

Analyse d'une population de *Phytophthora* en milieu tropical.

F. PELLEGRIN*

ANALYSE D'UNE POPULATION DE *PHYTOPHTHORA*
EN MILIEU TROPICAL

F. PELLEGRIN

Fruits, oct. 1981, vol. 36, n° 10, p. 593-605.

RESUME - Des piégeages répétés sur des échantillons de terre, à l'aide de fragments végétaux vivants, montrent qu'une population de *Phytophthora*, sur des vergers d'agrumes, peut être séparée en deux classes. Une première classe est composée de souches possédant une bonne aptitude à coloniser la terre, mais un seuil d'agressivité peu élevé ; la deuxième classe est composée de souches ayant une mauvaise aptitude à la vie saprophytique et un seuil d'agressivité élevé. L'analyse des spectres protéiques, obtenus par électrofocalisation, a confirmé la réalité de ces deux classes et a permis de définir plus précisément leurs limites.

INTRODUCTION

Les *Phytophthora* sont répandus sous toutes les latitudes ; leur rôle en pathologie végétale est important car la gamme des plantes auxquelles ils s'attaquent 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 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 (chlamydozoospores, 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 une population de *Phytophthora* inféodée à une culture pérenne.

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

* - Centre ORSTOM, B.P. A 5, NOUMEA Cedex (Nouvelle Calédonie)

dresser un inventaire des différents génotypes au sein de ces espèces.

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 employés 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 types de compatibilité, l'agressivité et en dernier lieu les spectres protéiques obtenus par électrofocalisation.

MATERIEL ET METHODES

Nos études ont été faites sur la station fruitière de Loudima située dans la vallée du Niari en République populaire du Congo. Trois zones ont été prospectées (figure 1) :

- Zone A : située au nord géographique de la station, elle est plantée d'orangers greffés [*Citrus sinensis* (LINN.) OSBECK] et de pomelos (*Citrus paradisi* Mac. F.) var. Thomson.
- 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 tangelos (*Citrus reticulata* BLANCO x *Citrus sinensis* (LINN.) OSBECK) et de mandariniers (*Citrus reticulata* BLANCO). Une parcelle d'avocats a été récemment mise en place (1977).
- Zone C : située à l'est géographique ; outre les essais porte-greffe agrumes, cette zone renferme des parcelles d'avocats et la pépinière de la station.

L'essentiel des vergers d'avocats 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 des troncs. 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. Le couvert dense du sous-bois entretient une humidité propice à la prolifération de la microflore phytophage qui trouve sur les nombreux fruits, abandonnés à terre, un substrat idéal. Les porte-greffe des pomelos sont tous des Rough Lemon (*Citrus jambhiri*) et leur sensibilité à *Phytophthora* est bien connue (BOCCAS et LAVILLE, 1976 ; FOUQUE et col. 1977).

Huit missions de prélèvements ont été faites entre février 1978 et février 1979, chacune de ces 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 de fortes pluies, 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 extérieurs de propagules infectieuses. Des analyses ont été faites sur des terres provenant de parcelles en apparence dépourvues de *Phytophthora* mais situées sur le trajet des eaux de ruissellement provenant des vergers infectés.

Les isolements sur les chancres se font à partir de fragments d'écorce et de bois, prélevés en périphérie d'un chancre en activité. Ces fragments sont repiqués sur un milieu sélectif gélosé composé d'une décoction de petits pois extra-fins, additionnée de Bénomyl (50 ppm de m.a.) de PCNB (100 ppm de m.a.) et d'antibiotiques (100.000 unités par litre de pénicilline et colimycine). Une incubation de 2 à 3 jours en chambre climatique (26°C et 75 p. 100 d'humidité relative) permet la croissance de *Phytophthora*.

Techniques d'isolement à partir de la terre.

- Sur vergers d'avocats : nous avons pu constater que les souches du sol sont étroitement spécialisées aux avocats, elles ne peuvent être isolées que par piégeage à l'aide d'avocats immatures. On creuse dans ceux-ci, à l'aide d'un emporte-pièces une cavité que l'on remplit de terre humidifiée présumée infectée. Les jeunes avocats sont mis à incuber en chambre climatique à 26°C pendant quatre à cinq jours. La terre 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.

- Sur vergers d'agrumes : chaque prélèvement 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. Douze échantillons de 10 g de terre sont répartis en godets (type pot à yaourt) et additionnés d'eau permutée stérile (10 ml) contenant du Bénomyl (50 ppm de m.a.), PCNB (100 ppm de m.a.) et des antibiotiques (100.000 unités/litre de pénicilline et colimycine). Les godets sont mis à incuber 2 jours à la lumière pour favoriser la formation de sporocytes.

Le troisième jour, chaque godet est passé 10 minutes à 80°C pour induire la libération des zoospores avant d'être ensemencé de huit jeunes pétales d'oeillet d'Inde servant de pièges. Les jeunes pétales d'oeillet d'Inde ont été retenus car, si comme les autres pièges testés, ils sont disponibles toute l'année, ils sont en outre relativement axéniques du fait de leur protection par les sépales ; leur petite taille (1 à 3 mm) permet de travailler avec plusieurs pétales dans de petits volumes ; et enfin, ils sont très sensibles à la majorité des espèces de *Phytophthora* présentes en République du Congo.

