

Étude et identification de l'agent de la pourriture de l'oseille de Guinée, au Gabon

Isaac Mouaragadja
Bertrand M'Batchi*
Laboratoire de physiologie et
phytopathologie, unité de recherche
en agrobiologie, université des
sciences et techniques de Masuku
(USTM), BP 901, Franceville,
Gabon

Examination and identification of the agent causing the Jamaican sorrel rot in Gabon.

Abstract — Introduction. The Jamaican sorrel is the most widely grown vegetable of all the vegetables traditionally cultivated in Gabon. However, a few years ago, a fungus previously undescribed in the country started attacking this particular species. In order to stop the dissemination of the disease, research was conducted to identify the fungus involved, and to study its biology. **Materials and methods.** The three varieties of *Hibiscus sabdariffa* L. most consumed in Gabon were grown jointly in fields and in greenhouses. After isolating the pathogenic fungus on diseased plants, the plants were artificially inoculated. The growth of the pathogenic agent was tested in vitro on different media, under different pH conditions (4–9) and different temperatures (20 to 35 °C). The symptoms were observed in situ, and the aspect of the fungus cultured in vitro was described. The pycniospore germination rate on a gel medium was determined at 20, 25 and 30 °C. **Results and discussion.** All the data gathered indicate that the fungus in question should be the *Phoma sabdariffae* Sacc. The fungus develops better on a PDA medium with a pH 4, and when incubated at temperatures ranging from 25 to 30 °C. The germination rates of the pycniospores collected in situ on affected plants were relatively higher than the rates of the pycniospores grown in vitro on a PDA medium. **Conclusion.** With the preliminary results in, an epidemiologic study now proves necessary in order to define the appropriate strategies to fight the disease properly (© Elsevier, Paris).

Gabon / *Hibiscus sabdariffa* / *Phoma sabdariffae* / plant diseases / life cycle / symptoms

Étude et identification de l'agent de la pourriture de l'oseille de Guinée, au Gabon.

Résumé — Introduction. L'oseille de Guinée (*Hibiscus sabdariffa* L.) occupe la première place parmi les plantes maraîchères traditionnelles cultivées au Gabon. Depuis quelques années, cependant, cette espèce est attaquée par un champignon jusqu'alors indéterminé dans ce pays. Afin d'enrayer l'expansion de la maladie, des travaux ont été entrepris pour identifier le champignon concerné et étudier sa biologie. **Matériel et méthodes.** Les trois variétés de *H. sabdariffa* L. les plus consommées au Gabon ont été cultivées conjointement en plein champ et en serre. Après isolement de l'agent pathogène sur des plantes malades, elles ont été inoculées artificiellement. La croissance de l'agent pathogène a été testée in vitro sur différents milieux, à diverses conditions de pH (4–9) et de température (20 à 35 °C). Les symptômes ont été observés in situ et l'aspect du champignon cultivé in vitro a été décrit. Le taux de germination des pycniospores sur milieu gélosé a été déterminé à 20, 25 et 30 °C. **Résultats et discussion.** L'ensemble des données réunies indique que le champignon incriminé serait *Phoma sabdariffae* Sacc. Le champignon a présenté la meilleure croissance sur un milieu PDA, ajusté à pH 4 et incubé à des températures comprises entre 25 et 30 °C. Les taux de germination des pycniospores prélevées in situ sur des plantes malades ont été relativement plus élevés que ceux des pycniospores issues de culture in vitro sur milieu PDA. **Conclusion.** À partir des premiers résultats obtenus, une étude épidémiologique de la maladie s'avère nécessaire pour définir les stratégies de lutte à adopter (© Elsevier, Paris).

Gabon / *Hibiscus sabdariffa* / *Phoma sabdariffae* / maladie des plantes / cycle de développement / symptôme

* Correspondance et tirés à part

Reçu le 20 janvier 1997
Accepté le 31 juillet 1997

Fruits, 1998, vol. 53, p. 57–68
© Elsevier, Paris

RESUMEN ESPAÑOL, p. 68

1. introduction

Parmi les plantes maraîchères traditionnelles communément cultivées au Gabon, l'oseille de Guinée (*Hibiscus sabdariffa* L., figure 1) occupe de loin la première place. Dans la province du Haut-Ogooué, singulièrement, sa culture est pratiquée aussi bien en saison des pluies qu'en saison sèche. Autrefois laissé aux seuls paysans nationaux, ce légume a progressivement conquis les grands maraîchers des zones urbaines de la province. Bien qu'utilisée aussi en pharmacopée traditionnelle [1], la plante est principalement alimentaire [2, 3]. Elle est appréciée pour ses feuilles et calices et représente une source de revenus intéressante pour les agriculteurs.

Depuis quelques années, cependant, d'importantes attaques fongiques, provoquées par un agent pathogène jusqu'alors indéterminé au Gabon, ont été observées sur des cultures de *H. Sabdariffa* : sur 105 parcelles visitées dans la province du Haut-Ogooué, 97 % d'entre



Figure 1.
Plant d'oseille de Guinée comestible :
Hibiscus sabdariffae var. *edulis*.

elles se sont révélées attaquées, à divers degrés, par cet agent. Afin d'enrayer l'expansion de cette maladie et répondre à l'inquiétude grandissante des cultivateurs, des travaux ont été entrepris, essentiellement en laboratoire, pour identifier le champignon concerné et étudier sa biologie.

