

UNIVERSITÉ DE PARIS SUD
CENTRE D'ORSAY

THÈSE

présentée

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE 3^e CYCLE

Spécialité : PHYTOPATHOLOGIE

par

Frédéric PELLEGRIN

Sujet:

DYNAMIQUE DES POPULATIONS DE PHYTOPHTHORA PHYTOPATHOGENES
DANS LES SOLS TROPICAUX

Soutenu le 28 mars 1980 devant la Commission d'Examen :

| | |
|-------------------|------------|
| MM. J. CHEVAUGEON | Président |
| D. BOUHOT | Rapporteur |
| M. GOUJON | Examineur |

O. R. S. T. O. M.

PARIS

1980

UNIVERSITE DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

T H E S E

PRESENTEE
POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE 3^E CYCLE

SPECIALITE : PHYTOPATHOLOGIE

PAR

PELLEGRIN FREDERIC

SUJET : DYNAMIQUE DES POPULATIONS DE *PHYTOPHTHORA* PHYTOPATHOGENE
DANS LES SOLS TROPICAUX

SOUTENUE LE 28 MARS 1980 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

| | | |
|-----|---------------|------------|
| MM. | J. CHEVAUGEON | Président |
| | D. BOUHOT | Rapporteur |
| | M. GOUJON | Examineur |

DYNAMIQUE DES POPULATIONS DE *PHYTOPHTHORA* PHYTOPATHOGENES
DANS LES SOLS TROPICAUX

SOMMAIRE

INTRODUCTION

CHAPITRE I : RECHERCHE D'UNE TECHNIQUE D'ESTIMATION QUANTITATIVE DE L'INOCULUM PRESENT DANS LE SOL

- I - Comptage des thalles après étalements sur milieu sélectif.
- II - Estimation à partir de plantes-hôtes.
 - A - Plantules de tomate et d'*Hibiscus sabdariffa*.
 - B - Repiquage de graines germées sur terre contaminée.
- III - Piègeages par fragments végétaux.

CHAPITRE II : ANALYSE DU COMPORTEMENT DE QUELQUES SOUCHES DE *PHYTOPHTHORA* SUR SOLS MARAICHERS

- I - Etudes *in vitro*.
 - A - Matériel et méthodes.
 - B - Résultats.
 - C - Discussion.
 - 1 - Effet des terres sur le pouvoir colonisateur des souches.
 - a) Effet des terres non stériles.
 - b) Effet des terres stériles.
 - c) Comparaison des deux effets.
 - 2 - Effet des terres sur la sporogénèse et l'agressivité des souches.
 - a) Etudes comparatives.
 - b) Essai de synthèse.
 - D - Conclusions.
- II - Etudes *in vivo*.
 - A - Matériel et méthodes.
 - B - Résultats.
 - C - Conclusion.

CHAPITRE III : ETUDE DE LA REPARTITION DES POPULATIONS DE *PHYTOPHTHORA*
SUR VERGERS FRUITIERS

I - Description de la Station fruitière.

- A - Climatologie.
- B - Topographie et pédologie.
- C - Etat sanitaire des vergers.
 - 1 - Vergers d'avocatiers.
 - 2 - Vergers d'agrumes.

II - Inventaire qualitatif des populations de *Phytophthora*.

- A - Matériel et méthodes.
 - 1 - Technique d'isolement à partir des chancre sur avocatiers et agrumes.
 - 2 - Technique d'isolement à partir des terres.
 - a) Vergers d'avocatiers.
 - b) Vergers d'agrumes.
- B - Résultats et discussion.
 - 1 - Avocatiers.
 - 2 - Agrumes.
- C - Conclusion.

III - Analyse du comportement des souches de *Phytophthora parasitica* dans leur terre d'origine.

- A - Matériel et méthodes.
- B - Linéarisation des courbes de piègeage.
- C - Séparation des souches témoins en classes

IV - Etude de la répartition des *Phytophthora parasitica* sur les vergers d'agrumes.

- A - Analyse des piègeages en fonction du lieu de prélèvement.
- B - Taux de contamination naturels des vergers.

V - Caractérisation biochimique des souches isolées.

- A - Technique.
- B - Résultats et discussion.

VI - Conclusion.

CONCLUSION.

INTRODUCTION

Le genre *Phytophthora* se classe parmi les Oomycètes au sein des Péronosporales et constitue, avec les genres *Pythium* et *Trachysphaera*, la famille des Pythiacées. Répandu sous toutes les latitudes, son rôle en pathologie végétale est important car la gamme des plantes auxquelles il s'attaque est très large.

Dans le couple "hôte-parasite", les deux populations antagonistes ne s'affrontent pas à armes égales car, si la population des espèces parasites dispose de moyens extrêmement efficaces pour varier et s'adapter à toute modification ou stabilisation de la population hôte, celle-ci, pour des raisons pratiques et économiques, tend dans l'agriculture moderne vers l'uniformisation des variétés à la fois dans le temps et dans l'espace (BORLAUG, 1959 ; LAVILLE, 1975 ; BOCCAS et LAVILLE, 1976 ; BUDDENHAGEN, 1977 ; GROTH et PERSON, 1977 ; OU, 1977 ; SAFEEULLA, 1977 ; BOCCAS, 1978).

Le pouvoir saprophytique des *Phytophthora* est tenu pour être médiocre (APPLE, 1963 ; TSAO, 1969), ils se maintiennent cependant fort bien dans le sol sous la forme de spores résistantes (chlamydospores, oospores) ou plus brièvement sous la forme de sporocystes voire, de mycélium. Dans ces conditions, le sol constitue souvent le principal réservoir d'inoculum pour un grand nombre d'espèces et rend la lutte, par les méthodes agronomiques ou chimiques traditionnelles, onéreuse et incomplètement efficace. La nécessité d'organiser la lutte sur le plan génétique, en opposant au parasite un matériel végétal sélectionné pour sa résistance, s'est imposée. Cette méthode exige que l'on possède une connaissance approfondie du parasite et en particulier, sur ses potentialités de diversification, qui sont liées à la structure de sa population inféodée à un écosystème particulier et à son comportement face à cet écosystème.

Nous avons essayé d'apporter notre contribution à cette connaissance en étudiant deux types de populations de *Phytophthora*, l'une inféodée à une culture annuelle (plantation de fraisiers), l'autre à une culture perenne (plantation d'agrumes).

Après avoir caractérisé les différentes espèces d'un écosystème (selon la monographie de WATERHOUSE, 1963, 1970) deux volets se sont présentés l'un quantitatif, consistait à évaluer la quantité d'inoculum de chacune de ces espèces dans le sol, l'autre qualitatif nous a permis de dresser un inventaire des différents génotypes au sein de ces espèces. Ces paramètres permettent de suivre l'évolution d'une population de *Phytophthora* soumise aux pressions des facteurs édaphiques de son environnement.

Les différentes espèces étant caractérisées, nous avons mis au point une technique d'estimation quantitative. Différents essais nous ont conduits à retenir une technique proche de celle décrite par MARK et MITCHELL, 1970 qui consiste à effectuer des piégeages sur des échantillons de terre à l'aide de fragments végétaux vivants. Les résultats obtenus ont été interprétés grâce aux modèles mathématiques proposés par BAKER, 1971, revus et complétés par BOUHOT, 1975, 1978 ; BOUHOT et JOANNES, 1979.

Dans l'étude qualitative qui a suivi, nous avons fait intervenir pour différentes souches, les caractères morphologiques, les signes de compatibilité, l'agressivité et en dernier lieu les spectres protéiques obtenus par électrofocalisation.

Au cours de l'étude des interactions entre quelques souches de *Phytophthora* isolées sur fraisiers et différentes terres, nous avons dégagé les facteurs du sol agissant sur le comportement des souches ce qui nous a donné le moyen de les différencier. Les résultats obtenus pendant la campagne de piégeages sur plantations d'agrumes, ont pu être interprétés grâce à cette première analyse. Les souches clonées sont analysées en fonction des différents facteurs de l'environnement.

CHAPITRE I

RECHERCHE D'UNE TECHNIQUE D'ESTIMATION QUANTITATIVE
DE L'INOCULUM PRESENT DANS UN SOL

Tous les essais préliminaires, destinés à tester la sensibilité et la fiabilité des différentes techniques trouvées dans la littérature, ont été faits avec une gamme de *Phytophthora* provenant du Congo ou d'autres pays, isolés sur différents hôtes et appartenant au groupe II et IV selon la classification de WATERHOUSE (WATERHOUSE, 1963 ; WATERHOUSE, 1970).

Il s'agit des souches suivantes :

- 8 : *P. cinnamomi* isolé sur avocatier de Loudima (Congo)
- Lou 15 : *P. parasitica* isolé sur agrume à Loudima (Congo)
- 570 : *P. parasitica* " " " " "
- 245 : *P. parasitica* " " " en Corse
- 247 : *P. parasitica* " " " "
- 377 : *P. parasitica* " sur sol d'agrume en Californie
- F₁₂ : *P. parasitica* " sur fraisier à Brazzaville (Congo)
- C₁₂ : *P. parasitica* " sur sol d'agrume à Loudima (Congo)
- F'₁₁ : *P. parasitica* " sur fraisier à Brazzaville (Congo)
- 178 : *P. cactorum* " sur fraisier en France
- 440 : *P. cinnamomi* " sur sol à Loudima (Congo)
- 373 : *P. cinnamomi* " sur chancre d'avocatier en Californie
- 145 : *P. palmivora* " sur oranger en Côte d'Ivoire
- 146 : *P. palmivora* " sur aubergine en Côte d'Ivoire

Les *Phytophthora* se trouvent dans le sol sous deux formes : 1) les organes assurant la survie (chlamydospores, sporocystes, oospores), 2) un appareil végétatif ne se conservant que temporairement dans le sol mais capable et seul capable de croissance (BOHER et KOHLER, 1977 ; TSAO, 1969 ; TSAO et BRICKER, 1968 ; ZENTMYER et MIRCEVICH, 1966 ; HOLDAWAY et TSAO, 1971, 1972). Les organes de survie germent, en général, en émettant directement ou indirectement des zoospores, agents actifs de dissémination par leur motilité. Dans le sol, la probabilité de contact d'un hôte avec une propagule de survie doit être faible ; de ce fait, une infection due à une germination directe est peu probable, il est donc logique de considérer la zoospore nageante qui est sensible au chimiotropisme des exsudats végétaux (KEW et ZENTMYER, 1973)

comme agent principal de la maladie. C'est la raison pour laquelle dans les études qui suivent, les zoospores ont été retenues comme propagules infectieuses de base, représentatives de la densité d'inoculum d'un sol.

I - COMPTAGE DES THALLES APRES ETALEMENTS SUR MILIEU SELECTIF

Divers milieux organiques (décoction de pomme de terre, de petits pois ou de haricots de Lima) ont été utilisés. L'addition d'inhibiteurs permet de réduire la croissance des bactéries et des champignons, à l'exclusion des Pythiacées. Les milieux contiennent 100 ppm de matière active de pentachloronitrobenzène (P.C.N.B.), 50 ppm de matière active de bénomyl (du groupe des benzimidazoles) qui sont actifs tous les deux sur les champignons supérieurs et sans action, à faible dose, sur les Pythiacées (FOLLIN, 1971 ; KLEMMER et NAKANO, 1972 ; TSAO, 1970 ; LUMSDEN et al., 1975 ; PONCHET et al., 1972). Un mélange de pénicilline + colimycine, à raison de 100.000 unités/litre, est additionné au milieu après stérilisation afin d'inhiber la croissance des bactéries (TSAO et OCANA, 1969 ; KLOTZ et De WOLFE, 1958 ; ECKERT et TSAO, 1962, PONCHET et al., 1972).

Des suspensions titrées de zoospores sont mélangées à divers types de terres, des échantillons de ces terres sont ensuite étalés sur milieu sélectif gélosé. Les *Pythium* et *Mortierella*, à croissance rapide, interfèrent avec les *Phytophthora*, à croissance lente (NEWHOOK and JACKSON, 1977 ; HENDRIX et KUHLMAN, 1965), ce qui rend la technique de comptage incertaine et fortement dépendante de la microflore fongique. N'ayant pu nous procurer du 3 hydroxy-5-méthylisoxazole (Hymexazol), inhibiteur des *Pythium* et *Mortierella* et peu actif sur *Phytophthora* (MASAGO et al., 1977 ; TSAO et STEPHEN, 1977), nous avons abandonné cette technique qui nous semblait être pourtant la plus rigoureuse. En effet cette technique d'isolement permet d'extraire du sol toutes les composantes d'une population microbienne qui peuvent s'exprimer librement sur un milieu en principe favorable (RICCI et al., 1976 ; DIX et MITCHELL, 1976 ; THOMSON et ALLEN, 1976, McINTOCH, 1972 ; STANGHELLINI et HANCOCK, 1971). Nous verrons plus loin que les autres techniques ont l'inconvénient majeur d'ignorer toute la partie de la (ou des) population(s) strictement saprophyte(s).

II - ESTIMATION A PARTIR DE PLANTES HOTES

A - Plantules de tomate et d'*Ehriacus sabdariffa*

Ces deux espèces de plantes sont utilisées au laboratoire pour les analyses de routine du niveau d'agressivité des différentes souches de *Phytophthora* reçues ou isolées. Elles ont été utilisées pour tenter d'estimer le potentiel infectieux des sols (GABRIEL, 1977 ; LUMSDEN et al., 1976 ; BOUHOT et al., 1964 ; BOUHOT, 1975, 1978 ; BOUHOT et JOANNES, 1979 ; CONVERSE et MOORE, 1966 ; TSAO et GARBER, 1960 ; JENKINS, 1962 ; DUNCAN, 1976).

Des plantules de 15 jours sont repiquées sur des substrats artificiellement contaminés par des inoculums calibrés ; le taux d'attaque est estimé par comptage des plants morts ou nécrosés. Les résultats sont très hétérogènes ; si, avec des souches très agressives le comptage des plants morts est facile, avec des souches peu agressives, nous sommes confrontés à l'aspect subjectif du comptage des plants ayant des symptômes parfois difficilement dissociables des accidents physiologiques. En outre, sur des terres naturellement infectées, il faut procéder à des isolements sur les plantules attaquées pour séparer chaque constituant de la population de *Phytophthora*.

B - Repiquage de graines germées sur terre contaminée

La jeunesse des hôtes nous laissait espérer une meilleure réceptivité à l'infection et par conséquent, une meilleure estimation du taux d'attaque au stade plantule (CARPENTEN et FURR, 1962 ; RICCI et al., 1976). L'examen des plantules montre cependant que certaines ne sont guère atteintes et présentent des symptômes peu caractéristiques d'une infection (BANIHASHEMI et MITCHELL, 1975).

III - PIEGEAGES PAR FRAGMENTS VEGETAUX

Cette technique consiste à mettre en présence un fragment végétal avec une terre naturellement ou artificiellement infectée (TSAO, 1960 ; PONCHET et al., 1972 ; RICCI, 1972, 1974 ; ILIEVA, 1976 ; NEWHOOK et JACKSON, 1977). Considérant que le végétal est un intermédiaire obligatoire pour détecter l'agent pathogène, sa principale qualité est donc sa sensibilité.

Nous avons testé divers végétaux en les mettant en présence de suspensions titrées de zoospores de *Phytophthora*. Nos critères sélectifs ont été :

- Sensibilité
- Homogénéité variétale du piège
- Disponibilité dans le temps (élimination des fruits saisonniers)

La sensibilité des pièges a été estimée en fonction de leur réceptivité à des concentrations faibles de zoospores et à leur aptitude à extérioriser l'agression par un halo de sporocystes : Fig. 1 et Tableau I.

Le Tableau I montre que parmi les espèces testées, les jeunes pétalos d'oeillet d'Inde (variété géante) ont, en moyenne, le spectre de sensibilité le plus large vis-à-vis des zoospores de *Phytophthora palmivora*, *parasitica* et *cactorum*. Les *Phytophthora cinnamomi* ont une réaction faible ou nulle vis-à-vis de cet hôte ainsi que des différents végétaux testés, ce qui est en contradiction avec le polyphytisme reconnu de l'espèce (ZENTMYER et TORN, 1967) mais en accord avec nos observations sur les souches Congolaises qui sont, elles, étroitement inféodées aux avocatiers. Les problèmes rencontrés pour l'étude de la dynamique des populations de *Phytophthora cinnamomi* sont exposés chapitre III. Dans les analyses qui vont suivre, nous avons retenu la technique de piégeage par fragments végétaux car c'est la plus efficace et la plus commode d'utilisation ; les jeunes pétalos d'oeillet d'Inde (variété géante) se sont révélés être les plus sensibles des pièges végétaux, ils ont aussi l'avantage d'être de petite taille (3 à 5 millimètres) ce qui autorise un grand nombre de répétitions dans un volume restreint.



Fig. 1 : Halo de sporocystes sur un piège positif

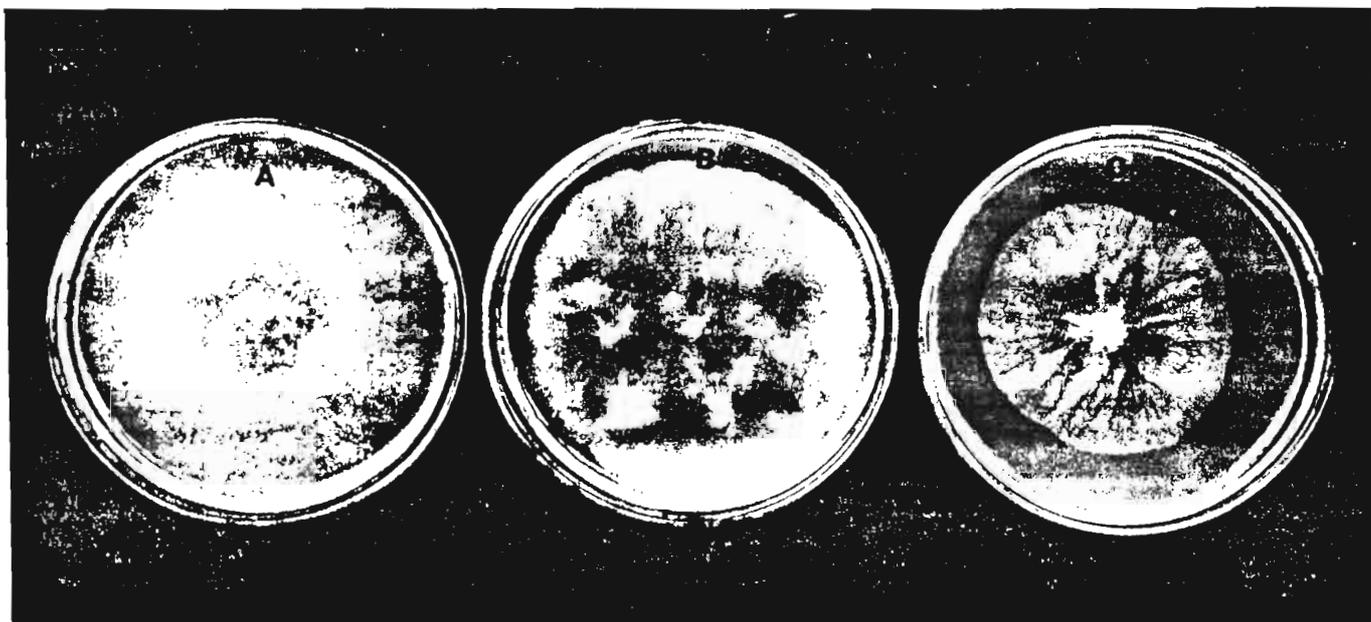


Fig. 2 : Types morphologiques

- A - Thalle aérien à croissance régulière
- B - Thalle aérien à croissance "en vagues"
- C - Thalle ras à croissance régulière

TABLEAU I - Sensibilité de fragments végétaux à différentes souches de *Phytophthora* - Suspensions titrées de zoospores dans de l'eau permutée stérile : 10 spores par centimètre cube.

- o = pas de sporocyste
- + = faible halo de sporocystes
- ++ = halo moyen de sporocystes
- +++ = halo important de sporocystes (Fig. 1)

| TABLEAU 1 Pièges | Souches 10 spores/cc | | 8 | Lou 15 | 570 | 245 | 247 | 377 | F ₁₂ | C ₁₂ | F' 11 | 178 | 440 | 373 | 145 | 146 |
|---|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | <i>P. cinn.</i> | <i>P. para.</i> | <i>P. cact.</i> | <i>P. cinn.</i> | <i>P. cinn.</i> | <i>P. palm.</i> | <i>P. palm.</i> |
| Aiguilles de Pin | 0 | 0 | 0 | + | 0 | + | 0 | + | + | + | 0 | 0 | + | + | 0 | |
| Bigaradier (feuilles) | 0 | ++ | 0 | ++ | ++ | 0 | ++ | ++ | + | + | + | 0 | 0 | + | ++ | |
| Mand. Cléopâtre (feuilles) | 0 | + | 0 | + | ++ | 0 | ++ | ++ | + | ++ | ++ | 0 | 0 | ++ | +++ | |
| Rough Lemon (feuilles) | 0 | ++ | ++ | +++ | ++ | 0 | ++ | +++ | ++ | + | + | + | + | +++ | +++ | |
| Wekiwa (feuilles) | 0 | + | + | + | ++ | 0 | + | ++ | + | ++ | ++ | 0 | 0 | + | ++ | |
| Poncirus trifoliata (feuilles jeunes) | 0 | ++ | ++ | ++ | +++ | ++ | +++ | +++ | ++ | + | + | 0 | 0 | ++ | ++ | |
| Poncirus trifoliata (feuilles adultes) | 0 | + | + | + | + | 0 | ++ | ++ | + | 0 | 0 | 0 | 0 | + | + | |
| Tomate (feuilles) | + | ++ | ++ | + | ++ | 0 | ++ | + | + | + | + | 0 | + | ++ | + | |
| Oeillet d'Inde (pétales jeunes) | 0 | +++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | 0 | + | +++ | +++ |
| Oeillet d'Inde (pétales adultes) | 0 | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | + | + | 0 | 0 | 0 | +++ | ++ |

CHAPITRE II

ANALYSE DU COMPORTEMENT DE QUELQUES SOUCHES DE *PHYTOPHTHORA* SUR SOLS MARAICHERS

Trois souches de *Phytophthora parasitica* ont été isolées sur fraisier. Nous avons analysé leur comportement dans leur terre d'origine et dans une terre provenant d'un écosystème exempt de *Phytophthora* afin de montrer l'éventuel caractère adaptatif des souches vis-à-vis de leur terre d'origine. La technique de piègeage des souches permettra l'étude des interactions terre/pathogène. La variabilité de la quantité d'inoculum pourra être appréciée en fonction du type de sol.

I - ETUDE IN VITRO

A - Matériel et méthodes : Trois types de terre ont été retenus.

Les terres A et B proviennent de deux plates-bandes séparées, plantées de fraisiers dont certains présentaient des nécroses à *Phytophthora*. Ces deux terres ont été prélevées à des endroits où les fraisiers sont sains. L'analyse a montré qu'il s'agit de sols ferrallitiques fortement désaturés sur matériaux argile-sableux amendés avec des déchets urbains et dont le pH a été porté à 6,5 par chaulage.

La terre C provient du jardin d'essais de Brazzaville où les pépinières florales semblaient exemptes de *Phytophthora*. La composition du sol est sensiblement la même que celle des terres A et B, mais son pH se situe autour de 5 car aucun chaulage n'y a été pratiqué.

Trois souches de *Phytophthora parasitica* ont été étudiées.

- F₁₂ : de type morphologique "thalle aérien à croissance régulière" (Fig. 2), appartient au groupe de compatibilité sexuelle A₂ et a été isolée à partir d'un fraisier nécrosé cultivé sur la plate-bande A.

- F₄₃ : de type morphologique "thalle ras à croissance régulière" (Fig. 2), fait partie du groupe de compatibilité sexuelle A₂ et a été isolée d'une plantule de tomate (variété Marmande) mise en place comme piège sur la plate-bande A.

- F'₁₁ : de type morphologique "thalle aérien à croissance régulière" (Fig. 2) appartient au groupe de compatibilité sexuelle A₁ et a été isolée à partir d'un fraisier nécrosé cultivé sur la plate-bande B.

Ces trois souches ont été clonées puis nous avons testé leur agresseivité en inoculant des plantules de tomate (variété Marmande), avec des broyats mycéliens selon la méthodologie suivante : des plantules de tomate sont cultivées sur vermiculite stérile. A l'âge de 15 jours, on dégage les collets et à l'aide d'une pipette, on dépose 1cc de broyat mycélien, dans de l'eau stérile, au pied de chacune des plantules. Ces plantules sont ensuite mises à incuber à température et humidité constante (28°C et 90 % d'humidité relative) sous des rampes lumineuses type "lumière du jour" (2000 lux et photopériode 12 heures de jour pour 12 heures d'obscurité). Le pourcentage de mortalité est compté 10 jours plus tard.

Nous avons obtenu les mortalités suivantes :

- Souches F'₁₁ et F₁₂ : 35 % + 5 %
- Souche F₄₃ : 15 % + 5 %

Techniques de piègeage

Une prise de chacune des terres A, B et C est faite sur le terrain depuis la surface jusqu'à une vingtaine de centimètres de profondeur. Cette terre est mélangée à la main, débarrassée de ses gros éléments, puis séparée en deux parties ; l'une est stérilisée à l'autoclave pendant 2 heures à 120°C, l'autre est utilisée telle quelle, après vérification de l'absence de *Phytophthora* par piègeage.

Chaque partie est fragmentée en échantillons de 5 grammes (48 répétitions) répartis en tubes à essais qui reçoivent une quantité connue d'inoculum sous la forme d'une suspension titrée de zoospores (comptage à la cellule Thomas) à raison de 1 ml de suspension de zoospores par tube.

Des analyses (BOHER et KOHLER, 1977) ont montré que les zoospores de *Phytophthora* sont très sensibles à la fongistase des sols. Pour en limiter les effets, nous avons ajouté dans chaque tube 4 ml d'eau permutée stérile

additionnée de bénomyl (50 ppm de m.a.), P.C.N.B. (100 ppm de m.a.), pénicilline (100.000 unités/litre), colimycine (100.000 unités/litre). Chaque tube est passé au vibreur pour homogénéiser la terre et les différents additifs, puis mis à incuber à 26°C et 75 % d'humidité relative à la lumière (2250 lux) pendant deux jours.

La mise en culture pendant deux jours des échantillons de terre inoculés, est destinée à favoriser la germination des zoospores et la croissance mycélienne ce qui permet d'estimer le pouvoir colonisateur des différentes souches dans différents sols. Les inhibiteurs limitent la prolifération par trop compétitive des microorganismes telluriques pendant l'incubation.

Le troisième jour, on introduit les pièges végétaux, à raison de 6 pétales d'oeillet d'Inde par tube. La présence de 6 pétales par échantillon de terre s'explique par un souci de randomisation car, expérimentalement, nous avons pu constater que les jeunes pétales, dans chaque bouton floral, sont à différents degrés de maturité et n'ont pas tous la même sensibilité à *Phytophthora*. Les échantillons de terre, munis de leurs pièges, sont mis à incuber 3 jours en salle climatique à la lumière.

Les pétales sont ensuite prélevés et mis à flotter sur de l'eau permutée stérile contenue dans des godets transparents (plaques à godets pour microtests d'une contenance de 2 ml par godet). Les godets sont placés en chambre humide, à la lumière pendant trois jours afin de favoriser la formation de sporocystes sur les pétales infectés. Un examen à la loupe binoculaire permet de compter les piègeages positifs. Un piègeage est considéré comme positif quand un pétale, au moins, est attaqué.

Un examen complémentaire est fait en transférant les pétales sur un milieu sélectif gélosé (décoction de petits pois gélosée + 50 ppm de m.a. de bénomyl + 100 ppm de m.a. de P.C.N.B. + 100.000 unités de Pénicilline et colimycine) à raison d'une boîte de Petri par tube. Les pétales infectés sont comptés en repérant, le lendemain, les thalles en cours de croissance.

Des témoins sont réalisés en introduisant les pièges végétaux dans des tubes contenant un ml d'une suspension de zoospores mobiles et 4 ml d'eau permutée stérile additionnée des différents inhibiteurs.

En utilisant des suspensions de zoospores à concentrations croissantes nous avons pu, par cette technique, tracer des courbes de piègeages donnant le nombre probable de piègeages positifs en fonction du nombre de spores par gramme de terre. Les résultats, donnés dans le Tableau II, sont représentés en nombre de spores apportées par gramme de terre, corrigé du pourcentage de germination, fait en parallèle en étalant des zoospores sur milieu petits pois gélosé. Nous avons estimé que les spores qui ne germaient pas sur petits pois ne devaient pas, à plus forte raison, germer en terre.

B - Résultats

Les courbes de piègeages ont été construites en utilisant le modèle mathématique (BAKER, 1971) qui donne le taux de pièges infectés en fonction du logarithme du nombre de spores par gramme de terre. Ce modèle, en principe, linéarise cette relation et permet une approche quantitative de l'inoculum en calculant des régressions de piègeages/densité d'inoculum d'après l'équation :

$$y = a \log DI + b$$

où y = quantité de maladie exprimée en nombre de piègeages positifs.

DI = nombre de spores par gramme de terre.

Le calcul du coefficient de régression R permet de tester l'hypothèse de la pente différente de zéro.

Tableau III et droites

Ce modèle nous oblige à éliminer les deux extrémités de la droite, en effet :

- Pour une faible quantité de spores, la droite devient asymptotique à cause de la trop grande dispersion de l'inoculum.

- Pour une forte quantité de spores, la droite devient également asymptotique à cause des infections multiples.

Ceci contraint à ne retenir que les chiffres obtenus entre 10 % et 50 % de piègeages positifs. On peut ainsi comparer le comportement des terres et des souches en prenant comme référence les taux de contamination (T.C.) et les pentes des droites de piègeage.

- Les T.C. correspondent au nombre de spores par gramme de terre nécessaire pour avoir un certain pourcentage de piègeages positifs.

TABLEAU II₁ - Pourcentage de pièges positifs en fonction du nombre de spores par gramme de terre stérile ou non stérile pour les souches F'₁₁, F₁₂ et F₄₃.

TABLEAU II₂ - Pourcentage de pièges positifs en fonction du nombre de spores par centimètre cube d'eau stérile.

T A B L E A U II₁

| pourcentage de pièges positifs | nombre de spores par g de terre | T E R R E S T E R I L E | | | | | | T E R R E N O N S T E R I L E | | | | | |
|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | A | | B | | C | | A | | B | | C | |
| | | S | R | S | R | S | R | S | R | S | R | S | R |
| F ₁₁ | 1380 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 81,25 | 100 | 100 | 100 | 75 | 87,5 |
| | 138 | 75 | 93,75 | 87,5 | 100 | 25 | 62,5 | 50 | 56,25 | 75 | 87,5 | 25 | 50 |
| | 27,6 | 25 | 56,25 | 56,25 | 75 | 12,5 | 25 | 18,75 | 37,5 | 43,75 | 50 | 12,5 | 25 |
| | 13,8 | 0 | 37,5 | 37,5 | 56,25 | 0 | 18,75 | 12,5 | 12,5 | 18,75 | 37,5 | 0 | 6,25 |
| | 6,9 | 0 | 18,75 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6,25 | 0 | 0 | 0 |
| | 1,38 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F ₁₂ | 396 | 93,75 | 100 | 75 | 93,75 | 62,5 | 75 | 62,5 | 87,5 | 50 | 75 | 18,75 | 37,5 |
| | 99 | 43,75 | 56,25 | 31,25 | 50 | 25 | 37,5 | 25 | 37,5 | 18,75 | 25 | 6,25 | 10,75 |
| | 33 | 25 | 37,5 | 18,75 | 25 | 12,5 | 18,75 | 6,25 | 25 | 6,25 | 12,5 | 0 | 12,5 |
| | 11 | 0 | 12,5 | 0 | 12,5 | 0 | 0 | 0 | 12,5 | 0 | 6,25 | 0 | 0 |
| | 2,2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F ₄₃ | 216 | 56,25 | 87,5 | 56,25 | 75 | 50 | 62,5 | 25 | 62,5 | 25 | 50 | 18,75 | 37,5 |
| | 72 | 31,25 | 37,5 | 25 | 31,25 | 18,75 | 25 | 12,5 | 25 | 6,25 | 18,75 | 6,25 | 18,75 |
| | 24 | 12,5 | 18,75 | 6,25 | 6,25 | 0 | 6,25 | 0 | 6,25 | 0 | 0 | 0 | 0,25 |
| | 8 | 6,25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

S: pièges positifs comptés à la loupe binoculaire
 R: pièges positifs comptés après repiquage

TABLEAU II₂

| spores/cc | F ₁₁ | | spores/cc | F ₁₂ | | spores/cc | F ₄₃ | |
|-----------|-----------------|------|-----------|-----------------|------|-----------|-----------------|------|
| | sporo. | rep. | | sporo. | rep. | | sporo. | rep. |
| 78 | 100 | 100 | 142 | 100 | 100 | 173 | 100 | 100 |
| 39 | 95,83 | 97,9 | 71 | 83,3 | 85,4 | 86,5 | 75 | 79,2 |
| 19,5 | 43,75 | 45,8 | 35,5 | 41,6 | 41,6 | 43,25 | 31,25 | 33,3 |
| 7,9 | 5,25 | 8,33 | 7,1 | 6,25 | 6,25 | 8,65 | 4,2 | 4,2 |
| 1,95 | 0 | 0 | 1,42 | 0 | 0 | 1,73 | 0 | 0 |

sporo. : % de pétales infectés sporulants

rep. : % de pétales infectés comptés après repiquage

TABLEAU III - Equations des droites de piègeages, coefficient de régression, taux de contamination 0 %, 10 %, 50 % pour les souches F₁₁, F₁₂ et F₄₃ en terres stériles et non stériles.

