

## Influence de la température sur la projection et la viabilité des ascospores de *Mycosphaerella musicola* Leach

par **P. FROSSARD**

*Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer.*

### I. INFLUENCE DES BASSES TEMPÉRATURES

Au cours d'expériences diverses, effectuées au Centre guinéen de Recherches fruitières sur la projection d'ascospores de *Mycosphaerella musicola* Leach (forme parfaite de *Cercospora musae* Zimm.) par des feuilles deséchées de bananiers « Poyo », sous l'action d'une pluie artificielle, il a été constaté que les fragments de feuilles abandonnés sur les tablettes du laboratoire perdaient, au bout de quelques jours, leur pouvoir de projection. Il a donc semblé intéressant d'essayer de prolonger ce pouvoir par le froid et de vérifier la viabilité des ascospores ainsi obtenues.

#### Conditions de l'essai.

Le 22 novembre 1960, un essai préliminaire a permis de disposer de deux feuilles contenant une très grande quantité de périthèces mûrs, puisque la feuille A projetait 3 292 spores au centimètre carré et la feuille B, 1 352 spores. Chaque feuille fut alors divisée en 5 parties (a, b, c, d, e) et chaque partie en 3 morceaux (1, 2 et 3) qui furent placés dans les trois situations suivantes :

1) Dans le « freezer » d'un réfrigérateur où la température est d'environ  $-13^{\circ}\text{C}$  et l'humidité relative proche de la saturation ;

2) à la partie inférieure du même réfrigérateur où la température est d'environ  $+6^{\circ}\text{C}$  et l'humidité relative d'environ 60 % ;

3) sur une tablette du laboratoire, la température à cette saison variant

de  $20^{\circ}$  à  $27^{\circ}\text{C}$  et l'humidité relative de 60 % à 85 %.

5, 10, 15, 20 et 30 jours après le début de l'expérience, on a prélevé les fragments comparables (par exemple, toutes les parties « d » le 10<sup>e</sup> jour). On les a laissés pendant 2 h sur la tablette du laboratoire de façon à équilibrer leur température avec celle de la pièce. Le 5<sup>e</sup> jour, ils ont été soumis à une pluie artificielle de 30 mn, une lame de verre nu recueillant les ascospores pendant la pluie et les 30 mn suivantes. A partir du 10<sup>e</sup> jour, on a de plus vérifié la viabilité des spores projetées. Pour cela, trois séries de lames nues se succèdent : une pendant la pluie, une pendant la demi-heure suivante et la dernière pendant l'heure suivante. Autrement dit, si l'on prend l'origine des temps à la fin de la pluie, la première lame va de  $-30$  mn à 0, la seconde de 0 à  $+30$  et la troisième de  $+30$  à  $+90$ . La viabilité a été vérifiée sur la série 0-30 qui a été placée durant 6 h dans une enceinte de température constante de  $25^{\circ} \pm 0,5$  et à une humidité relative de 100 %. Après coloration au bleu coton, il est alors facile de compter le nombre de spores germées ou non et de mesurer 50 spores ayant germé par les 2 extrémités. La germination sur verre nu est évidemment assez éloignée de la germination réelle sur feuille, mais c'est le seul procédé permettant rapidement de vérifier le pouvoir germinatif et de compter en plus le nombre de spores par centimètre carré.

Le tableau I ne fait pas ressortir de différences selon les traitements et les jours de prélèvement. Comme il fallait s'y attendre, la projection la plus im-

portante se fait sur la deuxième lame. Ce n'est que le 30<sup>e</sup> jour qu'on note une diminution pour les traitements 1 et 3, mais il aurait fallu un plus grand nombre de répétitions pour conclure définitivement.

Le tableau II est beaucoup plus intéressant. Les témoins perdent très vite leur pouvoir germinatif : 20 % de spores germées au 10<sup>e</sup> jour, et pratiquement plus rien aux 15<sup>e</sup> et 20<sup>e</sup> jours. Au contraire, le pourcentage reste très élevé pour les traitements 1 et 2 jusqu'à la fin de l'expérience, particulièrement pour le traitement 2 ( $+6^{\circ}\text{C}$ ). Un phénomène curieux est à noter : la longueur des germinations des fragments n<sup>os</sup> 1 ( $-13^{\circ}\text{C}$ ) est constamment inférieure à celle des n<sup>os</sup> 2 ( $+6^{\circ}$ ). La moyenne générale des premiers est de 29,6  $\mu$  contre 39,8 pour les seconds. Cette différence de 10  $\mu$  est hautement significative.