Après deux jours d'incubation à la lumière, les pétales sont prélevés et repiqués sur milieu sélectif gélosé à raison d'une boîte de Pétri par échantillon de 10 g de terre.

Les pièges positifs sont dénombrés de deux façons, d'une

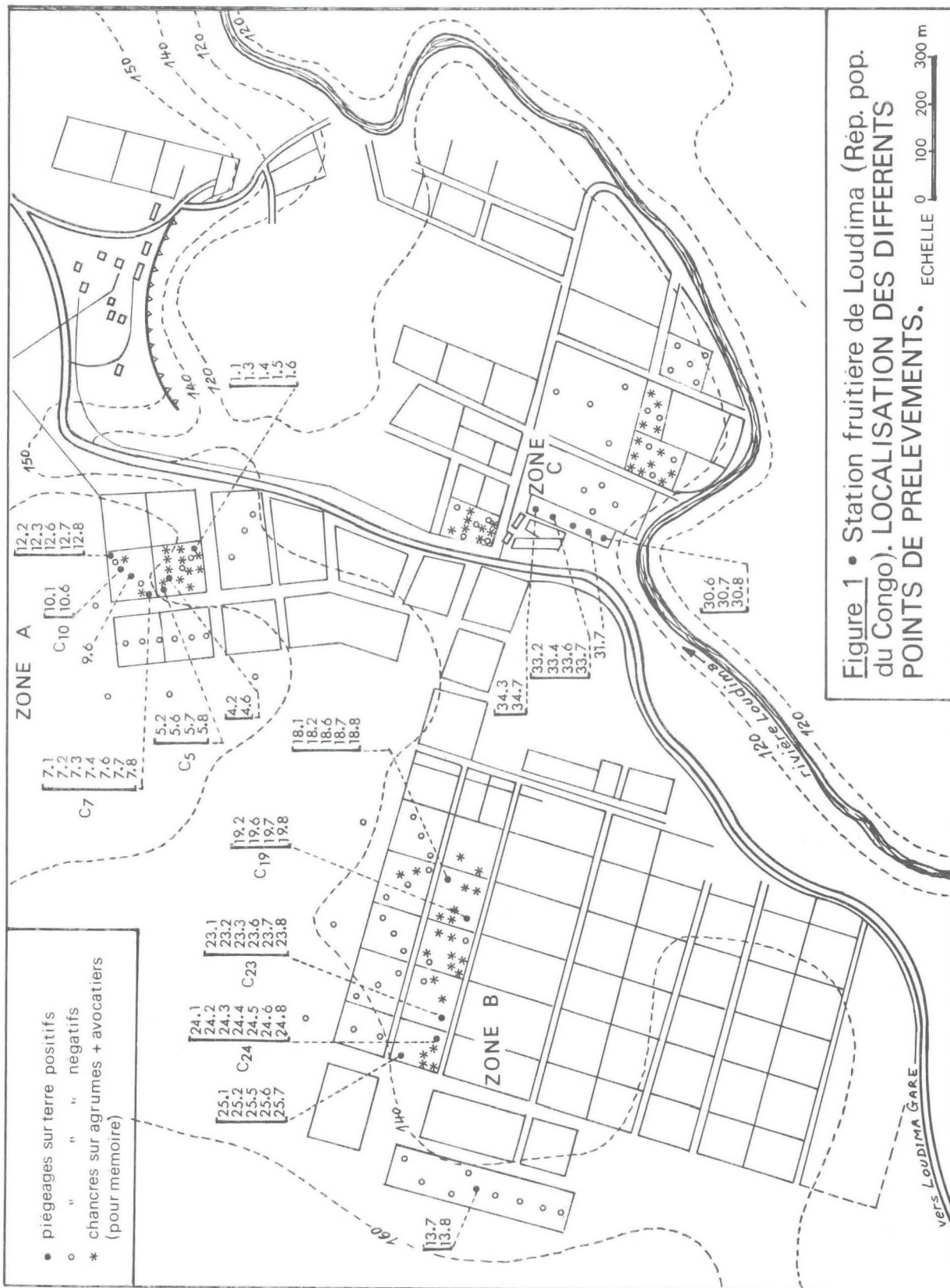


TABLEAU 1 - Prélèvements de terre, dans les vergers d'agrumes et d'avocatiers, ayant permis d'isoler *Phytophthora parasitica* par piégeage à l'aide de pétales d'oeillet d'Inde.