TABLEAU III

| | | | $y = a \log x + b$ | coefficient de régression | TC 0 % | TC 10 % | TC 50 % |
|-------|-------------------|----|-------------------------------|---------------------------|--------|---------|---------|
| E' 11 | Terre stérile | AS | $y = 49,644 \log x - 47,55$ | 0,966 | 9,07 | 14,43 | 92,25 |
| | | BS | $y = 40,130 \log x - 13,572$ | 0,9218 | 2,18 | 3,87 | 38,38 |
| | | CS | $y = 48,721 \log x - 61,367$ | 0,963 | 18,18 | 29,16 | 193,1 |
| | | AR | $y = 36,798 \log x - 3,170$ | 0,9614 | 1,22 | 2,28 | 27,86 |
| | | BR | $y = 49,297 \log x + 0,0569$ | 0,9845 | 1 | 1,59 | 10,3 |
| | | CR | $y = 43,264 \log x - 34,024$ | 0,996 | 6,11 | 10,41 | 87,53 |
| | Terre non stérile | AS | $y = 35,683 \log x - 29,584$ | 0,997 | 6,75 | 12,8 | 170 |
| | | BS | $y = 37,182 \log x - 14,1514$ | 0,9745 | 2,4 | 4,4 | 53,1 |
| | | CS | $y = 36,31 \log x - 43,228$ | 0,981 | 15,5 | 29,2 | 369,5 |
| | | AR | $y = 42,528 \log x - 32,745$ | 0,9916 | 5,89 | 10,12 | 88,2 |
| | | BR | $y = 40,683 \log x - 15,7836$ | 0,932 | 2,44 | 4,3 | 41,4 |
| | | CR | $y = 38,837 \log x - 33,831$ | 0,997 | 7,43 | 13,45 | 144,06 |

AS = Terre A, pièges positifs comptés à la loupe binoculaire (Idem BS, CS)

AR = Terre A, pièges positifs comptés après repiquage sur milieu sélectif (Idem BR, CR)

Nombre de spores, par gramme de terre, utilisé : en log = 0,1398 - 0,839 - 1,1398 - 1,441 - 2,1398 - 3,1398

TABLEAU 111

| | | | $y = a \log x + b$ | coefficient de régression | TC 0 % | TC 10 % | TC 50 % |
|-----------------|-------------------|----|------------------------------|---------------------------|--------|---------|---------|
| F ₁₂ | Terre stérile | AS | $y = 58,87 \log x - 64,62$ | 0,987 | 12,5 | 18,5 | 88,5 |
| | | BS | $y = 46,76 \log x - 52,35$ | 0,976 | 13,2 | 21,5 | 154,5 |
| | | CS | $y = 39,44 \log x - 45,51$ | 0,972 | 14,3 | 25,5 | 264 |
| | | AR | $y = 44,26 \log x - 25,084$ | 0,972 | 3,7 | 6,2 | 49,7 |
| | | BR | $y = 40,857 \log x - 24,98$ | 0,954 | 4,08 | 7,2 | 68,4 |
| | | CR | $y = 47,75 \log x - 52,55$ | 0,992 | 12,6 | 20,4 | 140,5 |
| | Terre non stérile | AS | $y = 40,71 \log x - 49,34$ | 0,96 | 16,3 | 28,7 | 275,5 |
| | | BS | $y = 32,126 \log x - 38,68$ | 0,961 | 16 | 32,7 | 575,9 |
| | | CS | $y = 17,522 \log x - 27,35$ | 0,992 | 36,4 | 135,5 | 25999 |
| | | AR | $y = 36,479 \log x - 22,187$ | 0,935 | 4,06 | 7,6 | 95,2 |
| | | BR | $y = 30,73 \log x - 22,302$ | 0,884 | 5,3 | 11,2 | 225,3 |
| | | CR | $y = 23,238 \log x - 24,359$ | 0,989 | 11,2 | 30,1 | 1583,6 |

AS = Terre A, pièges positifs comptés à la loupe binoculaire (Idem BS, CS)

AR = Terre A, pièges positifs comptés après repiquage sur milieu sélectif (Idem BR, CR)

Nombre de spores, par gramme de terre, utilisé : en log = 0,3424 - 1,0413 - 1,518 - 1,995 - 2,597

TABLEAU III

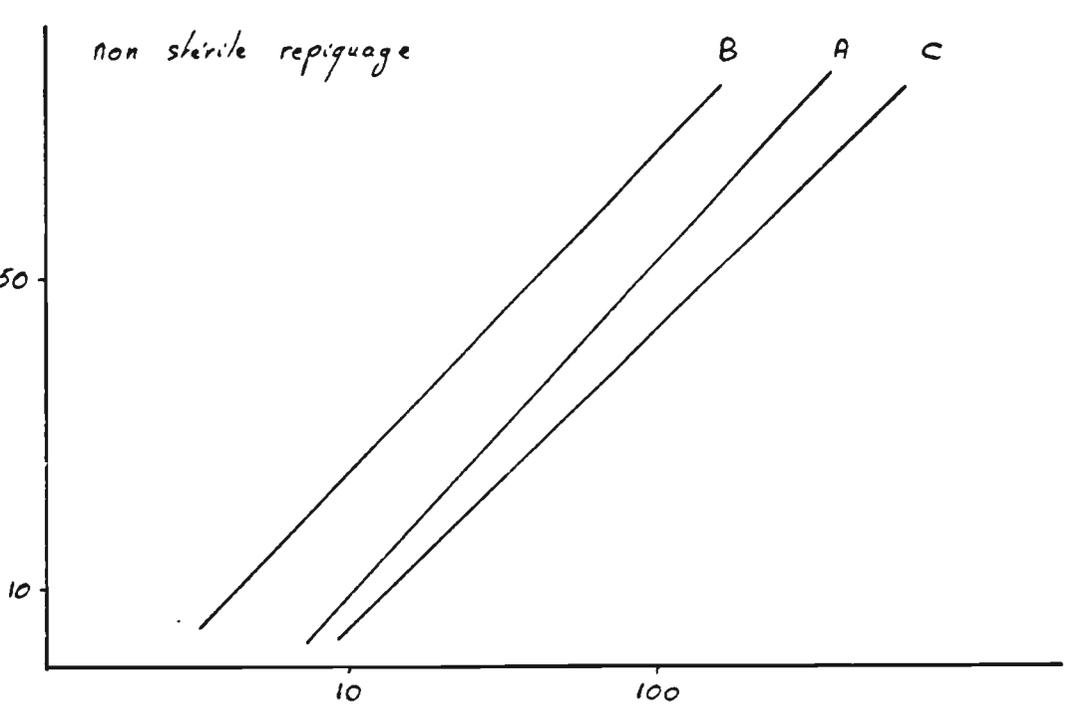
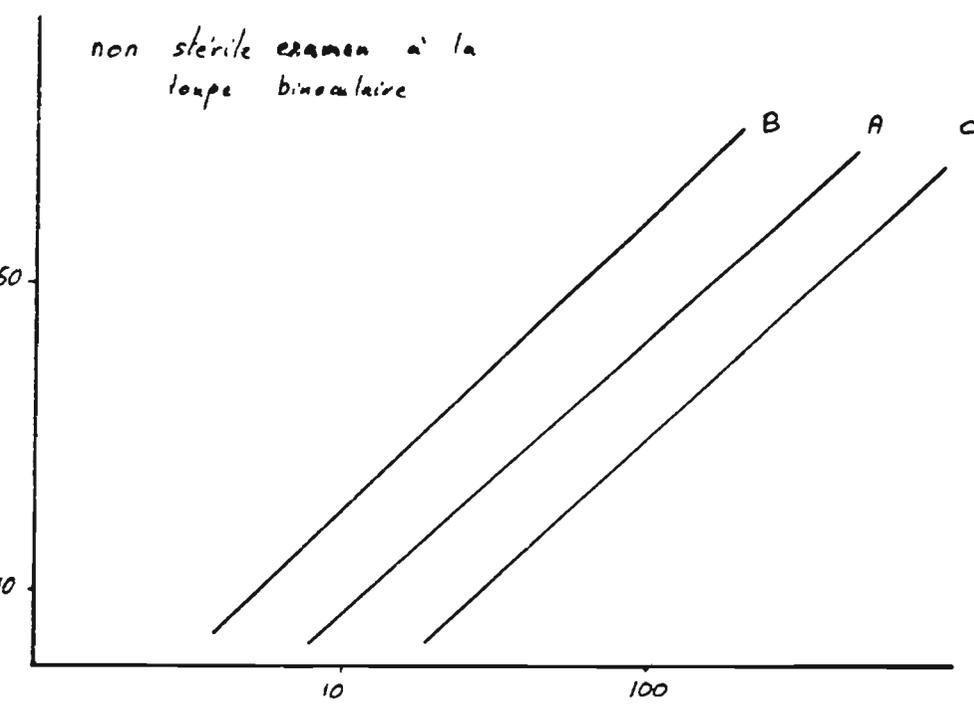
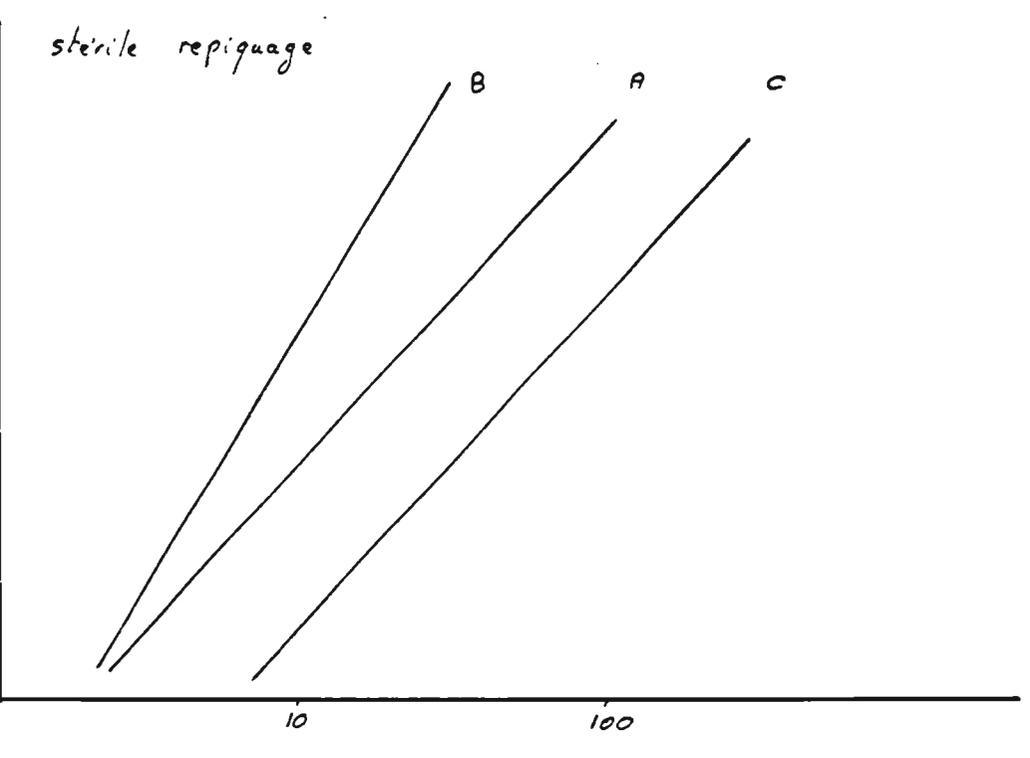
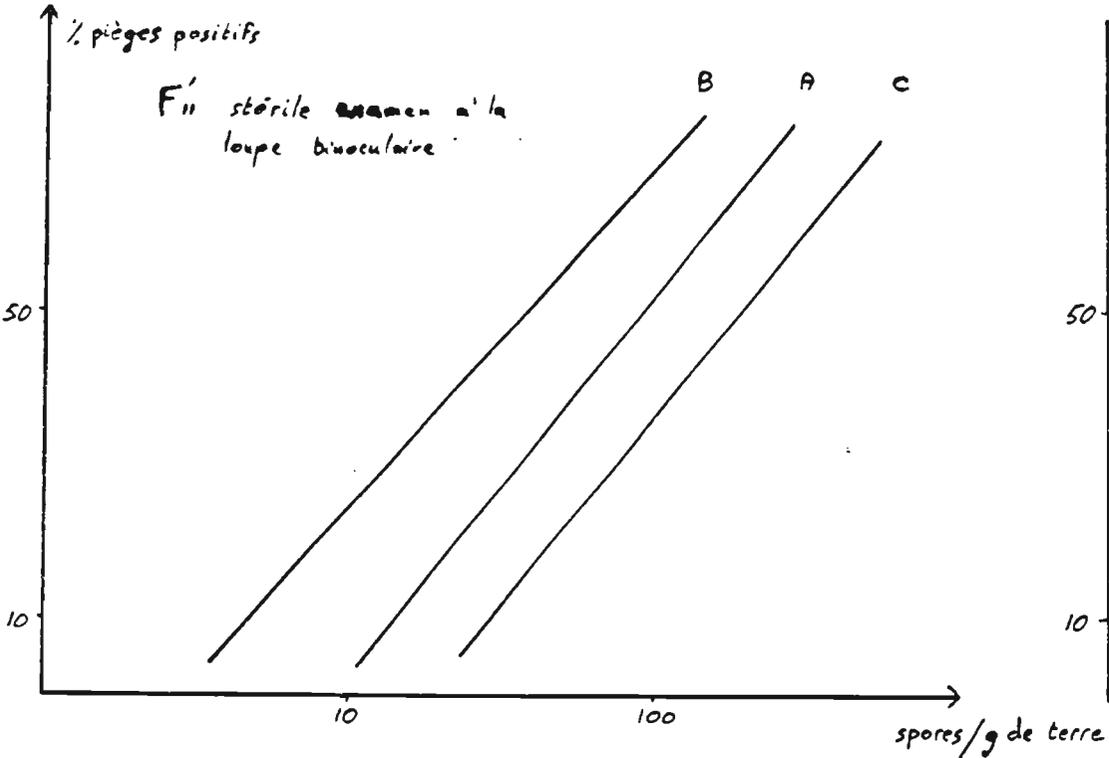
| | | | $y = a \log x + b$ | coefficient de régression | TC 0 % | TC 10 % | TC 50 % |
|-----------------|-------------------|----|------------------------------|---------------------------|--------|---------|---------|
| F ₄₃ | Terre stérile | AS | $y = 37,33 \log x - 29,08$ | 0,943 | 6 | 11 | 131,3 |
| | | BS | $y = 39,3 \log x - 41,74$ | 0,958 | 11,5 | 20,7 | 215,9 |
| | | CS | $y = 52,39 \log x - 74,38$ | 0,989 | 26,3 | 40,7 | 236,6 |
| | | AR | $y = 58,945 \log x - 59,479$ | 0,965 | 10,2 | 15,1 | 72 |
| | | BR | $y = 52,395 \log x - 56,69$ | 0,948 | 12,1 | 18,7 | 108,7 |
| | | CR | $y = 43,226 \log x - 46,534$ | 0,946 | 11,9 | 20,3 | 171 |
| | Terre non stérile | AS | $y = 26,19 \log x - 36,15$ | 0,99 | 23,9 | 57,8 | 1941,6 |
| | | BS | $y = 26,19 \log x - 38,23$ | 0,961 | 28,8 | 69,3 | 2331 |
| | | CS | $y = 19,64 \log x - 28,153$ | 0,98 | 27,1 | 87,6 | 9530,7 |
| | | AR | $y = 43,226 \log x - 46,534$ | 0,946 | 11,9 | 20,3 | 171 |
| | | BR | $y = 52,399 \log x - 74,405$ | 0,989 | 26,3 | 40,7 | 236,6 |
| | | CR | $y = 26,198 \log x - 26,78$ | 0,975 | 10,5 | 25,3 | 852,2 |

AS = Terre A, pièges positifs comptés à la loupe binoculaire (Idem BS, CS)

AR = Terre A, pièges positifs comptés après repiquage sur milieu sélectif (Idem BR, CR)

Nombre de spores, par gramme de terre, utilisé : en log = 0,602 - 0,903 - 1,3802 - 1,1573 - 2,3344

- Diagrammes : 1 - Droites de piègeage de la souche F'_{11}
- 2 - Droites de piègeage de la souche F_{12}
- 3 - Droites de piègeage de la souche F_{43}



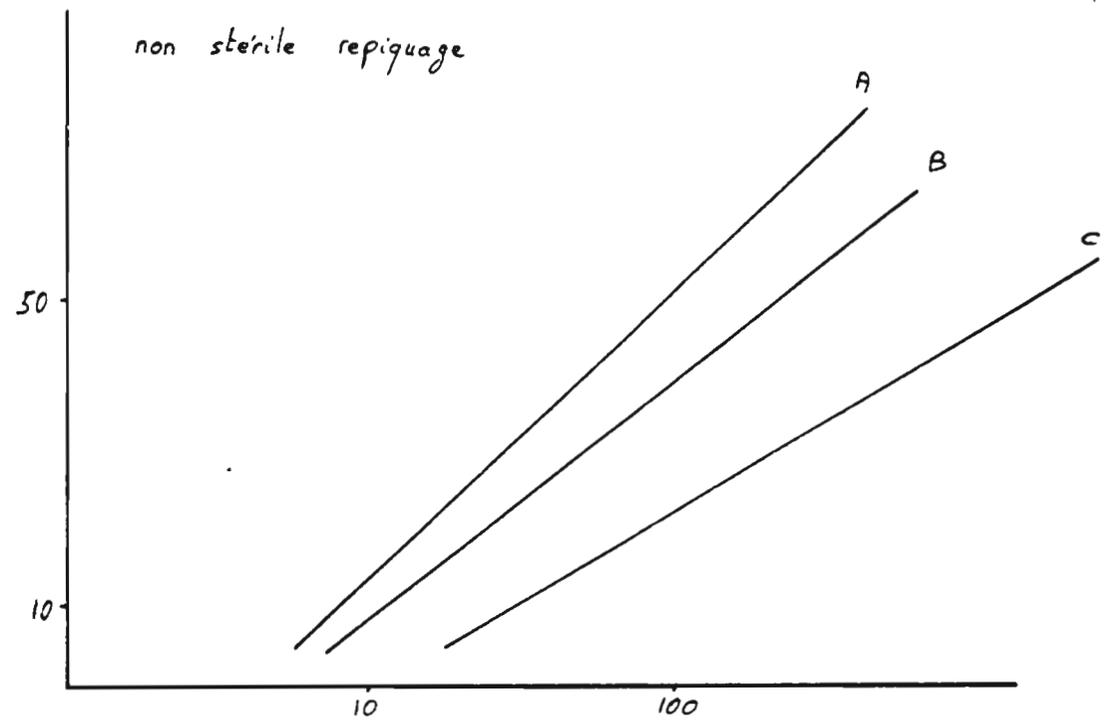
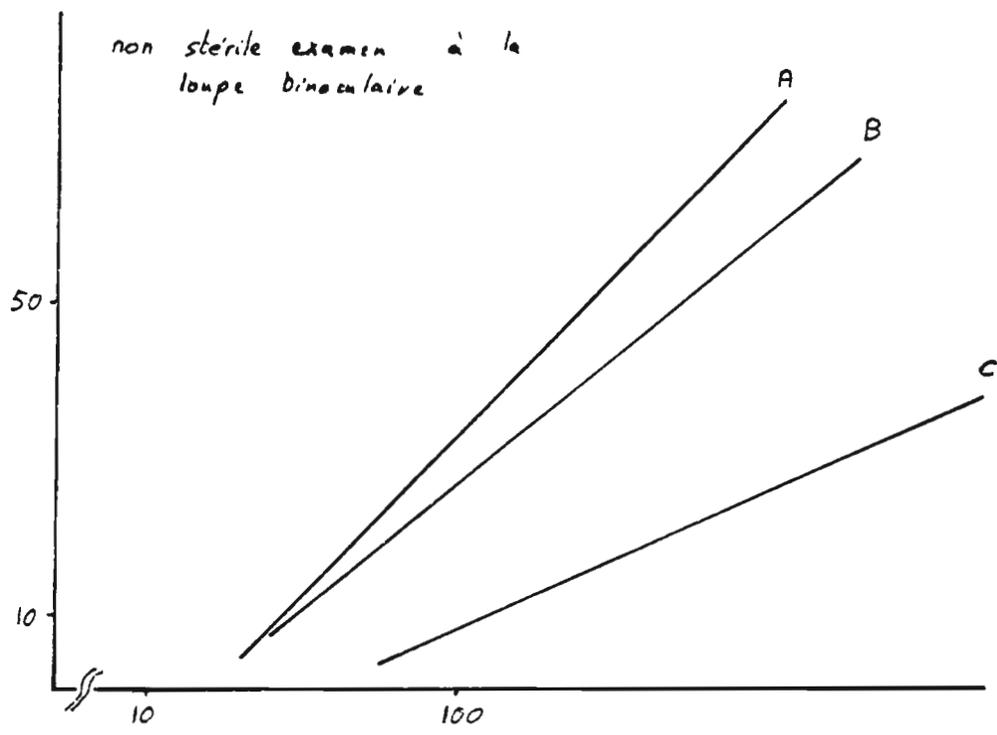
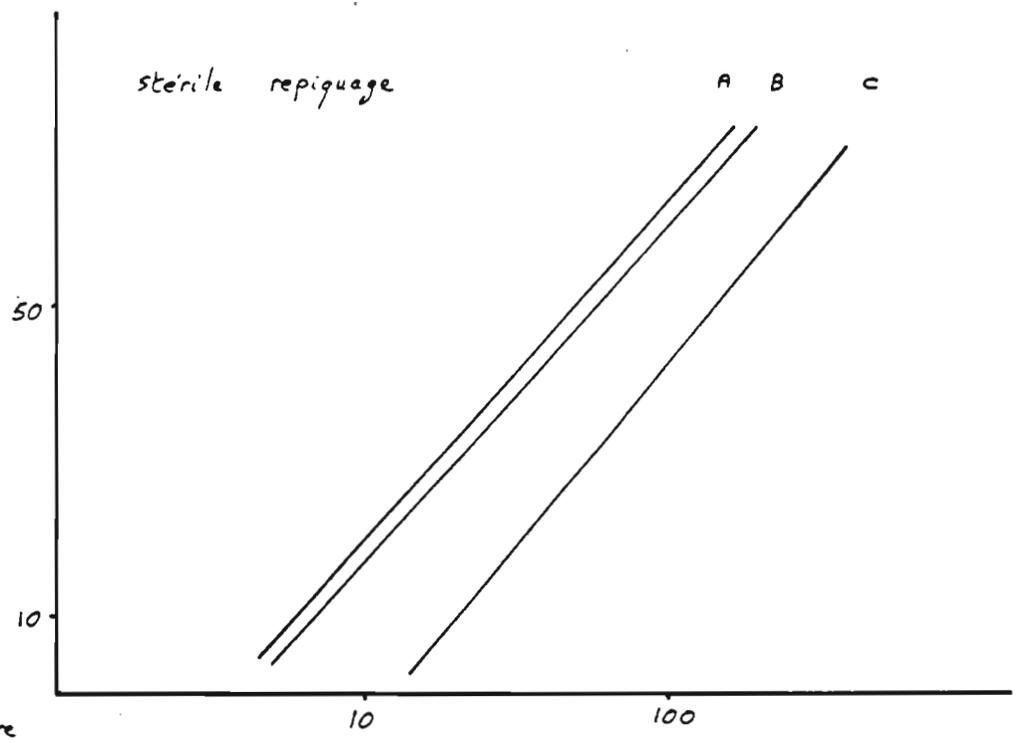
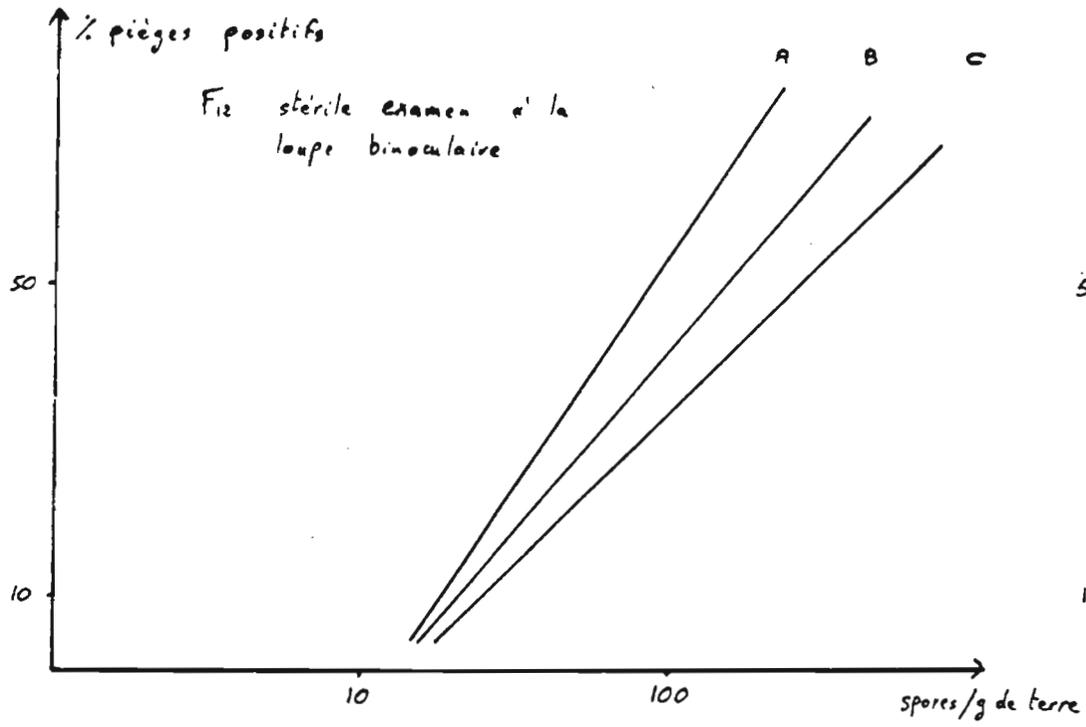
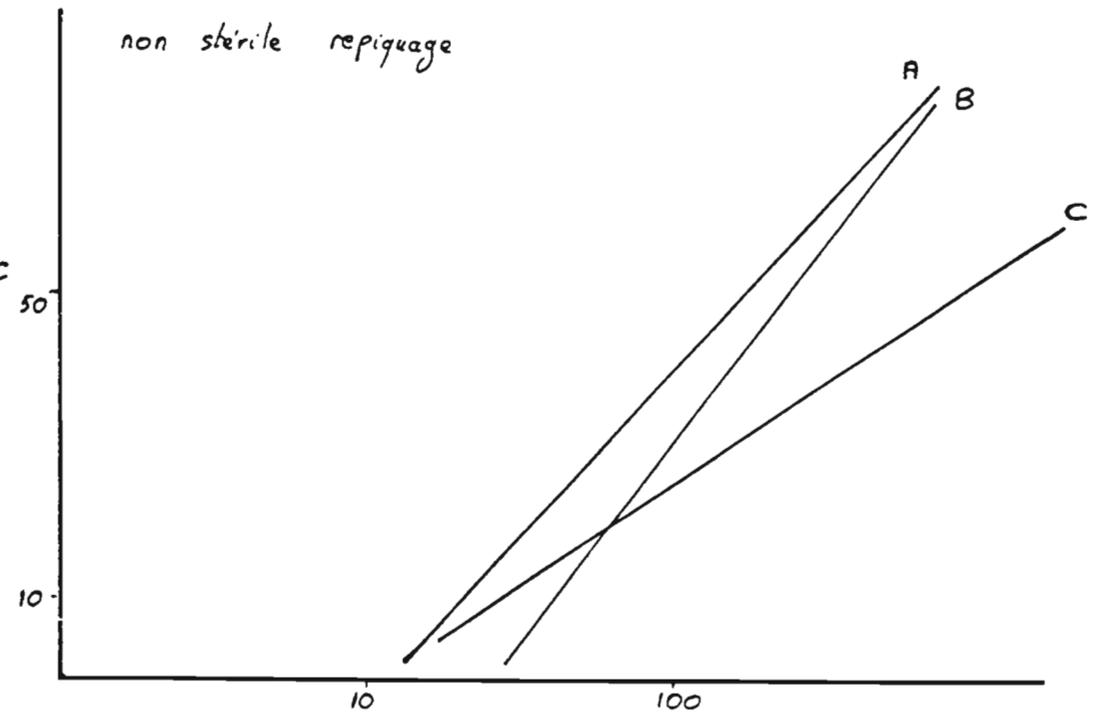
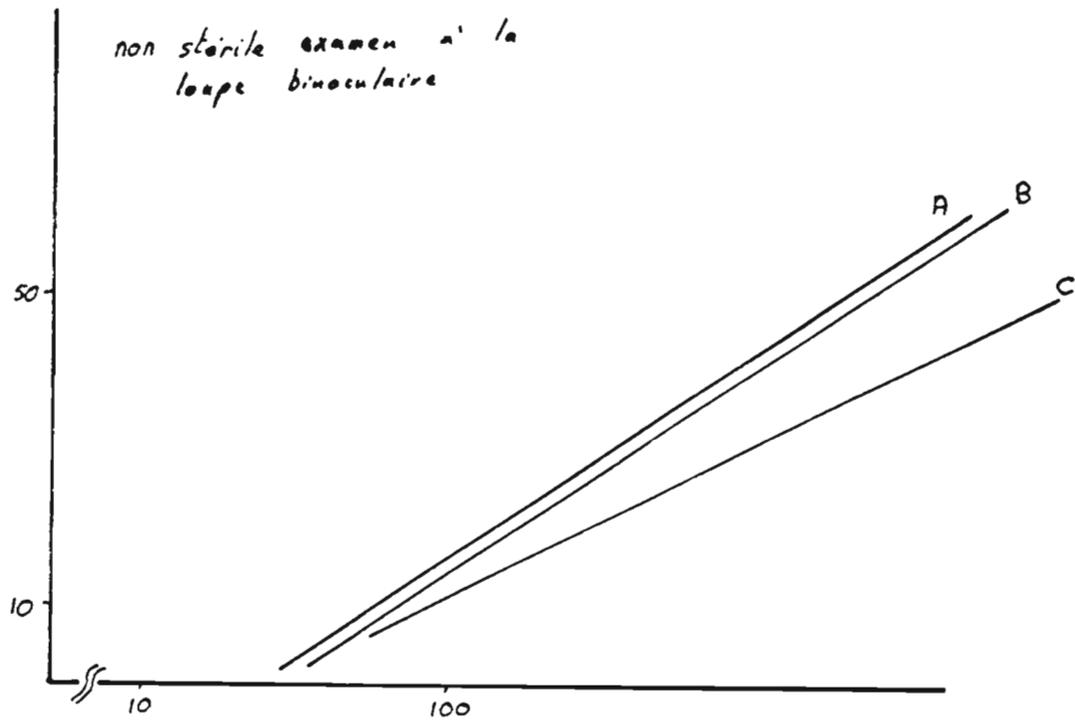
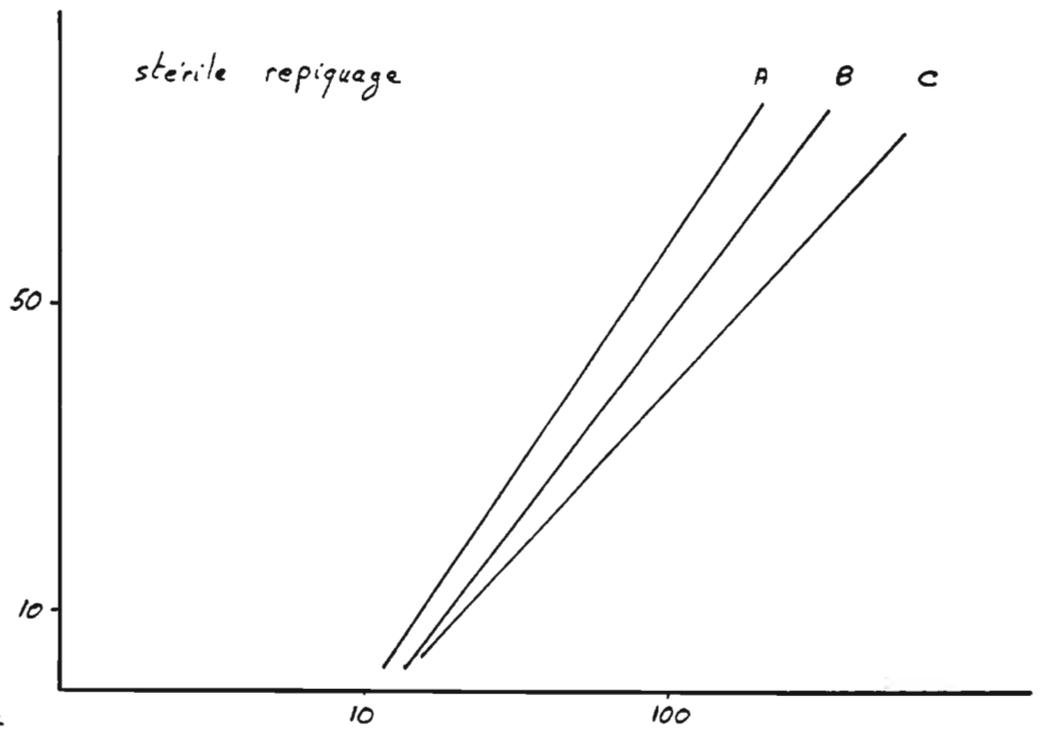
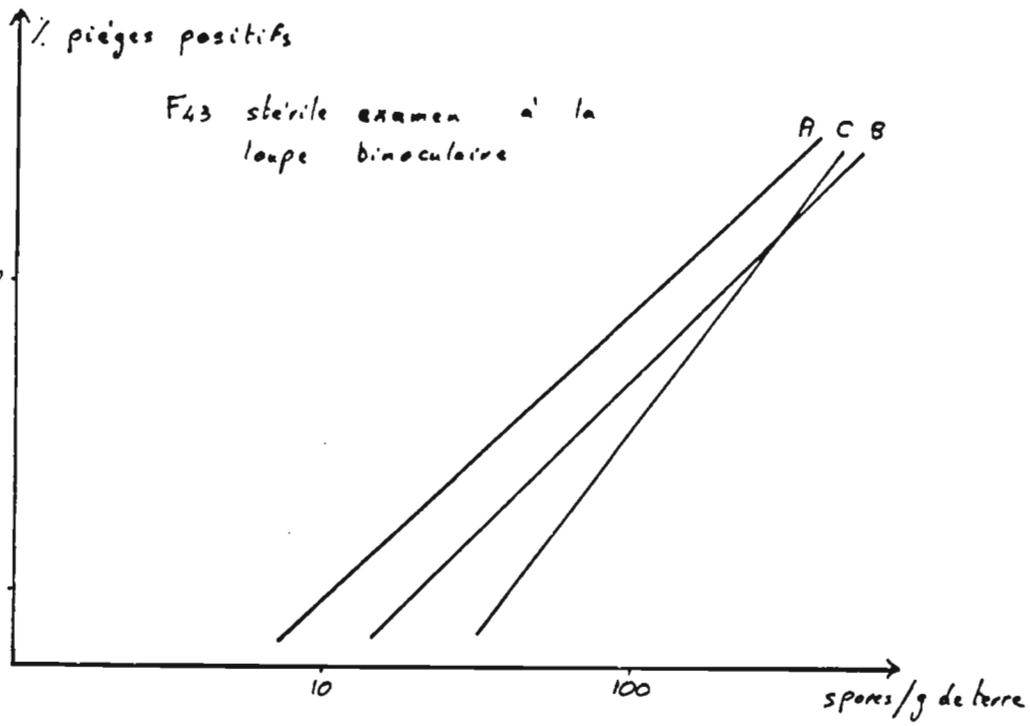


Diagramme 2



Ils permettent, pour des piègeages sur terres artificiellement infectées, de comparer le pouvoir colonisateur d'une souche par rapport à une autre souche sur une même terre, ou bien l'effet inhibiteur du pouvoir colonisateur d'une terre par rapport à une autre pour une même souche.

Par exemple : souche F'_{11} sur terre stérile : En terre A, il faut 27,8 spores/gramme de terre pour avoir 50 % de piègeages positifs, en terre B il n'en faut que 10,3. La souche est la même et seule la terre change, donc le potentiel inhibiteur de la terre A est 3 fois plus fort que celui de la terre B ou bien, on peut exprimer la même chose en disant que le pouvoir colonisateur de la souche F'_{11} est 3 fois plus faible sur la terre A que sur la terre B.