Les résultats obtenus constituent une première étape dans la tentative de protection de cette culture dont la réussite est conditionnée par la maîtrise du couple *Hibiscus sabdariffa* L.-*Phoma sabdariffae* Sacc.

2. matériel et méthodes

2.1. matériel végétal

L'étude a porté sur les trois variétés d'oseille de Guinée, les plus consommées dans la province du Haut-Ogooué ; elles se différencient par la forme de leur feuille, la couleur de leur tiges et la forme et la couleur de leurs fruits. Les plants ont été cultivés :

- soit en serre, sur vermiculite, où ils ont été arrosés, chaque jour, avec la solution nutritive mise au point par Hoagland et Snyder [4],

- soit en plein champ où ils ont été soumis aux conditions atmosphériques ambiantes précisées dans le *tableau I*.

2.2. milieux de culture

Afin de déterminer le meilleur substrat de développement de l'agent pathogène, le champignon, isolé sur les plants in situ, a été cultivé sur cinq milieux gélosés différents, ajustés à pH 6 : PDA (potato dextrose agar), PCA (pomme de terre-carotte agar), Richards, Czapeck et Sabouraud (*tableau II*). Afin de pallier une possible contamination bactérienne, du chloramphénicol à 0,05 g·L⁻¹ a été ajouté à chacun de ces milieux.

Tableau I.

Données climatologiques relevées dans la région de Franceville au Gabon de 1951 à 1993 (1° 38' de latitude S, 13° 34' longitude E, 426 m d'altitude).

Mois	Température moyenne (°C)			Humidité relative moyenne (%)			Précipitations moyennes (mm)		
	Mini	Moy	Maxi	Mini	Moy	Maxi	Mini	Moy	Maxi
Janvier	20,4	24,8	29,2	67	83,0	99,0	054,0	184,8	315,5
Février	20,4	25,1	29,8	64	81,0	98,0	099,2	207,7	316,2
Mars	20,5	25,4	30,3	61	80,0	99,0	058,2	262,2	466,2
Avril	20,9	25,6	30,3	62	80,0	98,0	098,0	212,3	326,5
Mai	20,7	25,1	29,4	66	82,5	99,0	069,3	285,3	501,3
Juin	19,5	23,4	27,2	70	84,0	98,0	000,0	61,3	122,5
Juillet	18,8	22,8	26,8	68	83,0	98,0	000,0	15,7	31,4
Août	19,4	23,6	27,7	64	80,5	97,0	000,0	29,6	59,2
Septembre	20,1	24,5	28,9	62	80,0	98,0	006,9	101,1	195,2
Octobre	20,4	24,9	29,3	62	85,0	99,0	117,6	280,7	443,8
Novembre	20,3	24,8	29,3	65	81,5	98,0	148,6	258,4	368,1
Décembre	20,3	24,6	28,9	68	83,5	99,0	103,1	313,2	323,3

Tableau II.

Composition des différents milieux gélosés utilisés pour la mise en culture in vitro du champignon responsable de la maladie observée sur *Hibiscus sabdariffae* (quantité donnée pour 1 L de milieu).

Nom des milieux	Composition des milieux
PDA	Pomme de terre (220 g) + glucose (20 g) + gélose (20 g)
PCA	Pomme de terre rapée (20 g) + carotte rapée (20 g) + gélose (20 g)
Richards	KH ₂ PO ₄ (1 g) + MgSO ₄ , FeSO ₄ , 7 H ₂ O (0,5 g) + 7 h ₂ O (0;005 g) + ZnSO ₄ (0,005 g) + MnCl ₂ (0,02 g) + galactose (20 g) + glycocolle (2,250 g) + gélose (20 g)
Czapeck	NaNO ₃ (2 g) + K ₂ HPO ₄ (1 g) + KCL (0,5 g) + FeSO ₄ , 7 H ₂ O (0,005 g) + saccharose (30 g) + gélose (20 g)
Sabouraud	Glucose (30 g) + peptone (10 g) + gélose (20 g)

2.3. isolement de l'agent pathogène

Des feuilles ou des extrémités de tiges ont été prélevées sur des plants malades de chacune des trois variétés d'oseille de Guinée étudiées. Ces organes ont été placés sur milieu PDA, en boîtes de Petri [5], mises à incuber pendant 7 d¹ dans une étuve maintenue à 25 °C. Le champignon, isolé en culture pure à la fin de cette période, a été alors étudié en condition de croissance

in vitro et la morphologie de ses organes – thalle, appareil de fructification et pycniospores – a été observée au microscope.

2.4. inoculations artificielles

À l'issue de 14 d de culture du champignon dans les conditions in vitro présentées précédemment, des pycnides ont pu être prélevées. Puis, des pycniospores ont été obtenues après broyage de ces pycnides à l'ultra-Turax à

¹ d = day ; unité recommandée pour le mot « jour ».

20 000 tour·min⁻¹, pendant 3 min. Le broyat a été filtré sur de la gaze.

