

# Agents pathogènes

---

Michel Dollet

La phase indispensable de description des symptômes d'anomalie ou de dépérissement des plantes cultivées s'accompagne obligatoirement d'une recherche étiologique. Il s'agit avant tout de déterminer si l'anomalie est d'origine biotique ou abiotique. Cet ouvrage ne traite que des anomalies d'origine infectieuse. Ce diagnostic, qui n'est pas toujours aisé, implique la collaboration étroite des agronomes et des phytopathologistes. Pour cela, il faut non seulement isoler l'agent présumé infectieux, mais également prouver son pouvoir pathogène selon le postulat de Koch.

Les champignons pathogènes ont été les premiers organismes reconnus responsables des maladies des plantes. Ils sont nombreux à l'origine des maladies de feuilles, de racines, de fruits ou des maladies systémiques provoquant des dépérissements généralisés. L'identification des champignons a longtemps reposé sur des critères morphologiques, dont on voit de plus en plus qu'ils sont très imparfaits, des critères plus fins ayant permis de mieux séparer des espèces confondues : c'est par exemple le cas de deux espèces de *Phytophthora* du cacaoyer, distinguées grâce à des observations caryologiques. Des critères physiologiques ou la compatibilité sexuelle ont permis aussi d'affiner la distinction des espèces fongiques. Plus récemment, la biologie cellulaire et moléculaire est devenue un outil précieux pour cette identification. Mais, si la reconnaissance des espèces fongiques est primordiale, on constate que la variabilité génétique (incluant la variabilité du pouvoir pathogène) au sein d'une même espèce est pour le pathologiste et pour le généticien, d'un intérêt de plus en plus grand.

Les maladies bactériennes n'ont été découvertes que bien plus tard, à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle et, dans le monde des cultures pérennes tropicales, l'origine du *greening* des agrumes, après bien des controverses, n'a été attribuée à une bactérie intraphloémique que dans les années 70.

Le jaunissement mortel du cocotier, connu depuis la fin du XIX<sup>e</sup> siècle à la Jamaïque, a pu être associé à la présence de phytoplasmes (*Mlo*, *mycoplasma-like organisms*), organismes dont la découverte dans le monde végétal ne date que de 1967, grâce à la mise à disposition des microscopes électroniques dans les laboratoires de phytopathologie.

Les maladies à virus constituent un groupe d'affections dont la connaissance est relativement récente. L'avènement du microscope électronique, qui permet de visualiser certains virus, et la mise au point des techniques biophysiques et biochimiques de purification et de biologie moléculaire, pour leur identification et leur caractérisation, ont permis de démontrer l'origine virale de certaines maladies.

Le monde des viroïdes n'a été découvert que récemment dans la période 1971-1975. Malgré leur faible nombre, les viroïdes — une vingtaine est bien identifiée —, ne sont pas absents des maladies des plantes pérennes tropicales.

La *marchitez* du palmier à huile et le *hartrot* du cocotier ont donné l'occasion de révéler un nouveau type d'agent phytopathogène : les trypanosomes, organismes pourtant signalés depuis les années 30 sur le caféier au Surinam.

Les nématodes comptent aussi parmi les agents pathogènes des maladies des cultures pérennes tropicales ; ils provoquent très souvent des affections létales du palmier à huile, du cocotier et du caféier.

Enfin, des dépérissements, dont on a tout lieu de penser qu'ils sont des maladies en raison de leur symptomatologie et de leur schéma de propagation, restent encore d'étiologie totalement inconnue. Dans ces situations, les techniques disponibles mises en œuvre pour identifier l'agent causal n'ont pas encore permis d'aboutir. Faut-il penser qu'il existe encore de nouvelles formes de bioagresseurs à découvrir aux frontières du monde, pourtant déjà vaste, des agents pathogènes connus ? La mise en évidence des prions chez des animaux au cours de la dernière décennie permet de répondre par l'affirmative.

Malgré toute l'importance à accorder aux facteurs du milieu et au matériel végétal, on s'aperçoit de plus en plus que le pathogène, compte tenu de sa variabilité, constitue une des composantes essentielles intervenant dans les relations hôte-parasite. C'est pourquoi, pour bon nombre de champignons parasites, les recherches se sont focalisées sur l'étude de la diversité génétique. Celle de l'hôte est indissociable de telles études (le cas de la rouille orangée du caféier, avec ses très nombreuses races, en est un exemple très typique). La mise en œuvre des marqueurs enzymatiques ou des techniques de biologie moléculaire a permis d'affiner les études sur la structure des populations de champignon pathogène indépendamment de l'hôte. Il en résulte une meilleure

gestion de la lutte intégrée mettant en œuvre les sources de résistance, une compréhension améliorée du développement ou des prévisions des épidémies, une efficacité accrue du contrôle phytosanitaire et des règles de quarantaine. Ces nouvelles méthodes d'investigation ouvrent des perspectives encourageantes vers la solution des problèmes posés par les maladies.

## Les champignons

Nombreuses sont les affections des plantes occasionnées par les champignons dans le monde tropical. Les températures souvent élevées, associées à une humidité quasi permanente, offrent des conditions optimales au développement des champignons parasites, telluriques ou aériens. Les agents pathogènes majeurs responsables des maladies les plus importantes se sont développés, dans le cas le plus général, à la faveur de l'intensification et de l'extension des cultures, permettant ainsi l'apparition d'épidémies. Des alternances climatiques marquées, passagères, mettant le végétal en condition de réceptivité accrue face à un pathogène latent (cas de *Verticillium dahliae* du cacaoyer ou de *Thielaviopsis paradoxa* sur le cocotier) donnent lieu également au développement de syndromes caractéristiques de maladies.

## Les maladies telluriques

### LES POURRIDÉS

Le terme de pourridié traduit un syndrome pathologique caractérisé par une altération des tissus corticaux et ligneux des racines entraînant le dépérissement, puis la mort de l'arbre. Les champignons responsables sont des basidiomycètes, *Rigidoporus lignosus* (Klotzsch) Imaz. (pourriture blanche), *Phellinus noxius* (Corner) G.H. Cunn. (pourriture brune), *Ganoderma philipii* ou *pseudoferreum* (Bres. et P. henn.) Bres. (pourriture rouge), *Helicobasidium compactum* (Boedijin) Boedijin (pourriture pourpre) et *Armillaria heimii* (pourriture craquelée) ainsi qu'un ascomycète, *Sphaerostilbe repens* Berk. et Broome (chancre du collet et des racines). L'importance des travaux engagés par le Cirad en Afrique de l'Ouest conduit à traiter plus particulièrement des dégâts provoqués par *R. lignosus* (*Fomes lignosus*) (Kl) Bres., agent de la pourriture blanche de l'hévéa, et par *A. heimii*.

### *Rigidoporus lignosus*

*Rigidoporus lignosus*, champignon parasite des racines d'un grand nombre d'espèces ligneuses forestières ou cultivées, appartient à la classe des basidiomycètes et à la famille des *Polyporaceae*. Dès l'abattage de la forêt, les conditions deviennent favorables au développement de *Fomes*, qui envahit rapide-

ment les souches des arbres abattus. Elles constituent alors des foyers d'infection, qui menacent les hévéas dans un rayon parfois supérieur à 40-50 mètres. La propagation s'effectue généralement par des filaments mycéliens rhizomorphes, soit en suivant les racines des hôtes colonisés, soit librement à travers le sol.

### *Armillaria heimii*

Le champignon obtenu à partir d'isollements effectués sur quatre sites hévéicoles gabonais présente des caractéristiques morphologiques homogènes et différentes de celles des armillaires européens. L'espèce a été identifiée comme *Armillaria heimii* (MICHELS, 1990). Cette espèce, anciennement décrite sous le nom *Clytocybe elegans*, fait partie des basidiomycètes, famille des Agaricaceae. Des confrontations entre souches ont révélé, comme pour les espèces européennes, une sexualité tétrapolaire (PETIT-RENAUD, 1991). Elle s'apparente donc aux espèces du genre *Armillaria* des régions tempérées.

### *Clitocybe elegans*

D'abondantes fructifications d'une agaricale se développent à la base des caféiers malades. L'analyse de ces carpophores a permis de lever l'ambiguïté taxonomique de ce champignon (BLAHA, 1978). Il n'y a pas d'anneau ou, quand il y en a un, il n'est pas caractéristique des armillaires. De plus, la variabilité importante des dimensions, comme les diamètres des chapeaux et les longueurs des stipes, rappelle la description de *Clitocybe (Armillariella) elegans* (Heim). Les nouvelles techniques moléculaires utilisées de nos jours pour caractériser des microorganismes permettront de confirmer ces données. Comme on l'a vu, d'autres agents provoquent des pourridiés différents sur le caféier et sur le cacaoyer.

### *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *ELAEIDIS* (SCHLECHT) TOOVEY

L'agent responsable de la fusariose du palmier à huile est un champignon filamenteux spécifique de cette plante : *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* hyphomycète, division des deutéromycètes, champignon imparfait, sans reproduction sexuée connue. C'est une des espèces de *Fusarium* les plus communes dans le sol, où elle peut survivre plusieurs dizaines d'années grâce à ses formes de résistance, les chlamydospores.

Elle est caractérisée par trois types de spore asexuée. Les chlamydospores sont des formes de résistance ; les microconidies sont des spores uninuclées produites dans le mycélium aérien à partir de phialides et les macroconidies sont des spores fines produites soit par des conidiophores ramifiés dans des sporodochies, soit directement par le mycélium aérien.

Les deux derniers types de spore peuvent être formés dans les vaisseaux du bois des plantes infectées ; les microconidies y sont le type dominant.

Le seul moyen de différencier des souches de *F. oxysporum*, appartenant ou non à la même forme spéciale, reste généralement le test d'inoculation sur les

plantes hôtes. FRASELLE (1951) a reproduit les symptômes de la maladie en inoculant cette souche à des plantules de palmier à huile. *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* est la seule forme spéciale capable de provoquer la fusariose du palmier à huile (*Elaeis guineensis*). Ses caractéristiques biologiques et écologiques sont équivalentes à celles des autres *F. oxysporum*.

La diversité génétique au sein des populations de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* a été recherchée par l'étude des groupes de compatibilité végétative (Gcv), l'analyse du polymorphisme enzymatique (DOSSA *et al.*, 1991; DOSSA, 1993) et à l'aide de marqueurs moléculaires (MOUYNA *et al.*, 1996).

MOUYNA (1994) a isolé un marqueur moléculaire permettant de différencier les souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* de toutes les autres souches de *F. oxysporum*.

Une importante diversité a été mise en évidence par la caractérisation de 21 groupes de compatibilité végétative. Aucune relation n'a été observée entre les groupements obtenus et l'origine géographique ou le pouvoir pathogène. En revanche, un groupement particulier rassemble les souches du Bénin, de la Côte d'Ivoire, du Brésil et de l'Equateur, ce que confirme l'analyse du polymorphisme enzymatique. L'étude moléculaire montre également que les souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* se subdivisent en plusieurs sous-populations correspondant aux délimitations géographiques, de même qu'elle confirme la parenté entre les souches d'Amérique latine et celles de Côte d'Ivoire.

#### VERTICILLIUM DAHLIAE KLEB.

Dès 1960, le dessèchement écofongique des branches du cacaoyer a été attribué à *V. dahliae*. En 1968, une espèce très proche, *V. albo-atrum* Rke et Berth (TROCME, 1972), était isolée en Ouganda. Le pouvoir pathogène de ces deux espèces de *Verticillium* peut être mis en évidence, soit au niveau du système racinaire, soit avec une culture pure de champignon, soit avec une suspension de spores. On peut aussi contaminer un arbre en réalisant une échan-crure dans l'écorce jusqu'au bois et en y appliquant une culture de *V. dahliae*. Le taux d'infection approche les 100 % à la base du tronc. L'expression de ce pouvoir pathogène n'est cependant obtenu qu'en conditions de stress.

## Les maladies des organes aériens

#### PHYTOPHTHORA

Dans la plupart des cas, les espèces de *Phytophthora* sont des organismes du sol. En raison de leur développement sur des organes aériens, tels que les noix de coco, les cabosses de cacaoyer, les panneaux de saignée de l'hévéa, et du rôle des facteurs aériens (pluie, hygrométrie, vent, température) sur leur croissance et sur l'épidémiologie des maladies, les *Phytophthora* ont leur place

parmi les pathogènes aériens. Les pourritures de racines et du collet des agrumes et de l'avocatier liées à des *Phytophthora* sont des affections strictement telluriques. Ils seront cependant traités ici avec les autres *Phytophthora*.

