



Original Paper

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Action de l'acide phosphoreux *in vitro* sur *Phytophthora katsurae* (Pythiaceae), parasite du cocotier en Côte d'Ivoire

Béranger N'GORAN^{1,2}, Kouassi ALLOU^{1*}, Noellie Ahou YAO³,
Jean Louis Konan KONAN¹, Joseph M'PIKA², Thierry Tacra LEKADOU¹,
Auguste Emmanuel ISSALI¹ et Severin AKE²

¹Laboratoire de Phytopathologie, Station de Recherche Marc Delorme, CNRA, 07 BP 13 Abidjan 07,
Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Physiologie Végétale, UFR de Biosciences, Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22,
Côte d'Ivoire.

³University of Wuerzburg, Remote Sensing Unit, 97074 Wuerzburg, Germany.

*Auteur correspondant, E-mail : kouassi_allou@yahoo.fr; Tel : 225 05 88 69 93

RESUME

L'action *in vitro* de l'acide phosphoreux sur quatre souches de *Phytophthora katsurae* provenant de trois régions Sud de production du cocotier en Côte d'Ivoire a été évaluée. L'étude fongitoxique de l'acide phosphoreux et la capacité de redéveloppement des souches ont été respectivement réalisées sur milieu Ribeiro modifié, amendé avec les concentrations 15, 20, 25, 30, 40 et 50 µg/ml d'acide phosphoreux et avec 15 et 50 µg/ml du même acide. Les croissances mycéliennes sur milieux amendés à l'acide phosphoreux ont été comparées aux croissances des champignons sur milieux Ribeiro ne contenant pas de l'acide phosphoreux. L'activité fongitoxique de l'acide phosphoreux s'est traduite par des taux d'inhibition compris entre 36,45% et 74,64%. Les souches du Sud Comoé issues d'une plantation villageoise de Samo et d'une plantation industrielle CAIMPEX, sont plus sensibles à l'acide, contrairement aux souches de Marc Delorme et Fresco. Les essais réalisés ont montré également que *in vitro*, les souches sont capables de se redévelopper à l'absence du fongicide. Cette étude a mis en évidence une activité fongistatique de l'acide phosphoreux. Ces différents comportements pourraient permettre l'optimisation de la lutte chimique dans toutes les zones de production de la Côte d'Ivoire.

© 2010 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Cocotier, *Phytophthora katsurae*, Acide phosphoreux, fongicide, Côte d'Ivoire.

INTRODUCTION

Le cocotier est une plante tropicale pérenne originaire d'Asie du Sud-Est (Fremond et al., 1966). Entre 2002 et 2004, la superficie mondiale cultivée a été estimée à 11.800.000 ha pour une production de 10.500.000 tonnes de coprah (Van der Vossen et Chipungahelo, 2007). En Côte d'Ivoire,

cette culture couvre environ 50.000 ha (Konan, 2006) pour une production annuelle de 51.000 tonnes de coprah (Amrizal, 2003). Elle reste principalement localisée sur le littoral où elle fait vivre plus de 12.500 familles (Assa et al., 2006). En dehors de ses attributions de plante industrielle oléagineuse, les produits du cocotier sont aussi utilisés par

© 2010 International Formulae Group. All rights reserved.

les populations sous forme de boisson, de nourriture, de produits cosmétiques (lait, savon), de récipients, etc. Cependant, la pérennité de sa culture est menacée par les attaques des ravageurs et des parasites fongiques. Parmi eux, le *Phytophthora katsurae*, champignon pathogène, est responsable de la pourriture du cœur du cocotier et de la chute des noix immatures (Allou, 1992 ; Allou et al., 2002). Il occasionne des pertes de récoltes supérieures à 30% et des dégâts pouvant entraîner la mort de l'arbre (de Franqueville et al., 1989 ; Thevenin et al., 1995). Pour lutter contre cette maladie, des méthodes prophylactiques, chimiques et génétiques (Bujung, 1990 ; Pohé et al., 2003 ; Mario et al., 2007) ont été proposées.

La méthode prophylactique consiste au suivi régulier des arbres au champ avec destruction des arbres et noix attaqués. Les méthodes chimiques et génétiques utilisent respectivement des fongicides et des variétés tolérantes à la maladie.

Cependant, sur le cocotier, en raison de l'insuffisance des résultats enregistrés dans la lutte génétique, la lutte chimique a demeuré, le moyen le plus efficace pour contrôler le parasite. Différentes molécules ont été testées afin d'en tirer la molécule efficace. Les travaux réalisés en Côte d'Ivoire, ont consisté à comparer l'efficacité des fongicides Ridomil, Phosetyl-Al et acide phosphoreux en plantations industrielles et en Station de Recherche (de Franqueville et Renard, 1989 ; Allou et de Franqueville, 2001). Ces études ont montré que l'acide phosphoreux a la meilleure activité fongicide sur *Phytophthora katsurae*. Dans les programmes de relance de la filière, la Côte d'Ivoire ambitionne la replantation du vieux verger du littoral par des variétés améliorées à haut rendement. Selon l'étude réalisée par Yao et al. (2009), une agressivité différente de l'espèce *Phytophthora katsurae* existe dans les cocoteraies du littoral. Elle n'a cependant pas été associée à une étude de sensibilité des souches à l'acide phosphoreux.

La présente étude vise à évaluer *in vitro*, l'action de l'acide phosphoreux sur

quatre souches de *Phytophthora katsurae* issues des principales zones de cultures en Côte d'Ivoire.

MATERIEL ET METHODES

Sites d'étude et de collecte des noix

Cette étude a été conduite à la fois sur le terrain et au laboratoire. Sur le terrain, les prospections ont été effectuées dans trois régions du Sud de la Côte d'Ivoire : Sud-Bandama, Lagunes et Sud-Comoé. Les villes et les localités visitées ont été : Fresco (5° 04' et 5° 06' de latitude Nord et 5° 33' et 5° 34' de longitude Ouest), Abidjan (Port-Bouët-Marc Delorme 5° 14' et 5° 15' de latitude Nord et 3° 54' et 3° 56' de longitude Ouest) et Assinie (Samo et Caimpex 4° 53'- 4° 55' latitude Nord et 3° 35'- 3° 37' longitude Ouest) (Figure 1).