Chacune des trois variétés d'oseille a alors été inoculée par pulvérisation, sur le feuillage de plantes âgées de 40 d et cultivées en serre, d'une suspension de 10⁵ pycniospores·mL⁻¹ d'eau distillée stérile.

Sept jours après ces inoculations les symptômes sont apparus sur ces plants inoculés en serre et ils ont pu alors être comparés à ceux observés en champ. À ce stade, l'agent responsable de la maladie a été de nouveau isolé, mais à partir des plants de serre contaminés.

L'observation des organes de l'agent pathogène a été effectuée au microscope soit à partir du prélèvement de tissus végétaux malades, soit à partir de cultures du champignon sur milieu artificiel.

La détermination de l'agent responsable de la maladie a été réalisée en tenant compte à la fois des symptômes observés en champ, des caractéristiques de culture in vitro du champignon et de la morphologie de ses organes étudiée par microscopie.

2.5. croissance du champignon

L'ensemencement des milieux a été réalisé par une pycnide, prélevée sous loupe binoculaire et déposée aseptiquement au centre d'une boîte de Petri de 90 mm.

La croissance du champignon a été étudiée sur les différents milieux (PDA, PCA, Richards, Czapeck, Sabouraud), ajustés à des pH variant de 4 à 9 à l'aide d'un pHmètre OSI/D ENVER modèle 20, et incubés en étuve à diverses températures (20, 25, 27, 30 et 35 °C), pendant 7 d. Six boîtes de Petri ont été utilisées pour chacune de ces conditions expérimentales.

À l'issue des 7 d d'incubation, la croissance a été appréciée en déterminant le diamètre moyen de la colonie, résultant, pour chaque colonie fon-

gique, de la double mesure, effectuée dans deux directions perpendiculaires par rapport à la boîte de Petri. La croissance a été jugée respectivement médiocre, lente, bonne ou rapide selon que le diamètre de la colonie était inférieur à 30 mm, compris entre 30 mm et 70 mm, supérieur à 70 mm ou couvrant totalement le diamètre de la boîte.

Les mesures ont été effectuées toutes les 24 h et chacune d'elles a été répétée trois fois.

2.6. pourcentage de germination des pycniospores

Les pycniospores ont été obtenues après broyage des pycnides prélevées sur plantes malades ou de pycnides formées sur culture artificielle sur milieu PDA. La germination des pycniospores a été étudiée à 20 °C, 25 et 30 °C, à partir d'une suspension de 2 × 10³ pycniospores·mL⁻¹ d'eau distillée stérile, utilisée en goutte pendante.

Les mesures, répétées 3 fois, ont eu lieu toutes les heures durant 7 h.

L'ensemble des données a été confronté au test non paramétrique de Kruskal-Wallis, afin d'évaluer la signification des résultats obtenus.

3. résultats et discussion

3.1. symptômes exprimés in situ par les plants malades de *H. sabdariffae*

Au champ, la maladie touchant les plants d'oseille de Guinée s'observe surtout pendant la saison pluvieuse. Elle affecte les tiges, feuilles et fruits des trois variétés étudiées, quel que soit le stade de développement de la plante, de la plantule à la fructification (*figure 2*).

Les feuilles, principaux organes consommés, s'avèrent, cependant, les plus affectées par la maladie qui se manifeste sous la forme de taches susceptibles d'apparaître à n'importe quel point du limbe des feuilles cotylédonaire et adultes. Petites – 1 à 3 mm – et d'aspect humide au début, ressemblant à de petites taches d'huile, ces taches progressent ensuite du point d'initiation jusqu'à la ramification des nervures principales pour évoluer rapidement en une sorte de nécrose. À ce stade de la maladie, l'extrémité adjacente du pétiole se ramollit laissant pendre les folioles chiffonnées et desséchées. Le moindre vent ou toute autre pression provoque, alors, la chute de la feuille, entraînant une défoliation du plant qui peut être très intense, au point de ne laisser subsister que de rares ébauches foliaires du bourgeon terminal. Sur les parties nécrosées du limbe ou du pétiole, et même des nervures, apparaissent de nombreuses pycnides sous forme de petits points noirs ou brun foncé, visibles à l'œil nu.

Sur les tiges de rameaux, la maladie est localisée le plus souvent à l'extrémité du bourgeon terminal, aux points d'insertion des pétioles ou de ramifications de jeunes bourgeons. Il y apparaît de petites dépressions brunes ou noirâtres qui atteignent 3 à 5 mm de longueur. Le bourgeon terminal se fane et se dessèche progressivement. Les tissus desséchés acquièrent alors une coloration grisâtre et présentent de nombreux points noirs qui correspondent aux pycnides formées par le champignon.

Sur les fruits, la maladie ne devient visible qu'après le dessèchement des calices et des pédoncules, sur lesquels plusieurs pycnides sont visibles. Ces pycnides sont sous épidermiques, plus ou moins globuleuses et dispersées sur les parties nécrosées. Elles mesurent 70 à 140 μm de diamètre (*figure 3.a*) ; la moyenne calculée à partir de l'observation de 100 pycnides étant de 110 μm .