### *Phytophthora* du cacaoyer

La pourriture brune des cabosses due à *Phytophthora*, dont le nom anglais est *black pod*, est considérée comme la maladie du cacaoyer la plus préjudiciable sur le plan économique. La fluctuation des pertes dépend de l'environnement, du type de cacaoyer cultivé, mais aussi de l'espèce de *Phytophthora* en cause. La caractérisation, longtemps fondée sur la morphologie des organes du cycle biologique (BABACAUH et PARTIOT, 1976), a été l'objet de nombreuses controverses. L'hégémonie accordée à *P. palmivora* Butler a été bien souvent remise en cause par son association avec d'autres formes. Les critères physiologiques et surtout caryologiques (présence de six gros chromosomes chez *P. megakarya* alors que chez *P. palmivora*, on en compte douze de petite taille) ont permis une amélioration des clés de détermination et entraîné l'émergence de l'espèce nouvelle *P. megakarya*.

Entre 1984 et 1996, on a pu, à partir des profils isoenzymatiques, reconnaître des génotypes représentatifs tant des flux géniques que de l'évolution au sein du genre (TOOLEY *et al.*, 1985 ; BLAHA, 1988, 1994, 1995 ; OUDEMANS et COFFEY, 1990 ; ORTIZ-GARCIA, 1996). Parmi les systèmes étudiés au Cirad sur 17 espèces de *Phytophthora*, 21 systèmes enzymatiques se sont montrés actifs, 8 présentant une bonne résolution et 6 une très bonne résolution (figure 1). De plus, le cycle diploïde et l'hétérothallisme des *Phytophthora* parasites du cacaoyer soulignent, par la présence d'individus hétérozygotes ou homozygotes, les recombinaisons ou les ségrégations alléliques, qui témoignent de l'existence du locus (ou des loci) pouvant coder une enzyme donnée, mais aussi des liaisons génétiques entre les espèces morphologiquement distinctes (BLAHA, 1994).

La diversité génétique des isolats de *Phytophthora megakarya* provenant de quelques pays d'Afrique centrale (Cameroun, Gabon et São Tomé) et d'Afrique de l'Ouest (Nigeria, Togo et Ghana) a été étudiée par des marqueurs biochimiques (isoenzymes) et moléculaires (Rapid). Deux groupes ont été identifiés, qui correspondent à la séparation biogéographique observée chez d'autres plantes et d'autres organismes en Afrique. Cela laisse supposer l'existence de deux populations chez *P. megakarya* (NYASSE, 1997).

Les *Phytophthora* ayant une phase mobile — les zoospores qui sont aussi les agents responsables de la contamination —, les attaques sont liées à la présence d'eau liquide dans laquelle ces zoospores nagent avant de se fixer et de pénétrer dans l'épiderme de la cabosse ; c'est la raison pour laquelle les attaques débutent le plus souvent là où l'eau de pluie persiste. Nombre d'observations ont montré que, dans le cas de *P. megakarya*, le sol est la source efficace principale de l'inoculum primaire. Il en résulte que la contami-

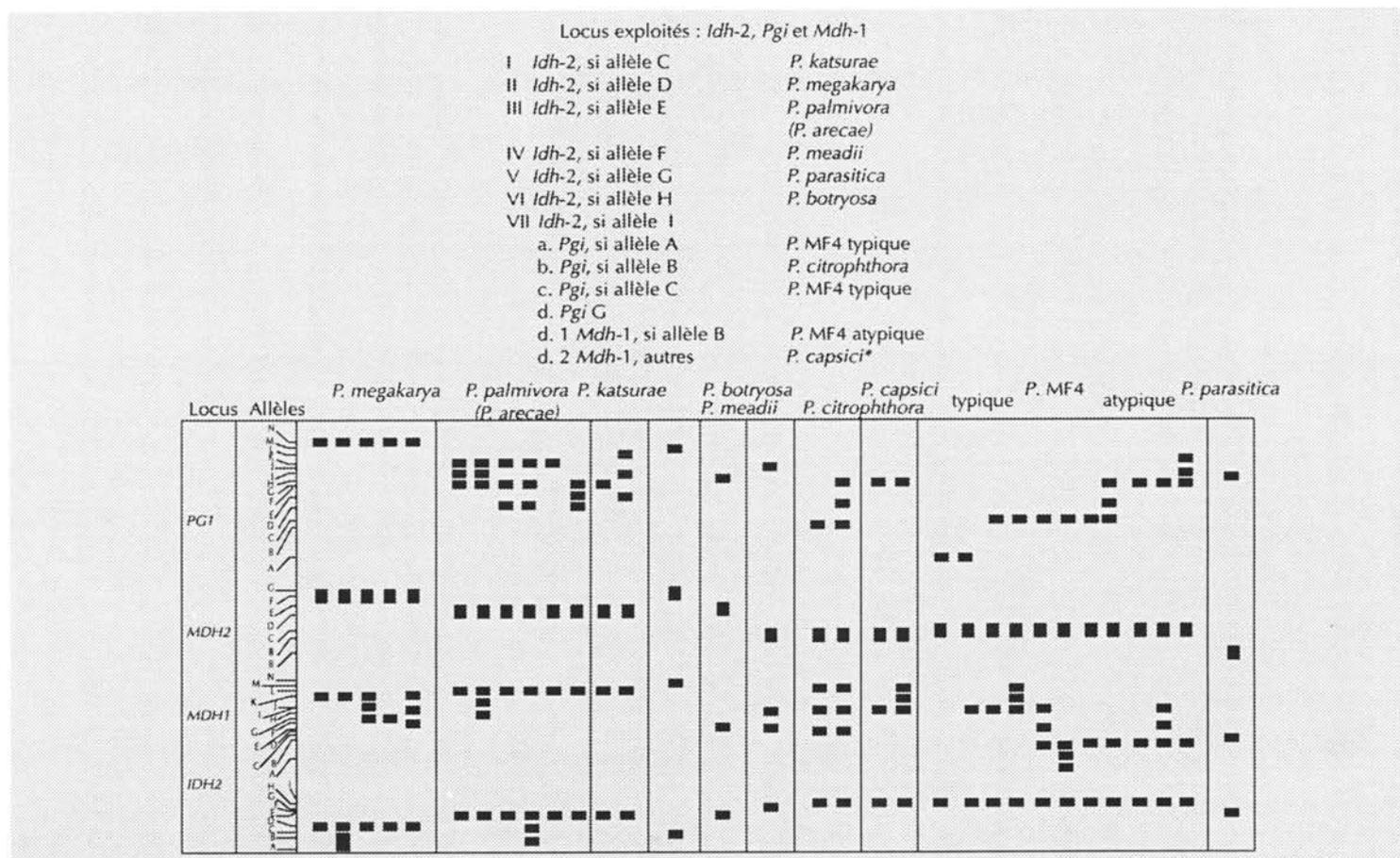


Figure 1. Clé biochimique de détermination des espèces de *Phytophthora* parasites du cacaoyer et du cocotier (d'après ORTIZ GARCIA, 1996).

nation se fait d'abord sur les cabosses les plus basses, au contact ou à proximité du sol, par les projections de terre souillée dues à l'impact des gouttes de pluie, et que l'infection gagne de proche en proche les cabosses de plus en plus hautes (MULLER, 1974).

Sur le cacaoyer (ORTIZ-GARCIA *et al.*, 1994), *P. palmivora* se rencontre dans toutes les zones tropicales ; *P. arecae*, en Indonésie, aux Philippines et dans le sud du Pacifique ; *P. megakarya* en Afrique de l'Ouest (Cameroun, Gabon, Guinée équatoriale ; São Tomé, Nigeria, Togo et Ghana) ; *P. capsici* et plus rarement *P. parasitica*, en Afrique (Cameroun), en Amérique centrale (Costa Rica et Mexique), en Amérique du Sud (Brésil), dans la Caraïbe (Cuba, Trinité-et-Tobago) et dans le Sud-Est asiatique (Malaisie et Indonésie).

### *Phytophthora* du cocotier

Un programme de recherche en réseau a permis de préciser le rôle joué par différentes espèces de *Phytophthora* impliquées dans les pourritures du cœur et des noix. Les résultats ont été obtenus grâce à l'observation des critères morphologiques et à l'analyse isoenzymatique (BLAHA *et al.*, 1994).

Les études ont clairement indiqué que deux espèces prédominent : *P. palmivora*, en Indonésie et aux Philippines, et *P. katsurae*, en Côte d'Ivoire, préalablement identifié comme *P. heveae*, espèce très voisine (BRASIER, cité par QUILLEC *et al.*, 1984). Il a été démontré par ailleurs que les deux espèces coexistent en Jamaïque (STEER et COATES-BECKFORD, 1990). *P. arecae* et *P. nicotianae* sont également présentes en Indonésie mais semblent moins déterminantes dans l'étiologie de la maladie.

### *Phytophthora* des agrumes

Un certain nombre d'espèces de *Phytophthora* ont été répertoriées sur les agrumes. Les plus importantes sont : *P. parasitica*, *P. citrophthora*, *P. citricola*, *P. syringae*. Une étude de la répartition des espèces de *Phytophthora* inféodées aux clémentiniers a été réalisée entre 1978 et 1980, en Corse (VALLAVIEILLE, 1983). Plus d'une centaine d'isolats ont été récoltés à différents niveaux de l'arbre. La morphologie des sporocystes de la majeure partie de ces isolats a permis de les classer dans le groupe II (classification de Waterhouse) et l'étude des températures maximales de croissance a conduit à distinguer une majorité de *P. citrophthora*, stériles, quelques *P. nicotinae* f. sp. *parasitica*, hétérothalliques de signes A<sub>1</sub> ou A<sub>2</sub>, et, enfin, de rares isolats appartenant au groupe 111, et qui ont été identifiés comme *P. citricola* homothalliques.

La population de *Phytophthora* des vergers d'agrumes apparaît donc bien adaptée aux conditions climatiques de la Corse. On peut cependant penser que la sélection des espèces de *Phytophthora* n'est pas uniquement guidée par le climat mais que celui-ci joue également sur la physiologie des agrumes et donc sur l'ensemble du pathosystème que constituent l'hôte et son parasite. C'est ainsi qu'un isolat de *P. citricola* s'est révélé particulièrement actif sur le

bigaradier et que quelques isolats de *P. citrophthora* ont montré des activités pathogènes très marquées sur le Citrange Troyer. Il est évident que les isolats de *Phytophthora* capables de se développer sur les porte-greffe donnés comme résistants sont assez rares actuellement en Corse mais leur existence indique qu'un phénomène d'adaptation est lentement en cours (VALLAVIEILLE et PERRIER, 1981).

### *Phytophthora* de l'avocatier

*P. cinnamomi*, responsable du dépérissement de l'avocatier produit, comme d'autres espèces du genre *Phytophthora*, trois types de spore : des zoospores libérées des sporocystes selon certaines modalités, des chlamydozoospores et des oospores. La production des sporocystes est stimulée par différentes bactéries du type *Pseudomonas* et dépend largement des conditions climatiques et du pH du sol. Les zoospores sont libérées par groupe de trente environ. Elles jouent un rôle important dans la dissémination de la maladie en contaminant les eaux d'irrigation ou de ruissellement. Les chlamydozoospores représentent les formes de résistance de *P. cinnamomi*. Les oospores sont produites à la suite de croisements entre souches hétérothalliques de signe complémentaire A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub>, ou directement par des souches homothalliques. Ces croisements entraînent de grandes variations dans la morphologie, la physiologie et l'activité pathogène au sein de l'espèce *P. cinnamomi* (HUGUENIN *et al.*, 1975).

### *Phytophthora* de l'hévéa

Les symptômes de la maladie des raies noires sont dus à *P. palmivora*. L'infection se propage par des spores entrant en contact avec les tissus profonds de l'écorce, à la suite de la saignée. Les spores germent dans des conditions de forte humidité et pénètrent dans les cellules du cambium qu'elles tuent. L'extension de l'infection aux tissus limitrophes de l'écorce et du bois n'est possible que si l'humidité de l'air est élevée. En revanche, un climat sec arrête l'infection et favorise la cicatrisation. Les organes de multiplication asexuée apparaissent généralement à la surface des organes parasites ; ce sont des sporanges de forme variable, qui libèrent en présence d'eau, des zoospores qui germent à la surface des tissus de l'hévéa.

