

4

LA FUSARIOSE DU VANILLIER
A MADAGASCAR

par
J.P. TONNIER

2

O.R.S.T.O.M.
INSTITUT DE RECHERCHES
AGRONOMIQUES DE MADAGASCAR

LABORATOIRE DU VANILLIER
IVOLOINA-TAMATAVE

LA FUSARIOSE DU VANILLIER
A MADAGASCAR

par

Jean Pierre TONNIER
Directeur du Laboratoire du Vanillier
TAMATAVE

PLAN DU TRAVAIL

Introduction

Symptômes de la fusariose

Techniques d'isolement et d'étude de la microflore fongique se trouvant dans le sol et dans les racines attaquées.

Identification du parasite

- recherche d'un sol à microflore exempte de *Fusarium*
- test de virulence sur terre de bruyère
- résultat du test de virulence

Les parasites

- *Fusarium bulbigenum* Cke. et Mass. var. *batatas* Wr. forma *Vanillae*. Ses aspects culturels
- *Fusarium oxysporum* Schl. forma *Vanillae*

Lutte contre la fusariose par voie chimique

Recherche de géniteurs résistants à la fusariose
- méthodes normale et rapide

La résistance à la fusariose dans le genre *Vanilla*

Bibliographie.

INTRODUCTION

Les recherches entreprises à l' Ivoloina, en 1957, sur la Fusariose du Vanillier ont été motivées par l'aggravation de la maladie qui, de nos jours, sévit fréquemment sur les jeunes lianes avant même leur entrée en production. Ces recherches avaient pour objectif :

- la détermination du ou des organismes provoquant cette maladie à Madagascar.
- la mise au point d'une méthode de contamination expérimentale permettant de mesurer la résistance des différentes espèces du genre Vanilla et des hybrides issus de leurs croisements.

Le problème de la lutte contre la fusariose par voie chimique ou par création d'une variété non sensible, ne pouvait évidemment être abordé qu'en fonction de ces résultats préliminaires.

Des vanilleries situées à Antalaha et à Andapa, sur alluvions, latérite et sur sable, ont été prospectées méthodiquement avec le Directeur de la Station du Vanillier puis avec le Chef de la Division de Pathologie Végétale; il a été noté que la fusariose n'épargnait aucune liane et que dans les Vanilleries les plus anciennes ou les plus mal entretenues, tous les pieds sans exception mouraient de cette maladie. L'isolément et l'étude de l'agent pathogène ont été effectués à l' Ivoloina sur du matériel végétal provenant de la Station Agronomique.

Des prélèvements analogues ont été effectués dans toutes les zones productrices de la Côte Est et à Nossi-Be; les champignons isolés dans ces régions ont été comparés aux souches témoins de l' Ivoloina au point de vue caractères morphologiques et virulence; il est apparu qu'elles étaient très proches les unes des autres.

En possession du parasite, les inoculations expérimentales sur Vanillier devenaient possibles et deux procédés différents ont été retenus. Ces tests sont maintenant utilisés de façon systématique pour trier le matériel végétal nouveau.

Nous exprimons notre plus vive reconnaissance à Monsieur BARAT, Chef de la Division de Pathologie Végétale; son expérience et ses conseils nous ont été de la plus grande utilité. Nous remercions nos amis DADANT, Phytopathologiste de l'ORSTOM, et THEODOSE, Directeur de la Station d'Antalaha, pour l'aide qu'ils nous ont apportée si souvent. Nous remercions également nos Collaborateurs du Laboratoire sans lesquels nous n'aurions pu mener ce travail à bonne fin.



. Vanilleraie à Antalaha

SYMPTOMES DE LA FUSARIOSE

Il semble que le premier cas de Fusariose du Vanillier ait été observé à la Réunion en 1871 par CONTE et De CORDEMOY; bien que le problème de l'agent pathogène n'ait pas été résolu à cette époque, la description des symptômes, reproduite trente ans plus tard par LECOMTE et DELTEIL, laisse peu de doute à ce sujet. Le premier travail complet sur cette question fut réalisé par TUCKER qui isole le parasite à Porto-Rico en 1927. La maladie était signalée dans cette île depuis une dizaine d'années. Par la suite, ses ravages furent tels, que cette culture dut être abandonnée.

En 1933, BOURIQUET décrit à son tour la fusariose à Madagascar; elle y serait - d'après cet Auteur - fort ancienne.

Nos propres observations ont été consignées ci-dessous : La maladie débute le plus souvent dans la partie souterraine du système racinaire. Elle se traduit par une pourriture molle qui progresse de part et d'autre de la zone d'attaque puis gagne la partie aérienne où elle prend l'aspect d'une nécrose sèche. Cette nécrose remontante peut détruire la racine jusqu'à son point d'insertion sur la tige ou s'arrêter, pour une raison qui n'est pas connue, à un niveau quelconque de la racine atteinte; dans ce cas, le tronçon resté sain émet parfois une racine de remplacement qui part "en baionnette" 2 ou 3cm au dessus de la zone morte. L'attaque se produit également, mais de façon moins fréquente, sur racine aérienne parvenue à proximité du sol. Les racines malades brunissent et se vident de leur contenu; seuls subsistent momentanément les vaisseaux du cylindre central et l'enveloppe externe qui ne se désagrègent que progressivement. Pendant un certain temps, la liane vit sur ses réserves et son allure générale n'est pas sensiblement modifiée. Elle tend à reconstituer son système racinaire par une émission plus ou moins abondante de racines qui tôt ou tard meurent à leur tour. A un stade plus avancé de la maladie, la croissance des bourgeons s'arrête, les tiges se couvrent de sillons longitudinaux, les feuilles pâlisent, perdent leur turgescence et avant de tomber, elles prennent un port pleureur très caractéristique.

Il faut noter ici qu'une forte sécheresse peut provoquer un flétrissement provisoire de l'appareil végétatif aérien.

Ce symptôme - considéré isolément - n'est donc pas caractéristique de la fusariose et le diagnostic de cette maladie doit toujours être fondé sur l'examen du système racinaire. Cependant, on peut observer sur racines aériennes, des nécroses accidentelles provoquées par des gastéropodes, des piqûres d'insectes ou des chocs. Au voisinage de la blessure, les tissus brunissent et se dessèchent, mais ces dégâts sont peu étendus et restent le plus souvent stationnaires; on peut ainsi les distinguer facilement des lésions fusariennes.

La maladie évolue plus ou moins rapidement. Le temps mis par la plante à périr dépend en effet de son développement et de son état physiologique au moment de l'attaque; ces facteurs sont eux-mêmes conditionnés par l'âge de la liane, l'importance de la récolte précédente et le milieu ambiant.

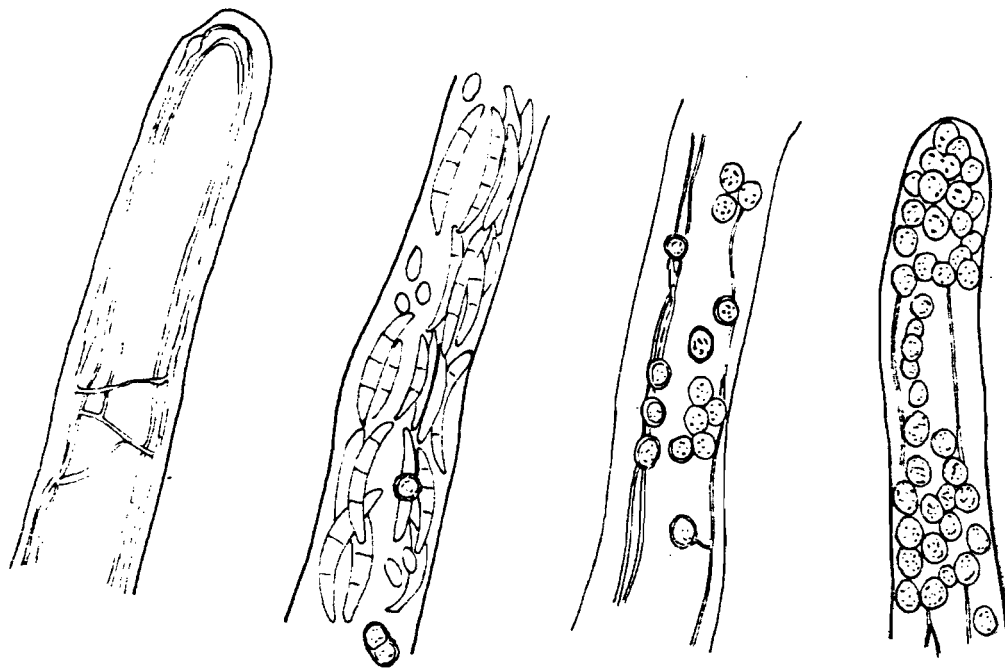
Les Auteurs qui ont étudié cette question avant nous, n'ont jamais observé de guérison durable et ils considèrent que la maladie se termine invariablement par la mort du sujet atteint. Nous ne pouvons que confirmer leur point de vue.

A l'examen microscopique d'une racine souterraine en début d'attaque, on constate que certaines cellules des assises externes sont parcourues en tous sens par un lacis mycélien intracellulaire qui envahit de proche en proche toute l'écorce et le manchon de poils absorbants. Les parenchymes sont progressivement détruits, et la racine, vidée de sa substance, prend un aspect flasque; seuls les vaisseaux ne sont pas envahis. A ce stade on observe la présence constante de bactéries, d'anguilles, d'hyphes et de fructifications du type *Fusarium*.

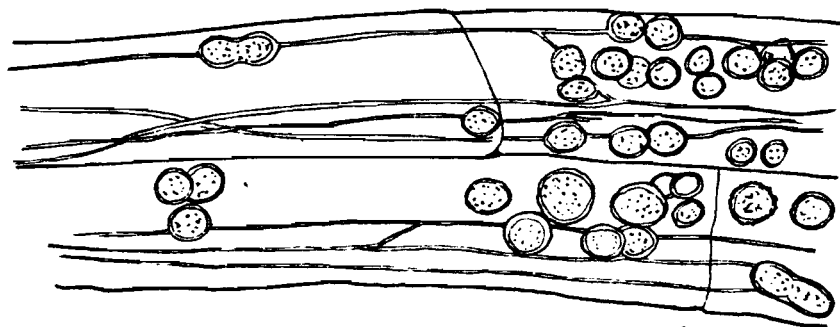
La destruction du système vasculaire et de l'assise subéreuse est plus lente en raison du fort degré de lignification de leurs éléments constitutifs; puis ces derniers éléments se désagrègent à leur tour.

Les racines aériennes ont une évolution similaire: les assises périphériques sont envahies par des *Fusarium* qui y fructifient de façon abondante; à un stade avancé de la maladie, la cavité des poils absorbants est occupée entièrement par des macroconidies puis par des chlamydospores.

Les racines desséchées tombent au sol et ces fragments disséminés par les eaux de pluie constituent autant d'inoculum; il en résulte un ensemencement massif de ces champignons avoisinants du pied malade.



40 μ



Racines de *Vanilla fragrans*

poils absorbants et cellules corticales contenant mycélium et fructification
de *Fusarium*.

(les contaminations naturelles et artificielles donnent des figures analogues)

Après avoir décrit les principaux symptômes de la fusariose, nous examinerons ses conséquences sur le métabolisme de la plante malade. Ce domaine est encore mal connu et à notre connaissance, il n'existe aucun travail de synthèse sur la physiologie du vanillier. Il ne nous a pas été possible jusqu'à présent d'effectuer l'étude détaillée de ce problème pourtant capital; les résultats présentés ici sont très incomplets et ne feront, en conséquence, l'objet d'aucun commentaire; ils concernent exclusivement la composition chimique des lianes en fonction de leur âge, des sols qui les portent et de leur état sanitaire.

Les analyses ont été effectuées sur des séries de feuilles prélevées à des niveaux déterminés sur tiges ne portant ni ramifications, ni inflorescences, ni fructifications.

1-ère série : Lianes saines, âgées de 7 ans, plantées en alluvions; prélèvements effectués du 1-er au 10ème noeud, du 26 au 35ème noeud et du 51 au 60ème noeud (comptage effectué à partir du bourgeon terminal).

2ème série : Lianes saines, âgées de 2, 5, 6 et 7 ans, sur alluvions latéritées et sable; chaque lot est constitué par 15 - 20 feuilles prélevées sur le 15ème noeud.

3ème série : Lianes en début de maladie et très atteintes, âgées de 7 ans, sur alluvions; chaque lot est constitué par 15 - 20 feuilles prélevées sur le 15ème noeud.

Les échantillons furent récoltés sur la Côte Est (Antalaha - Mahanoro) du 30 juillet au 24 Août et analysés à la Station du Lac Alaotra par MM. ROCHE et VELLY.

Les résultats de ce travail sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Sol	Ombrage tuteur	âge liane	Etat sani taire	Etage des feuilles récoltées	Nombre de feuilles récoltées	Poids vert en gr.	N %	P ₂ O ₅ %	K %	Ca %	Mg %
Alluvions	mûrier	17 ans	sain	1 à 10ème	10	1256,79	11,36	10,36	13,21	11,26	10,69
"	"	17 -	"	126 à 35 -	10	1260,16	11,48	10,35	13,21	11,47	10,77
"	"	17 -	"	151 à 60 -	10	1265,51	11,76	10,33	12,94	11,40	10,79
"	"	12 -	"	15ème	15 à 20	184,95	11,40	10,55	13,80	11,45	10,77
"	"	17 -	"	15 -	15 à 20	228,62	11,80	10,44	12,51	11,99	10,56
Latérite	filaos	12 -	"	15 -	15 à 20	188,13	11,68	10,41	12,03	11,33	10,84
"	"	15 -	"	15 -	15 à 20	225,89	11,88	10,40	11,92	11,20	10,80
"	"	17 -	"	15 -	15 à 20	232,36	11,80	10,32	11,60	11,44	10,80
sable	filaos										
	pignon	16 -	"	15 -	30	173,60	12,16	10,38	11,70	11,37	11,54
	d'inde										
Alluvions	mûrier	17	Fusariose								
			début d'a	15 -	15 à 20	225,63	11,40	10,29	13,10	11,47	10,79
			ttaque								
"	"	17 -	Fusariose								
			liane très	15 -	15 à 20	128,85	11,24	10,27	13,21	11,63	10,79
			atteinte								

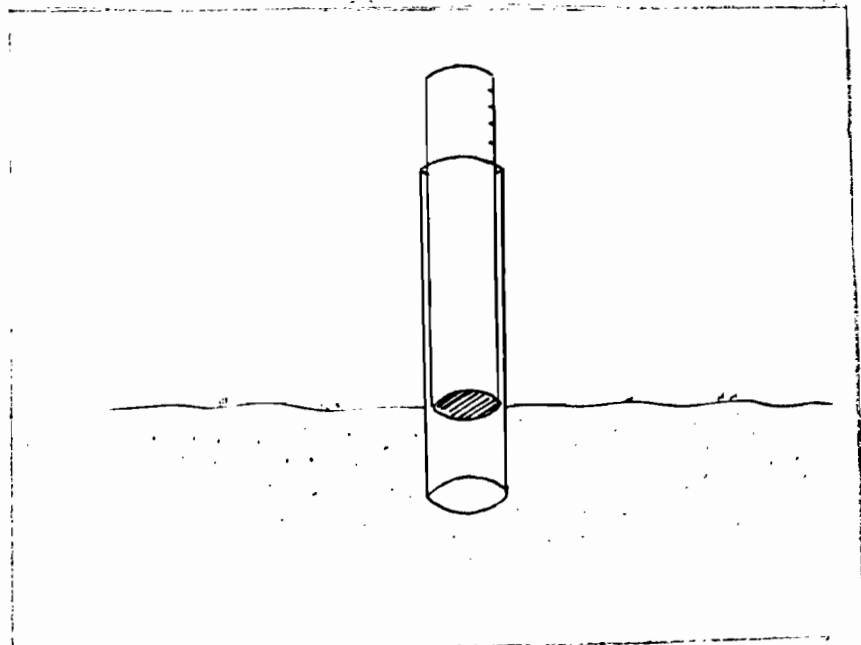
Les résultats sont exprimés en % de matière sèche.

En ce qui concerne les échantillons récoltés sur sable, le taux d'azote assez exceptionnel peut sans doute s'expliquer, par le fait que cette plantation avait été enrichie avec du guano et des pulpes de café.

TECHNIQUES D'ISOLEMENT ET D'ETUDE

A/- Prélèvement et ensemencement des échantillons

- a)- **Organes malades:** les prélèvements furent effectués sur racines souterraines pourrissantes et dans la partie aérienne du système racinaire au niveau des fronts de nécroses remontantes. Les fragments furent désinfectés en surface par trempage dans l'alcool à 50° pendant 30 secondes puis dans une solution aqueuse d'Hg Cl₂ à 2% pendant le même temps. Après rinçage à l'eau stérile, les échantillons furent ensemencés sur farine de maïs gélosé à pH-6.
- b)- **sols:** les prises furent effectuées dans la tranche du sol comprise entre la surface et -13cm. L'horizon -4/5cm, où les lianes adultes ont l'essentiel de leur système racinaire a été particulièrement exploré. Ces prélèvements ont été faits avec une sonde constituée par un tuyau en acier de 15cm de long et de 5cm de diamètre, à rebord inférieur affuté pour faciliter sa pénétration dans le sol; une reglette cylindrique, graduée, de même longueur et de diamètre un peu plus faible coulisse dans le tuyau ce qui permet de connaître avec précision la profondeur à laquelle on opère. La carotte du sol est extraite et l'échantillon définitif est constitué par une prise de 1 cc environ que l'on recueille aseptiquement à la face inférieure de la carotte et en son milieu, avec un tube stérile.



Le fragment récolté de cette manière ne peut être souillé par des miettes de sol déplacées accidentellement pendant le prélèvement.

Ces échantillons, mis en suspension dans un petit volume d'eau stérile furent ensemencés à la pipette sur milieu de Dodge (60gr de maïs complet, moulu, dans 1 litre d'eau). Cette solution nutritive est ajustée à pH 3,5 + 4 par macération pendant 24 heures à 30°, gélosée à 20‰, portée à ébullition pendant 10 minutes et coulée en boîtes de Pétri de 100mm sans stérilisation préalable. Ce milieu se conserve bien, il ne convient pas aux bactéries et les champignons du genre *Fusarium* s'y développent de façon satisfaisante.

B/- Isolément, purification et détermination des souches.

2 à 4 jours après l'ensemencement, les *Fusarium* obtenus sont repiqués sur farine de maïs gélosé pH-6 et l'on procède à leur purification par culture monospore. Les souches sont alors repiquées en tubes de 18x180 sur les milieux d'identification suivants :

- organes végétatifs de *Vanilla Fragrans*
- graines de riz blanc
- tranches de pomme de terre
- tranches de carotte
- tiges de *Crotalaria juncea*
- farine de maïs gélosée pH-6
- pomme de terre glucosée à 2% et gélosée pH 5,8-6
- farine d'avoine gélosée pH 4,6

Les cultures sont conservées en armoire vitrée non chauffée (t° moyenne de Tamatave: 24°C) et observés pendant trois mois.

C/- Examen microscopique

Ils ont été effectués dans l'eau distillée, sans coloration ni chauffage préalable.

IDENTIFICATION DU PARASITE

Les premiers prélèvements de racines malades furent effectués dans la plantation du Laboratoire de l'Ivoloina et chez les Planteurs autochtones de la région - Par la suite, un travail analogue a été réalisé à Andapa et dans les centres secondaires de production.

Dans chacune de ces zones, on a prospecté des Vanille-ries situées sur des sols différents :

- Tamatave : plantations de 3 à 25 ans sur alluvions de rivière et colline latéritique
- Andapa : plantations de 3 à 6 ans sur alluvions, latérite et marais
- Antalaha : plantations de 1 à 22 ans sur alluvions, latérite et sable littoral
- Mahanoro : plantation de 20 ans sur sable littoral
- Sambava : plantations de 2 à 6 ans sur alluvions, colluvions latéritiques et marais.

Sur chaque type de sol, les prélèvements ont été faits, autant que possible, dans les conditions suivantes :

- sur plantation de 2-3 ans: lianes bien entretenues, n'ayant pas encore fructifié; état sanitaire satisfaisant; toutefois, sur certains pieds, il est déjà possible de récolter quelques racines nécrosées.
- sur plantation de 5-6 ans, en rapport, présentant des "taches" de fusariose typiques, plus ou moins étendues.
- sur plantation de plus de 10 ans, mal entretenue ou complètement abandonnée. Nombreux manquants; les symptômes de la fusariose sont visibles sur tous les pieds encore en vie.

Les techniques d'isolément ci-dessus décrites ayant fourni dans chaque cas des *Fusarium* appartenant à des espèces et parfois même des sections différentes, nous nous sommes trouvés dans l'obligation, pour identifier le parasite de trier les souches obtenues, en testant leur pouvoir pathogène.

Le champignon parasite se trouve dans le sol au moment du déclenchement de la maladie puisque celle-ci débute à des rares exceptions près, sur organes souterrains. Il fallait donc repiquer des boutures de *V. Fragrans*, géniteur à priori sensible à cette maladie, dans un sol sain, contaminé au préalable par la souche à étudier.

En outre, le dispositif expérimental devait être à l'abri des gastéropodes, insectes et nématodes, de façon à éliminer toute possibilité de traumatisme ou de blessure accidentelle.

Un sol sain peut être obtenu par stérilisation d'un sol quelconque comme l'a fait TUCKER en 1927 à Porto-Rico dans son travail sur la fusariose du Vanillier. Cette méthode est certainement la plus expéditive; elle présente cependant l'inconvénient de créer des conditions de milieu anormales puisque les contaminations sont effectuées en sol stérile alors que, dans la nature, le parasite se trouve en compétition avec une flore bactérienne et fongique très complexé.

On peut remédier à cet inconvénient, en utilisant pour ce test un sol naturellement dépourvu de tout fusarium. La stérilisation de ce sol n'étant plus nécessaire, on peut réaliser les infections dans des conditions aussi voisines que possible des conditions naturelles.

Compte tenu des avantages de ces deux méthodes, on a cherché à les utiliser conjointement.

Recherche d'un sol à microflore exempte de Fusarium

Tous les types de sols existant sur la Côte Est sont représentés dans la région de Tamatave et à la Station de l'Ivoloina nous possédons des renseignements assez précis sur la couverture végétale de certaines parcelles pendant les 25 dernières années.

L'examen de la microflore a donc porté sur les sols suivants:

a)- Alluvions de rivière

- prélevées dans une vanillerie établie en Avril 1954, saine, ayant succédé à une plantation de caféier datant de 1913.
- prélevées dans une parcelle couverte de caféiers depuis 1912.

Dans les deux cas, les prélèvements ont été effectués en surface, à -2, -5, -8 et -12cm.

b)- Latérite de colline

ayant fait l'objet de cultures sporadiques de riz ou de manioc - Prélèvements effectués à -5cm.

c)- Sol de marais drainé

n'ayant jamais été cultivé - Prélèvements effectués entre 0 et -2cm.

d)- Limons et sables de rivière

prélevés après une crue, à 1m. des berges, sous une tranche d'eau de 50 cm environ.

e)- Terreau des feuilles et de fougère

prélèvements effectués dans une zone non cultivée, entre 0 et -2cm.

f)- Terre de bruyère

n'ayant jamais été cultivée - prélèvements effectués entre 0 et -5cm.

Les prélèvements et ensemencements de sol ont été effectués comme indiqué au chapitre précédent - On a fait au total une quarantaine de prélèvements ce qui représente plus de dix mille inoculum. Mis à part la terre de bruyère, tous ces prélèvements, y compris ceux effectués en surface et en profondeur, ont fourni des *Fusarium* appartenant aux sections *Elegans*, *Martiella*, *Gibbosum* et *Liseola*.

Seule parmi tous les sols examinés, la terre de bruyère ne contient pas de *Fusarium*. Elle a fait l'objet de trois prélèvements successifs en Janvier, en Février et en Mai, en des points distants de plusieurs centaines de mètres les uns des autres; ils ont été constamment négatifs.

Ce type de sol n'est pas cultivé en raison de sa pauvreté; on le rencontre à proximité du cordon littoral et est exclusivement recouvert de *Philippia floribunda* Benth. (Ericacée).

Au point de vue chimique, ce sol a une réaction fortement acide (pH: 4,8 - 4,9); il est riche en éléments organiques, mais très pauvre en humus, ce qui indique une matière organique non évoluée. La teneur en phosphore assimilable est très faible; les teneurs en bases échangeables sont faibles, sauf pour la potasse où elle est moyenne. Au point de vue physique, en dehors de la matière organique, les prélèvements ne contiennent que du sable, sable grossier surtout?

Analyse effectuée par J. VELLY, chimiste de l' O.R.S.T.O.M.

Pour confirmer ces résultats, l'essai suivant a été réalisé ultérieurement :

quelques kilos de chaque type du sol ont été prélevés avec des instruments désinfectés. Ces milieux n'ont subi aucune stérilisation et pour leur donner la structure désirée, on leur a incorporé une certaine dose de sable de rivière stérile. Les composts ainsi obtenus furent répartis dans des pots désinfectés au $SO^+ Cu$. Le matériel végétal destiné à cet essai fut composé de 193 plantules de *V. Fragrans* issues de semis et prises à la sortie des tubes de culture; elles mesuraient 20 à 200mm.

La plantation eut lieu de la manière suivante :

- 57 vanilliers furent repiqués sur terre de bruyère
 - 12 vanilliers furent repiqués sur terre de bruyère contaminée au préalable par une solution de spores d'un *Fusarium bulbigenum*, isolé en 1956, d'un vanillier mort de fusariose.
 - 42 vanilliers furent repiqués sur alluvions de rivière
 - 23 vanilliers furent repiqués sur sol de colline
 - 59 vanilliers furent repiqués sur terreau de feuilles.
- Le tout fut placé en serre.

A l'exception de la terre de bruyère, toutes ces prises de sol ont été effectuées en zone inondable (vallées de l'Ivolofna et de ses affluents au N. de Tamatave). Les alluvions et le terreau de feuilles furent prélevés sur bourrelet de berge, le sol de colline sur bas de pente dans des colluvions latéritiques faiblement humifères en surface.

Les résultats obtenus deux mois après la plantation ont été consignés dans le tableau ci-dessous :

	Nbre de plantules	Taille des plantules en m/m	Nb morts en 60 jours	% mortalité
Terre de bruyère	57	20/200	0	-
Terre de bruyère + F. bulbigenum	12	40/100	5	41%
Alluvions	42	"-	13	30%
Latérite	23	"-	10	43%
Terreau feuilles	59	"-	17	29%

Sur toutes les plantules mortes, on a observé que le système racinaire et le collet étaient atteints de pourriture molle et dans ces zones, on a noté la présence constante de *Fusarium*; dans certains cas, des sporodochia étaient visibles au niveau du collet.

L'expérimentation agricole confirme donc, point par point, les résultats obtenus sur le milieu de Dodge pH 4,2:

- Dans tous les sols où ce test avait mis en évidence la présence du *Fusarium*, des jeunes vanilliers sont morts de fusariose.
- Sur terre de bruyère, tous les sujets sont restés sains jusqu'à présent.
- Sur terre de bruyère contaminée expérimentalement par une souche pathogène de *F. bulbigenum*, on a observé des cas de Fusariose.

Enfin, on a cherché à déterminer si les épidémies expérimentales provoquées par le *Fusarium bulbigenum* dont il est question ci-dessus, évoluaient de façon analogue dans la terre de bruyère utilisée sans stérilisation, donc pourvue de sa microflore, et dans ce même milieu aseptisé par un chauffage préalable.

Dans ce but, 3 lots de terre de bruyère ont été préparés de la manière suivante :

- le premier fut stérilisé, ensemencé avec une solution de spores de l'agent pathogène et réparti en pots.
- le second ne fut pas stérilisé; on l'a inoculé comme précédemment et réparti en pots.
- le troisième lot servait de témoin; il ne fut ni stérilisé ni contaminé au moment de l'emploi.

Le matériel végétal comprenait 126 plantules de *V. Fragrans* mesurant 80 mm environ que l'on a repiqué les 7 et 8 Juin. Les observations ont été faites quotidiennement; elles ont été consignées dans le tableau ci-dessous :

T. de bruyère	Nb de plantules	NOMBRE QUOTIDIEN DE MORRS					Nb de morts						
		(chaque point représente un jour)	1ère	2è	3è	4è		5è					
		semaine	semaine	semaine	semaine	semaine							
T. de bruyère stérile + <i>F. bulbigenum</i>	43	1	1	7	8	8	7	5	2	1	1	43	
T. de bruyère non stérile + <i>F. bulbigenum</i>	47	2	1	3	4	4	5	2	2	3	2	1	35
T. de bruyère (témoin)	36												0

L'expérimentation ayant porté sur un matériel végétal peu abondant; il n'est pas possible de dégager une conclusion rigoureuse de cet essai. On peut dire tout au plus, que les premiers symptômes de la maladie apparaissent plus vite et que l'épidémie elle-même est plus brutale sur milieu stérile. Sur milieu non stérile, la maladie met plus longtemps à se manifester, son évolution est également plus lente et l'on peut penser que cela est dû à l'action anatagoniste de la microflore ou de certains de ses constituants.

Test de virulence sur terre de bruyère

Ce sol à microflore exempte de *Fusarium* a été utilisé exclusivement, avec ou sans stérilisation préalable. La méthode consiste à mettre en évidence le pouvoir pathogène de la souche sur du matériel végétal de plus en plus vigoureux, à savoir :

- des plantules de *V. Fragrans* âgées de 6 mois environ
- des racines aériennes émises par boutures de *V. Fragrans*.

Ces deux opérations préliminaires sont destinées à trier rapidement et à peu de frais, les saprophytes des parasites possibles. Ne sont conservés que les souches ayant donné des résultats positifs à deux reprises.

- le test de virulence, sensu stricto, est effectué sur boutures acôtées de *V. Fragrans*.

- a)- Test préliminaire : l'utilisation de plantules, matériel végétal très fragile, permet d'éliminer avec certitude les souches inoffensives. La terre de bruyère, placée en erlenmeyer de 300cc à raison de 125gr environ par fiole, est bistérilisée à 134° pendant 30 minutes à 3 jours d'intervalle, puis contaminée par une suspension de spores de la souche à étudier. Une semaine après, on repique dans chaque flacon 3 plantules de *V. Fragrans* issues de semis, mesurant 5 à 6cm et désinfectées au Soprasan humide à 1% pendant 10 secondes. Les résultats sont relevés deux semaines après le début de l'essai. Les souches ayant détruit cette première série de matériel végétal sont inoculées dans 4 tubes de 18x180mm ou erlenmeyers de 100cc sur terre de bruyère bistérilisée. Une semaine après, on introduit dans chaque flacon une racine aérienne émise par bouture acôtée de *V. Fragrans*. On fait arriver cette racine sans la blesser à un centimètre de la surface du milieu et on rebouche avec un tampon de coton; les résultats sont relevés un mois après. Les souches ayant provoqué la mort de ces quatre racines sont alors utilisées dans le test définitif.
- b)- Test définitif : effectué sur vingt boutures de *V. Fragrans*. Mode opératoire : vingt boîtes de Roux de 1 litre sont remplies aux 2/3 environ avec de la terre de bruyère. Dix d'entre elles sont bistérilisées à 134° pendant 30 minutes à 3 jours d'intervalle. Les dix autres ne sont ni stérilisées ni désinfectées. Tout le lot est contaminé par une suspension de spores de la souche. La mise en place des boutures est effectuée une dizaine de jours plus tard.

Ce matériel végétal est récolté sur tiges aoûtées provenant de sujets en bon état sanitaire, ne portant ni inflorescence, ni balai. Les boutures ont 4 noeuds et seules les 2 feuilles supérieures sont conservées; elles sont alors trempées pendant 10 secondes dans une solution aqueuse de Soprasan humide à 1‰; après ce traitement, elles ne subissent aucun rinçage et sont placées à l'ombre sur des claies - quatre jours après, les boutures subissent une seconde désinfection analogue à la précédente, après un rapide égouttage, elles sont alors placées dans les boîtes de Roux. On rebouche les flacons et on le met en serre. Les résultats du test définitif sont relevés deux mois après.