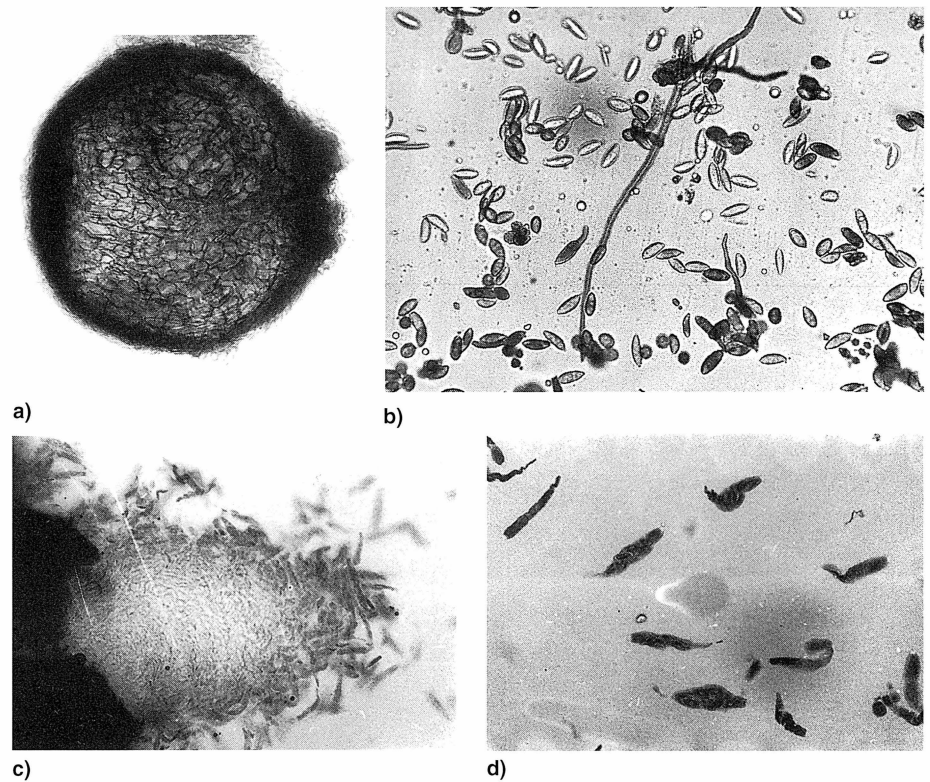
Figure 2.
Plant d'oseille de Guinée
(*Hibiscus sabdariffae*) après attaque
par l'agent pathogène.

Les pycniospores (*figure 3.b*) sont hyalines à l'état jeune, légèrement brunes à maturité quand elles se présentent, notamment, en masse. Ces pycniospores sont unicellulaires, ovoïdes ou fusiformes, mais effilées à la base et arrondies à l'extrémité apicale. Elles renferment parfois une fausse cloison et mesurent 6 à 13,8 μm de long et 2,5 à 2,8 μm de large, la moyenne sur 100 pycniospores étant de 10,8 μm sur 2,7 μm .

En période de forte pluviosité, des périthèces peuvent être également visibles (*figure 3.c*). Ils sont plus ou moins sphériques et de couleur foncée à maturité, avec une dépression ou un affaissement au sommet. Ils mesurent 110 à 150 μm de diamètre.

Les asques sont cylindriques et assez effilés à la base (*figure 3.d*). Ils renferment huit ascospores et mesurent 20 à 65 μm de long et 7,5 à 10 μm de large. Les ascospores sont hyalines, ovoïdes et mesurent 9 à 12,5 μm de long et 3 à 6 μm de large.

Figure 3.
Différentes formes de fructification
de l'agent pathogène responsable
de la maladie étudiée
sur *Hibiscus sabdariffae* :
a. Pycnide ;
b. Pycniospores ;
c. Périthèces ;
d. Asques et ascospores.



3.2. aspect du champignon développé in vitro sur milieu artificiel

Sur le milieu PDA, le champignon isolé développe un mycélium immergé hyalin, vigoureux, fortement ramifié, cloisonné et pourvu de nombreuses gouttelettes intracellulaires. Les filaments mesurent de 3 à 7,5 μm de diamètre. Le mycélium aérien est souvent absent ou très pauvre mais jamais floconneux. La colonie est représentée au début par une sorte de plaque grisâtre, uniformément ronde, ressemblant, dans sa partie centrale, à une colonie bactérienne, dotée, en périphérie, d'une bande blanchâtre constituée de fins filaments aériens très courts. Cet aspect de la colonie change dès le troisième jour avec l'apparition des pycnides.

Brunes au début, les pycnides noircissent avec l'âge. Elles affichent une forme globuleuse, avec une paroi à structure parenchymateuse glabre, sans

col et pourvue d'un ostiole délimité par des cellules très foncées. Au voisinage de cet ostiole on perçoit, parfois, un mucus caractéristique grisâtre. Ces pycnides ont tendance à se disposer en cercles concentriques autour de la plaque centrale. Elles sont plus ou moins enfoncées dans le milieu de culture et forment, en surface, et particulièrement dans la partie centrale de la culture, une sorte de croûte brun foncé ou noire.

La plupart des pycnides présentent un diamètre de 110 μm environ, mais certaines qui sont de couleur plus foncée, généralement stériles et de forme irrégulière, peuvent atteindre 175–200 μm . Les pycniospores ont une taille approximativement égale à celle des pycniospores observées in situ sur les plants malades.