Toutes ces régions appartiennent au climat attiéen marqué par quatre saisons (deux saisons pluvieuses et deux saisons sèches). La pluviométrie moyenne annuelle atteint 1800 mm de pluie avec une température moyenne de 26,1 °C.

Les travaux *in vitro* ont été réalisés au laboratoire de phytopathologie de la Station de Recherche Marc Delorme de Port-Bouët du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA).

Matériel végétal

Il a été constitué des noix de coco malades de *Phytophthora katsurae* collectées dans les parcelles provenant des régions du Sud-Bandama (Fresco), des Lagunes (Port Bouët) et du Sud-Comoé (Samo et Assinie) qui sont des zones de grande production du cocotier en Côte d'Ivoire.

Matériel fongique

Il est composé des souches de *Phytophthora katsurae* qui ont été isolées sur des noix malades en provenance des sites de prélèvements.

Milieus de culture

Le fongicide testé est l'acide phosphoreux (H₃PO₃) en cristaux à 98,5%

(Panreac, Espagne). Une solution mère de 2000 µg/ml d'acide phosphoreux a été préparée en diluant 1 g d'acide dans 500 ml d'eau distillée stérile. Elle a été conservée au réfrigérateur à 4 °C.

Les milieux V8-agar modifié (Martin et al., 1998) et Ribeiro modifié (King, 2007) ont servi à la réalisation de l'étude. Les souches ont été cultivées sur le milieu V8-agar avant d'être transférées sur le milieu Ribeiro modifié comportant 10 mM de KH₂PO₄ en phosphate pour les expérimentations de croissance mycélienne.

Isolement des souches fongiques

Les champignons ont été isolés selon la méthode classique d'isolement à partir d'organe malade. Des fragments de mésocarpe ont été prélevés sur les noix malades et ensemencés sur milieu V8-agar modifié (955 ml d'eau, 45 ml de V8 et 21 g d'agar-agar). Quatre jours après l'ensemencement, deux purifications ont été effectuées afin d'isoler les souches selon les protocoles modifiés de Bujung (1990) et de Meng et Wang (2010). Les souches de *Phytophthora katsurae* isolées, ont été repiquées sur milieu V8-agar modifié et conservées à l'incubateur à 25 °C.

Préparation des milieux tests

Les milieux ont été préparés selon les protocoles modifiés de Blizoua-Bi (1984) et King (2007). De la solution mère d'acide phosphoreux (2000 µg/ml), ont été prélevés respectivement 1,125, 1,5, 1,875, 2,25, 3 et 3,75 ml de fongicide. Ces quantités ont été ajoutées au milieu Ribeiro et ajustées avec de l'eau distillée pour obtenir un volume final de 150 ml. Les concentrations des milieux tests ainsi obtenues, ont été 15, 20, 25, 30, 40 et 50 µg/ml. Un milieu ne contenant pas de l'acide phosphoreux a été préparé pour servir de témoin. Le pH a été ajusté à 6,2 avec du KOH suivi d'un autoclavage à 120 °C pendant 20 min sous une pression de 1,5 bar. Les milieux

ont été distribués à raison de 20 ml par boîte de Pétri de 90 mm de diamètre.

Evaluation des effets fongicides ou fongistatiques de l'acide phosphoreux

Les souches de *P. katsurae* isolées et entretenues sur milieu V8-agar modifié ont été utilisées pour les différents essais. Pour une souche de *P. katsurae*, un explant mycélien de 1 cm de diamètre a été prélevé à l'emporte-pièce sur le front de croissance d'une culture âgée de cinq jours. Cet explant est ensemencé au centre de la boîte de Pétri (90 mm) contenant le milieu Ribeiro amendé ou non avec l'acide phosphoreux. L'incubation a été réalisée à l'obscurité à 25 °C pendant 7 jours selon la méthode de Yao et al. (2010).

Evaluation de la capacité de redéveloppement des souches de *P. katsurae*

Les doses de 15 et de 50 µg/ml ont été les concentrations d'acide phosphoreux entraînant respectivement le plus faible et le plus fort taux d'inhibition. Elles ont été retenues pour cette expérimentation qui a été effectuée en cinq étapes :

- La première a consisté à préparer deux milieux Ribeiro dont l'un ne contient pas de l'acide phosphoreux (T1) et l'autre 15 µg/ml d'acide (R1). Sur ces deux milieux, un explant mycélien de 1 cm de diamètre de chacune des quatre souches repiquées sur milieu V8-agar a été prélevé à l'emporte-pièce sur le pourtour d'une culture âgée de cinq jours et ensemencé au centre des boîtes de Pétri. L'incubation a été réalisée à 25 °C à l'obscurité. Après 24 heures de mise en culture, la croissance mycélienne de *P. katsurae* a été mesurée tous les jours pendant 7 jours ;

- Au cours de la deuxième phase, après 7 jours d'incubation, les fragments des différentes souches de *P. katsurae* sur (T1) et (R1) ont été prélevés et repiqués dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Ribeiro témoin (T2) et incubés à 25 °C. Les observations ont été faites tous les jours pendant 5 jours ;

- Pendant la troisième phase, deux milieux dont l'un contient 50 µg/ml d'acide (R2) et l'autre sans acide (T3) ont été préparés. Après 5 jours d'incubation sur (T2), un explant mycélien de 1 cm de diamètre a été prélevé à l'emporte pièce sur des souches préalablement cultivées sur milieu (R1) puis sur (T2) a étéensemencé sur (R2). De même, un explant mycélien de 1 cm de diamètre provenant des souches de *P. katsurae* préalablement cultivées sur (T1) puis sur (T2) a été prélevé à l'emporte pièce et repiqué sur (T3). L'incubation a été réalisée à 25 °C à l'obscurité. A 24 heures après la mise en culture, la croissance mycélienne de *P. katsurae* sur les deux milieux a été mesurée tous les jours pendant 7 jours.