Résultats du test de Virulence

Les isolements effectués à l'Ivoloina en 1957 ont fourni cinq souches :

souche F. 15 :	Fusarium	bulbigenum
F. 92 :	-	oxysporum
F. 112 :	-	oxysporum
F. 113 :	-	bulbigenum
F. 304 :	-	bulbigenum

Ces Fusarium ont suivi la filière que nous venons de décrire et ont donné les résultats suivants :

- Test de virulence sur plantules issues de semis :

F. 15 :	7	plantules mortes sur 9
F. 92 :	3	plantules mortes sur 9
F. 112 :	8	plantules mortes sur 9
F. 113 :	6	plantules mortes sur 9
F. 304 :	10	plantules mortes sur 10

- Test de virulence sur racines émises par boutures :

F. 15 :	8	racines nécrosées sur 10
F. 92 :	0	racines nécrosées sur 6
F. 112 :	11	racines nécrosées sur 12
F. 113 :	10	racines nécrosées sur 12
F. 304 :	8	racines nécrosées sur 8

- Test de virulence sur boutures aoûtées (résultats relevés au bout de 60 jours)

F. 15	en milieu stérile: 10 cas de fusariose sur 11 boutures
	en milieu non stérile: 7 cas de fusariose sur 11 boutures.

A la fin du second mois, les 5 boutures restées saines furent inoculées à nouveau par la souche F. 15 - Un mois plus tard quatre de ces boutures tombaient malades à leur tour.

F. 92
 en milieu stérile : 0 cas de fusariose sur 11 boutures
 - non stérile : 0 " 11 -

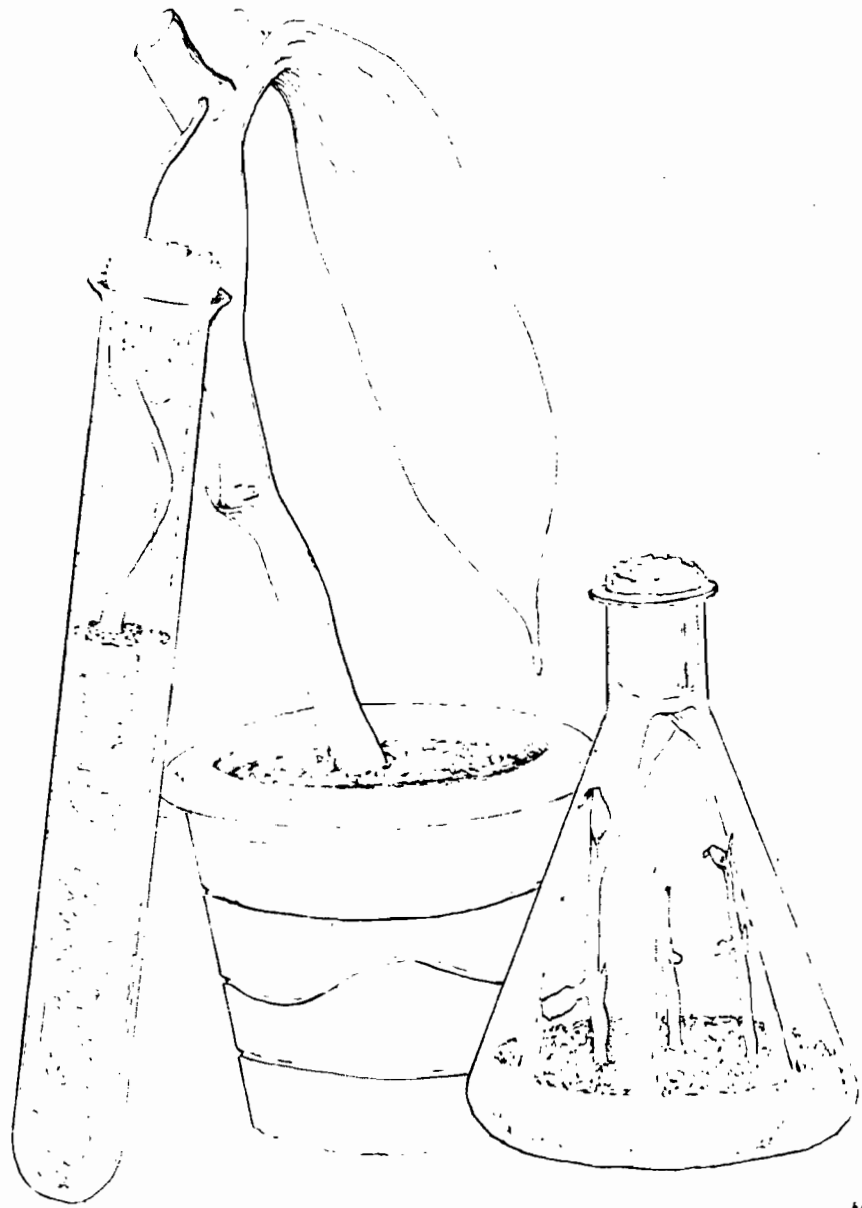
F. 112
 en milieu stérile : 10 cas de fusariose sur 10 boutures
 - non stérile : 5 " 10 -

F. 113
 en milieu stérile : 9 cas de fusariose sur 10 boutures
 - non stérile : 3 " 10 -

F. 304
 en milieu stérile : 10 cas de fusariose sur 10 boutures
 - non stérile : 8 " 10 -

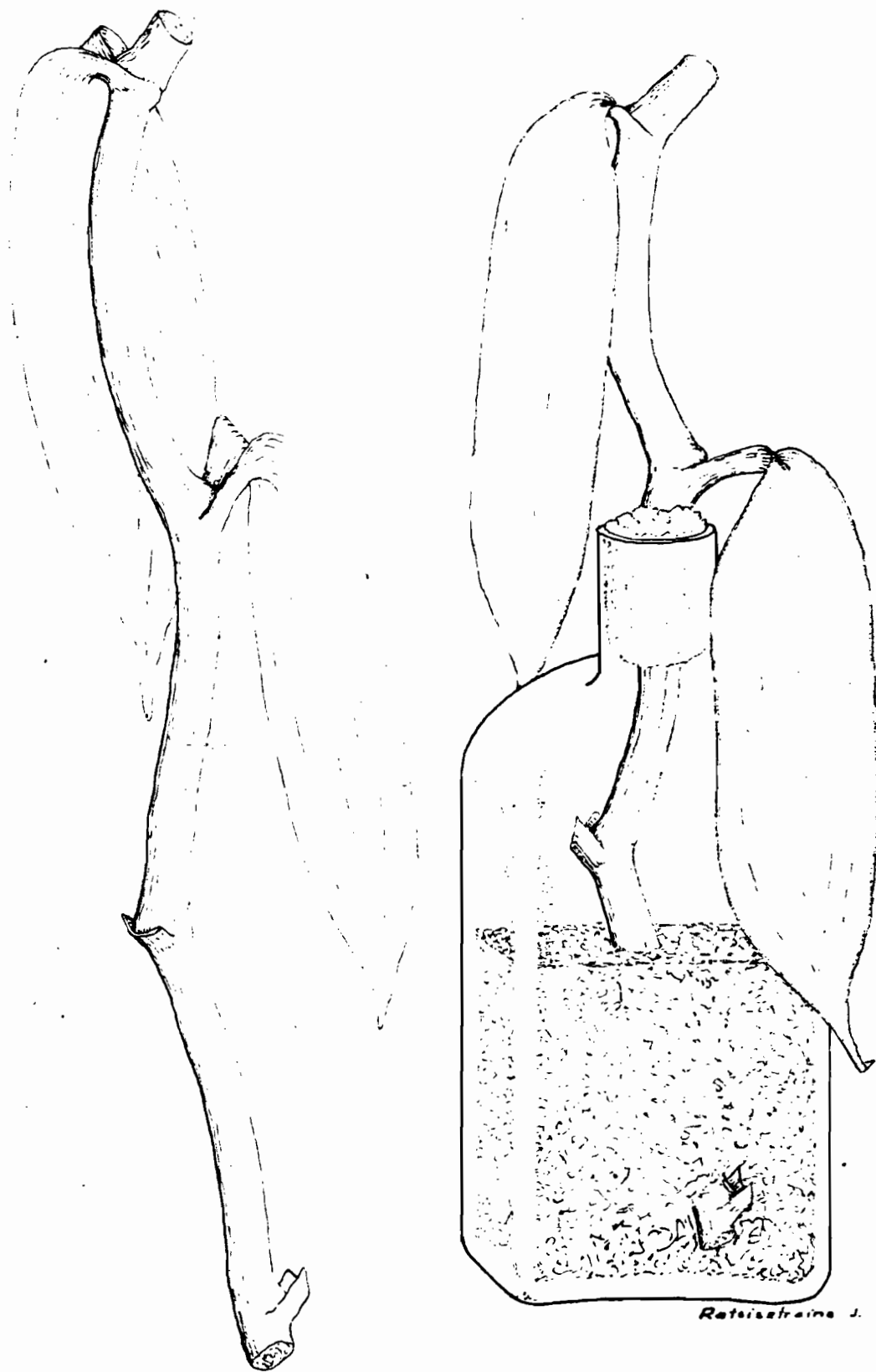
Témoin
 en milieu stérile : 0 cas de fusariose sur 10 boutures
 - non stérile : 0 " 10 -

On en conclut que la souche F. 92 est inoffensive;
 les souches F. 15, F. 112, F. 113 et F. 304 sont classées
 pathogènes.



Ratsisetraina J.

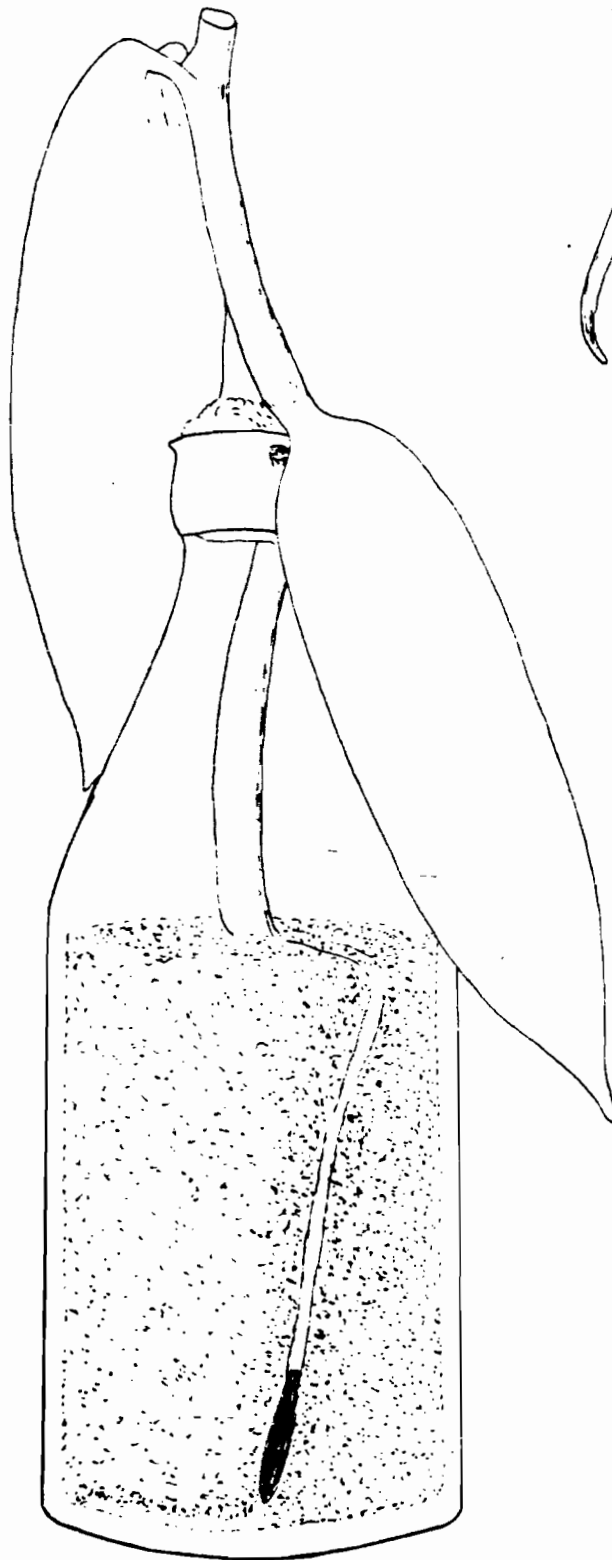
Tests préliminaires de virulence



Test définitif de virulence

Test de resistance à la Fusariose

Symptômes de la Fusariose



Les racines de la V fragrans sont envahies par le parasite. Les zones



Nécrose des racines
Flétrissement et arrêt de croissance

FUSARIUM BULBIGENUM Cke. & Mass. VAR. BATATAS Wr. F.
 VANILLAE- SES ASPECTS CULTURAUX: F.304, F.15, F.113,
 F. 3, F.338

Tous les types morphologiques décrits dans le présent chapitre se rattachent à un unique Fusarium, pathogène pour le Vanillier à Madagascar. Au cours des repiquages qui se sont échelonnés sur dix huit mois, les caractères des fructifications, tant qu'elles ont été observables, se sont révélés remarquablement constants.

Par contre, il a été noté que les caractères cultureux ne restaient pas stationnaires: les éléments constitutifs du stroma évoluent et cette évolution se fait dans le sens d'une simplification progressive de l'appareil végétatif. Généralement le phénomène affecte d'abord les sclérotés qui s'amenuisent et disparaissent, puis les sporodochia, les pionnotes et - en dernier lieu - le mycélium aérien; le terme ultime de cette série étant constitué par des types intégralement dépouillés, réduits à un plectenchyme pelliculaire et lisse.

La pigmentation du stroma évolue elle aussi, mais d'une souche à l'autre, on enregistre d'importantes fluctuations, ce qui rend l'étude de ce caractère assez délicate - Cependant, les teintes observées se situent toujours entre les points de repère suivants: blanc pur, rose, mauve, rouge Bordeaux, violet aubergine; ces tons diminuent d'intensité graduellement et donnent à la longue un blanc-jaunâtre que l'on retrouve uniformément sur tous les milieux.

Type A F. 304	Type B F.15	Type C F. 113	Type D F.3
Forme haute	Forme haute	Forme basse	Forme basse
Sclérotés	-	-	-
Sporodochia	Sporodochia	-	-
Pionnotes	Pionnotes	-	-
Mycélium	Mycélium	Mycélium	-
Plectenchyme	Plectenchyme	Plectenchyme	Plectenchyme

Tous les intermédiaires ont été observés entre ces 4 types morphologiques fondamentaux.

Les souches du type A, au moment de leur isolement, sont passées, dans les cas les plus favorables, par chacun des stades énumérés ci-dessus et toutes les observations faites jusqu'à ce jour semblent indiquer que ce phénomène a un caractère général et irréversible que l'on peut sans doute assimiler à un cas de dégénérescence clonale.

Il faut noter à ce sujet que les conditions dans lesquelles on cultive le parasite au laboratoire, ne peuvent expliquer à elles seules le phénomène en question; la dégradation des caractères morphologiques se produit aussi en milieu naturel et sur les 426 souches isolées au cours de ce travail, seules 3 d'entre elles ont été obtenues sous forme parfaitement haute.

Les caractères morphologiques des formes hautes sont peu stables; les souches de ce type évoluent généralement assez vite et elles ont tendance à se stabiliser sous un aspect cultural bon fructifié. Toutefois, en utilisant des techniques de repiquage et des milieux de culture appropriés, il est possible de maintenir certaines d'entre elles, sous leur forme haute initiale. Ce fut le cas, notamment, du *Fusarium* n°15. Cette souche, isolée en Mars 1957, décrite et classée à cette époque dans le type morphologique B, possédait à la fin de l'année 1959 des caractères culturaux micrographiques et biométriques rigoureusement inchangés. Ce *Fusarium* a donc fait preuve pendant 30 mois d'une stabilité morphologique remarquable, ce qui justifie l'établissement d'une diagnose détaillée.

La systématique des *Fusarium* repose sur la notation de très nombreux caractères, dotés pour la plupart d'une variabilité assez forte et soumis plus ou moins rapidement aux phénomènes de dégénérescence mentionnés ci-dessus. Ceci oblige évidemment à répéter les cultures et les observations un très grand nombre de fois, si l'on veut donner une description englobant tous les aspects possibles de la souche étudiée.

Type A : *Fusarium* n°304

Cette première souche fut isolée à Mahanoro en Août 1957 dans une vanillerie aménagée il y a plus de 20 ans sur sable littoral.

Cette vieille plantation est aujourd'hui ravagée par la fusariose. Les prélèvements qui ont fourni la F. 304 furent effectués aseptiquement sur lianes adultes dans la partie souterraine du système racinaire. Les contaminations expérimentales effectuées sur plantules, sur racines et sur boutures acôtées ont été constamment positives. La F. 304 est donc pathogène pour le vanillier; c'est une forme très haute possédant sclérotés, sporodochia, pionnotes et un stroma plus ou moins luxuriant.

Type B : Fusarium n°15

Cette seconde souche a été isolée d'une liane adulte présentant tous les symptômes de la fusariose. Ce cas fut observé en Mars 1957 dans une vanillerie établie sur les alluvions de l'Ivoloina en Avril 1954. Cette liane avait fleuri pour la première fois en 1956 et ses quinze inflorescences avaient été pollinisées intégralement. En Mars 1957, cette liane mesure 10 m. de long et a 80 feuilles environ, elle porte 66 fruits de petite taille; la tige est profondément cannelée, les feuilles sont vert pâle, flasques et ont un port retombant. La seule racine existante a toutes ses extrémités nécrosées. Les autres pieds de la plantation ont une apparence saine. Des prélèvements aseptiques ont été effectués dans les nécroses et ensemencés le jour même; ils ont fourni la souche F. 15. Des contaminations expérimentales régulièrement positives, ont démontré que cette forme est aussi pathogène que la précédente. C'est une forme haute, dépourvue de sclérotés, à stroma généralement chétif, enrobé, rapidement et plus ou moins complètement de pionnotes et de sporodochia.

Type C : Fusarium n° 113

Cette troisième souche fut isolée en Mai 1957 dans le système racinaire d'un jeune vanillier mort de fusariose. Ce vanillier faisait partie d'un lot de 59 plantules issues de semis, mesurant 5 à 10 cm., repiquées sur un terreau de feuilles non désinfecté.

Le premier cas de pourriture du système racinaire et du collet entraînant la mort du sujet atteint, fut observé douze jours après le repiquage; en un mois, le quart du matériel végétal était détruit de cette façon. L'examen systématique des racines malades a permis d'observer la présence constante de *Fusarium* dans les zones nécrosées. Parmi les souches isolées, la F. 113 s'est révélée pathogène pour les vanilliers adultes. Cette forme dépourvue de sclérotés, à stroma plutôt vigoureux a fourni quelques pionnotes et de petits sporodochia dans le mycélium aérien. Mais ces fructifications, toujours rares et peu fournies, n'ont jamais été obtenues de façon régulière, aussi peut-on considérer que la F. 113 est une forme typiquement basse.

Type D : *Fusarium* n°3

Cette souche fut isolée pour la première fois en 1956 sur un vanillier issu de semis, mort accidentellement de fusariose à l'Ivoloina. Son stroma, réduit à un plectenchyme mince et lisse, ne produisait aucune macroconidie et de ce fait, la F.3 n'était pas déterminable; sa virulence sur plantules fut démontrée, mais il ne fut pas jugé nécessaire, à cette époque, de la conserver en collection. Ultérieurement, on a obtenu des types identiques sous tous les rapports à la F.3, en repiquant par boutures de mycélium les types A, B, et C ci-dessus décrits.

Type E : *Fusarium* n°338

Cette souche fut isolée à Mahanoro en 1958 dans la système racinaire d'un vanillier atteint par la fusariose. Cette cinquième souche est, comme les précédentes, pathogène pour vanilliers adultes; elle possède sclérotés, sporodochia, pionnotes et elle est par tous ses caractères cultureux très proche de la F.304. Elle s'en distingue par les teintes plus chaudes de son stroma et surtout par la couleur orange de ses pionnotes.

En 1959, un tube de culture produisit simultanément une nappe pionnotale orange et quelques pionnotes guttiformes de couleur crème. Ces deux types de fructification furent repiqués séparément; il fut observé que les cultures obtenues à partir des pionnotes orange conservaient les caractères de la souche F. 338; par contre les pionnotes crème ont fourni des cultures comparables sous tous les rapports à la F.304, et, au cours des repiquages ultérieurs, ces caractères nouveaux se sont maintenus fidèlement.

On en a conclu que la F. 338 est un mutant de la F.304: cette mutation n'est pas parfaitement stable, puisqu'un retour au type fondamental a été observé. La souche F. 338 n'ayant été isolée qu'une seule fois, et constituant de ce fait une forme exceptionnelle du parasite, ne sera pas décrite en détail dans les pages qui vont suivre.

L'examen de ces types a été poursuivi pendant plus d'un an, et à la suite de ce travail, on a pu conclure qu'ils dérivent tous du même champignon dont ils représentaient les différents aspects culturels. L'étude qui va suivre comprend la description des caractères culturels, micrographiques et biométriques des types morphologiques fondamentaux de l'agent pathogène, cultivé sur les huit milieux suivants: organes végétatifs de *Vanilla fragrans*, tranches de pomme de terre, grains de riz, tranches de carotte, tiges de *Crotalaria juncea*, farine d'avoine gélosée, farine de maïs gélosée, pomme de terre glucosée et gélosée. Toutes les cultures ont été maintenues en observation et décrites jusqu'à l'âge de trois mois.

Ces formes ont été réisolées des racines mortes à la suite des tests de virulence; elles furent cultivées à nouveau dans les mêmes conditions et décrites une seconde fois. Les deux séries d'observations étant concordantes, nous ne donnons ici que la description des rétrocultures.

- MORPHOLOGIE DU CHAMPIGNON -

1°- SUR ORGANES VEGETATIFS DE VANILLA FRAGRANS

A/- Caractères culturaux

Type A: Mycélium aérien blanc, à trame lâche, peu à moyennement fourni, à croissance rapide, d'aspect duveteux, pelucheux, poudreux, avec des plages filamenteuses, formant sur le verre un léger réticulum incolore. Plectenchyme assez épais dans le fond des cultures, très mince ou inexistant à la partie supérieure, lisse, incolore puis blanc-jaunâtre, maculé dans certaines cultures de petites taches vertes ou rouille. Sclérotés formés vers la seconde semaine, peu à très peu abondants, punctiformes, isolés, noyés dans le stroma ou disséminés dans le mycélium aérien, bleu à vert foncé. Pionnotes précoces, en gouttes fluides de petite taille sur le plectenchyme ou dans le mycélium aérien, isolés, groupés par plages ou confluent, assez nombreux, de couleur crème, mastic ou beige. Sporodochia précoces et très abondants, en coussinets blancs de petite taille, formés sur le plectenchyme ou dans le mycélium aérien et lui donnant un aspect poudreux.

Type B: identique à la forme A, mais dépourvue de sclérotés.

Type C et D: mycélium aérien abondant à très peu fourni; arachnéen, duveteux, filamenteux ou en touffes lâches; blanc à blanc sal avec quelques plages de couleur rouille. Plectenchyme pelliculaire et lisse, blanc à chatain. Ni sclérotés, ni sporodochia, ni pionnotes.

B/- Caractères micrographiques

Macroconidies

Forme générale élancée, contour ventral subrectiligne ou à courbure modérée; partie centrale subcylindrique; base pédiforme, tétiniforme, rarement non différenciée, sommet régulièrement atténué, en forme de bec émoussé plus ou moins recourbé, 1 à 5 cloisons droites, 3 cloisons dominantes, 0 et 6 cloisons très rares.

Biométrie sur cent quatre vingt treize conidies d'origine pionnotale prélevées sur cultures de 8, 9 et 38 jours.

1 cloison	17,06 x 2,75	(13,87-18,77 x 2,44-3,06)	microns
2	18,99 x 3,06	(15,50-22,04 x 2,85-3,46)	
3	37,61 x 3,68	(28,57-45,71 x 3,26-4,08)	
4	42,44 x 4,06	(36,73-47,34 x 3,87-4,28)	
5	45,71 x 4,28	(43,26-48,97 x 4,08-4,48)	

Microconidies :

Abondantes; isolées ou groupées en fausses têtes, le plus souvent unicellulaires, ovales, ovoïdes, allongées, parfois réniformes, base souvent mucronée

8,61 x 2,90 (6,93-11,42 x 2,44-3,46) microns

Chlamydo-spores conidiennes :

Absentes dans les cultures jeunes, peu abondantes le second mois, intercalaires, terminales, plus rarement latérales, rondes ou ovales, le plus souvent unicellulaires, protoplasma plus ou moins granuleux, membrane lisse ou échinulée.

0 cloison 5,93 x 5,03 (4,89-7,75 x 4,48-5,71) microns
1 - 9,06 x 5,10 (8,16-10,81 x 4,69-5,71)

Chlamydo-spores mycéliennes :

Assez abondantes dès le premier mois, isolées, plus rarement groupées en courtes chaînes, intercalaires, latérales, terminales, le plus souvent unicellulaires, rondes, parfois ovales ou ovoïdes, protoplasma granuleux, membrane épaisse, lisse, plus rarement verruqueuse ou muriquée.

0 cloison 7,83 x 6,44 (6,53-11,83 x 5,51-8,16) microns
1 - 10,74 x 5,98 (9,79-11,42 x 5,30-6,93)

2°- SUR GRAINS DE RIZA/- Caractères culturaux

Sur ce milieu les formes hautes sont difficiles à obtenir et elles dégèrent rapidement.

Types A et B: Mycélium aérien formant sur le verre une fine trame incolore et sur le milieu de culture un revêtement plus ou moins luxuriant, dense, d'aspect feutré ou duveteux, blanc à rose et se teintant souvent de mauve ou de violet; formant parfois dans les cultures âgées d'épaisses masses ouatées de couleur blanche. Plectenchyme épais, lisse, d'abord incolore puis coloré dans les tons ci-dessus. Sclerotes abondants à inexistant dans le type B, globuleux, précoces, pouvant atteindre 1 mm de diamètre, isolés ou groupés en rognons plus ou moins volumineux, noyés dans le stroma, d'abord incolores puis jaunâtres, rouge Bordeaux ou violet aubergine. Sporodochia disséminés dans le mycélium aérien ou groupés en plages poudreuses, précoces, blancs, roses, mauves ou violacés.

Pionnotes difficiles à obtenir, tardifs et rares, fluides, guttiformes ou en plages diffuses, orange clair, crème ou beige. Légère odeur aromatique au bout d'un mois environ.

Types C et D: Stroma dense plus ou moins vigoureux, d'aspect ouaté ou feutré, coloré comme indiqué pour les types A et B. Ni sclérotas, ni sporodochia, ni pionnotes.

B/- Caractères micrographiques

Macroconidies :

Forme générale assez élancée, courbure faible à modérée, base tétiniforme, subconique, assez fréquemment non différenciée; sommet en bec émoussé plus ou moins recourbé; 1 à 4 cloisons droites, 3 cloisons dominantes.

Biométrie sur cent trente sept conidies d'origine sporodochiale prélevées sur une culture de 10 jours :

0 cloison	16,32 x 2,90	(13,87-19,59 x 2,85-3,06)	microns
1 -	22,04 x 3,29	(17,95-26,12 x 2,85-3,26)	
2 -	26,93 x 3,32	(22,85-33,46 x 3,06-3,67)	
3 -	33,46 x 3,61	(28,57-41,63 x 3,26-4,08)	
4 -	34,28 x 3,67	(30,20-36,73 x 3,46-3,87)	

Microconidies :

Abondantes, isolées, le plus souvent unicellulaires, cylindracées, réhiformes ou ovoïdes

9,50 x 2,85 (5,71-13,06 x 2,24-3,26) microns

Chlamydospores conidiennes :

Peu abondantes au bout d'un mois, intercalaire ou terminale; ronde ou ovale; unicellulaire; protoplasma hyalin, membrane épaisse, lisse.

7,37 x 5,20 (5,91-10,61 x 4,69-5,71) microns

Chlamydospores mycéliennes :

Abondantes au bout d'un mois, isolées ou en chaînes souvent fort longues, intercalaires, latérales ou terminales; rondes ovales ou allongées; uni ou plus rarement bicellulaires; à contenu hyalin et à membrane lisse quand elles sont jeunes, à maturité elles sont granuleuses, leur enveloppe est lisse ou ornée de courtes pointes espacées.

0 cloison	7,59 x 6,25	(5,51-11,42 x 4,89-9,38)	microns
1 -	12,10 x 5,84	(11,02-13,06 x 4,89-6,53)	

3°- SUR TRANCHES DE POMME DE TERRE

A/- Caractères culturaux

Type A: mycélium aérien dense, plus ou moins fourni, devenant parfois très vigoureux, d'aspect feutré, pelucheux, cotonneux ou en croûtes farineuses compactes, blanc sal, avec des plages gris acier, roses ou vertes, formant sur le verre une trame lâche de filaments incolores et quelques mèches vertes ou violacées - Plectenchyme épais, modérément plissé; plus rarement lisse, de couleur blanche avec des taches ou de larges plages bleu-vert, bleu-violacé ou noir - Sclérotés formés dès la première semaine, globuleux, atteignant 1 mm. environ, peu à très abondants, isolés ou groupés en rognons de petite taille, progressivement recouverts par le mycélium aérien, jaunâtres, virant au vert ou au noirâtre - Sporodochia abondants au bout d'un mois, en touffes blanches - Pionnotes formés le premier mois dans le mycélium aérien ou sur les sclérotés, en gouttes fluides pouvant atteindre 1 à 2mm de diamètre, saillants, isolés, groupés par plages plus ou moins étendues, pouvant imprégner tout le stroma, de couleur crème, Isabelle, brun-violacé ou brun-noir.

Type B: mycélium aérien peu à très peu fourni sur le verre où il se développe en trame fine et blanche, puis rouge Bordeaux et enfin mauve; inexistant à très chétif sur le milieu de culture où il prend un aspect duveteux - Plectenchyme épais, lisse ou modérément plissé; d'abord incolore, puis crème à beige sal avec parfois quelques plages mauves ou verdâtres. Nappe pionnotale épaisse, consistante, imprégnant tout le stroma dès la première semaine, à surface luisante, grumelleuse et un peu chagrinée ou franchement umbonnée - sillonnée, de couleur orangée, crème ou beige, maculée de taches ou de plages mauves. Pionnotes punctiformes ou en plages fluides, de couleur crème à beige, engluant plus ou moins le mycélium aérien - Pas de sporodochia.

Type C: Stroma prenant rapidement un développement volumineux, débordant largement sur le verre, dense, d'aspect ouaté, plus rarement feutré ou filamenteux, de couleur blanche avec des plages roses, mauves ou violettes.

Type D: Mycélium aérien plus ou moins volumineux, d'aspect ouaté ou feutré, de couleur blanche, formant sur le verre une épaisse trame incolore - Plectenchyme épais, lisse, uni, jaunâtre.

B/- Caractères micrographiques

Macroconidies :

Élancée, courbure homogène très faible à modérée - partie centrale subcylindrique, extrémités atténuées, base téti-niforme, subconique, subpédiforme, assez souvent non différencié; sommet en bec émoussé, plus ou moins recourbé; 1 à 4 cloisons droites, 3 cloisons très largement dominantes.

Biométrie sur cent trente cinq conidies d'origine pionnatale prélevées sur une culture de 40-41 jours.

0 cloison	12,24 x 2,44	microns
1 -	15,50 x 2,75	(13,06-20,40 x 2,44-3,06) microns
2 -	17,95 x 2,97	(15,50-22,85 x 2,65-3,06)
3 -	32,65 x 3,42	(26,12-41,63 x 2,85-3,87)
4 -	39,18 x 3,75	(34,28-44,89 x 3,46-4,08)

Microconidies :

Abondantes, isolées, ovales ovoïdes allongées réniformes, parfois mucronées, le plus souvent unicellulaires.

0 cloison	6,13 x 2,40	(4,08-9,79 x 2,04-3,06) microns
1 -	9,38 x 2,65	(6,93-10,61 x 2,44-2,85)

Chlamydo-spores conidiennes :

Peu abondantes le second mois, intercalaires, terminales, latérales, rondes ou ovales, une et plus rarement deux cellules; protoplasma granuleux, membrane épaisse, lisse.

0 cloison	6,54 x 5,44	(4,89-8,97 x 4,69-6,53) microns
1 -	8,66 x 4,89	(7,75-9,38 x 4,48-5,71)

Chlamydo-spores mycéliennes :

Peu abondantes le second mois, isolées ou en chaînes plus ou moins longues, intercalaires ou terminales - Rondes, ovales ou globuleuses, une ou deux cellules, très rarement trois - Protoplasma granuleux, membrane très épaisse, lisse ou ruguleuse.