3.3. inoculations artificielles

Après inoculation artificielle, les trois variétés testées ont exprimé les symp-

tômes de la maladie déjà décrite, révélés de façon évidente 7 d après le traitement. La maladie a évolué d'autant plus rapidement que l'humidité relative a été plus élevée. La production de pycnides a alors été abondante sur les parties nécrosées du limbe.

L'agent pathogène réensemencé sur le milieu PDA a présenté les mêmes caractéristiques que celles du champignon cultivé sur milieu artificiel, telles que décrites précédemment : aspect du mycélium et des organes reproducteurs.

L'ensemble des données morphologiques propres à ces pycnides et pycniospores correspond aux caractéristiques de la famille des sphaeroïdacées et permet de placer ce champignon dans le genre *Phoma*.

La description des symptômes de la maladie et de la morphologie du champignon est semblable à celle faite antérieurement par Ghosh et Mukherji [6], ainsi que par Boulanger et al. [7], sur les hibiscus textiles. Le champignon qui attaque les plants d'oseille de Guinée au Gabon serait donc *Phoma sabdariffae* Sacc.

La forme parfaite de ce champignon n'a été observée qu'au champ, sur les tiges, les pédoncules fructifères et en particulier sur les fruits desséchés. Les

isolements, réalisés à partir de périthèces ou de suspensions d'ascospores sur milieu PDA, ont produit exclusivement des pycnides qui ont été parfois stériles. En tenant compte des caractères morphologiques des périthèces, des asques et des ascospores issus des plantes, cette espèce appartiendrait au genre *Trichosphaeria* Fuckel.

3.4. influence du milieu sur la croissance

L'évolution journalière du diamètre moyen de la colonie, utilisé pour évaluer la croissance du champignon, a été différente d'un milieu de croissance testé à l'autre (tableau III) :

- sur le milieu PDA, la croissance a été rapide ; la colonie a recouvert entièrement la boîte de Petri en 6 d ; les pycnides ont été abondamment produites et ont formé l'essentiel de la colonie ; toutes les autres caractéristiques de la culture sur milieu artificiel ont été semblables à celles précédemment décrites ;
- sur le milieu PCA, le mycélium a été immergé ; la colonie ressemblait à celle décrite pour le milieu PDA ; la croissance du champignon, bien que moins rapide, a été bonne ; le champignon a recouvert l'ensemble de la boîte de Petri en 7 d ; les pycnides, visibles dès le troisième jour de la culture, ont

Tableau III.

Comparaison de la croissance de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur différents milieux de culture, ajustés à pH 6.

Nombre de jours après ensemencement	Diamètre moyen de la colonie en fonction des milieux de culture utilisés (mm)				
	PDA	PCA	Sabouraud	Richards	Czapeck
1	3,33	2,83	1,66	1,16	1,66
2	19,00	14,00	12,83	5,83	8,16
3	43,33	33,83	31,66	16,16	11,00
4	67,40	49,50	50,16	22,66	12,50
5	79,83	65,83	67,00	30,66	13,83
6	90,00	67,16	85,66	37,00	16,16
7	90,00	90,00	90,00	43,50	18,50

Chaque donnée correspond à la moyenne de 18 valeurs. Les différences observées d'un milieu de culture à l'autre ont été significatives au seuil de 5 % du test de Kruskal-Wallis.

été nombreuses avec des caractéristiques semblables à celles produites sur le milieu PDA ; elles étaient disposées en cercles concentriques autour du point central plus densément pourvu ;

- sur le milieu Sabouraud, le mycélium a été également immergé et la colonie ressemblait à celle des milieux PCA et PDA, mais avec une structure légèrement visqueuse ; la croissance a été légèrement plus rapide que sur le milieu PCA et le champignon a recouvert l'ensemble de la boîte en 7 d ; les pycnides n'ont pas été vraiment visibles avant le cinquième jour de la culture ; elles n'ont pas montré une consistance normale, et leur paroi externe n'avait pas la structure parenchymateuse habituelle ; elles ressemblaient à des petites vésicules à paroi lisse, plus ou moins translucides et le plus souvent stériles ;

- sur le milieu de Richards, le mycélium a été quasiment immergé et très pauvre en surface ; la colonie était irrégulière, parfois chevelue ou mamelonnée ; la croissance a été lente et le diamètre de la colonie n'a pas dépassé 70 mm à l'issue des 7 d de culture ; les pycnides ont été très rares ;

- sur le milieu de Czapeck, le mycélium est apparu immergé ; la colonie

ressemblait, du moins au début de sa croissance, à celle développée sur le milieu de Richards ; une légère pigmentation brune a été observée dans le milieu ; la croissance a été médiocre, la colonie ne dépassant pas 25 mm de diamètre à l'issue de 7 d de culture ; il ne s'est pas formé de pycnides.