- Après 7 jours de mesure, la quatrième étape a consisté à repiquer les différentes souches ayant évoluées sur (R2) et (T3) sur un nouveau milieu Ribéiro sans acide (T4).

L'incubation a eu lieu à 25 °C et, 24 heures après la mise en culture, des observations ont été faites à l'œil nu pour regarder la présence ou l'absence de croissance mycélienne durant 5 jours ;

- Au cours de la dernière phase, deux milieux Ribéiro ont été également préparés. L'un comprend 50 µg/ml d'acide (R2') et l'autre sans acide (T5). Après 5 jours d'incubation sur (T4), un explant de 1 cm de diamètre de chaque souche ayant auparavant évoluée sur (R2) a été prélevée sur (T4) etensemencée de nouveau sur (R2'). Aussi, un autre explant fongique de 1 cm de diamètre de chaque souche ayant auparavant évoluée sur (T3) puis (T4) a été prélevé et repiqué sur (T5). La croissance mycélienne des souches sur les deux milieux est mesurée tous les jours pendant 7 jours.

Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé a été une randomisation totale comportant cinq répétitions. L'unité expérimentale étant constituée d'une boîte de pétri. L'expérimentation a été conduite deux fois.

Observations macroscopiques, microscopiques et croissance mycélienne

A la fin de chaque essai, les observations macroscopiques des souches ont été effectuées dans les différentes boîtes pour évaluer la croissance, puis, un fragment a été prélevé et monté avec de l'eau entre lame et lamelle. L'aspect des filaments mycéliens a fait l'objet des observations microscopiques. Les croissances mycéliennes des souches sur les milieux de culture ont été mesurées tous les jours suivant deux axes perpendiculaires XX' et YY' sur la face inférieure des boîtes de Pétri à l'aide d'une règle graduée. Vingt quatre heures après la mise en culture, les mesures des diamètres de croissance ont été effectuées pendant 7 jours selon les travaux de Yao et al. (2010).

Elles ont été exprimées en centimètres (cm). Elles ont également permis de calculer le diamètre moyen $D_m = (D_{xx'} + D_{yy'})/2$ où (D_m = Diamètre moyen ; $D_{xx'}$ = Diamètre sur l'axe XX' ; $D_{yy'}$ = Diamètre sur l'axe YY') et le taux d'inhibition $I (\%) = ((D - D')/D) \times 100$ où (D = Diamètre de croissance mycélienne de *P. katsurae* sur milieu sans H_3PO_3 ; D' = Diamètre de croissance mycélienne de *P. katsurae* sur milieu avec H_3PO_3).

Analyse statistique

Le logiciel Statistica 7.1 a permis d'effectuer la totalité des analyses de variance. Le test de Student Newman et Keuls au seuil de 5% de probabilité a permis de classer les différentes moyennes obtenues.

RESULTATS

Effet des différentes concentrations d'acide phosphoreux sur la croissance mycélienne des souches de *Phytophthora katsurae* :

Observation macroscopique des souches

Toutes les souches ont un aspect laiteux. Les filaments mycéliens sont plus clairs autour du front de croissance avec un contour régulier. Après 7 jours d'incubation sur les milieux témoins, les souches ont occupé 73 à 80% de la surface des boîtes de Pétri. Sur le milieu contenant de l'acide

phosphoreux, les colonies ont occupé entre 20% et 50% de la surface des boîtes.

Observations microscopiques des souches

Sur les milieux témoins, les filaments mycéliens de toutes les souches sont fins avec des extrémités allongées (Figure 2A). Dans ces différents milieux, une faible densité de sporocystes a été observée.

Sur les cultures de *P. katsurae* contenant 50 µg/ml d'acide, les filaments mycéliens de toutes les souches sont épais, déformés, renflés et leurs extrémités raccourcies (Figure 2B et 2C). De même, on observe une faible présence de sporocystes.

Activité fongitoxique ou fongistatique de l'acide phosphoreux sur les différentes souches

Sur le milieu témoin, après 7 jours d'incubation, la souche de Fresco a fourni un diamètre moyen de croissance de $7,715 \pm 0,072$ cm. Sur les autres milieux contenant les concentrations allant de 15 à 50 µg/ml d'acide phosphoreux, le diamètre moyen des colonies a été décroissant et a varié entre $4,14 \pm 0,191$ et $2,75 \pm 0,4$ cm (Figure 3). De même, la souche d'Assinie a eu une croissance mycélienne de $7,06 \pm 0,091$ cm sur le milieu témoin et sur les milieux, contenant 15 à 50 µg/ml d'acide phosphoreux, la croissance mycélienne a chuté de $3,89 \pm 0,054$ à $1,79 \pm 0,31$ cm (Figure 3). Quant à la souche de Samo, la même croissance a été obtenue au niveau du témoin que celle d'Assinie ; par contre, sur les milieux contenant les concentrations d'acide de 15 à 50 µg/ml, elle a diminué de $3,94 \pm 0,25$ à $2,19 \pm 0,129$ cm et différente de celle d'Assinie (Figure 3). La souche de Marc Delorme a eu $6,53 \pm 0,31$ cm de diamètre sur milieu témoin et sur les milieux avec des concentrations d'acide allant de 15 à 50 µg/ml d'acide, ce diamètre a été faible ($4,15 \pm 0,03$ à $2,43 \pm 0,42$ cm) (Figure 3).