Ayant obtenu un certain pourcentage de piègeages positifs dans une terre naturellement infectée par une souche et connaissant le nombre de zoospores qu'il a fallu introduire dans cette même terre non contaminée pour obtenir le même pourcentage de piègeages positifs (cf. droite de piègeage), on peut en déduire le T.C. naturel de cette terre.

- Les pentes des droites de piègeage sont directement liées, soit à l'effet sol, soit aux caractéristiques des souches, soit aux deux. Au niveau de l'étude des interactions terre/pathogène nous avons dégagé les facteurs du sol agissant sur le comportement des souches.

C - Discussion

L'étude du comportement des souches face aux différentes terres a été faite en utilisant l'analyse de la covariance (SNEDECOR et COCHRAN, 1971 ; LELLOUCH et LAZAR, 1974). Nous pouvons ainsi comparer les régressions inter-classes (terres différentes et(ou) souches différentes) et intra-classes (mêmes terres et(ou) mêmes souches) des pentes et des T.C. 50 et en tirer quelques enseignements.

1) Effet des terres sur le pouvoir colonisateur des souches.

La meilleure sensibilité de piègeage ayant été obtenue par comptage après transfert des pétales sur milieu sélectif (repiquage), ce sont ces chiffres que nous allons en premier lieu analyser pour étudier l'effet des terres non stériles et stériles sur chaque souche.

a) Effet des terres non stériles.

Souche F'₁₁

(diagramme 1 graphique "non stérile repiquage")

Terres A et B : Les pentes des droites de piègeage ne sont pas significativement différentes, ce qui veut dire que "l'effet terre" (cet "effet terre" est appelé effet transmission du sol par BOUHOT, 1978 et exprime la potentialité pour une terre d'être ou non colonisée par un pathogène) est le même quelle que soit la densité d'inoculum. Puisque c'est le comportement d'une seule et même souche qui est étudié, la pente n'exprime que "l'effet terre" ou effet transmission du sol. Les T.C. 50 ne sont pas significativement différents donc l'effet inhibiteur des terres A et B est sensiblement le même pour la souche F'₁₁.

Terres A et C : Ni les pentes ni les T.C.50 ne sont significativement différents ; on se trouve dans la même situation que précédemment.

Terres B et C : Les pentes ne sont pas significativement différentes par contre, les T.C.50 sont significativement différents.

La terre C est plus inhibitrice de l'inoculum initial que la terre B, ce qui veut dire que les zoospores introduites dans le sol sont plus fortement inhibées dans la terre C que dans la terre B, par contre le pouvoir colonisateur de la souche F'₁₁ est le même sur les deux terres.

Souche F'₁₂

(diagramme 2 graphique "non stérile repiquage")

Terres A et B : Il n'y a pas de différence significative des pentes mais les T.C.50 sont significativement différents. Les terres A et B ont donc de effets de transmission sensiblement identiques pour la souche F'₁₂ par contre la terre B est plus inhibitrice de l'inoculum initial que la terre A.

Terres A et C : Les pentes et les T.C.50 sont significativement différents ; ces deux terres se distinguent d'une part par leur action sur l'inoculum initial, d'autre part par leur action sur le pouvoir colonisateur de la souche, la terre C est plus inhibitrice que la terre A.

Terres B et C : Les pentes et les T.C.50 sont significativement différents ; on se trouve dans la même situation que précédemment, la terre C se trouve là encore la plus inhibitrice du pouvoir colonisateur.

Souche F₄₃

(diagramme 3 graphique "non stérile repiquage")

Terres A et B : Les pentes et les T.C.50 ne sont pas significativement différents ; ces deux terres agissent sensiblement de la même façon sur cette souche.

Terres A et C : Les pentes et les T.C.50 sont significativement différents ; l'effet transmission des deux terres est différent, la terre C a une action plus grande que la terre A sur l'inoculum initial de la souche F₄₃ et sur son pouvoir colonisateur.

Terres B et C : Les pentes et les T.C.50 sont significativement différents ; on se trouve dans la même situation que pour les terres A et C.

b) Effet des terres stériles.

Souche F'₁₁

(diagramme 1 graphique "stérile repiquage")

Terres A et B : Les pentes et les T.C.50 sont significativement différents donc l'effet transmission des deux terres et leur action sur l'inoculum initial de cette souche sont dissemblables, la terre B étant moins inhibitrice que la terre A.

Terres A et C : Les pentes ne sont pas différentes mais les T.C.50 le sont ; l'action de ces deux terres se distingue seulement au niveau de leur inhibition de l'inoculum initial de la souche F'₁₁, la terre A est moins inhibitrice que la terre C.

Terres B et C : Les pentes et les T.C.50 sont significativement différents, la situation est la même qu'entre les terres A et B, la terre B étant, ici encore, la moins inhibitrice.

Souche F₁₂

(diagramme 2 graphique "stérile repiquage")

Terres A et B : Pentas et T.C.50 ne sont pas différents ; ces deux terres agissent de façon sensiblement identique sur la souche F₁₂.

Terres A et C : Les pentas ne sont pas différentes, les T.C.50 le sont ; la terre A est moins inhibitrice de l'inoculum initial que la terre C. L'effet transmission des deux terres est sensiblement le même.

Terres B et C : Les pentas et les T.C.50 ne sont pas significativement différents ; les deux terres ont le même effet sur cette souche.

Souche F₄₃

(diagramme 3 graphique "stérile repiquage")

Les terres A, B et C ont des pentas et des T.C.50 non significativement différents ; ces trois terres agissent de la même façon sur l'inoculum initial et ont un effet de transmission sensiblement égal.

c) Comparaison des deux effets.

Cette série de comparaisons montre que stériles ou non stériles, les terres n'ont pas, en général, une action identique. Tantôt les terres ont une action différentielle sur les pentas des droites de piègeages et sur les T.C.50 quand elles ne sont pas stériles (terres B et C sur la souche F₁₂, terres A et C, B et C sur la souche F₄₃), action que l'on ne retrouve pas après stérilisation de la terre. Tantôt elles n'ont pas d'action différentielle sur les pentas et les T.C.50 quand elles ne sont pas stériles (terres A et B sur la souche F₁₁) alors qu'elles ont une action différentielle quand elles ont été stérilisées.

En analysant la colonne T.C.50 du Tableau III, on observe que l'inoculum de chaque souche est plus efficient dans sa terre d'origine puisqu'il faut moins de spores/gramme de terre pour obtenir le même niveau de mortalité. La souche F₁₂ originaire de la plate-bande A est mieux adaptée à la terre A qu'aux terres B et C, 95,2 spores/gramme de terre suffisent en terre A non stérile pour infecter 50 % des pétales d'oeillet d'Inde alors

qu'il en faut, respectivement, 225,3 et 1583,6 dans les terres B et C. De la même façon, la souche F₄₃, originaire elle aussi de la plate-bande A, est mieux adaptée à cette terre qu'aux terres B et C puisque le nombre de spores par gramme de terre pour avoir 50 % de pétales infectés est de 171 en terre A, 236,6 en terre B et 852,2 en terre C. Pour la souche F'₁₁, originaire de la plate-bande B, c'est dans la terre provenant de cette plate-bande que l'adaptation est la meilleure, il faut 41,4 spores/gramme de terre dans la terre B, 88,2 dans la terre A et 144,06 dans la terre C pour avoir 50 % de pétales infectés. La stérilisation de la terre n'affecte pas l'ordre du classement.

2) Effet des terres sur la sporogénèse et l'agressivité des souches.

L'analyse qui a précédé n'a porté que sur les informations déduites de l'examen des pétales après leur repiquage sur milieu sélectif, or, nous disposons d'une série d'observations sur les pétales extériorisant des sporocystes. L'examen des piègeages montre qu'il y a pratiquement toujours une différence entre le dénombrement de pétales positifs après repiquage et le dénombrement de pétales positifs à la loupe binoculaire. Des témoins, faits préalablement par piègeages directs d'une suspension de zoospores dans de l'eau, n'ont pas permis de noter des différences ; tous les pétales contaminés dans l'eau, extériorisent des sporocystes. En outre, nous avons calculé un coefficient de régression, qui s'est révélé être statistiquement significatif, entre les comptages faits à la loupe binoculaire et les comptages faits après repiquages pour une même souche sur une même terre. Par contre, l'examen des rapports existants entre le nombre de spores nécessaire pour obtenir 50 % de pétales portant des sporocystes et le nombre de spores pour obtenir 50 % de pétales réellement infectés (dénombrés par repiquage), montre que nous n'avons pas la même proportionnalité pour une même souche sur des terres différentes ou pour des souches différentes sur une même terre. Nous avons pensé qu'il existait un effet terre stérile et un effet terre non stérile différents l'un de l'autre sur la sporogénèse et l'agressivité, ce qui pourrait expliquer l'hétérogénéité de l'action des terres notée dans l'analyse précédente. Nous avons cherché à mesurer ces effets et à les différencier. L'agressivité sera prise au sens large du terme et associera l'efficacité de l'inoculum à coloniser le milieu avec l'aptitude, pour chaque spore, d'être à l'origine d'une infection.

a) Etudes comparatives.

L'inhibition de la sporogénèse est mesurée par le rapport entre le nombre de pétales portant des sporocystes dans l'eau et le nombre de pétales portant des sporocystes dans la terre stérile. Le même rapport a été calculé pour le couple eau/terre non stérile.

Souche F'₁₁ : Terre A stérile = 6,6 Terre A non stérile = 12,2
 Terre B " = 2,8 Terre B " " = 3,8
 Terre C " = 13,9 Terre C " " = 26,6

Souche F₁₂ : Terre A stérile = 3,7 Terre A non stérile = 11,4
 Terre B " = 6,4 Terre B " " = 23,8
 Terre C " = 10,9 Terre C " " = 107,4

Souche F₄₃ : Terre A stérile = 3,6 Terre A non stérile = 53,9
 Terre B " = 6 Terre B " " = 64,7
 Terre C " = 6,6 Terre C " " = 264,7

Les piègeages directs d'une suspension de zoospores dans de l'eau étant ce que l'on peut obtenir de plus sensible, l'action de la terre sur l'agressivité sera mesurée par le rapport entre le total des pétales infectés (dénombrés par repiquage) dans l'eau et celui obtenu en terre stérile ainsi qu'entre eau et terre non stérile.

Souche F'₁₁ : Terre A stérile = 2,1 Terre A non stérile = 6,6
 Terre B " = 0,8 Terre B " " = 3,1
 Terre C " = 6,6 Terre C " " = 10,8

Souche F₁₂ : Terre A stérile = 2,1 Terre A non stérile = 4
 Terre B " = 2,9 Terre B " " = 9,5
 Terre C " = 5,9 Terre C " " = 66,8

Souche F₄₃ : Terre A stérile = 2,1 Terre A non stérile = 5,1
 Terre B " = 3,2 Terre B " " = 7
 Terre C " = 5,1 Terre C " " = 25,3

Une constatation s'impose ; les terres non stériles inhibent plus la sporogénèse que l'agressivité (à une exception près : terre B sur la souche F'₁₁). La microflore semble donc avoir une influence importante sur la sporulation qui est un facteur majeur pour la dissémination de la maladie. Cette influence est en outre sélective puisque la terre B non stérile agit fortement sur les souches F₁₂ et F₄₃ et peu sur la souche F'₁₁. On retrouve le même genre d'action pour la terre C qui réduit d'un facteur 1074 la sporogénèse de la souche F₁₂, d'un facteur 264,7 la sporogénèse de la souche F₄₃ et seulement d'un facteur 26,6 la sporogénèse de la souche F'₁₁.

Pour les terres stériles, il existe également une inhibition qui va dans le même sens, mais l'effet est nettement moins marqué et plus homogène, ce qui est un argument supplémentaire en faveur d'une intervention directe de la microflore sur la sporogénèse.

Les comparaisons ci-dessus ont été faites par rapport à un témoin eau. Il nous a semblé intéressant de faire des comparaisons entre terres stériles et terres non stériles, sur la sporogénèse et sur l'agressivité, pour pouvoir estimer plus précisément le poids de la microflore sur ces deux paramètres. Pour cela, nous avons calculé le rapport entre le nombre de spores nécessaire pour avoir 50 % de pétalos extériorisant des sporocystes dans le couple terre non stérile et terre stérile, ainsi qu'entre le nombre de spores nécessaire pour avoir 50 % de pétalos réellement infectés (repiquages) pour le même couple.

| | | |
|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| <u>Souche F'₁₁</u> | : Terre A sporogénèse = 1,9 | Terre A agressivité = 3 |
| | Terre B " = 1,25 | Terre B " = 4 |
| | Terre C " = 1,85 | Terre C " = 1,6 |

| | | |
|------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| <u>Souche F₁₂</u> | : Terre A sporogénèse = 3 | Terre A agressivité = 1,9 |
| | Terre B " = 3,7 | Terre B " = 3,2 |
| | Terre C " = 96,3 | Terre C " = 11,4 |

| | | |
|------------------------------|----------------------------|---------------------------|
| <u>Souche F₄₃</u> | : Terre A sporogénèse = 15 | Terre A agressivité = 2,4 |
| | Terre B " = 10,6 | Terre B " = 2,2 |
| | Terre C " = 39,6 | Terre C " = 5 |

La comparaison de ces rapports avec ceux faits précédemment (pièges sur eau par rapport à pièges sur terre stérile et non stérile) permettent d'avancer quelques hypothèses.

b) Essai de synthèse.

Souche F'₁₁ : Les microflores des terres A et C inhibent respectivement d'un facteur 1,9 et 1,85 la sporogénèse ; par contre, dans les comparaisons faites par rapport au témoin eau, nous avons vu que l'inhibition est respectivement de 6,6 et 13,9 pour la terre stérile. La terre stérile possède donc un facteur abiotique qui est actif sur la sporogénèse. La terre B stérile, qui est la terre d'origine pour cette souche, possède un facteur actif sur la sporogénèse mais il ne contribue à réduire la sporogénèse que d'un facteur 2,8 par rapport au témoin eau. La microflore de cette terre B est elle-même moins inhibitrice (facteur 1,25) que celle des deux autres terres.

Souche F₁₂ : Les effets terre sont du même genre sur cette souche que sur la souche F'₁₁ mais la terre A, qui est la terre d'origine, se révèle la moins inhibitrice. Le rapport terre stérile/terre non stérile (= 96,3) montre que la terre C possède une microflore particulièrement active contre la sporogénèse.

Souche F₄₃ : La terre A, qui est la terre d'origine de cette souche, a le facteur abiotique le plus faiblement actif sur la sporogénèse mais sa microflore est aussi active que celle de la terre B. Comme pour la souche F₁₂, la plus grande inhibition par la microflore provient de la terre C.

Nous avons pu montrer par cette méthode qu'il existe deux niveaux d'inhibition de la sporogénèse. Le premier niveau est attribué à un facteur abiotique. Il intervient sur l'aptitude, pour les pétales contaminés en terre stérile, à produire des sporocystes et il correspond au "pouvoir inhibiteur interne" de la terre stérilisée par autoclavage. Ce pouvoir inhibiteur est variable en fonction des souches et en fonction des terres ; une terre déterminée possède un niveau d'inhibition pour une souche qui n'est pas forcément le même pour une autre souche. Ce pouvoir inhibiteur de la terre stérilisée a déjà été noté par différents auteurs (TSAO et BRICKER, 1964), mais il nous a paru intéressant de le quantifier pour montrer qu'il n'était pas uniforme. Le deuxième niveau d'inhibition fait intervenir la microflore tellurique et vient s'ajouter au "pouvoir inhibiteur interne" de la terre, à ce stade, les interactions terre/souches deviennent nettement différentielles comme par exemple la terre C sur la souche F₁₂.

Les effets du "pouvoir inhibiteur interne" d'une terre et de la micro-flore sur l'agressivité, vont dans le même sens que les effets sur la sporogénèse. Chaque terre possède un certain pouvoir inhibiteur variable en fonction de la souche introduite. Le classement des terres peut se faire d'après l'origine de la souche ; la terre B est la moins inhibitrice sur la souche F₁₁ quant à la terre A elle est la moins inhibitrice sur les souches F₁₂ et F₄₃. Ici encore, la terre C se révèle la plus inhibitrice sur les trois souches cet effet peut être relié à son pH qui, étant inférieur à celui des terres A et B, a dû permettre le développement d'une microflore différente.

D - Conclusions

Au cours de cette analyse, nous avons dégagé les facteurs du sol agissant sur le comportement de trois souches de *Phytophthora parasitica*. Nous avons pu constater que les pouvoirs colonisateurs des souches sont différents sur une même terre. Deux niveaux d'interactions terre/pathogène ont été caractérisés ; un premier niveau fait intervenir les facteurs abiotiques du sol, le second niveau correspond aux interactions microflore/pathogène. L'inoculum de chaque souche est plus efficient dans sa terre d'origine que dans une terre provenant d'un écosystème différent. Il ressort de nos résultats que les souches étudiées, qui sont toutes les trois originaires d'une plantation de fraisiers, ont suivi un processus évolutif différent et directement dépendant de leur proche environnement.

La mise en évidence de cette action différentielle des terres sur les souches permet d'orienter les recherches du ou des facteurs antagonistes, voire de différencier des souches en apparence identiques.

II - ETUDES IN VIVO

A - Matériel et méthodes

Deux prélèvements de terre ont été faits sur les plates-bandes A et B aux pieds de fraisiers présentant des nécroses à *Phytophthora* ; ces prélèvements A' et B', ont été fractionnés en 80 échantillons de 5 grammes. Ces terres sont présumées être contaminées par *Phytophthora parasitica* ; nous avons essayé de les piéger avec des pétales d'oeillet d'Inde. Les résultats des piègeages sont donnés dans le Tableau IV. Les souches isolées sont repiquées

d'une part sur un milieu petits pois gélosé additionné d'inhibiteurs (Bénomyl (50 ppm de m.a.) P.C.N.B. (100 ppm de m.a.) d'antibiotiques (100.000 unités/litre de D'éricilline et colimycine) d'autre part sur un milieu petits pois gélosé simple ; après trois jours d'incubation à 26°C à l'obscurité le mode de croissance est observé et le diamètre du thalle est mesuré (Tableau IV) Après dix jours de croissance à l'obscurité les souches envahissent le milieu petits pois gélosé simple. Chaque boîte est alors recouverte d'eau permutée stérile et les bulles d'air emprisonnées dans le mycélium sont chassées en passant un étaloir de verre stérile. L'eau en excès est éliminée et les boîtes sont transférées en chambre de culture (26°C et 75 % d'humidité relative) à la lumière (2250 lux) et incubées pendant 48 heures. L'importance de la sporogénèse est estimée à la loupe binoculaire et notée de la façon suivante :

(Tableau IV)

- o = pas de sporocyste
- + = faible concentration de sporocystes
- ++ = concentration moyenne de sporocystes
- +++ = forte concentration de sporocystes

B - Résultats

Sur la terre A' les souches isolées peuvent se regrouper en trois types morphologiques :

- thalle aérien à croissance régulière
- thalle ras à croissance régulière
- thalle aérien à croissance "en vagues"

Quand les souches du type "thalle aérien à croissance en vagues" sont clonées, elles prennent le phénotype thalle aérien à croissance régulière.

La terre B' nous a permis d'isoler deux types de souches :

- thalle aérien à croissance régulière
- thalle ras à croissance régulière

Les mesures du potentiel infectieux ne peuvent être que comparatives car le mélange des souches interdit l'utilisation des droites de piègeages qui ont été établies à partir d'une seule souche. La répartition quantitative

T A B L E A U IV

| | | Milieu : Petits Pois gélulé + Benomyl + PCNB + Antibiotiques | | Milieu : Petits Pois gélulé | | | |
|--|--|--|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------|
| | | souches | mode de croissance | φ(en mm) du thalle | mode de croissance | φ(en mm) du thalle | sporo - génèse |
| <p>T E R R E A</p> <p>Nombre de piègeages : 80 Nombre de pièges infectés +binoculaire: 4 = 5% +repiquage: 10 = 12,5%</p> | | F 50 | aérien régulier | 51 | aérien régulier | 54,5 | ++ |
| | | F 51 | aérien régulier | 53 | aérien régulier | 54 | ++ |
| | | F 52 | aérien en vagues | 56,5 | aérien en vagues | 62 | + |
| | | F 53 | ras régulier | 63 | ras régulier | 76,5 | + |
| | | F 54 | aérien en vagues | 55 | aérien en vagues | 61,5 | + |
| | | F 55 | ras régulier | 61 | ras régulier | 74 | + |
| | | F 56 | aérien régulier | 51 | aérien régulier | 52 | ++ |
| | | F 57 | aérien en vagues | 53 | aérien en vagues | 60 | + |
| | | F 58 | aérien régulier | 51 | aérien régulier | 54 | ++ |
| | | F 59 | aérien régulier | 52,5 | aérien régulier | 53 | ++ |
| <p>T E R R E B</p> <p>Nombre de piègeages : 80 Nombre de pièges infectés +binoculaire: 3 = 3,75% +repiquage: 5 = 6,25%</p> | | F 60 | ras régulier | 64 | ras régulier | 75,5 | + |
| | | F 61 | aérien régulier | 54 | aérien régulier | 56 | ++ |
| | | F 62 | aérien régulier | 54,5 | aérien régulier | 56 | ++ |
| | | F 63 | aérien régulier | 53 | aérien régulier | 55 | ++ |
| | | F 64 | aérien régulier | 54 | aérien régulier | 55,5 | ++ |

des types morphologiques amène quelques remarques. En terre A', très voisine de A géographiquement (quelques mètres), il y a nette prédominance de thalles aériens à croissance régulière (type F₁₂) sur les thalles ras à croissance régulière (type F₄₃). La même situation se retrouve pour la terre B où la majorité des souches piégées est du type F'₁₁. Les études précédentes ont montré que la souche F₄₃ semblait mieux adaptée aux conditions saprophytes mais son faible seuil d'agressivité et les perturbations dues à l'effet terre expliquent le faible taux de piègeage. La prédominance des souches de type F'₁₁ ou F₁₂ peut se comprendre par la présence de plants de fraisiers infectés qui servent de réservoir et entretiennent ainsi un fort taux d'inoculum dans le sol.

Ces quelques remarques auraient besoin d'être confirmées car nous avons vu par exemple que la souche F'₁₁ et la souche F₁₂ appartiennent toutes deux au type morphologique "thalle aérien à croissance régulière", elles diffèrent pourtant par leur signe de compatibilité et leur comportement vis-à-vis de terres identiques.

C - Conclusion

L'étude qui a précédé montre qu'il existe un effet terre stérile dû à des facteurs abiotiques et un effet terre non stérile dû aux effets combinés des facteurs abiotiques et biotiques. Ces deux effets ne sont pas les mêmes, qu'il s'agisse d'une même terre sur des souches différentes ou de terres différentes sur une même souche ; ils se manifestent par une action différentielle sur les pentes des droites de piègeages et (ou) sur les taux de contamination 50 (T.C.50). Toutefois, la terre d'origine d'une souche s'est révélée être la moins inhibitrice de la sporogénèse et de l'agressivité.

Nous avons pu montrer que les souches se différencient par leur agressivité et leur aptitude à la sporogénèse dans une même terre ou sur des terres différentes. Nous disposons ainsi d'un moyen pour les caractériser dans un écosystème défini.

Il est également possible de mettre en évidence et de quantifier les effets d'un ou de plusieurs inhibiteurs abiotiques ou biotiques de la terre.

Les piègeages en conditions naturelles n'ayant pas pu être répétés sur les terrains maraîchers, nous n'avons pas eu la possibilité d'étudier l'aptitude à la vie saprophytique des souches isolées, ni de suivre le devenir d'une population de *Phytophthora* pathogène inféodée à une culture annuelle et donc soumise à des fortes pressions de l'environnement (techniques agricoles, changements d'hôtes fréquents ...).

Nous avons par conséquent reporté notre étude sur une population de *Phytophthora* de la plantation fruitière de type semi-industrielle située à Loudima. Cette population se trouve intégrée à un écosystème défini et stable quant à certaines de ses composantes biologiques (hôtes, microflore tellurique)

CHAPITRE III

ETUDE DE LA REPARTITION DES POPULATIONS DE *PHYTOPHTHORA* SUR VERGERS FRUITIERS

La Station fruitière de Loudima est située par 4°08 Sud et 13°04 Est dans la vallée du Niari. Elle constitue une unité isolée car elle est implantée dans une zone à faible densité agricole. Les techniques de piègeages, des différentes souches de *Phytophthora* appartenant à cet écosystème, dérivent de celles mises au point pour l'étude du comportement des *Phytophthora* dans un sol maraîcher. Elles ont été légèrement modifiées car il ne s'agissait plus ici d'étudier le comportement d'une ou plusieurs souches connues dans différents sols, mais d'estimer la composition de la flore de *Phytophthora* présente dans ces sols et d'en suivre les variations au cours du temps.

I - DESCRIPTION DE LA STATION FRUITIERE

A - Climatologie

La pluviosité moyenne est de 1133 mm (moyenne sur 12 ans, 1952-1964) avec alternance de saisons sèches et pluvieuses ; de grandes variations en hauteur de pluie sont observées d'une année sur l'autre (1543 mm en 1955, 622 mm en 1958). Quatre saisons se répartissent de la façon suivante : une grande saison sèche s'étend de fin Mai à début Octobre, elle est suivie d'une saison des pluies qui est interrompue en Janvier ou Février par une petite saison sèche, excédant rarement un mois, puis une deuxième saison des pluies couvre la période de Février à fin Mai. Les températures relevées sous abri vont de 27° à 33°C pour les maxima, les températures minimales (18° à 22°C) ont été enregistrées pendant la grande saison sèche qui est en même temps la saison fraîche. L'humidité relative, voisine de 100 au lever du soleil, tombe entre 30 et 40 aux heures chaudes de la journée.

B - Topographie et pédologie (voir le plan de la Station fruitière : Figure 3)

La Station fruitière est composée de parcelles d'un hectare plantées de manguiers, d'agrumes et d'avocatiers. Nous avons retenu la partie plantée

d'agrumes et d'avocatiers qui peut se subdiviser en 3 zones :

- Zone A : située au Nord géographique de la Station, elle est plantée d'orangers (*Citrus sinensis* (LINN.) OSBECK) greffés et de Pomelos (*Citrus paradisi* Mac. F) var. Thomson. Le sol est alluvial et l'analyse a donné les caractéristiques suivantes : pH = 5,6 ; C/N = 21,8 ; matières organiques : 52,9 %.

- Zone B : située à l'Ouest géographique de la plantation, elle est composée de vergers de Pomelos (*Citrus paradisi* Mac.F) var. Ruby et var. Marsh, de Tangellos (*Citrus reticulata* BLANCO x *Citrus sinensis* (LINN.) OSBECK) et de mandariniers (*Citrus reticulata* BLANCO). Une parcelle d'avocatiers y a été récemment mise en place (1977). Le sol alluvial a les caractéristiques suivantes : pH = 4,8 ; C/N = 14,6 ; matières organiques = 34,1 %.

- Zone C : située à l'Est géographique ; outre les essais porte-greffes agrumes, cette zone renferme les parcelles d'avocatiers et la pépinière de la Station. Les caractéristiques de ce sol alluvial sont : pH = 6 ; C/N = 21,6 ; matières organiques = 57,1 %.

C - Etat sanitaire des vergers

1) Vergers d'avocatiers.

L'essentiel des vergers d'avocatiers de Loudima se trouve sur la zone C, les arbres très attaqués par *Phytophthora* sont presque tous morts. Sur la nouvelle parcelle mise en place récemment sur la zone B, les jeunes arbres ne présentent aucun symptôme de pourriture brune des racines ni de gommose sur les troncs.

2) Vergers d'agrumes.

La majorité des parcelles d'agrumes date de 1959-62. Ces plantations sont en mauvais état car les arbres, soumis à de sévères pressions physiques et biologiques (déficit hydrique de certaines années, techniques agricoles défectueuses, attaques parasitaires) meurent et ne sont pas remplacés.

Les sous-bois sont rarement entretenus et la prolifération d'*Imperata cylindrica* et d'*Hyparrhenia* sp. rend difficile l'accès sur les parcelles pour y effectuer les traitements anti-parasitaires. Ce couvert dense entretient une humidité propice à la prolifération de la microflore et de la microfaune phytophages qui trouvent sur les nombreux fruits, abandonnés à terre, un substrat idéal.

Des missions préalables nous ont permis de mettre en évidence la présence de *Phytophthora* sur les agrumes ; les porte-greffes des Pomelos sont tous des Rough Lemon (*Citrus jambhiri*) et leur sensibilité à *Phytophthora* est bien connue (FOUQUE et al., 1977 ; BOCCAS et LAVILLE, 1976 ; LAVILLE, 1974).

Tous ces éléments nous ont incités à nous intéresser aux populations de *Phytophthora* dans les vergers d'agumes pour essayer d'en dissocier les différents éléments et les analyser qualitativement et quantitativement.

II - INVENTAIRE QUALITATIF DES POPULATIONS DE PHYTOPHTHORA

A - Matériel et méthodes

Huit missions de prélèvements ont été faites entre Février 1978 et Février 1979, les conditions pluviométriques sont représentées sur le diagramme 4 page suivante.

Chacune des visites a permis de faire des isolements sur 32 chancres et de prélever de la terre en 48 points différents. Lors des missions consécutives à une forte pluie, nous avons en outre effectué des prélèvements de terre en 23 points répartis sur le pourtour de la plantation pour mettre en évidence d'éventuels apports de propagules infectieuses. Des analyses ont également été faites sur des terres provenant de parcelles dépourvues de *Phytophthora* mais situées sur le trajet des eaux de ruissellement provenant de vergers infectés (voir plan : Figure 3).

1) Technique d'isolement à partir des chancres sur avocatiers et agrumes.

Les isolements à partir des chancres sont faciles, il suffit de prélever des fragments d'écorce et de bois en périphérie d'un chancre en activité (c'est-à-dire exudant de la gomme) et de les repiquer sur un milieu

Diagramme 4 : Relevé pluviométrique de Janvier 1977 à Mars 1979

Pluviométrie janvier 1977 - Mars 1979

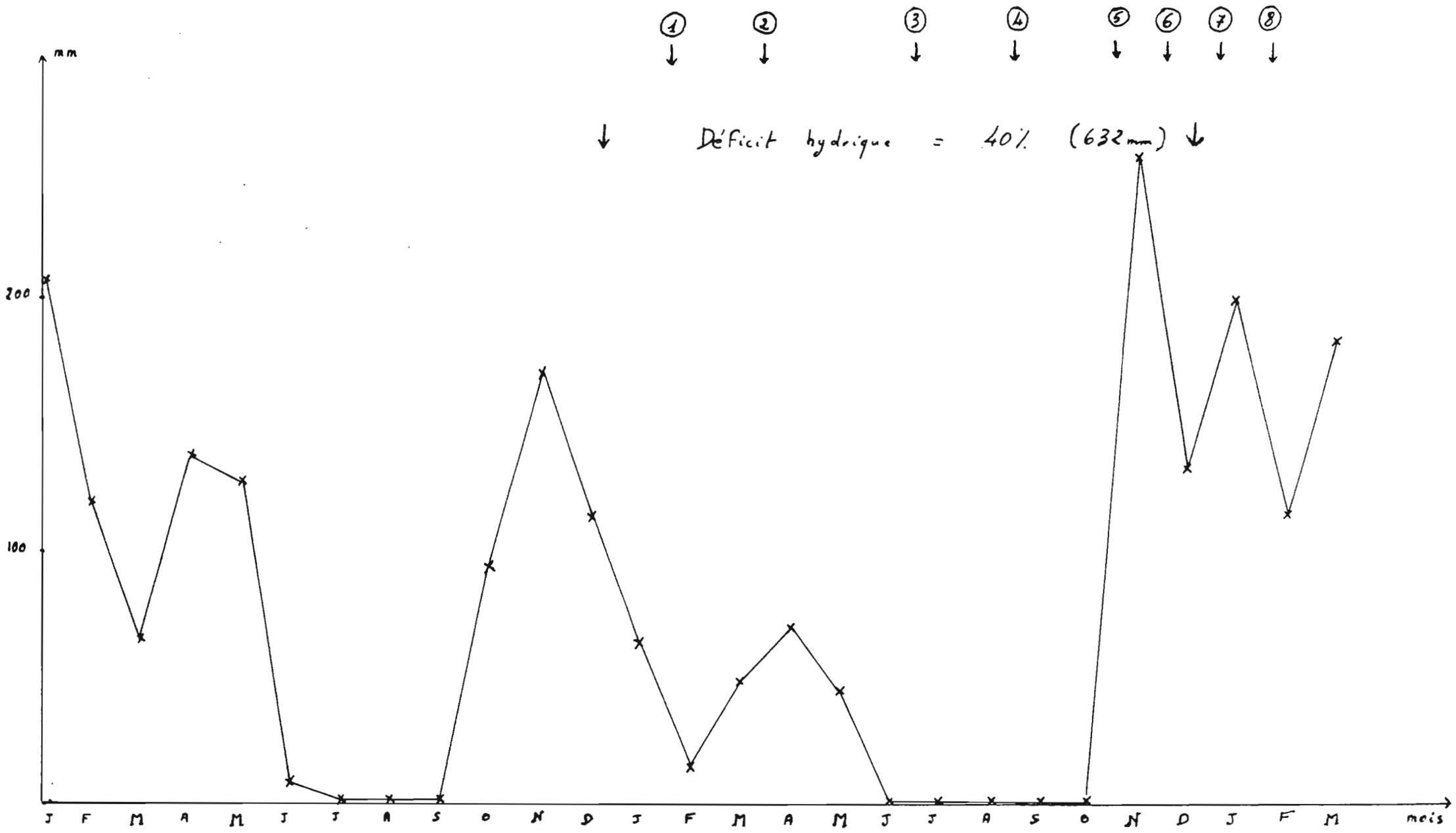
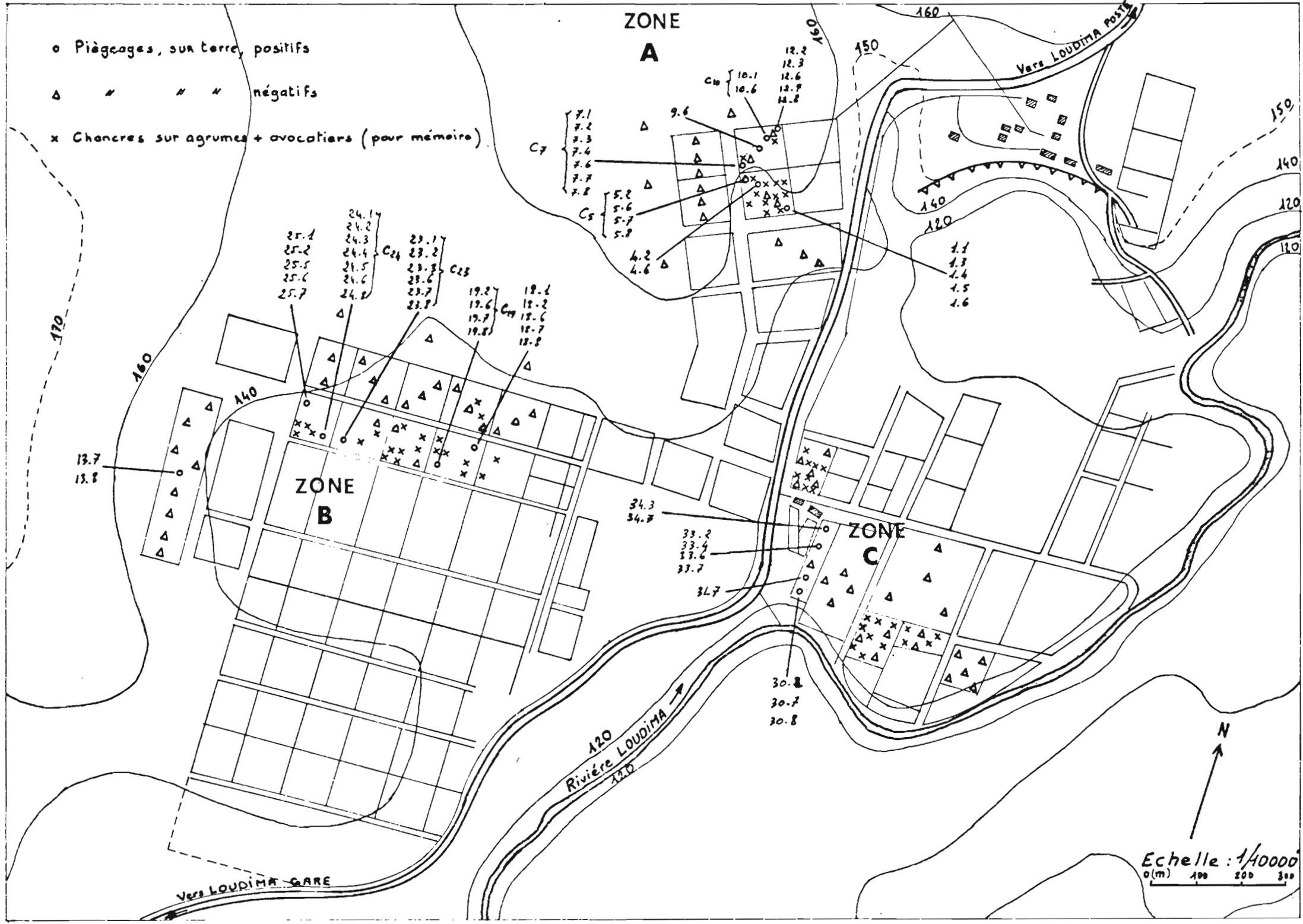


Figure 3

Plan de la Station fruitière de Loudima : Localisation des différents points de prélèvement

- o Piégeages, sur terre, positifs
- Δ " " " négatifs
- x Chancres sur agrumes + avocats (pour mémoire)



Echelle: 1/40000
0(m) 100 200 300

sélectif gélosé à base d'une décoction de petits pois contenant du Bénomyl, du P.C.N.B. et des antibiotiques. Une incubation de deux à trois jours en chambre climatique (26°C et 75 % d'humidité relative) permet la croissance de *Phytophthora* dans le milieu où il est aisé de le prélever.