### COLLETOTRICHUM

Le genre *Colletotrichum*, avec sa forme parfaite *Glomerella*, comprend des champignons responsables de maladies sur un grand nombre de plantes des pays tempérés et tropicaux. Ces affections, qui s'expriment par des taches noires sur les fruits et les feuilles sont appelées anthracnoses. Elles se caractérisent par la présence de fructifications asexuées, les acervules, d'abord sous-épidermiques, puis s'ouvrant à maturité et libérant un grand nombre de spores (les conidies).

### *Colletotrichum gloeosporioides* de l'hévéa

*C. gloeosporioides* Penz. (mélanconiales) provoque l'antracnose des feuilles. Sa forme sexuée est *Glomerella cingulata* (Ston.) Spauld et Schr. (pyrenomycètes, sphaeriales). On ne la rencontre presque jamais sur l'hévéa. La maladie ne sévit qu'en saison pluvieuse sur les jeunes feuilles. Les attaques de champignons sont une porte d'entrée à d'autres parasites tels que *Botryodiplodia theobromae*.

### *Colletotrichum coffeanum*

La nomenclature de ce pathogène à l'origine de l'antracnose des baies du caféier *Arabica* a fait l'objet de plusieurs révisions. MAC DONALD (1926) a identifié l'agent causal à partir des baies attaquées et l'a différencié des foreurs de *Colletotrichum* provenant des rameaux. Cette distinction est confirmée par RAYNER (1952), qui réserve l'appellation de *C. coffeanum* Noack variété *virulans* aux souches pathogènes sur les baies pour les distinguer des souches saprophytes.

HINDORF (1970) a repris la description de *C. coffeanum* et a identifié cinq espèces de *Colletotrichum* et une forme parfaite, *Glomerella cingulata*, capable de provoquer des symptômes sur le caféier. Il n'a mis en évidence la forme pathogène que sur les baies. Elle se caractérise par une absence de forme parfaite, une colonie mycélienne gris verdâtre ou gris olive à croissance faible, l'absence d'acervules, des conidies de taille supérieure aux autres formes de *C. coffeanum* Noack. Cette souche a été identifiée comme *C. coffeanum* Noack *sensu* Hindorf.

Pour WALLER *et al.* (1993), la nomenclature du pathogène responsable de l'antracnose des baies est restée confuse et sa position taxonomique discutée. Ces auteurs ont ainsi proposé, à partir des nombreux travaux antérieurs et de leur propre recherche, l'introduction d'une nouvelle espèce, *Colletotrichum kahawae*, en se référant aux caractères morphologiques, au pouvoir pathogène et à la nutrition carbonée de ce pathogène. Ils ont repris largement les critères définis par HINDORF (1970) et MAC DONALD (1926).

L'étude de la diversité du pathogène à l'échelle du continent africain (BELLA MANGA *et al.*, 1997) a mis en évidence, à l'aide de la technique des groupes de compatibilité végétative, l'existence de deux sous-populations correspondant à deux zones géographiques : un groupe représentant les souches d'Afrique de l'Est et un groupe représentant les souches originaires de la zone camerounaise. Toutefois, des isolats présentant des liens de compatibilité génétique entre les deux sous-populations ont été identifiés, ce qui laisse supposer une origine commune pour ces deux groupes, qui ont pu se diversifier localement. Jusqu'à présent, l'analyse du pouvoir pathogène de ces populations n'a jamais clairement mis en évidence l'existence d'interactions entre l'hôte et le pathogène. En revanche, la présence d'une variabilité de l'agressivité de l'agent

pathogène a régulièrement été observée lors d'études en milieu contrôlé (BERRY, 1997).

### *Colletotrichum gloeosporioides* des fruitiers

Les anthracoses du manguier, du papayer et de l'avocatier sont des maladies dues à *Colletotrichum gloeosporioides*. Si la maladie apparaît souvent après la récolte, la contamination a pu avoir lieu dès la nouaison et au cours des mois qui suivent, par des conidies issues de chancres sur la tige ou de nécroses foliaires. Celles-ci germent à la surface des fruits et forment des structures de pénétration appelées appressoria. Le développement du champignon s'arrête alors à ce stade et une période de latence variable s'établit.

Le stade appressorium est la forme latente dans le couple formé par *C. gloeosporioides* et par l'avocatier, alors que dans les associations *C. gloeosporioides* et le manguier ou le papayer, les appressoria émettent une hyphe de pénétration (action mécanique associée à une activité de la cutinase fongique), qui se développe dans l'assise cellulaire sous-cuticulaire avant d'être momentanément arrêtée.

### LES ROUILLES DU CAFÉIER

#### *Hemileia vastatrix* Berk et Br.

Le champignon responsable de la rouille orangée du caféier, *H. vastatrix*, a été identifié en 1869 par Berkeley et Broome (SACCAS et CHARPENTIER, 1971). Ce parasite se classe dans l'ordre des Urédinales, famille des *Pucciniaceae*, sous famille des *Hemileia*. Toutes les phases possibles du cycle des champignons appartenant à ce groupe n'ont pas été observées ; seules les phases urédiales, téliales et basidiales sont décrites. La dissémination est assurée par voie végétative, par les urédospores.

MAYNE (1932), en Inde, a montré expérimentalement sur les variétés Coorg et Kent l'existence de races physiologiques. Il a ainsi déterminé quatre races différentes par leur spectre de virulence correspondant à des réactions spécifiques observées sur une gamme d'hôte.

Les travaux du Cifc (Centro de Investigações das Ferrugens do Cafeiero) au Portugal (RODRIGUES *et al.*, 1975) ont permis d'approfondir les connaissances sur les relations entre *Coffea* spp. et *H. vastatrix*. Les interactions sont régies par un système génétique de type spécifique dans lequel 9 gènes de sensibilité exclusive de l'hôte, nommés SH1 à SH9, correspondent, gène pour gène, selon la théorie de Flor, à 9 gènes de virulence du pathogène v1 à v9. Jusqu'à présent, la race II (v5) est la plus fréquemment détectée. La réaction est compatible quand le champignon possède tous les gènes de virulence correspondant aux gènes de sensibilité de l'hôte. Dans le cas contraire, la réaction est incompatible. Les gènes SH sont dominants à l'exception du gène SH4 (ESKES, 1989), qui ne confère la résistance complète que s'il est présent à l'état homo-

zygote et en condition de forte lumière. La découverte des gènes SH a été progressive. La présence seule ou en association de ces gènes SH a déterminé la création de groupes de caféiers différentiels des races du pathogène. A partir de 1980, la structure génétique de *C. canephora* pour la résistance à *H. vastatrix* a commencé à être décrite par l'analyse de la descendance de croisements interspécifiques naturels comme l'hybride de Timor ou artificiels avec *C. canephora*. Ainsi, *C. canephora* possède une série de gènes de résistance spécifique SH6, SH7, SH8, SH9, définissant les cinq groupes de caféiers différentiels A, R, 1, 2, 3. Ces gènes peuvent être surmontés par les races de rouille possédant les gènes de virulence v5, v6, v7, v8 et v9, associés selon différentes combinaisons. Contrairement à ce qui a été constaté avec les gènes de virulence v1 à v5 (LOMBARDO GIL FAGIOLI *et al.*, 1987), l'accumulation des gènes de virulence spécifiques de *C. canephora* dans un même génotype ne semble pas réduire son agressivité (HOLGUIN MELENDEZ, 1993). L'analyse des gènes de virulence fondée sur les classifications proposées par le Cifc a conduit ESKEs (1989) à faire une séparation des races en quatre groupes.

Le groupe 1 comprend deux races pathogènes exclusivement pour les plantes différentielles universelles (*C. excelsa* Longkoi 168/2 et *C. racemosa* 369/3).

Le groupe 2 rassemble 14 races pathogènes dans les groupes différentiels Arabica et différentiels universels. Elles possèdent en commun le gène de virulence v5 combiné de façon diverse avec les gènes v1, v2, v3, et v4.

Le groupe 3 est constitué de 8 races pathogènes dans les groupes différentiels Arabica, hybrides interspécifiques et universels. Elles ont en commun les facteurs de virulence v5 et v6 pouvant être associés à d'autres facteurs de virulence.

Le groupe 4 renferme 7 races pathogènes à la fois dans les groupes différentiels Arabica et universels et au moins dans un des groupes d'hybrides interspécifiques ou de caféiers diploïdes. Elles sont caractérisées par l'absence du facteur de virulence v5.

A ce jour, 40 races physiologiques, nommées de I à IL sont distinguées.

### *Hemileia coffeicola* Maublanc et Roger

La biologie de *H. coffeicola*, responsable de la rouille farineuse du caféier, est encore très imparfaitement connue. Les infections expérimentales sont possibles, comme pour *H. vastatrix*, mais elles sont plus délicates, en particulier à cause des difficultés de conservation de la souche productrice de spores : contrairement à ce qui se passe pour *H. vastatrix*, la production des urédospores semble être stoppée après un ou deux prélèvements. Comme *H. vastatrix*, *H. coffeicola* pénètre par les stomates, les filaments germinatifs des urédospores étant incapables de percer directement la cuticule. ROGER (1953) souligne que l'aspect particulier du mycélium et sa répartition dans la feuille posent la question du mode d'infection et du développement. Les sores, avec les quelques filaments qui leur donnent naissance, étant en effet isolés

des sores voisins, il semble que chacun d'eux résulte de la germination d'une urédospore.

#### AUTRES CHAMPIGNONS PATHOGÈNES AÉRIENS

##### *Microcyclus ulei* (Henn.) V. Arx.

C'est vers 1900 que l'agent pathogène de la maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa a été trouvé pour la première fois sous sa forme parfaite, au Brésil, sur l'hévéa, mais ce n'est que dans les années 60 qu'il a été doté du nom d'espèce aujourd'hui reconnu : *M. ulei*, ascomycète de l'ordre des dothidéales. *Fusicladium macrosporum* Kuyper représente le stade conidien et *Aposphaeria ulei* Henn, le stade pycnidien.

Le champignon présente trois stades morphologiquement différents auxquels correspondent trois types de spore : les conidies, les pycnidiospores et les ascospores (figure 2). La forme parfaite est caractérisée par des amas stromatiques charbonneux, situés surtout à la face supérieure des feuilles. Ces structures forment des conceptacles, qui peuvent fusionner latéralement. Les asques en massue contiennent 8 ascospores oblongues. Les pycnides sont groupées en masses stromatiques à la périphérie des tissus nécrosés ou à la pointe des

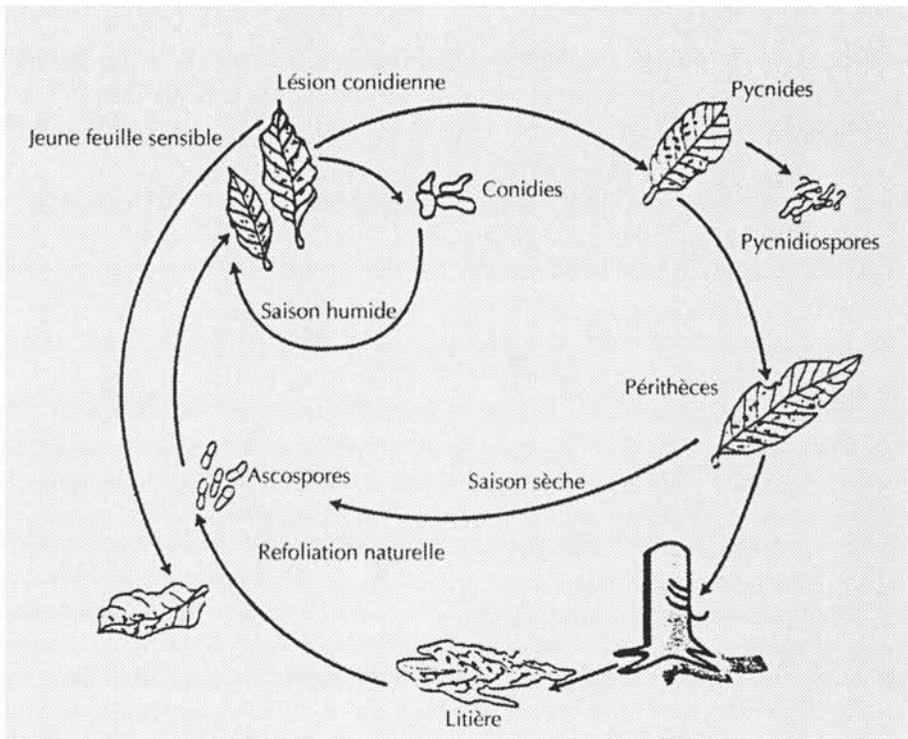


Figure 2. Cycle biologique de *Microcyclus ulei* (d'après RIVANO, 1997).

limbes. Elles sont noires et contiennent les pycnospores, de taille réduite, gonflées à leurs deux extrémités. La forme imparfaite (conidienne) est caractérisée par des taches vertes sur la face inférieure des jeunes feuilles. La germination des conidies débute souvent dans la cellule apicale. LIYANAGE (1981) a observé que les pycnides pouvaient être colonisées par un hyperparasite du genre *Botrytis*. Il existe aussi un autre hyperparasite qui s'attaque à la forme parfaite de *M. ulei* : *Dicyma pulvinata* (Berk. et Curt.) Arx.