Ces observations montrent que le champignon étudié a un développement immergé ou intramatriciel. Le mycélium est apparu hyalin, cloisonné et bien ramifié quel que soit le milieu de culture testé. Cependant la croissance n'a pas été uniforme : médiocre sur le milieu de Czapeck, elle a été lente sur celui de Richards, bonne sur les milieux PCA et Sabouraud et rapide sur celui de PDA. La fructification a été nulle ou rare sur les milieux synthétiques (Czapeck et Richards) et abondante sur les milieux à base de constituants naturels (PDA et PCA). Les résultats des mesures de croissance sur milieux PDA, PCA, Sabouraud, Richards et Czapeck, confrontés au test de Kruskal-Wallis, se sont révélés significatifs au seuil de 5 % (tableau III).

En dépit d'une croissance normale sur le milieu de Sabouraud, le champignon a produit dans l'ensemble, sur ce milieu, des pycnides qui ne présentaient pas une structure typique. Sur milieux naturels et sur celui de Sabouraud, les pycnides ont pu être observées à partir des troisième ou quatrième jours après l'ensemencement. Il en a été de même dans le cas des inoculations artificielles réalisées en serre ou en champ où les pycnides ont été repérées 3 à 4 d après l'apparition bien évidente des taches foliaires.

3.5. influence du pH sur la croissance de *P. sabdariffae*

L'influence du pH a été étudiée à 25 °C sur le milieu PDA, le plus favorable à la croissance du champignon

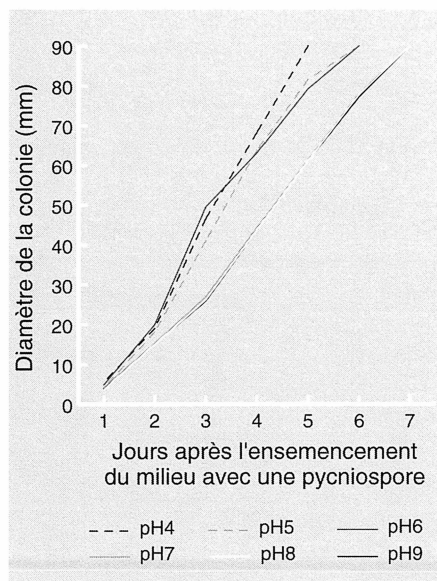


Figure 4. Effet du pH sur la croissance de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur milieu PDA placé en étuve à 25 °C. Chaque point correspond à la moyenne de 18 valeurs.

d'après les résultats obtenus à l'issue de l'expérimentation précédente.

Plus le pH du milieu de culture a été acide, plus la croissance de *P. Sabdariffae* a été rapide. Les meilleurs résultats ont été obtenus à pH 4, qui correspond au pH le plus acide de ceux qui ont été testés. À ce pH, le diamètre de la boîte de Petri a été totalement recouvert en 5 d, alors que 6 d au moins ont été nécessaires pour obtenir le même résultat avec les pH 5–9 (figure 4). Ces différences de croissance observées se sont révélées significatives (tableau IV).

Pour tous les pH étudiés la production de pycnides a été abondante et aucune modification de texture de la colonie n'a pu être observée. Les organes de fructification, observés au microscope, n'ont pas montré d'anomalies.

Bien que la croissance du champignon et son pouvoir infectieux ne soient pas toujours liés, nous pouvons tout de même noter que les feuilles et les tiges d'oseille de Guinée, cibles naturelles du champignon, ont un pH très acide (pH 3) après broyage, qui serait donc favorable à son développement.

Tableau IV.

Comparaison de la croissance de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur milieux PDA ajustés à différents pH.

Valeurs des pH testés	Diamètre moyen de la colonie en fonction du nombre de jours de culture du champignon en boîte de Petri (mm)	
	5 d	6 d
4	90,00	—
5	81,55	90,00
6	79,22	90,00
7	61,38	77,72
8	66,44	82,00
9	67,94	80,77

Chaque donnée correspond à la moyenne de 18 valeurs. Les différences observées d'un pH à l'autre ont été significatives au seuil de 5 % du test de Kruskal-Wallis.

3.6. influence de la température sur la croissance de *P. sabdariffae*

De même que pour l'étude de l'influence du pH sur la croissance de *P. sabdifferae*, l'effet de la température a été étudié en utilisant le milieu PDA, favorable au développement rapide du champignon. Celui-ci a été ajusté à pH 6, pH qui avait donné de bons résultats à l'issue de l'expérimentation précédente (tableau V).

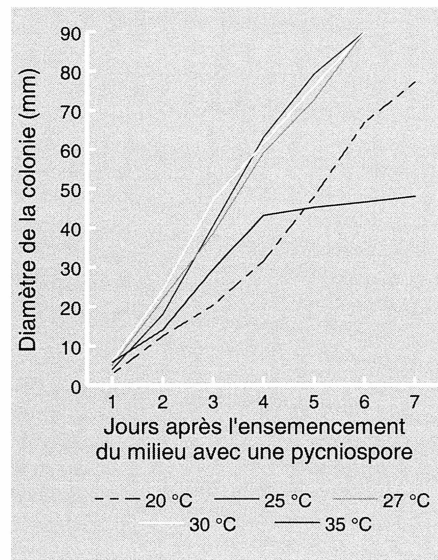
Tableau V.

Comparaison de la croissance de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur milieux PDA placés en étuve à différentes températures.