2) Technique d'isolement à partir des terres.

a) Vergers d'avocatiers.

Nous avons pu constater que les souches du sol sont étroitement spécialisées aux avocatiers, elles ne peuvent être isolées que par piègeage à l'aide d'avocats immatures. On creuse dans ceux-ci, à l'aide d'un emporte-pièce ou d'un scalpel, une cavité que l'on remplit de terre humidifiée présumée infectée. Les jeunes avocats sont ensuite mis à incuber en chambre humide à 26°C pendant quatre à cinq jours. La terre, contenue par les cavités, est éliminée à l'eau courante, une zone nécrosée indique la présence de *Phytophthora* que l'on isole par repiquage de fragments nécrosés sur milieu sélectif gélosé.

b) Vergers d'agrumes.

Les prélèvements de terre ont été faits de trois façons :

- en interligne,
- au pied d'arbres n'ayant pas de symptômes d'attaques visibles,
- au pied d'arbres attaqués (chancres).

Chaque prise consiste en 1 kg de terre environ, prélevé depuis la surface jusqu'à une profondeur de 15 cm en incluant tous les débris végétaux présents (feuilles mortes, brindilles, fragments de racines coupées par les outils). Douze échantillons de 10 g de terre, par prélèvement, sont répartis en godets (type pots de crème) et additionnés d'eau permutée stérile (10 cc) contenant du bénomyl (50 ppm de m.a.), du P.C.N.B. (100 ppm de m.a.) et des antibiotiques (100.000 unités/litre de Pénicilline et colimycine). Après agitation, les godets sont mis à incuber deux jours à la lumière pour favoriser la formation de sporocystes.

Le troisième jour, chaque godet est passé 10 minutes à 8°C pour induire la libération des zoospores avant d'êtreensemencé de huit pétales d'oeillet d'Inde. Après deux jours d'incubation à la lumière, les pétales d'oeillet d'Inde sont prélevés un par un et repiqués sur milieu gélosé sélectif [décoction de petits pois gélosée contenant du bénomyl (50 ppm de m.a.) du P.C.N.B. (100 ppm de m.a.) et des antibiotiques (100.000 unités/litre de Pénicilline et colimycine) ajoutés dans le milieu en surfusion après autoclavage] à raison d'une boîte de Petri par échantillon de 10 g de terre.

Les pièges positifs sont dénombrés de deux façons, d'une part par comptage des boîtes de Petri positives : une boîte est positive quand un pétale au moins donne naissance à un thalle de *Phytophthora* ; d'autre part par comptage des pétales positifs, toutes boîtes confondues pour un même prélèvement de terre (c'est-à-dire sur 12 boîtes de Petri).

Nous avons aménagé la technique de comptage des pétales positifs car la sporogénèse sur les pétales infectés est influencée par l'âge des pétales et le milieu. Si l'utilisation, pour chaque piègeage, de 6 à 8 pétales, à différents stades physiologiques, permet de minimiser l'influence de l'âge, l'effet du milieu ne peut être totalement éliminé car des proliférations bactériennes et amibiennes peuvent fausser la lecture en entourant les pétales d'une gangue où il est difficile de distinguer des sporocystes.

Cette technique de comptage a deux avantages :

- Elle permet de mettre en évidence un effet de la terre par l'étude du coefficient de régression entre les comptages de boîtes positives et les comptages de pétales infectés. Cet effet de la terre sera précieux pour caractériser certaines souches (voir page 37).

- Elle permet également de différencier certaines souches par la morphologie de leur thalle (aérien et régulier ou diffus et intramatriciel).

B - Résultats et discussion

1) Avocatsiers.

Les souches récoltées sur chancres ou dans la terre sont toutes des *Phytophthora cinnamomi* du signe de compatibilité sexuelle A₂ ; elles sont

très homogènes pour leur vitesse de croissance à diverses températures et pour leur absence d'agressivité sur plantules de tomate ou d'*Hibiscus* ainsi que sur pétales d'oeillet d'Inde (ASSAS M'BILAUT, 1978).

La technique d'estimation du taux de contamination (T.C.) d'un sol, implique l'établissement, *in vitro*, de courbes de piègeage. Il est nécessaire pour cela de disposer de suspension de zoospores et d'un piège végétal. *Phytophthora cinnamomi* ne produit que difficilement des zoospores *in vitro* en outre, les souches récoltées à Loudima sont étroitement spécialisées aux avocatiers, la seule façon de les isoler du sol consiste à utiliser des avocats immatures comme piège ce qui limite l'étude à la saison de production des fruits.

2) Agrumes.

Toutes les souches de *Phytophthora* isolées de la terre ou des chancres sur les vergers d'agrumes, ont les caractères morphologiques de *Phytophthora parasitica* (hyphes épaisses et irrégulières, sporocystes à papille proéminente, oospores à anthéridie amphigyne).

Ces souches ont été isolées : soit par piègeage dans le sol (Tableau V), elles sont alors affectées de deux chiffres :

- Le premier chiffre indique le lieu de prélèvement (voir plan : Figure 3).

- Le deuxième chiffre correspond à la mission au cours de laquelle le prélèvement de terre a été fait.

Par exemple : Le prélèvement 1-1 a été fait sur une parcelle de la zone A au cours de la première mission le 13/2/1978.

Le prélèvement 1-3 a été fait au même endroit que le prélèvement 1-1 mais au cours de la mission du 4/7/1978.

Soit à partir de chancres (Tableaux VI et VII), elles sont affectées d'une lettre et de deux chiffres.

- La lettre "C" indique que le chancre sur lequel la souche a été isolée provient d'un arbre au pied duquel un prélèvement de terre a été fait. Le premier chiffre suivant le "C" correspond au numéro du prélèvement de terre associé. Les lettres "Lou" indiquent que le chancre sur lequel la souche a été isolée n'est pas associé à un prélèvement de terre, le chiffre qui suit le "Lou" est un numéro arbitraire donné à ces chancres.

- Le deuxième chiffre correspond à la mission au cours de laquelle l'isolement sur chancre a été fait.

Les Tableaux V, VI et VII donnent la liste des souches récoltées dans les vergers d'agrumes avec leurs principales caractéristiques :

- date_de prélèvement

- lieu_de prélèvement : situation géographique de la prise (voir le plan de la Station) et type d'agrumes cultivé.

- mode_de prélèvement :

* en interligne,

* au pied d'arbre,

* au pied d'arbre avec gradient de prélèvements; chaque prélèvement se situant à 50 cm du précédent en s'éloignant graduellement du pied de l'arbre, dans le sens de la pente s'il y en a une.

- association : indique que la prise est faite soit au pied d'un arbre malade (chancre), soit au pied ou à proximité d'arbres en apparence sains (Ø).

- nombre_de boîtes positives : il est donné par un chiffre dans le cas d'un prélèvement en interligne ou au pied d'un arbre. Pour les prélèvements de terre avec gradient, cinq chiffres sont donnés, le premier correspond au prélèvement le plus près de l'arbre, le cinquième au prélèvement le plus éloigné.

- nombres de pièges positifs : Idem.

TABLEAU V : Liste des prélèvements de terre, dans les vergers d'agrumes et d'avocatiers, ayant permis d'isoler *Phytophthora parasitica* par piègeage à l'aide de pétales d'oeillet d'Inde. Caractérisation des souches isolées.

Note : Les souches retenues comme témoin (page 33), proviennent des prélèvements affectés d'un astérisque.

| Prélèvement | Date de prélèvement | Lieu de prélèvement | Mode de prélèvement | Association | Nombre de boîtes + | Nombre de pièges + | Oogéniose | Test 4j 6j 8j 10j t° 35°C | Morphologie du thalle (Petits pois gélosés) | Aggressivité |
|-------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-------------|--------------------|--------------------|----------------|---|---|---|
| 1-1 | 13.2.78 | Pomelo Ruby Zone A | inter-ligne | ∅ | 2 | 6 | A ₁ | | Aérien régulier | |
| 1-3 | 4.7.78 | " | " | ∅ | 1 | 2 | | | " | |
| 1-4 | 11.9.78 | " | " | ∅ | 1 | 1 | A ₁ | | " | |
| 1-5 | 2.11.78 | " | " | ∅ | 2 | 9 | A ₁ | | " | |
| 1-6 | 10.1.79 | " | " | ∅ | 2 | 8 | A ₁ | | " | |
| 4-2 | 9.4.78 | Pomelo Ruby Zone A | pied arbre | ∅ | 2 | 6 | A ₁ | | Aérien régulier | |
| 4-6 | 5.12.78 | " | " | ∅ | 1 | 3 | A ₁ | | | |
| 5-2 * | 9.4.78 | Pomelo Ruby Zone A | pied arbre | chancre | 2 | 4 | A ₁ | | Aérien régulier | 8% sur pièges +(tomate) 0(hibis.) |
| 5-6 * | 5.12.78 | " | " | " | 3 | 3 | A ₁ | 20,5 33,2 46,3 56,7 | Diffus intramat. | 40% sur pièges +++ (tom.) +(hibis.) |
| 5-7 | 10.1.79 | " | " | " | 4 | 7 | A ₁ | | Aérien régulier | |
| 5-8 * | 5.2.79 | " | " | " | 5 | 9 | A ₁ | 15,1 24,4 41,4 56,2 | | 10% sur pièges +(tomate) 0(hibis.) |

| Prélèvements | Date de prélèvement | Lieu de prélèvement | Mode de prélèvement | Association | Nombre de boîtes + | Nombre de Pièges + | Oogénèse | Test 4j 6j 8j 10j t° 35°C | Morphologie du thalle (Petits pois gélosés) | Aggressivité |
|--------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|--------------------|--------------------|----------------|---|---|------------------------------------|
| 1-1 | 13.2.78 | Pomelo Ruby Zone A | inter-ligne | ∅ | 2 | 6 | A ₁ | | Aérien régulier | |
| 1-3 | 4.7.78 | " | " | ∅ | 1 | 2 | | | " | |
| 1-4 | 11.9.78 | " | " | ∅ | 1 | 1 | A ₁ | | " | |
| 1-5 | 2.11.78 | " | " | ∅ | 2 | 9 | A ₁ | | " | |
| 1-6 | 10.1.79 | " | " | ∅ | 2 | 8 | A ₁ | | " | |
| 4-2 | 9.4.78 | Pomelo Ruby Zone A | pied arbre | ∅ | 2 | 6 | A ₁ | | Aérien régulier | |
| 4-6 | 5.12.78 | " | " | ∅ | 1 | 3 | A ₁ | | | |
| 5-2 * | 9.4.78 | Pomelo Ruby Zone A | pied arbre | chancre | 2 | 4 | A ₁ | | Aérien régulier | 8% sur pièges +(tomate) 0(hibis.) |
| 5-6 * | 5.12.78 | " | " | " | 3 | 3 | A ₁ | 20,5 33,2 46,3 56,7 | Diffus intramat. | 40% sur pièges +++(tom.) +(Hibis.) |
| 5-7 | 10.1.79 | " | " | " | 4 | 7 | A ₁ | | Aérien régulier | |
| 5-8 * | 5.2.79 | " | " | " | 5 | 9 | A ₁ | 15,1 24,4 41,4 56,2 | | 10% sur pièges +(tomate) 0(hibis.) |

| Prélèvements | Date de prélèvement | Lieu de prélèvement | Mode de prélèvement | Association | Nombre de boîtes + | Nombre de pièges + | Oogénèse | Test 4j 6j 8j 10j t° 35°C | Morphologie du thalle (Petits pois gélosés) | Agressivité |
|--------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|-----------------------|--------------------------|----------------|---|---|-------------|
| 7-1 | 13.2.78 | Pomelo Ruby Zone A | pied arbre | chancre | 6 | 24 | A ₁ | | Aérienne régulière | |
| 7-2 | 9.4.78 | " | " | " | 3 4 2 0 0 | 11 9 4 0 0 | A ₁ | 22,8 36,9 47,3 57,9 | " | |
| 7-3 | 4.7.78 | " | " | " | 1 0 0 1 0 | 3 0 0 1 0 | (Souche | perdue → | <i>Pythium</i>) | |
| 7-4 | 11.9.78 | " | " | " | 1 0 0 0 0 | 1 0 0 0 0 | A ₁ | 19,4 34,6 45,8 59,8 | Aérienne régulière | |
| 7-6 | 5.12.78 | " | " | " | 5 5 2 3 2 | 15 12 7 8 5 | A ₁ | | " | |
| 7-7 | 10.1.79 | " | " | " | 6 2 5 2 2 | 19 3 12 7 5 | A ₁ | | | |
| 7-8 | 5.2.79 | " | " | " | 8 3 5 1 0 | 29 10 15 3 0 | A ₁ | | " | |
| 9-6 | 5.12.78 | Pomelo Ruby Zone A | inter-ligne | ∅ | 4 | 10 | | 11 23 35 50 | " | |
| 10-1 | 13.2.78 | Pomelo Ruby Zone A | pied arbre | chancre | 1 | 2 | A ₁ | | " | |
| 10-6 | 5.12.78 | " | " | " | 2 | 6 | (Souche | perdue → | Bactéries) | |

| Prélèvements | Date de prélèvement | Lieu de prélèvement | Mode de prélèvement | Association | Nombre de | | Oogénèse | Test | | | | Morphologie du thalle (Petits pois gélésés) | Agressivité |
|--------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|-----------------------|-----------------------|----------------|----------------------|------|----|----|---|---|
| | | | | | boîtes + | pièges + | | t° | 35°C | 4j | 6j | | |
| 12-2* | 9.4.78 | Pomelo Ruby Zone A | pied arbre | ∅ | 2 1 3 2 2 | 6 2 8 4 5 | A ₁ | | | | | Aérienne régulière | 11% sur pièges 0 (tomate) +(hibis.) |
| 12-3 | 4.7.78 | " | " | ∅ | 1 0 0 0 0 | 1 0 0 0 0 | A ₁ | | | | | " | |
| 12-6* | 5.12.78 | " | " | ∅ | 1 1 2 1 0 | 2 3 4 2 0 | A ₁ | | | | | " | 19% sur pièges +(tomate) +(hibis.) |
| 12-7 | 10.1.79 | " | " | ∅ | 2 3 3 1 2 | 6 6 8 2 5 | A ₁ | | | | | " | |
| 12-8* | 5.2.79 | " | " | ∅ | 2 2 2 1 2 | 7 5 5 2 4 | A ₁ | | | | | " | 19% sur pièges +(tomate) +(hibis.) |
| 13-7* | 10.1.79 | Avocattiers Zone B | pied arbre | ∅ | 1 | 3 | A ₁ | 19 31 40 50 | | | | " | 11% sur pièges +(tomate) +(hibis.) |
| 13-8 | 5.2.79 | " | " | ∅ | 2 | 3 | | | | | | " | |

| Prélèvements | Date de prélèvement | Lieu de prélèvement | Mode de prélèvement | Association | Nombre de boîtes + | Nombre de pièges + | Oogénèse | Test t° 35°C | | | | Morphologie du thalle (Petits pois gélosés) | Agressivité |
|--------------|---------------------|---------------------|--------------------------|-------------|-----------------------|------------------------|----------------|--------------|------|------|------|---|-------------|
| | | | | | | | | 4.j | 6.j | 8.j | 10.j | | |
| 18-1 | 13.2.78 | Pomelo Marsh Zone B | inter-ligne | ∅ | 2 | 6 | A ₁ | | | | | Aérienne régulière | |
| 18-2 | 9.4.78 | " | " | ∅ | 1 | 3 | A ₁ | 13,9 | 26,9 | 36,5 | 50,5 | " | |
| 18-6 | 2.12.78 | " | " | ∅ | 3 | 4 | | | | | | (perdue - Pythium) | |
| 18-7 | 10.1.79 | " | " | ∅ | 4 | 10 | A ₁ | 15,5 | 21,5 | 37,5 | 52 | " | |
| 18-8 | 5.2.79 | " | " | ∅ | 3 | 7 | A ₁ | | | | | " | |
| 19-2 | 9.4.78 | Pomelo Marsh Zone B | pied arbre avec gradient | chancre | 2 1 2 0 0 | 4 2 3 0 0 | A ₁ | | | | | Aérienne régulière | |
| 19-6 | 5.12.78 | " | " | " | 3 3 2 1 1 | 7 5 3 2 1 | A ₁ | | | | | " | |
| 19-7 | 10.1.79 | " | " | " | 4 3 0 1 1 | 7 6 0 3 2 | A ₁ | | | | | " | |
| 19-8 | 5.2.79 | " | " | " | 5 5 3 2 0 | 10 7 5 3 0 | A ₁ | | | | | " | |

| Prélèvements | Date de prélèvement | Lieu de prélèvement | Mode de prélèvement | Association | Nombre de boîtes + | Nombre de pièges + | Oogénèse | 4j | Morphologie du thalle (Petits pois gélosés) | Agressivité |
|--------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|--------------------|--------------------|----------------|--------------------------|---|--|
| | | | | | | | | Test t° 35°C | | |
| 23-1* | 13.2.78 | Pomelo Marsh Zone B | pied arbre | chancre | 1 | 3 | A ₁ | | Aérienne régulière | 16% sur pièges +(tomate) +(hibis.) |
| 23-2* | 9.4.78 | " | " | " | 2 | 5 | | | Aérienne régulière + Diffuse intramat. | 23-2 ₁ * A ₁ * ** 23-2 ₂ A ₂ ** |
| 23-3 | 4.7.78 | " | " | " | 2 | 7 | ∅ | 14,5 23,5 41 56 | Aérienne régulière | |
| 23-6* | 5.12.78 | " | " | " | 3 | 5 | A ₁ | | Diffuse intramatricielle | 35% sur pièges ++(tomate) +(hibis.) |
| 23-7 | 10.1.79 | " | " | " | 3 | 8 | A ₁ | | Aérienne régulière | |
| 23-8* | 5.2.79 | " | " | " | 4 | 12 | A ₁ | 19,7 32,7 44 53 | " | 8% sur pièges +(tomate) +(hibis.) |

* 14% sur pièges
+(tomate)
+(hibiscus)

** 23% sur pièges
+(tomate)
+(hibiscus)

| Prélèvements | Date de prélèvement | Lieu de prélèvement | Mode de prélèvement | Association | Nombre de boîtes + | Nombre de pièges + | Oogénèse | 4j | Morphologie du thalle (Petits pois gélosés) | Agressivité |
|--------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|--------------------|--------------------|----------------|--------------------------|---|------------------------------------|
| | | | | | | | | Test t° 35°C | | |
| 24-1 * | 13.2.78 | Pomelo Ruby Zone B | pied arbre | chancre | 3 | 8 | A ₁ | 15,4 26 36,5 50 | Aérienne régulière | 8% sur pièges +(tomate) 0(hibis.) |
| 24-2 | 9.4.78 | " | " | " | 3 | 7 | A ₁ | 13,9 20,7 27 37 | " | |
| 24-3 * | 4.7.78 | " | " | " | 2 | 5 | A ₁ | | " | 17% sur pièges +(tomate) +(hibis.) |
| 24-4 | 11.9.78 | " | " | " | 1 | 2 | | | (perdue → | <i>Pythium</i> .) |
| 24-5 | 2.11.78 | " | " | " | 3 | 9 | A ₁ | | " | |
| 24-6 * | 5.12.78 | " | " | " | 5 | 12 | A ₁ | | " | 5% sur pièges 0(tomate) 0(hibis.) |
| 24-8 | 5.2.79 | " | " | " | 4 | 10 | A ₁ | | " | |

| Prélèvements | Date de prélèvement | Lieu de prélèvement | Mode de prélèvement | Association | Nombre de boîtes + | Nombre de pièges + | Oogénèse | Test | | | | Morphologie du thalle (Petits pois gélosés) | Agressivité |
|--------------|---------------------|----------------------------|---------------------|-------------|--------------------|--------------------|----------------|------|------|----|----|---|-------------|
| | | | | | | | | t° | 35°C | 4j | 6j | | |
| 25-1 | 13.2.78 | Pomelo Ruby Zone B | pied arbre | Ø | 2 | 5 | A ₁ | | | | | Aérienne régulière | |
| 25-2 | 9.4.78 | " | " | Ø | 1 | 3 | A ₁ | | | | | " | |
| 25-5 | 2.11.78 | " | " | Ø | 1 | 3 | A ₁ | | | | | " | |
| 25-6 | 5.12.78 | " | " | Ø | 2 | 3 | A ₁ | | | | | " | |
| 25-7 | 10.1.79 | " | " | Ø | 2 | 6 | A ₁ | | | | | " | |
| 30-2 | 4.7.78 | Essais porte-greffe Zone C | pied arbre | arbre mort | 5 | 15 | A ₁ | 15,1 | 32 | 46 | 59 | Aérienne régulière | |
| 30-7 | 10.1.79 | " | " | " | 4 | 7 | A ₁ | | | | | " | |
| 30-8 | 5.2.79 | " | " | " | 7 | 23 | A ₁ | | | | | " | |

| Prélèvements | Date de prélèvement | Lieu de prélèvement | Mode de prélèvement | Association | Nombre de boîtes + | Nombre de pièges + | Oogénèse | Test t° 35°C | | | | Morphologie du thalle (Petits pois gélosés) | Agressivité |
|--------------|---------------------|----------------------------|---------------------|-------------|-----------------------|-------------------------|----------------|----------------------------|----|----|-----|---|---|
| | | | | | | | | 4j | 6j | 8j | 10j | | |
| 31-7 | 10.1.79 | Essais porte-greffe Zone C | inter-ligne | ∅ | 2 | 5 | ∅ | | | | | Aérienne régulière | |
| 33-2 * | 9.4.78 | Essais porte-greffe Zone C | pied arbre | arbre mort | 2 2 2 1 0 | 5 5 4 2 0 | A ₁ | | | | | " | 5% sur pièges 0(tomate) 0(hibis.) |
| 33-4 | 11.9.78 | " | | | 1 0 0 0 0 | 2 0 0 0 0 | | | | | | (perdue non repiquée) | |
| 33-6 * | 5.12.78 | " | | | 4 3 3 2 1 | 13 9 10 6 2 | A ₁ | 18,4 31,1 43,3 57 | | | | " | 7% sur pièges +(tomate) 0(hibis.) |
| 33-7 | 10.1.79 | " | | | 4 6 3 2 2 | 16 18 7 5 6 | ∅ | | | | | " | |
| 34-3 | 4.7.78 | Essais porte-greffe Zone C | inter-ligne | ∅ | 1 | 1 | A ₁ | | | | | " | |
| 34-7 | 10.1.79 | " | " | ∅ | 2 | 8 | A ₁ | | | | | " | |

TABLEAU VI : Liste de la totalité des souches isolées sur chancres d'agrumes.

| Campagne | Souches | Localisation | Campagne | Souches | Localisation |
|----------|--------------------|---------------------|----------|----------|---------------------|
| 13.2.78 | C7-1 | Pomelo Ruby | 9.4.78 | C5-2 | Pomelo Ruby |
| | C10-1 | Zone A | | C7-2 | Zone A |
| | C23-1 | Pomelo Marsh Zone B | | C10-2 | |
| | C24-1 | Pomelo Ruby Zone B | | C23-2 | Pomelo Marsh Zone B |
| | Lou 1-1 | Pomelo | | C24-2 | Pomelo Ruby Zone B |
| | Lou 2-1 | Ruby | | Lou 4-2 | Pomelo |
| | Lou 3-1 | Zone A | | Lou 5-2 | Ruby |
| | Lou 10-1 | | | Lou 6-2 | Zone A |
| | Lou 11-1 | | | Lou 7-2 | |
| | Lou 12-1 | Pomelo | | Lou 18-2 | Pomelo |
| | Lou 13-1 | Marsh | | Lou 19-2 | Marsh |
| | Lou 14-1 | Zone B | | Lou 20-2 | Zone B |
| | Lou 15-1 | | | Lou 22-2 | Pomelo Ruby Zone B |
| | Lou 16-1 | | | Lou 25-2 | Mandarine Kara |
| Lou 17-1 | | | Zone B | | |
| Lou 22-1 | Pomelo Ruby Zone B | | | | |

| Campagne | Souches | Localisation | Campagne | Souches | Localisation |
|----------|---------|---------------------|----------|----------|--|
| 5.12.78 | C5-6 | Pomelo Ruby | 5.12.78 | Lou 10-6 | Pomelo Marsh Zone B Pomelo Ruby Zone B Mandarine Kara Zone B |
| | C7-6 | Zone A | | Lou 11-6 | |
| | C10-6 | | | Lou 12-6 | |
| | | | | Lou 15-6 | |
| | C19-6 | Pomelo Marsh Zone B | | Lou 16-6 | |
| | | | | Lou 17-6 | |
| | C24-6 | Pomelo Ruby Zone B | | Lou 19-6 | |
| | | | | Lou 20-6 | |
| | Lou 1-6 | | | Lou 22-6 | |
| | Lou 2-6 | Pomelo Ruby | | Lou 23-6 | |
| Lou 3-6 | | | Lou 25-6 | | |
| Lou 6-6 | Zone A | | Lou 26-6 | | |
| Lou 7-6 | | | | | |
| Lou 9-6 | | | | | |

TABLEAU VII : Souches isolées sur chancres d'agrumes ayant été retenues
comme souches témoins.

| Souche | Lieu de prélèvement | Oogénèse | Morphologie | Test 4j de 6j t° 8j 34°C 10j | Spores/ g.de terre | | | Agressivité |
|-----------------|---------------------------|----------------|-----------------------|---------------------------------------|-----------------------|-------|-------|-------------|
| | | | | | B+ | P+ | | |
| C ₅ | Pomelo Ruby Zone A | A ₁ | Aérienne régulière | | 384 | 100 | 73,84 | 27% pièges |
| | | | | 19,4 | 192 | 100 | 48,88 | ++ Tomate |
| | | | | 34,6 | 96 | 50 | 15,6 | + Hibiscus |
| | | | | 45,8 | 48 | 16,66 | 4,16 | |
| | | | | 59,8 | 24 | 8,33 | 1,04 | |
| | | | | | 12 | 0 | 0 | |
| Lou 1 | Pomelo Ruby Zone A | A ₂ | " | | 360 | 100 | 68,64 | 42% pièges |
| | | | | | 180 | 91,66 | 36,4 | +++ Tomate |
| | | | | | 90 | 50 | 11,4 | ++ Hibiscus |
| | | | | | 45 | 8,33 | 2,08 | |
| | | | | | 22,5 | 0 | 0 | |
| | | | | | 11,25 | 0 | 0 | |
| C ₂₃ | Pomelo Marsh Zone B | A ₂ | " | | 352 | 100 | 42,64 | 66% pièges |
| | | | | | 176 | 75 | 27,04 | +++ Tomate |
| | | | | | 88 | 25 | 7,28 | ++ Hibiscus |
| | | | | | 44 | 0 | 0 | |
| | | | | | 22 | 0 | 0 | |
| | | | | | 11 | 0 | 0 | |
| C ₂₄ | Pomelo Ruby Zone B | A ₁ | " | | 312 | 100 | 39,52 | 39% pièges |
| | | | | 20,2 | 156 | 66,66 | 19,76 | ++ Tomate |
| | | | | 30,6 | 78 | 16,66 | 5,2 | + Hibiscus |
| | | | | 45,4 | 39 | 8,33 | 1,04 | |
| | | | | 57,3 | 19,5 | 0 | 0 | |
| | | | | | 9,75 | 0 | 0 | |

| Souche | Lieu de prélèvement | Oogénèse | Morphologie | Test 4j de 6j t° 8j 34°C 10j | Spores/g. de terre | | | Agressivité |
|--------|-----------------------------|----------------|-----------------------|---------------------------------------|--------------------|-------|-------|---------------------------------------|
| | | | | | B+ | P+ | | |
| Lou 14 | Pomelo Marsh Zone B | A ₁ | Aérienne régulière | | 328 | 100 | 42,64 | 32% pièges ++ Tomate + Hibiscus |
| | | | | | 164 | 91,66 | 30,16 | |
| | | | | | 82 | 58,33 | 12,48 | |
| | | | | | 41 | 16,66 | 5,2 | |
| | | | | | 20,5 | 0 | 0 | |
| | | | | | 10,25 | 0 | 0 | |
| Lou 24 | Pomelo Ruby Zone B | A ₁ | " | | 320 | 100 | 37,44 | 23% pièges ++ Tomate + Hibiscus |
| | | | | | 160 | 83,33 | 21,84 | |
| | | | | | 80 | 33,33 | 9,36 | |
| | | | | | 40 | 16,66 | 3,12 | |
| | | | | | 20 | 8,33 | 1,04 | |
| | | | | | 10 | 0 | 0 | |
| Lou 25 | Mandarine Kara Zone B | A ₁ | " | | 272 | 91,66 | 20,8 | 31% pièges ++ Tomate + Hibiscus |
| | | | | | 136 | 58,33 | 14,56 | |
| | | | | | 68 | 25 | 5,2 | |
| | | | | | 34 | 8,33 | 1,04 | |
| | | | | | 17 | 0 | 0 | |
| | | | | | 8,5 | 0 | 0 | |

- signe de compatibilité sexuelle (oogénèse) : la détermination du signe de compatibilité a été faite par croisement avec les souches de référence suivantes :

377 = *P. parasitica* A₂ isolé du sol d'un verger de Citrus en Californie

355 = *P. parasitica* A₁ isolé d'agrume au Cameroun.

- test de croissance à 35°C : ce test a été fait sur des souches prélevées au hasard qui ont été cultivées sur un milieu P.D.A. (Difco) à l'obscurité ; les mesures diamétrales des thalles ont été faites les 4ème, 6ème, 8ème et 10ème jour.

La distinction des espèces selon des caractères morphologiques n'est pas toujours déterminante car les amplitudes des variations intraspécifiques dépassent souvent les variations interspécifiques, c'est la raison pour laquelle nous avons fait un test de croissance à 35°C. Ce caractère est généralement considéré comme déterminant (BOCCAS et LAVILLE, 1976) et confirme l'appartenance des souches récoltées à l'espèce *P. parasitica*. Parmi les espèces du second groupe (selon la classification de WATERHOUSE, 1963, 1970) qui possèdent des caractères morphologiques communs, elle est la seule à pouvoir se développer à cette température.

- morphologie du thalle : ce test fait directement sur le milieu d'isolement, a permis de séparer deux types de souches :

- * souches ayant un thalle aérien régulier,
- * souches ayant un thalle diffus intramatriciel.

- agressivité : les tests d'agressivité n'ont été faits que sur les souches retenues comme témoins. Les souches témoins ont été choisies en fonction de la position géographique de leurs aires d'origine afin d'avoir un échantillon représentatif des trois zones (page 24) de la Station fruitière. L'évaluation de l'agressivité a porté :

* sur pièges : 100 pétales d'oeillet d'Inde sont dispersés sur 20 cc de suspension de zoospores dans de l'eau permutée (15 zoospores par cc) et mis à incuber à 26°C pendant 2 jours à la lumière. Le dénombrement des pétales infectés se fait après repiquage sur milieu petits pois gélosé.

* sur plantules de tomate variété Marmande et sur plantules d'*Hibiscus sabdariffa* : Un lot de 50 plantules cultivées sur vermiculite est inoculé par un broyat mycélien de chacune des souches. L'agressivité est estimée par comptage des plantules mortes 10 jours après inoculation et notée de la façon suivante :

| | | |
|-----|---|------------------------|
| 0 | = | pas de mortalité |
| + | = | 0 à 20 % de mortalité |
| ++ | = | 20 à 40 % de mortalité |
| +++ | = | 40 à 60 % de mortalité |

Pour cette étude, aucun test de germination n'a été fait car nous avons considéré que la plus ou moins bonne germination des zoospores était une des composantes de l'agressivité.

Sur les vergers d'avocatiers, nous avons mis en évidence la présence de *P. cinnamomi* par des isolements à partir de chancres ou par des piègeages dans le sol à l'aide d'avocats immatures. Par contre, les piègeages à l'aide de pétales d'oeillet d'Inde n'ont permis d'isoler qu'en un seul endroit *P. parasitica* (piègeages 13-7 et 13-8 sur le plan et dans le tableau V). Cette absence de *P. parasitica* sur les parcelles d'avocatiers peut s'expliquer de deux façons :

- soit les parcelles n'ont pas été contaminées,
- soit elles ont été contaminées mais le pathogène n'a pas pu se maintenir.

