

UN APPAREIL SIMPLE POUR ÉTUDIER
LA PROJECTION DES ASCOSPORES DE LA TAVELURE
DANS LES CONDITIONS NATURELLES

PAR

A. VUITTENEZ

I. — INTRODUCTION. — Les Tavelures du Pommier et du Poirier sont causées par deux Sphériacées voisines, *Venturia inæqualis* COOKE agent de la Tavelure du Pommier, *Venturia pirina* ADERHOLD agent de la Tavelure du Poirier, espèces distinctes morphologiquement mais ayant une biologie très semblable.

Suivant les régions cette biologie peut présenter quelques variations. Ainsi l'importance relative des périthèces et des conidies de rameaux pour la conservation hivernale du parasite dépend largement des conditions locales, facteurs climatiques ou méthodes culturales.

Dans le Bassin parisien les observations réalisées au cours de deux années d'essais de traitements à la Station Centrale de Pathologie Végétale à Versailles ont montré avec évidence le rôle considérable de la forme parfaite dans les contaminations primaires. *Pour les Pommiers et les Poiriers soumis à la taille d'hiver classique pratiquée dans la plupart des vergers de Seine-et-Oise, les germes qui déclanchent les contaminations primaires sont presque exclusivement les ascospores projetées pendant les pluies printanières, par des périthèces innombrables.*

Dans ces conditions on voit qu'il est facile de déterminer la date et l'importance des contaminations en suivant simplement la projection des ascospores dans les conditions naturelles au verger.

II. — DISPOSITIFS CLASSIQUES POUR L'ÉTUDE DES PROJECTIONS. — Les méthodes proposées jusqu'à présent pour recueillir les ascospores au fur et à mesure de leur libération peuvent être classées en deux catégories : les méthodes par capture au moyen de substances adhésives, et les méthodes par filtration.

Il est nécessaire de rappeler tout d'abord brièvement l'une des plus utilisées connue sous le nom de « Méthode des planches », appartenant au premier type. Dans le verger une trentaine de feuilles mortes tavelées sont alignées sur des planches et fixées bien à plat au moyen de deux lattes parallèles. Lorsque les périthèces sont mûrs on place au-dessus de chaque feuille, une lame porte-objet ordinaire dont la face inférieure est enduite de vaseline. Les ascospores projetées pendant les pluies se collent à la vaseline; en observant chaque jour les lames au microscope il est possible de compter ces ascospores et d'établir un graphique des projections au cours d'une saison.

Cette méthode qui a l'avantage de la simplicité donne malheureusement, à notre avis, une idée imparfaite des projections réelles dans le verger; en effet les ascospores recueillies proviennent de feuilles choisies généralement parmi les plus tavelées et peu nombreuses, sinon l'examen des lames deviendrait un travail considérable; en outre ces feuilles se trouvent dans des conditions spéciales car la pluie ne les frappe pas directement.

Les méthodes par filtration, appliquées à l'étude biologique de la Tavelure pour la première fois par KEITT permettent au contraire d'opérer strictement dans les conditions naturelles, en déterminant globalement la quantité d'ascospores contenue dans l'air du verger. La méthode primitive imaginée par PASTEUR (Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère) consiste à aspirer l'air à travers un tampon de coton-poudre qui retient les particules solides, poussières et microorganismes. Ces derniers peuvent être observés en dissolvant le filtre à l'aide d'un mélange alcool-éther. Dans la méthode de KEITT, les filtres de nitrocellulose sont placés dans des godets à fond plat en verre et dissous par le mélange alcool-éther. Après une agitation suffisante on laisse évaporer le solvant de façon à obtenir sur le fond des godets une mince plaque de collodion transparent qui contient les ascospores et les poussières capturées. On peut évaluer l'intensité des projections en plaçant les godets sous le microscope et en comptant les ascospores dans vingt-cinq champs environ.

Cette méthode a le grand mérite de fournir une mesure exacte de la quantité de germes qui circulent réellement dans le verger. Malheureusement après l'avoir utilisée au début de la saison nous l'avons abandonnée à cause de la longueur des manipulations qu'elle exige. En employant une nitrocellulose convenable (1) la

(1) Plusieurs échantillons de nitrocellulose ont été mis obligeamment à la disposition de la Station par M. le Chef du Service des Poudres. Nous l'en remercions vivement.

dissolution du filtre est relativement aisée mais elle nécessite néanmoins près de 10 cm³ de mélange alcool-éther; il faut agiter pendant 5 à 10 minutes, puis laisser évaporer de sorte que la numération d'un seul essai de filtration demande au moins 1/2 heure. Il était donc naturel de chercher une méthode qui supprime les manipulations intermédiaires.

