

La pourriture du coeur de l'ananas

Etude histologique de l'infection par *Phytophthora palmivora* (BUTL.) BUTL.

Pénétration active du parasite dans les organes aériens

B. BOHER*

LA POURRITURE DU COEUR DE L'ANANAS
Etude histologique de l'infection par *Phytophthora palmivora*
(BUTL.) BUTL.

B. BOHER

Fruits, nov. 1974, vol. 29, n°11, p.

RESUME - Une recherche de la voie de pénétration dans la rosette foliaire démontre qu'en dehors des blessures, la pénétration ne s'effectue que par les trichomes en voie de développement. Les trichomes plus âgés aussi bien que l'épiderme interdisent toute pénétration, laquelle ne peut être observée, par ailleurs, dans les stomates. Dans les parties plus âgées des feuilles (zones chlorophylliennes), le développement mycélien est ralenti, et des infections intervenant à la suite de blessures gagnent rarement la totalité du plant.

Le problème des pourritures de l'ananas provoquées par des Phytophthora est très important, mais en Côte d'Ivoire il était jusqu'à ces dernières années limité à la pourriture des jeunes rejets après replantation, et quasi uniquement sur des sols lourds. La pourriture des plants adultes au stade post-floral est apparue plus récemment et ce, également pour des sols légers. C'est une des préoccupations essentielles des phytopathologistes, d'où l'intérêt de l'étude de B. BOHER qui précise la pénétration de P. palmivora par les feuilles, à la base de celles-ci, à l'intérieur de la rosette foliaire.

J. BRUN

INTRODUCTION

SIDERIS et PAXTON ont montré, dans une étude sur la pourriture du coeur de l'ananas à Hawaï, que l'agent responsable était un *Phytophthora* ; trois espèces furent isolées par ces auteurs : *Pseudopythium phytophthoron* (en réalité *Phytophthora meadii* d'après WATERHOUSE), *Phytophthora melongenae* et *Phytophthora meadii*. OXENHAM attribue la maladie, dans le Queensland, à deux espèces : le *Phytophthora cinnamomi* RANDES et le *Phytophthora parasitica* BUTL. Plusieurs souches récoltées par FROSSARD

sur des ananas atteints de pourriture du coeur en Côte d'Ivoire sont conservées au laboratoire, certaines ont été déterminées par RAVISE comme appartenant à l'espèce *palmivora* (BUTL.) BUTL. Les isolements plus récents utilisés lors de nos travaux et récoltés par FROSSARD dans le même pays se rattachent à cette espèce.

N'ayant pas trouvé dans la bibliographie d'article récent traitant des modalités de l'infection par le *Phytophthora palmivora*, nous avons pensé utile de préciser les voies de pénétration de ce parasite dans les tissus de l'ananas.

* - Office de la Recherche scientifique et technique Outre-Mer
Centre de Brazzaville, B.P. n 181 - Brazzaville (République populaire du Congo).

avec la collaboration technique de P. NDONGO.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Trois cultivars d'ananas ont été utilisés lors de cette étude : Cayenne lisse, Singapore canning et ananas d'origine locale appartenant au groupe Queen. L'âge des individus pendant les inoculations variait de cinq à huit mois. Une dizaine de souches fournies par FROSSARD (IFAC Côte d'Ivoire) a servi aux inoculations; la similitude de leurs pouvoirs pathogènes nous a permis d'en conserver une seule pour l'ensemble des observations. Les zoospores du parasite furent obtenues par la méthode habituelle au laboratoire (culture sur milieu Lima Bean Agar DIFCO, initiation de la production de sporocystes par immersion dans de l'eau stérile et exposition à la lumière, libération des spores après choc thermique). Le mycélium provenait de cultures sur Lima Bean Agar ou sur extrait de pois liquide. L'inoculation de la feuille est obtenue par dépôt d'une suspension de zoospores à la surface d'une feuille excisée dont les extrémités sont obturées par de la paraffine ou par un tampon mycélien préalablement lavé et recouvert de cellulose humide. Nous avons fixé les tissus pour l'étude histologique dans un mélange d'alcool, de formol et d'acide acétique ou dans de la navashine. Des coupes ont été réalisées après inclusion à la paraffine. Plusieurs colorations nous ont été utiles pour l'observation du parasite : bleu coton - lactophénol, safranine - vert lumière, noir chlorazol, bleu de Nil. En ce qui concerne la localisation rapide du mycélium dans les tissus, celle-ci fut grandement facilitée par l'emploi d'une coloration à l'orangé d'acridine (GURR) et l'observation en lumière ultraviolette ; après quelques minutes de coloration, les hyphes prennent une teinte rouge brique contrastant sur le vert des tissus foliaires.