L'effet entre les différentes concentrations pour chaque souche testée a été significatif ($P=0,000$). De même, les souches ont réagi différemment ($P=0,000$) à l'action de l'acide phosphoreux, ce qui a permis de constituer quatre groupes. Le premier a été formé par la souche d'Assinie. Le deuxième

groupe a été composé de celle de Samo. Le troisième et le quatrième groupe ont été formés par celles venant de Marc Delorme et de Fresco.

Taux d'inhibition

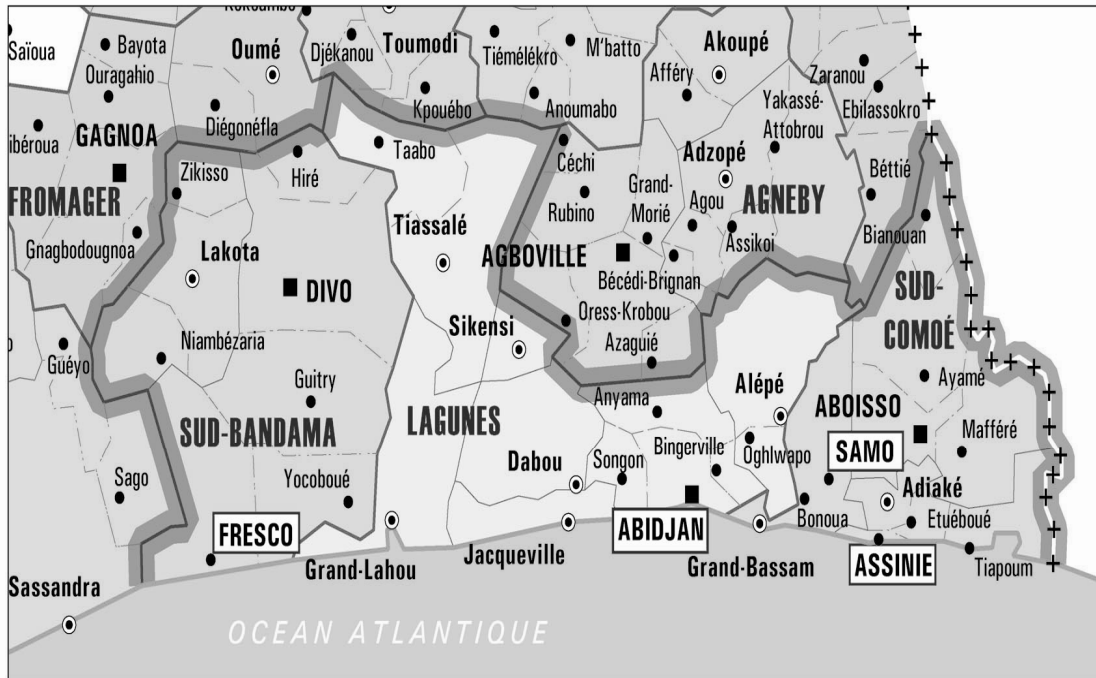
Les taux d'inhibition ont varié de 46,34 à 64,35% pour la souche Fresco. Pour la souche d'Assinie, ils ont été de 44,9 à 74,64%. Ces taux ont varié respectivement de 44,31 à 69,04% et de 36,45 à 62,79% pour les souches de Samo et de Marc Delorme (Figure 4). Dans l'ensemble, les concentrations de 15 à 50 µg/ml donnent des taux moyens d'inhibition qui varient entre 42,97 et 67,64%.

Quelle que soit la souche, ces taux d'inhibition sont significativement différents ($P=0,000$). Deux groupes ont été formés. Le premier, les souches d'Assinie, Samo et Fresco qui se distinguent par des taux variant de 44,31 à 74,64%. Le second, celui de Marc Delorme a été caractérisé par un taux de 36,33 à 62,6%. Aussi, l'interaction souche et concentration a été hautement significative ($P=0,000$).

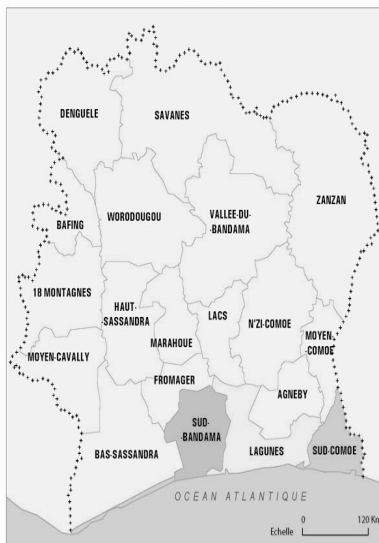
Niveau de redéveloppement *in vitro* des souches de *Phytophthora katsurae* après culture sur milieu amendé avec de l'acide Phosphoreux

La souche de Marc Delorme, à la première étape a eu un taux d'inhibition de $45,63 \pm 2,5\%$. Aux étapes 3 et 5, ces taux ont été respectivement de $78,03 \pm 6,05\%$ et de $77,74 \pm 1,52\%$. Pour la souche d'Assinie, le taux d'inhibition a été de $46,57 \pm 1,7\%$ à la première étape alors qu'aux étapes 3 et 5, ils ont été respectivement de $81,78 \pm 3,9\%$ et de $78,92 \pm 5,07\%$. La souche de Samo a enregistré un taux d'inhibition de $41,84 \pm 3,2\%$ à la première étape alors qu'aux étapes 3 et 5, ces taux ont été de $72,34 \pm 7,52\%$ et de $75,37 \pm 2,12\%$. Celle de Fresco, a enregistré un taux de $41,53 \pm 3,54\%$ à la première étape et aux étapes 3 et 5 où il a été noté des taux de $69,76 \pm 10,39\%$ et de $72,12 \pm 11,46\%$ (Figure 5). Entre les étapes 1, 3 et 5, l'analyse de variance est significative ($P=0,00$).

