bingerville pour obtenir des cacaoyers présentent des caractères de résistance envers la pourriture brune vont donc s'en trouver facilitées; si des souches différentes avaient été mises en évidence, il aurait été obligatoire d'effectuer les tests de résistance envers chacune des souches en présence. . Cependant, la surveillance de la cacaoyère devra être poursuivie; en effet si apparaissaient des zoospores présentant une affinité envers le Cacaoyer supérieure à celle des zoospores actuellement libérées au cours des attaques de pourriture, on observerait l'apparition d'une nouvelle race physiologique qui vraisemblablement serait plus virulente que celle à qui nous avons affaire actuellement.