RÉSULTATS

La disposition particulière des feuilles de l'ananas, en rosette, est très favorable à l'infestation par le parasite ; les sporocystes ou les spores du *Phytophthora* peuvent être amenées entre les feuilles par l'eau de ruissellement ou les éclaboussures d'eau et de terre humide produites lors de fortes pluies (OXENHAM). Nous nous sommes donc intéressés en premier lieu à la pénétration active du parasite au niveau des bases foliaires.

Lorsque l'on dépose, dans le cœur de la rosette ou entre des feuilles plus âgées, une suspension de zoospores, les symptômes de la maladie apparaissent rapidement sur les feuilles sous l'aspect de taches décolorées translucides à marges brunes. Quatre jours après l'inoculation le mycélium est présent dans les tissus des feuilles et de la tige comme l'indique la figure 1.

La grande majorité des zoospores s'accumule à un ou deux centimètres de la base de la feuille dans les interstices; quelques spores gagnent des parties plus basses et ceci plus facilement au centre de la rosette. L'observation du comportement des zoospores au contact des bases foliaires excisées nous a donné les résultats suivants:

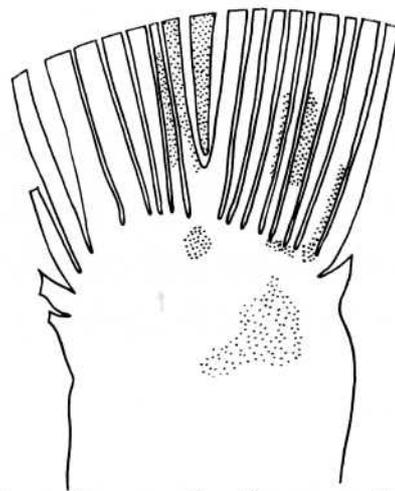


fig. 1 • Coupe dans une tige d'ananas quatre jours après inoculation montrant l'extension du développement parasitaire.

..... présence de mycélium

Les zoospores qui nagent dans la goutte d'eau à la surface de la feuille montrent un tactisme très net vers les trichomes qui la couvrent ; ce phénomène intéresse les poils qui sont encore à un stade jeune, avant le stade D (l'évolution des trichomes au cours de la croissance de la feuille est représentée sur la figure 2, les légendes sont empruntées à KRAUSS). Le trichome a pour origine une cellule épidermique qui se divise en deux, la cellule inférieure ne se divisera plus, c'est la cellule pied; la supérieure donnera naissance à la coupole, la cellule centrale et les cellules mères du disque ; ces dernières par division formeront une couche monocellulaire ayant l'aspect d'un plateau à contour subcirculaire, le disque. Jusqu'au stade C les cellules du disque restent vivantes ; avec l'âge, les plus externes perdent leur cytoplasme et progressivement toutes les autres sauf celles du centre ; les parois supérieures disparaissent, les inférieures s'épaississent et se lignifient (stade D). Sur les jeunes trichomes, une demi-heure après la mise en contact, les cystes accumulés en grand nombre à la surface du disque, commencent à germer. Ils produisent un tube germinatif qui rapidement forme un appressorium de faible diamètre (deux fois celui du tube germinatif au maximum) souvent indiscernable. A partir de l'appressorium se développe une hyphe de pénétration exclusivement intercellulaire écartant les parois des cellules du disque (figure 3 et photo 1) ; l'hyphe traverse le disque, et, ayant atteint sa face inférieure, elle se dirige invariablement vers le pied du trichome montrant un tropisme positif vers la coupole et la cellule centrale. Dans le cas le plus général, le mycélium pénètre dans la cellule coupole en devenant intercellulaire, il rejoint la cellule pied et les cellules auxiliaires où il redevient intercellulaire. Quelquefois, le mycélium s'insinue entre la cellule centrale et l'épiderme, pénétrant alors directement dans la cellule pied. Lorsque la pénétration intervient dans la zone centrale du disque, le trajet suivi par le mycélium est celui indiqué sur la figure 3.