On peut donc tout d'abord conclure qu'il est fort possible de conserver pendant au moins un mois dans un réfrigérateur, à  $+6^{\circ}\text{C}$ , des feuilles de bananier riches en périthèces et en ascospores qui garderont leur vitalité. Signalons cependant que les feuilles ainsi conservées durant 4 mois n'ont projeté que relativement très peu de spores qui ont cependant germé sur verre nu à 90 % en 24 h, en atmosphère saturée, la température variant de  $24^{\circ}$  à  $30^{\circ}\text{C}$ . La période de 4 mois est donc trop longue. Il serait de plus fort intéressant de vérifier si ces spores ont conservé leur pathogénéité.

Il est également troublant de constater que des feuilles abandonnées dans un laboratoire conservent un certain temps leur pouvoir de projeter des

spores qui ne peuvent plus germer, sur verre nu il est vrai, mais on sait que les ascospores de *Mycosphaerella musicola* germent plus facilement et plus vite sur lame nue que sur gélose et surtout sur feuille. En général, le stade ascospore représente un stade de conservation de l'espèce. Il ne semble pas que cela soit le cas de ce champignon. Bien que l'expérience ci-dessus soit incomplète, il nous a semblé intéressant de signaler ces observations.

## II. INFLUENCE DES HAUTES TEMPÉRATURES

Lorsqu'on étudie la croissance sur feuilles de bananiers des ascospores de *Mycosphaerella musicola* à diverses températures, on observe qu'à partir de 35° C les germinations deviennent très irrégulières et qu'entre 38° et 40° elles sont nulles (tout au moins en 24 h). Il est logique d'essayer de voir si ces spores, qui ne germent plus, sont tuées ou simplement arrêtées dans leur développement, et à partir de quelle température elles sont définitivement tuées.

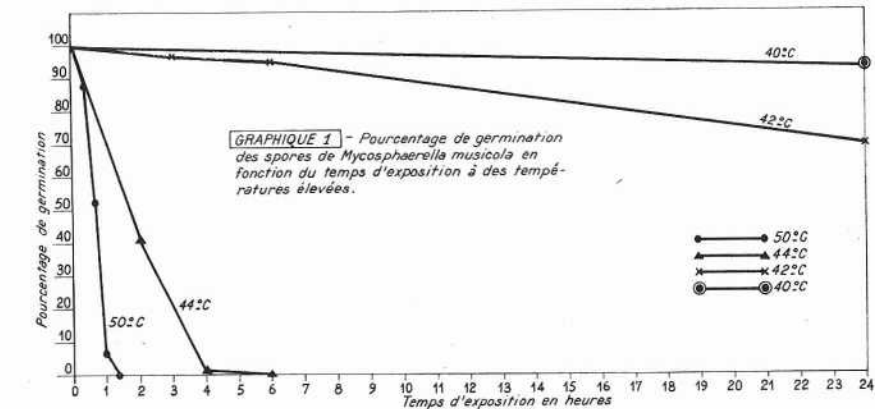
Le seul auteur qui, à notre connaissance, ait étudié ce problème, est L. CALPOUZOS qui a vérifié que les conidies de *Cercospora musae* pouvaient supporter sans inconvénient des températures élevées et des basses humidités relatives pendant quelques heures.

Cet auteur a soumis des conidies à des humidités relatives et des températures variables (T 8° à 35°, hygrométrie 75-85% - T 14° à 25° en présence d'eau, 3 répétitions). Il a comparé le pourcentage de germination avec celui de spores témoins soumises aux mêmes conditions d'humidité mais laissées à température constante : 25°. Aucune différence n'a été relevée dans la germination des conidies.

Le comportement d'ascospores soumises à des variations de température et d'humidité relatives au laboratoire n'avait encore jamais été précisé.