0 cloison	8,02 x 6,77	(5,71-10,61 x 5,51-8,16) microns
1 -	11,95 x 7,24	(9,79-15,10 x 6,53-8,57)

4°- SUR TRANCHES DE CAROTTE

A/- Caractères culturaux

Type A: Mycélium aérien généralement peu développé, parfois même inexistant; d'aspect duveteux, poudreux, pelucheux ou feutré, peu épais et à trame assez lâche; blanc nuancé de rose pâle, maculé assez fréquemment de petites taches vert-bouteille et formant sur le verre une trame très lâche, incolore - Plectenchyme plus ou moins épais, lisse ou très modérément plissé; blanc à jaunâtre, parfois taché de vert - Sclérotas de petite taille, plus ou moins abondants, globuleux, isolés ou groupés par plages, progressivement recouverts par le stroma; jaunâtres à verts. Sporodochia précoces, en coussinets blancs pouvant atteindre 300 microns de diamètre, disséminés en grand nombre dans le mycélium aérien. Pionnotes précoces en gouttes saillantes, ayant jusqu'à 2 mm. de diamètre, le plus souvent groupées en plages grumeleuses plus ou moins fournies, fluides, formées sur les sclérotas, à la surface du mycélium aérien ou dans sa masse; de couleur saumon, crème, beige et plus rarement Isabelle ou bleuté.

Type B: Mycélium aérien très pauvre dans toutes les cultures, formant quelques filaments ou plaques duveteuses, roses ocracées, sur le substrat et quelques courtes mèches de couleur blanche sur le verre, parfois inexistant. Plectenchyme épais, lisse, uni, blanc puis jaunâtre, imprégné précocement d'une nappe pionnotale abondante, épaisse, fluide, à surface lisse ou finement grumeleuse, d'aspect humide, de couleur beige à orangée, recouvrant finalement tout le stroma. Pas de sporodochia.

Types C et D : Mycélium aérien plus ou moins fourni; d'aspect duveteux, pelucheux, filamenteux ou en touffes lâches; de couleur blanche, formant sur le verre une fine trame incolore. Plectenchyme lisse, uni, blanchâtre.

B/- Caractères micrographiques

Macroconidies :

Élancées, subcylindriques, courbure très faible à modérée - Base pédiforme ou tétiniforme, rarement non différenciée - Sommet atténué, terminé en bec émoussé, plus ou moins recourbé - 1 à 5 cloisons droites; 3 cloisons largement dominantes, 4 cloisons rares 1, 2 et 5 cloisons très rares.

Biométrie sur cent vingt conidies d'origine pionnotale prélevées sur une culture âgée de 13 jours.

1 cloison	18,36 x 3,29	(14,69-23,67 x 2,85-3,46)	microns
2 -	25,71 x 3,38	(21,22-34,28 x 2,85-3,67)	
3 -	35,91 x 3,59	(26,12-45,71 x 3,06-4,08)	
4 -	38,36 x 3,67	(35,10-44,08 x 3,46-3,87)	
5 -	40,81 x 4,08		

Microconidies :

Abondantes, isolées, le plus souvent unicellulaires; ovales, cylindriques, réniformes, guttiformes.

0 cloison	7,91 x 2,63	(5,71-11,42 x 2,24-3,26)	microns
1 -	12,54 x 2,65	(11,42-13,87 x 2,44-2,85)	

Chlamydo-spores conidiennes :

Rares, presque sphériques, unicellulaires, membrane épaisse non ornementée; contenu dense, granuleux

0 cloison	7,28 x 6,05	(5,71-9,38 x 4,89-6,93)	microns
-----------	-------------	-------------------------	---------

Chlamydo-spores mycéliennes :

Abondantes dans le mycélium dès le premier mois. Isolées ou plus rarement groupées en courtes chaînes, intercalaires ou terminales - Le plus souvent unicellulaire; rondes, ovales ou de forme irrégulière; membrane épaisse, lisse, ruguleuse ou verruqueuse; contenu granuleux.

0 cloison	7,45 x 6,08	(5,91-9,38 x 4,89-7,34)	microns
1 -	10,81 x 5,91	(8,97-13,06 x 5,30-6,53)	

5°- SUR TIGES DE CROTALARIA JUNCEA

A/- Caractères cultureux

Types A et B: Mycélium aérien très peu à moyennement fourni; blanc à blanc sal; pelucheux, poudreux ou prenant l'aspect d'un duvet chétif presque pelliculaire, formant parfois dans les cultures âgées des croûtes farineuses et plus rarement quelques petites touffes ouatées assez lâches. Fine trame incolore, en général peu fournie sur le verre - Plectenchyme très mince, lisse, incolore puis blanc à jaunâtre - Sclérotés rares ou absents, isolés, punctiformes; de couleur vert foncé, noyés dans le stroma - Sporodochia blancs, de petite taille et rares, disséminés dans le stroma - Pionnotes punctiformes, de couleur beige, apparus la seconde semaine, disséminés dans le mycélium ou groupés par plage sur le substrat; formant à la longue une nappe recouvrant tout le milieu, d'aspect humide, peu épaisse, fluide et présentant parfois des empâtements à surface grumeleuse au fond des tubes, de couleur beige ou orangée.

Type C: Mycélium aérien revêtant rapidement tout le milieu d'un duvet moyennement fourni, filamenteux, floconneux ou pelucheux, blanc avec quelques plages de couleur rouille dans les cultures âgées, formant sur le verre une trame incolore assez dense - Plectenchyme pelliculaire, lisse, uni, incolore puis blanc à jaunâtre.

Type D: Mycélium aérien duveteux ou inexistant sur le milieu de culture, très peu développé sur le verre, blanc à blanc sal. Plectenchyme pelliculaire, lisse, uni, incolore puis blanc à jaunâtre

B/- Caractères micrographiques

Macroconidies :

Courbure très faible à moyenne, souvent non homogène, base tétiniforme, pédiforme, subconique, assez souvent non différenciée; sommet atténué, terminé en bec émoussé, plus ou moins recourbé - 1 à 4 cloisons droites; 3 cloisons dominantes.

Biométrie sur cent vingt trois conidies d'origine pionnotale prélevées sur une culture de 14, 16 et 35 jours.

1 cloison	19,34 x 3,12	(15,50-22,04 x 2,85-3,46) microns
2 -	24,95 x 3,43	(21,22-31,01 x 3,06-3,67)
3 -	31,82 x 3,59	(25,30-38,36 x 3,06-4,08)
4 -	35,63 x 3,97	(31,83-38,36 x 3,67-4,08)

Microconidies :

Abondantes, ovales, ovoïdes, allongées ou réniformes, souvent mucronées; unicellulaires dominantes.

0 cloison	7,23 x 2,51	(4,89-9,18 x 2,04-2,85) microns
1 -	13,06 x 2,71	(12,24-13,87 x 2,65-2,85)

Chlamydozoospores conidiennes :

Très rares à 41 jours; il n'a pas été possible de les mesurer.

Chlamydozoospores mycéliennes :

Absentes le premier mois, plus ou moins abondantes par la suite. Isolées ou en chaînes plus ou moins longues, terminales ou intercalaires; rondes ou ovales; en majorité unicellulaires, contenu hyalin ou granuleux; membrane épaisse, lisse, digitéolée ou muriquée.

0 cloison	7,18 x 6,79	(5,71-9,18 x 5,30-8,97) microns
-----------	-------------	---------------------------------

6°- SUR FARINE DE MAÏS GELOSÉE

A/- Caractères culturaux

Type A: Mycélium aérien, en plaques feutrées peu fournies à la base des cultures, duveteux poudreux ou presque inexistant à la partie supérieure, de couleur blanche, teinté de rose, de rouge Bordeaux ou de mauve par plages et formant sur le verre une trame fine et lâche, incolore - Plectenchyme très mince, localisé à la base des cultures, lisse ou un peu tourmenté, rose à mauve pâle, puis rouge Bordeaux, brun rouge ou brun violacé - Sclérotés peu abondants à très rares, isolés, punctiformes, de couleur claire, puis vert à brun noir, noyés dans le stroma ou disséminés dans le mycélium aérien - Sporodochia très abondants, précoces, en coussinets blancs à mauve pâle, mesurant 300 microns de diamètre, disséminés dans le stroma - Pionnotes précoces, formés sur le plectenchyme, sur les sclérotés ou dans le mycélium aérien, abondants autour de l'inoculum et à la base des cultures, d'abord punctiformes, puis formant des gouttes fluides et luisantes, plus ou moins volumineuses, isolés, groupés par plages ou en amas grumeleux, fortement saillants sur le stroma, de couleur orange clair, crème, Isabelle, et plus rarement gris violacé à violet aubergine - Substratum rouge Bordeaux ou mauve au voisinage de la culture.

Type B: Mycélium aérien très peu fourni sur le verre où il forme une trame lâche et quelques flocons, d'abord incolores puis rouge Bordeaux à violacés; inexistant à très peu fourni sur le substratum, où il ne se développe qu'à la base de la culture en fin duvet blanc à violacé. Plectenchyme pelliculaire, lisse, uni, d'abord incolore, puis mauve, lie de vin et violet aubergine. Nappe pionnotale assez fournie, fluide, à surface grumeleuse et luisante, de couleur mauve à violacée, apparaissant dès la première semaine, et dans le fond des cultures âgées, apparition de petits pionnotes guttiformes, fluides, isolés ou groupés par plage, de couleur crème à beige. Sporodochia en plages poudreuses, violacées, plus ou moins étendues. Pas de sclérotés - Substratum se teintant à la longue en rouge violacé. Les teintes indiquées ci-dessus, diminuent d'intensité au cours des repiquages successifs et se limitent aux zones fructifiées.

Type C: Stroma duveteux, pelucheux ou feutré, débordant sur le verre en longues flammes blanches à violacées.

Type D: Mycélium aérien très pauvre ou inexistant, formant à la base de certaines cultures quelques plaques feutrées de couleur blanche et sur le verre une fine trame incolore. Plectenchyme pelliculaire lisse et uni, incolore à violacé. Substratum violacé au voisinage de la culture.

B/- Caractères micrographiques

Macroconidies :

Elancées, courbure générale homogène, très faible à modérée, partie centrale subcylindrique, extrémités amincies régulièrement. Base pédiforme, tétiniforme ou subconique, rarement mal différenciée; sommet atténué en bec émoussé plus ou moins recourbé. 1 à 5 cloisons droites, 3 cloisons dominantes.

Biométrie sur cent vingt neuf conidies d'origine pionnotale prélevées sur une culture de 11, 14 et 15 jours.

1 cloison	21,22 x 3,28	(15,73-32,65 x 3,06-3,67) microns
2 -	24,97 x 3,38	(20,40-30,20 x 3,26-3,67)
3 -	38,36 x 3,65	(27,75-50,61 x 2,85-4,08)
4 -	45,84 x 3,80	(38,36-51,42 x 3,46-4,08)
5 -	49,38 x 4,17	

Microconidies :

Abondantes - Isolées le plus souvent unicellulaires, ovales, allongées ou réniformes, parfois mucronées.

0 cloison	6,85 x 2,66	(4,89-10,61 x 2,24-3,46) microns
1 -	12,24 x 2,57	(11,83-13,06 x 2,44-2,65)

Chlamydo-spores conidiennes

Absentes le premier mois, très abondantes dans les cultures de trois mois. Rondes ou ovales, intercalaires, rarement terminales, uni ou bicellulaires, hyalines ou un peu granuleuses, membrane épaisse, lisse.

0 cloison	6,43 x 5,55	(4,69-10,40 x 4,48-7,34) microns
1 -	11,07 x 5,03	(8,97-16,32 x 4,48-6,53)

Chlamydo-spores mycéliennes

Présentes dès le premier mois et devenant, dans les cultures âgées, très abondantes - Isolées ou en chaînes, intercalaires ou terminales; rondes, moins fréquemment ovales ou de forme irrégulière, le plus souvent unicellulaires, contenu dense, granuleux; membrane très épaisse, lisse, ruguleuse ou verruqueuse.

0 cloison	8,67 x 7,35	(6,53-12,24 x 5,10-11,83) microns
1 -	13,87 x 7,44	

7°- SUR FARINE D'AVOINE GELOSEEA/- Caractères culturaux

Type A: Mycélium aérien peu à très peu fourni, à trame lâche, souvent localisé à la base des cultures, d'aspect feutré, pelucheux, poudreux ou duveteux; de couleur blanche, parfois teinté de rose très pâle et formant sur le verre une fine trame incolore et des flocons de petite taille. Plectenchyme mince, souvent très réduit ou absent dans le haut des cultures, lisse, uni, incolore, rose ou mauve pâle. Sclérotos peu abondants, globuleux, de petite taille, vert foncé, noyés dans le stroma. Sporodochia en coussinets blancs, mesurant 300 microns de diamètre, précoces et abondants, disséminés dans le stroma. Pionnotes en gouttes fluides formés la seconde semaine dans le stroma, isolés, groupés en plages grumeleuses ou en masses muriformes, de couleur crème, Isabelle, beige ou gris bleuté pouvant devenir volumineuses et très saillantes surtout à la base des cultures. Substratum teinté superficiellement de rose ou de mauve pâle.

Type B: Mycélium aérien inexistant ou formant sur le substratum quelques plaques feutrées de couleur blanche et sur le verre une trame lâche, d'abord incolore puis plus ou moins teintée de mauve pâle. Plectenchyme pelliculaire, lisse, uni, d'abord incolore puis rose, rouge et enfin mauve. Au cours des repiquages successifs, cette coloration tend à s'affaiblir et à se limiter aux zones fructifiées ou même à disparaître complètement. Mince nappe pionnotale, fluide, grumeleuse, de couleur crème, recouvrant le stroma dès la première semaine et devenant très épaisses au fond de la culture; petits pionnotes punctiformes, incolores, disséminés dans le mycélium aérien. Pas de sporodochia - Substratum discrètement coloré dans les tons du stroma ou incolore.

Type C: Mycélium aérien moyennement fourni, formant sur le milieu un feutrage blanc, peu épais, à texture dense et sur le verre une fine trame incolore ou violacée. Plectenchyme pelliculaire, lisse et uni, violet aubergine. Substratum incolore.

Type D: Mycélium aérien inexistant sur le milieu de culture et formant sur le verre une fine trame incolore. Plectenchyme pelliculaire, lisse, uni, incolore à l'exception de quelques plages teintées de mauve. Substratum incolore.

B/- Caractères micrographiques :

Macroconidies

Elancées; courbure très faible à modérée. Partie centrale subcylindrique; base pédiforme, tétiniforme ou subconique; sommet régulièrement atténué, terminé en bec émoussé peu à moyennement infléchi; 1 à 6 cloisons droites, 3 cloisons très largement dominantes.

Biométrie sur cent cinquante conidies d'origine pionnotale prélevées sur une culture de 11, 12 et 37 jours.

0 cloison	14,69 x 2,65	(une seule) microns
1 -	17,95 x 2,99	(16,32-20,40 x 2,65-3,26)
2 -	21,22 x 3,28	(17,14-33,46 x 3,06-3,67)
3 -	35,91 x 3,55	(24,48-45,71 x 2,85-4,08)
4 -	40,59 x 3,94	(36,73-46,52 x 3,67-4,28)
5 -	45,80 x 4,30	(37,54-52,24 x 4,08-4,69)
6 -	40,81 x 4,48	(une seule)

Microconidies :

Présentes, mais en général peu abondantes. Isolées ou groupées en fausses-têtes. Le plus souvent unicellulaires, ovoïdes, subcylindriques ou réniformes, à base souvent mucronée.

0 cloison	8,81 x 2,91	(5,71-11,83 x 2,44-3,46) microns
1 -	14,89 x 3,73	(13,06-17,95 x 3,26-4,08)

Chlamydospores conidiennes :

Absentes le premier mois, assez abondantes par la suite. Intercalaires ou terminales, rondes ou ovales, le plus souvent unicellulaires. Protoplasma hyalin à l'état jeune, puis granuleux, membrane épaisse, lisse, muriquée ou verruqueuse.

0 cloison	6,35 x 5,46	(4,89-8,16 x 4,08-6,53) microns
1 -	8,80 x 5,36	(7,95-9,79 x 4,08-6,12)

Chlamydospores mycéliennes :

Absentes ou rares les deux premiers mois, abondantes par la suite. Isolées ou plus rarement groupées en courtes chaînes, intercalaires ou terminales. Forme générale ronde ou globuleuse; le plus souvent unicellulaires, protoplasma granuleux, membrane très épaisse, lisse, muriquées ou verruqueuse.

0 cloison	7,92 x 6,39	(6,53-9,79 x 4,89-7,95) microns
1 -	12,65 x 5,60	(12,24-13,06 x 5,10-6,12)

8°- SUR POMME DE TERRE GELOSEE, GLUCOSEE à 2%A/- Caractères culturaux

Type A: Mycélium aérien peu à très peu fourni, duveteux ou feutré, à structure lâche; blanc à blanc sal, avec des plages violet aubergine à la base des cultures; formant sur le verre une fine trame incolore et quelques courtes mèches violacées. Plectenchyme inexistant à la partie supérieure des cultures, mince et lisse à la base, incolore, mauve puis violet aubergine presque noir. Sclérotés précoces, plus ou moins abondants, punctiformes, formés sur le stroma ou dans sa masse, isolés ou groupés en agrégats de très petite taille, de couleur brun foncé à noir. Petits sporodochia dans le mycélium aérien. Pionnotes en petites gouttes fluides formées la seconde semaine dans le stroma ou faisant saillie à sa surface, peu abondants, isolés, groupés en amas muriformes ou en nappes imprégnant plus ou moins le mycélium aérien, de couleur crème, gris violacé ou violet aubergine. Substratum intégralement brun violacé à brun noir, rarement plus clair.

Type B: Identique au type A en ce qui concerne le stroma. Pionnotes apparus dès la première semaine sur le substratum, d'abord punctiformes, de couleur Isabelle ou ocracée, puis en large nappe, peu épaisse, fluide, à surface finement grumeleuse et humide, de couleur mauve à violacée. Pionnotes punctiformes, incolores dans le mycélium aérien. Pas de sporodochia. Substratum virant au brun violacé ou au brun noir et, dans les repiquages ultérieurs, restant plus ou moins incolore.

Type C: Mycélium aérien pauvre, ayant l'aspect de plaques duveteuses ou feutrées, peu épaisses, plus ou moins étendues, de couleur blanche à violacée; formant sur le verre une trame de filaments incolores ou violacés. Plectenchyme pelliculaire, lisse, uni, d'abord incolore puis mauve, violet et finalement brun noir. Au cours des repiquages ultérieurs, cette coloration tend à s'affaiblir.

Type D: Mycélium aérien inexistant sur le milieu de culture et formant sur le verre une fine trame incolore. Plectenchyme pelliculaire, lisse et uni, plus ou moins violacé. Substratum incolore.

B/- Caractères micrographiquesMacroconidies:

Un peu plus courtes que la normale et de ce fait moins élancées. Subrectilignes à moyennement courbes. Sommet en bec émoussé plus ou moins croche, parfois à peine marqué. Base tétiniforme, mucronée, subconique ou peu différenciées; 1 à 4 cloisons

droites; 3 cloisons dominantes. Les anomalies morphologiques observées sur ce milieu avaient déjà été signalées par TUCKER en 1927 dans son travail "Vanilla root rot".

Biométrie sur cent vingt et une conidies d'origine pionnatale prélevées sur une culture âgée de 15 à 18 jours.

0 cloison	12,24 x 2,65	(11,42-13,06 x 2,44-2,85) microns
1 -	16,45 x 3,19	(14,69-19,59 x 2,85-3,26)
2 -	23,01 x 3,30	(18,77-27,75 x 3,06-3,47)
3 -	30,21 x 3,67	(24,48-36,73 x 3,26-4,08)
4 -	34,28 x 4,08	

Microconidies

Abondantes; isolées; ovoïdes, cylindracées, plus rarement réniformes; parfois mucronées; le plus souvent unicellulaires.

0 cloison	6,08 x 2,44	(4,08-8,57 x 2,24-2,65) microns
1 -	10,20 x 2,78	(9,38-11,42 x 2,65-2,85)

Chlamydo-spores conidiennes

Assez abondantes dans les cultures de un mois. Intercalaires ou terminales; rondes, ovales ou allongées; en majorité unicellulaires. Protoplasma hyalin, puis un peu granuleux dans les chlamydo-spores âgées; membrane épaisse, lisse.

0 cloison	7,46 x 4,51	(5,71-8,77 x 3,87-6,53) microns
1 -	7,90 x 4,28	(6,93-8,77 x 4,08-4,48)

Chlamydo-spores mycéliennes

Absentes le premier mois, puis abondantes. Isolées ou en courtes chaînes; terminales, intercalaires, latérales, forme générale ronde, ovale ou ovoïde, en majorité unicellulaires. Protoplasma hyalin puis très granuleux; membrane épaisse, lisse, plus ou moins verruqueuse ou digitéolée.

0 cloison	8,79 x 6,35	(5,71-11,22 x 4,89-7,34) microns
1 -	14,57 x 6,97	(11,02-16,32 x 4,89-8,97).

Description sommaire
de la souche F. 338, forme mutante de
F. bulbigenum var. batatas f. Vanillae

Souche isolée en Octobre 1958 d'une racine aérienne récoltée dans une vieille vanillerie, établie sur sable littoral: Plantation BEGUE à Mahanoro, ayant fourni précédemment la F. 304.

Caractères culturaux : Souche très voisine du type F. 304; s'en distinguant toutefois par la coloration orange de certains stromas, cette teinte n'ayant jamais été observée sur le type fondamental :

- plectenchyme et sclérotés uniformément rouge-orange sur grains de riz.
- pionnotes orange vif sur tous les milieux.

Caractères micrographiques : Aucune différence notable n'a été relevée dans ce domaine entre la souche F.338 et le type fondamental.

Biométrie sur cent vingt trois conidies d'origine pionnotale et mycélienne, prélevées sur une culture de 19-21 jours, sur farine d'avoine gélosée :

Macroconidies

0 cloison	:	12,24 x 2,65	microns
1	-	13,87 x 3,06	
2	-	19,59 x 3,06	(17,95-21,22 x 2,65-3,26)
3	-	34,72 x 3,56	(26,93-42,44 x 2,85-4,08)
4	-	39,99 x 3,77	(33,46-44,89 x 3,46-4,28)
5	-	43,26 x 3,93	(39,18-48,97 x 3,87-4,08)

Microconidies

0 cloison		6,25 x 2,37	(4,08-8,16 x 2,04-2,65) microns
-----------	--	-------------	---------------------------------

Chlamydozoaires mycéliennes

0 cloison		8,65 x 7,59	(6,93-11,02 x 6,93-8,97) microns
1	-	9,79 x 6,93	

Virulence :

Test préliminaire sur racines émises par boutures acôtées: sur huit racines testées, sept ont été détruites.

Test définitif sur boutures acôtées à 4 noeuds, 2 feuilles :

- en compost stérile : 12 boutures; au bout de 60 jours on relevait 9 systèmes radiculaires nécrosés, 1 bouture saine, deux boutures non racinées.
soit: morbidité : 90%
- en compost non stérile : 12 boutures; au bout de 60 jours on relevait 10 systèmes radiculaires nécrosés, une bouture saine, une bouture non racinée
soit: morbidité : 90%

Les tests adoptés ont donc fourni pour les souches F. 304 et F. 338 des résultats très voisins.

Distribution géographique : Souche obtenue en un seul exemplaire à Mahanoro sur un lot de 16 racines aériennes nécrosées, les autres racines ayant fourni le parasite sous ses aspects culturels habituels; cette souche n'a jamais été réisolée par la suite. Les observations consignées au début de ce chapitre permettent de penser que la F.338 est un mutant du type fondamental.

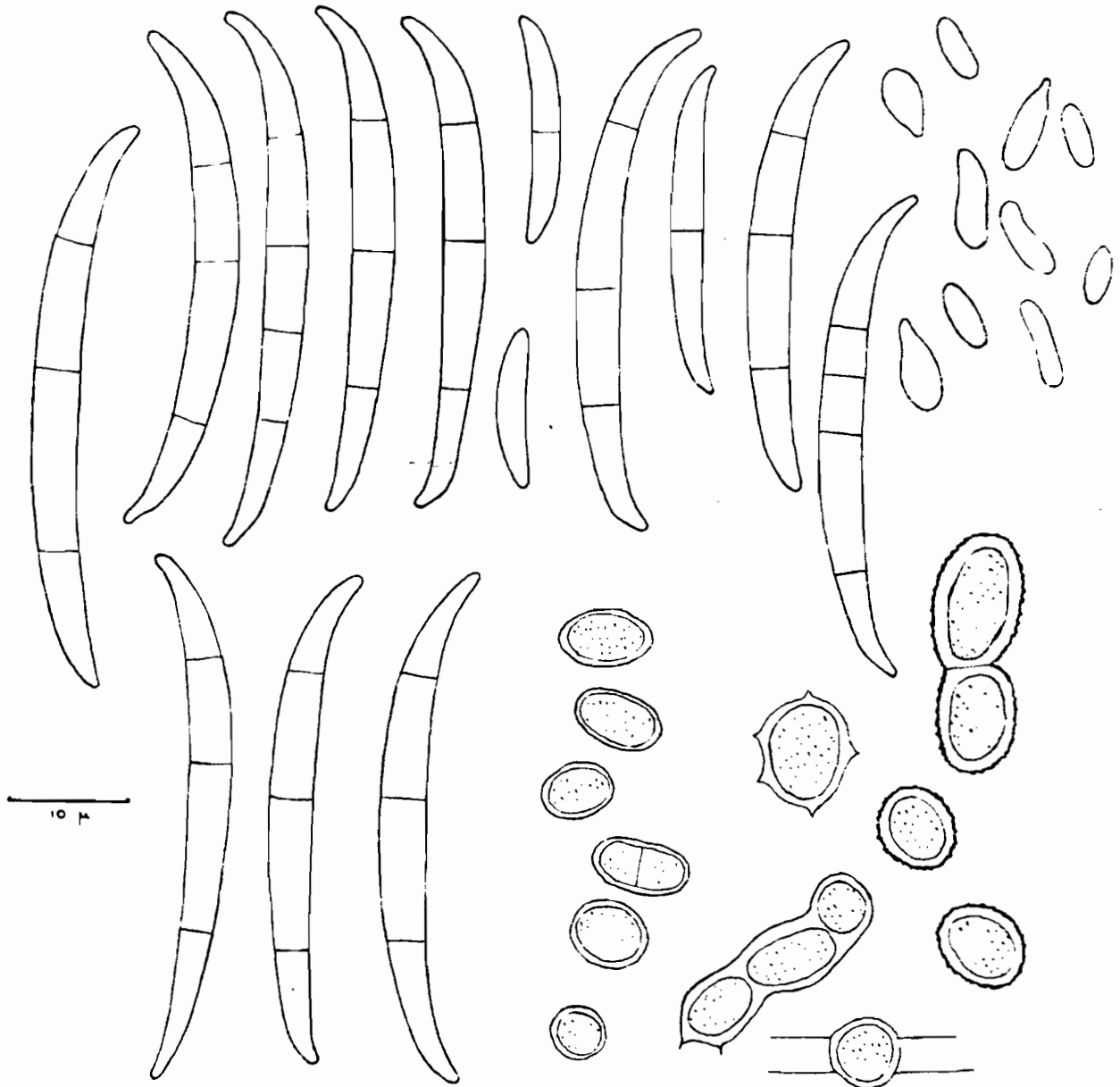
F. 304 - 15 - 113 - 3

FUSARIUM BULBIGENUM

var. batatas forma vanillæ

macroconidies

microconidies



chlamydospores
conidiennes

chlamydospores
mycéliennes

- RESUME DES CARACTERES MORPHOLOGIQUES -

Mycélium aérien: Duveteux, feutré, poudreux, cotonneux, filamenteux ou ouaté; plus ou moins vigoureux suivant les aspects culturels et les substrats; restant peu fourni sur organes végétatifs de vanilliers, tiges de crotalaria, tranches de carotte et milieux gélosés, toujours dense et abondant sur riz; de couleur rose, rouge, mauve ou violacée, sauf sur tiges de crotalaria et organes végétatifs de vanilliers où il reste blanc; irrégulièrement taché de vert bouteille sur organes végétatifs de vanillier, tranches de pomme de terre et carotte.

Plectenchyme: Très mince et souvent discontinu sur organes végétatifs de vanilliers, tiges de crotalaria et les milieux gélosés, épais sur les autres substrats; lisse ou modérément plissé; d'abord blanc, puis jaunâtre, ultérieurement coloré comme le mycélium aérien, parfois franchement noir sur tranches de pomme de terre.

Sclérotés: Assez rarement présents, globuleux, de petite taille (moins de 1 mm); généralement peu nombreux et isolés, sauf sur riz, pomme de terre et carotte où ils sont parfois groupés en rognons de dimensions modestes; progressivement noyés dans le stroma; incolores, jaunâtres puis bleu-vert ou vert foncé presque noir; sur riz virant au rose, au mauve ou au violet.

Sporodochia: Apparaissant dans les cultures de 8 à 15 jours sous la forme de pustules blanches, isolées, pouvant atteindre 300 microns de diamètre, formées dans le mycélium ou sur le plectenchyme, plus ou moins abondantes sur tous les milieux, parfois groupées en plages poudreuses de couleur blanche, vieux mauve ou violet aubergine sur tranches de pommes de terre, riz et farine de maïs gélosée. Ce type de fructification n'est pas stable et il disparaît assez rapidement au cours des repiquages successifs.

Pionnotes: Formés dans les cultures de 3 semaines environ sur le plectenchyme, sur les sclérotés ou dans le mycélium; assez à très abondants sur tous les milieux, sauf sur riz où ils sont difficiles à obtenir et sur organes végétatifs de vanillier où ils restent de petite taille et isolés. En forme de gouttes fluides et luisantes, groupées dans les cultures âgées soit en plages grumeleuses, soit en amas volumineux fortement saillants sur le stroma, soit en nappes à surface lisse ou finement chagrinée, de couleur saumon; crème, mastic, beige et plus rarement brun, violet ou violet aubergine. Ce type de fructification n'est pas stable et il disparaît assez rapidement au cours des repiquages successifs.

Macroconidies: Insérées isolément sur les hyphes ou groupées en pionnotes et en sporodochia. Elancées, courbure générale homogène, très faible à modérée, base le plus souvent pédiforme, plus rarement tétiniforme, sommet en bec émoussé, plus ou moins croché; 0 à 6 cloisons droites, 3 cloisons dominantes, 4 fréquentes; 0, 1, 2, 5 et 6 rares à très rares.

0 cloison	14,69 x 2,75	(11,42-19,59 x 2,44-3,26)	microns
1 -	17,14 x 3,02	(13,06-32,65 x 2,44-3,67)	
2 -	22,04 x 3,23	(15,50-34,28 x 2,65-3,67)	6,8
3 -	34,97 x 3,60	(24,48-50,61 x 2,85-4,08)	9,7
4 -	40,09 x 3,89	(30,20-51,42 x 3,46-4,28)	10,3
5 -	45,92 x 4,26	(37,54-52,24 x 4,08-4,69)	

Microconidies: Absentes ou rares dans les pionnotes; précoces et très abondantes dans le mycélium aérien, isolées, plus rarement groupées en fausses-têtes, le plus souvent unicellulaires, ovales, ovoïdes, allongées, base souvent mucronée.

0 cloison	7,64 x 2,66	(4,08-13,06 x 2,04-3,46)	microns
1 -	12,24 x 3,03	(6,93-18,77 x 2,44-4,08)	

Chlamydospores conidiennes: Apparaissant au bout d'un mois environ et devenant très abondantes dans les cultures âgées. Intercalaires, plus rarement terminales ou latérales, rondes, en général unicellulaires, protoplasma plus ou moins granuleux, membrane lisse ou très faiblement ornementée.

0 cloison	6,72 x 5,38	(4,69-10,61 x 3,87-7,34)	microns
1 -	9,38 x 5,01	(6,93-16,32 x 4,08-6,53)	

Chlamydospores mycéliennes: Précoces et devenant très abondantes dans les cultures âgées. Isolées ou en chaînes plus ou moins longues, intercalaires, terminales, latérales. Rondes ovales ou globuleuses; en majorité unicellulaires - A maturité: protoplasma très granuleux; membrane épaisse, lisse, verruqueuse, muriquée, digitéolée.

0 cloison	8,08 x 6,73	(5,51-12,24 x 4,89-11,83)	microns
1 -	12,83 x 6,76	(9,79-16,32 x 4,89-8,97).	

- BIOLOGIE DU CHAMPIGNON -

- Etude de la virulence; notation de ce caractère.
- Distribution géographique du parasite; description des principaux lieux d'isolement.
- Mode de vie du parasite; problèmes en suspens.
- Dégats provoqués par le parasite sur les organes aériens du vanillier.
- Virulence du parasite sur matériel végétal divers.
- Influence du pH des solutions nutritives sur le développement du parasite.
- Influence de la température sur le développement du parasite.
- Résumé des caractères biologiques.

