

**La pourriture du coeur de l'ananas.
Etude de l'infection par le *Phytophthora nicotianae*
var. *parasitica* WATERHOUSE et le
Phytophthora palmivora (BUTL.) BUTL.
Pénétration dans les organes souterrains.**

B. BOHER*

LA POURRITURE DU COEUR DE L'ANANAS
ETUDE DE L'INFECTION PAR LE *PHYTOPHTHORA NICOTIANAE*
VAR. *PARASITICA* WATERHOUSE ET LE *PHYTOPHTHORA*
PALMIVORA (BUTL.) BUTL.
Pénétration dans les organes souterrains

B. BOHER (ORSTOM)

Fruits, Jun. 1976, vol. 31, n°6, p. 365-371.

RESUME - L'étude anatomique de l'infection des racines d'ananas par le *Phytophthora palmivora* ou le *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* montre que ces parasites sont susceptibles de se développer dans les racines sans entraîner la destruction du système racinaire. La colonisation n'est que partielle et le danger réside dans l'extension de l'infection à la tige provoquant la pourriture du coeur. C'est après infection des jeunes racines adventives que le parasite peut le plus facilement pénétrer dans la tige.

On sait que l'infection du système racinaire de l'ananas est généralement le fait de *Phytophthora cinnamomi* (OXENHAM, 1957), cependant, en Afrique, les isolements à partir de plants atteints de pourriture du coeur n'ont jamais livré que des *Phytophthora palmivora* ou des *P. nicotianae* var. *parasitica*.

C'est avec ces isolements que nous avons, dans un précédent article, étudié la pénétration dans les organes aériens par les jeunes trichomes des bases foliaires (BOHER, 1974). Après avoir remarqué que le parasite était capable d'infecter les extrémités racinaires, nous avons voulu savoir dans quelle mesure ces infections pouvaient entraîner l'apparition des symptômes de la pourriture du coeur.

* - Office de la Recherche scientifique et technique Outre-Mer
Centre de Brazzaville, Laboratoire de Phytopathologie.

MATERIELS ET METHODES

Les souches du parasite ont été isolées d'ananas en Côte d'Ivoire (FROSSARD, IRFA Abidjan); nous les avons précédemment toutes classées dans l'espèce *palmivora* (BOHER, 1974); certaines appartiennent en fait à l'espèce *nicotianae* var. *parasitica* (WATERHOUSE, 1970). Les cinq souches testées possèdent des aptitudes parasitaires identiques vis-à-vis de l'ananas; le test d'agressivité sur la gamme différentielle d'hôtes du laboratoire a montré qu'elles étaient en majorité très agressives et peu spécialisées se rapprochant ainsi de certaines souches isolées de plantes annuelles qui se sont révélées agressives contre l'ananas (tableau I).

En ce qui concerne l'hôte, trois cultivars ont été étudiés : Cayenne lisse, Singapore canning et Ananas local appartenant

Collection de Référence
n° 8602
Phyto

- 5 AVR. 1977

nant au groupe Queen. Les techniques histologiques suivantes nous ont permis de mettre en évidence le parasite dans les tissus : fixation par le mélange formol-éthanol-acide acétique ou par le fixateur de Navashine, inclusion à la paraffine, coloration par la safranine et le vert lumière, le noir chlorazol, le noir Soudan B, la fuchsine ammoniacale ou l'orange d'acridine, suivie d'une observation en lumière ultraviolette dans ce dernier cas (E. GURR, 1965).

Nous avons jugé de l'infestation des tissus des extrémités de racines adventives ou secondaires (figure 1) par un test simple : des racines en croissance et de diamètres identiques sont inoculées par une suspension de zoospores ($100/\text{mm}^3$ environ) et mises en incubation sur papier filtre humide à 26°C pendant 24 ou 48 heures ; l'extrémité racinaire est alors séparée (5 mm de long) et placée entre lame et lamelle un poids étant posé sur la lamelle (50 ou 100 g) ; les racines particulièrement infectées se désintègrent sous un poids de 50 grammes, celles qui le sont moins sous un poids de 100 grammes, les témoins restant intacts.

TABLEAU 1 - Résultats de l'inoculation des plantes de la gamme d'hôtes par quelques souches de *Phytophthora* (50 plants âgés de 10 jours cultivés sur vermiculite avec milieu nutritif, inoculation par broyat de mycélium obtenu sur extrait de petits pois liquide).