### Matériel et méthodes.

Les ascospores sont obtenues de la façon habituelle en soumettant à une demi-heure de pluie artificielle des fragments de feuilles desséchées. Ces spores



sont recueillies sur les faces inférieures de morceaux de feuilles vertes de bananier non encore déroulées, placées dans des boîtes de Pétri dont le fond est garni d'un papier filtre humide. Ces boîtes sont maintenues pendant le temps voulu dans une étuve à paraffine réglée à la température désirée, puis mises 24 heures dans une enceinte à 25° C, température optimum pour la croissance de *Mycosphaerella musicola*. Trois répétitions au moins ont été faites par traitement. Au bout des 24 heures, une goutte de bleu coton est disposée sur la feuille et, après coloration, on observe par transparence la germination des ascospores. Le pourcentage de germination est calculé d'après la présence d'un filament germinatif (germination par une ou par les deux extrémités de la spore). La longueur des germinations est mesurée sur 50 spores ayant germé par les deux extrémités (voir tableau III).

### Résultats.

Au fur et à mesure que la température s'élève, le pourcentage de spores germées et la longueur moyenne des 2 tubes germinatifs diminuent. Ils sont annulés à 40° C.

Si l'on place des spores à des températures plus élevées durant des temps variables et qu'ensuite on les laisse 24 h à 25° en atmosphère saturée, on obtient les pourcentages de germination donnés au tableau IV.

On a représenté sur le graphique I le pourcentage de spores germées après différents temps d'exposition à 40, 42,

44 et 50° en atmosphère saturée d'humidité et 24 h d'exposition à 25° en atmosphère saturée également. On peut constater ainsi que les spores qui sont restées 24 h à 40° et 42° résistent fort bien puisqu'elles germent encore à 94 % et à 70 %. Par contre, elles sont tuées en 6 h à 44° et en un peu plus d'une heure à 50°. Cette dernière température est d'ailleurs également mortelle pour la feuille de bananier qui, au bout de 3 h, prend un aspect de « cuit ».

Si l'on évalue la germination, en longueur des filaments germinatifs, les résultats sont donnés dans le tableau V pour les T° de 50° et 42° C.

On note que la longueur diminue régulièrement lorsque le temps d'exposition augmente, autrement dit, que les ascospores qui ont résisté ont malgré tout une vitalité moindre que celle des témoins.

### Discussion.

Au point de vue pratique, les conditions de cette expérience sont assez éloignées des conditions naturelles, principalement en ce qui concerne l'humidité relative de l'air. Nous avons en effet placé les fragments en atmosphère saturée d'humidité essentiellement parce que nous craignons qu'ils ne se dessèchent en atmosphère plus sèche et parce qu'il nous était matériellement impossible d'assurer une humidité relative constante et inférieure à 100. Or, en bananeraie, l'état hygrométrique de l'air atteint 100% presque chaque nuit — la température étant de 12° à 22° selon les saisons — et également

TABLEAU I

Nombre de spores de *Mycosphaerella musicola* projetées par cm<sup>2</sup> après conservation des feuilles de bananier à basses températures

Traitements	5e jour		10e jour			15e jour			20e jour			30e jour		
	-30	+30*	-30.0	0+30*	+30+90*	-30.0	0+30	+30+90	-30.0	0+30	+30+90	-30.0	0+30	+30+90
1 - 13°C	A	pas d'observa.	560	2610	18	56	1324	403	119	3269	420	0	68	508
	B	2316	1884	11926	115	45	3342	2917	350	5996	396	90	431	303
2 + 6°C	A	4000	89	621	29	201	2360	75	53	2170	290	130	6700	1710
	B	31	1627	7234	251	792	4852	1554	122	2565	288	21	2283	2903
3 Témoïn	A	205	44	1777	17	0	476	191	33	1124	129	11	71	250
	B	213	2023	9053	70	207	7755	2873	17	3167	1058	1	188	296

\* - Origine des temps 0 prise à partir de la fin de la pluie artificielle. Observations effectuées de - 30 minutes à 0, de 0 à + 30 minutes et de + 30 à + 90 minutes.

TABLEAU II

Pourcentage de germination et longueur moyenne en  $\mu$  des tubes germinatifs des spores de *Mycosphaerella musicola* projetées à partir de fragments de feuilles conservées à basses températures.