L'isolement du champignon se fait à partir de conidies ou bien d'ascospores. La sporulation *in vitro* est obtenue par une exposition quotidienne de 30 minutes aux ultraviolets pendant 14 jours ou par incubation à 24 °C en lumière alternée. Les conidies germent en moins de 12 heures dans l'eau, les ascospores en 4 heures.

Les conidies peuvent se conserver en conditions sèches pendant 3 mois. Les feuilles d'hévéa infectées produisent des ascospores après 21 jours et durant une période pouvant aller jusqu'à la défoliation, c'est-à-dire 9 mois environ. Sur les jeunes plantations, la survie du champignon pendant la saison sèche est assurée par la forme parfaite sur des feuilles adultes. En plantation plus âgée, l'hétérogénéité du phénomène de défoliation-refoliation naturelle contribue efficacement à maintenir une importante quantité d'inoculum (RIVANO, 1992).

On s'est aperçu, à partir de 1960, que les résistances obtenues dans les matériels issus de croisements interspécifiques étaient contournées par *M. ulei*, qui pouvait développer de nouveaux pathotypes ou de nouvelles races physiologiques.

L'étude de la variabilité du champignon a commencé au Brésil et s'est poursuivie en Guyane. L'inoculation d'une gamme de 10 clones différentiels avec 16 isolats de *M. ulei* a révélé la présence de 7 facteurs de virulence et de 12 races de *Microcyclus*, ce qui donne une grande capacité de diversification du champignon face à la population hôte (RIVANO, 1992 ; 1997).

### *Phyllachora torrendiella* (Batista) comb. nov.

La maladie verruqueuse du cocotier, connue sous le nom brésilien de *Lixa pequena*, est provoquée par un ascomycète, dont la position taxonomique est restée longtemps controversée. L'étude du pathogène reprise par RENARD (1989) et SUBILEAU (1993) établit l'existence de deux types de structure. La première correspond à une forme lenticulaire noire, sous-cuticulaire, libérant à maturité des spores unicellulaires jouant le rôle de spermaties. Ces spores ne permettent pas de reproduire les symptômes. Les stromas, correspondant à des spermogonies, produisent dans les tout premiers stades de la maladie des symptômes en losange. Le deuxième type de structure, qui se superpose au précédent, est constitué de stromas saillants, sphériques, noirs, rugueux, avec un dôme s'ouvrant par un ostiole. Ces stromas renferment des périthèces qui libèrent à maturité, tôt le matin, une masse gélatineuse blanchâtre d'asques et

de paraphyses. Les asques, qui renferment 8 ascospores hyalines, fusoides, à contenu cytoplasmique granuleux, sont entourés d'une fine gaine de mucilage. Une suspension d'ascospores pulvérisée à la face inférieure des folioles permet de reproduire les symptômes. Ces caractéristiques établies amènent SUBILEAU (1993) à identifier l'agent pathogène comme *P. torrendiella*.

### *Botryosphaeria cocogena* et *Botryodiplodia theobromae* (Pat.)

L'agent causal de la *queima* du cocotier, ou *leaf blight*, est *Botryosphaeria cocogena*. Les périthèces, sous-épidermiques et peu saillants, se développent sur les lésions brunes. Ils renferment des asques contenant 8 ascospores fusoides à ovoïdes. Les pycnides apparaissent généralement plus tôt que les périthèces sur les mêmes lésions ; il est difficile de les distinguer à l'œil nu des périthèces. Les pycnidiospores, ou conidies, sont hyalines dans la pycnide à l'état immature, puis deviennent ovales, brunes et bicellulaires. Les études morphologiques, l'aspect cultural, l'analyse isoenzymatique et les tests d'inoculation conduisent à donner à ce champignon le nom de *B. cocogena* nov. sp. (SUBILEAU, 1993 ; SUBILEAU *et al.*, 1994). La maîtrise de la culture *in vitro*, à partir de culture de monoascospores ou de monoconidies, a permis d'établir que *B. cocogena* est homothallique et monœcique.

L'électrophorèse isoenzymatique démontre la diversité de *Botryosphaeria* et permet de révéler un groupe directement lié à un pouvoir pathogène sur les feuilles de cocotier (WARWICK *et al.*, 1994). Le parasite pénètre par l'intermédiaire d'une blessure. Dans la nature, les blessures sont nombreuses sur les feuilles du cocotier mais les stromas formés par *P. torrendiella* offrent une voie privilégiée de pénétration si bien que les deux parasites constituent un complexe parasitaire parfait.

La pourriture noire des cabosses du cacaoyer est généralement attribuée à *Botryodiplodia theobromae*, forme conidienne d'une sphaeropsidale du genre *Physalospora* (STEVENS cité par ROGER, 1953), qui a depuis été rattachée à la forme parfaite *Botryosphaeria rhodina* (SUBILEAU, 1993). Les conidies matures bicellulaires, qui présentent un brunissement et une striation longitudinale, aident à l'identification de l'anamorphe.

Mais le polyphytisme remarquable de *B. theobromae*, recensé sur plus d'une centaine d'hôtes, devait susciter des méthodes de détermination autres que les diagnoses morphologiques ou biométriques. Ces autres méthodes vont actuellement de la mise en évidence de races spécialisées par infections croisées à la recherche de marqueurs moléculaires (par les isoenzymes).

C'est ainsi que la spécialisation parasitaire de *B. cocogena* (*Lasiodiplodia theobromae*) sur le cocotier a été vérifiée et que *B. rhodina* (*B. theobromae*) a été reconnu comme non pathogène (SUBILEAU *et al.*, 1994). De plus, pour d'autres espèces de *Botryodiplodia* et des formes parfaites de *Botryosphaeria*, les phosphatases acides (Pac) sur gels d'acrylamide se révèlent plus aptes à regrouper les souches de *B. theobromae* tout en étant plus discriminantes que les esté-

rases (Est), la malico-enzyme (Me) et l'isocitrate déshydrogénase (Icd) (SUBILEAU, 1993). L'identification de différents types électrophorétiques obtenus à partir d'isolats de *Botryosphaeria* a confirmé la possibilité d'une caractérisation spécifique à l'aide des isoenzymes, mais aussi la mise en évidence d'une diversité pouvant exister à l'intérieur de la même espèce (WARWICK *et al.*, 1994).

### *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer

L'organisme responsable de la maladie du balai de sorcière du cacaoyer est un champignon basidiomycète appelé *C. pernicioso*. Ce pathogène avait été précédemment décrit comme *Marasmius perniciosus*. Ce nom a été souvent repris malgré sa reclassification par Singer en 1942 dans le genre *Crinipellis*.

EVANS (1980) divise le cycle de vie du champignon en deux phases distinctes. Il existe deux types de mycélium différant génétiquement et physiologiquement. Le premier est présent dans les tissus verts gonflés hypertrophiés et se développe entre les cellules mais ne les envahit pas. Le second possède des hyphes de forme différente et pénètre les cellules mortes. Dans la première phase, le champignon est typiquement parasite. Dans la seconde, il est saprophyte ; ce mycélium produit ultérieurement des carpophores blancs légèrement rosés qui donnent les basidiospores. Ce n'est qu'après la mort des tissus de la plante que le champignon peut compléter son cycle. Les basidiospores sont capables d'infecter tout tissu méristématique en croissance du cacaoyer, ce qui provoque l'expression de divers symptômes, ceux-ci dépendant du cultivar, du type de tissu infecté et de son stade de développement.

Il existe deux populations de *C. pernicioso* sur le cacaoyer. La population A, formée d'isolats, de l'ouest des Andes (Equateur, Colombie, Bolivie) provoque une sévère réaction sur les descendances du clone Sca 6. La population B, trouvée à l'est des Andes (Brésil, Trinité-et-Tobago, Venezuela), induit une réaction limitée aux inoculations. ANDEBRHAN et FURTEK (1994) ont confirmé cette séparation par analyse moléculaire en Rapd.

## Les bactéries

Cette partie concerne uniquement les procaryotes munis d'une paroi partiellement formée de peptidoglycanes. La plupart des bactéries se reconnaissent relativement facilement car elles sont observables en microscopie optique et se développent rapidement sur des milieux de culture assez simples. Seules quelques bactéries intraphloémiques ou intraxylémiques, anciennement appelées *Rickettsia-like organisms* (Rlo), sont fastidieuses à cultiver ou non cultivables. Très répandues dans le monde végétal, elles ne représentent pas de

gros dangers pour les plantes étudiées par le Cirad excepté pour les fruits tropicaux, en particulier les *Citrus*.

### *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*

Ce n'est qu'en 1915 qu'il a été démontré que la maladie du chancre bactérien des agrumes, ou chancre asiatique, était d'origine bactérienne. Plusieurs *Xanthomonas* provoquent des maladies sur les agrumes. Ils étaient considérés jusqu'à une date récente comme des variants (dénommés pathotypes) d'un même agent pathogène *X. campestris* pv. *citri*. Une étude de la taxonomie du genre *Xanthomonas* a entraîné une modification de la nomenclature (tableau 1). Les différents taxons peuvent dans certains cas être différenciés sur la base de leur gamme d'hôtes de la famille des *Rutaceae*, et de leur agressivité sur des hôtes indicateurs et par la morphologie des lésions qu'ils provoquent.

Sur milieu gélosé (Lpga, Spa ou équivalent), les colonies ont une morphologie tout à fait caractéristique du genre *Xanthomonas* ; elles sont de couleur jaune, circulaires, bombées et d'aspect brillant. Les souches de *Xanthomonas axonopodis* pv. *aurantifolii* ont une croissance plus lente que les autres souches.

Tableau 1. Caractéristiques des différents *Xanthomonas* sur les agrumes.

Ancienne nomenclature ( <i>X. c.</i> pv. <i>citri</i> )	Hôtes	Distribution géographique	Symptomatologie	Nouvelle nomenclature
Pathotype A	gamme très large parmi les rutacées cultivées et sauvages	plus de 30 pays	lésions éruptives avec rupture de l'épiderme	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>citri</i>
	limettier mexicain ( <i>C. aurantifolia</i> )	Moyen Orient (Arabie Saoudite, Oman, Iran) et Inde	lésions éruptives avec rupture de l'épiderme	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>citri</i> <sup>2</sup>
Pathotype B	principalement les citronniers et les limettiers faiblement agressifs sur les autres agrumes	Amérique du Sud (Argentine, Uruguay, Paraguay)	lésions éruptives avec rupture de l'épiderme	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>aurantifolii</i>
Pathotype C	limettier mexicain ( <i>C. aurantifolia</i> )	Brésil	lésions éruptives avec rupture de l'épiderme	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>aurantifolii</i>
Pathotype D <sup>1</sup>	limettier mexicain ( <i>C. aurantifolia</i> )	Mexique		<i>X. axonopodis</i> pv. <i>aurantifolii</i> <sup>3</sup>
Pathotype E	<i>Poncirus trifoliata</i> et ses hybrides	Floride	taches brunes non éruptives	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>citrumelo</i>

1. L'agent causal est un champignon du genre *Alternaria*. La majorité des *Xanthomonas* isolés ne sont pas pathogènes sur les agrumes. Une seule souche pathogène a été isolée. Elle est phénotypiquement et génétiquement très proche des souches de l'ex-pathotype B.

2. Ces souches constituent un nouveau sérotype.

3. Cette appellation ne concerne que la seule souche pathogène isolée.

De nombreuses techniques (biochimiques, sérologiques, lysotypiques, génétiques) permettent d'identifier les différents *Xanthomonas* pathogènes des agrumes (PRUVOST *et al.*, 1992a ; PRUVOST *et al.*, 1994 ; VERNIÈRE *et al.*, 1992 ; VERNIÈRE *et al.*, 1993).

### *Xanthomonas* sp. *mangiferaeindicae*

Ce n'est qu'en 1948 que le véritable agent causal de la maladie des taches noires du manguier a été caractérisé. Il a été dénommé *Pseudomonas mangiferae indicae*, puis *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*. La récente étude de la taxonomie du genre *Xanthomonas* n'incluait pas de représentants de ce taxon. Tant que sa position taxonomique n'est pas précisée, il est recommandé de le dénommer *X. sp. mangiferaeindicae*.