III. — MÉTHODE PROPOSÉE. — Une méthode de capture rapide et sensible a été mise au point en utilisant un dispositif expérimental très simple : Comme dans la méthode de KEITT l'air chargé d'ascospores est aspiré à l'aide d'une pompe à vide, mais au lieu de traverser un filtre il est dirigé en un mince filet sur une lame de verre enduite d'une substance collante.

L'appareil (fig. 1) facile à réaliser se compose d'un vase à vide de Kitasato dont l'orifice supérieur est fermé par un bouchon de caoutchouc traversé par un tube vertical en verre (diamètre 12 mm). Ce dernier se termine à l'intérieur par une partie plus effilée (diamètre 2 mm) dont l'orifice est disposé au-dessus d'une petite lame carrée en verre (lame ordinaire coupée en trois) portant en son centre une goutte de milieu nutritif gélosé; la distance entre l'orifice et la lame doit être d'environ 5 mm.

Par l'intermédiaire de tubes de caoutchouc l'orifice supérieur du tube est relié à un entonnoir en verre (entonnoir d'aspiration) et le tube latéral du Kitasato à une trompe à eau du type couramment utilisé dans les laboratoires. Ainsi monté l'appareil est prêt à fonctionner au moment de la projection des ascospores dans le verger (fig. 2), à la seule condition de posséder dans celui-ci une distribution d'eau. On dispose l'entonnoir d'aspiration face à la direction du vent, horizontalement sur le sol — par exemple sous un arbre où les feuilles mortes sont restées en place — puis on met la trompe en action. L'air aspiré dans l'entonnoir sort par l'effilure du tube vertical, frappe la lame gélosée, où il abandonne les particules solides contenues en suspension — puis ressort par le tube latéral du Kitasato et s'élimine avec l'eau de la trompe.

Après un temps donné de fonctionnement (10 minutes à 2 heures dans les expériences) on débouche l'appareil et on change la lame avec des pinces sans arrêter la trompe. Les particules solides retenues par la gélose forment au centre de la lame une tache circulaire d'environ 2 mm de diamètre. En posant la lame carrée sur une lame ordinaire, fixée au chariot d'un microscope, on peut procéder immédiatement à la numération des ascospores capturées, sans même couvrir d'une lamelle. A l'objectif numéro 5 on repère très facilement les ascospores caractéristiques de *Venturia pirina* ou de *Venturia inaequalis*. On constate d'ailleurs que pendant les pluies l'atmosphère est débarrassée des poussières banales

et la tache, de couleur vert olive, est constituée uniquement par des ascospores.

Malgré l'abondance parfois considérable des spores recueillies (9.600 en une heure le 5 avril 1948), leur numération approchée est néanmoins très rapide car elles se répartissent alors d'une façon sensiblement homogène sur toute la tache. Il suffit de mesurer la surface de celle-ci en nombre de champs et de compter les

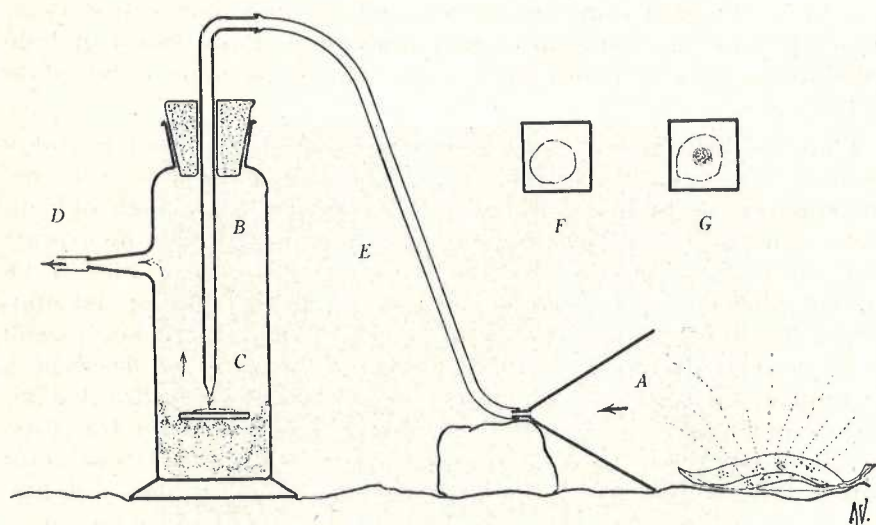


FIG. 1. — SCHÉMA DE L'APPAREIL

A. Entonnoir d'aspiration. — B. Tube de verre effilé. — C. Lame. — D. Tube latéral relié à la trompe. — E. Tube de caoutchouc. — F. Lame couverte d'une goutte de milieu adhésif. — G. Lame sortant de l'appareil (au centre : tache formée par les particules capturées).