Deux groupes homogènes ont été constitués. Le premier groupe a été formé par l'étape 1 avec la concentration de 15µg/ml, et



PLAN DE SITUATION



LEGENDE

- Chef-lieu de Région
- Chef-lieu de Département
- Chef-lieu de Sous-préfecture
- SAMO** Zone de prélèvement

Echelle



Rédigé par le BNETD/CCT, juin 2010

Figure 1: Origine géographique des différentes souches de *Phytophthora katsurae*.

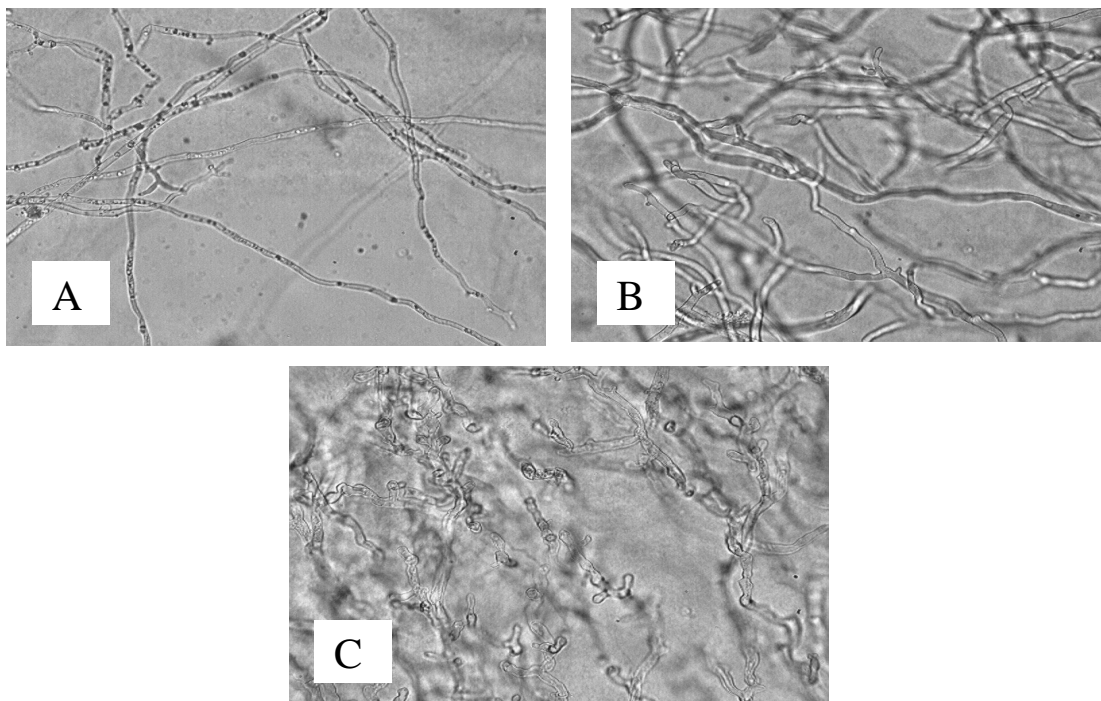


Figure 2: Mycélium d'une souche de *Phytophthora katsurae* (Assinie) sur milieu Ribeiro sans acide phosphoreux (A) et sur milieu Ribeiro avec 50 µg/ml d'acide phosphoreux (B, C) après 7 jours de croissance (G X 50).

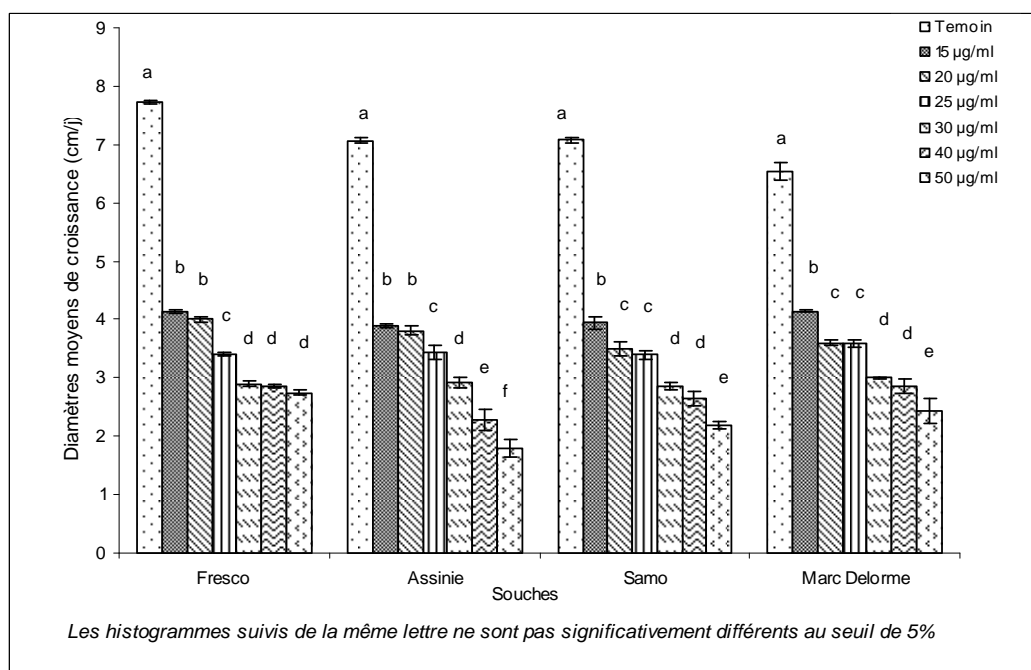


Figure 3: Diamètre moyen de colonies de 4 souches de *P. katsurae* en fonction des concentrations de l'acide phosphoreux.

