

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE ET DE L'ACIDITÉ SUR LE DÉVELOPPEMENT EN CULTURE DE *THIELAVIOPSIS PARADOXA*, PARASITE DE L'ANANAS

par **P. FROSSARD**

Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer.

Thielaviopsis paradoxa est un champignon répandu dans le monde entier sur de nombreux hôtes : palmiers, canne à sucre, bananier. Sur l'ananas, il est responsable de certaines pourritures de rejets et surtout d'une très grande partie des pourritures des fruits exportés en frais. C'est un parasite de blessures très actif et les planteurs connaissent bien l'importance des soins à apporter pour éviter tout choc, meurtrissure, plaie au moment de la coupe et de l'emballage. Cependant on observe, de temps à autre, un pourcentage important de fruits avariés après le transport réfrigéré. Celui-ci s'effectue, pour les ananas de Côte d'Ivoire, à bord de navires bananiers, dans les cales à 12° C où voyagent également les bananes. D'autre part, on a constaté que les fruits relativement peu acides sont sujets à beaucoup plus d'accidents que les fruits au même degré de maturité mais plus acides.

Les ouvrages classiques (ROGER) indiquent simplement pour *T. paradoxa* une température optimale de développement de 25° C et des températures limites de croissance de 10° C pour le minimum et 35° C pour le maximum. Aucune précision n'est donnée sur le rôle de l'acidité. Aussi avons-nous essayé, dans la mesure de nos moyens, de préciser l'influence de ces deux facteurs.

Influence de la température.

— Conditions de l'expérimentation.

Nous avons choisi le critère classique de l'accroissement du diamètre d'une

colonie se développant en boîte de Pétri sur milieu gélosé. La souche utilisée a été isolée en novembre 1962 à partir de déchets d'ananas pourrissant et le milieu de culture retenu le P. D. A. (bouillon de pomme de terre glucosé gélosé). On a pu simultanément disposer de 8 niveaux thermiques différents réalisés grâce à des étuves bactériologiques ou des chambres froides.

— Résultats.

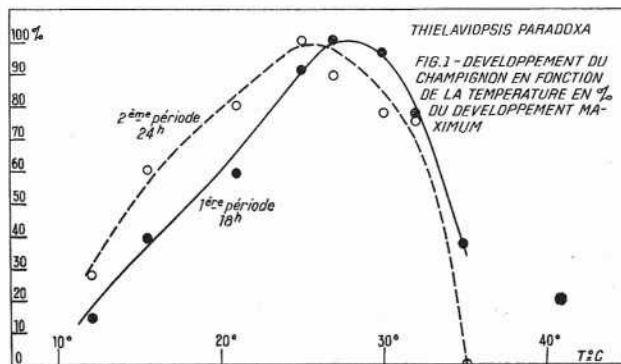
Le tableau I indique les accroissements moyens (sur dix boîtes de Pétri)

pendant les 18 premières heures, puis les 24 heures suivantes. Le troisième jour, les traitements 25°, 27°, 30° et 32° C arrivaient au bord des boîtes.

Graphiquement, la figure I montre le développement du champignon, en % du maximum, pendant la première période de 18 h (phase d'installation) et pendant la deuxième période de 24 h, phase de croissance très active et rapide. On voit au premier coup d'œil que ces courbes ne coïncident pas. La rapidité de « démarrage » est maximum autour de 27° C alors que, pour la phase suivante, le maximum de déve-

TABLEAU I
Accroissements des colonies de *Thielaviopsis paradoxa* en fonction de la température (en mm et par périodes successives)

Températures	1ère période 18 h	2e période 24 h	3e période 24 h	4e période 48 h
12°	3,8	10,6	7,6	13,7
15°5	9,8	22,7	16,0	
21°	14,9	30,2	27,0	
25°	23,2	37,9		
27°	25,2	33,7		
30°	24,3	29,3		
32°	19,6	29,1		
35°	9,2	0		



loppement se situe au voisinage de 25° C. A 35° C, le champignon arrive à démarrer mais, par la suite, son développement est complètement arrêté; l'organisme est même tué car si, après quatre jours à 35° C, on le replace à une température plus favorable, il ne se développe plus. On peut considérer que le démarrage et la croissance sont très bons entre 21° et 32° C, c'est-à-dire aux températures tropicales.