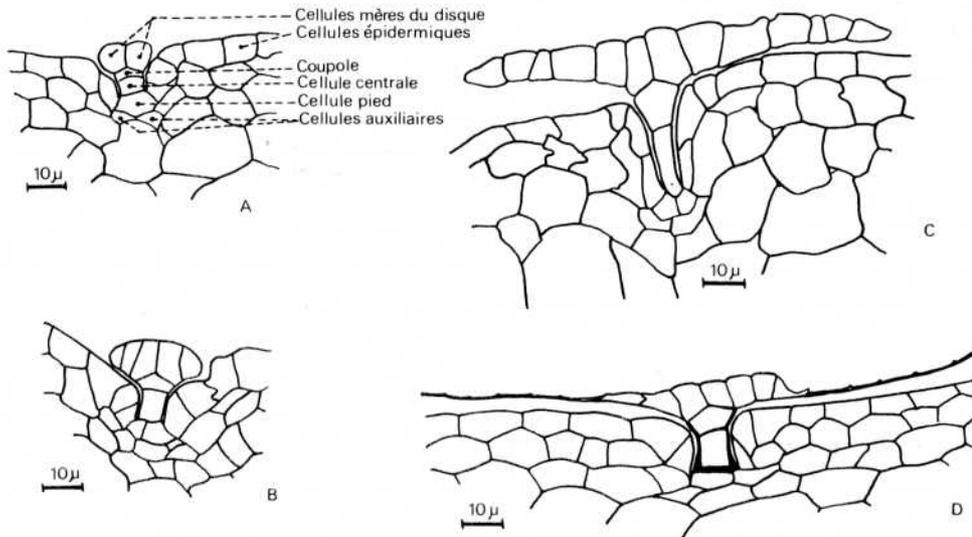


fig. 2 • Quelques stades de développement du trichome au cours de la croissance de la feuille.

Les zoospores qui s'encystent à la surface de l'épiderme sont peu nombreuses et leur tube germinatif, lorsqu'elles sont proches d'un trichome, croît en direction de ce dernier où intervient la pénétration ; dans les autres cas, la croissance continue jusqu'à épuisement des réserves de la cystospore, l'appressorium fait défaut, la pénétration n'a pas lieu.

Il est à noter que dans les parties les plus basses de la feuille (régions où les trichomes sont au stade A et inférieures), les spores s'encystent au hasard sur toute la surface

foliaire, les phénomènes de tactisme et de tropisme vers les trichomes sont inexistants. La pénétration entre deux cellules a lieu rapidement après formation d'un appressorium. Nous avons vu qu'au cours de la croissance du poil les cellules les plus externes du disque se vidaient de leur contenu cytoplasmique, perdaient leur paroi supérieure et voyaient leur paroi inférieure se lignifier ; dans les premiers stades de ce dépérissement, la pénétration est encore possible, cependant progressivement, à partir du stade D, la pénétration active devient irréalisable ; les appressoriums prennent une forme inhabituelle allongée, l'hyphes de pénétration qui se développe ne traverse pas la paroi cellulaire et croît en surface. Même sur les cellules centrales du disque, restées vivantes, la pénétration échoue. Dans les zones où les trichomes sont au stade D et au-dessus, les disques recouvrent complètement la surface foliaire et représentent une barrière infranchissable par le parasite, doublant celle de l'épiderme.

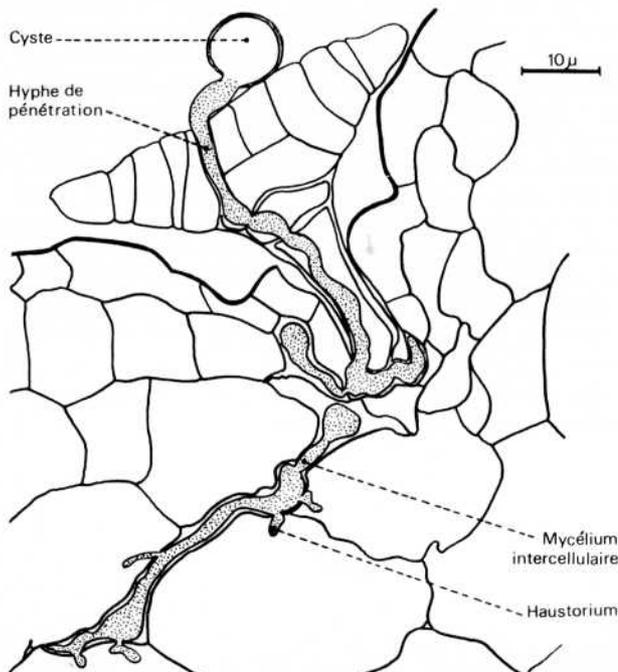


fig. 3 • Pénétration au niveau d'un trichome. Coupe transversale huit heures après inoculation.