Prélèvement	Date de prélèvement	Lieu de prélèvement	Nombre de boîtes +	Nombre de pétales +	Prélèvement	Date de prélèvement	Lieu de prélèvement	Nombre de boîtes +	Nombre de pétales +	
1.1.	13.02.78	Pomelo Ruby Zone A	2	6	18.8	05.02.79		3	7	
					19.2	09.04.78		2	4	
					19.6	05.12.78		3	7	
1.3	04.07.78			1	2	19.7		05.02.79	5	10
1.4	11.09.78			1	1	23.1		13.02.78	1	3
1.5	02.11.78			2	9	23.2		09.04.78	2	5
1.6	10.01.79			2	8	23.3		04.07.78	2	7
4.2	09.04.78			2	6	23.6		05.12.78	3	5
4.6	05.12.78			1	3	23.7		10.01.79	3	8
5.2	09.04.78			2	4	23.8		05.02.79	4	12
5.6	05.12.78			3	3					
5.7	10.01.79			4	7	24.1		13.02.78	3	8
5.8	05.02.79			5	9	24.2		09.04.78	3	7
7.1	13.02.78			6	24					
7.2	09.04.78			3	11	24.3		04.07.78	2	5
7.3	04.07.78		1	3	24.4	11.09.78	1	2		
7.4	11.09.78		1	1	24.5	02.11.78	3	9		
7.6	05.12.78		5	15	24.6	05.12.78	5	12		
7.7	10.01.79		6	19	24.8	05.02.79	4	10		
7.8	05.02.79		8	29	25.1	13.02.78	2	5		
9.6	05.12.78		4	10	25.2	09.04.78	1	3		
10.1	13.02.78		1	2	25.5	02.11.78	1	3		
10.6	05.12.78		2	6	25.6	05.12.78	2	3		
12.2	09.04.78		2	6	25.7	10.01.79	2	6		
12.3	04.07.78		1	1						
12.6	05.12.78		1	2	30.2	04.07.78	5	15		
12.7	10.01.79		2	6						
12.8	05.02.79		2	7	30.7	10.01.79	4	7		
					30.8	05.02.79	7	23		
13.7	10.01.79	Avocatiers Zone B	1	3	31.7	10.01.79	2	5		
13.8	05.02.79			2	3	33.2	09.04.78	2	5	
					33.4	11.09.78	1	2		
18.1	13.02.78	Pomelo Marsh Zone B	2	6	33.6	05.12.78	4	13		
						33.7	10.01.79	4	16	
18.2	09.04.78			1	3	34.3	04.07.78	1	1	
18.6	02.12.78			3	4	34.7	10.01.79	2	8	
18.7	10.01.79		4	10						

part par comptage des boîtes de Pétri positives (B+) : une boîte est positive quand un pétale au moins donne naissance à un thalle ; d'autre part par comptage des pétales infectés (P+), toutes boîtes confondues pour un même prélèvement de terre (tableau 1).

Cette méthode de comptage à deux niveaux donne un certain nombre d'informations :

- Chaque boîte correspond à un échantillon de 10 g de terre, la somme des boîtes positives (à la condition qu'elles

ne soient pas toutes positives, auquel cas il faudrait procéder à une dilution de la terre) pour un même prélèvement, donne, en référence à une courbe de piégeage, définie plus bas, la quantité d'inoculum dans la terre au moment du prélèvement.

- Dans les conditions expérimentales employées, l'inoculum de départ a la possibilité de se multiplier pendant la phase d'inoculum. Plusieurs pétales (8) ayant été mis en contact avec chaque échantillon de terre, le nombre de pétales infectés est l'expression de l'aptitude pour chaque

souche à coloniser le milieu.

Les isolements sur les terres naturellement infectées ne peuvent être quantifiés que si l'on possède des courbes de piégeages réalisées, avec la même technique d'isolement, sur des sols dont on connaît le taux d'infestation. On peut ainsi connaître le nombre de spores par gramme de terre correspondant à un certain pourcentage de boîtes positives et/ou de pétales infectés. 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 à partir de chancre ou dans la terre, de façon à avoir un échantillon des trois zones étudiées. Les interactions terre/*Phytophthora* ont été définies, elles nous serviront pour analyser la répartition des souches sur les vergers.

Les courbes de piégeage ont été obtenues de la façon suivante : de la terre, provenant du même site que chacune des souches choisies comme témoin, est prélevée. Avant utilisation, elle est stockée une journée au froid (5 à 6°C) puis ensemencée massivement de jeunes pétales d'oeillets 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 prélèvement de terre est fragmenté en 12 échantillons de 10 g, 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.), PNCB (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 (2250 lux), pendant 2 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 comme précédemment à deux niveaux, par comptage des boîtes positives (B+) et des pétales infectés (P+).

Les courbes de piégeage ont été tracées en utilisant une transformation (BAKER, 1971) qui linéarise la relation entre le logarithme de la concentration de spores infectieuses et la probabilité de maladie : $y = a \log x + b$ où y est la quantité de maladie estimée en nombre de boîtes positives ou de pétales infectés, x étant le nombre de spores par gramme de terre. Les calculs des coefficients de régression (R) permettent de tester l'hypothèse de la pente nulle, ils vérifient que x et y sont bien dépendants.

RESULTATS

Avocatiers : les souches récoltées sur chancres ou dans la terre sont toutes des *P. cinnamomi* du type de compatibilité 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 sabdariffa* (ASSAS

M'BILLAUT, 1978) ainsi que sur pétales d'oeillet d'Inde. Etroitement 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. Les piégeages à l'aide de pétales d'oeillet d'Inde n'ont permis d'isoler qu'en un seul endroit *P. parasitica* (piégeages 13, figure 1).

Les contraintes expérimentales, liées à l'étroite spécialisation de *P. cinnamomi* sur vergers d'avocatiers, nous ont obligés à abandonner leur analyse pour nous consacrer à celle des populations de *P. parasitica* inféodés aux agrumes.