spores dans deux ou trois d'entre eux. L'opération est facilitée par l'emploi d'un oculaire à réticule quadrillé. La mesure du débit de l'appareil ayant été déterminée une fois pour toutes à l'aide d'un compteur à gaz, dans une expérience spéciale, on peut calculer la teneur moyenne absolue en ascospores de l'air aspiré.

La méthode que nous venons de décrire présente donc de grands avantages et constitue un progrès sur les méthodes antérieures :

1° Tout en permettant, comme la méthode de KEITT d'apprécier la quantité réelle d'ascospores projetées au cours d'une pluie (air aspiré au niveau du sol) ainsi que le « vol » de ces ascospores dans le verger (air aspiré à différentes hauteurs) elle ne demande

pas un appareillage coûteux et ne nécessite aucune manipulation intermédiaire.

2° La concentration sur une faible surface des spores contenues dans un grand volume d'air rend la méthode particulièrement sensible. Aucune ascospore capturée ne peut passer inaperçue; il n'en est pas de même dans les méthodes par filtration.

3° La rapidité de la numération des ascospores permet de changer la lame un grand nombre de fois, à intervalles de temps réguliers. On peut donc suivre avec précision la projection et la dissémination des ascospores non seulement d'une façon globale pendant la période printanière, mais encore au cours d'une pluie déterminée.

L'appareil lui-même avant d'être d'emploi tout à fait pratique réclamerait cependant plusieurs perfectionnements. En effet avec un appareil vertical, le changement de lames est un peu délicat. Cette opération doit être cependant effectuée fréquemment surtout en période de très forte éjection car le milieu adhésif ne retient plus les spores lorsque la surface de la tache en est couverte, de même qu'un attrape-mouches devient inefficace quand il est couvert de mouches. En outre le milieu gélosé se dessèche à la longue; on peut remédier à cet inconvénient en utilisant d'autres milieux adhésifs, la gélose restant intéressante toutefois lorsqu'on veut éprouver la vitalité des spores capturées. Cependant une difficulté persiste toujours dans un dispositif non automatique : la nécessité de surveiller l'appareil et de changer les lames à heures fixes.

IV. — ETUDE DES PROJECTIONS A VERSAILLES. — Ce dispositif primitif a permis néanmoins d'étudier dès cette année à Versailles la projection des ascospores de *Venturia pirina*, et de construire un graphique représentatif de la teneur en ascospores de l'air du verger pendant la période du 31 mars au 17 avril 1948.

Celui-ci est dans l'ensemble comparable aux graphiques établis à l'aide d'autres méthodes par les auteurs étrangers. On vérifie bien, en particulier, que les projections massives d'ascospores ont lieu pendant les périodes pluvieuses, les averses violentes même de courtes durée étant particulièrement favorables.

Cette année les projections les plus intenses ont été enregistrées au cours des pluies des 5 et 17 avril; le nombre d'ascospores capturées à 15 cm du sol atteignait alors respectivement les maxima de 9.600 et de 8.000 à l'heure, soit environ 25 et 20 ascospores par litre d'air, (débit moyen de la trompe d'aspiration 384 litres à l'heure). Ces chiffres sont supérieurs à ceux qui ont été

obtenus à l'aide de la méthode de filtration par KEITT et JONES dans le Wisconsin (289 ascospores par pied-cube soit un peu plus de 10 par litre) et par WIESMANN en Suisse alémanique (11 ascospores par litre). Toutefois ces auteurs prélevaient l'air non au niveau du sol mais à une hauteur d'un mètre environ.

Après la pluie la teneur de l'air en ascospores diminue rapidement; néanmoins on constate qu'elle ne s'annule pas. Des ascospores ont été capturées en quantité non négligeable plusieurs jours après la pluie (tableau A.).