Souches	tomate	roselle	melon	aubergine
145	***	***	***	***
308	***	***	***	-
309	***	***	***	-
310	**	**	***	-
311	***	***	***	-
144	*-	*	*	-

145 = souche de *P. palmivora* isolée de l'aubergine

308, 309, 310, 311, 144 = souches de *P. palmivora* et *nicotianae* var. *parasitica* isolées de l'ananas.

- : pas de plants morts 10 jours après inoculation

* : 0 - 20 p. cent de plants morts

** : 20-60 p. cent de plants morts

*** : 60-80 p. cent de plants morts

**** : 80-100 p. cent de plants morts

RÉSULTATS

Inoculation par zoospores.

Entrée en contact avec la racine : toutes les souches isolées de l'ananas, dont nous disposons, produisent des zoospores dans les conditions décrites précédemment (BOHER, 1974). Des extrémités de racines adventives de jeunes rejets ou de racines adventives et secondaires de plants âgés (figure 1) immergées dans une suspension de zoospores

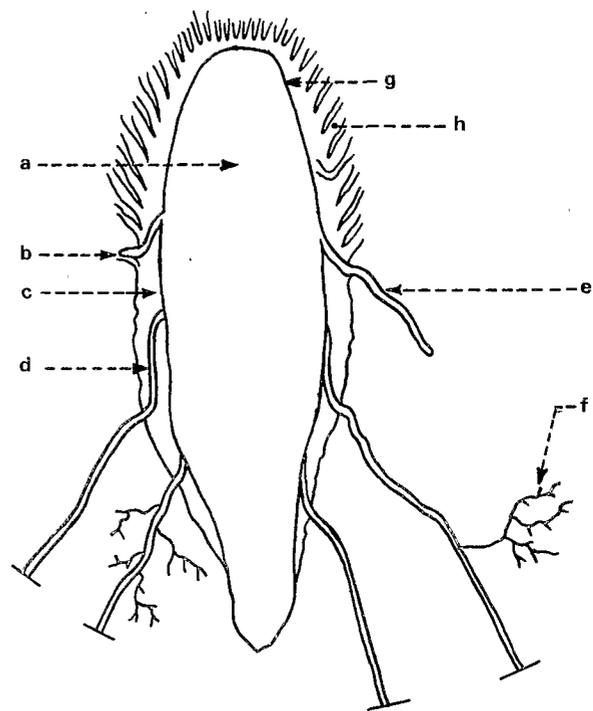


Figure 1. Section longitudinale de la tige d'ananas. Seules quelques racines ont été représentées.

a : zone vascularisée de la tige, b : jeune racine adventive saillant entre des feuilles desséchées, c : partie corticale de la tige, d : racine intracaulinaire, e : racine adventive, f : racine secondaire, g : zone des cellules initiales des racines adventives, h : base foliaire.

attirent celles-ci comme cela a été observé chez *Hibiscus sabdariffa* (BOHER, 1972) ou chez d'autres plantes (BACAUH, 1971), l'attraction étant maximale au niveau des zones méristématiques et d'élongation. Les zoospores des différentes souches de *Phytophthora* isolées de l'ananas sont attirées par les racines de cette plante, celles de quelques souches de *P. palmivora* provenant d'autres végétaux ont le même comportement, une souche de *P. nicotianae* var. *parasitica* produit des zoospores qui ne sont pas attirées. Le tactisme manifesté par les zoospores chez le *Phytophthora* est vraisemblablement un chimiotactisme (KHEW et ZENTMYER, 1973, ZENTMYER, 1970), dont le stimulus serait représenté par une exsudation d'acides aminés et de glucides.

Les zoospores s'immobilisent, soit à une certaine distance de la racine (0,1 - 0,2 mm), face à la coiffe ou à la zone méristématique, soit au contact même des cellules du rhizoderme ; l'histogramme de la figure 2 donne une idée de la répartition des zoospores encystées à la surface d'une racine secondaire de Cayenne lisse.