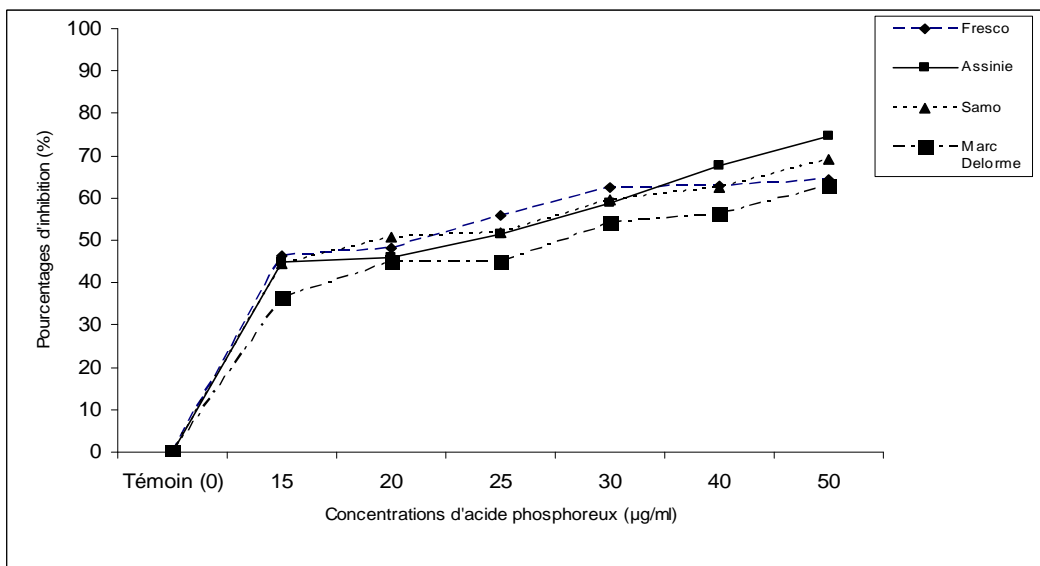


Figure 4: Evolution du taux d'inhibition de la croissance de 4 souches de *P. katsurae* en fonction de la concentration de l'acide phosphoreux.

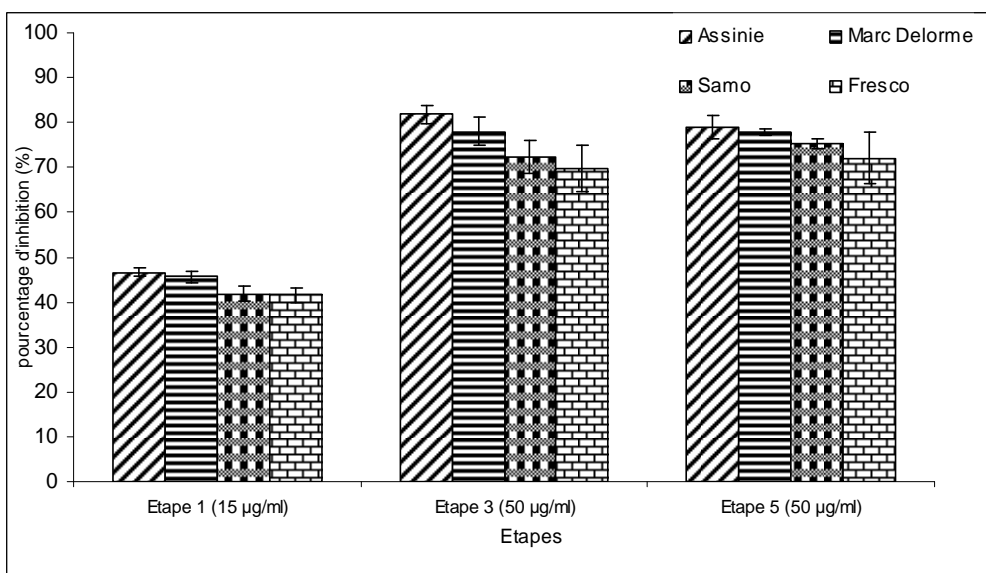


Figure 5 : Evolution des taux d'inhibition après contact avec les différentes concentrations d'acide phosphoreux.

le second les étapes 3 et 5 avec les concentrations de 50 µg/ml.

Sur les milieux sans acide (étapes 2 et 4), les colonies mycéliennes de toutes les souches inhibées par les différentes concentrations des étapes 1, 3 et 5 ont occupé plus de 50% de la surface des boîtes de Pétri.

DISCUSSION

L'acide phosphoreux a été utilisé sur quatre souches de *Phytophthora katsurae* provenant de différentes zones de cultures du cocotier en Côte d'Ivoire.

Les souches éprouvées ont eu une sensibilité variable au fongicide. Parmi elles,

les souches d'Assinie et de Samo ont été les plus sensibles à l'action de l'acide contrairement aux souches de Marc Delorme et Fresco. Cela pourrait s'expliquer d'une part par leur origine géographique. En effet, les souches d'Assinie et Samo provenant de la même zone géographique pourraient être génétiquement proches. Les souches de Marc Delorme et de Fresco viennent de zones agroécologiques distantes d'environ 250 km. Ce résultat est en accord avec les travaux de Coffey et Bower (1984) qui ont utilisé des souches de *Phytophthora* provenant d'Afrique, d'Asie et de d'Amérique du Sud, Bashan et al. (1990) et Wong (2006) des souches de provenances diverses d'Australie. Ceux-ci ont montré que la provenance géographique est l'un des facteurs dans la sensibilité des espèces de *Phytophthora* à l'acide Phosphoreux. Par ailleurs, Griffith et al. (1989a) ont montré que cet acide produit des ions phosphites (HPO_3^{-2}), lesquels ions sont absorbés par les espèces de *Phytophthora* en fonction de la concentration en phosphate inorganique (Pi) du milieu. Wong (2006) a montré que les concentrations de 0,1 mM à 10 mM de phosphate dans le milieu Ribéiro, favorise une croissance normale des espèces de *Phytophthora*. La concentration de 10 mM de phosphate n'influencerait donc pas la consommation des ions phosphites. Les souches absorberaient donc différemment les ions phosphites. Les souches d'Assinie et de Samo utiliseraient beaucoup plus facilement ces ions, d'où leur sensibilité élevée à l'acide phosphoreux contrairement aux souches de Marc Delorme et de Fresco. Aussi, Griffith et al. (1989b) ont montré que les espèces de *Phytophthora* consomment différemment les phosphites via deux voies appelées « lower affinity system » et « higher affinity system » qui dépendent toutes deux de la concentration de Phosphate dans le milieu. L'interaction entre les souches et les différentes concentrations a été positive. Ce qui montre que la croissance du champignon est beaucoup influencée par la quantité d'acide