Agrumes : toutes les souches de *Phytophthora*, isolées de la terre ou des chancres sur les vergers d'agrumes, ont les caractères morphologiques de *P. parasitica* DASTUR. Des tests d'agressivité ont été faits sur les souches retenues comme témoins (tableau 2), l'évaluation de cette agressivité a porté :

- sur pièges : 100 pétales d'oeillet d'Inde sont dispersés sur 20 ml de suspension de zoospores dans de l'eau permutée (15 zoospores/ml) 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* (ces deux végétaux sont utilisés au laboratoire pour les analyses de routine du niveau d'agressivité des différentes souches de *Phytophthora* reçues ou isolées) : 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 p. 100 de mortalité
++	20 à 40 p. 100 de mortalité
+++	40 à 60 p. 100 de mortalité

Le tableau 3 donne pour chaque souche témoin l'équation des droites de piégeage pour les boîtes positives (B+) et pour les pétales infectés (P+). Les coefficients de régression (R) de ces droites sont significatifs, ce qui permet de calculer le nombre de zoospores infectieuses par gramme de terre correspondant aux taux de contamination (TC) d'une terre par le pathogène pour un pourcentage compté de boîtes positives et/ou de pétales infectés.

Les zoospores ont été retenues comme propagules infectieuses de base, représentatives de la densité d'inoculum d'un sol car, les organes de survie (chlamydozoospores, sporocystes, oospores) germent, en général, en émettant directement ou indirectement des zoospores. 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 comme l'agent principal de la maladie.

L'utilisation de l'équation $y = a \log x + b$ oblige à éliminer les deux extrémités de la droite ; en effet, pour une faible

TABLEAU 2 - Souches ayant été retenues comme témoins.

souche	lieu de prélèvement	compatibilité	morphologie du thalle	Test de t° 4J 6J 8J 10J 35°C	spores g de terre	B +	P +	agressivité
5.2	terre sur verger pomelo Ruby Zone A	A ₁	aérien régulier		272	100	86,3	8 % sur pièges + tomate 0 Hibiscus
					136	100	67,6	
					68	100	59,3	
					34	66,66	20,8	
					17	25	7,3	
				8,5	0	0		
5.6	"	A ₁	diffus intrama- triciel	20,5	368	100	63,4	40 % sur pièges +++ tomate + Hibiscus
				33,2	184	100	45,7	
				46,3	92	58,3	16,6	
				56,7	46	16,6	3,1	
					23	0	0	
				11,5	0	0		
5.8	"	A ₁	aérien régulier	15,1	304	100	96,7	10 % sur pièges + tomate 0 Hibiscus
				24,4	152	100	75,8	
				41,4	76	100	57,2	
					38	75	23,9	
					19	16,6	9,4	
				9,5	8,3	2,1		
12.2	"	A ₁	"		288	100	97,7	11 % sur pièges 0 tomate + Hibiscus
					144	100	70,7	
					72	100	56,2	
					36	33,3	15,6	
					18	25	8,3	
				9	8,3	1,04		
12.6	"	A ₁	"		296	100	93,6	19 % sur pièges + tomate + Hibiscus
					148	100	78	
					74	100	63,4	
					37	41,6	12,5	
					18,6	16,6	4,2	
				9,25	0	0		
12.8	"	A ₁	"		320	100	98,8	19 % sur pièges + tomate + Hibiscus
					160	100	73,8	
					80	91,6	48,9	
					40	41,6	14,5	
					20	16,6	5,2	
				10	8,3	2,1		
23.1	terre sur verger pomelo Marsh Zone B	A ₁	aérien régulier		248	100	69,7	16 % sur pièges + tomate + Hibiscus
					124	100	34,3	
					62	75	21,8	
					31	33,3	7,3	
					15,5	8,3	2,1	
				7,75	0	0		
23.2 ₁	"	A ₁	"		296	100	61,4	14 % sur pièges + tomate + Hibiscus
					148	100	29,1	
					74	83,3	26	
					37	41,6	8,3	
					18,5	16,6	3,1	
				9,25	8,3	1,04		