La figure 2 indique l'accroissement des colonies en fonction du temps écoulé depuis l'ensemencement. Il apparaît nettement que, pour les températures inférieures à l'ambiance tropicale, le démarrage est assez lent et suivi d'une croissance plus ou moins rapide selon la température. Il est très intéressant de remarquer que, même à 12° C, le développement de *Thielaviopsis paradoxa* est loin d'être nul. Ce fait a été signalé depuis longtemps par WARDLAW qui indique que, parmi les champignons responsables des pourritures des bananes pendant le transport, seuls *Thielaviopsis paradoxa* et *Botryodiplodia theobromae* peuvent encore croître à 12° C. Remarquons cependant que les auteurs s'accordent pour reconnaître que le *Thielaviopsis paradoxa* trouvé sur les bananes est une forme physiologique dont les caractères ne sont pas forcément les mêmes que ceux du parasite de l'ananas. A 15°5, la croissance est nettement ralentie par rapport à 25° C par exemple, mais beaucoup plus rapide qu'à 12° C. C'est un point important, car cela peut nous donner une idée de ce qui se passe si, accidentellement, la température des fruits s'élève pendant le transport.

Influence de l'acidité.

— Méthode d'expérimentation.

Dans une étude de croissance selon l'acidité du milieu, il est indispensable d'utiliser des milieux tamponnés dont le pH ne varie pas trop du début à la fin de l'expérience. C'est pourquoi il a été décidé de tamponner le milieu de culture avec des tampons phosphatés.

Un essai préliminaire (tableau II) a montré que la croissance de *Thielaviopsis paradoxa* au bout de 6 jours —

mesurée d'après le poids sec du mycélium exprimé en milligrammes — n'était pas entravée à pH 6,0 par de très fortes quantités de phosphate de potassium, les concentrations allant de 0,02 à 0,2 molécules de PO₄ par litre de milieu et le milieu nutritif étant un bouil-

lon de 100 g de pomme de terre par litre additionné de 10 g de glucose. On a pu constater que le pH des témoins non tamponnés passait de 6,5 à 7,4 en fin d'expérience et que le tampon jouait fort bien son rôle.

Trois essais définitifs ont donc été

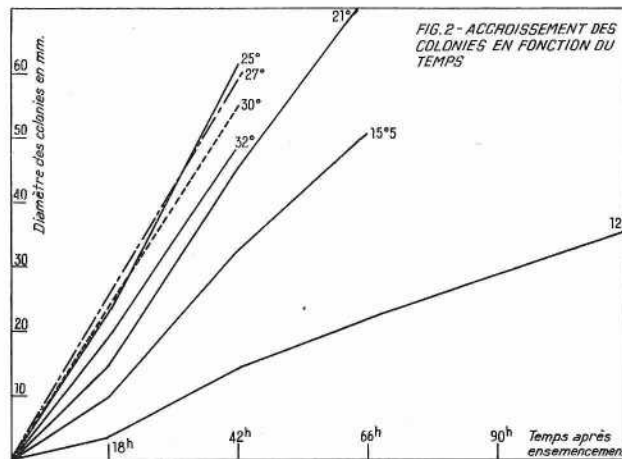


TABLEAU II
Effets de quantités croissantes de phosphates sur le développement végétatif de *Thielaviopsis paradoxa*

Concentration en phosphates	pH initial	pH final	Mycélium récolté poids sec en mg. (moyennes sur 4 répétitions)
0	6,5	7,4	236,6
0,02 M	6,1	6,3	292,5
0,04 M	6,1	6,3	279,9
0,1 M	6,1	6,15	286,1
0,2 M	5,95	6,0	318,4

TABLEAU III
Composition des tampons phosphates utilisés

N° du traitement	pH théorique	PO ₄ H ₃ 0,2 M	PO ₄ H ₂ K 0,2 M	PO ₄ HK ₂ 0,2 M
1	3,0	18 ml	32 ml	—
2	3,9	7	43	—
3	5,1	1	49	—
4	6,1	—	42	8 ml
5	7,1	—	14	36

TABLEAU IV
Influence du pH du milieu de culture sur la croissance de *Thielaviopsis paradoxa*. Résultats globaux.

Traitement	1er Essai			2e Essai			3e Essai		
	pH initial	pH final du filtrat	Mycélium * 7 répétitions	pH initial	pH final du filtrat	Mycélium * 5 répétitions	pH initial	pH final du filtrat	Mycélium * 8 répétitions
1	2,45	2,45	219,4	2,45	2,50	205,1	2,45	2,50	186,3
2	2,85	3,05	192,8	3,80	4,05	250,4	3,15	3,15	224,8
3	4,60	4,90	190,6	4,90	5,50	242,2	4,60	5,25	228,0
4	6,05	6,15	255,1	5,90	6,10	255,7	5,90	6,20	254,9
5	7,05	7,10	178,9	7,05	7,05	206,2	7,05	7,20	232,6
Témoin non tamponné	5,1	7,0	224,2	5,55	7,80	249,5	6,30	7,30	228,5

* - poids sec en mg

mis en place successivement en utilisant la technique suivante :

Erlenmeyer de 250 ml.