dans le milieu. Ceci expliquerait l'évolution en sens inverse de la croissance du champignon et de la concentration d'acide dans le milieu. Cependant, en inhibant la croissance, l'acide ne détruit pas le champignon. Les travaux ont révélé que les souches de *P. katsurae*, après avoir été en contact avec des concentrations d'acide phosphoreux, sont inhibées à plus de 80%. Cependant, elles se redéveloppent normalement lorsqu'elles sont remises sur milieux témoins. Ces observations pourraient s'expliquer par le fait que les différentes souches retrouveraient leurs différentes fonctions physiologiques en l'absence de l'acide phosphoreux. Ce qui confirme les travaux de Wong (2006) et King (2007) qui ont montré, sur le même milieu Ribeiro modifié, que l'acide phosphoreux réduisait fortement la croissance mycélienne des espèces de *Phytophthora* en distordant les mycéliums et en réduisant la production de sporocystes. Les concentrations utilisées au cours de cette étude auraient une action fongistatique sur *Phytophthora katsurae*. Cependant, lorsque les concentrations atteignent 100 µg/ml (résultats non publiés) l'acide phosphoreux entraîne une inhibition totale de la croissance mycélienne de toutes les souches, d'où une activité fongitoxique sur *Phytophthora katsurae*. Ces observations sont intéressantes pour l'étude de la rémanence de l'acide phosphoreux. En effet, Allou et de Franqueville (2001) ont montré que l'acide phosphoreux avait une action immédiate sur *Phytophthora katsurae* qui persiste au-delà de 12 mois. Cependant, si son effet s'estompait, le champignon, dans des conditions optimales de croissance, serait de nouveau capable de causer d'importants dommages aux cultures cocotiers. La connaissance de la durée de son efficacité permettrait donc aux paysans de prédire et de programmer les périodes de traitement. Ce qui permettrait d'éviter les observations faites par Brown (2004) et Dobrowolski et al. (2008) qui ont noté que dans les champs, une longue utilisation des

phosphites provoque une baisse d'efficacité sur les pathogènes.

Le milieu Ribeiro modifié utilisé au cours de nos travaux a été préparé sans du β -sitostérol. Yao et al. (2010) ont montré que cette hormone ne stimule pas la croissance mycélienne des souches, mais plutôt la production précoce des sporocystes.

L'acide aurait donc agité sur les filaments mycéliens en les détruisant. Les observations microscopiques effectuées ont montré qu'il s'agit du contenu cytoplasmique des mycéliums après la lyse de ces derniers. Ce qui est en accord avec les travaux de Deepa et al. (2002), qui ont noté que l'acide phosphoreux exerce plusieurs activités biologiques sur *Phytophthora* en modifiant la composition structurale de la paroi cellulaire et les activités métaboliques.

Pour pénétrer la paroi végétale, le champignon utilise des mécanismes actifs de destruction. Yao et al. (2009) ont mis en évidence la production d'enzymes hydrolytiques (laccase et pectate lyase) chez les souches de *Phytophthora katsurae* pour pénétrer l'hôte. Or, les travaux réalisés au champ, ont montré que l'acide persiste un long moment sous forme de résidus dans les plantes (Malusa et Tosi, 2005). L'évaluation *in vitro* des relations hôtes-parasites sur le cocotier s'avère donc nécessaire pour déterminer le rôle joué par l'acide sur l'agent pathogène.

Conclusion

Les essais menés avaient pour objectif d'évaluer l'action de l'acide phosphoreux sur le champignon *Phytophthora katsurae* provenant de différentes régions de la Côte d'Ivoire. Une variabilité de réponse des différentes souches utilisées a été notée. Les souches d'Assinie et de Samo qui proviennent de la même région ont le même comportement et sont très sensibles à l'acide contrairement aux souches de Marc Delorme et Fresco qui proviennent de régions très distinctes. Les filaments mycéliens, inhibés à plus de 80%

sur le milieu Ribeiro contenant de l'acide phosphoreux retrouvent un développement normal lorsqu'ils sont remis sur milieu sans acide. Cette étude montre que l'acide phosphoreux en fonction des concentrations utilisées entraîne soit une activité fongistatique, soit une activité fongitoxique. L'évaluation *in vitro* des relations hôte-parasite en présence de l'acide phosphoreux s'avère donc nécessaire pour approfondir les connaissances sur les mécanismes de défense du cocotier.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Dr Blessoué Herman (Laboratoire National de la Santé Publique) et Mr Essis Brice pour l'aide appréciable apportée tout le long de ce travail.

REFERENCES

- Allou K. 1992. Comportement des noix de coco de différentes variétés vis-à-vis du *Phytophthora katsurae*. Diplôme d'Etude Approfondie, Université d'Abidjan, Côte d'Ivoire, p.62.
- Allou K, de Franqueville H. 2001. Efficacité comparée du phosétyl-Al et de l'acide phosphoreux dans la lutte contre *Phytophthora katsurae* du cocotier. *Agronomie Africaine*, **13** (3): 95-139.
- Allou K, Bourdeix R, Ake S, Konan JL, Zakra N. 2002. *Phytophthora katsurae* (Pythiaceae) du cocotier en Côte d'Ivoire : Tolérance variétales de 53 hybrides et données épidémiologiques de base. *Agronomie Africaine*, **14**(2): 99-115.
- Amrizal I. 2003. Coconut statistical yearbook. Asian and Pacific Coconut Community. Jakarta, Indonesia, p.192.
- Assa RR, Konan JL, Nemlin J, Prades A, Agbo N, Sie R. 2006. Diagnostic de la cocoteraie paysanne du littoral ivoirien. *Sciences et Nature*, **3**(2): 113-120.
- Bashan B, Levy Y, Cohen Y. 1990. Variation in sensitivity of *Phytophthora infestans* to fosetyl-Al. *Plant Pathology*, **39**: 134-140.