Les vergers sont isolés géographiquement les uns des autres. Les parcelles d'avocatiers sont séparées des parcelles d'agrumes par la route Loudima gare - Loudima poste qui canalise les eaux de ruissellement des zones A et B (voir page 24) vers la rivière Loudima. Seule une intervention mécanique peut être à l'origine d'une contamination croisée et le passage d'un outil, d'une parcelle d'agrumes infectée, à la parcelle 13, est probablement à l'origine de la présence de *P. parasitica*.

Cette contamination mécanique étant la seule hypothèse compatible avec la répartition géographique des différents vergers, le fait que *P. parasitica* n'a été isolé qu'exceptionnellement sur les vergers d'avocatiers peut s'expliquer de deux façons :

- soit la contamination mécanique est un évènement rare et l'inoculum initial arrive à se maintenir dans le sol mais il ne peut pas se multiplier et se répandre par manque d'hôte (*P. parasitica* n'a jamais été isolé sur avocats à Loudima) ; par conséquent on ne peut le mettre en évidence que par hasard,

- soit la contamination mécanique est un évènement fréquent mais *Phytophthora parasitica* a une mauvaise aptitude à survivre et il tend à disparaître, on ne peut le mettre en évidence que temporairement, juste après son introduction sur la parcelle.

Les piègeages répétés pendant un an montrent que les *Phytophthora parasitica* semblent disparaître du sol pendant la saison sèche pour, ensuite, réapparaître aux premières pluies. Si on se réfère au tableau V, on constate que nous avons rarement pu isoler du *Phytophthora* par piègeage sur les prélèvements faits en saison sèche (mission 3 du 4/7/1978 et mission 4 du 11/9/1978). Les rares fois où il a été possible d'en isoler (prélèvements 1-3, 1-4, 7-3, 7-4, 12-3, 23-3, 24-3, 24-4, 33-4, 34-3), les nombres de boîtes positives et de pétalos infectés étaient nettement inférieurs à ceux des piègeages antérieurs et postérieurs.

Les piègeages sur le pourtour de la Station fruitière montrent qu'il n'y a pas d'apport extérieur d'inoculum, il faut donc envisager une phase de dormance de *P. parasitica* qui lui permet de résister à la dessiccation du sol pendant la saison sèche. La durée de conservation dans le sol n'est pas négligeable et il est donc probable que les contaminations des vergers d'avocats ne sont qu'exceptionnelles, ce qui est compatible avec la rareté des travaux agricoles (FLOWERS et HENDRIX, 1972, 1974 ; PRATT et MITCHELL, 1975).

C - Conclusion

Les vergers d'avocats et d'agrumes, de la Station fruitière de Loudima, semblent se comporter comme deux entités distinctes puisque chacun possède une espèce de *Phytophthora* qui lui est spécifique. On ne trouve dans le sol, des différents vergers, que l'espèce capable de parasiter l'arbre qui y est cultivé. Un éventuel parasitisme sur les plantes adventices est peu probable car, comme il a été dit page 26, les prélèvements de terre incluent

tous les débris végétaux présents (feuilles mortes, brindilles, fragments de racines coupées par les outils). Même si la présence de *Phytophthora cinnamomi* n'a pu être mise en évidence sur les vergers d'agrumes à cause de l'absence d'agressivité de cette espèce vis-à-vis des pièges utilisés, la présence de *Phytophthora parasitica* sur les vergers d'avocatiers aurait dû être décelée. Nous venons de voir que cette présence n'a pu être mise en évidence qu'exceptionnellement et qu'elle est probablement due à une contamination mécanique.

Les contraintes expérimentales liées à l'espèce *Phytophthora cinnamomi* inféodée aux avocatiers n'ont pu être surmontées. L'absence d'agressivité de cette espèce vis-à-vis des différents pièges végétaux testés (tableau I) nous obligeait à n'utiliser que de jeunes avocats immatures. Il ne nous a pas été possible de nous procurer suffisamment de jeunes avocats immatures, variétalement homogènes et disponibles toute l'année, pour nous permettre d'effectuer des piègeages répétitifs.

Nous avons donc été obligés d'abandonner l'analyse des populations de *P. cinnamomi* pour nous consacrer à celle des populations de *P. parasitica* inféodées aux agrumes.

III - ANALYSE DU COMPORTEMENT DES SOUCHES DE *PHYTOPHTHORA PARASITICA* DANS LEUR TERRE D'ORIGINE

Il était matériellement impossible de mesurer "*in vitro*" le comportement, dans leur terre d'origine, de toutes les souches. Nous avons donc procédé par sondage en choisissant des souches, isolées sur chancre ou dans la terre, de façon à avoir un échantillonnage représentatif des trois zones étudiées en fonction de la position géographique des lieux de prélèvement. Les interactions terre/*Phytophthora* ont été définies, elles nous serviront pour analyser la répartition des souches sur les vergers d'agrumes.

A - Matériel et méthodes

Les souches, isolées de la terre, retenues comme témoins sont affectées d'un astérisque dans le tableau V. Les souches témoins isolées sur chancre sont répertoriées dans le tableau VII. Des courbes de piègeage ont été tracées afin de connaître le nombre de spores par gramme de terre correspondant à un certain pourcentage de piègeages positifs pour chaque souche témoin dans sa terre d'origine.

La méthodologie utilisée pour l'obtention des courbes de piègeage est légèrement différente de celle employée précédemment, lors de l'étude du comportement des souches isolées sur fraisiers face à différentes terres. Les terres employées proviennent du même site que chacune des souches mais avant utilisation, elles sont stockées une journée au froid (5 à 6°C) puisensemencées massivement de jeunes pétales d'oeillet d'Inde afin de vérifier l'absence de *Phytophthora*. La présence de pétales infectés entraîne le rejet de la terre et un nouveau prélèvement à la mission suivante.

Chaque terre est fragmentée en 12 fois 10 grammes, répartis dans des pots en plastique. Chaque échantillon est ensemencé d'un inoculum calibré sous la forme d'une suspension titrée de zoospores dans de l'eau permutée stérile additionnée de bénomyl (50 ppm de m.a.), P.C.N.B. (100 ppm de m.a.) et antibiotiques (100.000 unités/litre de Pénicilline et colimycine). Les pots sont mis à incuber à 26°C, à la lumière (2.250 lux), pendant deux jours. Le troisième jour, 8 pétales d'oeillet d'Inde sont introduits et les pots sont remis à incuber dans les mêmes conditions que précédemment, pendant deux jours.

Les pétales sont alors prélevés et repiqués sur milieu sélectif gélosé. Le dénombrement des pièges positifs se fait, d'une part par comptage des boîtes de Petri positives (B+), une boîte est positive quand un pétale au moins donne naissance à un thalle ; d'autre part par comptage des pétales positifs (P+) toutes boîtes confondues.

Pour les souches isolées à partir de la terre (souches "terre"), le Tableau VIII donne les pourcentages de boîtes positives (B+) et de pétales infectés (P+) en fonction du nombre de spores par gramme de terre. Plusieurs souches récoltées sur chancre (souche "chancre") ont également été étudiées, le Tableau VII donne pour ces souches les pourcentages de pièges positifs.

B - Linéarisation des courbes de piègeage

Les courbes de piègeage ont été tracées en utilisant la transformation (BAKER, 1971) qui linéarise la relation entre le logarithme de la concentration de spores infectieuses et la probabilité de maladie. Cette

TABLEAU VIII : Souches isolées de la terre retenues comme témoins ; pourcentage de boîtes positives (B+) et de pétalos infectés (P+) en fonction du nombre de zoospores introduites par gramme de terre.

| Souches | 12-2 | | | 12-6 | | | 12-8 | | | 5-2 | | | 5-6 | | | 5-8 | | |
|---------|----------------|------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|
| | sp. g/terre | B+ | P+ | sp. g/terre | B+ | P+ | sp. g/terre | B+ | P+ | sp. g/terre | B+ | P+ | sp. g/terre | B+ | P+ | sp. g/terre | B+ | P+ |
| | 288 | 100 | 97,76 | 296 | 100 | 93,6 | 320 | 100 | 98,8 | 272 | 100 | 86,32 | 368 | 100 | 63,44 | 304 | 100 | 96,72 |
| | 144 | 100 | 70,72 | 148 | 100 | 78 | 160 | 100 | 73,84 | 136 | 100 | 67,6 | 184 | 100 | 45,76 | 152 | 100 | 75,92 |
| | 72 | 100 | 56,16 | 74 | 100 | 63,44 | 80 | 91,66 | 48,88 | 68 | 100 | 59,28 | 92 | 58,33 | 16,64 | 76 | 100 | 57,2 |
| | 36 | 33,3 | 15,6 | 37 | 41,65 | 12,48 | 40 | 41,65 | 14,56 | 34 | 66,66 | 20,8 | 46 | 16,66 | 3,12 | 38 | 75 | 23,92 |
| | 18 | 25 | 8,32 | 18,5 | 16,66 | 4,16 | 20 | 16,66 | 5,2 | 17 | 25 | 7,28 | 23 | 0 | 0 | 19 | 16,66 | 9,36 |
| | 9 | 8,33 | 1,04 | 9,25 | 0 | 0 | 10 | 8,33 | 2,08 | 8,5 | 0 | 0 | 11,5 | 0 | 0 | 9,5 | 8,33 | 2,08 |

B+ = boîtes positives en %

P+ = Pièges positifs en %

| Souches | 23-1 | | | 23-2 ₁ | | | 23-2 ₂ | | | 23-6 | | | 23-8 | | |
|---------|----------------|-------|-------|-------------------|-------|-------|-------------------|------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|
| | sp. g/terre | B+ | P+ | sp. g/terre | B+ | P+ | sp. g/terre | B+ | P+ | sp. g/terre | B+ | P+ | sp. g/terre | B+ | P+ |
| | 248 | 100 | 69,68 | 296 | 100 | 61,36 | 328 | 100 | 44,72 | 376 | 100 | 37,44 | 280 | 100 | 59,28 |
| | 124 | 100 | 34,32 | 148 | 100 | 29,12 | 164 | 83,3 | 21,84 | 188 | 91,66 | 30,16 | 140 | 100 | 35,36 |
| | 62 | 75 | 21,84 | 74 | 83,33 | 26 | 82 | 50 | 14,56 | 94 | 41,66 | 11,44 | 70 | 75 | 17,68 |
| | 31 | 33,33 | 7,28 | 37 | 41,66 | 8,32 | 41 | 25 | 5,2 | 47 | 25 | 6,24 | 35 | 41,66 | 11,44 |
| | 15,5 | 8,33 | 2,08 | 18,5 | 16,66 | 3,12 | 20,5 | 8,33 | 1,04 | 23,5 | 0 | 0 | 17,5 | 16,66 | 5,2 |
| | 7,75 | 0 | 0 | 9,25 | 8,33 | 1,04 | 10,25 | 0 | 0 | 11,75 | 0 | 0 | 8,75 | 16,66 | 3,72 |

B+ = boîtes positives en %

P+ = pièges positifs en %

| Souches | 24-1 | | | 24-3 | | | 24-6 | | | 13-7 | | | 33-2 | | | 33-6 | | |
|---------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|
| | sp. g/terre | B+ | P+ |
| | 320 | 100 | 55,12 | 312 | 100 | 50,96 | 264 | 100 | 67,6 | 296 | 100 | 59,3 | 328 | 100 | 88,4 | 288 | 100 | 95,7 |
| | 160 | 100 | 42,64 | 156 | 100 | 35,36 | 132 | 100 | 53,04 | 148 | 100 | 44,7 | 164 | 100 | 75,92 | 144 | 100 | 63,44 |
| | 80 | 91,66 | 30,16 | 78 | 100 | 31,2 | 66 | 100 | 33,28 | 74 | 91,66 | 32,24 | 82 | 100 | 42,64 | 72 | 100 | 38,5 |
| | 40 | 58,33 | 17,68 | 39 | 50 | 14,56 | 33 | 66,66 | 21,84 | 37 | 58,33 | 18,7 | 41 | 83,33 | 31,32 | 36 | 75 | 27,04 |
| | 20 | 25 | 5,2 | 19,5 | 16,66 | 5,2 | 16,5 | 25 | 8,32 | 18,5 | 16,66 | 4,16 | 20,5 | 50 | 20,8 | 18 | 33,33 | 14,56 |
| | 10 | 8,33 | 3,12 | 9,75 | 0 | 0 | 8,25 | 8,33 | 1,04 | 9,25 | 0 | 0 | 10,25 | 16,66 | 7,28 | 9 | 8,33 | 3,12 |

B+ = boîtes positives en %

P+ = pièges positifs en %

transformation a déjà été décrite dans le chapitre II (page 10) et utilise l'équation :

$$y = a \log x + b$$

où y est la quantité de maladie estimée ici en nombre de boîtes positives ou de pétales infectés, x étant le nombre de spores par gramme de terre.

Le calcul des coefficients de régression (R) permet de tester l'hypothèse de la pente nulle, ils vérifient que x et y sont bien dépendants l'un de l'autre.

Le Tableau IX donne pour chaque souche, l'équation des droites de piègeage pour les boîtes positives (B+) ou pour les pétales positifs (P+). Les coefficients de régression (R) des droites (cf. diagrammes 5, 6, 7, 8) correspondantes sont significatifs. Ces droites de piègeage permettront de quantifier l'inoculum dans les sols de vergers en donnant le nombre de spores par gramme de terre correspondant au nombre de boîtes positives et de pétales infectés obtenus lors des piègeages sur les terres naturellement infectées.

Pour différentes valeurs de boîtes positives ou pétales positifs, nous avons calculé le nombre de propagules infectieuses par gramme de terre qui correspond au taux de contamination (T.C.) d'une terre par le pathogène. Nous avons déjà vu précédemment (chapitre II, page 10) que l'utilisation du modèle de BAKER oblige à éliminer les deux extrémités de la droite. Pour une faible quantité d'inoculum, la droite devient asymptotique à cause de la trop grande dispersion des propagules infectieuses et pour une forte quantité de spores, la droite devient également asymptotique mais cette fois à cause des infections multiples. La portion de droite utilisable (droite efficace) se situe entre 10 % de mortalité (ou pièges positifs) et 50 % de mortalité.

Dans le Tableau IX apparaissent différentes valeurs de taux de contamination, qui donnent le nombre de spores par gramme de terre nécessaire pour obtenir différents pourcentages de boîtes positives ou de pétales infectés.

- TC_{OB+} et TC_{OP+} correspondent à 0 % de boîtes positives et 0 % de pétales infectés, ils sont purement théoriques mais il nous a paru intéressant de les calculer pour avoir une idée du seuil minimum de détection par cette technique de piègeage.

TABLEAU IX : Equations des droites de piègeage

B+ = boîtes positives

P+ = pétales infectés

| Souches | log du nombre de spores par g de terre = log x | | | | | | y = a log x + b | | Coefficient de régression R | OB+ | 2B+ | 6B+ |
|---------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------|---------------------------|--------------------------------------|-----------|------------|------------|
| | | | | | | | | | | TC OP+ | TC 10P+ | TC 48P+ |
| 12-2 | 0,954 | 1,255 | 1,556 | 1,857 | 2,158 | 2,459 | B+ | y = 94,1 log x - 90,67 | 0,909 | 9,18 | 13,8 | 31,2 |
| | | | | | | | P+ | y = 67,64 log x - 73,74 | 0,973 | 13,3 | 16,6 | 67,6 |
| 12-6 | 0,966 | 1,267 | 1,568 | 1,869 | 2,170 | 2,474 | B+ | y = 108 log x - 113,5 | 0,958 | 11,2 | 16 | 32,6 |
| | | | | | | | P+ | y = 70,29 log x - 78,82 | 0,961 | 13,2 | 18,6 | 68 |
| 12-8 | 1 | 1,301 | 1,602 | 1,903 | 2,204 | 2,505 | B+ | y = 85,83 log x - 85,83 | 0,967 | 10 | 15,6 | 38,2 |
| | | | | | | | P+ | y = 68,81 log x - 79,98 | 0,969 | 14,5 | 20,6 | 77,4 |
| 5-2 | 0,929 | 1,230 | 1,531 | 1,832 | 2,134 | 2,435 | B+ | y = 113,5 log x - 108,75 | 0,996 | 9,1 | 12,7 | 25 |
| | | | | | | | P+ | y = 61,84 log x - 63,74 | 0,980 | 10,7 | 15,8 | 69 |
| 5-6 | 1,060 | 1,362 | 1,663 | 1,964 | 2,265 | 2,566 | B+ | y = 113,5 log x - 162,08 | 0,984 | 26,8 | 37,6 | 73,9 |
| | | | | | | | P+ | y = 56,41 log x - 84,97 | 0,966 | 32 | 49 | 246,8 |
| 5-8 | 0,977 | 1,278 | 1,579 | 1,881 | 2,182 | 2,483 | B+ | y = 110,58 log x - 108,08 | 0,964 | 9,5 | 13,4 | 26,8 |
| | | | | | | | P+ | y = 67,08 log x - 71,78 | 0,986 | 11,7 | 16,8 | 65,4 |
| 33-2 | 1,011 | 1,312 | 1,613 | 1,914 | 2,215 | 2,516 | B+ | y = 94,08 log x - 75,17 | 0,989 | 6,3 | 9,5 | 21,4 |
| | | | | | | | P+ | y = 55,07 log x - 52,16 | 0,982 | 8,8 | 13,7 | 71,6 |
| 33-6 | 0,954 | 1,255 | 1,556 | 1,857 | 2,158 | 2,459 | B+ | y = 105,17 log x - 93,67 | 0,994 | 7,8 | 11,2 | 23,2 |
| | | | | | | | P+ | y = 59,03 log x - 60,28 | 0,972 | 10,5 | 15,8 | 73,8 |

| Souches | log du nombre de spores par g de terre = log x | | | | | | y = a log x + b | | Coefficient de régression R | TC | OB+ | 2B+ | 6B+ |
|-------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------|---------------------------|--------------------------------------|------|------|------|-------|
| | | | | | | | | | | | OP+ | 10P+ | 48P+ |
| 23-1 | 0,889 | 1,190 | 1,491 | 1,792 | 2,093 | 2,394 | B+ | y = 88,58 log x - 88,75 | 0,979 | 10 | 15,5 | 36,8 | |
| | | | | | | | P+ | y = 43,70 log x - 49,17 | | | | | 0,926 |
| 23-2 ₁ | 0,966 | 1,267 | 1,568 | 1,869 | 2,170 | 2,474 | B+ | y = 83 log x - 80,25 | 0,978 | 9,2 | 14,7 | 37 | |
| | | | | | | | P+ | y = 37,74 log x - 43,34 | | | | | 0,932 |
| 23-2 ₂ | 1,011 | 1,312 | 1,613 | 1,914 | 2,215 | 2,516 | B+ | y = 71,17 log x - 81,08 | 0,985 | 13,8 | 23,6 | 69,4 | |
| | | | | | | | P+ | y = 20,08 log x - 34,94 | | | | | 0,928 |
| 23-6 | 1,070 | 1,371 | 1,672 | 1,973 | 2,274 | 2,575 | B+ | y = 88,58 log x - 118,08 | 0,979 | 24,5 | 37,8 | 90 | |
| | | | | | | | P+ | y = 32,88 log x - 47,78 | | | | | 0,975 |
| 23-8 | 0,942 | 1,243 | 1,544 | 1,845 | 2,146 | 2,447 | B+ | y = 72,08 log x - 62,75 | 0,966 | 7,4 | 12,6 | 36,6 | |
| | | | | | | | P+ | y = 35,90 log x - 38,77 | | | | | 0,933 |
| 24-1 | 1 | 1,301 | 1,602 | 1,903 | 2,204 | 2,505 | B+ | y = 83,08 log x - 76,33 | 0,985 | 8,3 | 13,2 | 33,2 | |
| | | | | | | | P+ | y = 36,58 log x - 38,42 | | | | | 0,988 |
| 24-3 | 0,989 | 1,290 | 1,591 | 1,892 | 2,193 | 2,494 | B+ | y = 110,75 log x - 117,83 | 0,976 | 11,6 | 16,4 | 32,8 | |
| | | | | | | | P+ | y = 34,4 log x - 37,01 | | | | | 0,987 |
| 24-6 | 0,916 | 1,217 | 1,518 | 1,819 | 2,120 | 2,421 | B+ | y = 105,17 log x - 93,83 | 0,988 | 7,8 | 11,2 | 23,3 | |
| | | | | | | | P+ | y = 45,46 log x - 44,96 | | | | | 0,991 |

| Souches | log du nombre de spores par g de terre = log x | | | | | | y = a log x + b | | Coefficient de régression R | TC | | TC | | TC | |
|---------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------|--------------------------|--------------------------------------|------|------|-------|--------|-----|------|
| | | | | | | | | | | OB+ | OP+ | 2B+ | 10P+ | 6B+ | 48P+ |
| 13-7 | 0,966 | 1,267 | 1,568 | 1,869 | 2,170 | 2,474 | B+ | y = 91,33 log x - 89,92 | 0,981 | 9,6 | 14,7 | 34 | 195,4 | | |
| | | | | | | | P+ | y = 40,98 log x - 43,87 | | | | | | | |
| C5 | 1,079 | 1,380 | 1,681 | 1,982 | 2,283 | 2,584 | B+ | y = 80,25 log x - 99,92 | 0,932 | 17,6 | 28,4 | 73,8 | 226 | | |
| | | | | | | | P+ | y = 49,83 log x - 67,31 | | | | | | | |
| Lou 1 | 1,051 | 1,352 | 1,653 | 1,954 | 2,255 | 2,556 | B+ | y = 94,08 log x - 133,92 | 0,973 | 26,5 | 39,8 | 90 | 259,2 | | |
| | | | | | | | P+ | y = 57,11 log x - 87,82 | | | | | | | |
| C23 | 1,041 | 1,342 | 1,643 | 1,944 | 2,245 | 2,546 | B+ | y = 116,25 log x - 193,8 | 0,990 | 46,2 | 64,2 | 124,3 | 524,6 | | |
| | | | | | | | P+ | y = 49,15 log x - 83,66 | | | | | | | |
| C24 | 0,989 | 1,290 | 1,591 | 1,892 | 2,193 | 2,494 | B+ | y = 85,83 log x - 124 | 0,947 | 27,9 | 43,6 | 106,6 | 1060,6 | | |
| | | | | | | | P+ | y = 32,53 log x - 48,42 | | | | | | | |
| Lou 14 | 1,010 | 1,311 | 1,612 | 1,913 | 2,214 | 2,515 | B+ | y = 91,33 log x - 121,42 | 0,980 | 21,3 | 32,5 | 75,3 | 605,2 | | |
| | | | | | | | P+ | y = 36,69 log x - 52,05 | | | | | | | |
| Lou 24 | 1 | 1,301 | 1,602 | 1,903 | 2,204 | 2,505 | B+ | y = 70,42 log x - 83,08 | 0,952 | 15,1 | 26,1 | 77,7 | 2034,6 | | |
| | | | | | | | P+ | y = 24,32 log x - 30,47 | | | | | | | |
| Lou 25 | 0,929 | 1,230 | 1,531 | 1,832 | 2,133 | 2,434 | B+ | y = 77,5 log x - 105,33 | 0,971 | 22,8 | 37,5 | 101 | 12607 | | |
| | | | | | | | P+ | y = 18,34 log x - 25,27 | | | | | | | |

Diagrammes 5, 6, 7 et 8 : Droites de piègeage

Diagramme 5

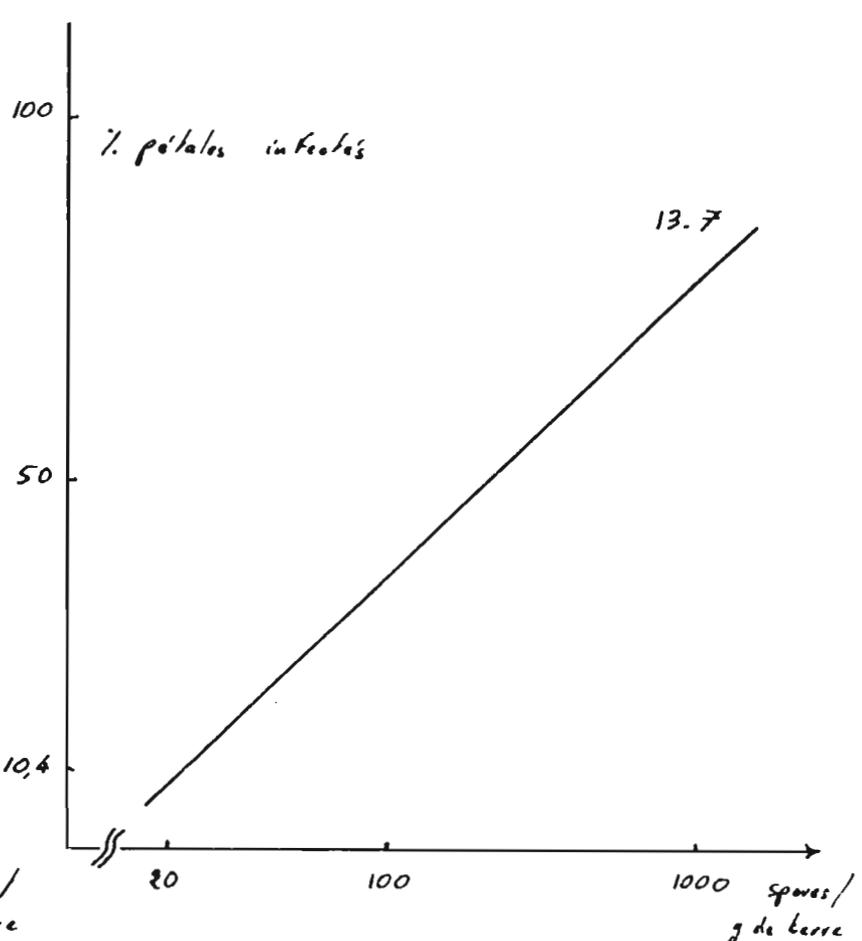
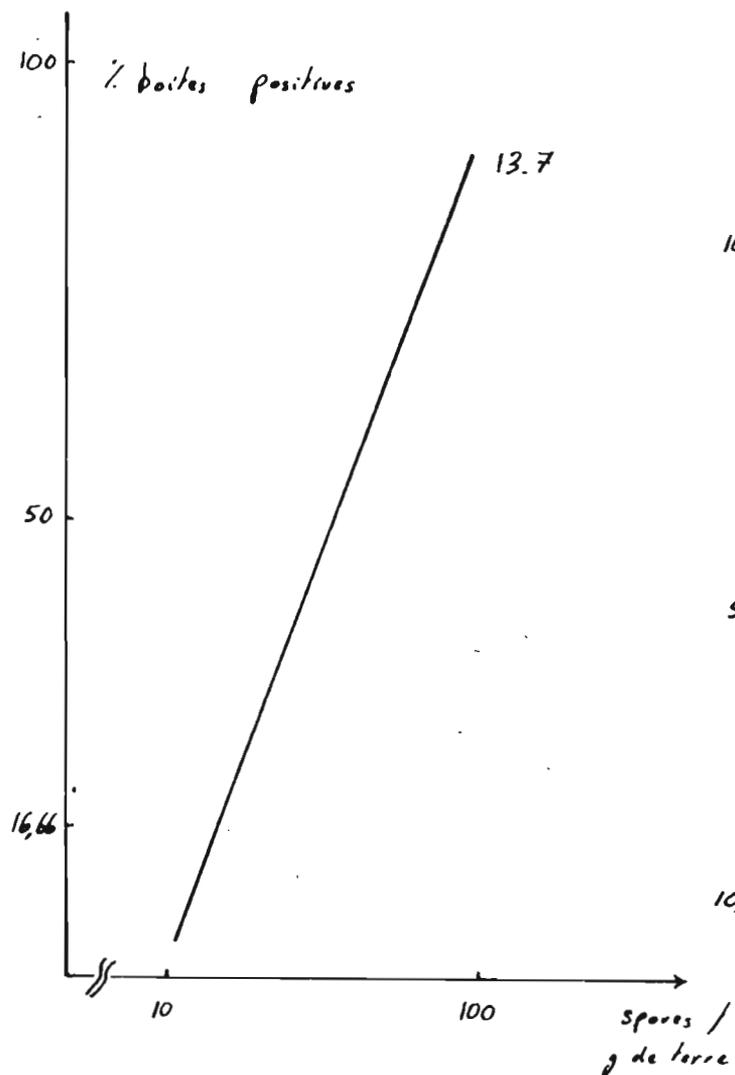
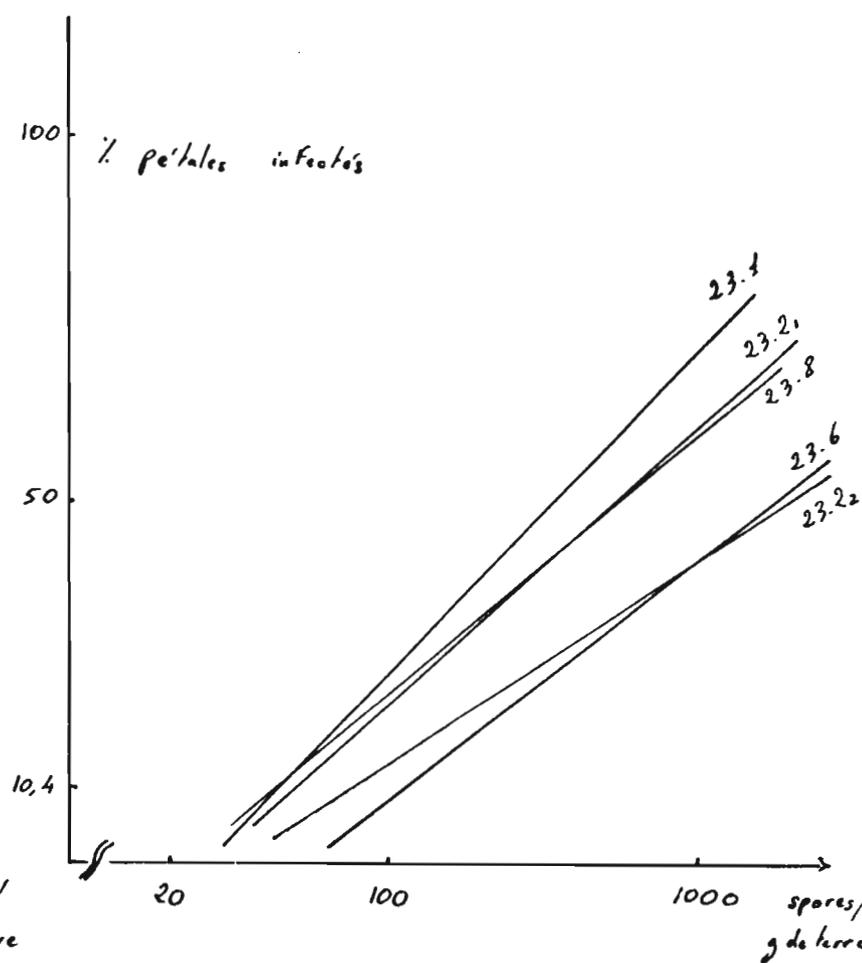
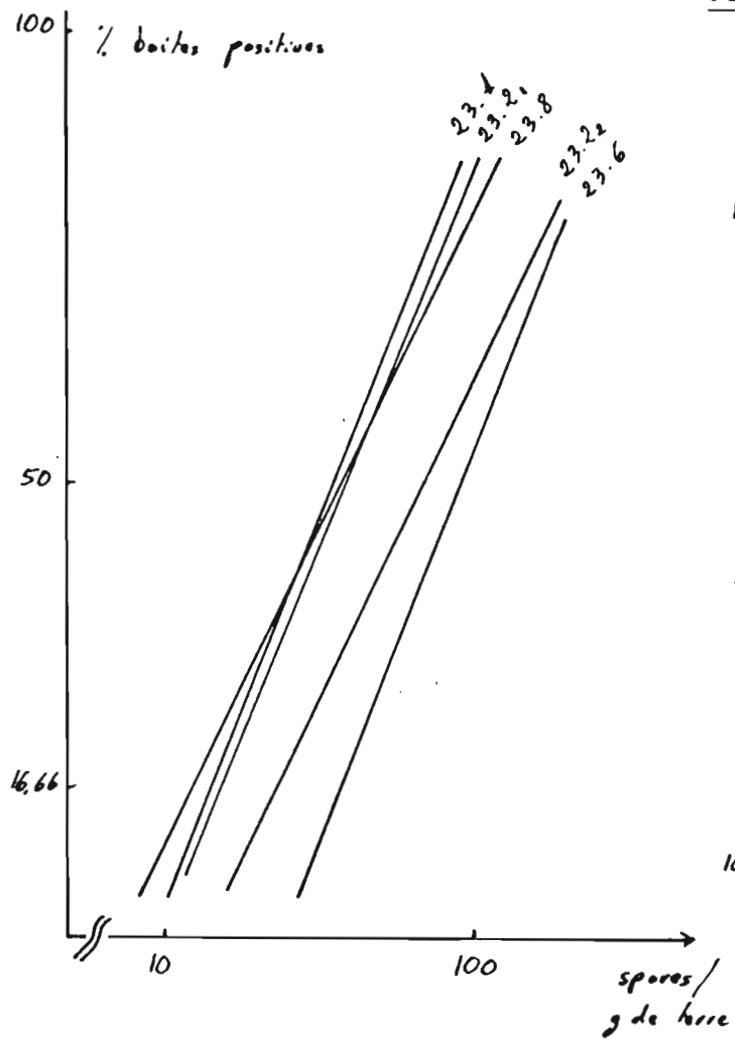