La coloration par la fuchsine ammoniacale (GURR) permet de mettre en évidence la présence d'une cuticule à la surface des cellules épidermiques (photo 2). Cette cuticule n'est pas décelable à l'origine foliaire, elle le devient à un niveau où les trichomes sont au stade A, elle s'épaissit avec l'âge au cours du développement de la feuille. Les trichomes, jusqu'à un stade intermédiaire entre C et D, ont une surface totalement dépourvue de cuticule ; ultérieurement, les parois externes des cellules centrales du disque, de la coupole et de la cellule centrale, se cutinisent. La cuticule semble donc responsable du blocage de la pénétration sur l'épiderme ainsi que sur les trichomes âgés. D'autre part, les différences dans le revêtement cuticulaire pourraient expliquer le tactisme des spores et le tropisme des tubes germinatifs ; on sait que la présence de la cuticule est un frein à la diffusion de substances des cellules épidermiques vers l'extérieur, celle-ci est donc prépondérante au niveau des trichomes. Ce phénomène est vérifiable en sens inverse après

coloration à l'orangé d'acridine ; les trichomes prennent rapidement une teinte rouge brique alors que le reste de la feuille conserve une couleur verte, le contenu des cellules épidermiques ne prend que tardivement la couleur rouge sauf près des blessures où l'entrée du colorant est rapide. De plus, l'examen des coupes montre que les cellules du trichome ont un contenu cellulaire plus dense que les cellules adjacentes ; elles sont en division active, ce qui implique un métabolisme élevé favorisant la diffusion de métabolites vers l'extérieur ; comme on sait que les spores de *Phycomycètes* sont sensibles à de nombreux exsudats cellulaires (HICKMAN et HO), on peut penser que les composés filtrant à travers la paroi des trichomes représentent un stimulus pour le parasite.

Certains trichomes perdent leur disque, celui-ci étant arraché, la partie restante est facilement colonisée par le parasite et représente une porte d'entrée dans le mésophylle en des régions où sa surface est habituellement inviolable.

Les phénomènes qui viennent d'être décrits se produisent aussi bien à la face inférieure qu'à la face supérieure de la feuille. Il est à noter que la face inférieure est pourvue de stomates, ce qui n'est pas le cas pour l'autre face ; cependant, nous n'avons pas observé de pénétration par cette voie ; les tubes germinatifs de spores en croissance près d'une ouverture stomatiforme ne montrent pas de tropisme particulier vers celle-ci.

La colonisation du mésophylle est rapide : huit heures après inoculation, le mycélium est observé dans le tissu aquifère sous les trichomes (figure 3 et photo 3), en vingt-quatre heures tout le tissu aquifère est colonisé, en quarante-huit heures l'infestation de la feuille intéresse toute son épaisseur, le mycélium toujours intercellulaire est présent dans tous les tissus, il est particulièrement abondant dans les méats du tissu aérifère ainsi qu'entre les cellules des cordons transversaux joignant les vaisseaux. La présence du parasite provoque la dissociation de l'édifice cellulaire, vraisemblablement par l'action d'enzymes pectinolytiques ; on note en effet très souvent un décollement des parois de cellules voisines et une augmentation corollaire de la taille des méats. Pendant les premières phases du développement parasitaire, nous n'avons pas observé de réactions particulières de cellules de l'hôte freinant la croissance des hyphes. Les phénomènes tardifs de nécrose semblent avoir peu d'effet sur le mycélium, cependant, leur étude détaillée n'a pas été entreprise, elle le sera ultérieurement. La vitesse de colonisation de la feuille par le parasite est indépendante des cultivars étudiés. Il ne semble donc pas que la différence de sensibilité constatée entre le Cayenne lisse et le Singapore canning (FROSSARD, communication personnelle) puisse trouver son explication dans une réaction différentielle

des tissus de l'hôte au cours des premières phases de l'infection.