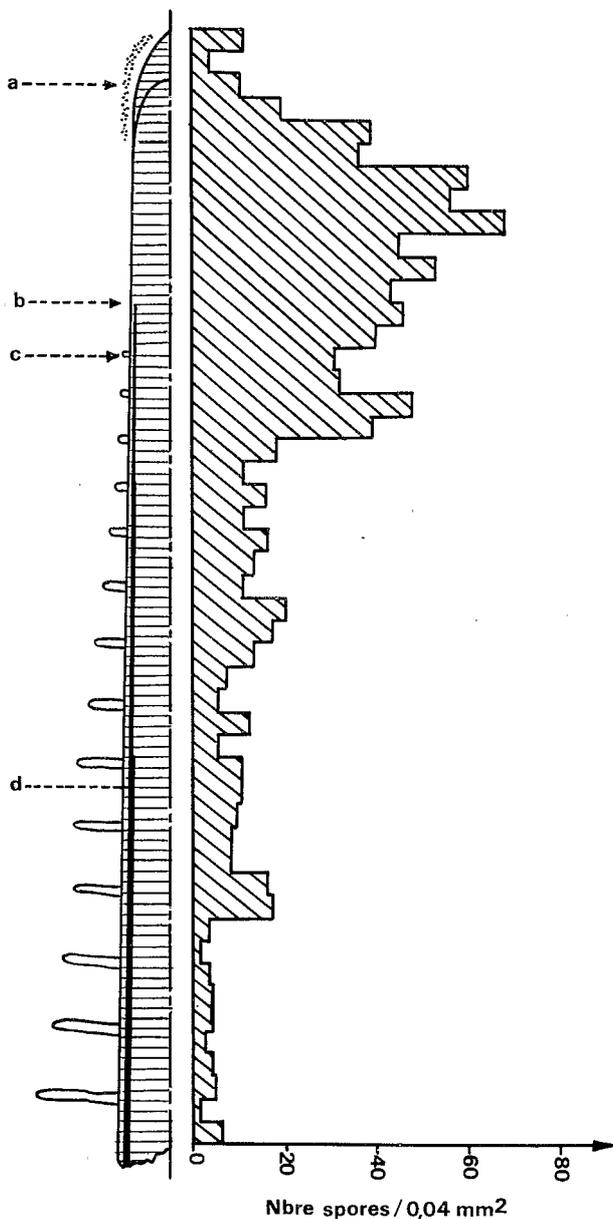


Figure 2. Exemple d'accumulation de zoospores de *Phytophthora palmivora* sur une racine de Cayenne lisse.

A droite, histogramme représentant le nombre de zoospores encystées par surfaces de $0,04 \text{ mm}^2$.

A gauche, schéma de la coupe longitudinale de la demiracine correspondante.

a : zoospores encystées à une certaine distance de la racine (qui n'intervient pas dans le décompte de l'histogramme)
 b : début de la subérification des assises externes du parenchyme cortical, c : début de la zone pilifère, d : exoderme.

La présence de la racine provoque une réduction notable de la durée de motilité des zoospores ; ceci est dû à la libération dans le milieu de composés d'origine racinaire qui créent une modification brutale de l'environnement physico-chimique. En effet, si à une suspension de zoospores on ajoute une quantité égale d'eau permutée dans laquelle on a laissé pendant quelques heures des racines d'ananas, toutes les zoospores s'encystent dans les cinq à dix minutes qui suivent, alors que dans la suspension témoin elles continuent à nager pendant une à plusieurs heures. Les exsudats racinaires agissant sur la motilité des zoospores sont de faible poids moléculaire ; ils sont en effet éliminés par dialyse ; l'élimination de la fraction cationique des exsudats abaisse l'effet de ceux-ci sur la motilité (augmentation du temps nécessaire à l'arrêt de toutes les zoospores), la fraction cationique seule est sans effet. Il semble donc qu'il y ait une action synergique de plusieurs composés.

Pénétration : après perte des flagelles et encystement (dix à vingt minutes), les spores germent, émettant un tube germinatif qui, quand il entre en contact avec le rhizoderme, s'enfle en appressorium. Cet appressorium, s'il est placé à la jonction de deux cellules du rhizoderme, donne naissance à un hyphe de pénétration intercellulaire (photo 1) ; dans tous les autres cas la pénétration n'a pas lieu. La suite du développement varie en fonction de la zone racinaire où la pénétration a eu lieu. Dans les parties correspondant aux zones de différenciation et d'élongation, le développement intercellulaire se poursuit et s'étend aux assises inférieures du parenchyme cortical ; dans les parties plus âgées (assise pilifère) la croissance en profondeur cesse, un nouveau renflement est formé au contact de l'assise cellulaire située sous le rhizoderme et le développement s'arrête après formation de quelques hyphes grêles.