Traitements		10e jour		15e jour		20e jour		30e jour	
		% G	L. moy.*	% G	L. moy.	% G	L. moy.	% G	L. moy.
I (-13°)	A	93	29,6	39	28,9	95	27,9	92	29,0
	B	96	32,1	86	27,4	45	33,3	86	28,3
2 (+6°)	A	97	44,0	92	31,0	89	40,1	100	45,0
	B	97	43,7	97	30,8	94	42,9	97	41,2
3 (témoïn)	A	19	**	2	**	2	**	0	**
	B	20	27,5	12	23,6	0,5	**	0,7	**

\* - spores ayant germé aux deux extrémités  
\*\* - pas d'observations effectuées.

TABLEAU III

Effet des hautes températures sur la germination des spores de *Mycosphaerella musicola*.

Temps d'exposition	Températures	Spores germées %	Longueur moyenne des tubes germinatifs*	Observations
24 h	25°	100	112 $\mu$	Optimum de croissance
24 h	35°5	83	41 $\mu$	
24 h	38°	très variable selon les 3 lames 0. 60. 92	25 $\mu$	
24 h	40°	0		

\* - spores ayant germé aux deux extrémités

TABLEAU IV

Pourcentages de germination des spores de *Mycosphaerella musicola* en fonction du temps d'exposition à des températures élevées

T° C	Durée d'exposition	% germées après traitement au bout de 24 h à 25°C
50	0	99,1
	10 mn	96,9
	20 mn	88
	40 mn	52,5
	60 mn	7,1
44	0	100
	2 h	41,5
	4 h	1
42	0	100
	3 h	96,3
	6 h	94,8
	24 h	69,3
40	24 h	93,7

TABLEAU V

Longueur des filaments germinatifs de spores de *Mycosphaerella musicola* exposées à de hautes températures pendant des temps variables.

Temps d'exposition	Température	Longueur moyenne des filaments germinatifs ( $\mu$ ) * (3 répétitions)			
		A	B	C	Moyenne
Témoïn	25°	101	92	90	94,3
10 minutes	50°	91	103	73	89,0
20 minutes	50°	69	72	65	68,7
40 minutes	50°	61	50	57	56,0
Témoïn	25°	79	86	101	87,0
3 heures	42°	78	81	90	81,7
6 heures	42°	68	74	70	70,7
24 heures	42°	57	45	61	54,3

\* Spores ayant germé aux deux extrémités

Erratum. Dans le tableau III, colonne 3, lire : très variable selon les 3 feuilles.

au cours des journées d'hivernage, la température ne dépassant alors jamais 27°. Il arrive souvent, en saison sèche, que la température des feuilles dépasse 40° C pendant plusieurs heures et atteignent même 45°, mais l'air ambiant est alors à 20 ou 30 % de la saturation en humidité. Remarquons cependant que le mycélium du pathogène, qui est à l'intérieur des feuilles, y trouve

des conditions d'humidité favorables mais, comme il atteint ces températures élevées, on admettra facilement que son développement soit fortement ralenti sinon arrêté. Ceci explique les longues incubations de plus de 40 jours à cette période de l'année. Il serait intéressant de voir si les ascospores résistent mieux aux températures élevées lorsqu'elles sont encore dans les péri-

thèques que lorsqu'elles sont déchargées sur feuilles. Mais là encore, il sera indispensable de pouvoir régler l'état hygrométrique au niveau désiré.

Centre guinéen  
de Recherches fruitières  
(I. F. A. C.)

*Extrait du Rapport annuel 1960-61 de l'Institut français de Recherches fruitières outre-mer.*



### Agences Maritimes

**Henry LESAGE**

*Siège social* : 7, Cité Paradis, PARIS

*Succursales* : DUNKERQUE, LE HAVRE, NANTES  
BORDEAUX, MARSEILLE, ANVERS, GAND, CONAKRY

EXPÉDITIONS — ASSURANCES — CONSIGNATION  
TRANSPORTS de FRUITS par NAVIRES SPÉCIALISÉS

CONTRE LA MOISSURE  
DES AGRUMES

**SUPER-PENTABOR N**

— SANS DANGER —

**S. A. BORAX FRANÇAIS**

8, rue de Lorraine, SAINT-GERMAIN-EN-LAYE (S-et-O.)

ET DROGUERIES D'AFRIQUE DU NORD