Deux à trois jours après l'inoculation apparaissent, à la face supérieure et à la face inférieure, des bouquets de mycélium ayant pour origine les trichomes ou les stomates, ce mycélium porte des sporocystes en grand nombre. Dans l'espace interfoliaire l'humidité importante est favorable à la maturation des sporocystes et à la production de zoospores qui iront contaminer les feuilles adjacentes provoquant une rapide extension du parasite dans la rosette. Le mycélium issu de la germination indirecte des sporocystes et celui provenant de la feuille peuvent être responsables de nouvelles contaminations, l'inoculation de feuilles excisées par des hyphes obtenues en culture le prouve. Le mycélium en croissance manifeste un tropisme vers les trichomes comme les tubes germinatifs des cystes. La pénétration a lieu après formation d'un appressorium et son succès est soumis aux mêmes restrictions que celles qui apparaissent lors de l'infection avec la zoospore comme inoculum.

CONCLUSION

Le *Phytophthora palmivora* (BULT.) BUTL. est susceptible de pénétrer activement dans les tissus foliaires de l'ananas ; seuls les trichomes en croissance permettent la pénétration directe, les trichomes plus âgés et la surface épidermique l'interdisent. Les trichomes représentent donc à la fois une porte d'entrée pour le parasite (au niveau des bases foliaires) et une barrière supplémentaire (dans les parties plus âgées de la feuille).

Pour que l'infection de la rosette ait lieu, il est nécessaire, en l'absence de blessures, que les spores ou le mycélium atteignent les régions les plus basses de la feuille. Ce fait s'accorde avec les observations d'OXENHAM : selon cet auteur, les plants issus de bulbilles sont plus sensibles que ceux obtenus à partir de cayeux, les premiers ayant une rosette plus ouverte. Les bases foliaires en général et plus particulièrement celles des jeunes feuilles permettent l'extension rapide du parasite, ce sont donc les pénétrations à ce niveau qui mettent l'ananas dans la situation la plus défavorable. Le développement du mycélium dans les parties plus âgées des feuilles est ralenti et des infections intervenant à la suite de blessures dans les régions chlorophylliennes ont moins de chances de s'étendre à la totalité du plant.

Des travaux sont en cours portant sur les modalités de l'infection par le système racinaire.

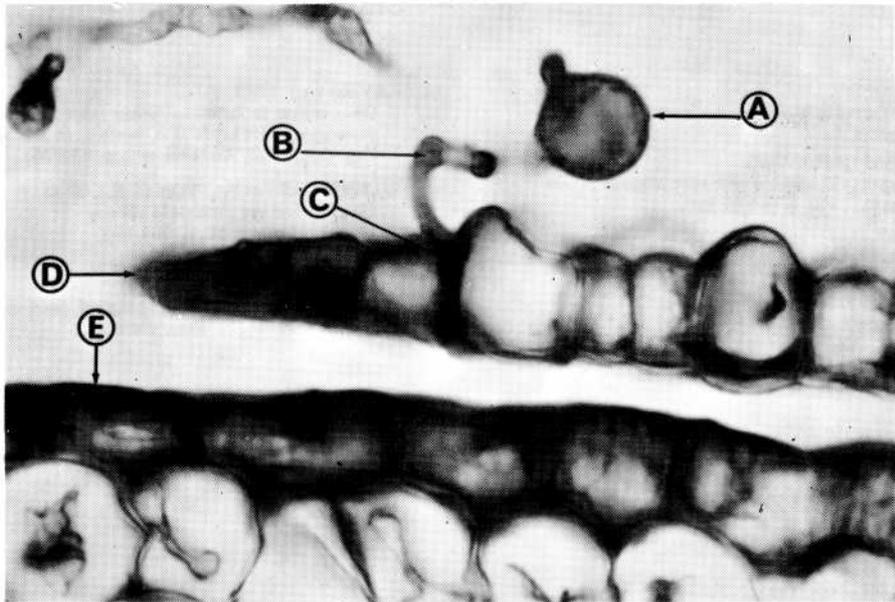


Photo 1. Cyste en pénétration sur le disque d'un trichome de feuille d'ananas, trois heures après l'inoculation. Coloration noir chlorazol.