La coloration par la fuchsine ammoniacale ou le noir Soudan B permet la mise en évidence d'un complexe lignine-subérine dans les parois de l'assise sous-rhizodermique (figure 2) ; cette imprégnation qui, dans les parties jeunes de la racine, n'intéresse que les parois tangentielles externes, s'étend progressivement aux autres parois ainsi qu'aux parois des cellules plus internes, l'ensemble des cellules à parois modifiées formant l'exoderme (figure 3). MEYER (1940) a montré que, chez l'ananas, les cellules de l'exoderme possédaient une paroi secondaire subérifiée et une paroi tertiaire imprégnée de lignine, la lamelle moyenne étant elle-même lignifiée. Le développement parasitaire se faisant de manière intercellulaire, c'est vraisemblablement cette dernière imprégnation qui est responsable du blocage du développement fongique par l'exoderme. En ce qui concerne la coiffe, elle n'est que rarement traversée dans les parties épaisses, la zone proximale amincie permet au contraire la pénétration et de ce fait la colonisation du tissu méristématique.



Photo 1. Début de pénétration entre les cellules du rhizoderme. Zoospore encystée fléchée.

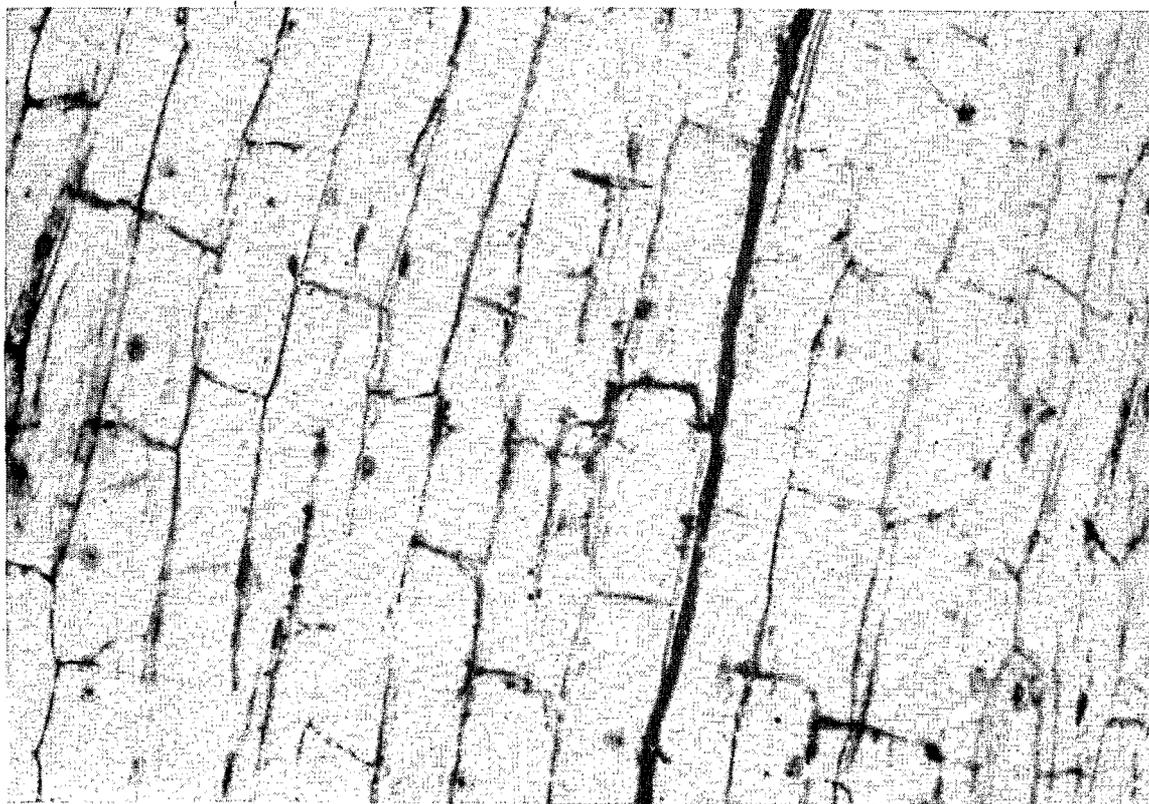


Photo 2. Coupe longitudinale dans le cortex d'une racine de Cayenne lisse montrant un cordon mycélien intercellulaire.