souche	lieu de prélèvement	compatibilité	morphologie du thalle	Test 4 J de 6 j t° 8 J 35°C 10 J	spores g de terre	B+	P+	agressivité
23.22	"	A ₂	diffus intrama- triciel		328 164 82 41 20,5 10,25	100 83,3 50 25 8,3 0	44,7 21,8 14,7 5,2 1,04 0	23 % sur pièges + tomate + Hibiscus
23.6	"	A ₁	"		376 188 94 47 23,5 11,75	100 91,6 41,7 25 0 0	37,4 30,2 11,4 6,2 0 0	35 % sur pièges ++ tomate + Hibiscus
23.8	terre sur verger pomelo Marsh Zone B	A ₁	aérien régulier	19,7 32,7 44 53	280 140 70 35 17,5 8,75	100 100 75 41,6 16,6 16,6	59,3 35,4 17,7 11,4 5,2 3,7	8 % sur pièges + tomate + Hibiscus
33.2	terre sur essais porte-greffe Zone C	A ₁	aérien régulier		328 164 82 41 20,5 10,25	100 100 100 83,3 50 16,6	88,4 75,9 42,6 31,3 20,8 7,3	52 % sur pièges 0 tomate 0 Hibiscus
33.6	"	A ₁	aérien régulier	18,4 31,1 43,3 57	288 144 72 36 18 9	100 100 100 75 33,3 8,3	95,7 63,4 38,5 27 14,6 3,1	7 % sur pièges + tomate 0 Hibiscus
24.1	terre sur verger pomelo Ruby Zone B	A ₁	aérien régulier	15,4 26 36,5 50	320 160 80 40 20 10	100 100 91,6 58,3 25 8,3	55,1 42,6 30,2 17,7 5,2 3,1	8 % sur pièges + tomate + Hibiscus
24.3	"	A ₁	"		312 156 78 39 19,5 9,75	100 100 100 50 16,7 0	50,9 35,4 31,2 14,6 5,2 0	17 % sur pièges + tomate + Hibiscus
24.6	"	A ₁	"		264 132 66 33 16,5 8,25	100 100 100 66,7 25 8,3	67,6 53 33,3 21,8 8,3 1,04	5 % sur pièges 0 tomate 0 Hibiscus

souche	lieu de prélèvement	compatibilité	morphologie du thalle	Test 4 J de 6 J t° 8 J 35°C 10 J	spores g de terre	B+	P+	agressivité
13.7	terre sur verger avocatiers Zone B	A ₁	aérien	19 31 40 50	296 148 74 37 18,5 9,25	100 100 91,7 58,3 16,7 0	59,3 44,7 32,3 18,7 4,2 0	11 % sur pièges + tomate + Hibiscus
C ₅	Chancre sur pomelo Ruby Zone A	A ₁	aérien régulier	19,4 36,6 45,8 59,8	384 192 96 48 24 12	100 100 50 16,66 8,33 0	73,84 48,88 15,6 4,16 1,04 0	27 % sur pièges ++ tomate + Hibiscus
Lou 1	Chancre sur pomelo Ruby Zone A	A ₂	''		360 180 90 45 22,5 11,25	100 91,66 50 8,33 0 0	68,64 36,4 11,4 2,08 0 0	42 % sur pièges +++ tomate + Hibiscus
C ₂₃	Chancre sur pomelo Marsh Zone B	A ₂	''		352 176 88 44 22 11	100 75 25 0 0 0	42,64 27,04 7,28 0 0 0	66 % sur pièges +++ tomate + Hibiscus
C ₂₄	Chancre sur pomelo Ruby Zone B	A ₁		20,2 30,6 45 57	312 156 78 39 49,5 9,75	100 66,66 16,66 8,33 0 0	39,52 19,76 5,2 1,04 0 0	39 % sur pièges + tomate + Hibiscus
Lou 14	Chancre sur pomelo Marsh Zone B	A ₁	''		328 164 82 41 20,5 10,25	100 91,66 58,33 16,66 0 0	42,64 30,16 12,48 5,2 0 0	32 % sur pièges ++ tomate + Hibiscus
Lou 24	Chancre sur pomelo Ruby Zone B	A ₁	''		320 160 80 40 20 10	100 83,33 33,33 16,66 8,33 0	37,44 21,84 9,36 3,12 1,04 0	23 % sur pièges ++ tomate + Hibiscus
Lou 25	Chancre sur mandarine Kara Zone B	A ₁	''		272 136 68 34 17 8,5	91,66 58,33 25 8,33 0 0	20,8 14,56 5,2 1,04 0 0	31 % sur pièges ++ tomate + Hibiscus

TABLEAU 3 - Souches retenues comme témoins : équations des droites de piégeages et calcul des taux de contamination 50 % B + = boîtes positives P + = pétales infestés.