Des souches apigmentées (cas le plus fréquent) et pigmentées en jaune (typique du genre *Xanthomonas*) ont été isolées à partir de lésions sur manguier (PRUVOST, 1989) et sur d'autres *Anacardiaceae*, telles que le faux poivrier *Schinus terebinthifolius* (PRUVOST *et al.*, 1992b), et le prunier de Cythère (*Spondias Cytherea*) (ROTT et FROSSARD, 1986). L'anacardier (*Anacardium occidentale*) a également été décrit comme hôte.

Des analyses de la diversité phénotypique et génétique (profils d'assimilation de sources de carbone, sensibilité à une gamme d'antibiotiques et de sels de métaux lourds, Rflp) indiquent que les souches apigmentées isolées de manguiers au Brésil, les souches pigmentées en jaune isolées de manguiers dans plusieurs pays et les souches apigmentées isolées de pruniers de Cythère aux Antilles sont clairement distinctes des souches typiques de *X. sp. mangiferaeindicae* (GAGNEVIN *et al.*, 1997). L'utilisation d'autres marqueurs Rflp montrent au sein des souches typiques de *X. sp. mangiferaeindicae* l'existence de 4 groupes génomiques. Deux groupes (A et C) sont constitués de souches isolées de manguiers et largement réparties géographiquement. Le groupe B ne contient que des souches isolées de manguiers et originaires d'Asie et le groupe D ne contient que des souches isolées de faux poivriers. Les haplotypes décrivant les souches isolées de faux poivriers n'ont jamais été obtenus à partir de souches isolées de manguiers, même dans le cas de manguiers situés à proximité de faux poivriers infectés. Le rôle du faux poivrier comme réservoir possible d'inoculum doit être précisé par des études épidémiologiques.

## Les phytoplasmes

Il a fallu attendre 1967 pour que ces microorganismes, dont l'identification nécessite l'usage du microscope électronique, soient mis en évidence sur les plantes. Ils ont été alors désignés sous l'appellation *Mycoplasma-like orga-*

*nisms*, ou Mlo, car ces agents pathogènes de plantes n'ont jamais pu être cultivés *in vitro* et n'ont donc jamais pu être caractérisés. Ils sont souvent associés à des maladies de type jaunisse et, jusqu'en 1967, ces jaunisses étaient considérées comme des maladies à virus. Plus de 300 maladies à *Mycoplasma-like organisms* ont été répertoriées sous les tropiques. Le Cirad s'est intéressé à ce type d'agent pathogène particulièrement dévastateur pour le cocotier. A noter que l'Iom a récemment adopté le terme générique de *Phytoplasma* pour tous les *Mycoplasma-like organisms* de plantes et d'insectes, qui ne sont pas cultivés *in vitro* et qui ne sont pas spiralés (au contraire des *Spiroplasma*).

## Les phytoplasmes du cocotier et du palmier à huile

### LES PHYTOPLASMES DES JAUNISSEMENTS MORTELS DU COCOTIER

Longtemps considérés comme des maladies à virus, tous ces jaunissements mortels ont finalement été associés à la présence de *Mycoplasma-like organisms*, intraphloémiques (BEAKBANE *et al.*, 1972 ; DOLLET et GIANNOTTI, 1976 ; DOLLET *et al.*, 1977b ; NIENHAUS *et al.*, 1982 ; photo 87). Les méthodes de biologie moléculaire (Pcr, Rflp) permettent aujourd'hui de caractériser les phytoplasmes même en l'absence de culture *in vitro*.

L'amplification de l'Adn du gène codant pour l'Arnr permet de différencier les phytoplasmes des différents types de jaunissement mortel. Ces techniques semblent indiquer que les phytoplasmes de la maladie du *lethal yellowing* de Floride sont très proches de ceux de la maladie du *lethal disease* de Tanzanie, mais qu'il est toutefois possible de les différencier par au moins une enzyme de restriction (HARRISON *et al.*, 1994).

Ces mêmes techniques de biologie moléculaire ont permis de comparer entre eux les différents jaunissements mortels. Ainsi, les phytoplasmes des cocotiers de Tanzanie sont identiques à ceux qui sont trouvés au Kenya. En revanche, il seraient différents de ceux qui sont associés au *Cape St Paul wilt* (Ghana) et à l'*Akwa disease* (Nigeria). De tous ces phytoplasmes associés aux jaunissements mortels en Afrique, les plus proches de ceux du *lethal yellowing* dans la Caraïbe sont ceux de l'Afrique de l'Est (JONES *et al.*, 1995). Cette variabilité des phytoplasmes des cocotiers pourrait être à l'origine des différences observées dans la tolérance variétiale au jaunissement mortel (voir le chapitre Résistance variétale).

### LES PHYTOPLASMES DU BLAST DU PALMIER À HUILE ET DU COCOTIER

Depuis les travaux de ROBERTSON (1959) et jusqu'au milieu des années 70, il était admis que le *blast* était dû à une infection mixte des champignons *Pythium splendens* Braun et *Rhizoctonia lamellifera* Small.

L'étude ultrastructurale de palmiers atteints de *blast* révèle de très nombreuses bactéries avec des parois ondulées de type *Rickettsia-like organisms* (DOLLET, 1980) désignées maintenant sous le nom d'espèce *Xyllela fastidiosa*. Ces organismes observés, mais non caractérisés, ne sont probablement que des agents infectieux secondaires. En effet, le traitement préventif à la tétracycline en culture hydroponique apporte une protection contre le *blast* alors que les témoins sans traitement ou traités à la pénicilline présentent 60 à 68 % de maladie (RENARD, 1982).

L'observation ultrastructurale de cas de *blast* débutant permet de détecter des organites ronds de 200 à 800 nanomètres de diamètre qui pourraient être des phytoplasmes. Enfin, l'insecte vecteur du *blast* transmet à la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*), une maladie à jaunissement à laquelle sont associés des phytoplasmes (DOLLET, 1980 ; 1985). Bien que le postulat de Koch ne soit pas vérifié, tout porte à croire qu'il s'agit donc bien d'une maladie à phytoplasmes.

## Les virus

L'absence de saison froide et la nature pérenne des plantes étudiées au Cirad nous amènent à faire face à de nombreuses viroses, parfois très localisées (virus du *swollen shoot* du cacaoyer, *coconut foliar decay*) parfois très répandues (virus de la *tristeza* des agrumes).

### Le virus de la *tristeza* des agrumes

Le virus responsable de la *tristeza* des agrumes (Ctv, *citrus tristeza virus*) est un virus filamenteux flexueux (photo 88) de 12 sur 2 000 nanomètres, limité au phloème et transmis par des pucerons selon le mode semi-persistant. Il appartient au groupe des clostérovirus (BAR-JOSEPH et LEE, 1989). Son génome est un Arn monocaténaire d'environ 20 kilodaltons. Les séquences du gène de la capsidite protéique sont disponibles pour de nombreux isolats. Le génome du Ctv code également pour une réplique du gène de la capsidite de 27 kilodaltons de masse moléculaire, exprimée *in vivo*, et qui pourrait être impliquée dans le transport du virus dans la plante. Les isolats du Ctv sont répartis en quatre groupes en fonction de leur pathogénie. Les groupes les plus importants sont ceux dont les isolats induisent des dépérissements (*decline-inducing isolates*, D-I) et le *stem pitting* (Sp isolates). D'autres peuvent provoquer un jaunissement des jeunes semis de bigaradiers, de pomelos et de citronniers. Ce dernier symptôme est utilisé pour diagnostiquer les isolats les plus préjudiciables.

La caractérisation tient compte de l'indexage biologique sur cinq espèces (limettier, bigaradier, pomelo, oranger franc et oranger greffé sur bigaradier), et de la sérologie. Les divers anticorps monoclonaux développés ont permis

d'établir au moins une vingtaine de sérogroupes. La détection du Ctv est réalisée selon deux voies. L'indexage biologique est fondé sur l'observation de l'éclaircissement des nervures et l'apparition de *stem pitting* après un greffage sur le limettier mexicain. Cette méthode ne permet pas d'identifier les isolats de Ctv du type de la souche K (BOVÉ *et al.*, 1988). La détection sérologique utilise des tests Elisa avec des anticorps polyclonaux et monoclonaux (CARUANA et CHABRIER, 1993). Dernièrement, la méthode Dtbia (*direct tissue blotting immuno assay*) s'est révélée plus adaptée et aussi sensible que le test Elisa (photo 89).

La technique d'amplification moléculaire d'une partie du génome viral de type immuno capture Rt-Pcr permet une détection 1 000 fois plus sensible. Elle permet de détecter le virus sur les pucerons vecteurs.

### Le virus du *swollen shoot* du cacaoyer

La purification du virus du *swollen shoot* du cacaoyer a été un frein considérable à sa caractérisation à cause des mucilages présents dans les tissus broyés, qui s'oxydent très rapidement. Il a fallu attendre 1964 (BRUNT *et al.*, 1964) pour avoir les toutes premières caractéristiques de ce virus et identifier sa forme en bacille. La collaboration du Cirad avec l'Inra dans les années 80 a permis d'identifier réellement ce virus.

Le virus du *swollen shoot* du cacaoyer (Cssh) est un virus bacilliforme d'environ 12 sur 28 nanomètres, contenant un Adn double brin (LOT *et al.*, 1991 ; photo 90). Ce virus appartient au groupe des *Badnavirus*. Une copie complète du génome du Cssh a été clonée puis séquencée (HAGEN *et al.*, 1993). Il contient 7 161 paires de bases et 5 cadres ouverts de lecture capables de coder pour des protéines de plus de 10 kilodaltons. La région 3' contient des séquences consensus caractéristiques des pararétrovirus. Ce virus séquencé est bien le responsable de la maladie puisqu'un clone génomique entier du virus reproduit les symptômes de la maladie après un bombardement de graines de cacao à l'aide d'un canon à particules (HAGEN *et al.*, 1994). Les plantes issues de ces graines bombardées réagissent positivement en sérologie et en *dot-blot*, et les particules virales ont pu y être observées en microscopie électronique.

### Le virus du dépérissement foliaire du cocotier

Le dépérissement foliaire du cocotier (Dfc) a souvent été confondu avec le jaunissement mortel. Mais il n'a jamais été possible de détecter des organismes de type mycoplasme et les traitements à la tétracycline restent sans effet (JULIA *et al.*, 1985). L'hypothèse étiologique d'un viroïde ayant évolué séparément de ceux du *cadang-cadang* (Philippines) et de ceux de la maladie de *Tinangaja*

(île de Guam) a également été envisagée, mais un tel viroïde n'a pu être identifié (DOLLET, 1985).

En 1986, un Adn simple brin spécifiquement associé au syndrome du Dfc a pu être mis en évidence (RANGLES *et al.*, 1986). Plus tard, des particules virales icosahédriques de 20 nanomètres de diamètre ont pu être détectées, associées à cet Adn circulaire simple brin de 1 291 nucléotides (RANGLES et HANOLD, 1989). Il s'agit d'un nouveau type de virus présentant des analogies à la fois avec les géminivirus de plantes et avec le *porcine circovirus*.

## Les viroïdes

Plusieurs maladies présumées à virus sont restées d'origine inconnue pendant de nombreuses années car il n'était pas possible de purifier le présumé virus. Ce n'est que dans les années 70 que le concept de viroïde est apparu en pathologie. Ce sont des molécules d'Arn circulaire simple brin fermées par liaison covalente et comprenant des régions avec des bases appareillées. Ce sont les plus petits agents pathogènes connus à ce jour : 246 nucléotides pour le plus petit viroïde, celui du *cadang-cadang* du cocotier, 463 pour le plus grand.

Ils ne sont à ce jour connus que sur les plantes et on en dénombre seulement une vingtaine bien décrits, répartis en deux groupes principaux (A et B).

### Le viroïde du *cadang-cadang* du cocotier

Le *cadang-cadang*, qui affecte principalement le cocotier, mais aussi le palmier à huile et au moins un autre palmier *Corypha elata*, est provoqué par un viroïde (Cccvd). Il comprend quatre formes : deux formes de base de 246 ou 247 nucléotides et deux formes avec une région répétée, de 296 et 297 nucléotides.

Un viroïde assez proche (64 % d'homologie avec le Cccvd) appelé *Tinangaja viroid*, existe sur l'île de Guam, où il provoque une maladie débilitante des cocotiers sans réelle répercussion économique, la maladie de *Tinangaja* (BOCCARDO, 1985).