Nombre de jours après ensemencement	Diamètre moyen de la colonie (mm) en fonction de différentes températures de culture testées				
	20 °C	25 °C	27 °C	30 °C	35 °C
1	2,88	5,11	4,83	5,55	5,88
2	12,55	20,94	21,50	48,11	29,50
3	20,38	36,44	43,50	50,33	29,50
4	31,55	57,38	60,11	65,27	43,11
5	47,88	74,27	74,38	76,00	45,16
6	66,88	83,11	81,66	81,66	46,44
7	77,16	90,00	90,00	90,00	48,00

Chaque donnée correspond à la moyenne de 18 valeurs. Les différences observées d'une température à l'autre ont été significatives au seuil de 5 % du test de Kruskal-Wallis.

Figure 5.
Effet de la température sur la croissance de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur milieu PDA ajusté à pH 6. Chaque point correspond à la moyenne de 18 valeurs.



La croissance du champignon a été la moins bonne pour les valeurs extrêmes de la fourchette des températures testées – 20 et 35 °C. Cependant, c'est pour la valeur la plus élevée (35 °C) qu'elle a été, globalement, la plus lente : le champignon a alors eu un développement appréciable pendant les quatre premiers jours de la culture, et il a stagné au cours des jours suivants, en prenant une coloration brun-ocre. À cette température de 35 °C, le milieu a perdu de sa fermeté et est devenu plus ou moins visqueux. Les rares pycnides

formées manquaient de consistance et se sont révélées stériles.

À 25, 27 et 30 °C, le champignon s'est développé rapidement, envahissant la boîte en 6 d (figure 5). Les différences observées se sont révélées significatives au seuil de 5 % du test de Kruskal-Wallis (tableau V).

Alors qu'à 20, 25 et 27 °C la couche superficielle des pycnides est restée bien tendre, à 30 °C, où la production de pycnides a été forte, le milieu a eu tendance à se déshydrater, entraînant, surtout dans sa partie centrale, un aspect carbonisé de cette même couche superficielle des pycnides. Les caractéristiques du champignon n'ont, par ailleurs, pas montré d'autres modifications remarquables.

Il résulte de cette expérimentation que la gamme des températures couramment enregistrées au Gabon, tout particulièrement en saison pluvieuse, – 25, 27 et 30 °C – correspond aux meilleures conditions thermiques de croissance du champignon. Ces observations pourraient expliquer, du moins en partie, l'ampleur des dégâts enregistrés sur l'oseille de Guinée pendant la saison des pluies.

Par analogie, la croissance ralentie du champignon placé à 20 °C peut expliquer la réduction des attaques,

Tableau VI.

Comparaison de la germination à 25 °C, de pycniospores prélevées soit sur les organes fructifères de *Phoma sabdariffae* développé sur la plante, soit sur ceux du champignon cultivé sur milieu artificiel PDA.

Temps écoulé entre la mise en germination de la spore et l'observation (en h)	Taux de germination des spores prélevées sur plants malades (%)	Taux de germination des spores prélevées sur le champignon cultivé in vitro (%)
1	2	0
2	26	0
3	60	0
4	79	2
5	86	13
6	90	28
7	93	36

Chaque donnée correspond à la moyenne de six valeurs.

voire l'absence de la maladie, pendant la saison sèche, qui est aussi la plus fraîche, les températures moyennes avoisinant souvent à cette période ce seuil de 20 °C peu favorable au développement de *P. sabdariffae*.

3.7. influence de la température sur la germination des pycniospores de *P. sabdariffae*

Mise à germer sur milieu PDA, la pycniospore commence par se condenser, puis il se forme une protubérance au point de sortie du futur tube germinatif. Sous la poussée interne de ce tube germinatif, la paroi conidienne externe est alors rompue. Le tube germinatif apparaît sous forme d'un fin filament hyalin au bout arrondi. Généralement les pycniospores, qui germent en des temps et à des taux variables selon le matériel dont elles proviennent, émettent un seul tube germinatif latéral, terminal ou subterminal, mais, parfois, deux tubes germinatifs terminaux peuvent être produits. Les pycniospores prélevées in situ sur des plantes malades commencent à germer dès la première heure à 25 °C, alors que la germination est retardée de 3 à 4 h pour les organes formés sur des cultures in vitro effectuées sur milieu PDA (tableau VI).

Globalement, quelles que soient l'origine des pycniospores et la température de leur mise en culture, les taux de germination ont été très faibles au début et maximaux 3 h après le début de la germination. Après 7 h d'observation, les taux cumulés de germination enregistrés à 20, 25 et 30 °C ont été respectivement de 90, 93 et 94 % pour les pycniospores prélevées sur des plantes malades, et de 47, 54 et 51 % pour celles formées sur culture artificielle. Cette différence de comportement pourrait être attribuée à une insuffisance des facteurs trophiques chez les pycniospores prélevées sur les milieux gélosés ; cependant, ce phéno-

mène devra être étudié de façon plus précise.