ETUDE DE LA VIRULENCE
NOTATION DE CE CARACTERE

Au cours de cette étude, nous avons constitué une collection de souches parasites récoltées sur le Territoire même de Madagascar, à Sainte-Marie et à Nossi-Be. Toutes les zones productrices de vanille ont donc été prospectées méthodiquement de 1957 à 1959.

Ce travail de recensement avait un double objectif :

- 1°- identification des souches parasites provoquant la fusariose du Vanillier dans les zones de cultures.
- 2°- comparaison des souches au point de vue de leur virulence: l'existence possible de plusieurs races physiologiques caractérisées par des degrés de virulence différents intéresse non seulement le Pathologiste mais aussi le Généticien, car ce spécialiste a pour objectif la création d'une plante résistante à la maladie; pour y parvenir, il doit nécessairement tester la sensibilité du matériel végétal nouveau avec une souche possédant la virulence maxima.

Le classement des souches en fonction de leur pouvoir pathogène repose sur l'analyse des dégats provoqués par ces souches dans le système racinaire des plantes atteintes; l'examen des organes aériens ne peut fournir aucun élément pour une étude de ce genre car le flétrissement de la plante malade est souvent tardif en raison des réserves dont elle dispose.

L'estimation de la virulence d'une souche repose donc sur la notation des caractères suivants :

- nombre et vitesse d'apparition des symptômes morbides relevés sur un lot standard de matériel végétal en soixante jours. Ce matériel végétal est constitué par vingt boutures acôtées de *V. fragrans* possédant 4 noeuds et 2 feuilles, repiquées sur terre de bruyère stérile (10 boutures) et terre de bruyère non stérile (10 boutures) contaminée au préalable par la souche à étudier. Le protocole expérimental utilisé pour ce test est décrit en détail dans un précédent chapitre.
- emplacement et dimensions des nécroses: les souches très virulentes envahissent la racine dès que celle-ci pénètre dans le sol; les nécroses débutent au voisinage de la pointe et remontent souvent jusqu'à la tige. Les nécroses provoquées par des souches moins virulentes apparaissent en un point quelconque de la racine, elles évoluent plus lentement et parfois, elles se stabilisent avant la destruction complète de la racine, celle-ci peut alors reprendre sa croissance. Dans certains cas, les nécroses sont peu étendues en surface et ne gagnent pas en profondeur, seules quelques files de cellules dans le voile et le cortex étant détruites par le parasite.

En définitive, ce travail a donné les résultats suivants

- Le champignon étudié ici a été retrouvé dans le système racinaire de toutes les lianes atteintes de fusariose; on peut admettre en conséquence qu'il est le principal parasite du Vanillier à Madagascar. Il n'a jamais été isolé sur organes aériens.
- La virulence de ce champignon est plus ou moins accentuée suivant les souches; il est donc nécessaire de compléter l'identification du parasite par l'examen de sa virulence.
- La virulence d'une souche ne dépend pas de son aspect culturel, les formes très hautes et très basses pouvant être également pathogènes.
- Une souche pathogène, conservée au laboratoire peut perdre progressivement sa virulence; ce caractère n'est donc pas stable. Cela fut observé sur une forme haute isolée en Mars 1957 et repiquée depuis cette date sur milieux de conservation usuels et sur terre humifère. Le pouvoir pathogène de cette souche fut testé à 2 ans d'intervalle: il fut noté qu'elle était très virulente en 1957, elle l'était beaucoup moins en 1959 bien que ses caractères culturels n'aient pas évolués pendant cette période.

Au cours de ce chapitre, nous aurons l'occasion de revenir plus longuement sur ces différents problèmes.

- DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DU PARASITE -

Il ressort de cette étude que le parasite du vanillier est un organisme très cosmopolite; son aire de végétation est vaste et l'on peut dire qu'elle recouvre au minimum l'aire de végétation du vanillier sur la Côte Est. Les plantations prospectées à Andapa, Sambava, Antalaha, Tamatave et Mahanoro sont, sans exception, atteintes à des degrés divers; les premiers symptômes de la maladie peuvent se manifester avant que les lianes aient fructifié et dans les plantations particulièrement négligées, ils sont visibles dès la première année. Tous les échantillons examinés, quelque soit leur provenance géographique, ont fourni une souche pathogène analogue à l'un des types morphologiques ci-dessus décrits.

Dans une seule plantation, le parasite a été isolé de 14 racines aériennes nécrosées sur les 16 qui avaient été récoltées. On peut donc dire qu'il est à l'origine de tous le cas de fusariose observés à Madagascar, sur la Côte Est.

Ceci nous amène à constater que ce champignon a des exigences assez souples en ce qui concerne la structure et la composition chimique du milieu ambiant puisqu'il sévit aussi bien sur sables quartzeux et coralliens du Cordon littoral (pH 7 à 8) que sur alluvions sablo-limoneuses d'origine fluviale (pH 5 à 6) et même sur sols de marais dont le pH est encore plus bas. Il ne semble pas en conséquence qu'une alcalinisation des sols ait une chance quelconque de réduire les dégâts provoqués par ce parasite.

Nous donnons ci-après la description des emplacements les plus typiques où fut isolé le parasite sur des Vanilliers atteints par la fusariose.

- a)- TAMATAVE (Ivoloina, à 13km au N. de la ville) région où la culture du vanillier n'est plus pratiquée depuis quelques décennies.
- Terreau de feuilles recouvrant des alluvions sableuses d'origine fluviale dans une zone non cultivée. Cet humus fut prélevé aseptiquement et réparti en pots désinfectés. Un lot de jeunes vanilliers issus de semis, repiqué sur ce milieu fut ravagé par la fusariose et a fourni en Mai 1957 la souche F.113.
 - Vanillerie établie en 1954 sur bourrelet de berge planté en caféiers de 1914 à 1950; sol limoneux, bien drainé, constitué par des alluvions micacées récentes, acides (pH-5), pauvres en matière organique sauf en surface, très pauvre en P2 O5 et faiblement pourvu en bases échan-

Ombrage tuteur: *Gliricidia maculata* - Couverture du sol: *Paspalum conjugatum*, *Stenotaphrum madagascariensis*, *Commelina nudiflora*. Sur une liane de 3 ans, épuisée par une première récolte excessive, on isole en Mars 1957 la souche F.15
 Dans cette plantation, le parasite est obtenu à nouveau en Décembre 1957.

- b)- ANTALAHA: Zone de culture du Vanillier. Centre de recherches agronomiques du Vanillier à Ambohitsara (verandah de la maison directoriale); un prélèvement effectué sur lianes de 3 ans, bien entretenues, plantées en bac sur sol de jardin, fournit la souche F.267
- Plantation de Monsieur P. POIRIER, située à 5km au N. d'Antalaha sur des reliefs parfois très accusés - Prélèvements effectués dans une parcelle aménagée en 1954 en terrain plat. Sol latéritique, dérivant des roches cristallines sous-jacentes, assez bien pourvu en matière organique, en P2 O5, en sels solubles et en bases échangeables, porosité satisfaisante bien que limons et argiles soient dominants, acidité moyenne (pH-6). Ombrage: *Casuarina equisetifolia*; tuteur: *Jatropha curcas* et *Gliricidia maculata*; couverture du sol: *Stenotaphrum madagascariensis* - Ce type de plantation est, de loin, le plus fréquent dans les districts d'Antalaha et d'Andapa; mais les sols sont en général plus épuisés qu'ils ne le sont ici.
 - Plantations de MM. ROCHE et FONTAINE, situées sur l'Ankavia en aval d'Ambohitsara. Sols bons et profonds, constitués par des alluvions fluviatiles récentes, sablo-limoneuses, acides (pH: 4,9 à 5,7), assez bien pourvues en matière organique et en bases échangeables, pauvres en P2 O5 - Prélèvements effectués dans des parcelles de 2 et 4 ans, aménagées correctement et bien entretenues; ombrage-tuteur: *Gliricidia maculata*; couverture du sol: *Paspalum conjugatum* et *Stenotaphrum madagascariensis* - Les pieds sont sains et n'ont pas encore fructifié, mais certains d'entre eux présentent déjà des symptômes nets de fusariose.
 - Plantation autochtone située sur la Côte, à 30 km environ au S. d'Antalaha entre Ambodipont et Sahantaha. Vanillierie de 1 an établie sur défriche de forêt primitive. Sol sablonneux, à horizon supérieur humifère. Tuteur, ombrage: végétation spontanée. Couverture du sol inexistante, le *Stenotaphrum madagascariensis* ne s'étant pas encore implanté. Entretien: néant. Cette jeune plantation, complètement abandonnée malgré les hauts cours pratiqués fin 1958, présente déjà des symptômes caractéristiques de fusariose.

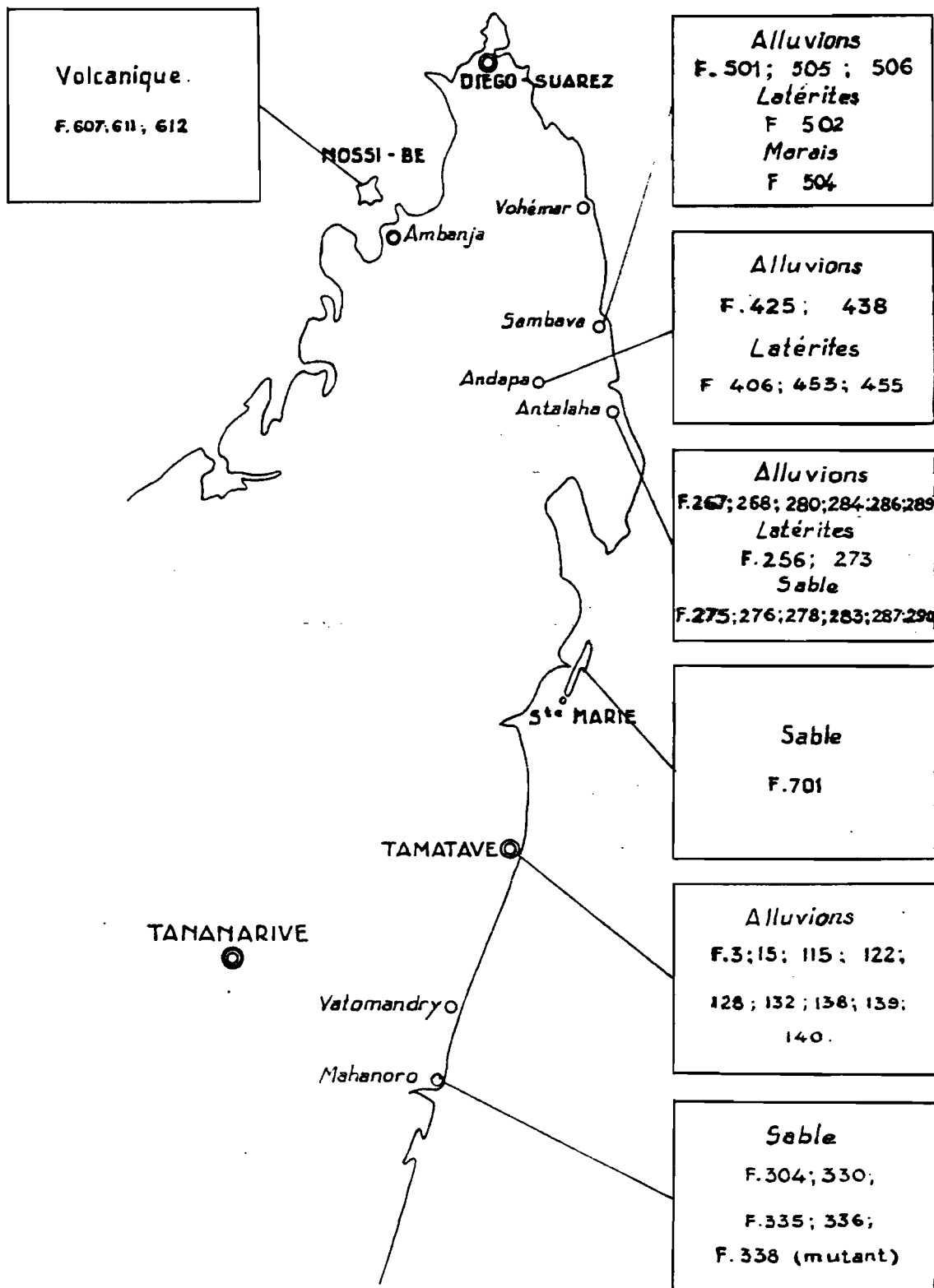
- c)- ANDAPA: principale zone de production de la Côte Est.
- Fond de la cuvette: alluvions fluviales récentes plus ou moins hydromorphes, constituées par des limons et des argiles, acides (pH-5); pauvres en matières organiques sauf en surface, pauvres en P2 O5 et en sels solubles, mieux pourvues en bases échangeables. Prélèvements effectués chez Monsieur PERRIER à Anjomavato, dans une plantation de 6 ans sous *Jatropha curcas*, non ombragée. Couverture du sol: graminées spontanées - Parcelle inondée en 1956; les pieds ayant survécu, ont des coups de soleil et sont tous atteints par la fusariose.
 - Reliefs de bordure: sols latéritiques à dominante sableuse, dérivés des roches cristallines sous-jacentes, acides (pH-5) assez riches en matière organique, pauvres en P2 O5 et en sels solubles, mieux pourvus en bases échangeables - Prélèvements effectués chez Monsieur PERRIER à Anjomavato dans une plantation de 5 ans établie sur forte pente. Tuteur: *Jatropha curcas* - ombrage: *Albizia stipulata* - couverture du sol: spontanée. Nombreux cas de déchaussement de racines provoqués par le ruissellement; l'attaque de fusariose est à peu près généralisée.
 - Prélèvements effectués chez Monsieur MANOELINA à Antsameloka dans une vanillerie de trois ans établie sur défriche forestière récente, quelques arbres ayant été conservés pour assurer l'ombrage de la parcelle. Tuteur: *Jatropha curcas* et *Manihot glazowii* - couverture du sol: spontanée. Les lianes sont saines dans l'ensemble et bien entretenues, cependant quelques pieds typiquement malades groupés en petites taches sont déjà visibles sur les pentes les plus fortes dans la partie haute de la plantation.
- d)- MAHANORO: Prélèvements effectués chez Monsieur BEGUE dans une plantation établie en 1935 sur sables quartzueux et coralliens du cordon littoral - L'horizon supérieur est sablonneux, riche en humus et en calcaire (pH-7), ce qui est une exception pour la Côte Est. Tuteur: *Jatropha curcas* - Ombrage: *Casuarina equisetifolia*. Couverture: *Stenotaphrum madagascariensis*. Jusqu'en 1956, les cas de fusariose étaient rares; depuis cette date, la maladie a pris une extension considérable. En Août 1957, on isole la souche F.304 et en Octobre 1958, un prélèvement de 16 racines fournit 14 souches pathogènes appartenant aux différents types morphologiques décrits ci-dessus.

Les données pédologiques ont été fournies par M. ROCHE de la Conservation des Sols et M. SAINT AMAND de l'ORSTOM.

e)- NOSSI-BE: Le climat de Nossi-Be est marqué par une saison sèche de huit mois environ; la végétation du vanillier se ressent de ce manque d'eau à tel point qu'un système d'irrigation rudimentaire a été aménagé dans l'une des principales vanilleries. Cette culture est pratiquée dans l'E. et le S.E. de l'île sur des sols dont la valeur est très inégale. Ce sont, soit des latérites assez pauvres, soit des sols plus riches, humifères mais pierreux et peu profonds, provenant de coulées volcaniques récentes. Dans tous les cas le pH est acide. Prélèvements effectués chez MM. VALENTINI, GENESIE, FIDAL et chez un propriétaire Sakalava sur du matériel végétal âgé de 1 à 5 ans. Ces plantations sont ombragées par Albizzia stipulata ou par des essences spontanées. Le tuteur le plus employé est Jatropha curcas. La couverture du sol est spontanée. Les vanilliers sont, à âge égal, moins vigoureux et moins développés que sur la Côte Est; cela peut s'expliquer par la sécheresse du climat et par le fait que les lianes ne sont jamais provignées. La fusariose sévit dans toutes les plantations, comme sur la Côte Est.

Les données pédologiques ont été fournies par M. ROCHE de la conservation des Sols et M. RIQUIER de l' O.R.S.T.O.M.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DE FUSARIUM BULBIGENUM var. BATATAS f. vanillae.



N° des souches pathogènes classées d'après leur provenance et d'après la nature pédologique des sols sur lesquels les échantillons malades ont été récoltés

MODE DE VIE DU PARASITE

Le parasite se retrouvant de façon constante dans les racines malades, et par voie de conséquence dans tous les sols de Vanillerie, on peut dès lors se poser la question suivante: la présence du parasite est-elle subordonnée à celle du Vanillier, ou doit-on considérer que ce champignon existe à l'état endémique dans tous les sols et qu'il est capable de s'y maintenir indépendamment de cette Orchidée, soit à l'état saprophytique, soit en parasitant d'autres végétaux ?

Pour répondre à cette question, l'essai suivant a été réalisé: un prélèvement aseptique de sol fut effectué le 23 Mai 1958 entre la surface et l'horizon -5cm. dans une parcelle d'alluvion plantée en caféiers depuis 1912; cette parcelle se trouve au sommet d'un bourrelet de berge et de ce fait, elle ne collecte pas les eaux de ruissellement, elle est cependant inondée au moment des plus fortes crues; aucune vanillerie ne se trouve à proximité. L'ombrage de cette parcelle est assurée par *Albizia Lebbeck*, la couverture du sol par *Paspalum conjugatum*, *Stenotaphrum madagascariensis* et *Commelina nudiflora*. Après élimination des débris végétaux, on a incorporé une certaine dose de sable stérile à l'échantillon de sol pour lui donner la structure désirée.

Le compost ainsi préparé fut réparti en fioles coniques stériles. Vingt et une plantules de *V. fragrans* saines, désinfectées au Soprasan à 1% pendant 10 secondes puis rincées à l'eau stérile, furent repiquées le jour même sur ce milieu. Dix neuf plantules sont mortes de pourriture du système racinaire et du collet entre le 2 et le 30 juin 1958 et dans les tissus nécrosés on a observé d'abondantes fructifications du type *Fusarium*; l'isolement et la purification de cette microflore a permis d'obtenir un *Fusarium* possédant tous les caractères du parasite. Des contaminations expérimentales ont prouvé que la souche isolée dans ces conditions est d'emblée pathogène pour vanilliers adultes.

Par l'intermédiaire de plantules de *V. fragrans*, il est donc possible de déceler le parasite du Vanillier, à l'état virulent, dans des sols qui n'ont jamais été utilisés pour cette culture. Il en découle que l'existence et la survie de ce champignon ne dépendent pas de la présence préalable du Vanillier. Cependant, des essais analogues effectués sur latérite humifère prélevée sur flanc de colline en zone non inondable, à Tamatave et à Antalaha, n'ont donné jusqu'à présent aucun résultat.

L'existence possible d'un deuxième hôte, différent du vanillier, fut alors envisagée.

Le parasite a tout d'abord été recherché dans le système racinaire des plantes les plus communes constituant la couverture spontanée des sols; après inventaire en différents points de la Côte Est, on a retenu pour cet essai: *Paspalum conjugatum* L., *Stenotaphrum madagascariensis* Trin. et *Commelina nudiflora* L. Les isoléments effectués dans ces conditions n'ont pas été couronnés de succès et les contaminations expérimentales opérées avec le parasite du Vanillier ont également donné des résultats négatifs. Cet essai n'est cependant pas concluant car le matériel soumis au test ne représente qu'une fraction de cette couverture végétale spontanée.

Toutefois, il est probable que ce champignon n'a pas un mode de vie strictement parasitaire et qu'il est capable de subsister dans le sol, à l'état saprophytique en l'absence de tout hôte vivant, car il a été isolé sur de très jeunes lianes établies en forêt récemment défrichées, sur sol complètement dépourvu de couverture végétale spontanée.

Pour étayer cette présomption, l'essai suivant a été réalisé au Laboratoire en 1958-59. La souche F.15 fut réisolée de racines mortes à la suite d'un test de virulence; elle fut inoculée par suspension de spores en fioles de 100cc remplies de terre humifère tamisée finement et bistérilisée. Les cultures furent conservées à la température du laboratoire et à l'obscurité pendant 290 jours. Au terme de cette période, la souche fut réisolée du terreau et ensemencée sur les milieux d'identification habituels. Il fut observé que ses caractères cultureux et biométriques étaient restés parfaitement stables. On fit subir à cette souche, pour la seconde fois, les différents tests de virulence. Les résultats obtenus en Avril-Mai 1958 et en Octobre-Novembre 1959 ont été reproduits ci-dessous:

a)- Résultat des inoculations par section de la racine à proximité de l'apex et badigeonnage de la blessure avec un pionnotes du parasite :

en 1958 :	longueur moyenne des nécroses :	54 mm
en 1959 :	longueur moyenne des nécroses :	21 mm

b)- Résultat des tests préliminaires de virulence (racines effectuant leur croissance en compost contaminé par le parasite)

en 1958 :	sur 10 racines testées, 8 ont été tuées par le parasite,
en 1959 :	sur 8 racines testées, 2 ont été tuées par le parasite;
	ces nécroses mesuraient 4 et 12 mm.

c)- Résultat des tests définitifs de virulence (boutures ajoutées repiquées sur terre de bruyère contaminée par le parasite, avec ou sans stérilisation préalable):

en 1958 : sur milieu stérile: 10 cas de fusariose sur 11 boutures
 sur milieu non stérile: 7 cas de fusariose sur 11 boutures.
 en 1959 : sur milieu stérile: 10 cas de fusariose sur 10 boutures
 sur milieu non stérile: 3 cas de fusariose sur 10 boutures.

Il faut noter à ce sujet qu'en 1958 le parasite détruisait assez fréquemment toute la racine ou tout le système radiculaire de la bouture testée. En 1959, les dégats provoqués par cette même souche étaient moins étendus; des coupes transversales effectuées au niveau des zones contaminées ont permis d'observer que le parasite restait souvent localisé à la périphérie de la racine atteinte, celle-ci pouvant demeurer fonctionnelle et poursuivre sa croissance.

Le champignon ayant été maintenu pendant 290 jours sur terre humifère stérile, on peut admettre que cet organisme n'est pas un parasite obligatoire et qu'il est capable de vivre en saprophyte; dans ces conditions, la souche a conservé sa virulence, mais ce caractère a cependant diminué d'intensité.

Nous terminons ce paragraphe consacré au mode de vie du parasite par l'examen de deux problèmes qui n'ont pas encore été résolus.

1°- dans certaines régions, et plus particulièrement à Antalaha les pieds atteints par la fusariose ne sont pas répartis au hasard dans les parcelles. La fusariose affecte initialement une liane quelconque, puis un groupe de lianes situées à proximité de ce premier pied malade, comme si le parasite rayonnait autour d'un point d'inoculation. Les bords de la tache ainsi constituée progressent plus ou moins vite et dans les cas les plus spectaculaires finissent par recouvrir toute la parcelle. Cet aspect épidémique de la fusariose est difficilement explicable si l'on tient compte du fait que le parasite fait partie de la microflore fongique autochtone des sols alluvionnaires et qu'il se trouve, par conséquent, uniformément distribué dans ces sols.

Or l'examen des vanilliers malades montre que le parasite fructifie de façon très abondante dans les racines nécrosées. Les assises pilifères et corticales se remplissent littéralement de spores et, à un stade plus avancé de la maladie, l'enveloppe externe de la racine se désagrège en libérant son contenu. L'agent pathogène est donc ensemençé de façon massive et répétée au voisinage du pied atteint.

..

Cette accumulation de germes favorise peut-être la transmission de la maladie aux pieds voisins qui se trouvent plus exposés que les autres, ce qui entraînerait la formation d'une tache de fusariose.

Une seconde hypothèse doit également retenir l'attention: elle est basée sur le fait que dans toutes les racines nécrosées on relève la présence de quelques anguillules dont certaines sont de type vulnérant. On peut imaginer que ces anguillules à stylet facilitent par leurs scarifications la pénétration du parasite dans les racines du Vanillier. En somme, un foyer d'anguillule serait à l'origine de la tache, le pullulement des nématodes entraînerait ipso facto, l'extension de cette tache.

2°- On admet généralement que les dégâts de la Fusariose ont été moins sévères dans le passé qu'ils ne le sont aujourd'hui. Il est difficile de se faire une idée très exacte sur cette question faute de renseignements suffisamment précis et nombreux; les seules données chiffrées dont on dispose dans ce domaine concernent la longévité des plantations qui autrefois pouvaient fournir dix à douze rapports environ contre cinq au maximum de nos jours.

Il est certes possible d'expliquer cette situation par le jeu de facteurs défavorables: appauvrissement des sols, boutures défectueuses, façons culturales négligées ou absentes, récoltes excessives. Mais certaines plantations, assez peu nombreuses il est vrai, sont établies dans de bonnes conditions et sont fort bien conduites à tous égards; or, elles subissent au même titre que les autres des attaques de fusariose très violentes et leur longévité est à peine supérieure. Faut-il en conclure que la virulence du parasite s'est accentuée au cours de ces dernières décennies ou que le clone cultivé a "dégénéré"? Ce second problème devra faire l'objet, lui-aussi, d'une étude approfondie.

DEGATS PROVOQUES PAR LE PARASITE
SUR LES ORGANES AERIENS DU VANILLIER

- Sur la Côte Est, les organes aériens du Vanillier ne souffrent d'aucune maladie ayant une incidence économique comparable à celle de la Fusariose et seul *Phytophthora Jatrophae* Jens. peut provoquer dans certaines plantations des attaques assez graves. Il est cependant possible de lutter contre le Mildiou en améliorant le drainage, en ombrageant moins les cultures, en détruisant soigneusement les tiges et les balais contaminés.
- Ce parasite mis à part, les cas de pourriture observés sur jeunes lianes ont le plus souvent une origine accidentelle (traumatisme, mauvais entretien de la couverture, inondations). Dans les plantations plus âgées, les nécroses sur tiges deviennent fréquentes. Le *Fusarium* étudié ici n'a jamais été isolé de ces lésions aériennes qui sont généralement provoquées par *Nectria Vanillae* Zimm. Il a été noté que les attaques de *Nectria* se produisent toujours sur des lianes dont le système racinaire est déjà très touché par la fusariose, aussi pensons-nous que ce champignon peut être assimilé à un parasite de faiblesse.
- Par inoculation en serre, la souche F.304 peut causer la destruction des tiges et feuilles du vanillier. Ces résultats ont été obtenus sans blessure préalable, en badigeonnant l'épiderme des bourgeons et des jeunes tiges avec un pionnotes du parasite. En une semaine, une nécrose de couleur chocolat se forme autour de l'inoculum et se recouvre de petits sporodochia blancs. Tous les tissus jeunes situés à proximité jaunissent à leur tour et virent au brun sombre. Sur tiges aoûtées, les dégats sont moins étendus et ils ne se produisent qu'à la faveur d'une blessure préexistante, les inoculations sur tissus non traumatisés n'ayant jamais été couronnés de succès.
- AVERNA - SACCA, au Brésil, décrit les dégats provoqués sur tiges et feuilles de Vanillier par un *Fusarium*; toutefois la diagnose fournie par cet Auteur est très succincte et il est impossible de se prononcer sur l'identité du parasite.
AVERNA - SACCA R. - Algumas das molestias cryptogamicas mais cummuns da Baunilha (*Vanilla planifolia*) nos estados de S. Paulo e. S. Catharina.
Bol. Agr., 23, pp.282 - 305, Sao-Paulo, 1922.

- De même, à Tahiti, MEINEKE signale l'existence d'un *Fusarium* sévissant sur jeunes pousses de vanillier. Mais la description du champignon n'est pas donnée, ce qui interdit toute interprétation de ce résultat.
MEINECKE E.P. - Les vanillières de Tahiti et de Moorea. Papeete, 1916.
- TUCKER étudiant la fusariose du Vanillier à Porto Rico ne mentionne aucune attaque sur organes aériens; il inocula sur tiges et feuilles le *Fusarium* qu'il avait isolé de racines malades; les résultats obtenus par cet Auteur sont en accord avec les nôtres.
TUCKER C.M. - Vanilla root rot. Journ. of Agr. Res., vol.35, n°12, 1927.

VIRULENCE DU PARASITE SUR MATERIEL VEGETAL DIVERS

Des plantules de *Coffea robusta* au stade 2-3 paires de feuilles, des boutures d'*Ipomoea batatas*, d'*Hibiscus sabdariffa*, des tubercules de *Solanum tuberosum* et des bulbes d'*Allium cepa*, repiqués sur terre alluvionnaire stérile, furent contaminés deux fois, à quinze jours d'intervalle, par arrosage avec une suspension de spores de la souche. Ces inoculations n'ayant donné aucun résultat, le matériel végétal fut scarifié au collet et contaminé une nouvelle fois. Un mois plus tard, les plantes étaient saines et se développaient normalement. Des graines de *Nicotiana tabacum* var. Maryland, de *Solanum lycopersicum* et de *Gossypium* sp. d'origine américaine furent semées sur terre sablonneuse désinfectée à la chaleur humide - quand les plants de Tabac eurent atteint 3mm de haut, ceux de Tomate et de Cotonnier 20 à 30mm, ils furent contaminés par arrosage avec une suspension de spores de la souche. Quinze jours plus tard une nouvelle contamination fut effectuée. Les plants restant sains, ils furent scarifiés au collet et contaminés une nouvelle fois. Un mois plus tard, les sujets traités ne présentaient aucun symptôme de fusariose et leur croissance était normale.

Cet essai fut répété quelques mois plus tard; les résultats obtenus ont confirmé que le parasite du Vanillier n'est pas pathogène pour le matériel végétal énuméré ci-dessus.

INFLUENCE DU pH DES SOLUTIONS NUTRITIVES
SUR LE DEVELOPPEMENT DU PARASITE

Les sols à vocation agricole de la Côte Est sont acides et leur pH est généralement compris entre 4,5 et 6; seuls font exception les sables littoraux, d'origine corallienne, à réaction neutre ou alcaline. Les essais décrits dans ce chapitre ont pour objet de déterminer si le développement du parasite, cultivé au laboratoire sur diverses solutions nutritives, est affecté par ces variations de pH. Deux milieux de culture ont été utilisés à cette fin :

a)- Solution de Coon

Saccharose	:	7.200 mg
Glucose	:	3.600 -
Nitrate de Potassium	:	2.020 -
Sulfate de Magnésium	:	1.230 -
Phosphate monopotassique	:	de 0 à 2.200 mg suivant pH
Eau	:	qsp 1000 cc

b)- Solution n°32-u/Ivolcina

Nitrate de Calcium	:	1000 mg
Chlorure de Potassium	:	500 -
Sulfate de Magnésium	:	250 -
Nitrate de Sodium	:	50 -
Sulfate ferreux	:	10 -
Sulfate de Manganèse	:	7 -
Saccharose	:	20.000 -
Levure	:	traces
Phosphate monopotassique	:	de 0 à 1.100mg suivant pH
Eau	:	qsp 1000 cc

Le premier de ces milieux est classique: il fut employé par Luis A. ALVAREZ GARCIA dans un travail analogue sur le Fusarium parasite du Caféier à Porto-Rico, le second a été mis au point à l'Ivolcina pour certains vanilliers issus de semis qui ne supportent pas les milieux de culture habituels.

Ces milieux ont été utilisés à l'état liquide et pour chaque pH, on a préparé 5 erlenmeyers contenant chacun 100 cc de solution nutritive que l'on a ensemencé avec la souche F. 304. Les cultures ont été maintenues à la lumière et à la température du laboratoire pendant 59 jours. Après filtration sur tamis à mailles fines et lavage à l'eau courante, le stroma de chaque culture fut recueilli dans un verre de montre taré, mis en étuve à 50° jusqu'à dessiccation complète et pesé. Ces résultats ont été consignés dans les tableaux ci-dessous.