Diagramme 6

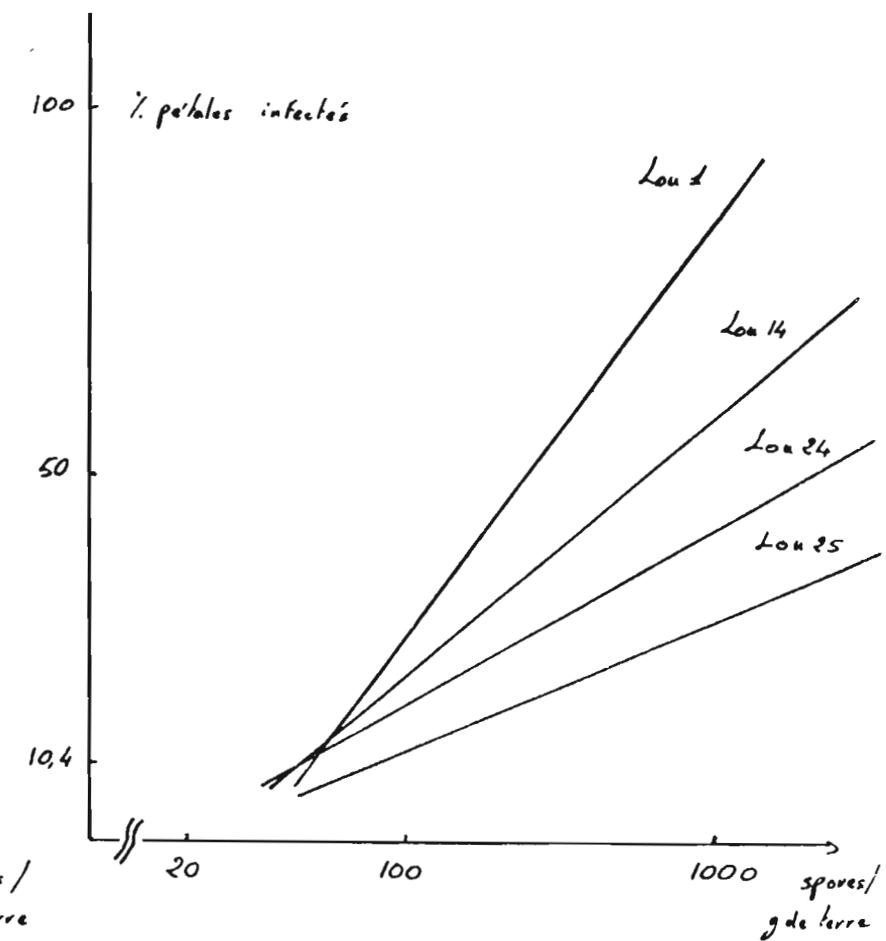
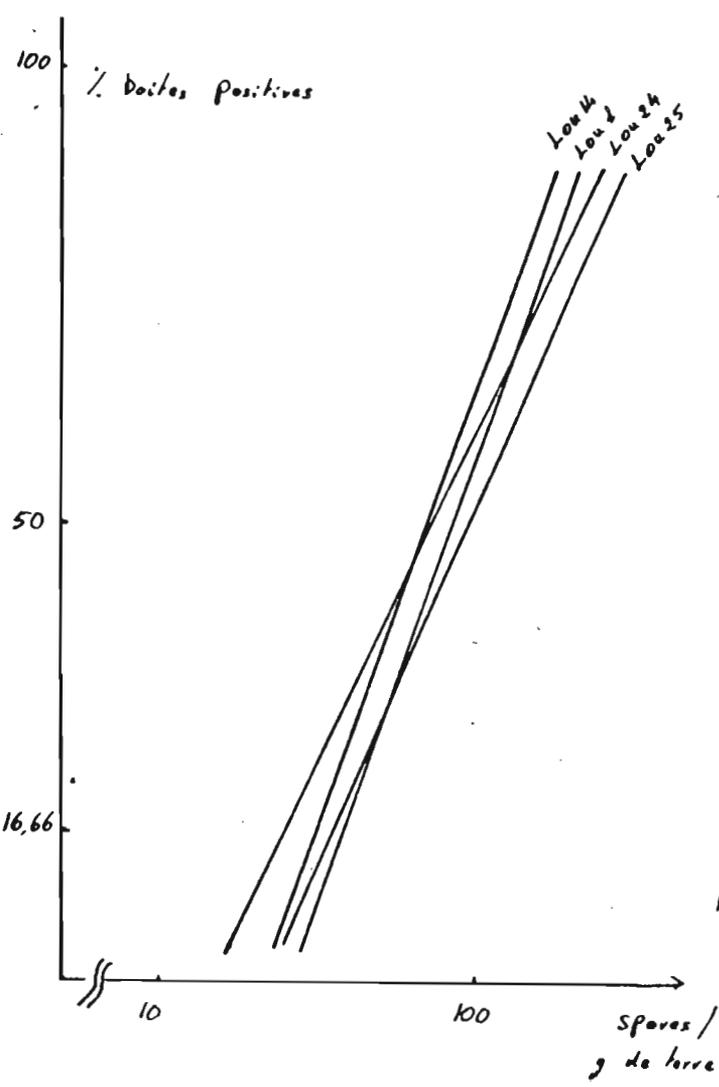
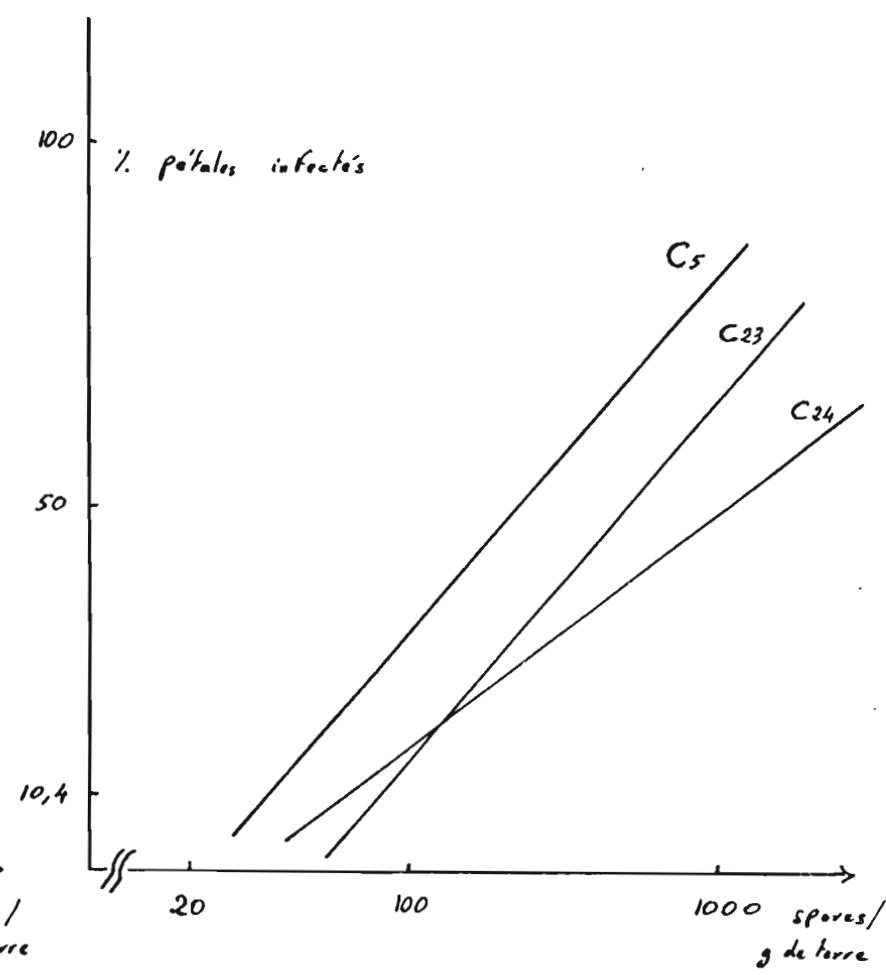
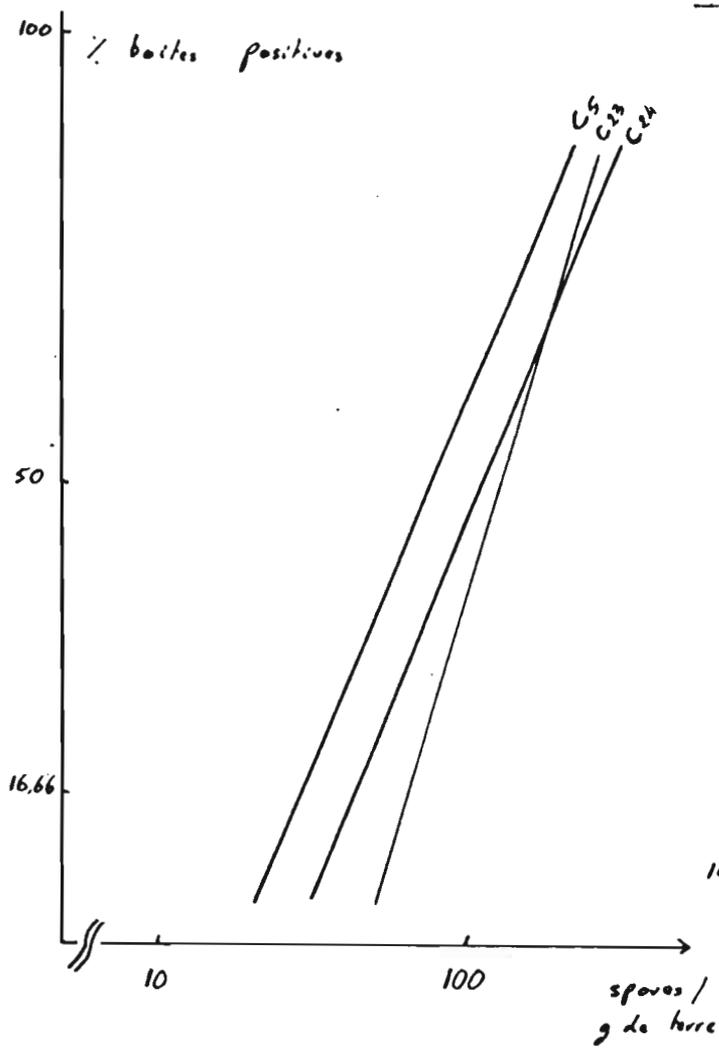


Diagramme 7

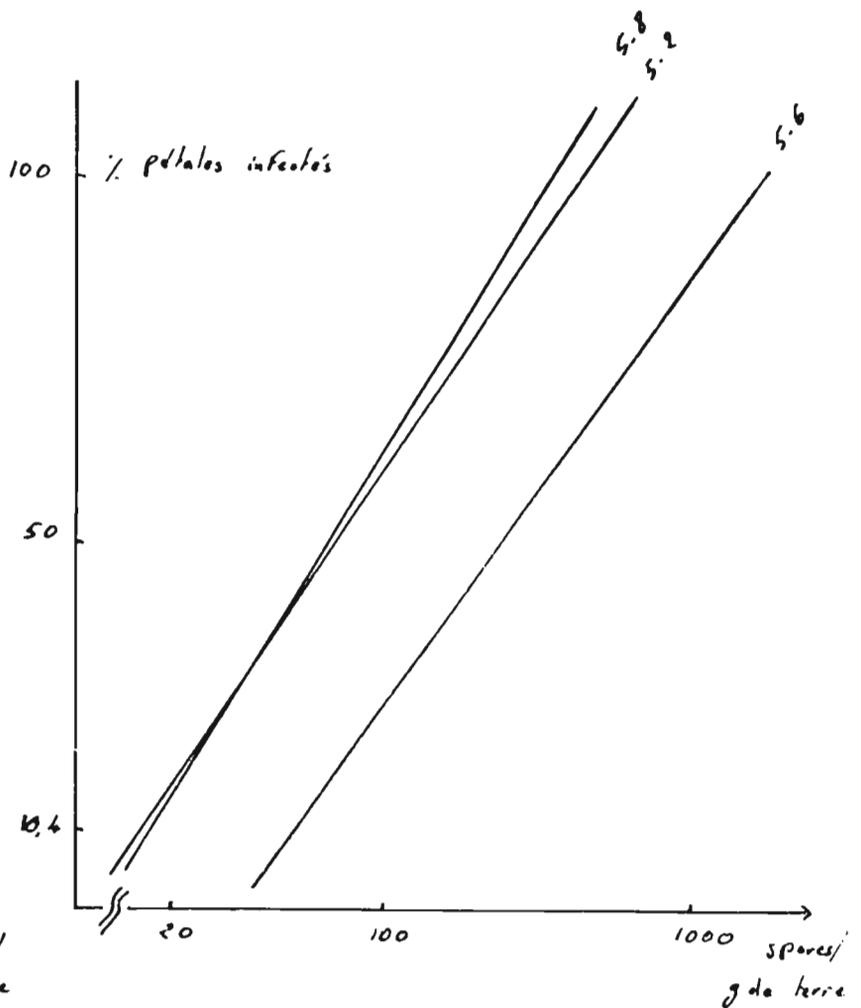
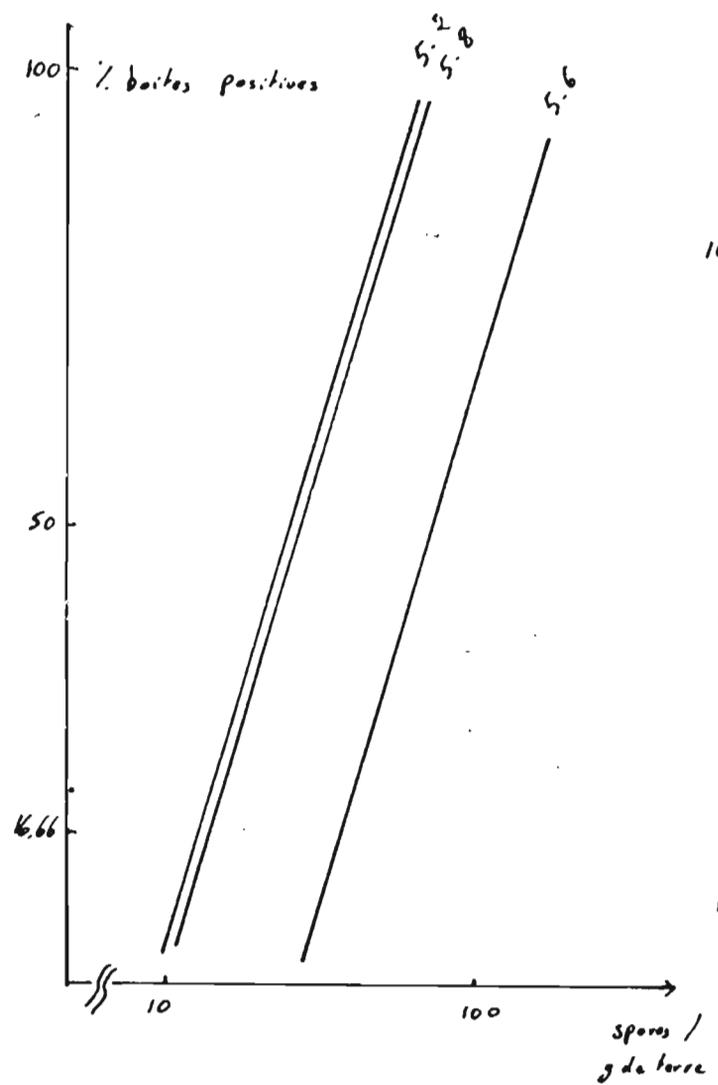
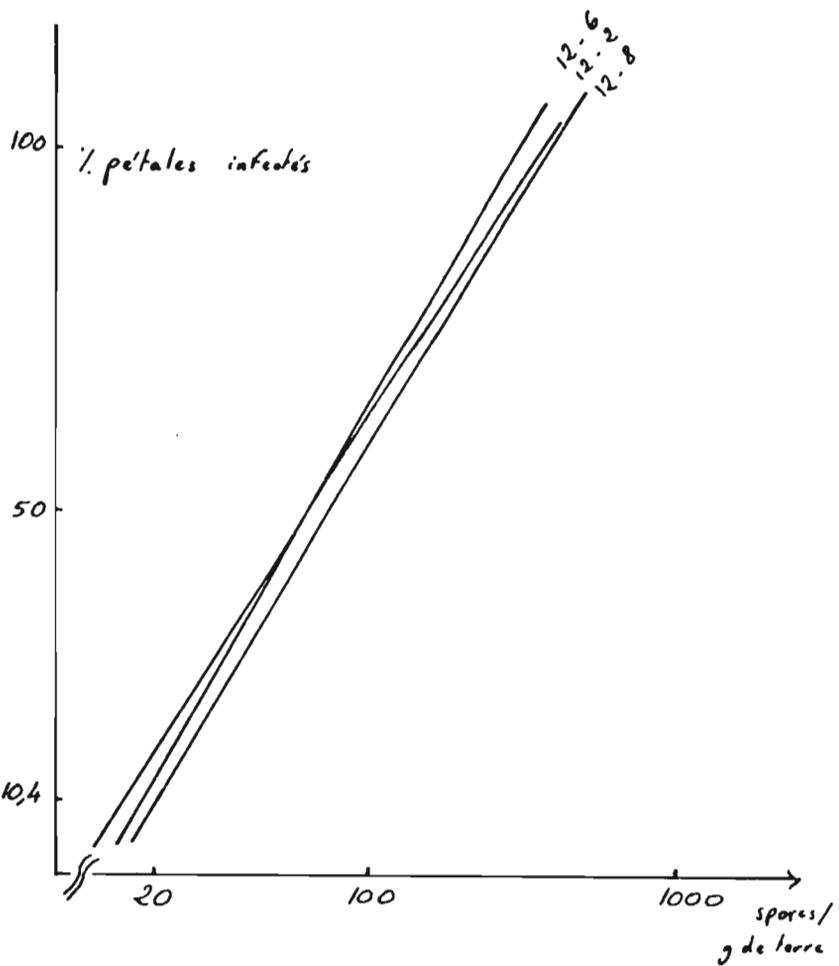
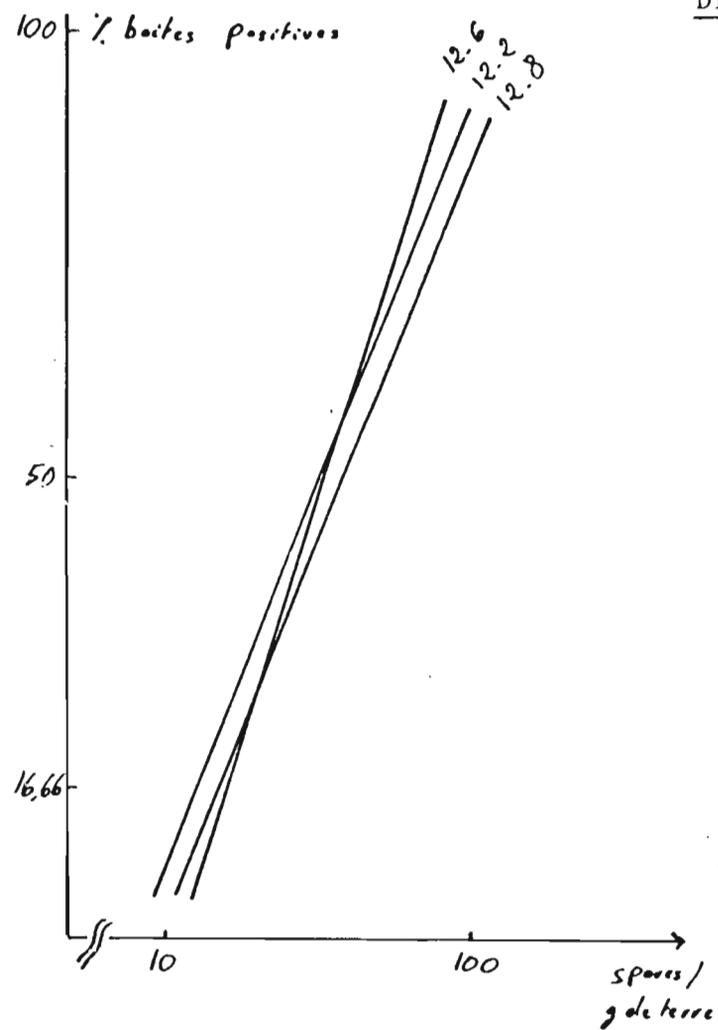


Diagramme 8

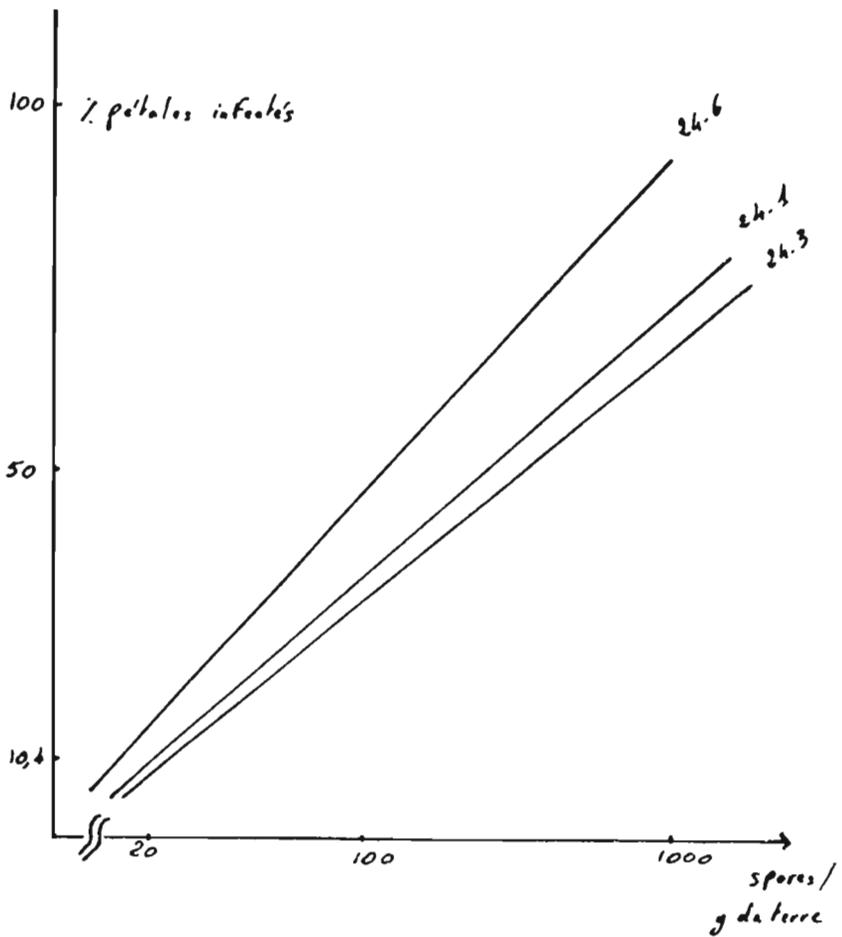
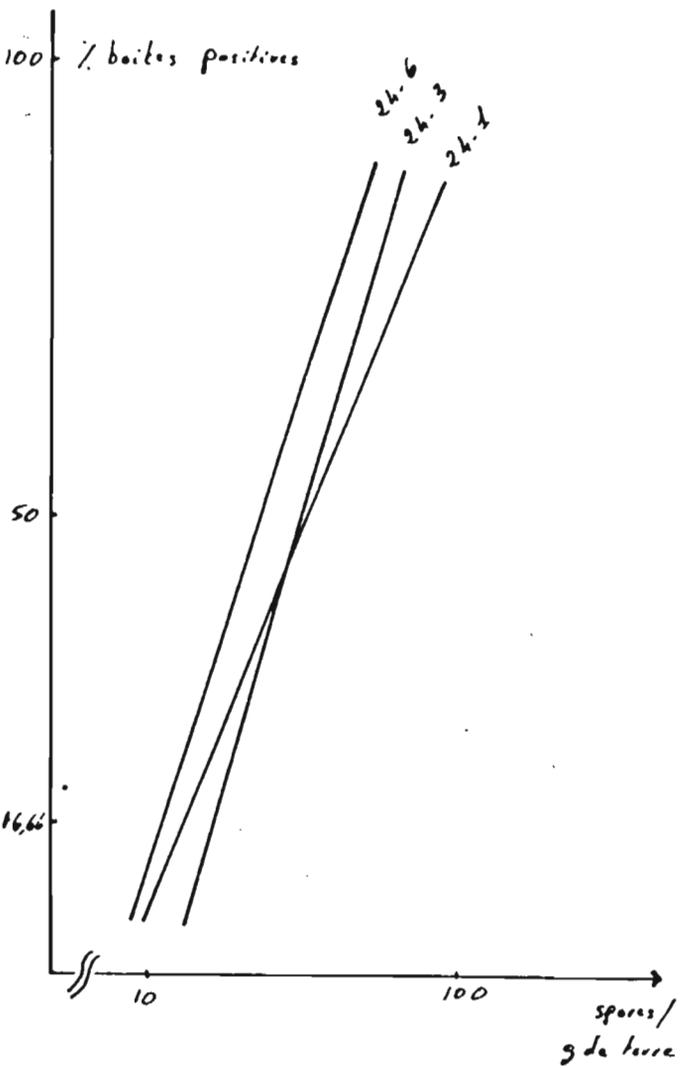
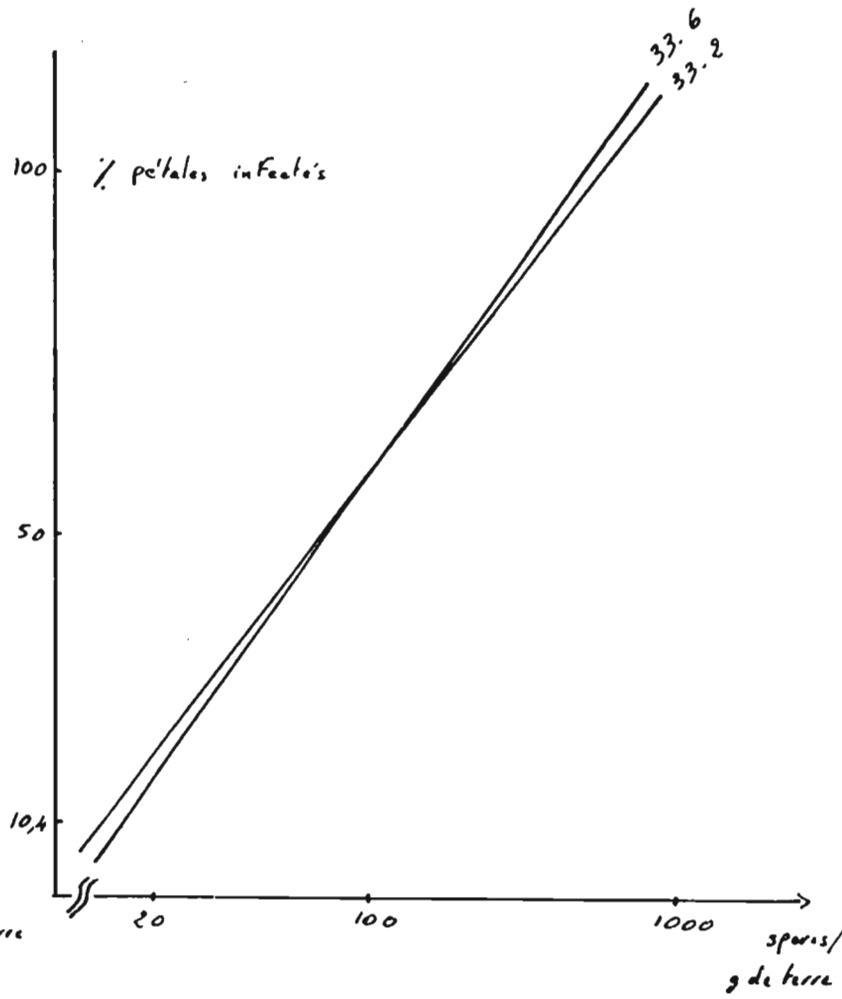
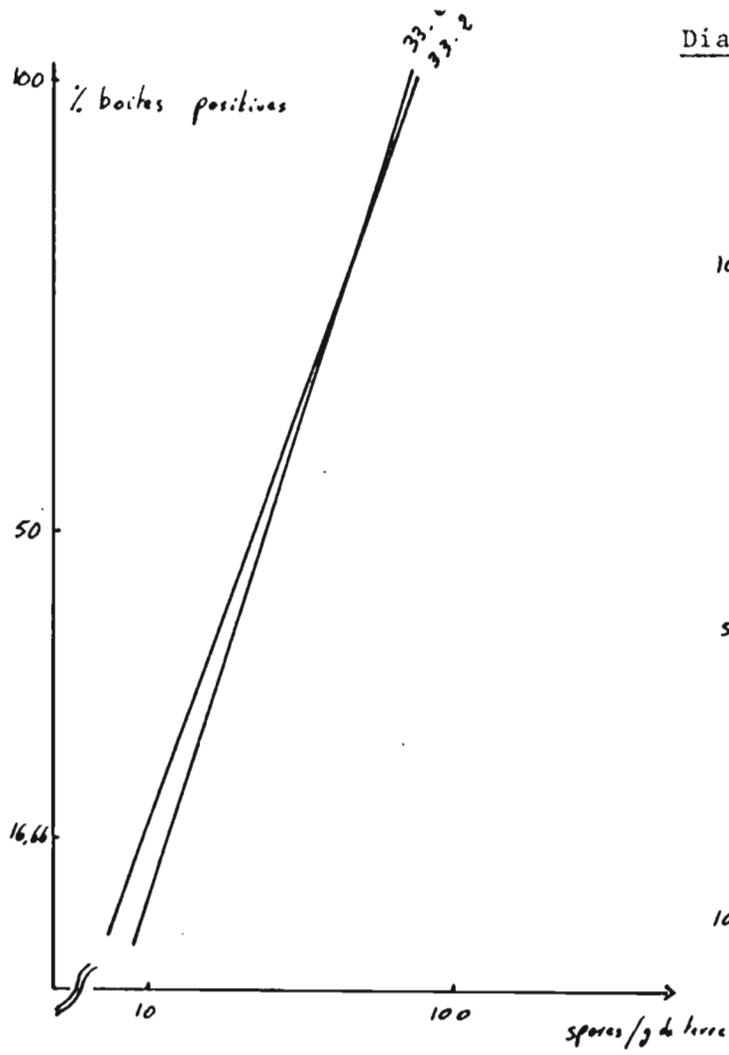


TABLEAU X : Pourcent de chances pour qu'une spore égale une infection.

| Souches | Boîtes | | Pétales | |
|-------------------|--------|------------------|---------|------------------|
| | TC50 | Probabilité en % | TC50 | Probabilité en % |
| 33-2 | 21,4 | 3,2 | 71,6 | 0,97 |
| 33-6 | 23,2 | 2,9 | 73,8 | 0,93 |
| 24-6 | 23,3 | 2,9 | 122,7 | 0,56 |
| 5-2 | 25 | 2,7 | 69 | 1 |
| 5-8 | 26,8 | 2,5 | 65,4 | 1,05 |
| 12-2 | 31,2 | 2,2 | 67,6 | 1,02 |
| 12-6 | 32,6 | 2,1 | 68 | 1,01 |
| 24-3 | 32,8 | 2,1 | 337,7 | 0,2 |
| 24-1 | 33,2 | 2,06 | 261,1 | 0,26 |
| 13-7 | 34 | 2,02 | 195,4 | 0,35 |
| 23-8 | 36,6 | 1,9 | 297,3 | 0,23 |
| 23-1 | 36,8 | 1,9 | 185,8 | 0,37 |
| 23-2 ₁ | 37 | 1,9 | 297,5 | 0,23 |
| 12-8 | 38,2 | 1,8 | 77,4 | 0,89 |
| 23-2 ₂ | 69,4 | 1 | 1058,6 | 0,065 |
| C5 | 73,8 | 0,9 | 226 | 0,31 |
| 5-6 | 73,9 | 0,9 | 246,8 | 0,28 |
| Lou 14 | 75,3 | 0,9 | 605,2 | 0,11 |
| Lou 24 | 77,7 | 0,89 | 2034,6 | 0,034 |
| Lou 1 | 90 | 0,76 | 259,2 | 0,27 |
| 23-6 | 90 | 0,76 | 942,4 | 0,07 |
| Lou 25 | 101 | 0,68 | 12697 | 0,005 |
| C24 | 106,6 | 0,65 | 1060,6 | 0,065 |
| C23 | 124 | 0,55 | 524,6 | 0,13 |

- TC_{2B+} et TC_{10P+} correspondent dans le premier cas à 16,66 % de boîtes positives et dans l'autre cas à 10,4 % de pétales infectés.

- TC_{6B+} et TC_{48P+} donnent le nombre de spores infectieuses par gramme de terre pour 50 % de boîtes positives et 50 % de pétales infectés. Ils seront appelés ultérieurement TC₅₀.

Les TC₅₀ permettent de faire des prévisions d'infections à la suite d'inoculations monospores (BAKER, 1971). La probabilité P pour qu'un hôte soit infecté quand l'inoculum atteint une densité de spore d est :

$$P = 1 - (1-p)^d$$

où p est la probabilité pour que n'importe quelle spore soit infectieuse

$$p = 1 - (1-P)^{1/d}$$

pour une valeur de P correspondant au TC₅₀, l'équation s'écrit :

$$p = 1 - 0,5^{1/d}$$

Pour chaque souche, les TC₅₀ correspondants nous ont permis de calculer le pourcent de chances pour que une spore égale une infection (Tableau X). La faiblesse des résultats obtenus montre qu'en conditions pourtant favorables (addition de facteurs inhibiteurs sélectifs qui favorisent le développement de *Phytophthora* au détriment de la microflore), il ne saurait être question d'avoir potentiellement une infection par spore, avec les souches témoins *P. parasitica* isolées sur la Station fruitière.

Les droites de piègeage et les valeurs du TC₅₀ nous serviront de référence pour étudier les différences entre souches et pour estimer les taux de contamination à partir des piègeages faits sur les terres naturellement infectées.

La technique de piègeage a permis de collecter deux sortes de données :

- Comptage des boîtes positives : chaque boîte correspond à un échantillon de terre, la somme des boîtes positives pour un même prélèvement de terre correspond donc, quand on se réfère à une droite de piègeage, à la quantité d'inoculum dans la terre au moment du prélèvement.

- Comptage des pétales infectés : les conditions expérimentales laissent à l'inoculum de départ (naturel dans le cas d'une terre naturellement contaminée, artificiel dans le cas d'une terre ou on a introduit un inoculum calibré pour l'établissement des droites de piègeage) la possibilité de se multiplier pendant la phase d'incubation de quatre jours. Huit pétales ont été mis en contact avec chaque échantillon de terre, les pétales infectés sont donc l'expression de l'aptitude pour chaque souche à coloniser le milieu pendant la phase d'incubation.

Pour les souches retenues comme témoins (Tableaux V et VII), il nous a semblé bon d'étudier les relations qui unissent le nombre de boîtes positives au nombre de pétales infectés. Nous avons calculé les coefficients de régression entre les boîtes positives et les pétales infectés en dissociant les deux données comme si elles n'avaient aucune liaison entre elles. Les tables de FISHER et YATES montrent que dans le Tableau XI, il existe une relation statistiquement significative pour la plupart des souches (à l'exception de 5-2 et 5-8) entre les comptages de boîtes positives et les comptages de pétales infectés. Pour une même souche, toute augmentation de l'inoculum de départ entraînera une augmentation du nombre de boîtes positives qui sera suivi d'une augmentation corrélative du nombre de pétales infectés et vice-versa.

Cette relation entre les deux modes de comptage sera utilisée plus loin pour analyser, non plus une souche connue et un inoculum de départ facile à faire varier, mais des groupes de souches isolées sur un même point de prélèvement afin de tester l'homogénéité d'une population de *Phytophthora* inféodée à un même écosystème.

C - Séparation des souches témoins en classes différentes

Quatre paramètres caractérisent chaque souche témoin :

- Pente de la droite de régression construite à la suite des comptages de boîtes positives.

- Taux de contamination (TC_{50}) donnant le nombre de spores par gramme de terre nécessaire pour avoir 50 % de boîtes positives.

TABLEAU XI : Degrés de signification des relations liant les comptages
de boîtes positives et les comptages de pétales infectés

| Souches | R | Seuil de Probabilité |
|-------------------|------------|----------------------|
| 12-2 | R = 0,9987 | 1 % |
| 12-6 | R = 0,975 | 5 % |
| 12-8 | R = 0,967 | 1 % |
| 5-2 | R = 0,9435 | < 5 % |
| 5-6 | R = 0,9735 | 5 % |
| 5-8 | R = 0,9346 | < 5 % |
| 23-1 | R = 0,9899 | 1 % |
| 23-2 ₁ | R = 0,9923 | 1 % |
| 23-2 ₂ | R = 9467 | 1 % |
| 23-6 | R = 9912 | 1 % |
| 23-8 | R = 0,9640 | 1 % |
| 24-1 | R = 0,9721 | 1 % |
| 24-3 | R = 0,9993 | 1 % |
| 24-6 | R = 0,990 | 1 % |
| 13-7 | R = 0,9792 | 1 % |
| 33-2 | R = 0,9993 | 1 % |
| 33-6 | R = 0,9962 | 1 % |
| C5 | R = 0,9841 | 1 % |
| Lou 1 | R = 0,9111 | 5 % |
| C23 | R = 0,9918 | 1 % |
| C24 | R = 0,9873 | 1 % |
| Lou 14 | R = 0,9539 | 5 % |
| Lou 24 | R = 0,9757 | 1 % |
| Lou 25 | R = 0,9967 | 1 % |

- Pente de la droite de régression construite à partir des comptages de pétales infectés.