À la fin de la première heure de mise en germination de la pycniospore, la longueur des tubes germinatifs est inférieure à 5 µm. Quelle que soit l'origine des pycniospores, le pourcentage des tubes germinatifs mesurant moins de 10 µm de long tend à se réduire jusqu'à la quatrième heure, alors que le taux des tubes germinatifs de longueur supérieure augmente. Après 7 h, 70 % des pycniospores présentent un tube germinatif de 10 à 20 µm, 20 % d'entre elles ont au moins un tube de moins de 10 µm, et 10 % possèdent au moins un tube de plus de 20 µm de long. Dans les conditions expérimentales testées, la température n'a donc pas eu d'effet significatif sur la croissance du tube germinatif.

La rapidité de germination constatée pour les pycniospores produites in situ par les plantes malades et la longueur appréciable des tubes germinatifs, obtenue en moins de 7 h, peuvent rendre possible, dans les conditions naturelles, l'infection de la plante en un temps très court, notamment après une pluie ou dans des conditions de forte humidité relative.

4. conclusion

Phoma sabdariffae Sacc. a été identifié comme étant l'agent responsable des dégâts observés sur les trois variétés d'oseille de Guinée les plus cultivées dans la région du Haut-Ogooué au Gabon. La croissance de ce champignon in vitro s'est révélée être influencée à la fois par la température, la nature du milieu de culture et son pH. Ainsi, les meilleures conditions de croissance ont été obtenues à 27 °C, en utilisant le milieu PDA ajusté à un pH acide. La germination des pycniospores observée expérimentalement en goutte pendant dépend davantage des conditions de culture du champignon sur

laquelle elles ont été prélevées que de la température de mise en germination. Ces observations s'accordent avec les observations de terrain qui ont montré que les attaques les plus sévères ont davantage lieu en période pluvieuse qu'en saison sèche. Une étude épidémiologique de cette maladie s'avère donc nécessaire afin de définir les stratégies de lutte à adopter.

remerciements

Les auteurs remercient le P^r Follin et le D^r G.M. Nkiet pour l'aide et les conseils apportés pour la rédaction de ce manuscrit.

références

- [1] Chenu J., Ouvry P., Lavergne R., Les plantes médicinales tropicales, tome 5, Darení (ed.), Libreville, Gabon, 1986.
- [2] Westphal E., Embrechts J., Mbouemboue P., Westphal-Stevens J.M.C., Mouzong Boyomo, L'agriculture autochtone au Cameroun. Les techniques culturales, les séquences de cultures, les plantes alimentaires et leur consommation, Wageningen, Pays-Bas, Miscellaneous papers 20 (1981) 103–148.
- [3] Stevens J.M.C., Légumes traditionnels du Cameroun. Une étude agrobotanique. Wageningen Agricultural University Papers, Wageningen, Pays-Bas (1990) 90–1, pp. 16–24.
- [4] Hoagland D.R., Snyder W.C., Nutrition of strawberry plants under controlled conditions, Proc. Am. Soc. Hortic. Sci., sér. 30, 1933, 288–296.
- [5] Rapilly F., Les techniques de mycologie en pathologie végétale, Ann. Epiphyt. 19 (hors-série) (1968) 102 p.
- [6] Ghosh T., Mukherji N., Tip-rot of mesta (*Hibiscus cannabinus*), Curr. Sci. 2 (1958) 67–69.
- [7] Boulanger J., Follin J.C., Bourelly J., Les hibiscus textiles en Afrique tropicale : conditions particulières de la production du kenaf et de la roselle, Coton et Fibres Tropicales, série « Documents, études et synthèses » 5, 1984, 81 p.

Estudio e identificación del patógeno de la rosella en Gabón.

Resumen — Introducción. La rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) ocupa el primer lugar entre las plantas de huerta tradicionales que se cultivan en Gabón. Sin embargo, desde hace algunos años esta especie sufre el ataque de un hongo que no ha sido hasta ahora determinado en ese país. Se han emprendido una serie de trabajos que permitan la identificación del hongo y su estudio biológico para poder atajar la propagación de la enfermedad. **Material y métodos.** Se cultivaron conjuntamente, en invernadero y en el campo, las tres variedades de *P. sabdariffa* L. más consumidas en Gabón. Tras aislar al patógeno en las plantas enfermas, se procedió a su inoculación artificial. El crecimiento del patógeno se ha ensayado in vitro en diferentes medios y con diferentes condiciones de pH (4 a 9) y temperatura (20 a 35 °C). Se observaron los síntomas in situ y se describió el aspecto del hongo cultivado in vitro. La tasa de germinación de pycnioesporas en un medio de agar-agar se determinó a 20, 25 y 30 °C. **Resultados y discusión.** En función de los datos reunidos el hongo patógeno sería *Phoma sabdariffae* Sacc. El hongo presentó el mejor crecimiento en un medio PDA, con pH 4 e incubado con temperaturas entre 25 y 30 °C. Las tasas de germinación de pycnioesporas tomadas in situ en plantas enfermas fueron relativamente más altas que las de pycnioesporas procedentes de cultivos in vitro en un medio PDA. **Conclusión.** A partir de los primeros resultados obtenidos, se revela indispensable la realización de un estudio epidemiológico de la enfermedad para definir las estrategias necesarias para combatir la enfermedad (© Elsevier, Paris).

Gabón / *Hibiscus sabdariffa* / *Phoma sabdariffae* / enfermedades de las plantas / ciclo vital / síntomas