souches	log du nombre de spores par g de terre = log x						y = a log x + b		coefficient de régression R	TC	50 % B + 50 % P +
							B + P +	y = log x -			
12-2	0,954	1,255	1,556	1,857	2,158	2,459	B + P +	y = 94,1 y = 67,64	log x - 90,67 log x - 73,74	0,909 0,973	31,2 67,6
12-6	0,966	1,267	1,267	1,568	1,869	2,474	B + P +	y = 108 y = 70,29	log x - 113,5 log x - 78,82	0,958 0,961	32,6 68
12-8	1	1,301	1,602	1,903	2,204	2,505	B + P +	y = 85,83 y = 68,81	log x - 85,83 log x - 79,98	0,967 0,969	38,2 77,4
5-2	0,929	1,230	1,531	1,832	2,134	2,435	B + P +	y = 113,5 y = 61,84	log x - 108,75 log x - 63,74	0,996 0,980	25 69
5-6	1,060	1,362	1,663	1,964	2,265	2,566	B + P +	y = 113,5 y = 56,41	log x - 162,08 log x - 84,97	0,984 0,066	73,9 246,8
5-8	0,977	1,278	1,579	1,881	2,182	2,483	B + P +	y = 110,58 y = 67,08	log x - 108,08 log x - 71,78	0,964 0,086	26,8 65,4
33-2	1,011	1,312	1,613	1,914	2,215	2,516	B + P +	y = 94,08 y = 55,07	log x - 75,17 log x - 52,16	0,989 0,982	21,4 71,6
33-6	0,954	1,255	1,556	1,857	2,158	2,459	B + P +	y = 105,17 y = 59,03	log x - 93,67 log x - 60,28	0,994 0,972	23,2 73,8
23-1	0,889	1,190	1,491	1,792	2,093	2,394	B + P +	y = 83,58 y = 43,70	log x - 88,75 log x - 49,17	0,979 0,926	36,8 185,8
23-21	0,966	1,267	1,568	1,869	2,170	2,474	B + P +	y = 83 y = 37,74	log x - 80,25 log x - 43,34	0,978 0,032	37 297,5
23-22	1,011	1,312	1,613	1,914	2,215	2,516	B + P +	y = 71,17 y = 20,08	log x - 81,08 log x - 34,94	0,985 0,928	69,4 1058,6
23-6	1,070	1,371	1,672	1,973	2,274	2,575	B + P +	y = 88,58 y = 32,88	log x - 118,08 log x - 47,78	0,979 0,975	90 942,4
23-8	0,942	1,243	1,544	1,845	2,146	2,447	B + P +	y = 72,08 y = 35,90	log x - 62,75 log x - 38,77	0,966 0,933	36,6 297,3
24-1	1	1,301	1,602	1,903	2,204	2,505	B + P +	y = 83,08 y = 36,58	log x - 76,33 log x - 38,42	0,985 0,988	33,2 261,1
24-3	0,989	1,290	1,591	1,892	2,193	2,494	B + P +	y = 110,75 y = 34,4	log x - 117,83 log x - 37,01	0,976 0,987	32,8 337,7
24-6	0,916	1,217	1,518	1,819	2,120	2,421	B + P +	y = 105,17 y = 45,46	log x - 93,83 log x - 44,96	0,988 0,991	23,3 122,7
13-7	0,966	1,267	1,568	1,869	2,170	2,474	B + P +	y = 91,33 y = 40,98	log x - 89,92 log x - 43,87	0,981 0,993	34 195,4
C5	1,079	1,380	1,681	1,982	2,283	2,584	B + P +	y = 80,25 y = 49,83	log x - 99,92 log x - 67,31	0,932 0,917	73,8 226
Lou 1	1,051	1,352	1,653	1,954	2,255	2,556	B + P +	y = 94,08 y = 57,11	log x - 133,92 log x - 87,82	0,973 0,936	90 259,2
C 23	1,041	1,342	1,643	1,944	2,245	2,546	B + P +	y = 116,25 y = 49,15	log x - 193,8 log x - 83,66	0,990 0,986	124,3 524,6

Souches	log du nombre de spores par g de terre - log x						y = a log x + b		coefficient de régression R	TC 50 % B + 50 % P +
							B + P +	y = log x -		
C 24	0,989	1,290	1,591	1,892	2,193	2,494	B + P +	y = 85,83 log x - 124 y = 32,53 log x - 48,42	0,947 0,923	106,6 1060,6
Lou 14	1,010	1,311	1,612	1,913	2,214	2,515	B + P +	y = 91,33 log x - 121,42 y = 36,69 log x - 52,05	0,980 0,977	75,3 605,2
Lou 24	1	1,301	1,602	1,903	2,204	2,505	B + P +	y = 70,42 log x - 83,08 y = 24,32 log x - 30,47	0,952 0,925	77,7 2034,6
Lou 25	0,929	1,230	1,531	1,832	2,133	2,434	B + P +	y = 77,5 log x - 105,33 y = 18,34 log x - 25,27	0,971 0,964	101 126,97

quantité d'inoculum (x petit), la droite devient asymptotique à cause de la trop grande dispersion des zoospores ; pour une forte quantité de spores (x grand), la droite devient également asymptotique cette fois à cause des infections multiples, c'est la raison pour laquelle il est d'usage (BAKER et BOUHOT) d'étudier les TC. 50 qui donnent le nombre de spores infectieuses par gramme de terre, soit pour 50 p. 100 des boîtes positives, soit pour 50 p. 100 des pétales infectés.

On peut comparer les TC. 50 avec les tests d'agressivité qui ont été faits sur les souches témoins. Nous avons vu que les boîtes positives mesurent l'effet d'une terre sur un inoculum initial apporté 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 un niveau d'agressivité élevé sont les plus affectées par leur environnement. L'effet terre interviendrait à deux niveaux :

- sur l'inoculum initial (il faut de 60 à 140 propagules par gramme de terre pour avoir 50 p. 100 de boîtes positives avec les souches les plus agressives, 20 à 40 suffisent pour les souches les moins agressives).

- sur le pouvoir colonisateur des souches (il faut 200 à 1100 spores pour avoir 50 p. 100 de pétales infectés avec les souches les plus agressives, il en faut 60 à 300 avec les souches les moins agressives), l'aptitude moyenne à coloniser le milieu est moins bonne chez les souches «chancres» ou «terre», assimilées aux souches «chancre» par leur niveau d'agressivité, que chez les souches «terre» au niveau d'agressivité nettement plus faible.

Pour les souches retenues comme témoin, 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 et les tables de FISHER et YATES montrent qu'il existe une relation statistiquement significative pour la plupart des souches (à l'exception de 5-2 et 5-8) (tableau 4) 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 avec une augmentation corrélative du nombre de pétales infectés.