Poids matière sèche produite par la Souche F.304
cultivée sur solution de Coon - ajustée aux pH 6,2 à 4,6

PO ₄ H ₂ K mg/l	0	10	20	40	100	200	400	600	1000	1400	1800	2200
pH initial	6,2	6	5,9	5,8	5,6	5,5	5,3	5	4,9	4,8	4,7	4,6
pH final	6,4	7,6	8,1	8,3	8,4	8,5	8,1	8	7,9	7,8	7,6	7,2
différence entre pH init.et final	0,2	1,6	2,2	2,5	2,8	3	2,8	3	3	3	2,9	2,6
Poids mycélium (en gr.) récolté dans cha- que culture	0,038	0,168	0,150	0,121	0,196	0,182	0,237	0,277	0,288	0,293	0,302	0,272
	0,093	0,183	0,102	0,112	0,221	0,192	0,245	0,287	0,297	0,303	0,260	0,257
	0,040	0,178	0,105	0,121	0,200	0,179	0,254	0,265	0,276	0,283	0,298	0,230
	0,049	0,158	0,123	0,144	0,209	0,198	0,226	0,270	0,290	0,271	0,293	0,262
	0,047		0,133	0,137	0,212	0,199	0,257	0,268	0,293	0,286	0,301	0,275
Total par lot en gr.	0,267	0,687	0,613	0,635	1,038	0,950	1,219	1,367	1,444	1,436	1,454	1,296
Moyenne par cul- ture en gr.	0,053	0,171	0,122	0,127	0,207	0,190	0,244	0,273	0,289	0,287	0,291	0,259

Poids matière sèche produite par la Souche F.304
cultivée sur solution n°32-u/Ivolofna ajustée aux pH 5,8 à 4,6

PO ₄ H ₂ K mg/l	0	100	200	300	500	700	900	1.100
pH initial	5,8	5,7	5,5	5,4	5	4,9	4,8	4,6
pH final	8	7,8	7,7	7,6	7,5	7,4	7,1	7
différence entre pH init. et final	3,2	2,1	2,2	2,2	2,5	2,5	2,3	2,4
Poids mycélium (en gr.) récolté dans cha- que culture	0,381	0,490	0,502	0,504	0,486	0,458	0,569	0,515
	0,360	0,476	0,533	0,524	0,532	0,471	0,467	0,470
	0,370	0,438	0,507	0,462	0,449	0,467	0,470	0,495
	0,377	0,483	0,487	0,488	0,454	0,448	0,460	0,458
	0,360	0,474	0,497	0,477	0,468	0,519	0,418	0,469
Total par lot en gr.	1,848	2,361	2,526	2,455	2,389	2,363	2,384	2,407
Moyenne par cultu- re en gr.	0,369	0,472	0,505	0,491	0,477	0,472	0,476	0,481

Avant de formuler les conclusions qui se dégagent de cet essai, on doit faire les réserves suivantes :

- le mode opératoire choisi reproduit très imparfaitement les conditions qui règnent dans les sols.
- le problème essentiel, qui est celui de la virulence du parasite, ne peut être étudié avec ce dispositif expérimental.
- la portée pratique de cette expérimentation est très limitée, car les conclusions qui en découlent, sont difficilement transposables sur le terrain.

Cela dit, on constate que sur solution n°32-u/Ivofina, les poids de matière sèche obtenue sont assez voisins pour les pH compris entre les valeurs 4,6 et 5,7; tous les milieux de culture ont une coloration brune à la fin de l'essai; les stromas sont épais, feutrés, à bords crispés, ils portent des sclérotés et des pionnotes guttiformes assez rares. Sur le milieu ajusté à pH 5,8, le poids de matière sèche est plus faible, le milieu de culture non coloré, les pionnotes absents.

Sur solution de Coon, la végétation du parasite est dans l'ensemble moins luxuriante. Au pH 6,2, le champignon se développe en nuage blanc, peu dense, complètement immergé, ne formant ni sclérotés, ni pionnotes et ne colorant pas le substratum. Pour les pH compris entre les valeurs 6 et 5,5, les stromas sont plus fournis, le mycélium aérien est d'autant plus abondant que le milieu est plus acide; les sclérotés apparaissent à partir du pH 5,6. A 5,5, le substratum prend une coloration jaunâtre et l'on observe quelques pionnotes.

Sur les milieux dont le pH se situe entre les valeurs 5,3 et 4,6, les stromas atteignent leur développement maximum et produisent en surface des touffes épaisses, rondes, plus ou moins saillantes, de couleur blanche, teintées de bleu noir au centre, portant sclérotés et quelques petits pionnotes; les milieux de culture sont uniformément jaunâtres.

En conclusion, dans les conditions de cet essai, la croissance de la souche F.304 a été peu influencée par les variations du facteur étudié. On peut dire, tout au plus, que le parasite s'est mieux développé en milieu fortement acide (pH 4,5 à 5,5) et que ces pH sont précisément ceux que l'on rencontre le plus souvent dans les sols de la Côte Est.

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LE DEVELOPPEMENT DU PARASITE

Nous sommes très reconnaissants à R. DADANT, phytopathologiste de l' O.R.S.T.O.M. d'avoir bien voulu se charger de ce travail que nous ne pouvions pas faire, dans de bonnes conditions, à l' Ivoloina, n'ayant pas l'outillage nécessaire.

Le dispositif réalisé par DADANT pour étudier l'influence de la température sur le développement des végétaux inférieurs, comporte une étuve et un frigidaire, jumelés par un tunnel de 75cm. de long environ, jalonné par une ligne médiane de thermomètres. Cette enceinte calorifugée fournit de façon stable une gamme de températures s'échelonnant de 6 à 36°C. environ. L'organisme étudié est ensemencé sur solution nutritive liquide, en tubes de 18 x 180mm; des orifices disposés symétriquement par rapport à la ligne de thermomètres permettent de placer ces cultures à la température voulue; elles sont maintenues dans des conditions pendant 30 jours; après notation des caractères cultureux, on deshydrate les thalles obtenus à chaque température et l'on pèse la matière sèche.

L'essai a porté sur les souches suivantes :

- F. 15 : souche du type B, isolée à l' Ivoloina en 1957
- F.138 : souche du type A, isolée à l' Ivoloina en 1958
- F.336 : souche du type B-C, isolée à Mahanoro en 1958.

Les ensemencements ont été effectués sur milieu de Dodge liquide.

Les poids de matière sèche fournie par ces trois sources ont été groupés en classes de 2°C.; le tableau ci-dessous donne la moyenne des résultats obtenus dans chacune de ces classes.

Centre des classes	Nombre de mesures	Poids moyen matière sèche en mg.
35°	7	15
33°	7	30
31°	3	36
29°	8	41
27°	12	39
25°	6	38
23°	9	37
21°	9	34
19°	9	33
17°	9	30
15°	9	27
13°	5	25
11°	4	22
9°	2	16
7°	6	13
5°	1	2

Cet essai a été complété par un relevé de températures effectué dans le sol à -5 et à -10cm de profondeur pendant les mois les plus chauds et les plus frais de l'année 1958. Ces mesures ont été effectuées à l'Ivoroïna (latitude: 20 G 06 sud) en sol d'alluvions recouvert de graminées, sous ombrage permanent de densité moyenne.

- TEMPERATURE DU SOL -

Station de l' Ivoloina, sol couvert de graminées spontanées, ombragé en permanence

Saison fraîche (du 16-7 au 31-8-58)

	Températures moyennes mini & maxi relevées à				III
	6 h.	11 h.	14 h.	16 h.	
-5cm	19,16 (17,70-20,70)	20,40 (18,40-22,25)	20,71 (18,85-22,40)	21,01 (19,10-23,25)	20,32
-10cm	19,54 (18,35-21,00)	20,19 (18,60-21,85)	20,49 (18,85-21,90)	20,68 (19,10-22,05)	20,22

Saison chaude (du 23-1 au 15-3-58)

	Températures moyennes mini & maxi relevées à				III
	6 h.	11 h.	14 h.	17 h.	
-5cm	24,96 (23,30-26,30)	25,65 (23,30-26,40)	25,97 (23,60-26,85)	26,00 (24,65-26,85)	25,64
-10cm	25,10 (23,45-26,40)	25,67 (23,55-26,50)	25,92 (23,75-26,75)	25,90 (24,80-27,00)	25,64

On a reporté sur un même graphique les poids de matière sèche fournie par le parasite aux différentes températures de l'essai effectué par DADANT et les températures extrêmes relevées en 1958 dans la couche superficielle du sol, à l' Ivoloina.

La courbe "en cloche" obtenue est assez nettement dissymétrique; sa classe modale, qui correspond ici à la classe de croissance maxima, a pour limites 28-30°C. Le parasite se développe activement de 8 à 36°C., mais en dehors de ces limites sa croissance est encore possible; il est donc assez peu sensible aux variations du facteur considéré; on constate enfin que les températures les plus favorables à la végétation de cet organisme sont assez voisines des températures extrêmes relevées dans les sols de la Côte Est. Dans ce domaine, les exigences du parasite sont donc parfaitement ajustées aux caractéristiques de son habitat.

Des conclusions analogues avaient déjà été formulées en ce qui concerne l'influence du pH sur le développement de ce même champignon.

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LE DEVELOPPEMENT DU PARASITE

(souches F. 15 ; F. 138 ; F. 336.)



t° extrême relevées en
sol couvert et ombragé.
(horizon - 5 / - 10cm)
à l'Ivoloina

- RESUME DES CARACTERES BIOLOGIQUES -

Champignon du sol provoquant la Fusariose du Vanillier, sévissant dans tous les types de plantation. Organisme intracellulaire à progression lente, strictement localisé dans le système racinaire du Vanillier, agissant par destruction des tissus corticaux, spécifique de certaines espèces du genre *Vanilla* et causant la principale maladie de l'espèce cultivée, provoquant des nécroses limitées sur organes aériens à la suite d'inoculations effectuées en serre, capable de vie saprophytique et pouvant passer sans transition d'un mode de vie à l'autre, cependant la présence de cet organisme à l'état endémique n'a été démontrée de façon certaine que dans des sols alluvionnaires.

Peu sensible aux variations de température et de pH; limites de croissance active dépassant largement les valeurs extrêmes prises par ces deux facteurs sur la Côte Est, les conditions les plus favorables au développement du parasite étant précisément celles qui règnent dans les sols.

Virulence plus ou moins accentuée suivant les souches; ce caractère n'est pas lié à l'aspect cultural, les formes hautes et basses pouvant être également pathogènes. Repliquées sur milieux de conservation usuels, les souches peuvent perdre à la longue une partie de leur virulence.

Lutte par voie chimique n'ayant jusqu'à présent donné aucun résultat.

- DISCUSSION DES RESULTATS OBTENUS -

Le parasite du Vanillier se rattache à l'espèce Fusarium bulbigenum Cooke et Massee, Grevillea 16 (1887) 49, dont nous donnons ci-dessous les caractères biométriques :

Macroconidies

0 cloison	40%	9 x 3	(5-15 x 2,25-4) microns
1 -	10%	17 x 3,25	(9-23 x 2,75-4)
2 -	2%	23 x 3,50	(18-29 x 3,25-4)
3 -	40%	36 x 3,50	(26-45 x 2,75-4)
4 -	6%	41 x 3,50	(33-52 x 2,75-4)
5 -	2%	46 x 3,25	(41-56 x 2,75-3,75)

Microconidies

0 cloison	9 - 10 x 2,75 - 3,5 microns
1 -	14 - 21 x 2,75 - 3,5

Chlamydo-spores conidiennes

0 cloison	96%	6,5 x 5,5	(5,5-8 x 5-6,25) microns
1 -	4%	10,5 x 4,75	(10-11 x 4,5-5)

Chlamydo-spores mycéliennes

0 cloison	92%	9 x 9 microns
1 -	8%	13,5 x 7

REINKING O.A. et WOLLENWEBER H.W. Tropical Fusaria
Philippine J. Sci. Vol.32, pp. 103-254 1927.

De plus, on peut assimiler le parasite du Vanillier à F. bulbigenum Cke. et Mass. var. batatas Wr. (syn. F. batatatis Wr.) qui possède de nombreux sclérotés bleu foncé de petite taille (0,1 à 3mm) et des macroconidies minces, fines, presque cylindriques, à sommet taillé en bec recourbé, à base pédiforme ou portant une papille en forme de verrue, généralement 3-5 septées, dans les pionnotes, les sporodochia et aussi dans le mycélium aérien.

WOLLENWEBER H.W. et REINKING O.A. Die Fusarien. Paul Parey, édit. Berlin, 1935.

Le parasite du Vanillier a sans doute des sclérotés moins abondants et des macroconidies un peu plus larges (3,6 microns au lieu de 3,3 pour les macroconidies 3 septées) mais les deux formes ont en commun des caractères suffisamment nombreux pour qu'il soit possible de conclure à leur identité.

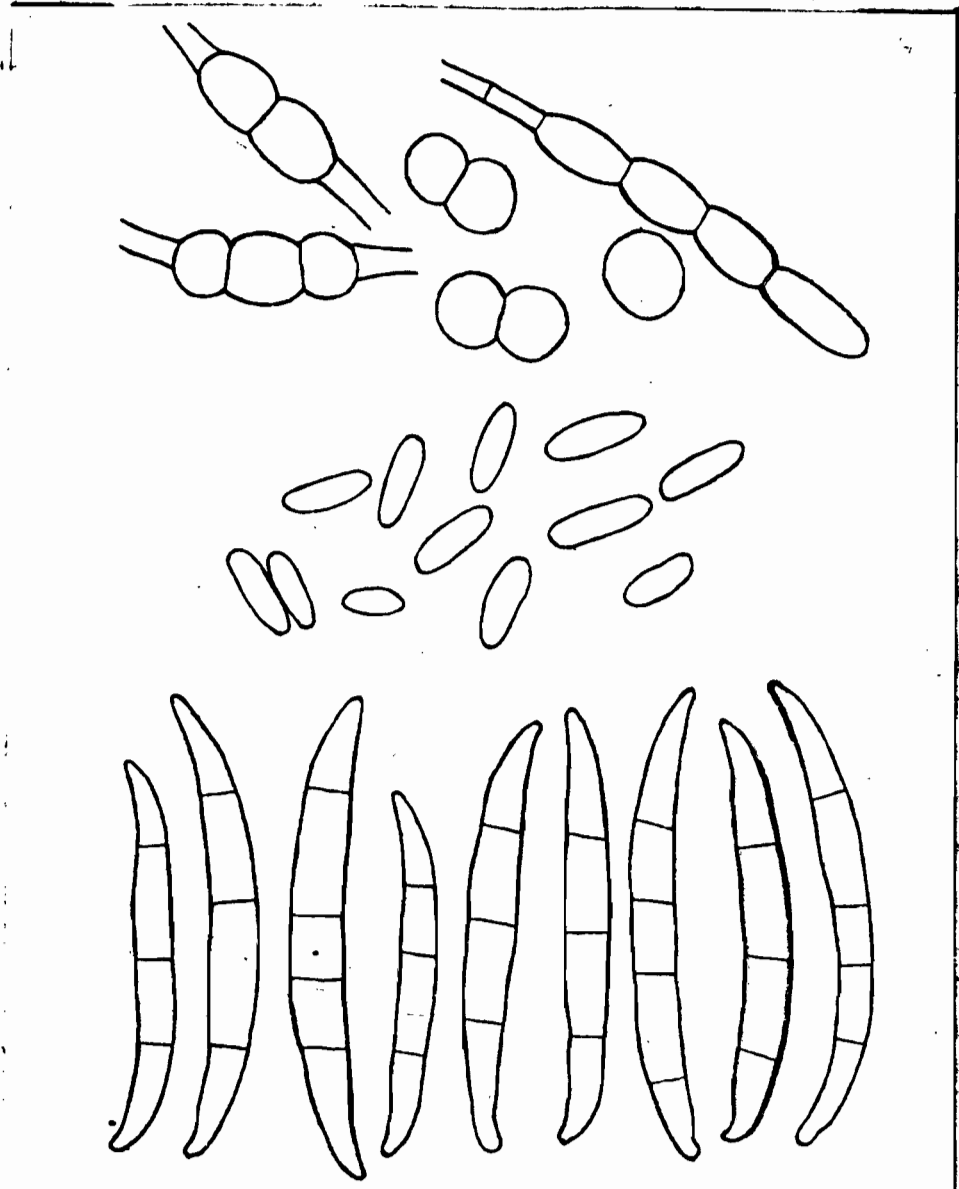


FIG. 1.—*Fusarium batatatis* var. *vanillae* n. var. Macroconidia, microconidia, and chlamydospores in various stages of development. $\times 1,500$

the former, perhaps because of the profuse white mycelial growth commonly obtained. Results of inoculation experiments prove that *F. cubense* is not pathogenic to vanilla.

***Fusarium batatatis* var. *vanillae* n. var.:
macroconidies, microconidies et chlamydospores.
(D'après TUCKER)**

Le champignon étudié dans le présent chapitre est pathogène pour *Vanilla Fragrans* et les symptômes obtenus par contaminations expérimentales sont identiques à ceux que l'on observe dans les plantations. Des inoculations effectuées sur une série de plantes réputées sensibles aux *Fusarium* de la section *Elegans* n'ont donné, par contre, aucun résultat.

Ce champignon par la plupart de ses caractères, est très voisin de celui qui détruisit totalement les Vanilleries de Porto-Rico il y a quelques décennies et qui fut décrit par TUCKER en 1927. Toutefois, la détermination faite à cette époque n'est pas complète: l'Auteur en effet n'a obtenu que la forme basse de son parasite puisqu'il mentionne n'avoir observé que des cultures à mycélium luxuriant, sans pionnotes, comme ce fut le cas, primitivement, pour les souches F.113 et F.3.

Cependant la description de TUCKER, dont nous reproduisons ci-dessous les passages essentiels, permet - pensons nous - de conclure à l'identité du champignon porto-ricain et du nôtre.

"Sporodochia naissant sur racines de Vanilliers malades; Macroconidies le plus souvent 3 septées. Occasionnellement 1 ou 2, rarement 4 ou 5 cloisons. Macroconidies 3 cloisons ayant 23 à 45 et 2,6 à 4 microns avec une moyenne de 34,2 sur 3,6 microns. Macroconidies courbes, base pédiforme, sans constriction au niveau des cloisons - Apex un peu atténué - Dans les vieilles cultures, chlamydospores à cloison épaisse, isolées ou en courtes chaînes, sombres, ayant 6,5 à 10 microns. Microconidies hyalines, ovales, allongées, ne formant de chaînes, mesurant 4,5 à 7 et 2,2 à 3,6 microns. Irréguliers sclérotés bleus sur pomme de terre. Sur riz, vapeur le milieu devient rouge vineux puis bleu. Sur pomme de terre glucosée gélosée, le milieu devient rouge, ce caractère s'atténuant avec les lignées isolées depuis longtemps - Sporodochia rouge pourpre sur farine d'avoine gélosée et pomme de terre glucosée gélosée. Il diffère de *F. batatatis* Wollenw. par des sclérotés moins abondants. De plus *F. batatatis* est pathogène pour la patate, non pathogène pour les vanilliers. *F. batatatis* var. *Vanillae* est non pathogène pour la patate et pathogène pour les vanilliers. TUCKER C.M. *Vanilla root rot* - Journ. of Agric. Res. vol. XXXV n°12 1927.

La dénomination de TUCKER *Fusarium batatatis* var. *vanillaen.* var. ne peut être maintenue puisque WOLLENWEBER et REINKING dans leur classification du genre *Fusarium*, parue en 1935, n'ont pas conservé l'espèce *batatatis*. Nous proposons donc pour le champignon parasite du vanillier isolé à Madagascar le nom suivant: *Fusarium bulbigenum* Cke. et Mass. var. *batatas* Wr. forma *Vanillae*.

La systématique de la section Elegans utilisée pour établir cette diagnose a été remaniée récemment par deux biologistes américains :

W.C. SNYDER et H.N. HANSEN - The species concept in Fusarium. Amer. Journ. of Botany, vol.27, n°2, 64-67, Février 1940.

Il faudrait si l'on adopte les conceptions de ces Auteurs, baptiser l'organisme en question *Fusarium oxysporum f. vanillae* n. comb. Mais, pour les motifs exposés au début de ce chapitre, nous avons jugé qu'il était préférable, dans le cas présent, de nous en tenir à la classification de WOLLENWEBER.

Ce champignon est morphologiquement très voisin de *Fusarium bulbigenum* Cke. et Mass. v. *coffae*, isolé à Porto-Rico en 1945 par Luis A. ALVAREZ GARCIA sur troncs et racines de caféiers atteints de pourridié.

Après avoir démontré que le *Fusarium* du caféier n'est pas pathogène pour le Vanillier, cet Auteur en donne la description suivante :

"Macroconidies en forme de faucille, hyalines, pédiformes, sans constriction quand elles sont jeunes, généralement 3 septées, mesurant 16,75 à 45 microns de long et 3 à 3,7 microns de large. Rarement 1, 2, 4, 5 et 6 septées. Sur tranches de pomme de terre: macroconidies 4 septées relativement abondantes. Microconidies abondantes, non cloisonnées, ovales ou ellipsoïdes, ayant 6 à 12 et 2 à 3,5 microns. Chlamydospores formées dans les vieilles cultures, terminales ou intercalaires, isolées ou en chaînes. Sur farine d'avoine gélosée, le milieu devient couleur lilas. Sur pomme de terre glucosée, il passe du rouge à la couleur lie de vin et au bleu. Macroconidies groupées en pionnotes de couleur saumon ou en sporodochia - Sporodochia blancs ou colorés, observés sur pomme de terre glucosée gélosée, sur farine d'avoine et sur grains de riz".

Luis A. ALVAREZ GARCIA - Studies on coffee root disease in Puerto-Rico. A coffee Fusarium Wilt. The Journ. of Agric. of the University of Puerto-Rico vol.29; n°1; Jan. 1945.

FUSARIUM OXYSPORUM Schl. f. VANILLAE n. forma
 F. 112

La souche F.112 a été isolée en Avril 1957 à l'Ivoloina dans le système racinaire d'une plantule de *Vanilla fragrans* âgée de 12 mois, morte de fusariose après avoir été repiquée sur un terreau de feuilles prélevé aseptiquement et utilisé sans désinfection préalable - Ce sol provenait d'un bourrelet de berge non cultivé.

Ce champignon fut obtenu sur le même lot de matériel végétal que *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillae* (F.113) décrit ci-dessus; par ses caractères micrographiques, il appartient à la sous-section *Oxysporum* telle qu'elle est définie par WOLLENWEBER et REINKING; il est également pathogène pour *V. fragrans*. Les tests de virulence ont été effectués selon la méthode habituelle (boutures acôtées repiquées sur terre de bruyère stérile ou non stérile); ces inoculations ont donné des résultats positifs et les dégâts provoqués par cet organisme sont identiques à ceux de *F. bulbigenum*.

En 1958, des plantules de *V. fragrans* furent repiquées sur alluvions prélevées dans une parcelle couverte de caféiers depuis 1912. Ces plantules furent détruites par la fusariose; l'isolement de la microflore fongique contenue dans les tissus morts a fourni *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillae*, ainsi qu'un second champignon possédant tous les caractères morphologiques de la souche F. 112. Cette souche ayant subi les tests de virulence décrits précédemment, il fut observé qu'elle était, comme la F. 112, pathogène pour vanilliers adultes. Il semble en conséquence que ce second parasite du Vanillier fasse partie, lui aussi, de la microflore fongique des sols alluvionnaires.

Par la suite, ce champignon fut observé dans le système racinaire de lianes adultes atteintes de fusariose où il a toujours été isolé avec *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *vanillae*. Il faut noter qu'à Nossi-Be, toutes les racines malades examinées jusqu'à ce jour ont fourni une souche pathogène très voisine de la F. 112. Par contre, à Antalaha, ce nouveau parasite a été isolé beaucoup plus rarement. Dans la région de Tamatave et de Mahanoro, il n'a même jamais été obtenu, malgré des tentatives d'isolement très nombreuses.

Ce dernier résultat ne peut s'expliquer par le fait que la composition chimique du milieu d'isolement ne convient pas à cet organisme, en effet, tous les isolements ont été effectués sur la même solution nutritive et il est apparu que les souches de Nossi-Be se développaient fort bien dans ces conditions. La présence de ce champignon dans les racines malades n'est donc pas constante et l'on peut admettre, en conséquence, que ce *Fusarium oxysporum* est un parasite secondaire du Vanillier.

L'étude morphologique de ce champignon a été conduite comme pour le parasite précédent: la souche fut repiquée sur les milieux d'identification usuels et observée pendant deux mois environ. Elle fut réisolée de racines mortes à la suite d'inoculations expérimentales, puis cultivée sur les mêmes milieux et décrite une seconde fois. Les observations effectuées à deux reprises étant identiques, nous limiterons cet exposé à l'examen des rétrocultures.

De plus, les caractères microscopiques des fructifications étant très constants, il n'a pas été jugé utile de les décrire séparément sur chaque milieu et toutes ces descriptions ont été regroupées en une seule.

MORPHOLOGIE DU CHAMPIGNON

A/- CARACTERES CULTURAUX

1°- Organes végétatifs de Vanilla fragrans

Mycélium aérien peu à moyennement fourni, arachnéen, duveteux, pelucheux et formant de façon irrégulière des touffes cotonneuses peu denses ou des plaques feutrées, de couleur blanche. Plectenchyme pelliculaire, lisse, uni, d'abord incolore puis blanc à jaunâtre, parfois teinté de rose dans le fond de certaines cultures. Sclérotés formés la 3ème semaine, peu à moyennement abondants, restant punctiformes, isolés ou groupés en amas verruqueux, de petite taille, jaunâtre, chatain, brun ou vert foncé. Sporodochia en coussinets blancs précoces et très abondants. Pionnotes apparus la 3-ème semaine en petites plages ou gouttes fluides formées directement sur le stroma, pouvant atteindre 2mm de diamètre et devenant parfois très abondants; isolés ou groupés en amas grumeleux peu consistants, de couleur orange clair.

2°- Grains de riz

Mycélium aérien dense, d'aspect feutré ou ouaté; blanc, rose, mauve; prennent souvent dans les cultures âgées un développement volumineux; formant sur le verre une fine trame incolore. Plectenchyme mince, rose, puis rouge ou mauve, mais restant toujours de couleur assez pâle comme le mycélium aérien. Sclérotés globuleux apparaissant plus ou moins tardivement; devenant plus ou moins abondants, ayant 1 à 3mm de diamètre; incolores, jaunâtres ou chatain clair; isolés ou groupés en agrégats plus ou moins noyés dans le stroma. Pionnotes absents ou peu abondants, apparaissant la 3ème semaine, assez fluides, orange clair, parfois groupés en amas grumeleux - Cultures non odorantes.

3°- Tranches de pomme de terre

Mycélium aérien vigoureux, recouvrant le milieu en une semaine environ d'un revêtement duveteux, pelucheux ou feutré, puis ouaté, volumineux, compact, de couleur blanche avec des taches bleu-vert observées de façon non constante et formant sur le verre une trame incolore plus ou moins dense.

Plectenchyme épais, d'abord blanc puis jaune à chatain clair; umboné-silloné dès la première semaine, ce caractère s'accusant avec l'âge des cultures qui prennent à la longue un aspect tourmenté très caractéristique; Sclérotés apparaissant précocement dans le stroma, d'abord peu nombreux, punctiformes, incolores, crème ou vert foncé; peu à très abondants par la suite; globuleux, pouvant atteindre 2mm de diamètre, isolés ou groupés en nodosités de taille et de forme variable, plus ou moins immergés dans le stroma - Pionnotes absents ou rares. Dans les cultures hautes, stroma moins luxuriant, d'aspect feutré - Pionnotes prenant naissance à la surface du mycélium ou sur les sclérotés dès la seconde semaine, en gouttes fluides isolées ou confluentes, devenant par la suite très abondants, groupés le plus souvent en agrégats muriformes, de couleur orange pâle, de consistance moyenne, faisant fortement saillie à la surface de la culture.

4°- Tranches de carotte

Mycélium aérien plus ou moins développé suivant les cultures; duveteux, pelucheux, feutré ou filamenteux, de couleur blanche avec parfois des plages rose pâle, formant sur le verre une trame incolore, modérément fournie. Plectenchyme mince, lisse, incolore puis blanc à jaunâtre - Sclérotés apparaissant entre la seconde et la quatrième semaine, rares à peu abondants, d'abord punctiformes et isolés puis globuleux, leur diamètre pouvant atteindre 1 mm., souvent groupés en agrégats columniformes ou coralliformes, devenant volumineux dans les cultures âgées, incolores, chatain clair ou verts. Pionnotes en général assez précoces, peu à très abondants, prenant naissance sur le stroma et formant des gouttes isolées ou groupées par plages; dans les cultures âgées, elles peuvent atteindre 1 ou 2mm de diamètre, et confluent plus ou moins en amas saillants, fluides, de couleur orange clair, disséminés sur tout le substrat, ou localisées sur les corps sclérotiques.

5°- Tiges de *Crotalaria juncea*

Mycélium aérien d'abord peu fourni, poudreux, duveteux, pelucheux avec quelques plages filamenteuses ou floconneuses, formant dans les cultures âgées des touffes ouatées plus ou moins denses et volumineuses; de couleur blanche avec quelques plages jaunâtres - Plectenchyme mince, d'abord incolore puis blanc à jaunâtre. Sclérotés précoces, plus ou moins abondants; globuleux, pouvant atteindre 1 ou 2mm. de diamètre, isolés ou groupés en agrégats, en colonnettes noueuses, incolores, jaunâtres ou vertes. Dans les cultures hautes, stroma moins luxuriant, restant duveteux ou pelucheux, sporodochia précoces, en coussinets blancs de petite taille, peu nombreux.

Pionnotes peu à très abondants, apparaissant la seconde semaine sur les sclérotés ou à la surface du mycélium, en gouttes de consistance moyenne ayant 1mm. environ, isolées ou groupées en agrégats muriformes plus ou moins étendus et saillants, de couleur orange clair virant exceptionnellement au brun le second mois.

6°- Farine de maïs gélosé

Mycélium aérien peu à très fourni suivant les cultures; duveteux, feutré ou prenant l'aspect de touffes ouatées volumineuses et denses débordant largement sur le verre et y formant des flocons plus ou moins volumineux, de couleur blanche avec de larges plages teintées de rose passé, de mauve puis de violet évêque. Plectenchyme pelticulaire, d'abord incolore, puis coloré dans les tons énumérés ci-dessus; lisse, puis dans le fond des cultures âgées, se couvrant de petits plis et de rides peu profondes. Sclérotés plus ou moins abondants suivant les cultures, apparaissant la deuxième semaine; globuleux, pouvant atteindre 1mm de diamètre; isolés ou groupés en nodosités verruqueuses dont les dimensions peuvent atteindre 4 ou 5mm en tous sens; souvent localisés à la base des cultures et plus ou moins immergés dans le stroma; d'abord incolores puis blanchâtres, crèmes ou verts. Dans les cultures hautes, stroma plectenchymateux à mycélium aérien très pauvre; vers la troisième semaine apparition de pionnotes punctiformes formés sur le stroma ou sur les sclérotés et devenant rapidement très abondants; en gouttes orange de 1mm de diamètre, à consistance moyenne, isolées ou groupées en masses muriformes, épaisses de plusieurs millimètres et confluant parfois les unes avec les autres. Nombreux sporodochia précoces, violacés, en coussinets punctiformes disséminés sur le stroma. Substratum teinté de rose pâle, de mauve ou de rouge violacé, ces couleurs étant plus ou moins vives suivant les cultures.

7°- Farine d'avoine gélosée

Mycélium aérien assez vigoureux, pelucheux, feutré ou ouaté, formant des touffes volumineuses dans les cultures non fructifiées, recouvrant le verre d'une trame serrée; de couleur blanche parfois discrètement teinté de rose par plages dans les cultures âgées. Stroma peu plectenchymateux, restant mince, incolore ou se teintant de rose à mauve très pâle. Sclérotés très rares ou peu abondants, formés la deuxième semaine dans le stroma et plus ou moins noyés par lui; punctiformes ou globuleux, leur diamètre n'excédant jamais 1mm., isolés ou groupés en agrégats verruqueux jaunâtre à vert foncé. Dans les cultures hautes, stroma chétif ou inexistant, recouvert la quatrième semaine d'une abondante formation pionnotale, en gouttes assez

fluides, orange à crème, pouvant atteindre 1mm. de diamètre, isolées, groupées par plages ou en masses muriformes assez saillantes. Pas de sporodochia - Substratum très faiblement teinté de rose, de mauve pâle ou restant incolore.

8°- Pomme de terre glucosée à 2% et gélosée

Mycélium aérien développé sur le verre en trame blanchâtre le plus souvent assez tenue, formant sur le substrat un revêtement peu à moyennement fourni d'aspect duveteux puis feutré ou ouaté, de couleur blanche, se teintant de mauve pâle par plage dans les cultures âgées. Plectenchyme restant pelliculaire et lisse; incolore puis blanc, virant du mauve ou au brun suivant les cultures. Sclérotés très rares à peu abondants, apparaissant la seconde semaine dans le stroma et restant le plus souvent recouvert par lui, punctiformes, isolés ou groupés en agrégats muriformes de petite taille, de couleur chatain à vert foncé. Dans les cultures hautes, stroma plectenchymateux à mycélium aérien chétif, d'aspect duveteux. Pionnettes en général très abondants, formés dès la seconde semaine sur le mycélium ou sur les sclérotés en gouttes assez consistantes, orange clair, restant de très petite taille, isolées, formant des petites masses verruqueuses de 1 ou 2mm d'épaisseur ou groupées par plages. Pas de sporodochia - Substratum brun rouge ou brun noir - restant incolore dans les cultures hautes.