Selon HANOLD et RANGLES (1991), des séquences nucléotidiques proches de celle du Cccvd appelées *coconut cadang-cadang viroid-like sequences* ont été mises en évidence dans divers palmiers de plusieurs pays. Ces auteurs, sur la base de ces hybridations moléculaires, estiment donc que de nombreux palmiers présentant ou non des symptômes pathologiques et d'autres plantes de différentes familles pourraient être des réservoirs de souches de Cccvd. Il a été démontré qu'il pouvait en effet y avoir des molécules de type viroïde sur le

palmier à huile mais ces molécules existent dans tous les pays étudiés, elles ne sont associées à aucun syndrome pathologique et seraient plutôt des Arn double brins à forte structure secondaire et non des viroïdes (DOLLET *et al.*, 1994 ; BEUTHER *et al.*, 1992). Des travaux récents ont permis de montrer que plusieurs artefacts techniques pouvaient entraîner de fausses hybridations moléculaires : techniques d'extraction des acides nucléiques, nature de la sonde, conditions de stringence, temps d'autoradiographie technique d'hybridation, etc. (MULLER et DOLLET, 1997).

## Les viroïdes des agrumes

Parmi les agrumes, onze viroïdes distincts sont communément reconnus et régulièrement associés sous forme de complexe dans un même arbre. Ces viroïdes sont classés en cinq groupes selon des critères moléculaires, structuraux et biologiques : le *Citrus exocortis viroid group* (Cevd), le *citrus viroid group I* (Cvdl), le CvdII, le CvdIII, le CvdIV (SEMANCIK et DURAN-VILLA, 1991). Parmi ces viroïdes, deux sont responsables de maladies graves chez les agrumes : l'exocortis (Cevd) et la cachexie-xyloporose (CvdIIIb ou Ccavd). Des viroïdes sont aussi suspectés d'être responsables d'autres affections et certains ont été décrits comme des souches atténuées du Cevd. Le viroïde de l'exocortis, en plus des symptômes corticaux sur hôte sensible, entraîne une diminution de la croissance et une réduction de la production (VOGEL et BOVÉ, 1986).

## Les trypanosomes

### *Phytomonas* spp. des palmiers

A tout syndrome de *marchitez* du palmier ou de *hartrot* du cocotier, on peut associer la présence de trypanosomatides introphloémiques (DOLLET *et al.*, 1977a ; DOLLET et LOPEZ, 1978 ; PARTHASARATHY *et al.*, 1976 ; photos 91 et 92). Les trypanosomes avaient été découverts sur les plantes à latex dès 1909, et le nom générique arbitraire de *Phytomonas* leur avait été attribué. Par commodité, ils ont continué à être identifiés par ce nom de genre sans aucun autre critère que celui de vivre dans une plante alors qu'ils passent aussi une partie de leur cycle dans des insectes.

Ce sont des protozoaires allongés, dotés d'un seul flagelle à leur extrémité antérieure, et d'une longueur d'environ 20 microns. On peut les observer en microscopie optique, vivants, en contraste de phase, ou fixés sur une lame et colorés au giemsa (photo 93).

Ces trypanosomes ont pu être cultivés *in vitro* dans le laboratoire de virologie du Cirad (DOLLET *et al.*, 1982 ; MENARA *et al.*, 1988). L'obtention de ces cultures a conduit à trouver des méthodes de caractérisation, qui permettent actuellement de distinguer deux grands groupes de trypanosomatides associés à ces maladies. Il existe quatre méthodes, de la moins sensible à la plus discriminante : l'immunofluorescence, l'électrophorèse d'isoenzymes, l'étude des caractéristiques de l'Adn kinétoplastique et les Rapd.

L'immunofluorescence permet d'obtenir clairement, à l'aide d'anticorps monoclonaux, une ségrégation géographique et, pour les trypanosomes d'Amérique du Sud, une séparation entre les types intraphloémiques des palmiers et ceux des plantes à latex (PETRY *et al.*, 1989 ; MARCHE, 1995).

L'électrophorèse d'isoenzymes permet d'observer une très grande hétérogénéité chez les trypanosomes des plantes à latex et deux groupes bien définis chez les trypanosomes intraphloémiques d'Amérique du Sud (MULLER *et al.*, 1994).

Ces organismes possèdent à la base du flagelle, dans une mitochondrie unique, un réseau très dense de plusieurs milliers de minicercles d'Adn enchaînés, l'Adn kinétoplastique (AHOMADEGBE *et al.*, 1990). La mesure de ces minicercles permet d'identifier plusieurs classes en fonction de leur longueur. Ceux des palmiers peuvent appartenir à deux classes. Elles correspondent à celles qui ont été trouvées avec les isoenzymes. On peut utiliser les minicercles d'un isolat donné comme sondes radioactives et les hybrider avec les minicercles des autres isolats. On retrouve ces deux mêmes groupes (MULLER *et al.*, 1995).

Avec la dernière approche moléculaire, les Rapd, on arrive également à distinguer deux groupes constituant un ensemble très éloigné des autres trypanosomes végétaux (MULLER *et al.*, 1997).

Il existe donc en Amérique du Sud, deux groupes de trypanosome responsables indifféremment de la *marchitez* ou du *hartrot*. Ces groupes sont indépendants de l'origine géographique (en Amérique où ils sont endémiques), comme de l'hôte (palmier, cocotier ou même *Alpinia purpurata* atteinte de dépérissement à la Grenade, dans la Caraïbe) et comme de l'espèce vectrice. Nous n'avons pu encore vérifier que ces différents groupes correspondent à des différences symptomatologiques de ces maladies, qui ont été décrites par plusieurs auteurs (chute précoce des noix ou non chez le cocotier, pourriture de flèche précoce ou non chez le palmier à huile, vitesse d'évolution des symptômes, etc.).

## *Phytomonas* du caféier

Les *Phytomonas* du caféier ont été mis en évidence pour la première fois en 1931 (STAHEL cité par DOLLET, 1984). Il a pu cependant apparaître localement que les caféiers affectés étaient situés dans des zones très humides et donc

dans des conditions agronomiques très défavorables. Cette affection se manifeste par un dessèchement généralisé et par la mort de la plante dus au développement, à l'intérieur des vaisseaux du liber, d'un protozoaire flagellé, *Phytophthora* sp., provoquant la nécrose des tissus envahis. Cette maladie n'est connue que dans les régions nord de l'Amérique du Sud, au Surinam, au Guyana ainsi qu'à Trinité-et-Tobago.

## Les nématodes

### Les nématodes du caféier

Les outils classiques de la taxonomie des nématodes phytoparasites font appel essentiellement à des études morphométriques. Dans le cas du genre *Pratylenchus*, ces outils sont insuffisants pour trancher le statut spécifique de certaines populations du Guatemala entre *P. coffeae* et *P. loosi* (ANZUETO *et al.*, 1991, ANZUETO, 1993). Il est probable que les deux espèces sont très proches.

L'électrophorèse des systèmes isoenzymatiques est un outil couramment appliqué pour les identifications au sein du genre *Meloidogyne* (DALMASSO et BERGE, 1978 ; FARGETTE, 1987).

Une étude menée sur quatre systèmes isoenzymatiques discriminants a permis de mettre en évidence la grande diversité des populations attaquant les caféiers en Amérique centrale (HERNANDEZ *et al.*, 1995 et 1996). Le tableau 2 présente les espèces ou les types de population parasite mis en évidence.

L'espèce *M. exigua* est présente au Costa Rica, au Nicaragua et au Honduras et le phénotype de *M. arabicida*, espèce fortement pathogène au Costa Rica, a été décrit, confirmant qu'il s'agit bien d'une espèce particulière. Au Salvador, *M. arenaria* a été mis en évidence de même que deux types nouveaux.

L'espèce originaire du Brésil est identifiée morphologiquement comme *M. incognita* mais son phénotype estérasiqne est particulier.

Enfin, le cas du (ou des) type(s) du Guatemala est intéressant. Le phénotype estérasiqne F1 a été décrit pour de nombreuses populations parasites des caféiers en Amérique latine. Il a été récemment et séparément rattaché à la description de deux nouvelles espèces qui pourraient être synonymes : *M. paranaensis*, au Brésil, (CARNEIRO *et al.*, 1996) et *M. konaensis* à Hawaii (EISENBACK *et al.*, 1994).

Des études fondées directement sur l'étude du génome après amplification Pcr (Rapid et Aflp) devraient permettre de donner de nouveaux outils performants de caractérisation des populations de nématodes.

Tableau 2. Caractérisation de populations du genre *Meloidogyne* originaires d'Amérique centrale et du Brésil.

Phénotypes enzymatiques				Plaques périnéales	Espèce	Origine
EST	MDH	SOD	GOT <sup>1</sup>			
A2	N1	JA2	N1	Ar	<i>M. arenaria</i>	Salvador
VF1	N1	N1a	H1	Ex	<i>M. exigua</i>	Costa Rica
VF1	N1	N1a	H1	Ex	<i>M. exigua</i>	Honduras
VF1	N1	N1a	H1	Ex	<i>M. exigua</i>	Nicaragua
VF1	N1	N1a	N1a	Ex	<i>M. exigua</i>	Costa Rica
M1F1b	N1	N1b	N1	T1	<i>M. arabicida</i>	Costa Rica
F1	N1	N2	N1	In	<i>M. incognita</i> ?	Guatemala
F1	N1a	N1b	N1	In	<i>M. incognita</i> ?	Guatemala
M1F1a	N1	I2	N1	In	<i>Meloidogyne</i> sp1	Salvador
Sa4	N1	N1b	N1	T2	<i>Meloidogyne</i> sp2	Salvador
M1	N1	I2	N1	In	<i>Meloidogyne</i> sp3	Brésil

1. EST : Estérase, MDH : Malate déshydrogénase, SOD : Superoxydase dismutase  
GOT : Glutamate oxaloacétate transaminase

## Conclusion

Si les champignons constituent donc un grand groupe d'agents pathogènes chez les plantes pérennes tropicales, on peut constater que toute la gamme de parasites connue à ce jour en phytopathologie y est représentée (tableau 3). Il est même possible que les proportions de chaque groupe d'agents pathogènes ne soient que le reflet des difficultés à les isoler et les caractériser, ou de leur ancienneté. Il n'est pas étonnant par exemple que l'on connaisse moins de viroïdes que de champignons, sachant que le concept viroïde n'est apparu qu'en 1971-1975 et que ces agents pathogènes sont les plus petits connus à ce jour en biologie, de telle sorte que l'on ne peut même pas les diagnostiquer en microscopie électronique.

Outre cette diversité des agents pathogènes eux-mêmes, il est intéressant de noter la variabilité au sein de chaque espèce, variabilité biologique (symptomatologique), sérologique, moléculaire, se traduisant souvent par des variations de l'agressivité. Cette diversité au sein d'une espèce constitue un élément récent — une vingtaine d'années seulement —, dont l'étude est devenue indispensable pour se doter des meilleures bases de contrôle intégré des maladies. Ainsi, avant de se lancer dans un programme de génétique pour trouver des variétés résistantes à une maladie donnée, il est devenu incontournable d'étudier la variabilité de l'agent causal.

Ces études étiologiques doivent obligatoirement s'accompagner de recherches sur les modes de propagation du parasite, en particulier quand la vection se fait par un insecte, un nématode ou encore un champignon. Car, à ce stade, vont intervenir de nouveaux paramètres indispensables à la mise au point de

Tableau 3. Les principales maladies des cultures pérennes tropicales en fonction des pathogènes.

Plantes	Champignons				Bactéries	Phytoplasmes	Virus	Viroïdes	Trypanosomes	Nématodes
	Pourridiés	<i>Phytophthora</i>	<i>Colletotrichum</i>	Autres						
Agrumes		Gombose		Cercosporiose Dépérissement à <i>Ceratocystis</i>	Chancre <i>Greening</i>		<i>Tristeza</i>	<i>Exocortis</i>		
Fruitiers		Dépérissement de l'avocatier	Anthracnose des fruits		Taches noires du manguier					
Palmier à huile	<i>Ganoderma</i>			Fusariose  Cercosporiose		<i>Blast</i>	Taches annulaires Pourriture du cœur. Agent ?		<i>Marchitez</i>	Anneau rouge
Cocotier		Pourriture du cœur et des noix		Helminthosporiose	Jaunissements mortels	Pourriture sèche	<i>Cadang- Cadang- du cœur</i>	<i>Hartrot</i>	Anneau	
Caféier	<i>Clitocybe</i>		Anthracnose des baies	Rouille orangée  Trachéomycose ( <i>Fusarium</i> ) Maladie américaine des feuilles ( <i>Mycena</i> )						Dépérissement
Cacaoyer		Pourriture des cabosses		Balai de sorcière ( <i>Crinipellis</i> ) Moniliose ( <i>Moniliophthora</i> )			<i>Swollen shoot</i>			
Hévéa	<i>Fomes</i>  Armillaire	Raies noires	Anthracnose des feuilles	<i>Microcyclus</i>						

meilleures méthodes de lutte intégrée : les relations entre le vecteur et le parasite, d'une part, les relations entre les hôtes, les vecteurs et les parasites, d'autre part. En effet, le même phénomène de variabilité peut exister chez le vecteur, ce qui entraîne un nombre important de combinaisons, qui entrent en jeu dans la propagation et dans l'importance de la maladie.