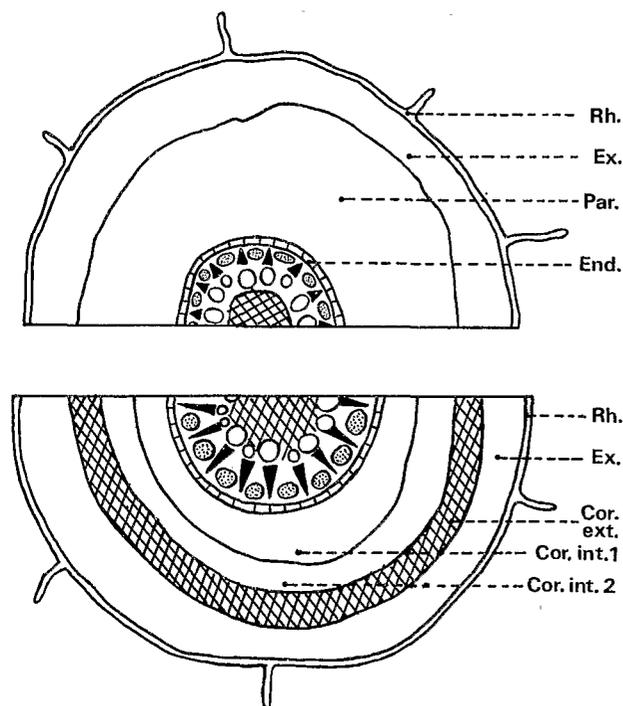


Figure 3. Coupes transversales de racine d'ananas Cayenne lisse faites à quatre millimètres de l'extrémité (schéma du haut) et à cinquante millimètres de l'extrémité (schéma du bas).

Rh. : rhizoderme, Ex. : exoderme, Par. : parenchyme cortical, End. : endoderme, Cor. ext. : zone corticale externe, Cor. int. 1 : zone corticale interne à petites cellules isodiamétriques, Cor. int. 2 : zone corticale interne lacuneuse.

La barrière protectrice formée par l'exoderme est rompue par endroits lors de l'émergence des racines secondaires ou des radicelles. Celles-ci prennent naissance au niveau du péricycle, traversent le cortex et font éclater l'exoderme ; l'extrémité de la radicelle saillant à la surface de la racine mère attire fortement les zoospores qui se massent et s'encystent à son contact. L'infection a lieu normalement ainsi que la colonisation du cortex de la racine mère. Dans les parties âgées de la racine la barrière exodermique est renforcée par un cycle de tissus sclérenchymateux (figure 3) qui offrent une défense supplémentaire lorsque des petites blessures ont rompu l'exoderme ; cette barrière est cependant vulnérable à la saillie des radicelles.

Colonisation des tissus de la racine : dans la racine, le mycélium est presque exclusivement intercellulaire (il peut devenir intracellulaire mais seulement dans les cellules

du rhizoderme et de l'assise sous-jacente). Il se développe initialement dans tous les tissus de la zone d'élongation pour ultérieurement, dans les parties plus âgées, ne se manifester qu'entre les cellules du parenchyme cortical, surtout dans la zone lacuneuse du cortex interne (figure 3). La densité mycélienne est alors faible, quelques cordons sont répartis sur le pourtour de l'endoderme, leur développement a lieu surtout dans le sens du grand axe de la racine et ils sont peu ramifiés (photo 2). La présence du parasite ne provoque une pourriture molle que dans la partie terminale de la racine où la densité mycélienne est importante ; cette pourriture est détectable par écrasement, à partir de 24 heures chez Queen et Singapore canning, de 48 heures chez Cayenne lisse (tableau 2). Dans les régions plus âgées, aucun symptôme externe ne permet de déceler l'avance du mycélium. Celle-ci étant relativement rapide, il faut en moyenne une vingtaine de jours au parasite pour franchir une distance de 10 à 15 centimètres dans la racine et infecter la tige.