RESUME DES CARACTERES CULTURAUX

Mycélium aérien: dense, vigoureux et abondant sur la plupart des milieux; d'abord duveteux puis feutré ou ouaté; sur tiges de crotalaires et organes végétatifs de Vanillier il reste en général assez chétif. De couleur blanche, virant parfois au rose ou au mauve mais demeurant toujours assez pâle sauf sur farine de maïs où il peut devenir violet-évêque.

Plectenchyme: pelliculaire et lisse, primitivement incolore puis teinté comme le mycélium ou restant jaunâtre. Sur pomme de terre, il est épais, jaunâtre et rapidement très tourmenté.

Sclérotés: présents sur tous les milieux; rares (farine d'avoine et pomme de terre glucosée) à très abondants (tranche de pomme de terre); globuleux, leur diamètre atteignant le plus souvent 2mm; isolés ou groupés en agrégats muriformes, en rognons ou en colonnettes de taille variable et de couleur claire: crème ou chatain pâle, plus rarement brun ou vert, faisant saillie à la surface du stroma ou plus ou moins recouvert par lui.

Sporodochia: précoces, plus ou moins nombreux, en coussinets blancs de petite taille sur organes végétatifs de Vanilla fragrans et tiges de Crotalaria - Précoces, très abondants, punctiformes et violacés sur farine de maïs - Non observés sur les autres milieux.

Pionnotes: apparus assez tardivement dans l'ensemble; naissant directement sur le stroma ou sur les sclérotés; peu à très abondants suivant les cultures; en gouttes de 1 ou 2mm., fluides, jaune-orange, isolées, groupées par plages, ou le plus souvent fusionnées en masses grumeleuses, muriformes, saillantes, peu consistantes mais ne formant jamais de nappes.

Sur les solutions nutritives utilisées dans ce travail, la souche F.112 fructifie difficilement et tend à dégénérer assez vite. On observe alors sur tous les milieux la formation d'un mycélium aérien blanc, d'aspect feutré ou ouaté, en général bien fourni; le plectenchyme est uniformément mince, lisse et uni; mauve à violacé sur les milieux gélosés, incolores à jaunâtres sur les autres milieux; il n'y a ni sclérotés, ni pionnotes, ni sporodochia. Ces formes dégénérées n'étant plus déterminables, il n'a pas été jugé nécessaire de la décrire plus en détail.

B/- CARACTERES MICROGRAPHIQUES

Macroconidies: Toujours présentes en plus ou moins grande abondance sur le mycélium aérien où elles prennent naissance isolément sur les hyphes entre la seconde et quatrième semaine de culture; groupées en pionnotes globuleux, jaune orange, souvent volumineux, assez fluides et en petits sporodochia blancs ou violacés. Allure générale assez massive, subrectilignes ou modérément courbes et dans ce dernier cas l'arcure est souvent plus forte à l'apex. Maximum diamétral situé généralement dans la région médiane. Base tétiniforme, plus rarement subacuminée, subconique, subpédiforme ou mal différenciée. Sommet assez brièvement atténué, terminé en bec émoussé plus ou moins croche - 0 à 5 cloisons droites; 3 cloisons largement dominantes; 4 cloisons plus ou moins fréquentes suivant les milieux; 0, 1, 2 et 5 rares à très rares. Dans les pionnotes, les sporodochia et le mycélium, outre le type décrit ci-dessus, présence de conidies plus longues et moins épaisses que la normale, subrectilignes à modérément courbes, à sommet régulièrement atténué, terminé en bec émoussé, à base généralement tétiniforme; 3-4 cloisons droites, 3 cloisons dominantes. Leur petit nombre joint au fait qu'on les rencontre plus particulièrement dans les cultures âgées, permet de les considérer comme non caractéristiques de la souche et à ce titre, il n'en a pas été tenu compte dans cette diagnose.

Les caractères biométriques des macroconidies ont été relevés sur les milieux suivants :

Organes végétatifs de Vanillier: 248 conidies d'origine pionnotale prélevées sur cultures de 16 à 19 et de 38 à 39 jours.

0 cloison	:	14,96 x 3,06	(13,87-17,14 x 2,65-3,26)	microns
1	-	15,64 x 3,46	(13,87-17,95 x 2,65-4,08)	
2	-	20,35 x 3,63	(15,50-27,75 x 3,06-4,08)	
3	-	34,29 x 4,09	(24,48-41,63 x 3,46-4,69)	
4	-	38,03 x 4,11	(34,28-42,44 x 3,87-4,28)	
5	-	38,36 x 4,48	(37,54-39,99 x 4,48)	

Tranches de pomme de terre: 195 conidies d'origine pionnotale prélevées sur cultures de 20, 46 et 47 jours.

1 cloison	:	14,69 x 3,11	(12,24-17,95 x 2,65-3,26)	microns
2	-	19,84 x 3,58	(17,14-24,48 x 3,06-4,08)	
3	-	32,99 x 4,08	(26,12-44,08 x 3,67-4,89)	
4	-	40,36 x 4,17	(34,28-48,16 x 3,87-4,48)	
5	-	37,54 x 4,48	(34,28-40,81 x 4,28-4,69)	

Tranches de carotte: 179 conidies d'origine pionnotale prélevées sur cultures de 15, 23 et 48 jours.

0 cloison	:	19,18 x 3,06	(14,69-23,67 x 2,85-3,26)	microns
1	-	16,73 x 3,29	(13,06-26,93 x 2,85-3,67)	
2	-	22,85 x 3,74	(16,32-31,83 x 2,85-4,28)	
3	-	33,01 x 4,07	(24,48-40,81 x 3,46-4,69)	
4	-	38,45 x 4,26	(35,91-40,81 x 4,08-4,69)	

Tiges de Crotalaria juncea: 201 conidies d'origine pionnotale prélevées sur cultures de 12, 36 et 37 jours.

0 cloison	:	12,24 x 3,26		microns
1	-	14,69 x 3,15	(13,87-16,32 x 3,06-3,26)	
2	-	24,89 x 3,70	(16,32-34,28 x 3,46-4,08)	
3	-	34,93 x 4,03	(24,48-41,63 x 3,46-4,69)	
4	-	37,54 x 4,10	(33,46-42,44 x 3,67-4,48)	
5	-	38,20 x 4,36	(31,01-44,89 x 4,08-4,69)	

Farine de maïs gélosée: 168 conidies d'origine pionnotale prélevées sur cultures de 37 jours.

0 cloison	:	10,61 x 2,92	(9,79-11,42 x 2,85-3,06)	microns
1	-	14,58 x 2,97	(13,06-17,14 x 2,65-3,26)	
2	-	20,08 x 3,55	(15,50-26,93 x 3,26-4,08)	
3	-	34,78 x 4,11	(28,57-44,08 x 3,67-4,48)	
4	-	38,36 x 4,26	(31,83-44,08 x 3,87-4,89)	
5	-	41,53 x 4,30	(37,54-46,52 x 3,87-4,69)	

Farine d'avoine gélosée: 164 conidies d'origine pionnotale prélevées sur culture de 34-35 jours.

1 cloison	:	24,48 x 3,56	(18,77-30,20 x 3,26-3,87)	microns
2	-	28,57 x 3,82	(20,40-39,18 x 3,26-4,48)	
3	-	35,54 x 4,14	(28,57-46,52 x 3,67-4,48)	
4	-	40,27 x 4,22	(33,46-46,52 x 3,67-4,89)	
5	-	44,08 x 4,48	(42,44-45,71 x 4,28-4,69)	

Pomme de terre glucosée à 2% , gélosée: 150 conidies d'origine pionnotale prélevées sur culture de 38 jours.

0 cloison	:	11,42 x 2,70	(9,79-13,06 x 2,65-2,85)	microns
1	-	15,50 x 3,11	(12,24-17,14 x 2,85-3,46)	
2	-	18,53 x 3,30	(16,32-22,85 x 3,06-3,67)	
3	-	35,27 x 4	(26,12-44,89 x 3,46-4,48)	
4	-	39,99 x 4,08	(35,91-45,71 x 3,87-4,48)	
5	-	40,81 x 4,22	(37,54-44,89 x 4,08-4,48)	

Moyenne générale obtenue sur ces différents milieux

0 cloison	:	13,37 x 2,93	(9,79-23,67 x 2,65-3,26)	microns
1	-	15,99 x 3,20	(12,24-30,20 x 2,65-4,08)	
2	-	21,59 x 3,61	(15,50-39,18 x 2,85-4,48)	6
3	-	34,26 x 4,08	(24,48-46,52 x 3,46-4,89)	8,3
4	-	39,10 x 4,17	(31,83-48,16 x 3,67-4,89)	9,3
5	-	40,24 x 4,36	(31,01-46,52 x 3,87-4,69)	

Microconidies: Très abondantes et très précoces dans le mycélium sur tous les milieux; rares dans les pionnotes. Isolées, ovales, ovoïdes, plus rarement allongées, exceptionnellement réniformes; base souvent mucronée - 0-1 cloison - 0 cloison largement dominante.

Organes végétatifs de vanillier

0 cloison	:	6,91 x 2,90	(4,08-9,79 x 2,24-3,87)	microns
1	-	11,54 x 3,55	(8,97-13,06 x 3,26-4,08)	

Tranches de pomme de terre

0 cloison	:	7,18 x 2,62	(4,08-9,79 x 2,44-4,28)	microns
1	-	10,61 x 3,26	(8,16-13,06 x 2,65-3,87)	

Tranches de carotte

0 cloison	:	6,77 x 2,79	(4,89-9,38 x 2,24-3,26)	microns
1	-	10,32 x 3,06	(8,77-11,83 x 2,65-3,46)	

Tiges de Crotalaria juncea

0 cloison : 7,25 x 2,94 (4,08-9,38 x 2,44-3,26) microns
 1 - 10,61 x 3,42 (9,79-11,63 x 3,06-3,67)

Farine de maïs gélosé

0 cloison : 6,61 x 2,62 (4,89-10,20 x 2,04-3,67) microns
 1 - 11,02 x 3,18 (8,97-13,06 x 2,85-4,08)

Farine d'avoine gélosée

0 cloison : 6,53 x 2,61 (3,26-9,79 x 2,04-3,46) microns
 1 - 13,63 x 3,36 (13,06-14,28 x 3,06-3,67)

Pomme de terre glucosée à 2% et gélosée

0 cloison : 8,04 x 2,88 (5,71-10,61 x 2,24-3,26) microns
 1 - 12,24 x 3,06

Moyenne générale obtenue sur ces différents milieux

0 cloison : 7,06 x 2,83 (3,26-10,61 x 2,04-4,28) microns
 1 - 11,15 x 3,28 (8,16-14,28 x 2,65-4,08)

Chlamydozoaires mycéliennes : Présentes dès la seconde semaine sur tous les milieux, très abondantes dans les cultures de un mois; isolées ou groupées en chaînes plus ou moins longues et parfois ramifiées. Intercalaires, terminales, latérales. Approximativement rondes ou, moins fréquemment, ovales. 0 - 1 cloison; 0 cloison très largement dominantes. Membrane épaisse, lisse, puis ruguleuse, muriquée, verruqueuse ou digitolée mais dans l'ensemble assez faiblement ornementée - Protoplasma d'abord hyalin puis, à maturité, fortement granuleux.

Organes végétatifs de vanillier

0 cloison : 8,33 x 7,46 (6,12-10,61 x 5,71-9,79) microns
 1 - 13,46 x 10,20

Tranches de pomme de terre

0 cloison : 8,16 x 7,55 (6,53-11,83 x 6,53-9,38) microns
 1 - 11,55 x 8,08 (9,79-14,69 x 6,53-10,81)

Tranches de carotte

0 cloison : 7,06 x 6,63 (5,71-9,38 x 5,71-8,57) microns
 1 - 12,95 x 8,21 (8,97-15,91 x 5,10-10,20)

Tiges de Crotalaria juncea

0 cloison : 8,95 x 7,91 (6,12-13,06 x 6,12-10,61) microns
 1 - 12,44 x 8,57 (12,04-13,06 x 7,75-9,38)

Farine de maïs gélosée

0 cloison : 10,93 x 9,40 (5,71-15,50(19) x 5,30-13,46(15,5)
 1 - 17,34 x 6,93 (15,50-19,59 x 6,12-7,75)

Farine d'avoine gélosée

0 cloison : 7,50 x 6,97 (5,91-8,97 x 5,30-8,16) microns
 1 - 13,87 x 7,14

Pomme de terre glucosée à 2% et gélosée

0 cloison : 8,74 x 7,23 (6,93-13,06 x 5,71-8,57) microns
 1 - 13,06 x 7,34

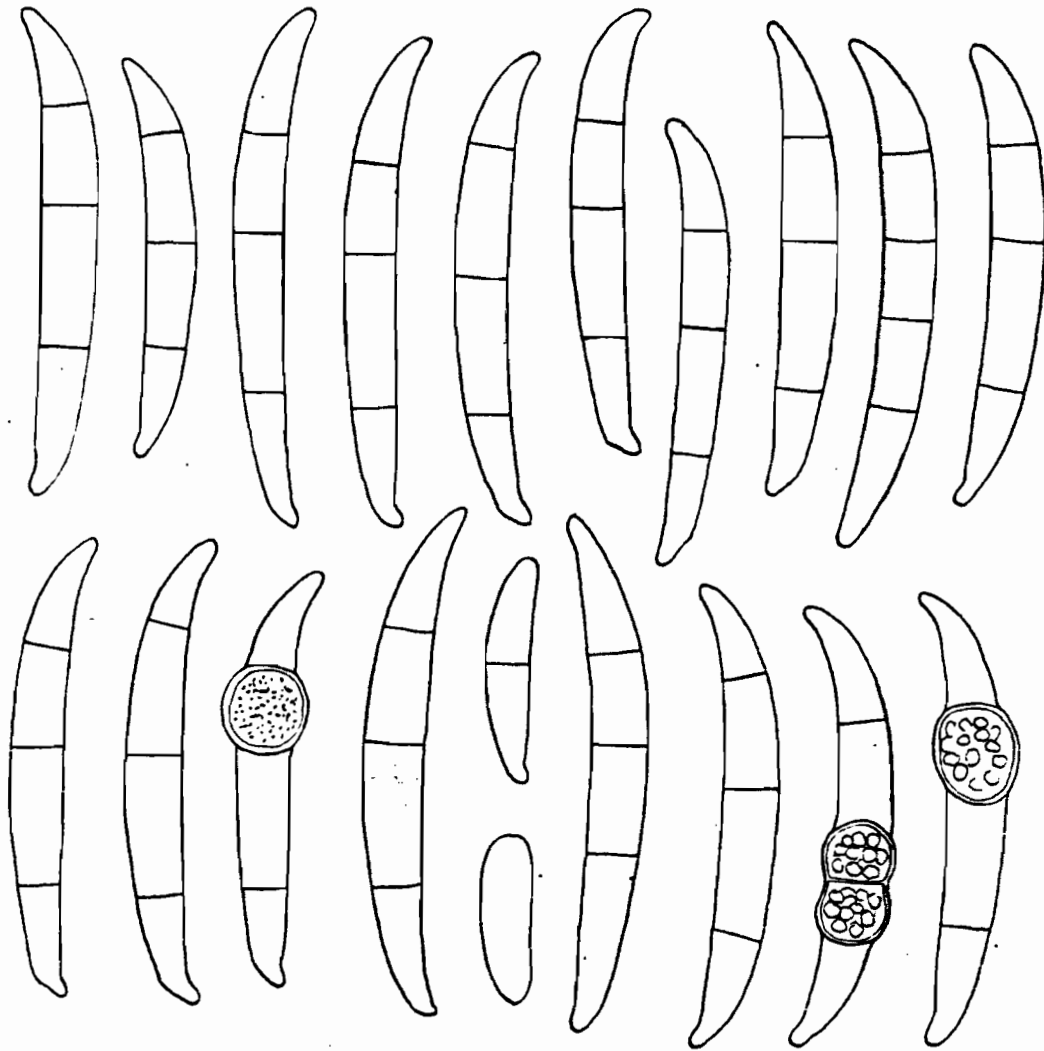
Moyenne générale obtenue sur ces différents milieux

0 cloison : 8,72 x 7,73 (5,71-15,50 x 5,30-13,46) microns
 1 - 13,19 x 8,14 (8,97-19,59 x 5,10-10,81)

Chlamydozoaires conidiennes : Peu abondantes et très tardives; elles ne sont visibles que dans les cultures de 3-4 mois. Rondes, ovales, 0-1 cloison, unicellulaires dominantes - Membrane épaisse et lisse - Protoplasma granuleux.

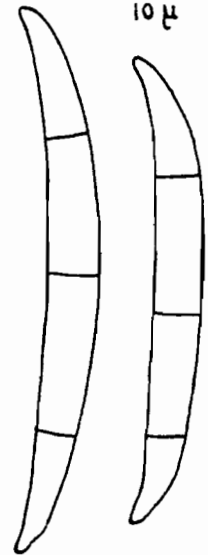
0 cloison : 6,47 x 5,60 (5,51-8,16 x 4,69-6,53) microns
 1 - 9,38 x 5,23 (8,77-10,20 x 4,89-5,71).

FUSARIUM OXYSPORUM forma VANILLAE



Macroconidies

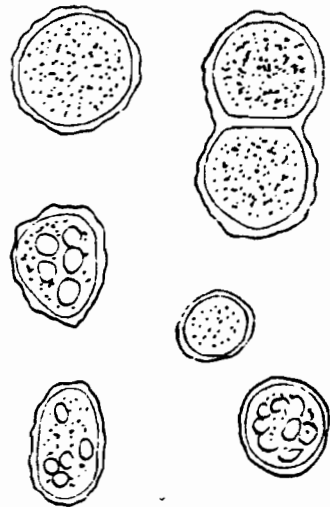
10 μ



Macroconidies



Microconidies



Chlamydospores

BIOLOGIE DU PARASITE

- 1°- Virulence : L'étude a porté sur les souches suivantes :
- souche F. 112: isolée du sol, en Avril 1957, à proximité de Tamatave.
 - souche F. 292: isolée en Mai 1959, d'une racine de Vanillier atteint de fusariose à Antalaha.
 - souches F. 601, F.606 et F.608: isolées en Juin 1959, de racines de Vanilliers atteints de fusariose à Nossi-Be.

Le protocole expérimental utilisé pour ces tests de virulence ayant été décrit en détail, nous ne reviendrons pas sur ce point et nous ne donnerons ici que le résultat de ces différents tests.

- a)- Résultat des tests de virulence sur plantules de *V.fragrans* mesurant 5 à 8 cm, arrosées avec une suspension de spores des souches F.112, F.601, F.606 et F.608.
- | | | | | |
|---------------|----|----------------------|---|--------------------------|
| souche F.112: | 8 | plantules mortes sur | 9 | en quinze jours |
| souche F.601: | 10 | - | - | 12 en trente-six jours |
| souche F.606: | 7 | - | - | 12 en trente-trois jours |
| souche F.608: | 8 | - | - | 12 en dix-neuf jours. |
- mortalité moyenne:73%
- b)- Résultat des tests de virulence sur racines effectuant leur croissance en compost contaminé par la souche F.112 (tests effectués en 1957, 1958 et 1960).
- | | | | | |
|-------------|-----------------|----|-----------------------|----|
| année 1957; | souche F. 112 : | 11 | racines nécrosées sur | 12 |
| année 1958; | - | 4 | - | 4 |
| année 1960; | - | 6 | - | 6 |
- c)- Résultat des tests de virulence sur racines sectionnées à proximité de l'apex et badigeonnées avec un pionnotes de la souche F.112
- année 1960; souche F.112 : sur 10 racines testées, la longueur moyenne des nécroses a été de 78,8mm (l.extrêmes: 36 et 130mm).
- d)- Résultat des tests de virulence sur boutures de *V.fragrans* acôtées, repiquées sur terre de bruyère stérile ou non stérile, contaminée par les souches F.112, F.292, F.606, F.608.
- | | | | |
|------------------------|---|----|----------------------------------|
| souche F. 112 | | | |
| en milieu stérile | : | 10 | cas de fusariose sur 10 boutures |
| en milieu non stérile: | 5 | - | 10 - |

souche F. 292

en milieu stérile: 9 cas de fusariose sur 10 boutures

souche F. 606

en milieu stérile: 9 cas de fusariose sur 10 boutures

souche F.608

en milieu stérile: 8 cas de fusariose sur 10 boutures
(les 2 dernières boutures n'étaient pas racinées)

Les souches de *F. oxysporum* étudiées ici ont donc provoqué sur *V. fragrans* des dégâts comparables à ceux de *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillae*. D'une souche à l'autre, l'intensité des dégâts est assez voisine et l'on peut admettre, en conséquence, que toutes ces souches de *F. oxysporum* sont également pathogènes.

Cette conclusion ne paraît pas en accord avec les faits observés sur le terrain, puisque la présence de *F. oxysporum* dans les racines mortes de fusariose est très fréquente à Nossi-Be, rare à Antalaha et nulle à Mahanoro. Pour concilier ces observations contradictoires, nous formulons les hypothèses suivantes: la fréquence de ce parasite n'est pas uniforme dans les trois régions considérées: elle est plus forte à Nossi-Be que sur la Côte Est; de plus, la probabilité d'infection du Vanillier est proportionnelle au degré d'infection du sol. Ainsi pourrait-on expliquer la rareté du parasite dans les échantillons récoltés sur la Côte Est et sa présence constante à Nossi-Be.

De plus, la souche F.112 fut inoculée à différents hôtes connus pour leur sensibilité aux représentants de la sous-section *Oxysporum*. Cependant, il n'a pas été possible de réunir tout le matériel végétal mentionné par WOLLENWEBER et REINKING dans leur systématique, ce qui limite évidemment la portée de nos conclusions.

La souche utilisée pour ce travail avait été isolée dans le système racinaire d'un Vanillier mort de fusariose à la suite d'un test de virulence.

Le lot de matériel végétal dont nous disposions comprenait: *Musa sapientium* L.; *Nicotiana tabaccum* L. var. *Maryland*; *Solanum lycopersicum* L.; *Allium cepa* L.; *Solanum tuberosum* L.; *Coffea canephora* Pierre x Froehner; *Ipomoea batatas* Lam.; *Hibiscus sabdariffa* et *Gossypium* sp.

La plantation fut faite sur compost désinfecté à la chaleur humide, arrosé à 1 ou 2 reprises avec une suspension de spores de la souche. Les résultats étant négatifs au bout d'un mois, tout le matériel végétal fut scarifié au collet; les blessures furent badigeonnées avec des pionnotes ou recouvertes de compost qui venait d'être contaminé. On ne notait, un mois plus tard aucun symptôme de fusariose et la croissance des plants testés se poursuivait normalement.

On peut donc considérer que ce parasite du Vanillier est sans effet sur le matériel végétal ci-dessus énuméré.

Au cours de cette étude, il n'a été isolé qu'une vingtaine de *F. oxysporum* parasites du Vanillier; il n'a donc pas été possible d'étudier les variations du caractère virulence au sein de cette forme, comme cela fut fait pour *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillae*. Il a seulement été observé que la virulence de la souche F. 112, isolée en Avril 1957, paraissait inchangée trois ans plus tard.

- Résultat du test de virulence effectué en 1957 avec la souche F.112 :

en milieu stérile :	10	cas de fusariose sur	10	boutures
en m. non stérile :	5	-	10	-
- Résultat du test de virulence effectué en 1960 avec la souche F. 112 :

en milieu stérile :	10	cas de fusariose sur	10	boutures
en m. non stérile :	1	-	10	-

2°- Influence de la température sur le développement du parasite

L'outillage nécessaire nous faisant défaut, ce travail a été effectué par DADANT, à Tananarive, avec le dispositif décrit précédemment. L'essai a porté sur les souches suivantes :

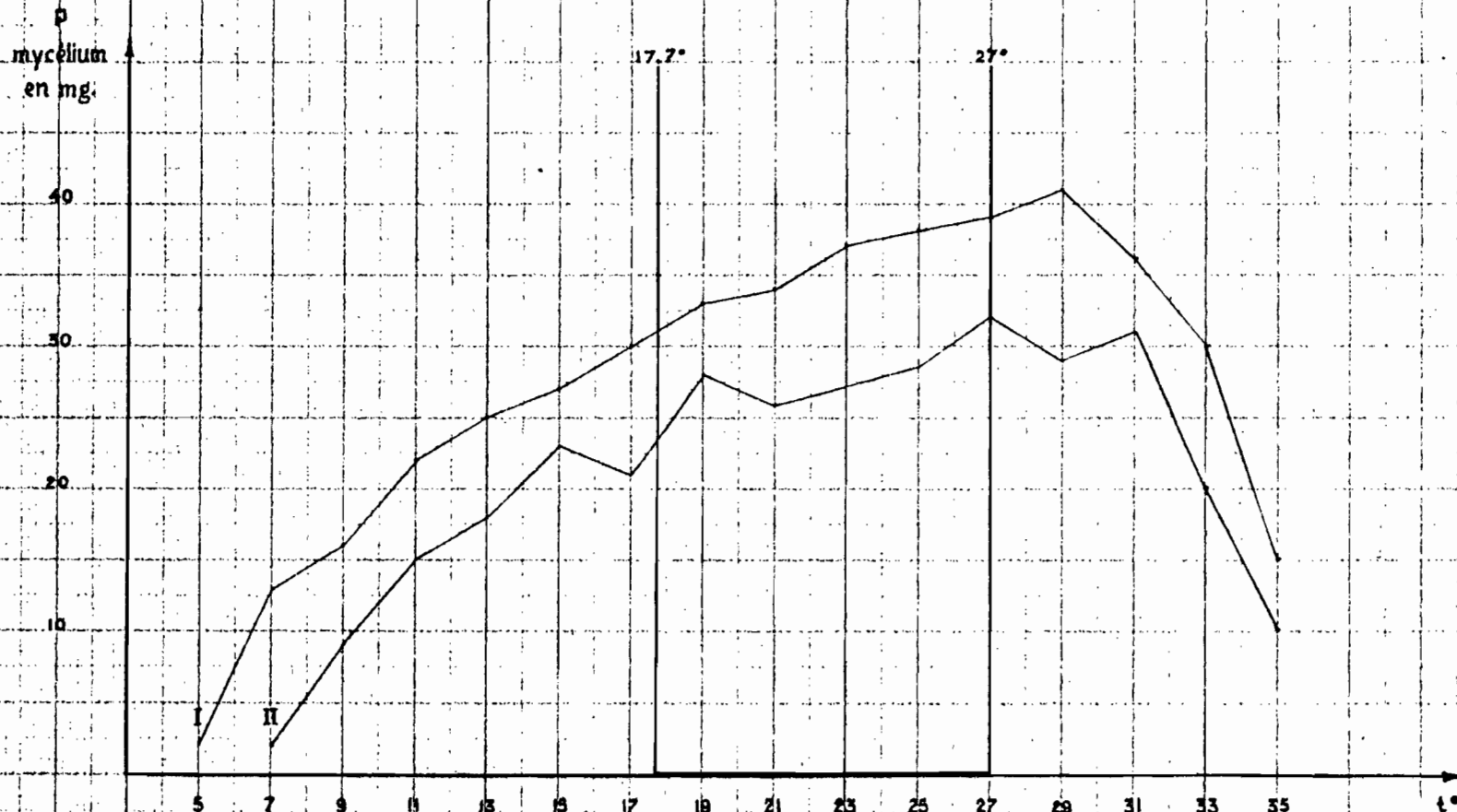
- F. 112 : souche isolée en Avril 1957 à 10 km. au N. de Tamatave dans un sol non cultivé.
- F. 129 : souche isolée en Juin 1958 à l'Ivoloina (14 km. au N. de Tamatave) dans un sol planté en caféiers depuis 1912.

Les poids de matière sèche fournie par ces deux souches ont été groupés en classe de 2° C.; le tableau ci-dessous donne la moyenne obtenue dans chacune de ces classes.

Centre des classes	Nombre de mesures	Poids moyen matière sèche en mg.
35	5	10
33	6	20
31	2	31
29	3	29
27	8	32
25	4	28
23	7	27
21	5	26
19	6	28
17	5	21
15	5	23
13	5	18
11	3	15
9	2	9
7	3	2

Ces résultats sont peu différents de ceux qui avaient été observés avec *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillae* (souches F.15; F.138; F.336). La courbe obtenue avec *F. oxysporum* est dissymétrique; la classe modale se situe dans l'intervalle 26 - 32°C.; les températures les plus favorables à la végétation du champignon sont voisines des températures extrêmes relevées à Tamatave dans la couche superficielle du sol. On peut dire que les deux parasites du Vanillier ont, sur ce point, des exigences assez semblables; en reportant les deux courbes de poids sec sur un même graphique on constate d'ailleurs qu'elles sont approximativement parallèles.

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LE DEVELOPPEMENT DES SOUCHES F.15 F.138 F.335 (courbe I) F.112 F.129 (courbe II)



17.7° - 27° t° extrêmes relevées en sol couvert et ombragé (-5/10 cm) à l'ivoine.

3°- Influence du pH sur le développement du parasite

L'essai a été entrepris sur solution de Coon. L'ajustement au pH désiré (15 lots échelonnés de 6,6 à 4,5) a été obtenu par adjonction de $\text{PO}_4 \text{H}_2 \text{K}$; pour chaque pH, on a préparé 4 erlenmeyers contenant 100 cc de solution nutritive liquide. Après ensemencement par la souche F.112, les cultures ont été maintenues à la lumière et à la température du laboratoire pendant 58 jours. Les examens et les pesées furent effectués dans les conditions précédemment décrites. Ce travail a donné les résultats suivants :

Description des cultures aux différents pH expérimentés :

- substratum uniformément jaune pâle et limpide, sans différence appréciable d'un lot à l'autre.
- stroma pH 6,6: très peu développé, immergé, formant parfois en surface une pellicule fine, discontinue, duveteuse, blanche, sans sclérotés ni pionnotes.
pH 6,3 à 4,8: croûte épaisse de quelques mm, généralement continue, feutrée, à bords un peu crispés, blanche. Petits sclérotés globuleux, noyés dans le stroma, assez nombreux, vert foncé. Pionnotes rares, superficiels, en gouttes fluides, de couleur orange, observés de pH 6,1 à 5,1.
pH 4,7 à 4,5: mycélium aérien conforme à la description précédente, sclérotés rares ou absents, pas de pionnotes.

Le relevé des poids de matière sèche fournie par la souche F. 112 aux différents pH permet de formuler les conclusions suivantes: cet organisme est peu sensible aux variations du facteur étudié ici; il se développe assez régulièrement dans l'intervalle compris entre les pH 6,4 et 4,5; il semble que les pH acides: 5,4 et au dessous, soient plus favorables à sa croissance.

Des observations analogues avaient été faites au sujet de *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillae*.

Poids matière sèche produite par la souche F.112
cultivée sur solution de Coon - ajustée aux pH 6,6 à 4,5

initial	6,60	6,40	6,30	6,20	6,10	5,90	5,70	5,40	5,20	5,10	4,80	4,70	4,60	4,50	4,50
final	6,25	8,35	8,50	8,55	8,70	8,75	8,60	8,50	8,35	7,90	7,85	7,80	7,60	7,40	7,40
différence	-0,35	+1,95	+2,20	+2,35	+2,60	+2,85	+2,90	+3,10	+3,15	+2,80	+3,05	+3,10	+3,00	+2,90	+2,90
de pH															
écarts															
mycélium	0,057	0,208	0,239	0,232	0,224	0,235	0,256	0,310	0,328	0,303	0,295	0,354	0,311	0,339	0,121
en gr.	0,080	0,220	0,214	0,229	0,216	0,210	0,249	0,294	0,323	0,310	0,307	0,356	0,312	0,306	0,342
culture	0,044	0,212	0,195	0,243	0,223	0,217	0,267	0,298	0,302	0,301	0,365	0,341	0,321	0,312	0,351
	0,056	0,212	0,237	0,243	0,215	0,232	0,272	0,304	0,312	0,308	0,307	0,319	0,325	0,325	0,309
total par	0,237	0,852	0,885	0,947	0,878	0,894	1,044	1,206	1,265	1,222	1,274	1,370	1,269	1,282	1,123
en gr.															
mojen par															
culture	0,054	0,213	0,221	0,236	0,219	0,223	0,261	0,301	0,316	0,305	0,318	0,342	0,314	0,320	0,280
en gr.															