Les deux modes de comptage, pour une même souche sur une même terre, sont donc liés par une relation constante.

La relation entre ces deux modes de comptage, couplée avec l'observation précédente sur la plus ou moins bonne aptitude des souches à coloniser une terre et à résister au «choc» de leur introduction dans une terre, va nous permettre d'analyser non plus une souche 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.

TABLEAU 4 - Degrés de signification des relations liant les comptages de boîtes positives et les comptages de pétales infectés.

souches	R =	seuil de probabilité (%)
12-2	0,9987	1
12-6	0,975	5
12-8	0,967	1
5-2	0,9435	< 5
5-6	0,9735	5
5-8	0,9346	< 5
23-1	0,9899	1
23-21	0,9923	1
23-22	9467	1
23-6	9912	1
23-8	0,9640	1
24-1	0,9721	1
24-3	0,9993	1
24-6	0,990	1
13-7	0,9792	1
33-2	0,9993	1
33-6	0,9962	1
C5	0,9841	1
Lou 1	0,9111	5
C 23	0,9918	1
C 24	0,9873	1
Lou 14	0,9539	5
Lou 24	0,9757	1
Lou 25	0,9967	1

«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 des souches isolées de terre prélevées en un même lieu, doit permettre la mise en évidence de souches différentes. En effet, la relation entre le nombre de boîtes positives et le nombre de pétales infectés sera fonction du (des) type (s) de souche (s) présent (s) dans l'échantillon de terre. En procédant par élimination, il sera alors possible de détecter le (les) piègeage (s) anormal (aux) et, en fonction du rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives, on pourra attribuer un effet dominant aux souches «chancre» ou aux souches «terre».

Seuls les groupes de prélèvements ayant donné 3 piègeages positifs ou plus, ont été analysés de cette façon car on ne peut pas calculer un coefficient de régression sur un nombre inférieur de points.

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. 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 et 4), ces mêmes rapports tombent à 1,5 et 1 pour les piègeages 1.3 et 1.4 mais nous verrons plus loin (analyse des spectres protéiques) que la souche 1.4 ne se distingue pas des souches «terre». Le faible développement de cette souche doit être attribué aux conditions du milieu, au moment du prélèvement (saison sèche), l'inoculum se trouve probablement dans un état de survie et la phase d'incubation lors du piègeage n'est pas suffisamment longue pour lui permettre un développement normal.

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 est égal ou voisin de 2, on se trouve donc 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, montre que l'on se trouve devant une population homogène de *Phytophthora*. 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, comme précédemment pour le groupe 1, les prélèvements de terre correspondants ont été faits pendant la saison sèche.

Groupe 12 : $R = 0,980$: significatif. La population de *Phytophthora* est homogène, le rapport pétales infectés/boîtes positives varie de 2 à 3,5, il s'agit donc de souches

«terre» possédant un certain pouvoir colonisateur.

Groupe 18 : $R = 0,801$: non significatif. Si on élimine le piègeage 18.6, R devient significatif. Le rapport du nombre de pétales infectés sur le nombre de boîtes positives est de 2,5 à 3 pour les piègeages 18.1, 18.2, 18.7 et 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. 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.

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 les piègeages 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.

Groupe 24 : $R = 0,975$: significatif. La population de *Phytophthora* est homogène.

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 pas expliquer l'apport de propagules d'un arbre malade voisin. Le rapport entre le nombre de pétales infectés et le nombre de boîtes positives (1,5) 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 machines agricoles a pu servir de facteur de dissémination des propagules issues de chancres.

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.

Groupe 33 : $R = 0,980$: significatif. On ne relève pas la présence de souche «chancre» parmi les 4 piègeages positifs.

Cette étude montre que, lors des piègeages, nous n'avons pu mettre en évidence que rarement la présence de souches ayant les caractéristiques des souches «chancre» (piégeages 5.6, 18.6, 23.6, 25.6, 30.7). Cette présence est, la plupart du temps, liée à la proximité d'un chancre en activité et à de

fortes pluies ayant précédé le prélèvement. Il s'agit en outre d'événements ponctuels puisque ces souches ne sont pas détectées lors de piégeages antérieurs ou postérieurs. Ces différents éléments viennent confirmer les résultats précédents qui démontrent que les souches «chancre» sont beaucoup plus perturbées que les souches «terre» par l'environnement tellurique.

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 isolées sur les chancres et les souches isolées à partir de la terre ayant en commun un niveau d'agressivité relativement important mais une aptitude à la vie saprophytique faible ; d'autre part, des souches isolées de la terre qui ont un niveau d'agressivité faible mais une bonne aptitude à la vie saprophytique. La technique de piégeage utilisée est dépendante 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 piégeage dépend essentiellement des souches présentes ; il sera mauvais avec des souches «terre» et meilleur avec des souches «chancre». Trois cas peuvent se présenter :

- la partie de l'inoculum, composée de souches «terre» est très faible. Le piégeage ne mettra en évidence que les souches «chancre» quand il y en a. Le piégeage 5.6 illustre ce cas.