- Taux de contamination donnant le nombre de spores par gramme de terre nécessaire pour avoir 50 % de pétales infectés.

Il est possible de comparer ces paramètres deux à deux (pente/pente et TC_{50}/TC_{50}). Les tableaux de fréquences (Tableau XII) ont été construits en classant les souches par ordre croissant de valeurs des pentes ou des TC_{50} pour les boîtes positives ou les pétales infectés. La séparation en classes différentes a été faite en utilisant le test F bilatéral qui permet de tester d'abord l'homogénéité des variances résiduelles puis de comparer d'une part les pentes et d'autre part les TC_{50} des souches.

- Comparaisons des pentes des droites de régression construites à l'aide des comptages de boîtes positives : ces comparaisons n'ont pas permis de mettre en évidence une différence réellement significative entre les souches. Toutes les terres ont, à peu près, le même effet sur leurs souches respectives. Cela n'a rien de bien surprenant car toutes les souches isolées appartiennent à l'espèce *Phytophthora parasitica* et proviennent vraisemblablement d'un ancêtre commun. Comme il a été dit dans la première partie de ce chapitre, la Station fruitière de Loudima est isolée. Les piègeages, sur la périphérie des vergers, montrent qu'il n'y a pas de contamination extérieure. Il est probable que *Phytophthora* a été apporté sur la plantation par l'introduction accidentelle d'un plant malade puis s'est répandu progressivement sur toute la Station en exploitant ses potentialités de variations. L'environnement relativement stable pour certaines de ses composantes (homogénéité des porte-greffes qui sont tous les Rough Lemon, pratiques culturales peu développées, traitements antifongiques rares et rapidement lessivés par les fortes pluies, microflore tellurique soumise aux seules pressions de la compétition et du climat car aucun amendement n'est jamais pratiqué), limite la pression de sélection vis-à-vis de *Phytophthora* et réduit donc l'éventail de ses variations, ce qui explique les faibles différences observées au niveau des pentes des droites de régression construites à l'aide des comptages de boîtes.

Boites

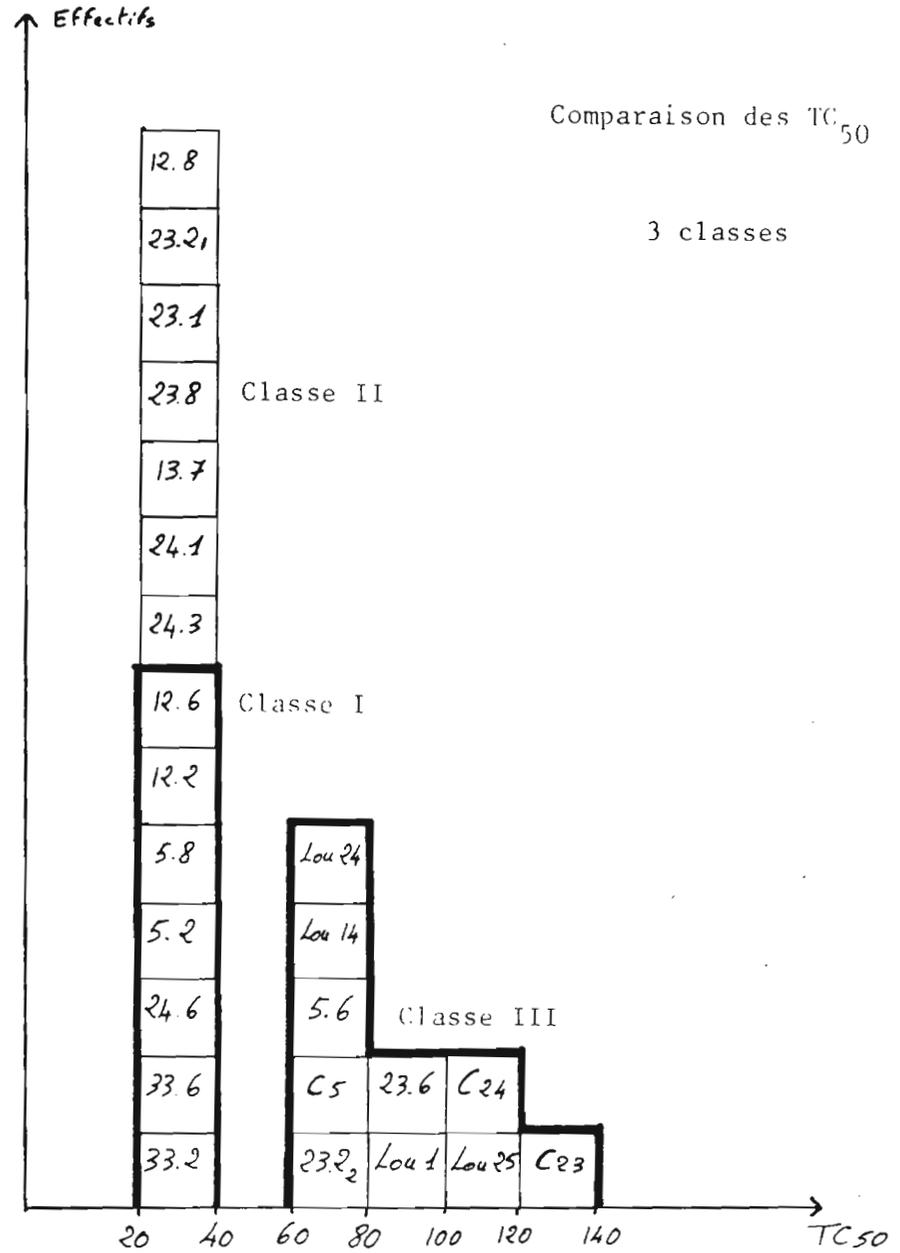
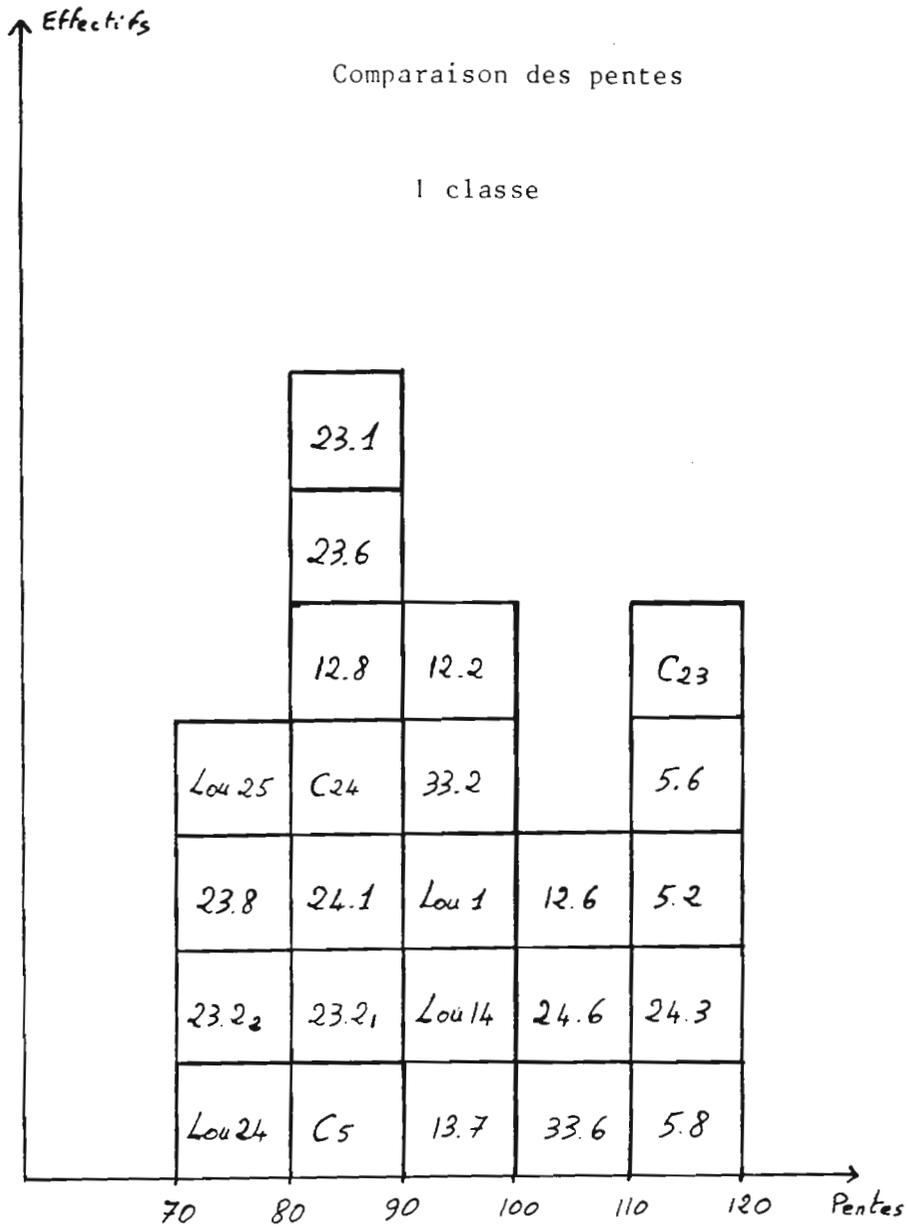
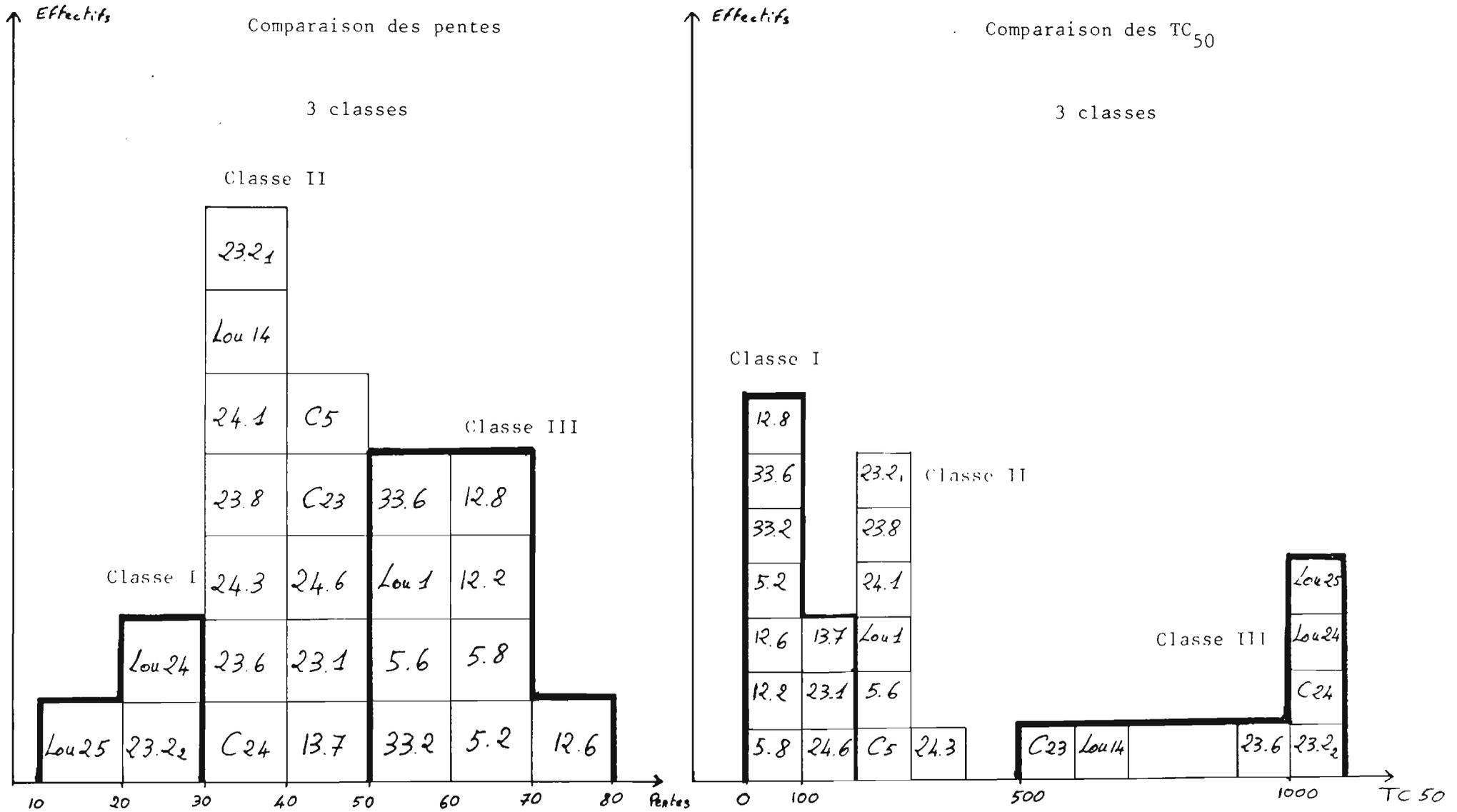


TABLEAU XII : Tableaux de fréquences

Pièges



- Comparaison des TC₅₀ pour les boîtes positives : trois classes ont pu être différenciées :

* 1ère classe : 7 souches isolées à partir de la terre provenant (à l'exception de la souche 24-6) des plantations A et C (voir page 24).

* 2ème classe : 7 souches isolées à partir de la terre provenant (à l'exception de la souche 12-8) des plantations B (page 24).

* 3ème classe : regroupe toutes les souches isolées sur chancres plus trois souches isolées sur terre mais ayant beaucoup de points communs avec les souches "chancres" (agressivité en particulier - voir tableaux V et VII).

En ce qui concerne les deux premières classes, on peut faire un rapprochement entre le comportement des souches et l'analyse des terres sur lesquelles elles ont été piégées. Les terres C et A ont des caractéristiques physico-chimiques très voisines alors que la terre B se distingue des deux autres par son pH, son rapport C/N et sa teneur en matières organiques ; il est probable que la microflore tellurique est assez semblable dans les terres C et A mais qu'elle est différente dans la terre B. Si cette hypothèse est bonne, les microflores des zones A et C affectent moins l'action de l'inoculum de départ que la microflore de la zone B ; les souches "chancres" ou assimilées (3ème classe) sont toutes sensibles aux terres dans lesquelles elles ont été introduites.

- Comparaison des pentes des droites de régression construites à l'aide des comptages de pétalos infectés, Trois classes ont été séparées :

* 1ère classe : constituée de 3 souches ; deux ont été isolées à partir de chancres sur les agrumes de la zone B, la troisième, isolée d'un prélèvement de terre fait sur les plantations B, a des caractéristiques communes avec les souches "chancres" (en particulier l'agressivité).

* 2ème classe : composée de 12 souches dont 4 ont été isolées à partir de chancres sur des agrumes de la zone B, sauf C₅ qui est originaire d'un agrume de la zone A mais cette souche, sur le tableau de fréquences, se situe à la limite de sa classe ; 1 souche, isolée d'un prélèvement de terre fait sur les plantations B possède des caractéristiques communes avec les souches "chancres" enfin 7 souches isolées à partir de terres prélevées sur la zone B.

* 3ème classe : composée de 9 souches dont : 1 souche isolée du chancre d'un agrume de la zone A, 1 souche isolée à partir d'un prélèvement de terre fait sur les plantations A, cette souche possède des caractéristiques communes avec les souches "chancres" ; enfin, 7 souches isolées à partir de terres A ou C.

Les comptages des pétales infectés (sans tenir compte du fait qu'ils proviennent d'une même boîte de Petri ou non) matérialisent l'agressivité des souches et leur aptitude à coloniser le milieu. Les différences significatives des pentes des droites de piègeage, sont dues soit à des sols différents, soit à des souches différentes, soit à la combinaison de ces deux facteurs. Dans notre cas, nous nous trouvons en présence d'une combinaison des deux facteurs ; le facteur "terre" a déjà été partiellement défini et nous avons émis l'hypothèse de microflore différentes ; les caractéristiques spécifiques de chaque souche doivent également intervenir car ces souches ont une provenance (chancres ou terres) et une agressivité différentes.

Pris séparément, aucun de ces facteurs n'est assez puissant pour induire une différence significative (cf. pentes des droites de régression construites à partir des comptages de boîtes positives) mais leur association donne un effet statistiquement perceptible.

- Comparaison des TC_{50} pour les pétales infectés ; 3 classes ont été différenciées :

* 1ère classe : composée de 10 souches, toutes isolées à partir de la terre ; 7 proviennent de piègeages sur des terres A et C, les trois autres ont été piégées sur des terres B.

* 2ème classe : composée de 7 souches réparties de la façon suivante 2 souches ont été isolées à partir de chancres d'agrumes appartenant aux vergers de la zone A, 1 souche a été piégée dans la terre A et possède des caractéristiques communes avec les souches "chancres" les quatre autres souches ont été piégées dans la terre B.

* 3ème classe : 7 souches dont 5 ont été isolées à partir de chancres d'agrumes provenant des vergers de la zone B les deux autres sont des souches piégées dans des terres B mais possèdent des caractéristiques communes avec les souches "chancres".

A première vue, les classes sont assez hétérogènes à l'exception de la 3ème. Toutefois, si on s'en tient au classement par ordre croissant des TC₅₀, on constate que la hiérarchie est maintenue. Les souches isolées à partir des piègeages sur terres A et C sont moins affectées dans leurs processus de colonisation par leurs terres respectives alors que les souches piégées à partir des terres B le sont plus. Les souches isolées à partir de chancres ou les souches isolées à partir de la terre, mais possédant des caractéristiques communes avec les souches "chancres", sont les plus affectées dans leurs pouvoirs colonisateurs par les terres dans lesquelles elles ont été introduites.

Le classement des TC₅₀, aussi bien ceux obtenus par les comptages des boîtes positives que ceux provenant des comptages de pétales infectés, peut être comparé avec les tests d'agressivité qui ont été faits sur les souches témoins (Tableaux V et VII). Nous avons vu que les boîtes positives mesurent l'effet d'une terre sur un inoculum initial alors que les pétales infectés mesurent eux, l'aptitude pour une souche à coloniser cette terre. Les souches isolées sur chancres ainsi que les souches isolées à partir de la terre, mais possédant des caractéristiques communes avec les souches chancres (l'agressivité en particulier), appartiennent aux classes les plus affectées par leur environnement ; elles ont toutes, par contre, un niveau d'agressivité nettement supérieur aux souches "terre". Il semble qu'il y ait une relation inversement proportionnelle entre l'agressivité et l'aptitude à la vie saprophytique prise au sens large du terme. L'effet terre intervient à deux niveaux : - d'une part sur l'inoculum de départ (comptages de boîtes positives), il faut de 60 à 140 spores par gramme de terre pour avoir 50 % de boîtes positives avec les souches "chancre" ou assimilées, alors que 20 à 40 suffisent pour les souches "terre" ; - d'autre part il faut 200 à 1.100 spores pour avoir 50 % de pétales infectés avec les souches "chancre" ou assimilées, il en faut 60 à 300 pour les souches "terre", donc l'aptitude moyenne à coloniser le milieu est moins bonne chez les souches "chancre" que chez les souches "terre".

IV - ETUDE DE LA REPARTITION DES *PHYTOPHTHORA PARASITICA* SUR LES VERGERS D'AGRUMES

A - Analyse des piègeages en fonction du lieu de prélèvement

Nous venons de voir que "l'effet terre" permet de distinguer les souches provenant des chancres de celles isolées de la terre. Nous avons

également vu précédemment (page 37) qu'il existe une relation statistiquement significative, pour la plupart des souches, entre les comptages de boîtes positives et les comptages de pétales infectés quand on fait varier la quantité d'inoculum d'une souche dans sa terre d'origine. Ces deux constatations nous ont permis d'analyser les groupes de souches isolées, à des moments différents, sur un même point de prélèvement et de contrôler l'homogénéité d'une population de *Phytophthora* inféodée à un même écosystème.

"L'effet terre" n'est pas le même pour des souches très agressives que pour des souches peu agressives. Le calcul des coefficients de régression entre tous les comptages confondus de boîtes positives et de pétales infectés, pour les souches isolées de terres prélevées en un même lieu, doit permettre la mise en évidence de souches différentes. En effet, la relation entre les boîtes positives et les pétales infectés ne sera pas constante ce qui va rendre le coefficient de régression non significatif. En procédant par élimination, il est alors facile de détecter le(s) piègeage(s) anormal(aux) et en fonction du rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives, on peut attribuer un effet dominant aux souches "chancre" ou aux souches "terre".

Seuls les groupes de prélèvements (Tableau XIII) ayant donné 3 piègeages positifs ou plus ont été analysés de cette façon. On ne peut pas calculer un coefficient de régression sur deux points puisque par deux points passe forcément une droite, R est alors égal à 1 ; on ne peut pas non plus faire de calculs sur un point puisque par un point passe une infinité de droites et R devient indéfini.

Groupe 1 : $R = 0,692$ non significatif. L'élimination d'un ou plusieurs piègeages ne rend pas R significatif. Cette hétérogénéité de la population de *Phytophthora* n'est qu'apparente en effet, ce sont les piègeages 1-3 et 1-4 qui perturbent le coefficient de régression, ces piègeages ont été faits sur de la terre prélevée en saison sèche. Le rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives montre que pour les piègeages 1-1, 1-5 et 1-6, il s'agit de souches "terre" (rapports respectivement de : 3, 4,5, 4), ces mêmes rapports tombent à 1,5 et 1 pour les piègeages 1-3 et 1-4 mais nous verrons plus loin (page 52) que la souche 1-4 est bien une souche "terre". Le faible développement de cette souche doit être attribué aux conditions de milieu au moment du prélèvement, l'inoculum se trouve probablement dans un état de dormance.

Groupe_5 : $R = 0,908$ non significatif ; l'élimination du piègeage 5-6 rend R significatif. Pour le piègeage 5-6, le rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives est égal à 1 ; le même rapport pour les autres piègeages du même groupe est égal ou voisin de 2, on se trouve donc bien en présence d'une souche "chancre". Le prélèvement 5-6 a été fait à la suite de fortes pluies, le lessivage de l'arbre malade voisin peut expliquer la présence de souches "chancre" dans la terre mais cette présence n'est que temporaire puisqu'on ne la retrouve pas lors des piègeages antérieurs ou postérieurs.

Groupe_7 : $R = 0,983$ significatif. Le coefficient de régression significatif montre que l'on se trouve devant une population homogène de *Phytophthora*. L'apport de souches "chancre" en provenance de l'arbre malade voisin ne doit être qu'épisodique et échappé à nos investigations. La chute quantitative, du nombre de boîtes positives et du nombre de pétales infectés des piègeages 7-3 et 7-4 s'explique par le fait que les prélèvements de terres correspondants ont été faits pendant la saison sèche. Comme il a déjà été dit (p. 32), la saison sèche correspond à une période où *Phytophthora* semble disparaître du sol mais comme on le retrouve dès les premières pluies (piègeage 7-6) et qu'il n'y a pas d'apports extérieurs, il faut envisager une phase de dormance qui explique le faible taux de contamination.

Groupe_12 : $R = 0,980$ significatif. La population de *Phytophthora* est homogène. Il n'y a pas d'arbres malades à proximité du lieu de prélèvement ; celui-ci se trouve en outre géographiquement situé (voir plan) en amont d'une parcelle infectée ce qui rend impossible le transport des propagules infectieuses, en provenance d'arbres malades, par les eaux de ruissellement. Le rapport pétales infectés/boîtes positives varie de 2 à 3,5, il s'agit donc de souches "terre" car elles possèdent un certain pouvoir colonisateur et une faible agressivité (tableau V).

Groupe_18 : $R = 0,801$ non significatif. Si on élimine le piègeage 18-6, R devient significatif. Le rapport du nombre de pétales infectés/le nombre de boîtes positives est de 2,5 à 3 pour les piègeages 18-1, 18-2, 18-7, 18-8. Ce rapport tombe à 1,33 pour le piègeage 18-6, il est probable qu'une (ou plusieurs) souche(s) "chancre" se trouve(nt) dans la population de *Phytophthora* présente dans la terre à ce moment là et vient(nent) perturber le rapport pétales infectés/boîtes positives. Le piègeage 18-6 a été fait sur un prélèvement de terre effectué au voisinage d'un arbre porteur d'un chancre en activité ; après de fortes pluies, un apport de propagules infectieuses est donc possible.

Groupe 19 : $R = 0,950$ significatif, la population de *Phytophthora* est donc homogène malgré le voisinage immédiat d'un chancre en activité (ces prélèvements ont été faits au pied d'un arbre malade).

Groupe 23 : $R = 0,841$ non significatif. L'élimination du piègeage 23-6 rend le coefficient de régression significatif. Le rapport pétales infectés/boîtes positives varie entre 2,66 et 3,5 pour les piègeages 23-1, 23-3, 23-7 et 23-8; il tombe à 1,66 pour le piègeage 23-6, une (ou plusieurs) souche(s) "chancre" se trouve(nt) donc mélangée(s) à la population de *Phytophthora* présente dans la terre à ce moment là. La proximité d'un arbre malade et les fortes pluies ayant précédé le prélèvement 23-6 peuvent ici aussi expliquer la présence de souche(s) "chancre".

Groupe 24 : $R = 0,975$ significatif. La population de *Phytophthora* est homogène. Les prélèvements de terre ont été faits au pied d'un arbre porteur d'un chancre en activité, l'apport de propagules infectieuses à échappé à nos investigations, il ne doit donc être qu'épisodique. Nous avons vu que les propagules des souches "chancre" ne possèdent qu'un faible pouvoir saprophyte, elles doivent donc disparaître rapidement et n'influer que faiblement sur les piègeages ce qui explique qu'elles passent inaperçues.

Groupe 25 : $R = 0,645$ non significatif. Si on élimine le piègeage 25-6, R devient significatif. Ce point de prélèvement n'est pas associé à un arbre malade et le sens de la pente ne peut expliquer l'apport de propagules d'un autre arbre malade. Le rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives montre pourtant qu'il s'agit d'une perturbation de piègeage due à une souche "chancre". Le prélèvement 25-6 a été fait à la suite de travaux d'entretien sur cette partie de verger, le passage des "engins" agricoles a pu servir de facteur de dissémination des propagules chancre.

Groupe 30 : $R = 0,945$ non significatif. Ce groupe se compose de 3 piègeages positifs, il n'est donc pas possible d'éliminer un des piègeages puisqu'il ne resterait que 2 points par lesquels passe forcément une droite. Le rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives donne 3 pour le piègeage 30-3, 3,3 pour le piègeage 30-8 et seulement 1,75 pour le piègeage 30-7, il s'agit donc pour le piègeage 30-7 d'une ou plusieurs souches "chancre" qui viennent perturber la relation entre pétales infectés et boîtes positives par leur mauvaise aptitude à coloniser le milieu

Cette parcelle de la zone C est très contaminée, tous les arbres sont morts ou mourants et les racines malades doivent participer à l'ensemencement épisodique du sol par des souches "chancre".

Groupe 33 : $R = 0,980$ significatif. On ne relève pas la présence de souches "chancre" parmi les 4 piègeages positifs. La portion de parcelle où ont été faits les prélèvements 33 n'a plus d'arbres vivants ; le sol ne contient plus que des souches ayant une bonne aptitude à la vie saprophytique.

Les coefficients de régression ont également été calculés pour les gradients de prélèvements des groupes 7, 12, 19 et 33. Tous les coefficients sont significatifs à l'exception des piègeages 7-4 et 12-8. Pour le piègeage 7-4, fait sur de la terre prélevée en saison sèche, nous avons vu qu'il devait y avoir une phase de dormance des propagules infectieuses. L'examen des piègeages faits sur des terres prélevées au même moment, montre que nous n'avons pu isoler *Phytophthora* que quatre fois et que le rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives n'est jamais supérieur à 2; c'est une indication supplémentaire tendant à rendre plausible une phase de dormance. Le gradient 12-8 a un coefficient de régression non significatif ; l'étude des rapports entre les nombres de pétales infectés et les nombres de boîtes positives montre qu'il s'agit d'un effet dominant dû aux souches "terre" puisque ces rapports s'échelonnent de 3,5 à 2. La perturbation du coefficient de régression est plutôt dû à un excès de colonisation du milieu (rapport = 3,5) plutôt qu'à un défaut de colonisation comme il s'en présente avec les souches "chancre".

L'étude qui précède montre que lors des piègeages, nous n'avons pu mettre en évidence que rarement la présence de souches ayant des caractéristiques des souches "chancre" (piègeages 5-6, 18-6, 23-6, 25-6, 30-7). Cette présence est liée la plupart du temps à la proximité d'un chancre en activité et à de fortes pluies ayant précédé le prélèvement. Il s'agit en outre d'évènements ponctuels puisque ces souches ne sont pas détectées lors des piègeages antérieurs ou postérieurs. Ces différents éléments viennent confirmer les résultats obtenus précédemment (p. 41) qui tendent à démontrer que les souches "chancre" sont beaucoup plus influencées que les souches "terre" par l'environnement tellurique.

B - Taux de contamination naturels des vergers

Le calcul des taux de contamination des sols se fait à partir du nombre de boîtes positives et du nombre de pétales infectés obtenus après piégeages sur les terres prélevées au champ, selon la technique décrite en page 26. Les droites de piégeages servent de référence pour avoir le nombre de spores infectieuses par gramme de terre dans les différents prélèvements et sont choisies en fonction de plusieurs facteurs :

- géographiques : un piégeage dans de la terre prélevée sur la zone A donnera le nombre de spores par gramme de terre à l'aide d'une droite de piégeage établie avec une souche "terre" originaire des parcelles A (voir p. 24 et plan).

- climatiques : un piégeage fait après une pluie donnera le nombre de spores par gramme de terre à l'aide d'une droite de piégeage faite avec une souche et un sol récoltés après une pluie.

- statistiques : l'analyse précédente a montré que certains piégeages perturbaient le coefficient de régression boîtes/pièges des groupes de piégeages auxquels ils appartiennent ; cette perturbation a été attribuée à la présence de souches "chancre". De tels piégeages donnent le nombre de spores par gramme de terre grâce à des droites de piégeage établies avec une souche "chancre" provenant du même endroit. L'assimilation de toutes les souches récoltées, lors de ces piégeages, à une souche "chancre" entraîne forcément une erreur, mais celle-ci est faite par excès ce qui est supportable

Les boîtes positives et pétales infectés obtenus après piégeages sur les terres prélevées au champ (Tableau V) ont permis de trouver le taux de contamination des vergers d'agrumes sous la forme de nombres de spores par gramme de terre (Tableau XIII). Il existe une bonne correspondance entre les taux de contamination obtenus à partir des boîtes positives et ceux obtenus à partir des pétales infectés, cela n'a rien de surprenant puisque nous avons vu plus haut (p. 37) que la relation qui unit les deux modes de comptage était constante pour une souche sur une même terre.

La population de *Phytophthora* inféodée aux vergers d'agrumes de la Station fruitière est composée de deux types de souches ; d'une part les souches "chancre" ou "terre" ayant des caractéristiques communes avec les

TABLEAU XIII : Taux de contamination des vergers
(nombre de spores par gramme de terre)

| Piégeages | Courbe étalon utilisée | Taux de contamination Boîtes | | Taux de contamination Pièges | |
|-----------|------------------------|------------------------------|----------------|------------------------------|--------------|
| 1-1 | 5-2 | 12,7 sp/g de terre | | 13,7 | |
| 1-3 | 5-2 | 10,8 | | 11,8 | |
| 1-4 | 5-2 | 10,8 | | 11,2 | |
| 1-5 | 5-2 | 12,7 | | 15,2 | |
| 1-6 | 5-8 | 13,4 | | 16 | |
| 4-2 | 5-2 | 12,7 | | 13,7 | |
| 4-6 | 5-8 | 11,8 | | 13,5 | |
| 5-2 | 5-2 | 12,7 | | 12,5 | |
| 5-6 | 5-6 | 44,5 | | 36,5 | |
| 5-7 | 5-8 | 16,5 | | 15,1 | |
| 5-8 | 5-8 | 23 | | 16,2 | |
| 7-1 | 12-2 | 31,2 | | 28,8 | |
| 7-2 | 12-2 | 16 20 13,8 | 0 0 | 17,3 16 13,5 | 0 0 |
| 7-3 | 12-2 | 10,5 0 0 | 10,5 0 0 | 13,7 0 0 | 12,2 0 |
| 7-4 | 12-2 | 10,5 0 0 | 0 0 | 12,2 0 0 | 0 0 |
| 7-6 | 12-6 | 28 28 16 | 19 16 | 22,5 20,5 17,5 | 18 16,2 |
| 7-7 | 12-6 | 32,6 16 28 | 16 16 | 25,5 15 20,5 | 17,5 16,2 |
| 7-8 | 12-8 | 59,8 19,55 30,6 | 12,5 0 | 39,9 20,6 24,5 | 16,1 0 |
| 9-6 | 12-6 | 23 | | 18,6 | |
| 10-1 | 12-2 | 10,5 | | 12,8 | |
| 10-6 | 12-6 | 16 | | 16,8 | |

| | | | | | |
|------|-------------------|----------------------|--------------|----------------------|--------------|
| 12-2 | 12-2 | 13,8 10,5 16 | 13,8 13,8 | 14,5 12,8 15,7 | 13,5 14 |
| 12-3 | 12-2 | 10,5 0 | 0 0 | 12,2 0 | 0 0 |
| 12-6 | 12-6 | 13,5 13,5 16 | 13,5 0 | 14,8 15 15,8 | 14,8 0 |
| 12-7 | 12-6 | 16 19 19 | 13,5 16 | 16,8 16,8 18 | 14,8 16,2 |
| 12-8 | 12-8 | 15,6 15,6 15,6 | 12 15,6 | 19,5 18 18 | 16,2 17,5 |
| 13-7 | 13-7 | 12 | | 14 | |
| 13-8 | 13-7 | 14,7 | | 14 | |
| 18-1 | 23-1 | 15,5 | | 18,5 | |
| 18-2 | 23-2 ₁ | 11,8 | | 17 | |
| 18-6 | 23-6 | 41,2 | | 38 | |
| 18-7 | 23-8 | 21,5 | | 23,4 | |
| 18-8 | 23-8 | 16,5 | | 19,2 | |
| 19-2 | 23-2 ₁ | 14,7 11,8 14,7 | 0 0 | 18 16 17 | 0 0 |
| 19-6 | 23-8 | 16,5 16,5 12,6 | 9,8 9,8 | 19,2 16 14 | 13 12,2 |
| 19-7 | 23-8 | 21,5 16,5 0 | 9,8 9,8 | 18,5 17 0 | 14 13 |
| 19-8 | 23-8 | 28 28 16,5 | 12,6 0 | 23,5 18,5 16 | 14 0 |
| 23-1 | 23-1 | 12,7 | | 15,7 | |
| 23-3 | 23-2 ₁ | 14,7 | | 21,9 | |
| 23-6 | 23-6 | 16,5 | | 40,9 | |
| 23-7 | 23-8 | 16,5 | | 17 | |

| | | | | | |
|------|------|-------------------|--------------|--------------------|--------------|
| 23-8 | 23-8 | 21,5 | | 26 | |
| 24-1 | 24-1 | 16,5 | | 19 | |
| 24-2 | 24-1 | 16,5 | | 17,8 | |
| 24-3 | 24-3 | 16,4 | | 16,9 | |
| 24-4 | 24-3 | 14 | | 14 | |
| 24-5 | 24-3 | 19,5 | | 23 | |
| 24-6 | 24-6 | 19 | | 19 | |
| 24-8 | 24-6 | 16 | | 16,5 | |
| 25-1 | 24-1 | 13,2 | | 15,6 | |
| 25-2 | 24-1 | 10,5 | | 13,7 | |
| 25-5 | 24-3 | 14 | | 15 | |
| 25-6 | 23-6 | 37,8 | | 23,35 | |
| 25-7 | 24-6 | 11,2 | | 13,4 | |
| 30-2 | 33-2 | 17,5 | | 17 | |
| 30-7 | 33-6 | 16 | | 14 | |
| 30-8 | 33-6 | 28 | | 27 | |
| 31-7 | 33-6 | 11,2 | | 13 | |
| 33-2 | 33-2 | 9,5 9,5 9,5 | 7,8 0 | 11 11 10,5 | 9,5 0 |
| 33-4 | 33-2 | 7,8 0 0 | 0 0 | 9,5 0 0 | 0 0 |
| 33-6 | 33-6 | 16 14 14 | 11,2 9,5 | 18 15,5 15,8 | 13,8 11,5 |
| 33-7 | 33-6 | 16 23,2 14 | 11,2 11,2 | 20,5 22 14,2 | 13 13,8 |
| 34-3 | 33-2 | 7,8 | | 9,2 | |
| 34-7 | 33-6 | 11,2 | | 14,8 | |

souches "chancre", ces souches ont un niveau d'agressivité relativement important (Tableaux V et VII) mais une aptitude à la vie saprophytique faible ; d'autre part des souches "terre" ayant un niveau d'agressivité faible et une bonne aptitude à la vie saprophytique. La technique de piègeage utilisée, permet de mesurer l'aptitude à la vie saprophytique mais dépend principalement du niveau d'agressivité des souches puisque l'intermédiaire obligatoire est un piège végétal qui ne peut être contaminé que par des souches possédant un certain niveau d'agressivité. Dans ces conditions, le pouvoir de résolution (ou sensibilité) d'un piègeage dépend essentiellement des souches présentes, il sera mauvais avec des souches "terre" et meilleur avec des souches "chancre" ou "terre" assimilées. Les résultats obtenus montrent que dans la majorité des cas, les piègeages ont été faits sur des terres possédant un taux de contamination à la limite du pouvoir de résolution de la technique ce qui explique que tous les piègeages faits sur les prélèvements de terre qui proviennent d'un même lieu n'ont pas permis d'isoler *Phytophthora*.