- IDENTIFICATION DU PARASITE -

Les caractères cultureux et micrographiques de ce parasite permettent de le classer dans la sous-section Oxysporum du genre Fusarium ainsi définie par WOLLENWEBER et REINKING :

Sous groupe Oxysporum - F. Oxysporum Schlechtendahl -
Stroma blanc, brunâtre à violet, plectenchymateux, lisse ou porteur de sclérotés cartilagineux, verdâtres à bleu-noir, mesurant 0,5 à 6mm d'épaisseur, plus ou moins arrondis; mycélium aérien d'épaisseur moyenne. Sporodochia tardifs, pionnotes rares, formés de conidies ayant 3 (4-5) cloisons, en forme de fuseau ou de faucille, recourbées ou presque droites, nettement ou peu pédiformes.

0 cloison:	7,2 x 2,6	(7-10 x 2,1-3)	(5-15 x 2-4) microns
1 -	14 x 3,1	(12-17 x 2,5-3,4)	(10-26 x 2-4,5)
3 -	34 x 4	(23-37 x 3-4,6)	(19-45 x 2,5-5)
5 -	41 x 4,2	(38-49 x 3,8-4,5)	(30-60 x 3,5-5)

Microconidies à 1 ou 2 cellules, ovales à réniformes, abondantes dans le mycélium aérien, absentes dans les pionnotes et les sporodochia.

Chlamydospores terminales ou intercalaires, rondes, lisses ou verruqueuses, une et rarement deux cellules, dans les hyphes et les conidies: 7,8 (5-15); dans le mycélium atteignant 12 (10-15)

Die Fusarien - WOLLENWEBER H.W. et REINKING O.A.
Berlin 1935.

La description des différents représentants de la sous-section Oxysporum, donnée dans cet ouvrage et dans le "Tropical fusaria", publié quelques années plus tôt par les mêmes Auteurs, permet de considérer que notre organisme est assez proche de F. Oxysporum Schl. var. Nicotianae Johnson et de F. cubense Erwin F. Smith, parasite du tabac et du bananier. Il n'est pas sans intérêt de noter au passage que Trujillo, ville de Honduras où furent récoltés pour la première fois les champignons en question, est située au bord de la mer par 15° de latitude N., ce qui correspond approximativement à la situation de Tamatave dans l'hémisphère Sud.

F. Oxysporum var. Nicotianae, F. cubense et la souche F. 112 isolée à Tamatave ont des caractères cultureux et micrographiques voisins, des habitats similaires; ces champignons ne diffèrent que par leurs hôtes respectifs, aussi proposons-nous pour ce champignon le nom de Fusarium Oxysporum Schl. forma Vanillae n. forma.

- LUTTE CONTRE LA FUSARIOSE PAR VOIE CHIMIQUE -

Le *Fusarium bulbigenum* var. *batatas* f. *vanillae* vit à l'état endémique dans les sols alluvionnaires de la Côte Est et de ce fait la désinfection chimique des sols de vanilleries à titre préventif, n'est pas réalisable en raison du prix de revient de l'opération et des aléas qu'elle comporte. Par contre on peut envisager le traitement de taches en formation dans de jeunes plantations pour essayer de retarder la propagation de la maladie. Un essai fut entrepris pour déterminer s'il est possible d'atteindre ce résultat sans nuire à la végétation du Vanillier.

Dans ce but, des fioles de 500cc furent remplies de compost et bistérilisées. Puis, le parasite fut inoculé par injection d'une suspension de spores. Dix jours plus tard, le compost ainsi contaminé fut traité avec les produits fongicides énumérés ci-dessous, aux doses préconisées par les fabricants, à savoir :

- Procithio:** 80% de Disulfure de Tétraméthylthiurame
5 et 10gr/m² soit 12 et 24mg par fiole
- Soprasan humide:** 3,5% de Mercure + 0,6% de Chlore en combinaison du Chlorure de Méthoxyéthylmercure.
15gr/m² soit 36mg par fiole
- Mercoran fixograin sec:** 1,5% de Mercure + 0,95% de Silicium en combinaison du Silicate de Méthoxyéthylmercure + mouillant et adhésif.
75gr/m² soit 180mg par fiole.
- Gammoran sec:** 1,5% de Mercure + 0,95% de Silicium + 20% de Lindane
75gr/m² soit 180mg par fiole.
- Oxychlor:** 50% de Cuivre de l'Oxychlorure tétracuvrique
40gr/m² soit 96mg par fiole.
- Sanoplex E.8:** huile thiophénique contenant 15 à 18% de Soufre organique
2cc/m²
- Ziramine:** 90% de Diméthylthiocarbamate de zing
20gr/m² soit 48mg par fiole.
- Panogène:** 0,8% de Mercure en combinaison de l'alkylmercure
250gr/m² soit 608mg par fiole.
- Vaposol:** 480gr/l de n-méthyl-dithiocarbamate de sodium dihydrat
8gr/m² soit 19mg par fiole.

Procithio + Panogène : 5gr/m² de Procithio + 125gr/m² de Panogène soit 12 et 304 mg par fiole pour ces deux produits

Témoin: pas de traitement

Les produits furent utilisés à l'état sec ou en solution aqueuse et mélangés intimement au compost. Chaque lot comprenait huit fioles - quinze jours plus tard, on repiquait dans chaque fiole une bouture de *V. fragrans* à 3 noeuds, dont seule la feuille supérieure avait été conservée; ce matériel végétal avait été récolté quelques jours avant et, après habillage, mis à cicatriser sur des claies à l'ombre. Les résultats furent relevés au bout de 2 mois.

Dans tous les lots traités, l'épidémie s'est développée de façon normale et les résultats obtenus ont été identiques à ceux du témoin. Il en découle que le pouvoir phytocide de ces produits, aux doses utilisées, ne s'est pas fait sentir sur le parasite. Le traitement fut pourtant effectué dans des conditions très favorables (homogénéisation excellente, pas de lessivage) qui, à coup sur, ne pourraient pas être reproduites en plein champ.

RECHERCHE DES GENITEURS RESISTANTS A LA FUSARIOSE

Après avoir isolé le parasite du Vanillier dans les principales plantations de la Côte Est et déterminé ses différentes formes, on pouvait classer les espèces de la Collection et leur descendance, en prenant pour critère de sélection leur sensibilité à ce parasite.

La méthode adoptée pour faire ce tri dérive du test de virulence; elle fut étalonnée avec la *V. fragrans* et la *V. Phaeantha*, ces deux espèces ayant été prises de façon provisoire comme chefs de file des types "sensibles" et "résistants".

Le choix de la *V. fragrans* comme type sensible s'imposait de lui-même; quant à la *V. Phaeantha*, elle est signalée à plusieurs reprises comme résistante à la maladie dans les rapports de la Station porto-ricaine. La littérature américaine cite également la *V. barbellata* et la *V. Pompona*. Mais il n'a pas été possible de retrouver les compte-rendus d'expérimentation qui ont permis de formuler ces conclusions. Aussi, nous avons dû reprendre ce travail à la base.

A)- Test de résistance à la fusariose (méthode normale)

Vingt boîtes de Roux d'un litre sont remplies avec de la terre de bruyère. Dix d'entre elles sont bistérisées à 120° pendant 30 minutes à 3 jours d'intervalle; les dix autres ne le sont pas. Des recherches effectuées en 1957, avaient permis d'établir que parmi tous les sols de la Côte Est, seule la terre de bruyère possède une microflore fongique dépourvue de tout *Fusarium*; par ailleurs on avait également observé que le parasite du Vanillier: *Fusarium bulbigenum* var. *batatas* f. *vanillae* se développe normalement dans ce milieu quand on l'inocule artificiellement. Cette particularité permettait d'effectuer les contaminations expérimentales dans un milieu non stérilisé au préalable, donc pourvu de sa microflore, ce qui avait l'avantage de placer l'expérimentateur dans des conditions aussi voisines que possible des conditions naturelles. Le milieu ainsi préparé, on fait une suspension de spores de l'agent pathogène. La contamination du compost est effectuée aseptiquement à la seringue et le volume d'inoculum injecté est identique dans les vingt fioles. Six jours plus tard, on prélève le matériel végétal destiné au test sur une tige saine ne portant ni inflorescence, ni fruit, ni ramification latérale. Ces boutures ont 4 noeuds et seules les 2 feuilles supérieures sont conservées. Elles sont trempées dans une solution aqueuse de Soprasan humide à 1% pendant 10 secondes et mises à cicatriser sur des claies, à l'ombre.

Quatre jours plus tard, le matériel végétal subit une nouvelle désinfection analogue à la précédente. Après un simple égouttage, il est planté aussi aseptiquement que possible dans les vingt boîtes de Roux et mis en serre. A la fin du second mois, les cultures sont contaminées une nouvelle fois. Cette seconde inoculation est effectuée, comme la précédente par injection aseptique d'une suspension de spores de l'agent pathogène. Les deux lots sont examinés quotidiennement et l'on note la date d'apparition de la première nécrose dans le système racinaire de chaque bouture. Ces observations sont poursuivies pendant 90 jours et l'on dresse pour chaque lot le diagramme des fréquences cumulées ainsi obtenu.

Ce protocole a été appliqué à toutes les espèces étudiées dans le présent chapitre.

Primitivement, la longueur des nouvelles tiges formées pendant l'essai était aussi prise en considération, mais il est apparu assez vite que ce caractère n'est pas influencé par la maladie en si peu de temps; il n'en a donc pas été tenu compte pour l'établissement du diagnostic.

Le matériel végétal étudié comprenait les espèces, variétés et clones suivants :

- Vanilla fragrans, clone cultivé
- Vanilla fragrans, clone Pasteur n°1, issu de semis
- Vanilla fragrans, deux clones sélectionnés en 1956
- Vanilla Phaeantha
- Vanilla sp. n°33
- Vanilla Pompona
- Vanilla tahitiensis var. Tahiti
- Vanilla tahitiensis var. Haapape
- Vanilla madagascariensis
- Vanilla sp. n°56
- Vanilla sp. n°74
- Vanilla zanzibarica
- Vanilla Walkeriae
- Vanilla Coursii
- Vanilla Françoisii

a)- Vanilla fragrans (Salisb.) Ames (clône cultivé)

Huit lots groupant 87 boutures ont été testés sur compost stérile - une autre série de huit lots, comprenant 84 boutures, fut testée sur compost non stérile.

Résultat du test de sensibilité à la fusariose en milieu stérile.

Référence	Compost	Nbre de boutures testées	Nbre de boutures présentant symptômes morbides	Nbre de boutures non racinées à la fin de l'essai	Durée de l'essai en jours
307-B	stérile	10	9	0	89
K	"	11	10	0	51
M	"	11	9	0	41
N	"	11	11	0	57
S	"	11	11	0	67
U	"	12	9	0	67
Y	"	10	9	1	54
326-C	"	11	9	1	70
Total		87	77	2	496

durée moyenne de l'essai : 62 jours
 morbidité moyenne : 90 %
 % extrêmes : 75 et 100 %

Résultat du test de sensibilité à la fusariose en milieu non stérile.

Référence	non stérile	Nbre de boutures testées	Nbre de boutures présentant symptômes morbides	Nbre de boutures non racinées à la fin de l'essai	Durée de l'essai en jours
307-E	stérile	10	3	0	89
O	"	11	7	0	55
Q	"	11	6	0	73
R	"	10	5	0	73
T	"	11	5	0	77
V	"	11	8	0	45
Z	"	10	7	0	61
316-A	"	10	7	0	60
Total		84	48	0	533

durée moyenne de l'essai : 66 jours
 morbidité moyenne : 57 %
 % extrêmes : 30 et 72%

b)- Vanilla fragrans (clône Pasteur n°1)

Ce clône est issu d'un semis naturel effectué par BOURIQUET en Juillet 1937. Il fut introduit à l'Ivoloina en 1943 puis à Antalaha en 1953. Dans ces deux collections, il s'est comporté de façon normale, mais jusqu'à présent il n'a jamais été multiplié à grande échelle.

La sensibilité à la fusariose de ce matériel fut éprouvée à deux reprises. Ces tests ont donné les résultats suivants:

Référence	Compost	Nbre de boutures testées	Nbre de boutures présentant symptômes morbides	Nbre de boutures non racinées à la fin de l'essai
314-J	stérile	5	4	1
314-N	stérile	10	9	0

La V. fragrans clône Pasteur n°1 est donc sensible à la fusariose. Ce résultat est normal vu que le clône Pasteur provient d'une autofécondation de la V. fragrans, clône cultivé.

c)- Vanilla fragrans (deux lianes sélectionnées à Antalaha)

Ces deux lianes furent observées en 1956 dans une plantation de 12 ans très éprouvée par le cyclône 1950 et n'ayant reçu aucun soin depuis cette date, à l'exception des pollinisations et des récoltes. Une épidémie de fusariose détruisit ou endommagea la majeure partie de cette parcelle. Seuls ces deux pieds avaient, en 1956, un développement normal et semblaient avoir été épargnés par la maladie, comme en témoigne le schéma des emplacements où fut récolté le matériel végétal en question.

		.tm		.M	.M
.s	.m	.tm	.tm	.m	.s
.M	.tm	.M	.tm	.M	.M
.m	.M	.M	.M	.M	.M
.M	.M	.M	.m	⊙s	.M
.M	⊙s	.M	.s	.M	.M
.m	.M	.M	.tm	.M	.M
.M	.M	.M	.tm	.M	.M
.m	.s	.M	.M		
		.M			
		.M			

s: sain
m: malade
tm: très malade
M: mort

Malheureusement les résultats du test de sensibilité n'ont pas confirmé ces espoirs puisque ces deux lianes ont donné des résultats identiques à ceux du glône cultivé pris pour témoin.

Référence	Compost	Nbre de boutures testées	Nbre de boutures présentant symptômes morbides	Nbre de boutures non racinées à la fin de l'essai
314-M 1	stérilisé	5	5	0
314-M 2	"	5	5	0

On ne peut donc pas dire que le comportement de ces deux lianes sur le terrain soit motivé par une moindre sensibilité au parasite et nous devons avouer que nous ne sommes pas en mesure d'expliquer, pour le moment, cette anomalie. D'ailleurs, tout ce qui touche au déclenchement et à l'évolution de la fusariose, aussi bien dans l'espace que dans le temps, a été peu étudié jusqu'à présent; les seules observations dont on dispose sont très fragmentaires et ne permettent malheureusement pas d'expliquer le phénomène.

Il ressort cependant de ces trois premiers tests que la V. fragrans est sensible à la fusariose et que ce caractère est stable puisqu'il se retrouve chez tous les clones. Il en découle que tout programme d'amélioration doit nécessairement faire intervenir d'autres espèces, possédant par elles-mêmes le caractère de résistance recherchée.

d)- Vanilla Phaeantha Reichb.

Espèce originaire des Antilles, introduite à Madagascar en 1951; reconnue résistante à la fusariose par la Station de Porto-Rico; très vigoureuse et à croissance rapide; mais assez peu florifère; fruits de petite taille, cylindriques, coulant facilement; produit fini sans intérêt économique. Par croisement avec la V. fragrans, semences hybrides faciles à obtenir, sauf sur pied-mère V. Phaeantha en raison des coulures, bonne énergie germinative, plantules faciles à élever. Hybride obtenu pour la première fois par KNUDSON L. en 1944 à l'Université de Cornell (U.S.A.). A Madagascar, cet hybride est produit depuis 1957.

Résultat du test de sensibilité à la fusariose:

Référence	Compost	Nbre de boutures testées	Nbre de boutures présentant symptômes morbides	Nbre de boutures non racinées à la fin de l'essai
307-W	stérile	10	2	0
307-X	non stér.	10	1	0

Il est à noter que les trois nécroses relevées au cours de ce test, ne se sont pas étendues et n'ont détruit qu'un tronçon de racine peu important. A la fin du test, ces systèmes racinaires avaient un développement normal et les boutures ne semblaient pas avoir souffert de ces attaques.

Ce matériel végétal est donc résistant à la fusariose; ce caractère, joint à une vigueur végétative excellente, fait de la V. Phaeantha une espèce de valeur. Mais les défauts signalés plus haut: mauvais arôme et propension à la coulure, limitent cependant l'intérêt de ce géniteur.

e)- Vanilla sp. n°33

Vanillier provenant des "Îles Tahiti", introduit en France à l'occasion de l'exposition coloniale en 1931, cultivé depuis cette date dans une serre de la région parisienne, introduit à Madagascar en 1950 - Appareil végétatif rappelant celui de la *V. Phaeantha*, mais moins vigoureux et à croissance lente; grandes fleurs, identiques à celles de la *V. Phaeantha*; fruits de petite taille, à lignes de sutures carpellaires nettes, ne coulant pas, déhiscent à maturité, n'ayant pas été préparés mais probablement sans intérêt économique vu les affinités de cette forme avec la *V. Phaeantha*. Par croisement avec la *V. fragrans*, semences hybrides obtenues en grand nombre et possédant une excellente faculté germinative, plantules faciles à élever.

Hybride obtenu pour la première fois à Ivoloina en 1957.

Résultat du test de sensibilité à la fusariose:

Référence	Compost	Nbre de boutures testées	Nbre de boutures présentant des symptômes morbides	Nbre de boutures non racinées à la fin de l'essai
314-L	stérile	16	2	0

Comme chez la *V. Phaeantha*, les quelques nécroses observées au cours de ce test se sont stabilisées dans les 2 ou 3 jours qui ont suivi leur apparition et les systèmes radiculaires sont en définitive restés sains.

La *Vanilla sp.33* est donc résistante à la fusariose; elle possède cependant des défauts assez graves: notamment sa vigueur végétative insuffisante.

f)- Vanilla Pompona Schiede

Espèce spontanée en Amérique tropicale et aux Antilles où elle fut autrefois cultivée; introduite à Madagascar il y a environ 25 ans; développement assez lent mais très vigoureuse et florifère; fruit court et gros, à section trigone, déhiscent; produit préparé ayant plus d'arôme que celui de la *V. Phaeantha* et de la *V. sp.33* mais déprécié par une forte odeur d'héliotrope.

Résistance à fusariose signalée pour la première fois par la Station de Porto-Rico; hybrides avec la *V. fragrans* obtenus par KNUDSON L. en 1940 et en 1943; plantules adressées à Porto-Rico mais ne semblant pas avoir survécu, les derniers compte-rendus de cette station n'y faisant pas allusion.

A Madagascar, les croisements *V. fragrans* x *V. Pompona* et réciproque sont réalisés depuis 1957; fruits hybrides faciles à obtenir dans les 2 sens, semences germant bien, plantules difficiles à élever.

Résultat du test de sensibilité à la fusariose

Référence	Compost	Nbre de boutures testées	Nbre de boutures présentant symptômes morbides	Nbre de boutures non racinées à la fin de l'essai
314-A	stérile	10	0	10
314-0	"	10	0	10

Cette espèce est donc très résistante à la maladie et cette immunité s'est manifestée de façon plus nette que chez la *V. Phaeantha* et la *V. sp. 33*. En outre, sa vigueur végétative est très nettement supérieure à celle de la *V. fragrans*. Seul l'arôme ne donne pas satisfaction. Malgré ce défaut, on peut considérer que la *V. Pompona* est un géniteur d'un intérêt exceptionnel.

g)- Vanilla tahitiensis J.W. Moore et ses variétés

Espèce cultivée à Tahiti; introduite à Madagascar en 1950; assez voisine de la *V. fragrans* avec laquelle on l'a confondue fréquemment; s'en distinguant par une vigueur végétative moindre, des floraisons précoces et abondantes, des fruits à peu près indégiscents, aromatiques, mais moins côtés sur le marché que ceux de la *V. fragrans* à cause de leur odeur d'héliotrope.

Premiers croisements avec la *V. Fragrans* réalisés à l'Ivoloina en 1955; fruits hybrides obtenus sans difficulté, semences germant bien, plantules faciles à élever.

Résultat du test de sensibilité à la fusariose

Référence	Compost	Nbre de boutures testées	Nbre de boutures présentant des symptômes morbides	Nbre de boutures non racinées à la fin de l'essai
314-E	stérile	10	9	0
314-I	"	10	7	1

314-E : *Vanilla tahitiensis* var. Tahiti
 314-I : *Vanilla tahitiensis* var. Haapape.

Cette espèce est donc sensible à la fusariose, certains de ses caractères en font cependant un géniteur à ne pas négliger. Les hybrides *V. fragrans* x *V. tahitiensis* et réciproque ne seront pas soumis au test de sensibilité à la fusariose et ceux qui posséderont les qualités mentionnées ci-dessus seront recroisés avec des géniteurs résistants à la maladie.

h)- Vanilla madagascariensis Rolfe

Espèce spontanée à Madagascar, assez commune sur les côtes et à la lisière des plateaux, rustique, très vigoureuse, exigences écologiques souples mais préférant les sites peu humides et ensoleillés. Fruits cylindriques, de grande taille, sans aucune valeur marchande. Premiers croisements avec la *V. fragrans* réalisés à Antalaha en 1955; fruits hybrides ne coulant pas; semences ayant une énergie germinative irrégulière et faible; plantules assez faciles à élever.

Résultat du test de sensibilité à la fusariose:

Référence	Compost	Nbre de boutures testées	Nbre de boutures présentant symptômes morbides	Nbre de boutures non racinées à la fin de l'essai
314-H	stérile	10	2	0

Matériel végétal récolté à Antalaha.

Cette espèce est donc intéressante pour sa résistance à la fusariose, sa vigueur végétative et sa tolérance à la sécheresse. Le transfert de ce dernier caractère sur un hybride à fruits aromatiques permettrait d'étendre considérablement la zone de culture du Vanillier à Madagascar.

Toutefois, le caractère de résistance à la fusariose est moins marqué chez cette espèce que chez la *V. Pompona*, la *V. Phaeantha* et la *V. sp.33*, car les nécroses obtenues ont évolué normalement et ont provoqué dans tous les cas la destruction des racines atteintes.

1)- Autres espèces de la Collection

Les six espèces étudiées dans ce paragraphe ne figurent pas sur la liste des géniteurs utilisés jusqu'à présent pour l'amélioration du Vanillier. Certaines de ces espèces n'ont pas encore fleuri en collection; quant aux autres, leur croisement avec la *V. fragrans* a fourni des graines qu'il n'a pas été possible de faire germer ou qui n'ont donné que de très rares plantes. Aussi considère-t-on actuellement qu'elles ont peu d'intérêt pratique.

Résultat du test de sensibilité à la fusariose

Vanilla sp. n°56: il n'en a été trouvé qu'un exemplaire en 1949 à Andamasina près d'Antalaha; assez vigoureux, mais développement végétatif lent; a fleuri pour la première fois en Octobre 1958; sensible à la fusariose.

Vanilla sp. n°74 (*V. crenulata* Rolfe?): introduite du Dahomey en 1952; mal adaptée au climat de la Côte Est; semences hybrides ne germant pas; sensible à la fusariose.

Vanilla zanzibarica Rolfe: introduite de Zanzibar en 1950. Assez vigoureuse, très florifère; semences hybrides germant difficilement; semble assez résistante à la fusariose mais les résultats du test devront être confirmés.

Vanilla Walkeriae Wight: introduite de Ceylan en 1950; développement lent; semences hybrides ne germant pas; sensible à la fusariose.

Vanilla Coursii H.Perr.B.: spontanée à Madagascar sur la Côte Est; appareil végétatif fragile; n'ayant pas fleuri en collection; sensible à la fusariose; cette espèce ayant une reprise difficile l'attaque de fusariose a provoqué, dans la plupart des cas, la destruction des tiges alors que les systèmes racinaires n'étaient pas encore établis.

Vanilla Françoisii H. Perr. B.: spontanée à Madagascar sur la Côte Est, appareil végétatif très fragile, n'ayant pas fleuri en collection, sensible à la fusariose; la reprise de ce matériel végétal étant très faible, comme chez la V. Coursii, on ne peut comparer ces deux derniers résultats avec ceux des autres tests.

Référence	Compost	Nbre de boutures testées	Nbre de boutures présentant symptômes morbides	Nbre de boutures non racinées à la fin de l'essai
V. sp. 56	stérile	10	8	2
V. sp. 74	"	10	9	-
V. zanzibarica	"	10	4	-
V. Walkeriae	"	15	11	-
V. Coursii	"	13	9	4
V. Françoisii	"	25	6	19

La V. Coursii et la V. Françoisii ont été récoltées dans le district de Brickaville.

B/- Test de résistance à la fusariose (méthode rapide)

Le test de sensibilité à la fusariose utilisé pour trier la collection a cependant les inconvénients suivants: il nécessite beaucoup de place et de verrerie, il est coûteux en matériel végétal puisque l'on doit disposer, pour chaque numéro à tester, de vingt boutures acôtées qui ne sont pas récupérables à la fin de l'essai. Ces exigences ne furent pas insurmontables tant que le travail a porté sur les géniteurs de la collection, en raison de leur petit nombre et de leur beau développement végétatif. Mais cette méthode n'était pas applicable à la première génération hybride qui compte déjà 6.000 lianes de petite taille.

Chez certains hybrides en effet (V. fragrans x V. Phaeantha; V. fragrans x V. sp.33) le seul caractère nouveau recherché étant la résistance à la fusariose, il faut pouvoir tester ce caractère avant la mise en place définitive afin d'éliminer le plus rapidement possible les numéros sans valeur qui tôt ou tard se révéleraient aussi ou plus sensibles à la fusariose que la V. fragrans elle-même. La méthode décrite au précédent paragraphe, s'appliquant à du matériel végétal adulte, ne permet donc pas cette discrimination précoce.

Chez d'autres hybrides (V. fragrans x V. Pompona) la résistance à la fusariose n'est pas le seul caractère recherché; l'épreuve de sensibilité à cette maladie doit donc ménager le matériel végétal testé qui - même sensible - peut avoir des qualités justifiant son maintien en collection pour des recroisements ultérieurs. Or, le matériel végétal adulte n'ayant pas survécu à ce test, il ne fait pas de doute que les jeunes hybrides ne supporteraient pas davantage ce traitement.

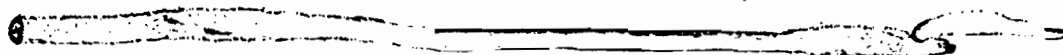
En résumé, la méthode recherchée ici doit avoir une sensibilité suffisante, elle doit être adaptée à ce matériel végétal jeune et ne pas entraîner la mort des sujets testés, quelque soit leur sensibilité à la maladie.

Un second test répondant, semble-t-il, à ces exigences a donc été mis au point sur les géniteurs de la collection dont la résistance à la fusariose avait été déterminée par la méthode normale.

Cette nouvelle méthode est fondée sur l'observation suivante: le parasite, inoculé à des racines aériennes de V. Phaeantha, V. sp. n°33 et V. Pompona, blessées à l'apex, ne progresse pas ou très peu dans les tissus de la plante-hôte. Un mois après la contamination artificielle, on constate que les nécroses ne se sont pas étendues, les racines traitées sont restées saines et sont recouvertes de poils absorbants; bien souvent une racine de remplacement a pris naissance au dessus de la zone morte.

Chez ces trois espèces, les contaminations n'ont pas eu de suites graves et la guérison est, le plus souvent totale. Par contre, chez la *V. fragrans*, et d'une manière générale, chez toutes les espèces sensibles à la fusariose, le parasite provoque la destruction plus ou moins complète des racines inoculées.

Test individuel de sensibilité à la fusariose



racine de *V. Phaeantha* après guérison



racine de *V. Fragrans* morte de Fusariose

Dans les deux séries de matériel végétal, les racines testées ont fait l'objet d'un examen histologique trente jours après l'inoculation. Les échantillons furent systématiquement prélevés au niveau des fronts de nécrose et traités par la méthode classique: éclaircissement des coupes à l'hypochlorite de chaux puis coloration de la cellulose au Carmin cochenille, de la subérine au Sudan III et du bois au vert d'iode.

1°- Cas des espèces résistantes à la fusariose: *V. Phaeantha*, *V. sp. n°33*, *V. Pompona*

L'examen de ces racines permet d'observer qu'il s'est formé une barrière sclérenchymateuse continue à la périphérie de la plage infectée. Ce "cordon sanitaire" a un tracé rectiligne ou plus ou moins sinueux épousant les contours de la plaie ce qui semble indiquer que la réaction de la plante a été immédiate. Un mois après l'inoculation, ce tissu cicatriciel atteint parfois 500 microns d'épaisseur et présente souvent un renforcement marqué au niveau du cylindre central. Les cellules constituant la "barrière" sont dépourvues de protoplasma et l'examen de leurs membranes permet de distinguer les zones suivantes :

- a)- dans la région médiane, les membranes sont intégralement subérifiées, elles ont 5 microns d'épaisseur, leur face interne est lisse ou verruqueuse, les angles sont renforcés.
- b)- de part et d'autre, les membranes sont subérifiées ou lignifiées, leur épaisseur oscille entre 1 et 5 microns et présente assez régulièrement des renforcements angulaires.

- c)- la zone de contact entre la barrière proprement dite et le parenchyme cortical non modifié est caractérisée par des membranes minces de nature ligneuse ou par des membranes celluloses dont les angles sont épaissis et lignifiés; ces tissus de transition pouvant pénétrer profondément dans le cortex.
- d)- le parenchyme cortical non modifié a des membranes celluloses dont l'épaisseur est inférieure à un micron. Il peut se former dans cette zone des "ilots" sclérenchymateux par lignification ou subérification d'un groupe de cellules parenchymateuses situées à proximité de la "barrière" et dont l'épaisseur peut atteindre 4 ou 5 microns.
- e)- Le voile reste inchangé.

La "barrière" a été observée sur toutes les racines de *V. Phaeantha*, *V. sp.33* et *V. Pompona* examinées jusqu'à ce jour à l'exception d'une racine de *V. Phaeantha*, envahie par le parasite, qui n'avait pas subi cette modification. Par contre, la présence des "ilots" n'est pas constante.

2°- Cas des espèces sensibles à la fusariose: *V. fragrans*, *V. tahitiensis*.

Il n'y a pas de différence dans la morphologie cellulaire des racines malades et des racines saines prises pour témoin. Les membranes des zones nécrosées restent minces et celluloses, elles n'opposent aucune résistance à la pénétration du parasite: certains hyphes ont un tracé absolument rectiligne et traversent des files entières de cellules; d'autres filaments se ramifient et fructifient abondamment dans les territoires cellulaires qu'ils vident peu à peu de leur contenu protoplasmique. Le champignon envahit plus ou moins rapidement les tissus de l'hôte; cette progression est de 45mm en moyenne, le premier mois, dans les conditions du test.

Dans les cas les plus spectaculaires, toute la racine est détruite jusqu'à son point d'insertion sur la tige. Exceptionnellement, les racines s'opposent à la pénétration du parasite: les contaminations expérimentales ne produisent alors que des nécroses de petite taille et l'examen histologique de ces racines révèle que les membranes cellulaires se sont lignifiées ou subérifiées au voisinage de la blessure; on peut considérer que ces racines sont guéries. Chez la *V. fragrans*, cette réaction de défense est toujours accidentelle et n'a jamais été observée, deux fois de suite, sur le même sujet, car en soumettant les plantes en question à des nouvelles inoculations, on a toujours obtenu, sur les autres racines, des lésions caractéristiques.

Ce curieux phénomène se produit également dans les plantations où il a été observé à maintes reprises sur une même liane des racines saines ou guéries à côté de racines entièrement nécrosées; l'examen histologique effectué au niveau de ces lésions a permis de relever dans les racines saines la présence d'une barrière, qui n'existe pas dans les racines malades.

Ces différences de sensibilité observées au niveau des racines sont sans doute à l'origine des différences enregistrées dans le comportement des lianes à l'égard de la maladie et faute de mieux, on admettra provisoirement que la *Vanilla fragrans* est un géniteur sensible à la fusariose, mais que cette sensibilité n'est pas absolue.