## Références bibliographiques

AHOMADEGBE J.-C., DOLLET M., COULAUD D., GARGANI D., RIOU G., 1990. Kinetoplast Dna permits characterization of pathogenic plant trypanosomes of economic importance. *Biol. Cell* 70 : 167-176.

ANDEBRHAN T., FURTEK D.B., 1994. Random amplified polymorphic Dna (Rapid) analysis of *Crinipellis perniciosa* isolates from different hosts. *Plant pathol.* 43 (6) : 1020-1027.

ANZUETO F., 1993. Etude de la résistance du caféier (*Coffea* sp.) à *Meloidogyne* sp. et *Pratylenchus* sp. Thèse de doctorat, Ensa, Rennes, France, 123 p.

ANZUETO J., SARAH J.-L., ESKEA A.B., DECAZY B., 1991. Recherche de la résistance à *Meloidogyne* sp. dans une collection de *Coffea arabica*. In : XIV<sup>e</sup> colloque scientifique international sur le café, juillet 1997. Paris, France, Asic.

BABACAUH K.D., PARTIOT M., 1976. Le *Phytophthora* sp. parasite du cacaoyer en Côte d'Ivoire : première étude de sa variabilité morphologique, physiologique et pathogénique. *Café, cacao, thé* 20 (2) : 117-128.

BAR-JOSEPH M., LEE R.F., 1989. Citrus tristeza virus. *Aab Description of plant viruses*, n° 353, 7 p.

BEAKBANE A.B., SLATER C.H.W., POSNETTE A.F., 1972. Mycoplasmas in the phloem of coconut, *Cocos nucifera*, L. with lethal yellowing disease. *J. Hort. Sci.* 47 : 265.

BELLA MANGA, BIEYSSE D., MOUEN BEDIMO J.A., AKALAY I., BOMPARD E., BERRY D., 1997. Observations sur la diversité de la population de *Colletotrichum kahawae*, agent de l'antracnose des baies du caféier Arabica ; implications pour l'amélioration génétique. In : XVII<sup>e</sup> colloque scientifique international sur le café, Nairobi, Kenya, 21-25 juillet 1997. Paris, France, Asic.

BERRY D., 1997. Recherche et création de variétés de caféiers résistants à l'antracnose des baies. Montpellier, France, Cirad-cp, 3<sup>e</sup> rapport scientifique semestriel d'activité, document n° 809.

BEUTHER E., WIESE U., LUKACS N., VAN SLOBBE W.G., RIESNER D., 1992. Fatal yellowing of oil palms, search of viroids and double stranded Rna. *J. Phytopathol.* 136 : 297-311.

BLAHA G., 1978. Un grave pourridié du caféier Arabica au Cameroun : *Clitocybe (Armillariella) elegans* Heim. *Café, cacao, thé* 22 (3) : 203-216.

BLAHA G., 1988. Polymorphisme enzymatique des *Phytophthora* responsables de la pourriture brune des cabosses. Recherche de la variabilité liée à l'interaction hôte-para-

site chez le cacaoyer. In : Xth international cocoa research conference, Saint-Domingue, République dominicaine, p. 397-406.

BLAHA G., 1994. Structure génétique de *Phytophthora megakarya* et de *P. palmivora*, agents de la pourriture brune des cabosses du cacaoyer. In : XIth international cocoa research conference, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, p. 3-13.

BLAHA G., 1995. Données sur la diversité physiologique des populations de *Phytophthora megakarya* et de *Phytophthora palmivora* responsables de la pourriture brune des cabosses du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, France, 210 p.

BLAHA G., HALL G., WAROKKA J.S., CONCIBIDO E., ORTIZ-GARCIA C., 1994. *Phytophthora* isolates from coconut plantations in Indonesia and Ivory Coast: characterization and identification by morphology and isozyme analysis. Mycol. Res. 98 (12) : 1379-1389.

BOCCARDO G., 1985. Viroid etiology of Tinangaja and its relationship with *cadang-cadang* disease of coconut. In : Subviral pathogens of plants and animals: viroids and prion. K. Maramorosh et Jr. J. Mc Kelvey éd. Academic Press, p. 75-99.

BOVÉ C., VOGEL R., ALBERTINI D., BOVÉ J.M., 1988. Discovery of a strain of tristeza virus (k) inducing no symptoms in Mexican lime. In : Proceedings of the xth conference locv, Riverside University of California, Etats-Unis, p. 14-16.

BRUNT A.A., KENTEN R.H., NIXON H.L., 1964. Some properties of cocoa swollen shoot virus. J. Gen. Microbiol. 36 : 303.

BARNEIRO R.M.D.G., CARNEIRO R.G., ABRANTES I.M.O., SANTOS M.S.N.A., ALMEIDA M.R.A., 1996. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae) a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. Journal of Nematology 28 (2) : 177-189.

CARUANA M.-L., CHABRIER C., 1993. Contrôle de la *tristeza* des agrumes. In : Rapport d'activité du Lprc, Montpellier, France, Cirad-Orstom, p. 9-11.

DALMASSO A., BERGE J.C., 1978. Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp. application to the taxonomy of *Meloidogyne*. J. Nematol. 10 (4) : 323-332.

DOLLET M., 1980. Research on the etiology of blast of oil and coconut palms. In : Proceedings of the international council on lethal yellowing, D.L. Thomas *et al.* éd. Ars Iffas University of Florida, Fort Lauderdale, Etats-Unis, p. 19.

DOLLET M., 1984. Plant diseases caused by flagellate protozoa (*Phytomonas*). Annual Review of Phytopathology 22 : 115-132.

DOLLET M., 1985. Recherches étiologiques sur les syndromes pathologiques des oléagineux tropicaux pérennes (cocotier et palmier à huile). Thèse d'Etat, université des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier, France, vol. I et II., 520 p.

DOLLET M., CAMBRONY D., GARGANI D., 1982. Culture axénique *in vitro* de *Phytomonas* sp. (*Trypanosomatidae*) d'euphorbe, transmis par *Stenocephalus agilis* Scop (Coreide). C.R. Acad. Sci. Paris, Série III, 295 : 547 550.

DOLLET M., GIANNOTTI J., 1976. Maladie de Kaïncopé : présence de mycoplasmes dans le phloème des cocotiers malades. Oléagineux 31 (4) : 169-171.

- DOLLET M., GIANNOTTI J., OLLAGNIER M., 1977a. Observation de protozoaires flagellés dans les tubes criblés de palmiers à huile malades. C.R. Acad. Sci. Paris, Série D, 284 : 643-645.
- DOLLET M., GIANNOTTI J., RENARD J.-L., GHOSH S.K., 1977b. Etude d'un jaunissement léthal des cocotiers au Cameroun : la maladie de Kribi : observations d'organismes de type mycoplasmes. Oléagineux 32 (7) : 317-322.
- DOLLET M., LOPEZ G., 1978. Etude sur l'association de protozoaires flagellés à la *mar-chitez sorpresiva* du palmier à huile en Amérique du Sud. Oléagineux 33 (5) : 209-213. DOLLET M., MAZZOLINI L., BERNARD V., 1994. Research on viroid-like molecules in oil palm. In : Coconut improvement in the South Pacific, M.A. Foale et P.W. Linch éd. Aciar proceedings n° 53, p. 62-65.
- DOSSA C., 1993. Variabilité de la morphologie et du pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *elaeidis* Toovey, agent de la fusariose du palmier à huile. Thèse de doctorat, université Montpellier II, France, 135 p.
- DOSSA C., PANDO BAHUON A., RENARD J.-L., BOISSON C., 1991. Determination of vegetative compatibility groups in Africa *Fusarium oxysporum* strains isolated from vascular wilt-infected oil palms. Oléagineux 46 : 145-147.
- EISENBACK J.D., BERNARD E.C., SCHMITT D.P., 1994. Description of the kona coffee root-knot nematode, *Meloidogyne konaensis* n. sp. J. Nematol. 26 (4) : 363-374.
- ESKES A.B., 1989. Resistance. In : Coffee rust : epidemiology, resistance, and management, A.C. Kushalappa et A.B. Eskes éd., Crc Press, Etats-Unis, p. 171-291.
- EVANS H.C., 1980. Pleomorphism in *Crinipellis perniciosa* causal agent of witches' broom disease of cocoa. Trans. Brit. Mycol. Soc. 74 (3) : 515-23.
- FARGETTE M., 1987. Use of the esterase phenotypes in the taxonomy of the genus *Meloidogyne*. 1. Stability of the esterase phenotype. Rev. Nematol., 10 (1) : 39-43.
- FRASELLE J.V., 1951. Experimental evidence of the pathogenicity of *Fusarium oxysporum* Schl. to the oil palm. Nature 167 : 447.
- GAGNEVIN L., LEACH J.E., PRUVOST O., 1997. Genomic variability of the *Xanthomonas* pathovar *mangiferaeindicae*, agent of mango bacterial black spot. Appl. Environ. Microbiol. 63 : 246-253.
- HAGEN L.S., JACQUEMONT M., LEPINGLE A., LOT H., TEPFER M., 1993. Nucleotide sequence and genomic organization of cacao *swollen shoot* virus. Virology 196 : 619-628.
- HAGEN L.S., LOT H., GODON C., TEPFER M., JACQUEMONT M., 1994. Infection of *Theobroma cacao* using cloned Dna of cacao *swollen shoot* virus and particle bombardement. Phytopathology 84 : 1239-1243.
- HANOLD D., RANDELS J.W., 1991. Detection of coconut *cadang-cadang* viroid-like sequences in oil and coconut palm and other monocotyledons in the south-west Pacific. Ann. Appl. Biol. 118 : 139-151.
- HARRISON N.A., RICHARDSON P.A., JONES P., TYMON A.M., EDEN-GREEN S.J., MPUNAMI A.A., 1994. Comparative investigation of Mlo associated with Caribbean and African coconut

lethal decline diseases by Dna hybridization and Pcr Essays. Plant Dis. 78 (5) : 507-511.

HERNANDEZ A., FARGETTE M., MOLINIER V., RAMENASON H., DECAZY B., SARAH J.-L., 1996. Enzymatic characterization and reproductive fitness on coffee of root-knot nematode populations from Central America. Nematropica 26 (3) : 274 (résumé).

HERNANDEZ A., FARGETTE M., SARAH J.-L., DECAZY B., ESKEA A.B., MOLINIER V., BOISSEAU M., 1995. Caractérisation biochimique, biologique et morphologique de différentes populations de *Meloidogyne* spp. parasites du café en Amérique centrale. Résumés du X<sup>e</sup> colloque scientifique international sur le café. Paris, France, Asic. HINDORF H., 1970. *Colletotrichum* spp. isolated from *Coffea arabica* L. in Kenya. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz : 328-331.

HOLGUIN MELENDEZ F., 1993. Contribution à la recherche d'une résistance durable du caféier (*Coffea* spp.) à la rouille orangée (*Hemileia vastatrix* Brek. et Br.) : étude de la variabilité génétique du pathogène. Thèse de doctorat, université Montpellier II, France, 172 p.

HUGUENIN B., BOHER B., HAURY A., LAVILLE E., 1975. Etude de *Phytophthora cinnamomi* de l'avocatier au Cameroun. Fruits 9 : 525-533.

JONES P., MPUNAMI A., TYMON A., 1995. Mycoplasma-like organisms as pathogens of coconut palms. In : Lethal yellowing: research and practical aspects, C. Oropeza *et al.*, éd., Kluwer Academic Publishers, p. 35-42.

JULIA J.-F., DOLLET M., RANGLES J., CALVEZ C., 1985. Le dépérissement foliaire par *Myndus taffini* (Dfnt) : nouveaux résultats. Oléagineux 40 : 19-27.