Milieu de culture : 50 ml de bouillon de pomme de terre glucosé ordinaire.

Tampon : 50 ml de solution de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}_2$, 0,2 M.

Inoculum : 1 ml de suspension de spores prises sur une culture sur P. D. A. âgée de 6 jours.

Agitation sur agitateur alternatif pendant 6 jours à la température ambiante qui a varié entre 25 et 30° C.

Filtration sur filtres tarés en papier.

Lavage à l'eau distillée.

Dessiccation à 95° C pendant 24 h.

Pesée finale.

Les pH choisis (selon la technique utilisée par CALPOUZOS) sont indiqués dans le tableau III. En réalité, l'acide phosphorique étant plus concentré que prévu, les pH réels n'ont pas été exactement ceux qu'on attendait. Les pH ont été mesurés après stérilisation et en fin d'essai avec un pHmètre Beckman. On a constamment réservé des témoins nonensemencés et tamponnés jusqu'à la fin de l'essai.

— Résultats.

Quelques contaminations bactériennes reconnaissables à l'aspect blanchâtre et à l'odeur désagréable du milieu ont conduit à éliminer certaines fioles.

L'évolution normale du contenu des fioles est la suivante. Le premier jour,

le milieu liquide est hyalin, de couleur jaune clair. Dès le second jour, il se trouble. Le troisième jour, les traitements extrêmes pH 2,45 et pH 7 sont remplis de glomérules blancs, tandis que tous les autres sont remplis de glomérules grisâtres. Cette couleur est due à la formation de chlamydozoospores foncées. En fin d'expérience, les Erlenmeyer contiennent tous une masse de glomérules parfaitement noirs. Le filtrat est absolument hyalin et jaune.

Le tableau IV donne l'ensemble des résultats obtenus. On peut faire plusieurs remarques :

1° la croissance est bonne pour l'ensemble des traitements. Les variations sont faibles à l'intérieur d'un traitement mais importantes d'un essai à l'autre et on ne peut pas dire que les différences d'un traitement à l'autre se reproduisent.

2° Il se dégage cependant l'impression que le pH optimum pour la croissance de *Thielaviopsis paradoxa* se situe aux environs de pH 6,0.

3° Les deux pH extrêmes 2,45 et 7,05 semblent généralement freiner la végétation du champignon.

Conclusion.

Ces deux tentatives pour préciser l'importance relative des facteurs température et pH sur le développement de *Thielaviopsis paradoxa* permettent de

penser que ce champignon est capable de s'adapter à des situations fort diverses. Sa croissance est bonne pour tous les pH essayés et, si l'on se souvient que le pH des fruits arrivés au point normal de coupe varie entre 3,5 et 4,0 (HUET), on ne peut pas attribuer aux variations de pH la fragilité de certains fruits frais peu acides. Il faudrait étudier les variations d'acidité totale, problème assez complexe, car il s'agit d'une augmentation ou d'une diminution des acides organiques (acides citrique et malique principalement) qui peuvent entrer dans le métabolisme du champignon.

Ce petit essai à huit niveaux thermiques est extrêmement instructif. Il manque des données sur le développement en dessous de 12° C et, en particulier, nous n'avons pas déterminé à partir de quelle température celui-ci s'annule tout à fait, mais nous pouvons confirmer encore le conseil inlassablement répété aux exportateurs d'ananas frais qui est de réduire au maximum l'écart coupe-chargeement. Lorsqu'un champignon progresse d'environ 4 cm par 24 h à 25° C, il n'est pas vain d'affirmer que toutes les heures comptent.

Laboratoire de Phytopathologie
de la Section I. F. A. C.
de Côte d'Ivoire.

BIBLIOGRAPHIE

(1) HUET R. — A propos de l'acidité du jus d'ananas. Fruits 14, 2, p. 83-85, 1959.

(2) ROGER L. — Phytopathologie des pays chauds. Tome II — Lechevalier, Paris, 1953.

(3) WARDLAW C. W. — Banana diseases. Longmans, Londres, 1961.