- la partie de l'inoculum composée des seules souches «terre» est supérieure au pouvoir de résolution de la technique, le piégeage 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 infestés et le nombre de boîtes positives permettront de déceler ce mélange. Les piégeages 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 piégeage ne décelera 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 piégeage 23.2 où une souche (23.22) a pu être différenciée parce que la morphologie de son thalle est particulière. Il est probable que d'autres piégeages reflètent cette situation mais ils échappent à nos investigations quand les souches «chancre» et «terre» sont morphologiquement indissociables.

L'essentiel des résultats analysés précédemment a été obtenu par des voies statistiques, nous avons cherché à confirmer ces résultats en caractérisant biochimiquement les souches isolées. La technique d'électrofocalisation a été retenue (O'FARREL, 1975 ; O'FARREL et GOODMAN, 1976-1977).

46 souches isolées soit de chancres, soit de la terre, ont été étudiées, deux classes différentes ont pu être distinguées :

- une première classe regroupe les souches Lou 1, C 5, Lou 14, C 23, C 24, Lou 24, Lou 25, 5.6, 23.22, 23.6, 18.6, 25.6, 30.7, 24.5

- une 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 provenances et de caractéristiques différentes.

- des souches isolées directement sur chancres : Lou 1, C 5, Lou 14, C 23, C 24, Lou 24, Lou 25.

- des souches piégées dans la terre mais qui possèdent un niveau d'agressivité nettement supérieur au niveau moyen des souches isolées de la terre (5.6, 23.22, 23.6).

- 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.

- enfin, une souche (24.5) qui n'a, en principe, aucune raison de se retrouver dans cette classe. Nous avons vu que certaines souches «chancre» pouvaient échapper à nos investigations parce qu'elles se trouvent 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 toutes des souches isolées de la terre par piégeage. Elles ont en commun un faible taux d'agressivité et l'analyse des relations liant le nombre de boîtes positives au nombre de pétales infectés a montré qu'elles constituaient, au sein d'un même groupe de prélèvements, une population homogène.

CONCLUSION

L'espèce de *Phytophthora*, présente sur chacun des vergers, est spécifique de l'arbre qui est cultivé. Les vergers d'avocaters ne renferment que des *P. cinnamomi*, la présence de *P. parasitica* n'a pu être décelée qu'en un seul endroit. Les *P. cinnamomi* sont strictement dépendant des avocaters, les problèmes techniques de piégeage 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 piégeage a permis de quantifier l'inoculum dans le sol. 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 première 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.

L'analyse des spectres protéiques, obtenus par électrofo-calisation, a pleinement confirmé la réalité des deux classes, 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 et recombinaisons mitotiques, hybridations, voire autofécondations, des lignées agressives susceptibles de contaminer les arbres. La propagation relativement lente et ponctuelle de la maladie, dans les vergers fruitiers de Loudima, montre que la dissémination de ces souches est limitée à cause probablement de leur faible pouvoir saprophyte.

BIBLIOGRAPHIE

- APPLE (J.L.). 1963.
Persistence of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in soil.
Pl. Dis. Rept., 47, 7, 632-634.
- BAKER (R.). 1971.
Analysis involving inoculum density of soil-borne plant pathogene in epidemiology.
Phytopathology, 61, 10, 1280-1292.
- BOCCAS (B.) et LAVILLE (E.). 1976.
Les maladies à *Phytophthora* des agrumes.
Publication IRFA, 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.
- 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.). 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 predictions.
3rd. International congress of plant pathology. Communication personnelle.
- BOUHOT (D.) et JOANNES (H.).
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.
- FOUQUE (A.), FROSSARD (P.) et BOURDEAUT (J.). 1977.
Résultats préliminaires des essais de porte-greffe d'agrumes en Côte d'Ivoire.
Fruits, 32, 5, 335-349.
- GROTH (J.V.) et PERSON (C.O.). 1977.
Genetic interdependence of host and parasite in epidemics.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 287, 97-106.
- LAVILLE (E.). 1975.
Réflexions sur la nature des relations hôte-parasite dans le couple agrume-*Phytophthora*.
Fruits, 30, 1, 19-22.
- MARKS (C.G.) and MITCHELL (J.E.). 1970.
Détection, isolation and pathogenicity, of *Phytophthora megasperma* from soils and estimation of inoculum levels.
Phytopathology, 60, 11, 1687-1690.
- O'FARREL (P.H.). 1975.
High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins.
J. Biol. Chem., 250, 4007-4021.
- O'FARREL (P.Z.) et GOODMAN (H.M.). 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.
- OU (S.H.). 1977.
Genetic defense of rice against diseases.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 287, 275-286.
- SAFEULLA (K.M.). 1977.
The genetic basis of epidemics in agriculture.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 287, 72-85.
- TSAO (P.H.). 1969.
Studies on the saprophytic behaviour of *Phytophthora parasitica* in soil.
Proc. 1st intern. Citrus Symp., 3, 1221-1230.
- WATERHOUSE (G.). 1963.
Key to the species of *Phytophthora* de BARY.
Mycol. Pap., 92, CMI, Kew 22 p.
- WATERHOUSE (G.). 1970.
The genus *Phytophthora* de BARY.
Mycol. Pap., 122, CMI Kew.