Par exemple : Prenons le groupe de piègeage 1 : 8 prélèvements ont été faits, le piègeage 1-1 a donné un taux de contamination de 12,7 spores par gramme de terre, si on ne tient compte que des boîtes positives. Le piègeage 1-2 ne paraît pas sur le Tableau XIII car il n'a pas permis d'isoler *Phytophthora*, le piègeage 1-3 par contre montre que la terre a un taux de contamination de 10,8 spores par gramme de terre. Il est bien certain que entre les prélèvements 1-1 et 1-3, l'inoculum était toujours là et si le piègeage 1-2 a été négatif, c'est qu'une baisse du taux de l'inoculum n'a plus permis de le mettre en évidence. On se trouve donc à la limite du pouvoir de résolution de la technique. Le même raisonnement pourrait être fait pour tous les groupes de piègeage.

Quand les souches "chancre" ou assimilées se trouvent dans la terre, la situation est un peu différente, puisque leur niveau d'agressivité est plus fort, il est moins limitatif. Trois cas peuvent se présenter :

- La partie de l'inoculum composée des souches "terre" est inférieure au pouvoir de résolution de la technique, le piègeage ne mettra en évidence que les souches "chancre". Le piègeage 5-6 (p.43) est une bonne illustration de ce cas.

- La partie de l'inoculum composée des seules souches "terre" est supérieure au pouvoir de résolution de la technique, le piègeage mettra en évidence un mélange de souches "terre" et de souches "chancre" ; seule l'analyse du coefficient de régression ainsi que l'analyse du rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives permettront de déceler ce mélange. Les piègeages 18-6, 23-6, 25-6 et 30-7 illustrent cette situation.

- La partie de l'inoculum composée des seules souches "terre" est supérieure au pouvoir de résolution de la technique, mais la partie d'inoculum composée des souches "chancre" est très faible. Le piègeage ne révélera que les souches "terre", le coefficient de régression ne sera pas perturbé et le rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives sera du même ordre de grandeur que celui obtenu avec les souches "terre". On se trouve devant cette situation pour le piègeage 23-2 où une souche (23-2₂) a pu être différenciée des autres parce qu'elle présentait un thalle à morphologie particulière (Tableau V). Il est probable que d'autres piègeages reflètent cette situation mais ont échappé à nos investigations car les souches "chancre" n'ont pas de phénotypes distinctifs.

L'essentiel des résultats analysés précédemment a été obtenu par des voies statistiques mais nous venons de voir que certains mélanges de souches peuvent nous échapper, nous avons donc cherché à caractériser les souches d'une autre façon.

La caractérisation physiologique des différentes souches isolées ne permet pas de les séparer en classes homogènes (Tableaux V et VII), nous avons donc utilisé leurs composants biochimiques pour les différencier (CATEN et JINKS, 1968 ; GILL et POWELL, 1968 ; HALL et al., 1969 ; GILL et ZENTMYER, 1978 ; BOCCAS, 1978).

La technique d'analyse des spectres protéiques totaux par électrofocalisation a été retenue parce qu'elle permet d'obtenir des zymogrammes meilleurs que ceux fournis par électrophorèse classique (O'FARREL, 1975 ; O'FARREL et GOODMAN, 1976-1977).

V - CARACTERISATION BIOCHIMIQUE DES SOUCHES ISOLEES

A - Technique

Dans le système d'électrofocalisation, les protéines sont séparées en fonction d'un facteur physico-chimique constant : le point isoélectrique; des différences de l'ordre de 0,02 unités pH suffisent pour différencier deux protéines.

Les Ampholines transporteurs d'ampholytes sont synthétisées à partir d'acide acrylique et d'un mélange de différents polyéthylène polyamines en solution aqueuse. Après synthèse, le mélange contient une grande variété d'acides polyamino-polycarboxyliques aliphatiques avec un large spectre de points isoélectriques. En l'absence de champ électrique, la solution a un pH uniformément égal à la moyenne des transporteurs d'ampholytes. Quand on applique un champ électrique, les transporteurs d'ampholytes migrent dans la direction déterminée par la polarité de leur charge.

Les protéines migrent jusqu'à leur point isoélectrique et s'arrêtent à cause du pouvoir tampon élevé du milieu. La fixation et le rinçage éliminent l'Ampholyte qui a un faible poids moléculaire et dialyse facilement.

L'électrophorèse sur couche mince offre de nombreux avantages sur la technique des tubes, le refroidissement est plus efficace, le temps d'expérimentation plus court. De nombreux échantillons peuvent migrer simultanément dans des conditions identiques. Le dépôt de l'échantillon à analyser, la coloration, la décoloration puis le stockage des bandes sont faciles.

La solution protéique doit avoir une concentration de sel peu importante pour éviter une densité de courant trop élevée qui entraînerait un chauffage excessif ; le tampon d'extraction doit donc être peu concentré. Nous avons utilisé un tampon Sorensen phosphate pH 6,6 0,03 Molaire.

Les souches ont été cultivées sur bouillon de petits pois liquide pendant 15 jours. Le mycélium récupéré par filtration sur verre fritté est rincé 5 fois à l'eau permutée avant d'être essoré puis pesé. Le broyage se fait manuellement au mortier avec du sable dans un bain de glace, on ajoute

avant broyage 1/2 ml de tampon par gramme de mycélium. Le broyat est centrifugé 1/2 heure à 3000 g au froid, seul le surnageant est récupéré puis filtré sur millipore avant d'être stocké à - 70°C.

Les électrofocalisations ont été faites, au plus tard, 48 heures après les extractions ; le voltage maximum employé était de 1.200 volts pour un temps de migration de 1 heure et demie. Après migration, les plaques d'électrophorèse sont mises à tremper une heure dans la solution de fixation (150 cc de méthanol + 350 cc d'H₂O + 17,25 g d'acide sulfosalicylique + 57,5 g d'acide trichloracétique), rincées 5 minutes dans la solution de décoloration (500 cc de méthanol + 160 cc d'acide acétique complétés avec de l'eau pour obtenir 2000 cc), puis mises à colorer 10 minutes à 60°C dans une solution de Coomassie Brilliant Blue (0,115 g de Coomassie + 100 cc de solution de décoloration). La décoloration doit être complète, pour cela il faut renouveler plusieurs fois la solution de décoloration et passer, au recto et verso de la plaque, un coton imbibé de solution de décoloration pour éliminer les granules de colorant, car celui-ci a tendance à flocculer dans l'étuve.

Après décoloration, la plaque est trempée 1 heure dans la solution de préservation (50 cc de glycérol + 500 cc de solution de décoloration) puis étalée sur du verre pour séchage à température ambiante. L'archivage des bandes se fait en recouvrant le gel d'une pellicule plastique.

La lecture des zymogrammes au densitomètre optique ne donne pas toujours une image fidèle des spectres protéiques car la largeur de la fente lumineuse est trop grande pour pouvoir caractériser toutes les bandes. Les différences, relevées sur les enregistrements densitométriques, sont essentiellement quantitatives et nos conditions expérimentales (poids frais du mycélium et broyage manuel) ne permettent pas de séparer les souches sur ces différences quantitatives. Les spectres protéiques ont donc été comparés visuellement par 3 examinateurs qui les ont séparés en classes ; un quatrième examinateur a fait la synthèse des trois analyses.

La séparation des souches par cette technique pourrait être améliorée en réalisant des spectres d'électrofocalisation sur certaines classes d'enzymes ce qui réduirait le nombre de bandes sur les zymogrammes et faciliterait la lecture. Il est probable que les souches "chancre" ou assimilées, ont un pool enzymatique différent de celui des souches "terre". Nous avons

vu que ces souches étaient relativement spécialisées puisqu'elles ne possèdent qu'un faible pouvoir saprophytique et un seuil d'agressivité élevé. Les différences biochimiques liées à cette spécialisation devraient pouvoir être visualisées quantitativement et qualitativement à condition de standardiser les extractions et de disposer d'un appareillage de lecture des zymogrammes performant.

B - Résultats et discussion

Une électrofocalisation préliminaire a été faite avec des souches de :

- *Phytophthora palmivora* isolées de cacaoyer au Cameroun (Fig. 3, bande 7) et d'aubergine en Côte d'Ivoire (Fig. 3, bande 9) ;

- *Phytophthora parasitica* isolées d'agrumes au Cameroun (Fig. 3, bande 6), de sol d'agrumes en Californie (Fig. 3, bande 3), de *Cataranthus* du Congo (Fig. 3, bande 4) et de chancres d'agrumes à Loudima (Fig. 3, bande 5).

- *Phytophthora cinnamomi* isolées du sol à Loudima (Fig. 3, bandes 1 et 8), sur chancres d'avocatiers en Californie (Fig. 3, bande 2) ou à Loudima (Fig. 3, bande 7).

Les différences entre le groupe VI (*P. cinnamomi*) et le groupe II (*P. parasitica* et *P. palmivora*) sont très marquées, les différences à l'intérieur d'un même groupe sont plus discrètes. Les *P. palmivora* se distinguent des *P. parasitica* assez facilement, par contre les comparaisons intra espèces sont plus aléatoires. La seule différence concerne la souche *Cataranthus* (Fig. 3, bande 4) qui, bien que classée parmi les *P. parasitica*, ne ressemble à aucune de ses voisines (bandes 3, 5 et 6).

Cette expérience témoin a été suivie d'une série d'électrofocalisations avec les souches isolées, soit sur chancre, soit de terre. 49 souches ont été étudiées et deux classes différentes ont pu être distinguées.

- Une première classe regroupe les souches Lou 1, C5, Lou 14, C23, C24, Lou 24, Lou 25, C7-1, Lou 11-6, C24-6, 5-6, 23-2₂, 23-6, 18-6, 25-6, 30-7, 24-5.

- La deuxième classe correspond aux souches 1-1, 1-4, 4-6, 5-2, 5-8, 7-2, 7-4, 7-7, 10-1, 12-2, 12-6, 12-8, 13-7, 18-2, 18-7, 19-2, 19-6, 23-1, 23-2₁, 23-8, 24-1, 24-3, 24-5, 24-6, 25-1, 25-5, 30-2, 30-7, 31-7, 33-2, 33-6, 34-7.

Dans la première classe, on retrouve des souches de provenance et de caractéristiques différentes :

* Des souches isolées directement sur chancres : Lou 1, C5, Lou 14, C23, C24, Lou 24, Lou 25, C7-1, Lou 11-6, C24-6.

* Des souches piégées dans la terre mais qui possèdent des caractéristiques de souche "chancre" (5-6, 23-2₂, 23-6). Leur niveau d'agressivité (Tableau V) est nettement supérieur au niveau moyen des autres souches isolées de la terre et les comparaisons de pentes ou de TC₅₀ ont montré (p. 37 à 41) qu'elles se rattachaient à la classe des souches "chancre" dans les tableaux de fréquences (Tableau XII).

* Des souches piégées dans la terre (18-6, 25-6, 30-7) qui ont déjà pu être séparées de l'ensemble des souches isolées de la terre par l'étude des coefficients de régression entre les comptages de boîtes positives et les comptages de pétales infectés (p. 41 à 45). Le rapport du nombre de pétales infectés sur le nombre de boîtes positives, de chacune de ces trois souches, diffère suffisamment de celui du groupe de prélèvements auquel elles appartiennent pour avoir pu être distingué.

* Enfin une souche (24-5) qui n'a en principe aucune raison de se retrouver dans cette classe. Nous avons vu (p. 48) que certaines souches "chancre" pouvaient échapper à nos investigations parce qu'elles se trouvaient en quantité trop faible, dans la terre, pour influencer sur le coefficient de régression et sur le rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives. Il est probable que la souche 24-5 est une souche "chancre", son spectre protéique la distingue des souches "terre" ce que n'avaient pas permis les analyses statistiques.

Les 32 souches de la deuxième classe sont des souches isolées de la terre par piègeage. Elles ont en commun un faible taux d'agressivité (Tableau V) ; l'analyse des relations liant le nombre de boîtes positives et le nombre de pétales infectés, a montré qu'elles constituaient, au sein d'un même groupe de prélèvements, une population homogène (p. 41 à 45).

Cette séparation en deux classes est satisfaisante car elle dissocie les deux types de souches : souches "terre" et souches "chancre" ou assimilées, déjà séparés statistiquement. L'électrofocalisation montre qu'il est possible de caractériser une souche "chancre" (24-5) au sein d'un piègeage dont toutes les caractéristiques indiquent que l'on a affaire à une population homogène de *Phytophthora* composée de souches "terre" ; c'est donc un complément indispensable à toute analyse de population car il apporte un support biologique aux analyses statistiques.

VI - CONCLUSION

Les analyses qui précèdent ont montré que différentes espèces de *Phytophthora* sur les vergers fruitiers de Loudima, sont spécifiques du type d'arbre cultivé. Si l'étude des populations de *P. cinnamomi* a dû être abandonnée à cause de problèmes techniques, il est clair que la présence de *P. parasitica* sur vergers d'avocatiers ne peut être qu'accidentelle.

Les populations de *P. parasitica* des vergers d'agrumes ont été séparées en 2 classes au moyen de méthodes statistiques; l'une homogène est composée de souches isolées de la terre qui ont en commun un faible taux d'agressivité, l'autre plus hétérogène inclut des souches isolées sur chancres et des souches isolées de la terre. Les souches de la deuxième classe ont des taux d'agressivité plus élevés que les souches de la première classe, elles ont également une aptitude à la vie saprophytique moins importante. Les spectres protéiques obtenus par électrofocalisation ont confirmé la réalité de cette séparation en 2 classes ; ils nous ont permis de caractériser une souche isolée de la terre et de la transférer dans la deuxième classe montrant ainsi qu'une étude uniquement statistique peut être incomplète.

CONCLUSION

L'analyse du comportement de quelques souches de *Phytophthora parasitica*, sur sols maraîchers, a permis de dégager les facteurs agissant sur l'inoculum. Par une technique de piègeages à l'aide de fragments végétaux vivants, nous avons estimé le pouvoir colonisateur de différentes souches dans différents sols. Il a ainsi été mis en évidence deux niveaux d'interactions terre/pathogène ; le premier niveau est attribué à des facteurs abiotiques, le second à l'action de la microflore.

L'action de différentes terres sur une même souche est spécifique de ces terres et de cette souche, cet effet différentiel permet d'orienter les recherches du ou des facteurs antagonistes et de différencier des souches, en apparence identiques, dans un écosystème défini. L'inoculum de chaque souche est plus efficace dans sa terre d'origine que dans une terre provenant d'un écosystème différent, il est donc probable que les souches suivent un processus évolutif différent et directement dépendant de leur proche environnement.

Ces résultats ont permis d'aborder l'étude des populations de *Phytophthora* inféodées à des plantations d'avocatiers et d'agrumes. L'espèce de *Phytophthora*, présente sur chacun des vergers, est spécifique de l'arbre qui est cultivé. Les vergers d'avocatiers ne renferment que des *P. cinnamomi*, la présence de *P. parasitica* n'a pu être décelée qu'une seule fois et elle a été attribuée à une contamination mécanique accidentelle.

Les *P. cinnamomi* sont strictement dépendants des avocatiers, les problèmes techniques de piègeage liés à cette dépendance n'ont pas pu être surmontés, nous avons donc abandonné l'étude de ces populations pour nous consacrer à l'analyse des populations de *P. parasitica* sur vergers d'agrumes.

Dans un premier temps, les interactions terre - *Phytophthora* ont été définies afin d'analyser la répartition des souches sur les vergers. La technique de piègeage a permis de quantifier l'inoculum dans le sol. A la suite des piègeages, le nombre de boîtes positives (B+) donne la quantité d'inoculum dans le sol au moment du prélèvement, le nombre de pétales infectés (P+) exprime l'aptitude pour chaque souche à coloniser sa terre d'origine. Le rapport P+/B+ est spécifique de chaque association terre-souche, on peut ainsi séparer l'ensemble des souches isolées de la terre ou des chancres en deux classes. Une classe composée de souches isolées de la terre qui possèdent

une bonne aptitude à coloniser la terre (rapport P+/B+ élevé) mais qui ont un seuil d'agressivité peu élevé. La deuxième classe est composée de souches isolées sur chancres et de souches isolées de la terre qui ont en commun une mauvaise aptitude à la vie saprophytique (rapport P+/B+ bas) et un seuil d'agressivité élevé.

Cette relation inversement proportionnelle entre l'agressivité et l'aptitude à la vie saprophytique explique que l'on trouve peu de souches isolées de la terre dans la deuxième classe.

Dans le cas particulier de la Station fruitière de Loudima, il est probable que le *Phytophthora parasitica* originel a été introduit avec un plant malade. Cette souche a donné naissance à une population de souches pouvant se répartir ainsi :

- Des souches agressives, inféodées aux arbres et dont le pouvoir saprophyte réduit ne permet que peu de temps la conservation dans le sol.

- Des souches peu agressives, représentant l'essentiel des souches isolées et analysées. Cette population est numériquement stable car son niveau d'agressivité peu élevé l'empêche de proliférer mais, une bonne aptitude à la vie saprophytique, de ses constituants, lui permet de se maintenir dans le sol.

- Des souches non agressives, cette partie de la population échappe à nos investigations car l'intermédiaire obligatoire du piège implique un niveau minimum d'agressivité. L'utilisation d'un milieu d'isolement très spécifique (contenant de l'Hymexazol) permettrait d'en isoler les constituants et d'avoir une image complète des différents éléments composant une population de *Phytophthora*.

De cet ensemble de souches, nous n'avons pu appréhender que deux classes qui correspondent aux souches agressives et peu agressives où les deux signes de compatibilité sexuelle A_1 et A_2 sont présents. L'analyse des spectres protéiques, obtenus par électrofocalisation, a pleinement confirmé la réalité des deux classes séparées par des artifices statistiques ; elle a également montré qu'elle complétait l'analyse statistique en permettant de caractériser une souche "chancre" qui avait échappé à nos investigations.

La population du sol doit servir de réservoir d'où peuvent émerger après mutations, anastomoses (STEPHENSON et al., 1974) ou recombinaisons mitotiques, hybridations voire autofécondations, des lignées agressives susceptibles de contaminer les arbres mais dont la dissémination est limitée à cause de leur faible pouvoir saprophyte.

L'utilisation des interactions terre/pathogène pour étudier la variabilité quantitative et qualitative des constituants d'un inoculum débouche sur la caractérisation des facteurs antagonistes des différents écosystèmes. La spécialisation des espèces de *Phytophthora* vis-à-vis du végétal cultivé, liée à la mise en évidence d'une relation inversement proportionnelle entre l'aptitude à la vie saprophytique et l'agressivité rend possible des prévisions d'infections en fonction des variations de l'environnement.

BIBLIOGRAPHIE

- APPLE, J.L., 1963 - Persistence of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in soil. Pl. Dis. Rept., 47, 7, 632-634.
- ASSAS M'BILAUT, 1978 - Contribution à l'étude de *Phytophthora cinnamomi* Rands, parasite de l'avocatier : sporogénèse, voies de pénétration. Thèse de spécialité. Université Paul Sabatier de Toulouse.
- BANIHASHEMI, Z. and J.E. MITCHELL, 1975 - Use of safflower seedling for the detection and isolation of *Phytophthora cactorum* from soil and its application to population studies. Phytopathology, 65, 12, 1424-1430.
- BAKER, R., 1971 - Analyses involving inoculum density of soil-borne plant pathogens in epidemiology. Phytopathology, 61, 10, 1280-1292.
- BOCCAS, B. et E. LAVILLE, 1976 - Les maladies à *Phytophthora* des agrumes. Publication I.R.F.A. Paris.
- BOCCAS, B., 1978 - La reproduction sexuée chez les *Phytophthora*, ses voies et quelques-unes de ses conséquences génétiques. Thèse de Doctorat d'Etat. Université Paris-Sud, Centre d'Orsay.
- BOHER, B. et K. KOHLER, 1977 - *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* et *Phytophthora cinnamomi* dans quelques sols de la République Populaire du Congo : sensibilité à la mycostase, formation des propagules et relations avec les microorganismes du sol. Communications personnelle
- BORLAUG, N.E., 1959 - The use of multilineal composite varieties to control airborne epidemic diseases of self-pollinated crop plants. Proc. 1st Wheat Genetics symp., Winnipeg 1958, 12-27.
- BOUHOT, D., J. BULIT, J. LOUVET, 1964 - Recherches sur l'écologie des champignons parasites dans le sol. III. Recherche d'une méthode sélective et quantitative d'analyse de *Fusarium oxysporum* F. *melonis* dans le sol. Ann. Epiphyties, 15, 1, 57-72.
- BOUHOT, D., 1975 - Recherches sur l'écologie des champignons parasites dans le sol. VII. Quantification de la technique d'estimation du potentiel infectieux des sols, terreaux et substrats infectés par *Pythium* sp. Ann. Phytopathol., 7, 2, 147-154.

- BOUHOT, D., 1978 - Estimation of inoculum density and inoculum potential :
Techniques and their value for disease prediction. 3 rd. International
congress of plant pathology. Communication personnelle.
- BOUHOT, D. et H. JOANNES - Ecologie des champignons parasites dans le sol.
IX. Mesures du potentiel infectieux des sols naturellement infectés
de *Pythium* sp. En cours de publication dans Soil Biology and
Biochemistry.
- BUDDENHAGEN, I.W., 1977 - Resistance and vulnerability of tropical crops in
relation to their evolution and breeding. Ann. N.Y. Acad. Sci.,
287, 309-326.
- CARPENTER, J.B. and J.R. FURR, 1962 - Evaluation of tolerance to Root Rot
caused by *Phytophthora parasitica* in seedlings of citrus and related
genera. Phytopathology, 52, 12, 1277-1285.
- CATEN, C.E. and J.L. JINKS, 1968 - Spontaneous variability of single isolates
of *Phytophthora infestans*. Can. J. Bot., 46, 329-348.
- CONVERSE, R.H. and J.N. MOORE, 1966 - Susceptibility of certain *Potentilla*
and *Geum* species to infection by various races of *Phytophthora*
fragariae. Phytopathology, 56, 6, 637-639.
- DIX, N.J. and C.P. MITCHELL, 1976 - Soil fungistasis and the theoretical
colonization index of some soil fungi. Trans. Br. Mycol. Soc, 67,
1, 136-139.
- DUNCAN, J.M., 1976 - The use of bait plants to detect *Phytophthora fragariae*
in soil. Trans. Br. Mycol. Soc. 66, 1, 85-89.
- ECKERT, J.W. and P.H. TSAO, 1962 - A selective antibiotic medium for isolation
of *Phytophthora* and *Pythium* from plant roots. Phytopathology,
52, 8, 771-777.
- FLOWERS, R.A. and J.W. HENDRIX, 1972 - Population density of *Phytophthora*
parasitica var. *nicotianae* in relation to pathogenesis and season.
Phytopathology, 62, 4, 474-477.
- FLOWERS, R.A. and J.W. HENDRIX, 1974 - Host and non host effects on soil
populations of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianea*. Phytopatho-
logy, 64, 5, 718-720.

- FOLLIN, J.C., 1971 - L'utilisation du bénomyl pour l'isolement sélectif des Pythiacées. Cot. Fibre Trop., XXVI, 467.
- FOUQUE, A., P. FROSSARD, J. BOURDEAUT, 1977 - Résultats préliminaires des essais de porte-greffes d'agrumes en Côte d'Ivoire. Fruits, 32, 5, 335-349.
- GABRIEL, M., 1977 - Estimation de l'agressivité des différents isolats de *Fusarium oxysporum* F. sp. *lycopersici* (Schlecht) SN et H. Mycopathologia, 62, 1, 61-64.
- GILL, H.S. and D. POWELL, 1968 - The use of polyacrylamide geldisc electrophoresis in delimiting species of *Phytophthora*. Phytopath., 2, 63, 23-29.
- GILL, H.S. and G.A. ZENTMYER, 1978 - Identification of *Phytophthora* species by disc electrophoresis. Phytopathology, 68, 2, 163-167.
- GROTH, J.V. and C.O. PERSON, 1977 - Genetic interdependence of host and parasite in epidemics. Ann. N.Y. Acad. Sci., 287, 97-106.
- HALL, R., G.A. ZENTMYER, D.C. ERWIN, 1969 - Approach to taxonomy of *Phytophthora* through Acrylamid gel electrophoresis of proteines. Phytopathology, 59, 6, 770-774.
- HENDRIX, F.F. and E.G. KUHLMAN, 1965 - Factors affecting direct recovery of *Phytophthora cinnamomi* from soil. Phytopathology, 55, 1183-1187.
- HOLDAWAY, B.F. and P.H. TSAO, 1971 - Survival of *Phytophthora parasitica* in soils. Phytopathology, 61, 1321.
- HOLDAWAY, B.F. and P.H. TSAO, 1972 - Longevity of chlamydospores of *Phytophthora parasitica* in water. Pl. Dis. Rept. 56, 11, 971-973.
- ILIEVA, E., 1976 - Method for identifying *Phytophthora capsici* in the soil. Rastitelna Zashchita 24, 10, 31-34. IZR, Kostinbrod, Bulgaria.
- JENKINS, S.F., 1962 - Preliminary studies for estimating the disease potential of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in infested tobacco soils. Pl. Dis. Rept., 46, 12, 825-826.

- KHEW, K. and G.A. ZENTMYER, 1973 - Chemotactic reponse of zoospores of five species of *Phytophthora*. *Phytopathology*, 63, 1511-1517.
- KLEMMER, H.W. and R.K. NAKANO, 1972 - Technique in isolation of Pythiaceus fungi from soil and disease pineapple tissues. *Phytopathology*, 62, 955-956.
- KLOTZ, L.J. and T.A. De WOLFF, 1958 - Techniques for isolating *Phytophthora* spp. wich attack Citrus. *Plant Dis. Rept.*, 42, 675-676.
- LAVILLE, E., 1974 - Les maladies à *Phytophthora* des agrumes en Corse. *Fruits*, 29, 4, 297-301.
- LAVILLE, E., 1975 - Réflexions sur la nature des relations hôte-parasite dans le couple agrume - *Phytophthora*. *Fruits*, 30, 1, 19-22.
- LELLOUCH, J. et P. LAZAR, 1974 - Méthodes statistiques en expérimentation biologique. Flammarion Médecine Sciences.
- LUMSDEN, R.D., W.A. AYERS, R.L. DOW, 1975 - Differential isolation of *Pythium* species from soil by means of selective media, temperature and pH. *Can. J. Microbiol.*, 21, 606-612.
- LUMSDEN, R.D., W.A. AYERS, P.B. ADAMS, R.L. DOW, J.A. LEWIS, G.C. PAPAVIDAS, J.G. KANTZES, 1976 - Ecology and epidemiology of *Pythium* species in fiel soil. *Phytopathology*, 66, 10, 1203-1209.
- MARKS, G.C. and J.E. MITCHELL, 1970 - Detection, isolation and pathogenicity of *Phytophthora megasperma* from soils and estimation of inoculum levels. *Phytopathology*, 60, 11, 1687-1690.
- MASAGO, H., M. YOSHIKAWA, M. FUKADA, N. NAKANISHI, 1977 - Selective inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plants. *Phytopathology*, 67, 425-428.
- Mc INTOCH, D.L., 1972 - Effects of soil water suction, soil temperature, carbon and nitrogen amendements and host rootlets on survival in soil of zoospores of *Phytophthora cactorum*. *Can. J. Bot.*, 50, 2, 269-272.

- NEWHOOK, F.J. and G.V.H. JACKSON, 1977 - *Phytophthora palmivora* in cocoa plantation soils in the solomon islands. Trans. Br. mycol. Soc., 69, 1, 31-38.
- O'FARREL, P.H., 1975 - High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. J. Biol., chem., 250, 4007-4021.
- O'FARREL, P.Z., and H.M. GOODMAN, 1976 - Resolution of Simian Virus 40 proteins in whole cell extracts by two-dimensional electrophoresis : heterogeneity of the major capsid protein. Cell., 9, 289-298.
- O'FARREL, P.H. et P.Z. and H.M. GOODMAN, 1977 - High resolution two-dimensional electrophoresis of basic as well as acid proteins. Cell., 12, 1133-1142.
- OU, S.H., 1977 - Genetic defense of rice against diseases. Ann. N.Y. Acad. Sci., 287, 275-286.
- PONCHET, J., P. RICCI, C. ANDREOLI, G. AUGET, 1972 - Méthodes sélectives d'isolement de *Phytophthora nicotianae* à partir du sol. Ann. Phytopathol., 4, 97-108.
- PRATT, R.G. and J.G. MITCHELL, 1975 - The survival and activity of *Phytophthora megasperma* in naturally infested soils. Phytopathology, 65, 11, 1267-1272.
- RICCI, P., 1972 - Moyens d'études de l'inoculum du *Phytophthora nicotianae* F. sp. *parasitica* (Dastur) Watherh., parasite de l'oeillet dans le sol. Ann. Phytopathol., 4, 3, 257-276.
- RICCI, P., 1974 - Mesure de la densité d'inoculum d'un agent pathogène dans le sol à l'aide d'une technique d'isolement par tout ou rien. Ann. Phytopathol., 6, 4, 441-453.
- RICCI, P., J.A. TORIBIO, C.M. MESSIAEN, 1976 - La dynamique des populations de *Pythium* dans les sols maraîchers de Guadeloupe. Ann. Phytopathol., 8, 1, 51-63.
- SAFEEULLA, K.M., 1977 - The genetics basis of epidemics in agriculture. Ann. N.Y. Acad. Sci., 287, 72-85.
- SNEDECOR et COCHRAN, 1971 - Méthodes statistiques. Acta.

- STEPHENSON, L.W., D.C. ERWIN, J.V. LEARY, 1974 - Hyphal anastomosis in *Phytophthora capsici*. *Phytopathology*, 64, 1, 149-150.
- STRANGHELLINI, M.E. and J.G. HANCOCK, 1971 - The sporangium of *Pythium ultimum* as a survival in soil. *Phytopathology*, 61, 2, 157-164.
- THOMSON, S.V. and R.M. ALLEN, 1976 - Mechanisms of survival of zoospores of *Phytophthora parasitica* in irrigation water. *Phytopathology*, 66, 10, 1198-1202.
- TSAO, P.T. and M.J. GARBER, 1960 - Methods of soil infestation, watering, and assessing the degree of root infection for greenhouse in situ ecological studies with Citrus *Phytophthora*. *Pl. Dis. Rept.* 44, 9, 710-715.
- TSAO, P.H., 1960 - A serial dilution end point method for estimating disease potential of Citrus *Phytophthora* in soils. *Phytopathology*, 50, 717-724.
- TSAO, P.H. and J.L. BRICKER, 1964 - Soil fungistasis in relation to zoospores germination of *Phytophthora parasitica*. *Phytopathology*, 54, 910.
- TSAO, P.H. and J.L. BRICKER, 1968 - Germination of chlamydospores of *Phytophthora parasitica* in soil. *Phytopathology*, 58, 1070.
- TSAO, P.H. and G. OCANA, 1969 - Selective isolation of species of *Phytophthora* from natural soil on an improved antibiotic medium. *Nature*, 223, 636-638.
- TSAO, P.H., 1969 - Studies on the saprophytic behavior of *Phytophthora parasitica* in soil. *Proc. 1 st Intern. Citrus Symp.* 3, 1221-1230.
- TSAO, P.H., 1970 - Selective media for isolation of pathogenic fungi. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 8, 157-186.
- TSAO, P.H. and O.G. STEPHEN, 1977 - Inhibition of *Mortierella* and *Pythium* in a *Phytophthora* isolation medium containing Hymexazol. *Phytopathology*, 67, 6, 796-801.

WATERHOUSE, G., 1963 - Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycol., Pap., 92, CMI, Kew, 22p.

WATERHOUSE, G., 1970 - The genus *Phytophthora* de Bary. Mycol. Pap., 122, CMI, Kew.

ZENTMYER, G.A. and S.M. MIRCETICH, 1966 - Saprophytic and persistence in soil by *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology, 56, 710-715.

ZENTMYER, G.A. and W.A. THORN, 1967 - Hosts of *Phytophthora cinnamomi*. Calif. Avoc. Soc. Yearbook, 51.