LIYANAGE A.S. (DE), 1981. Long distance transport and deposition of spores of *Microcyclus ulei* in Tropical America: a possibility. Bull. Rubb. Res. Inst. Sri Lanka 16 : 3-8.

LOMBARDO GIL FAGIOLI S., BERRY D., BIEYSSE D., MULLER R.A., 1987. Etude comparée de l'agressivité de races physiologiques d'*Hemileia vastatrix* Berk et Br. possédant diverses charges en gènes de virulence. In : XII<sup>e</sup> colloque scientifique international sur le café. Asic, Paris, France, p. 614-628.

LOT H., DJIEKPOR E., JACQUEMOND M., 1991. Characterization of the genome of cacao swollen shoot virus. J. Gen. Virol. 72 : 1735-1739.

MAC DONALD J., 1926. Fungoid disease in Kenya colony. Kenya, Department of Agriculture, p. 3-17.

MARCHE S., 1995. Caractérisation et identification des *Phytomonas* trypanosomatides de plantes. Thèse de doctorat, université Bordeaux II, France, 66 p.

MAYNE W.W., 1932. Physiological specialization of *Hemileia vastatrix* B. et Br., Nature 129 : 510.

MENARA A., DOLLET M., GARGANI D., LOUISE C., 1988. Culture *in vitro* sur cellules d'invertébrés des *Phytomonas* sp. (*Trypanosomatidae*) associés au *hartrot*, maladie du cocotier. C.R. Acad. Sci. Paris, série III, 307 : 597-602.

MICHEL T., 1990. Contribution à l'étude des pourridies à armillaire dans les plantations d'hévéa au Gabon. Rapport de stage, Institut supérieur technique d'outre-mer, 61 p.

MOUYNA I., 1994. Caractérisation moléculaire et étude de la diversité moléculaire des *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*, responsables de la fusariose vasculaire du palmier à huile. Thèse de doctorat, université Paris VII, Paris, France, 82 p.

MOUYNA I., RENARD J.-L., BRIGOO Y., 1996. Dna polymorphism among *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* populations from oil palm, using a repeated and dispersed sequence. *Palm. Curr. Genet.* 30 : 174-180.

MULLER R.A., 1974. Effect of prophylactic measures on the dissemination of *Phytophthora palmivora*. In : *Phytophthora* disease of cocoa, P.H. Gregory éd. Londres, Royaume-Uni, Longman, p. 169-178.

MULLER E., AHOMADEGBE J.C., COULAUD D., GARGANI D., FERNANDEZ-BECERRA C., DOLLET M., 1995. Variability of kinetoplast DNA from plant trypanosomatids responsible for *hartrot* and *marchitez* diseases. *Phytopathology* 85 (9) : 942-947.

MULLER E., DOLLET M., 1997. Research on viroid-like sequences at CIRAD in viroid like sequence of coconut. In : *Proceedings of a meeting*, Kajang Kuala Lumpur, Malaisie. M. Dieckmann éd. Canberra, Australie, Aciar, Rome, Italie, Ipgri, p. 30-39.

MULLER E., GARGANI D., BANULS A.L., TIBAYRENC M., DOLLET M., 1997. Classification of plant trypanosomatids (*Phytomonas* spp.) : parity between random-primer Dna typing and multilocus enzyme electrophoresis. *Parasitology* 115 : 403-409.

MULLER E., GARGANI D., SCHAEFFER V., STEVENS J., FERNANDEZ-BECERRA C., SANCHEZ MORENO M., DOLLET M., 1994. Variability in the phloem restricted plant trypanosomes (*Phytomonas* spp.) associated with wilts of cultivated crops. *Eur. J. Plant Pathol.* 100 : 425-434.

NIENHAUS F., SCHUILING M., GLIEM G., SCHINZER U., SPITTEL A., 1982. Investigation on the etiology of the lethal disease of coconut palm in Tanzania. *Journal of plant disease and protection* 89 (4) : 185-193.

NYASSE S. 1997. Etude de la diversité de *Phytophthora megakarya* et caractérisation de la résistance du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) à cet agent pathogène. Thèse de doctorat, Ensat, Toulouse, France, 165 p.

ORTIZ-GARCIA F.C., 1996. Etude de la diversité génétique de populations de *Phytophthora* pathogènes du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) et du cocotier (*Cocos nucifera* L.). Thèse de doctorat, université Paul-Sabatier, Toulouse, France, 85 p.

ORTIZ-GARCIA C., HERAIL C., BLAHA G., 1994. Utilisation des isozymes en tant que marqueurs pour l'identification spécifique des *Phytophthora* responsables de la pourriture brune des cabosses dans les pays producteurs de cacao. In : *XIth international cocoa research conference*, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, p. 135-143.

OUDEMANS P., COFFEY M., 1990. A revised systematics of twelve papillate *Phytophthora* species based on isoenzyme analysis. *Mycol. Res.* 95 : 1025-1046.

PARTHASARATHY M.V., VAN SLOBBE W.G., SOUDANT C., 1976. Trypanosomatid flagellate in the phloem of diseased coconut palm. *Science* 192 : 1346-1348.

PETIT-RENAUD D., 1991. Contribution à l'étude du pourridié de l'hévéa (*Hevea brasiliensis*) causé par *Armillaria heimii* au Gabon. Rapport de stage, Ensat, Toulouse, France, 38 p.

- PETRY K., GARGANI D., BALTZ T., KASTELEIN P., DOLLET M., 1989. Use of monoclonal antibodies for differentiation of different isolates of *Phytomonas* (plant trypanosomatids). *J. Phytopathol.* 126 (1) : 59-68.
- PRUVOST O., 1989. La maladie des taches noires de la mangue (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*). Etude bactériologique, biologique, épidémiologique et mise au point des bases d'un système de lutte intégrée dans les conditions de l'île de la Réunion. Thèse de doctorat, université Paris XI, Orsay, France, 280 p.
- PRUVOST O., COUTEAU A., LUISETTI J., 1992b. Pepper tree (*Schinus terebenthifolius* Raddi), a new host plant for *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*. *J. Phytopathol.* 135 : 289-298.
- PRUVOST O., HARTUNG J.S., CIVEROLO E.L., DUBOIS C., PERRIER X., 1992a. Plasmid Dna fingerprints distinguish pathotypes of *Xanthomonas campestris* pv. *citri*, the causal agent of citrus bacterial canker disease. *Phytopathology* 82 : 485-490.
- PRUVOST O., HARTUNG J.S., VERNIÈRE C., JACQUEMOUD-COLLET J.P., GAMBIN O., DEVAUX M., LUISETTI J., CIVEROLO E.L., 1994. Evaluation of metabolic fingerprinting as a tool to identify *Xanthomonas* associated with two bacterial diseases of citrus. In : Proceedings of VIIIth international conference plant path. Bact., Versailles, France, M. Lemattre et al., éd, Inra et Orstom, p. 253-258.
- QUILLEC G., RENARD J.-L., GHESQUIERE H., 1984. Le *Phytophthora heveae* du cocotier : son rôle dans la pourriture du cœur et dans la chute des noix. *Oléagineux* 39 (10) : 477-485.
- RANDLES J.W., HANOLD D., 1989. Coconut foliar decay virus particles are 20-nm icosahedra. *Intervirology* 30 : 177-180.
- RANDLES J.W., JULIA J.-F., CALVEZ C., DOLLET M., 1986. Association of single stranded Dna with the foliar decay disease of coconut palm in Vanuatu. *Phytopathology* 76 : 889-984.
- RAYNER R.W., 1952. Coffee berry disease : a survey of investigations carried out up to 1950. *E. Afric. J.* 17 : 130-158.
- RENARD J.-L., 1982. Le *blast* du palmier à huile, effet des traitements, à la tétracycline. *Oléagineux* 37 (1) : 24. Colloque international sur la protection des cultures tropicales, Lyon, France, 8-10 juillet 1981.
- RENARD J.-L., 1989. Rapport d'activité, Institut de recherche pour les huiles et les oléagineux. *Oléagineux* 44 (4) : 117-118.
- RIVANO F., 1992. La maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa : étude, en conditions naturelles et contrôlées, des composantes de la résistance partielle de l'hévéa à *Microcyclus ulei* (P. Henn). V. Arx. Thèse de doctorat, université Paris XI, Orsay, France, 260 p.
- RIVANO F., 1997. La maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa. Variabilité du pouvoir pathogène de *Microcyclus ulei*. *Plantations, recherche, développement* 4 (2) : 104-110.
- ROBERSTON J.S., 1959. Co-infection by a species of *Pythium* and *Rhizoctonia lamellifera* small in blast disease of oil palm seedlings. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 42 : 401-405.

- RODRIGUES J.R.C.J., BETTENCOURT A.J., RIJO L., 1975. Races of the pathogen and resistance to coffee rust. *Annu. Rev. Phytopathol.* 13 : 49-65.
- ROGER R.L., 1953. *Phytopathologie des pays chauds*. Encyclopédie mycologique. Paris, France, Lechevallier éd.
- ROTT P., FROSSARD P., 1986. Un chancre bactérien du prunier de Cythère (*Spondias cytherea* Sonn.) en Martinique. *Fruits* 41 : 605-613.
- SACCAS A.M., CHARPENTIER J., 1971. La rouille des caféiers due à *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. Paris, France, Ircc, bulletin n° 10, 124 p.
- SEMANCIK J.S., DURAN-VILLA N., 1991. The grouping of citrus viroids: additional physical and biological determinants and relationships with diseases of citrus. In : *Proceedings of the XIth conf. Int. Org. Citrus Virol.*, R.H. Brlansky et al., éd. Riverside, Etats-Unis, locv, p. 178-188.
- STEER J., COATES-BECKFORD P., 1990. Role of *Phytophthora katsurae*, *P. palmivora*, *Thielaviopsis paradoxa* and *Enterobacter* sp. in budrot disease of coconuts in Jamaica. *Oléagineux* 45 (12) : 539-545.
- SUBILEAU C., 1993. Systématique et biologie du complexe parasitaire constitué du *Phylachora torrendiella* (Bat.) nov. comb. et du *Botryosphaeria cocogena* nov. sp., agents fongiques du dessèchement foliaire du cocotier au Brésil. Thèse de doctorat, université Paris VI, France, 121 p.
- SUBILEAU C., RENARD J.-L., LACOSTE L., 1994. *Botryosphaeria cocogena* nov. sp., agent causal du dessèchement foliaire du cocotier au Brésil. *Mycotaxon* 51 : 5-14.
- TOOLEY P.W., FRY W.E., VILLARREAL-GONZALES M.J., 1985. Isozyme characterization of sexual and asexual *Phytophthora infectans* populations. *J. Heredity* 76 : 431-435
- TROCMÉ O., 1972. Contribution à l'étude d'une maladie du cacaoyer en Ouganda : le dessèchement écofongique des branches. *Café, cacao, thé* 16 (3) : 219-235.
- VALLAVIEILLE C. DE, 1983. Structure d'une population phytopathogène sélectionnée sous la pression d'une population hôte pérenne : le cas de *Phytophthora* sp. inféodé aux agrumes de la plaine orientale corse. Thèse de doctorat d'Etat, université Paris XI, Orsay, France, 169 p.
- VALLAVIEILLE C. DE, PERRIER X., 1981. Etude de la pathogénie du *Phytophthora citrophthora* leonian sur une gamme de porte-greffe d'agrumes par deux méthodes d'analyse multidimensionnelle. *Agronomie* 1 (7) : 527-534.
- VERNIÈRE C., PRUVOST O., CIVEROLO E.L., GAMBIN O., JACQUEMOUD-COLLET J.P., LUISSETTI J., 1993. Evaluation of the Biolog substrate utilization system to identify and assess metabolic variation among strains of *Xanthomonas campestris* pv. *citri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59 : 243-249.
- VERNIÈRE C., PRUVOST O., LUISSETTI J., DEVAUX M., COUTEAU A., 1992. Techniques d'identification des pathotypes de *Xanthomonas campestris* pv. *citri*, agent du chancre bactérien des agrumes. *Fruits* 47 : 169-173.
- VOGEL R., BOVÉ J.M., 1986. Influence de l'exocortis sur la croissance et la production du clémentier greffé sur 39 lignées de *Poncirus trifoliata*. *Fruits* 41 : 639-647.

WALLER J.M., BRIDGE P.M., BLACK R., HAKIZA G., 1993. Characterisation of the coffee berry disease pathogens, *Colletotrichum kahawae* sp. nov., Mycological Research, 97 (8) : 989-994.

WARWICK D., RENARD J.-L., BLAHA G., 1994. La *queima das folhas* du cocotier. Plantations, recherche, développement 1 (2) : 57-64.