Importance du point d'inoculation sur l'apparition des symptômes de la pourriture du coeur : sur des rejets de Queen, deux mois après plantation, l'infection d'une extrémité de racine adventive à une quinzaine de centimètres de la tige ne réussit qu'une fois sur trois, alors que l'infection de parties plus proches (5 cm) donne des taux de réussite voisins de 100 p. cent. En ce qui concerne les plants adultes, l'inoculation de la périphérie du chevelu racinaire par trempage dans une suspension de zoospores, si elle provoque l'infection de la zone d'élongation des racines, n'entraîne pas l'apparition des symptômes de la pourriture du coeur ; ces symptômes peuvent être obtenus avec un taux de réussite de 8 sur 10 chez Singapore canning ou chez Queen en inoculant, par une suspension de zoospores, la jeune racine adventive émergeant des tissus de la tige. Cette racine est le prolongement d'une racine intracaulinaire à laquelle s'adjoignent un rhizoderme et un exoderme. Dès sa sortie de la tige, si les conditions ne sont pas favorables, la racine arrête son développement et sa coiffe se subérise. On observe entre les bases foliaires et en dessous, un grand nombre de ces «primordium» de couleur brune, en sommeil, qui sont réfractaires à l'infection. Quand les conditions redeviennent favorables, la croissance des racines adventives reprend, la coiffe subérisée éclate pour laisser se développer une nouvelle extrémité racinaire qui s'insinue entre les bases foliaires desséchées. Le parasite peut pénétrer facilement dans cette racine en croissance et le mycélium atteint alors dans la souche les cellules initiales des racines adventives par la racine intracaulinaire dont il colonise les tissus corticaux ; de là, il envahit rapidement toute la souche et les bases foliaires provoquant l'apparition des symptômes de la pourriture du coeur.

TABLEAU 2 - Résistance à l'écrasement de racines inoculées par la souche 308. Test sur 20 extrémités racinaires de cinq millimètres de long.

Cultivar	temps après mise en contact	inoculum	écrasement sous 50 g	écrasement sous 100 g
témoin	24 heures	néant	-	-
témoin	48	néant	-	-
Cayenne lisse	24	zoospores	-	-
Cayenne lisse	48	zoospores	***	***
Singapore canning	24	zoospores	*	***
Queen	24	zoospores	***	***
Queen	24	mycélium	*	**

- : aucune racine écrasée * : 0-30 p. cent,
*** : 60-100 p. cent de racines écrasées

** : 30-60 p. cent

Inoculation par le mycélium seul ou portant des sporocystes.

Nous avons utilisé, outre les zoospores, le mycélium lavé comme inoculum. On constate alors que la pénétration dans les tissus de la racine est possible dans les mêmes conditions que celles décrites pour la zoospore, cependant la rapidité de l'infection est moins grande. On peut le vérifier microscopiquement en observant que la pénétration n'intervient que six à douze heures après mise en contact, ou expérimentalement en testant par écrasement les extrémités racinaires inoculées, entre lame et lamelle sous un poids de cinquante ou cent grammes.

Le tableau 2 permet de constater la lenteur de l'infection avec le mycélium comme inoculum.

L'inoculation par du mycélium porteur de nombreux sporocystes nous a permis de constater que les pénétrations à partir du tube germinatif du sporocyste étaient possibles, cependant, la plupart des pénétrations dénombrées dans ces expériences étaient le fait de zoospores produites pendant l'incubation.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Lors de notre étude, nous n'avons utilisé que les zoospores, le mycélium ou les sporocystes, comme inoculum. Chlamydozoospores et oospores pourraient aussi intervenir. En ce qui concerne la chlamydozoospore, KO et CHAN ont montré en 1974 qu'elle avait un pouvoir infectieux plus élevé que les zoospores ou que les sporocystes. Dans le sol, milieu pauvre, les chlamydozoospores germent en produisant des sporocystes (TSAO, 1969) où s'individualisent des zoospores (en présence d'eau), le processus infectieux se réalise donc par des zoospores. On sait d'autre part que les

Phytophthora (excepté le *Phytophthora cinnamomi* ZENTMYER et MIRCETICH, 1966) ont une croissance mycélienne pratiquement nulle dans le sol (HINE et TRUJILLO, 1966, SNEH et Mc INTOSH 1974, KUHLMAN, 1964), et de ce fait le mycélium intervient peu lors des infections. Le rôle des oospores dans l'infection est encore mal connu ; il est donc possible de considérer la zoospore comme la propagule la plus dangereuse et la plus fréquente dans le sol, le tactisme qu'elle manifeste vis-à-vis des exsudations de la plante hôte lui permet d'atteindre les parties les plus sensibles de la plante. Au niveau du système racinaire ces parties sont les extrémités des racines en croissance ainsi que les blessures causées naturellement par la saillie des radicules.