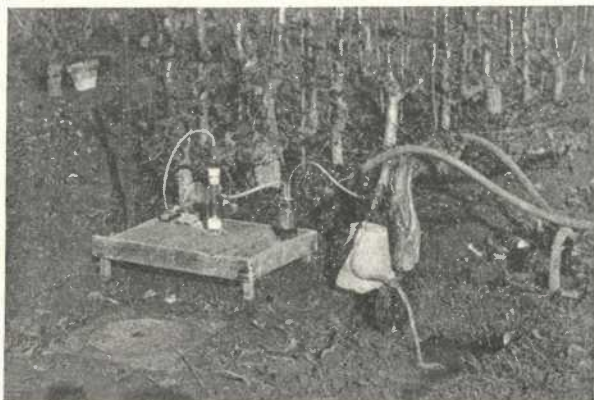


FIG. 2. — APPAREIL EN MARCHÉ DANS LE VERGER

Ces captures inattendues en l'absence de précipitations atmosphériques peuvent être interprétées différemment : ou bien les ascospores recueillies sont restées en suspension dans l'air depuis la dernière pluie grâce aux courants de convection, ou bien elles ont été libérées pendant la période non pluvieuse. Ce dernier phénomène n'a pas été démontré jusqu'ici dans le cas de la Tavelure; pourtant l'humidité du sol et surtout les fortes rosées, capables de détremper parfois littéralement les feuilles mortes, peuvent vraisemblablement déclencher des projections d'amplitude relativement faible qui passent pour cette raison inaperçues avec les méthodes d'étude usuelles.

Il est intéressant au point de vue théorique comme au point de vue pratique, de connaître la vitalité des spores ainsi capturées en période sèche. Pour cela on place les lames en chambre humide

TABLEAU A

Captures d'ascospores (*Venturia pirina*) et chutes de pluie
Versailles 1948

DATE	PLUIE* Q en mm	ASCO- SPORES** I max.	OBSER- VATIONS	DATE	PLUIE* Q en mm	ASCO- SPORES** I max.	OBSER- VATIONS
1 - IV	1	3.800		9 - IV	0	300	Feuilles humides.
2	9,9	?		10	0	400	
3	1,9	5.000		11	0	?	
4	10	3.600		12	0	200	
5	15,2	9.600		13	0	60	
6	0	600		14	0	50	
7	0,8	?	★ 12 h. après la pluie.	15	0	800	Feuilles humides.
	★	500					
8	2,8	7.200		16	0	200	
				17	18	8.000	

* Q = Quantité de pluie en millimètres.
** I = Quantité maxima d'ascospores recueillie en 1 heure.

à 20°, au sortir de l'appareil, et on observe l'état de germination des ascospores 24 heures plus tard. Plusieurs lots d'ascospores capturées pendant la pluie et 10 jours après, traités par cette méthode, ont fourni des pourcentages de germination du même ordre, soit en moyenne 80 %.

Dans ces expériences préliminaires, les lacunes étaient malheureusement inévitables, en particulier pour les projections ayant lieu la nuit. Il sera possible d'entreprendre une étude complète avec un appareil plus perfectionné, dans lequel l'échange des lames s'effectue automatiquement.

(Station Centrale de Pathologie Végétale
Versailles.)

BIBLIOGRAPHIE

- (1) DARPOUX (H.). — Les Tavelures du Poirier et du Pommier (*Jardins de France*, VII^e série, t. I, n^o 8, pp. 213-226, et n^o 9, pp. 241-250, 1947).
 - (2) VAN DE POL. — Onderzoek naar het beste Tijestip der voorjaars-bespuiting tegen de Appel en Pereschruft (*Tijeschr. Over Planten-Ziekten*, 47^e année, pp. 197-230, 1941).
 - (3) KNOPPIEN (P.) et VLASVELD (W. P. N.). — Vier jaren voor gezet onderzoek over de schurft van appel en peer (Quatre années de recherches sur la Tavelure) (*Tijeschrift over Planten-Ziekten*, 53^e année, pp. 145-180, 1947).
 - (4) KEITT (G. W.) et JONES (L. K.). — Studies of the epidemiology and Control of the Apple Scab (*Univ. of Wisconsin Agric. Exp. St. Res. Bull.*, 73, p. 43, 1926).
 - (5) WIESMANN (R.). — Untersuchungen über die Bedeutung der Ascosporen und der Konidien an den schorfigen Trieben für die Entstehung der Primärinfektionen des Apfelschorfpilzes *Fusicladium dentriticum* (*Landwirt. Jahrb. der Schweiz*, pp. 147-175, 1935).
-