- Blizoua-Bi P. 1985. Dosage biologique du Phoséthyl-Al et de l'acide phosphoreux: Application au couple *Cocos nucifera*- *Phytophthora heveae*. Diplôme d'Etude Approfondies de Phytopathologie, Université Paris 6, France, p.10.
- Brown AJ. 2004. Insensitivity to the fungicide Fosetyl-Aluminium in California isolates of the lettuce Downy Mildew pathogen, *Bremia lactucae*. *Plant Disease*, **88**: 502-508.
- Bujung CALD. 1990. Comportement des noix de coco de différentes variétés vis-à-vis du *Phytophthora heveae*. Diplôme d'Agronomie Tropicale. Ecole Supérieure d'Agronomie Tropicale (ESAT), France, p.81.
- Coffey MD, Bower LA. 1984. *In vitro* variability among isolates of eight *Phytophthora* Species in response to phosphorous acid. *Phytopathology*, **74**(6): 738-742.
- de Franqueville H, Renard JL. 1989. Intérêt du Phoséthyl-Al dans la lutte contre le *Phytophthora* du cocotier, modalité d'application. *Oléagineux*, **44**(7): 351-358.
- de Franqueville H, de Taffin G, Sangare A, Le Saint JP, Pommier M, Renard JL. 1989. Mise en évidence de caractères de tolérance au *Phytophthora heveae* chez le cocotier en Côte d'Ivoire. *Oléagineux*, **44**(2): 75-84.
- Deepa KV, Athikkattuvalasu S K, Paino DM, Kashchandra GR. 2002. Phosphite, an analog of Phosphate, Suppresses the Coordinated Expression of Genes under Phosphate Starvation. *Plant Physiology*, **129**: 1232-1240.
- Dobrowolski MP, Shearer BL, Colquhoun IJ, O'Brien PA, Hardy GESTJ. 2008. Selection for decreased sensitivity to phosphate in *Phytophthora cinnamomi* with prolonged use of fungicide. *Plant Pathology*, **57**: 928-936.
- Fremond Y, Ziller R, de Nuce de Lamothe M. 1966. *Le Cocotier*. G.P. Maisonneuve et Larousse : Paris, France; 267.
- Griffith JM, Smillie RH, Niere JO, Grant BR. 1989a. Effect of phosphate on the toxicity of phosphite in *Phytophthora palmivora*. *Arch Microbiol*, **152**: 425-429.
- Griffith JM, Akins LA, Grant BR. 1989b. Properties of the phosphate and phosphate transport systems of *Phytophthora palmivora*. *Arch Microbiol*, **152**: 430-436.
- King M. 2007. The phosphite responsive transcriptome of *Phytophthora cinnamomi*. PhD Thesis, Murdoch University, Australia, p.180.
- Konan JL. 2006. Le programme cocotier : Pilier du développement de la filière cocotier. Atelier bilan des programmes de recherches, CNRA DREG, Abidjan, Côte d'Ivoire, p.2.
- Malusa E, Tosi L. 2005. Phosphorous acid residues in apples after foliar fertilization: Results of field trials. *Food Additives and Contaminants*, **22**(6): 541-548.
- Mario CM, Ismael TT, Noemi MV. 2007. Resistencia a *Phytophthora infestans* Mont de Bary de variedades de papas phurejas (*Solanum phureja* Juzepczuk and Bukasov) y de especies de papas silvestres, La Paz, Bolivia. *Plant Genetic Resources Newsletter*, **151**: 43-48.
- Martin H, Grant RB, Stehmann C. 1998. Inhibition of Inorganic Pyrophosphatase by phosphonate- A site of action in *Phytophthora* spp.? *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **61**: 66-77.
- Meng J, Wang Y. 2010. Rapid detection of *Phytophthora nicotianae* in infected tobacco tissues and soil samples based on its *Ypt1* gene. *J. Phytopathol.*, **158**: 1-7.
- Pohé J, Dongo BK, N'goran N. 2003. Effectiveness of fosetyl-aluminium for the control of immature nutfall of coconut tree due to *Phytophthora katsurae*

- (Pythiaceae). *Agronomie Africaine*, **15**(3): 122-133.
- Thévenin JM, Motulo HFJ, Kharie S, Renard JL. 1995. Lutte chimique contre la pourriture du cœur à *Phytophthora* du cocotier en Indonésie. *Plantations, Recherche, Développement*, **2**(6): 41-50.
- Van der Vossen HAM, Chipungahelo GSE. 2007. *Cocos nucifera* L. In *PROTA 14: Vegetable oils/Oléagineux*, Van der Vossen HAM, Mkamilo GS (eds). [CD-Rom]. PROTA: Wageningen, Pays-Bas.
- Wong MH. 2006. Phosphite induces morphological and molecular changes in *Phytophthora* species. Master of Philosophy Thesis, Murdoch University, Australia, p.129.
- Yao N, N'goran B, Allou K, Dogbo O, Konan KJL, Kouassi P. 2009. Comportement différentiel en pathogénéicité et en activités enzymatiques des souches de *Phytophthora katsurae* du cocotier en Côte d'Ivoire. *J. appl. Biosci.*, **21**: 1246-1257.
- Yao ANR, N'goran B, Allou K, Konan KJL, Kouassi P. 2010. Growth characteristics of *Phytophthora katsurae* isolates from four coconut tree growing areas in Ivory Coast. *European Journal of Scientific Research*, **41**(1): 162-171.