A - cyste B - Tube germinatif C - hyphe de pénétration
D - disque E - épiderme

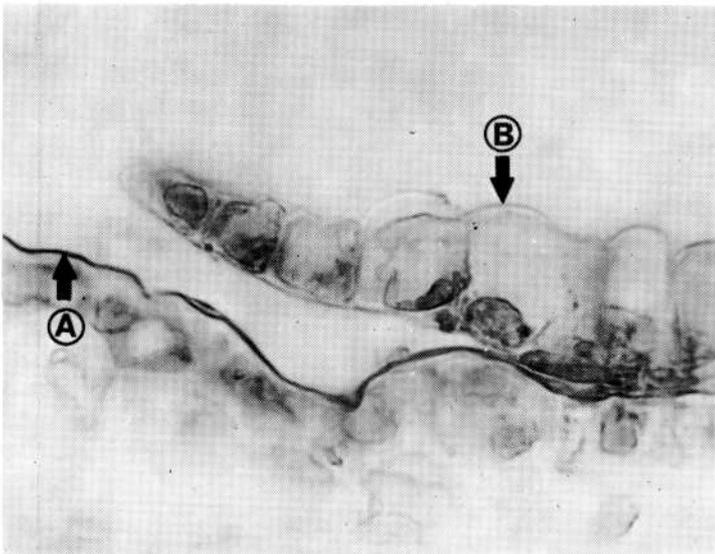


Photo 2. Coupe transversale dans une feuille d'ananas montrant la présence d'une cuticule à la surface de l'épiderme (A) et son absence sur le disque du trichome (B). Coloration : Fuchsine ammoniacale.

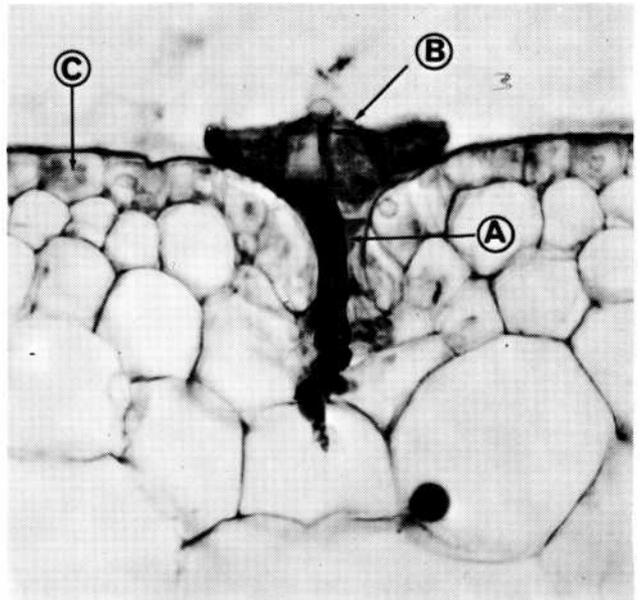


Photo 3. Début d'infection du mésophylle à partir d'un trichome. Coloration Safranine - Vert lumière.
A - Mycélium B - Trichome C - Epiderme

BIBLIOGRAPHIE

- GURR (E.). 1965.
The rational use of dyes in biology.
Leonard Hill, London.
- HICKMAN (C.J.) et HO (H.H.). 1966.
Behaviour or zoospores in plant pathogenic phycomycetes.
Ann. Rev. Phytopatho., vol. 4, p. 195-220.
- KRAUSS (B.H.). 1949.
Anatomy of the vegetative organs of the pineapple *Ananas comosus* (L.) MERR. II. The leaf.
The Bot. Gaz., vol. 110, p. 333-404.
- OXENHAM (B.L.). 1957.
Diseases of the pineapple.
Queensland agricultural Journal, 83, p. 13-26.
- RAVISE (A.). 1966.
Observation de la reproduction sexuée des souches du *Phytophthora palmivora* (BUTL.) BUTL. parasite de cultures tropicales.
Cah. ORSTOM, Sér. Biol. n°2, p. 93-104.
- SIDERIS (C.P.) et PAXTON (G.E.). 1930.
Heart rot of the pineapple plants.
Phytopathology, 20, p. 951-958.
- WATERHOUSE (G.M.). 1956.
The genus *Phytophthora*.
The Commonwealth mycological Institute. Miscellaneous publication n°12, Kew, Surrey.