Si la faible colonisation des tissus racinaires par le *P. palmivora* ou le *P. nicotianae* var. *parasitica*, montre que ces champignons n'ont pas une vocation de parasites de racine, il n'en reste pas moins qu'ils peuvent utiliser ces racines comme voie de passage vers la tige, surtout quand le point d'infection est proche de celle-ci. En période sèche, l'arrêt de la croissance des racines adventives interdit toute infection. Ce n'est qu'après une période de pluie ou d'arrosage qui coïncide malheureusement avec l'apparition dans le sol des organes de dispersion et d'infection les plus efficaces du parasite, que la reprise de croissance restaure les possibilités de pénétration. L'infection des jeunes racines adventives peut alors aboutir rapidement à l'apparition des symptômes de la pourriture du coeur.

BIBLIOGRAPHIE

BABACAUH (K.D.). 1969.

Quelques observations sur les interactions entre le *Phytophthora palmivora* et quelques hôtes.

Rapport de stage, ORSTOM, Brazzaville, 45 p.

- BOHER (B.). 1972.
Les interactions entre le *Phytophthora palmivora* (BUTL.) BUTL. et la plantule de l'*Hibiscus sabdariffa*.
Rapport de stage, ORSTOM, Brazzaville, 60 p.
- BOHER (B.). 1974.
La pourriture du coeur de l'ananas : Etude histologique de l'infection par le *Phytophthora palmivora*.
Fruits, vol. 29, n°11, p. 721-726.
- GURR (E.). 1965.
The rational use of dyes in biology.
Leonard Hill, London, 422 p.
- HICKMAN (C.J.). 1970.
Biology of *Phytophthora* zoospores.
Phytopathology, 60, 7, p. 1128-1135.
- HINE (R.B.) et TRUJILLO (E.E.). 1966.
Manometric studies on residue colonization in soil by *Pythium aphanidermatum* and *Phytophthora parasitica*.
Phytopathology, 56, 3, p. 334-336.
- KHEW (K.L.) et ZENTMYER (G.A.). 1973.
Chemotactic response of zoospores of five species of *Phytophthora*.
Phytopathology, 63, 12, p. 1511-1517.
- KO (W.H.) et CHAN (M.J.). 1974.
Infection and colonization potential of sporangia, zoospores and chlamydospores of *Phytophthora palmivora* in soil.
Phytopathology, 64, 10, p. 1307-1309.
- KUHLMAN (E.G.). 1964.
Survival and pathogenicity of *Phytophthora cinnamomi* in several Western Oregon soils.
Forest Sci., 10, p. 151-158.
- MEYER cité dans KRAUSS (B.H.). 1949.
Anatomy of the vegetative organs of the pineapple *Ananas comosus* (L.) MER. III.- The root and the cork.
The Bot. Gaz., 110, p. 550-586.
- OXENHAM (B.L.). 1957
Diseases of the Pineapple.
Queensland Agricultura Journal, 83, p. 13-26.
- SNEH (B.) et Mc INTOSH 1974 .
Studies on the behaviour and survival of *Phytophthora cactorum* in soil.
Can. J. Bot., 52, 4, p. 795-802.
- TSAO (P.H.). 1969.
Studies on the saprophytic behaviour of *Phytophthora parasitica* in soil.
In Proceeding First International Citrus Symposium, vol. 3, H.D. CHAPMAN (ed.), p. 1221-1230.
- WATERHOUSE (G.M.). 1970.
The genus *Phytophthora* de Bary.
Mycological papers n 122. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, p. 35.
- ZENTMYER (G.A.) et MIRCETICH. 1966.
Saprophytism and persistence in soil by *Phytophthora cinnamomi*.
Phytopathology, 56, 6, p. 710-712.
- ZENTMYER (G.A.). 1970.
Tactic response of zoospores of *Phytophthora*.
In Root diseases and soil born pathogens, édité par Toussoun, University of California, p. 109-111.