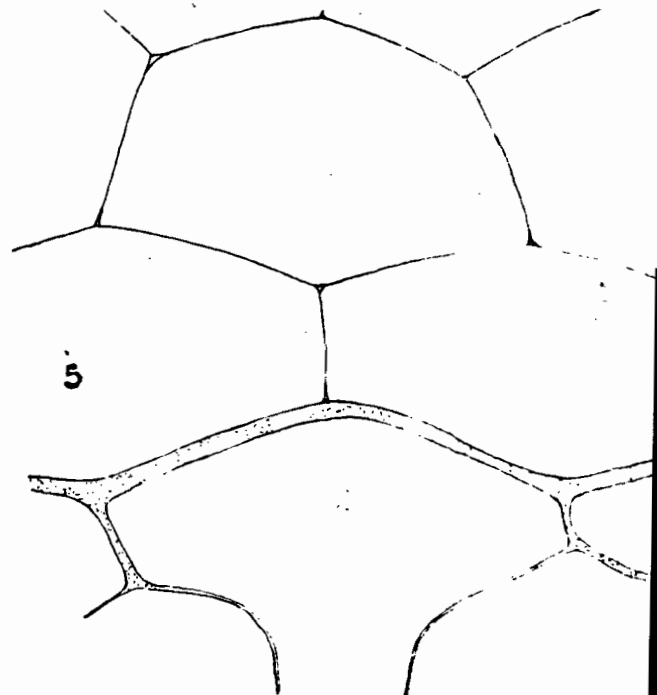
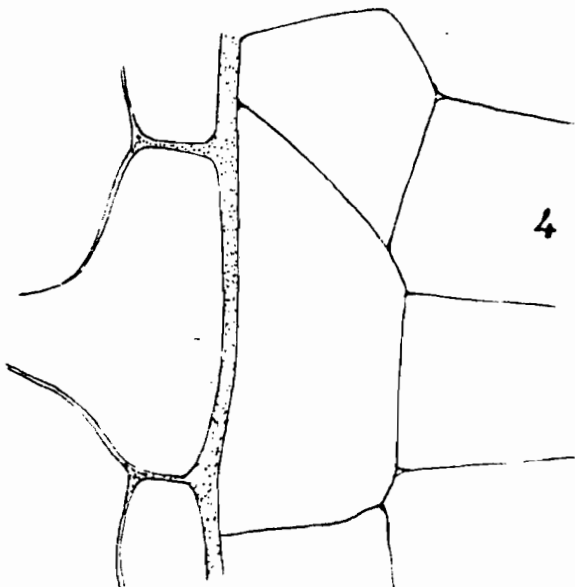
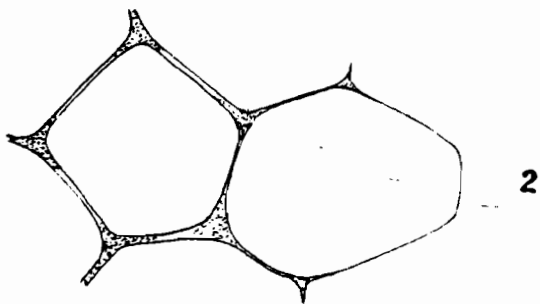
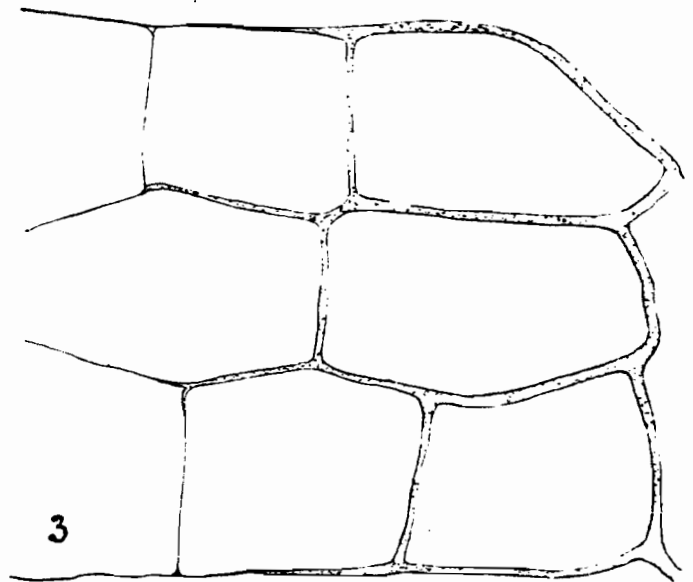
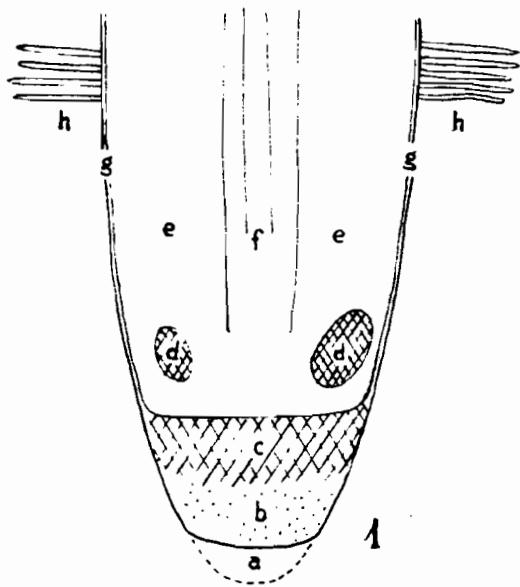
Cette méthode fut étalonnée, comme la précédente, avec la *V. fragrans* et la *V. Phaeantha* sur des lots de trente racines environ.

L. des nécroses, en 30 jours, à la suite de contaminations expérimentales sur racines aériennes blessées à l'apex			
<u>V. FRAGRANS</u>		<u>V. PHAEANTHA</u>	
Longueur	Réaction	Longueur	Réaction
nécrose	cicatricielle	nécrose	cicatricielle
en mm.		en mm.	
20-40	nulle	2-0	subérification
70-40	-	4-0	immédiate et
65-100	-	2-0	accentuée
12-10	-	0-0	-
10-10	4	0-0	-
35-110	-	2-0	-
120-135	-	2-0	-
64-110	-	1-1	-
80-21	-	1-5	-
9-15	-	5-5	-
50-45	-	1-1	-
15-25	-	0-3	-
65-48	-	5-0	-
16-32	-	3-0	-
12-90	-	0-0	-
38-135	-	0-0	-
4-4	lignification	0-0	-
2-3	nette mais faible	14	nulle
$\bar{m} = 46\text{mm}$		$\bar{m} = 1,8\text{mm}$	

A la lecture de ce tableau, on constate que les deux méthodes ont donné des résultats identiques - Il fut décidé, en conséquence, d'appliquer ce test rapide aux autres espèces de la collection.

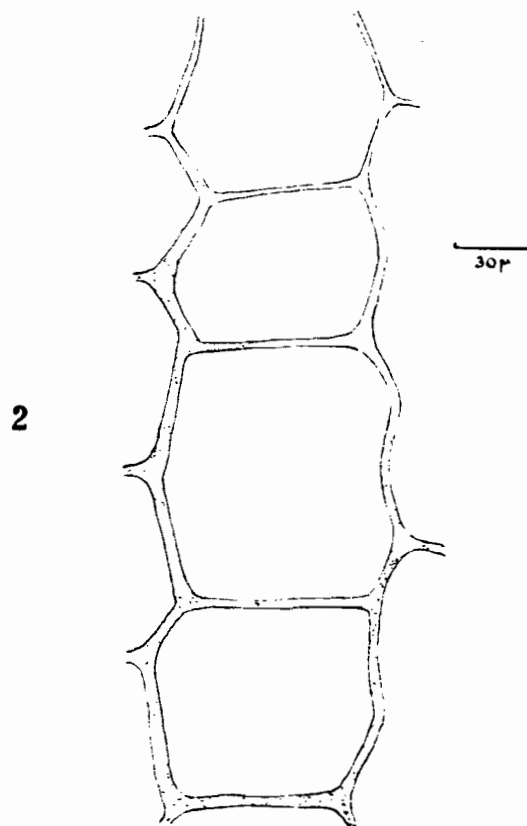
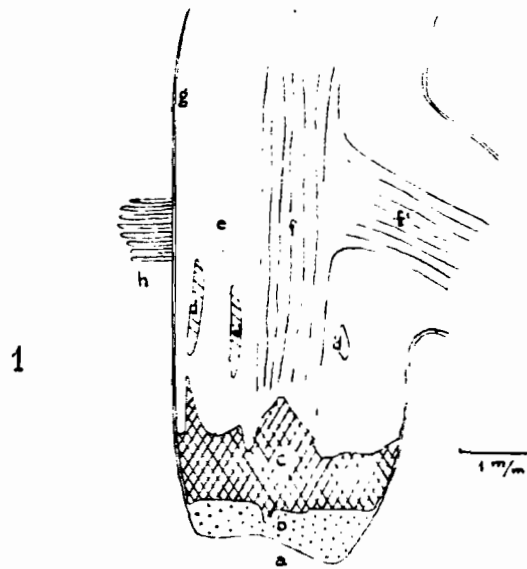
MODIFICATIONS HISTOLOGIQUES




DES RACINES DE VANILLERS ENVAHIES PAR LE PARASITE



MODIFICATIONS HISTOLOGIQUES

DES RACINES DE VANILLIERS ENVAHIES PAR LE PARASITE



	cellulose
	lignine
	suberine

V. Pompona (16 racines testées) :

Longueur des nécroses au bout de 30 jours: nulle, dans tous les cas. Réaction subéreuse uniformément positive. Ceci confirme que cette espèce est d'une résistance à la fusariose exceptionnelle.

V. tahitiensis var. Haapape (13 racines testées) :

Les nécroses évoluent plus ou moins rapidement; elles mesurent à la fin du test: 150, 10, 17, 12, 32, 16, 37, 141, 130, 41, 9, 30 et 12mm. Réaction subéreuse constamment négative.

V. sp. n°33 (5 racines testées) :

Les nécroses évoluent peu; elles mesurent à la fin du test: 0,0, 7, 15, et 3mm. Réaction subéreuse positive à une exception près.

V. madagascariensis (4 racines testées) :

Les nécroses évoluent assez rapidement et mesurent à la fin du test: 165, 95, 20 et 65mm. Réaction subéreuse constamment négative. Il faut donc classer la *V. madagascariensis* parmi les géniteurs sensibles. Pour cette seule espèce, les résultats fournis par les deux méthodes ne sont pas absolument concordants. Cela provient, pensons-nous, de la plus grande sévérité du test rapide.

Le test rapide de sensibilité à la fusariose comportant deux opérations successives: le traumatisme et l'inoculation du parasite sur la blessure, on peut supposer que le premier de ces facteurs suffit à lui seul pour déclencher le processus cicatriciel. S'il en était ainsi, la méthode proposée perdrait évidemment tout son intérêt. Ce travail a donc été complété par l'étude des réactions consécutives à un traumatisme non suivi de contamination

L'examen a porté sur les espèces du genre *Vanilla* précédemment retenues pour leur intérêt, à savoir :

- l'espèce sensible : *V. fragrans*
- les espèces résistantes : *V. Pompona*, *V. Phaeantha*

Des racines aussi semblables que possible ont été sectionnées à proximité de l'apex et placées en tube protecteur contenant quelques centimètres-cubes d'eau stérile. L'examen histologique a été effectué au niveau des blessures 15 et 30 jours après le traitement.

Observations faites le 15^e jour : les 3 espèces ont réagi de la même façon; seule la couche cellulaire située à la périphérie de la plaie a été modifiée par le traitement; à ce niveau les membranes sont lignifiées, elles ont 2 microns d'épaisseur; ces modifications ne s'étendent pas en profondeur.

Observations faites le 30^e jour: chez les 3 espèces, la blessure est bordée par de grandes cellules allongées parallèlement à l'axe de la racine ou par des massifs de petites cellules arrondies. Dans cette zone, les membranes peuvent atteindre 3 microns d'épaisseur et elles sont lignifiées du côté de la plaie. On observe également quelques points ou plages subérisées peu étendus. Les modifications n'intéressent en général qu'une seule couche cellulaire et bien souvent les membranes de cette assise restent minces et celluloseuses en profondeur. Ce tissu cicatriciel, par sa faible épaisseur et sa nature chimique plutôt ligneuse se distingue aisément de la "barrière proprement dite et aucun risque de confusion n'est possible. Un traumatisme effectué aseptiquement ne peut donc provoquer le phénomène étudié ici.

En conclusion, la barrière n'a été observée dans le système racinaire de la *V. Pompona* et de la *V. Phaeantha* qu'en la présence du parasite, cette condition étant, à elle seule, nécessaire et suffisante pour que la réaction subéreuse se produise. Cette méthode rapide, a donc été définitivement retenue pour classer le matériel végétal nouveau produit, ces dernières années, par le Laboratoire (hybrides divers et population de *V. fragrans* obtenue par autofécondation du clone cultivé).

Dans la pratique, ce test comporte les opérations suivantes :

- choix d'une racine ayant un diamètre de 1,5mm environ sur la plante à tester.
- lésion de cette racine à 1mm de l'apex par section ou perforation à l'emporte-pièce.
- badigeonnage de la blessure avec un pionnote du champignon pathogène - La racine ainsi contaminée peut être laissée à l'air libre ou placée en atmosphère saturée d'eau dans un tube protecteur contenant quelques centimètres cubes d'eau stérile, les résultats obtenus dans les deux cas étant identiques.
- Examen histologique du front de nécrose trente jours après l'inoculation.
- Chaque liane subit trois à cinq épreuves consécutives, ce qui élimine automatiquement les causes d'erreurs accidentelles.

Les inoculations sont effectuées avec *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillæ*; la souche utilisée doit provenir d'une culture monospore, être "haute" et plus précisément posséder d'abondantes fructifications du type pionnotal, avoir la virulence maxima car l'utilisation d'une souche peu ou non pathogène fausserait à coup sur le résultat des inoculations.

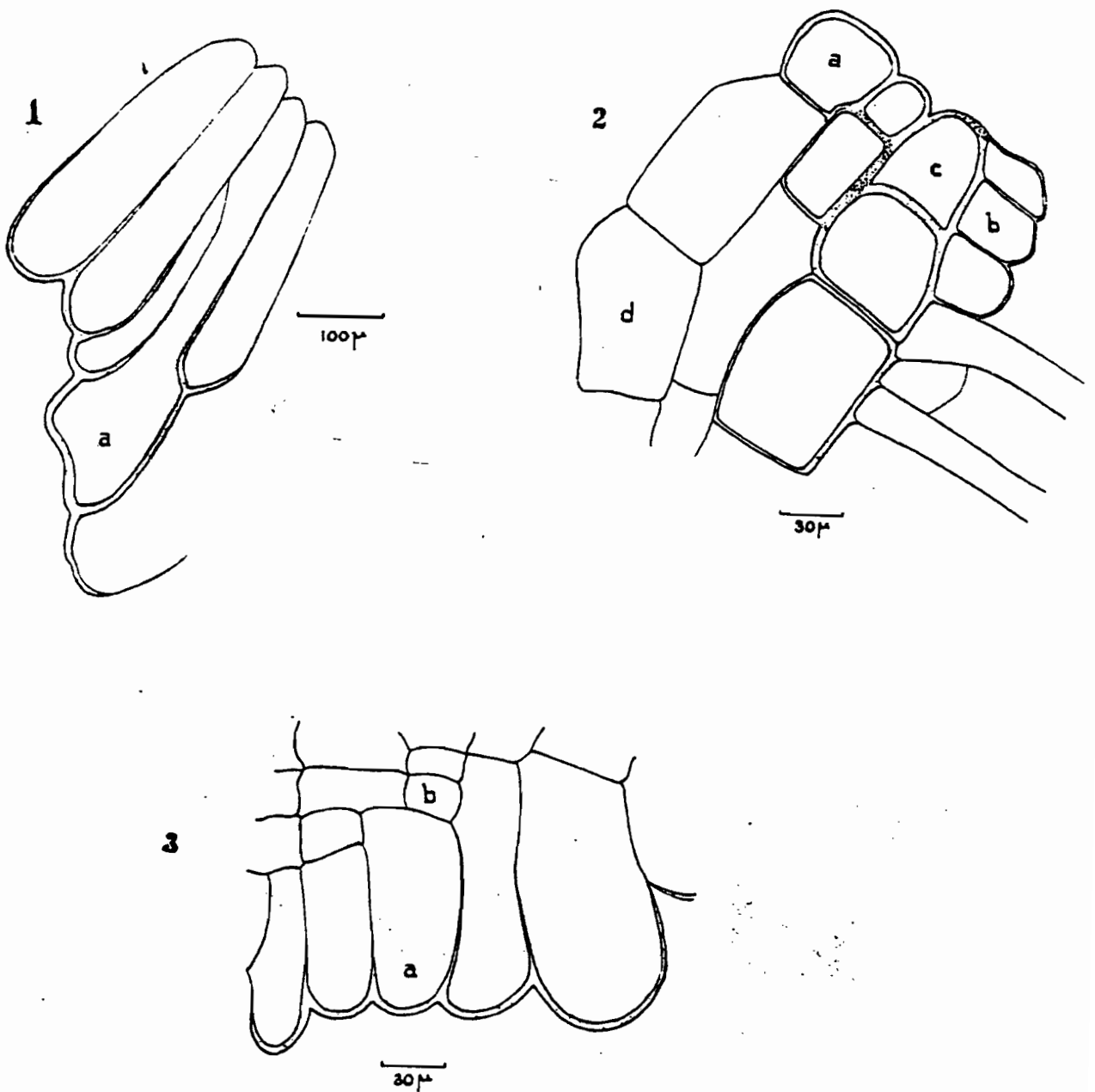
Modifications histologiques observées dans les racines de Vanilliers après traumatisme effectué aseptiquement.

- 1.- V. Phacantha; a, cellules cicatricielles à membranes épaissies et lignifiées du côté de la plaie, non modifiées en profondeur. Examen effectué 14 jours après le traumatisme.**
- 2.- V. Pompona; a, cellule corticale modifiée par le traumatisme; b, voile; c, assise subéreuse; d, cortex non modifié. Examen effectué 32 jours après le traumatisme.**
- 3.- V. fragrans; a, cellules corticales à membrane épaisse de 2 microns et lignifiée du côté de la plaie non modifiée en profondeur; b, cortex non modifié. Examen effectué 14 jours après le traumatisme.**

MODIFICATIONS HISTOLOGIQUES

DES RACINES DE VANILLIER

A LA SUITE D'UN TRAUMATISME EFFECTUE ASEPTIQUEMENT



LA RESISTANCE A LA FUSARIOSE DANS LE GENRE VANILLA

Le classement des différentes espèces du genre *Vanilla*, en fonction de leur résistance à la fusariose, permet de définir trois principaux groupes de géniteurs.

- Les espèces résistantes constituent le premier de ces groupes; elles ont la propriété d'épaissir et de subérifier leurs membranes cellulaires à la périphérie des zones contaminées; ceci a pour effet de bloquer la progression du champignon pathogène au niveau même du point de pénétration.
- Chez les espèces du second groupe, cette réaction de défense ne se produit pas; le parasite envahit progressivement toute la racine et finit par la détruire.
- Le troisième groupe se situe entre ces deux extrêmes : il englobe les géniteurs chez lesquels la réaction subéreuse se déclenche plus ou moins régulièrement. Dans ce groupe, la résistance à la fusariose prend, suivant les espèces, toute une série de valeurs intermédiaires.

En définitive, chaque espèce possède un degré de résistance qui lui est propre, comme si le caractère en question dépendait d'une série de gènes à effet cumulatif, ces gènes étant inégalement distribués dans l'équipement chromosomique des différents géniteurs - Ceci n'est qu'une hypothèse dont on vérifiera le bien fondé en étudiant la transmission de ce caractère aux descendances hybrides provenant des croisements réalisés entre ces géniteurs.

Les résultats des tests permettent de répartir les espèces étudiées ici en quatre classes de sensibilité à la fusariose

classe A	:	espèces résistantes
- B et C	:	- intermédiaires
- D	:	- sensibles.

Mentionnons à ce sujet que les tests de virulence ont été effectués avec *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillae*; les souches utilisées possédaient évidemment la virulence maximale. Les critères servant à définir ces classes sont :

- pour le test rapide: présence ou absence de réaction subéreuse
- pour le test normal: nombre de symptômes morbides observés en 60 jours dans un lot standard de dix boutures acôtées.

L'étendue et l'intensité des symptômes n'ont pas été prises en considération, car les manifestations de la maladie sont, dans les conditions de ces tests, assez constantes.

ECHELLE DE RESISTANCE A LA FUSARIOSE
DANS LE GENRE VANILLA

1°- Groupe des géniteurs résistant à la fusariose

Classe A : V. Pompona

Résistance absolue, aucun symptôme de fusariose n'a été observé au cours du test normal. Test rapide sur racines sectionnées à l'apex donnant des réactions subéreuses uniformément positives.

Classe B : V. Phaeantha; V. sp. n°33

Nette résistance se traduisant par un taux de morbidité très bas et des réactions subéreuses assez régulièrement positives.

2°- Groupe des géniteurs sensibles à la fusariose

Classe C : V. fragrans; V. tahitiensis.

Forte sensibilité caractérisée par un taux de morbidité toujours élevé; réactions subéreuses assez régulièrement négatives.

Classe D : V. Coursii, V. Françoisii, V. sp. n°56

sensibilité totale, aucune bouture n'est épargnée par le parasite; réaction subéreuse uniformément négative.

Réactions consécutives à un traumatisme suivi de contaminations par divers Fusarium non parasites pour le Vanillier.

L'échelle de résistance que nous venons de proposer, ne valant que pour *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillae*, il a paru intéressant d'utiliser pour les inoculations divers *Fusarium* non parasites pour le Vanillier en conditions normales.

L'étude a porté sur V. Pompona, V. Phaeantha, V. fragrans V. sp. n°56, chacun de ces géniteurs appartenant à l'une des classes de sensibilité ci-dessus définies.

Les racines testées avaient le même développement, elles furent traumatisées en prenant les précautions d'usage. Les inoculations ont été effectuées avec :

Fusarium oxysporum (F. 610)

Cette souche fut isolée à Nossi-Be dans le système radiculaire d'une liane atteinte de fusariose. Après purification par culture monospore et détermination, la virulence de la F.610 fut testée sur boutures aoûtées de V. fragrans par la méthode habituelle: inoculation en fioles de 1 L. sur terre de bruyère stérile et non stérile - Soixante jours plus tard, on relevait les résultats suivants :

0 nécrose sur 12 boutures en compost non stérile
1 nécrose sur 12 boutures en compost stérile.

la nécrose mentionnée ci-dessus mesurait 2mm et n'évoluait pas. La souche F.610 n'est donc pas pathogène pour le Vanillier.

Fusarium javanicum (F.149)

souche isolée à l'Ivoloina, dans une racine de Vanillier prise en début de maladie.

Fusarium oxysporum (F.435)

souche provenant d'une racine de Vanillier morte de fusariose dans un marais à Andapa.

Fusarium stilboïdes (F.147)

souche isolée d'une racine nécrosée, récoltée à Antalaha, sur alluvions.

Ces trois champignons furent isolés en mélange avec *F. bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillae*; il fut démontré qu'ils n'étaient pas parasites par eux-mêmes.

Fusarium bulbigenum var. batatas (F.901)

parasite du tabac à Madagascar; ce champignon est morphologiquement très voisin du parasite du Vanillier mais il est sans effet sur le système racinaire de cette plante.

Les racines traumatisées ont été inoculées avec ces souches et placées en tube protecteur; les examens histologiques ont été effectués dans les conditions habituelles.

- 1°- cas des espèces *V. Pompona* et *V. Phaeantha* :
les inoculations effectuées sur ce matériel végétal ont donné des résultats constamment négatifs; on observe sur tous les échantillons testés la présence d'une barrière subéro-ligneuse caractéristique.
- 2°- cas de la *V. fragrans* et de la *V. sp. 56* :
- une semaine après le traitement, les nécroses n'ont pas évolué; les surfaces traumatisées sont recouvertes d'une cicatrice brune et l'on observe, à proximité, quelques petites taches superficielles de même teinte. Sur toutes les racines testées, on constate qu'une barrière continue est en formation; elle est de nature subéro-ligneuse et mesure 100 à 200 microns d'épaisseur.
- le quinzième jour, un second lot de racines fut examiné; ce matériel végétal est sain; au voisinage de la zone inoculée, on relève la présence d'une barrière subéro-ligneuse continue, mesurant 200 microns d'épaisseur en moyenne, sauf dans le cylindre central où elle est notablement plus épaisse.

- Le résultat des inoculations est encore négatif au bout de 30 jours; sur tous les échantillons examinés les blessures sont complètement cicatrisées; les barrières peuvent atteindre 500 microns : elles possèdent collenchyme angulaire, membranes subéro-ligneuses épaisses de 5 microns et renforcements fréquents au niveau du cylindre central.

Ainsi, par inoculation avec des *Fusarium* non parasites, les modifications histologiques assurant la protection des racines du Vanillier ont été régulièrement observées chez toutes les espèces étudiées au cours de ce travail, y compris la *V. fragrans* et la *V. sp. n°56*.

On doit admettre, en conséquence, que toutes les espèces du genre *Vanilla* sont en mesure de subérifier leurs membranes cellulaires, cette réaction de défense ne se produisant chez les géniteurs sensibles qu'en présence de certains *Fusarium*.

Inoculation de racines après ablation et maintien en survie dans une enceinte saturée d'eau.

Cette méthode fut utilisée avec succès sur feuilles de Vitacées, par D. BOUBALS, pour étudier la résistance de la vigne au mildiou. Ce procédé permet de maintenir l'organe inoculé dans des conditions de température et d'humidité connues avec précision, ce qui n'est évidemment pas réalisable quand on travaille en plein champ ou en serre. En 1959, cette technique fut expérimentée sur racines de Vanillier.

Cet organe étant particulièrement fragile, on a choisi sur la plante à tester des racines aussi développées que possible; elles furent placées en chambre humide et blessées aseptiquement à l'apex. Les inoculations furent effectuées comme dans la méthode normale par badigeonnage de la surface traumatisée avec un pionnettes du champignon destiné à l'essai. Le témoin fut constitué par un lot de racines sectionnées et conservées comme indiqué ci-dessus, mais non contaminées.

Au cours de ce travail, les espèces: *V. fragrans*, *V. Phaeantha*, *V. Pompona* ont été inoculées avec les souches suivantes :

- F. 338 : *Fusarium bulbigenum* var. *batatas* f. *Vanillae*
- F. 901 : *Fusarium bulbigenum* var. *batatas*, parasite du Tabac
- F. 435 : *Fusarium oxysporum*, non pathogène pour le Vanillier.

Quatre jours après le traitement, les racines témoin avaient une apparence saine; toutes les racines inoculées étaient, par contre, profondément altérées. Les nécroses remontantes mesuraient (en mm.) :

	F. 338	F. 901	F. 435	Témoin
V. fragrans	5	25	12	sain
V. Phaeantha	26	13	25	sain
V. Pompona	19	6	30	sain

L'étude histologique de ces racines a mis en évidence les faits suivants :

- 1°- Lots témoin : les racines ne semblent pas avoir souffert, elles sont saines et leurs extrémités ont un aspect normal. Les membranes cellulaires situées au niveau de la blessure sont plus ou moins lignifiées en surface. Pendant la durée de ce test, l'ablation n'a donc pas eu d'effet notable sur la morphologie des racines témoin.
- 2°- Lots inoculés : les trois champignons utilisés, bien que seul l'un d'eux soit parasite du Vanillier, envahissent de proche en proche le cortex et le cylindre central. Il n'y a jamais formation de barrière, même chez les espèces V. Phaeantha et V. Pompona. Les membranes n'opposent aucune résistance à la pénétration des hyphes qui se ramifient et fructifient abondamment dans chaque cavité cellulaire.

En conclusion, les inoculations effectuées sur racines, après ablation et maintien en survie, ont donné dans tous les cas des nécroses remontantes caractéristiques. Les espèces du genre *Vanilla*, quelque soit leur degré de résistance à la fusariose, se sont donc comportées de façon analogue au cours du présent test; ces résultats ont été obtenus non seulement avec le parasite du vanillier, mais aussi avec des *Fusarium* qui ne sont pas, en conditions normales, nuisibles à cette Orchidée.

Cette technique n'est donc pas utilisable dans le présent travail. La physiologie du Vanillier étant à l'heure actuelle fort mal connue, on ne peut expliquer les modifications survenues dans les racines sectionnées. Cette passivité est d'autant plus incompréhensible que ses effets se font sentir aussitôt après l'ablation, dans des tissus ayant conservé une apparence parfaitement normale.

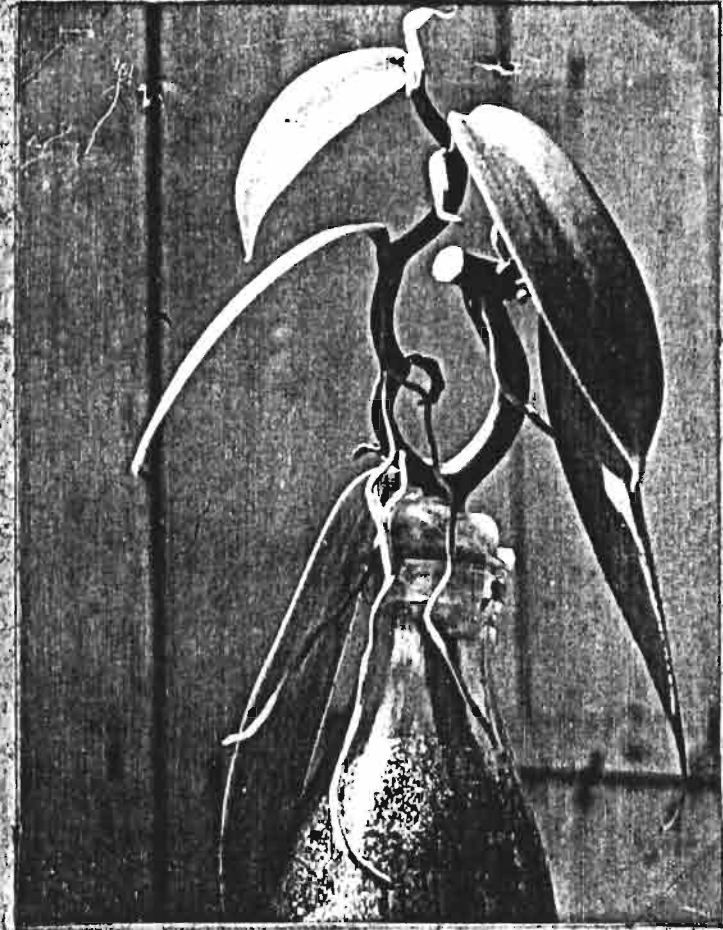
Il ressort en définitive de ce dernier essai que la réaction de défense observée dans le genre *Vanilla* dépasse le cadre des cellules atteintes et même celui de l'organe contaminé.

- BIBLIOGRAPHIE -

- ALVAREZ GARCIA L.A. - Studies on coffee root disease in Puerto-Rico. A Coffee Fusarium Wilt. Journ. Agric. Univ. Puerto-Rico, Vol.29, n°1, Jan. 1945.
- BOUBALS D. - Contribution à l'étude des causes de la résistance des Vitacées au mildiou de la Vigne (*Plasmopara viticola* (B. et C.) Berl. et de T.) et de leur mode de transmission héréditaire - Annales de l' I.N.R.A. série B, n°1, pp.5-233, Paris, 1-er trimestre 1959.
- BOURIQUET G. et BOITEAU P. - Germination asymbiotique de graines de Vanillier (*Vanilla planifolia* And.) Bull. Acad. Malgache, n.s., T.20, pp.115-7, Tananarive 1937.
- BOURIQUET G. - Sur la germination des graines de Vanillier (*Vanilla planifolia* And.). Bull. Acad. Malgache, n.s., T. 25 Tananarive, 1942-43.
- BOURIQUET G. - Les maladies des plantes cultivées à Madagascar. Encycl. Mycol., vol.12, P. Lechevalier, édit. Paris, 1946.
- BOURIQUET G. - La transplantation des jeunes vanilliers issus de semis asymbiotiques. L'Agronomie Tropicale, vol. 4, n°11-12, pp. 614-18, Paris, 1949.
- BOURIQUET G. et HIBON E. - Quelques vanilliers cultivés dans les établissements français d'Océanie. L'Agronomie Tropicale, vol.5, n°1-2, pp.54-61, Paris, Jan. Fév. 1950.
- BOURIQUET G. - Le Vanillier et la Vanille dans le monde. Encycl. Mycol. vol. 46, P. Lechevalier, édit. Paris, 1954.
- BUGNICOURT F. - Les Fusarium et *Cylindrocarpon* de l'Indochine Encycl. Mycol. vol. 11, P. Lechevalier, édit. Paris, 1939.
- CHALOT Ch. et BERNARD V. - Culture et préparation de la vanille. E. Larose, édit. Paris, 1920.
- CHEVALIER A. - La systématique du genre *Vanilla* et l'amélioration des plantes de vanille. Rev. Intern. de Bot. Appliquée et d'Agr. Tropicale, n°281-282, pp. 107-111, Paris, 1946.
- CHILDERS N.F. et CIBES H.R. - *Vanilla* culture in Puerto-Rico. Circular n°28, Fed. Exp. Stat. Puerto-Rico. Washington, D.C., U.S.A. June 1948
- CORBELL D.S. - *Vanilla*; its botany, history, cultivation and economic import. Economic Botany, vol.7; n°4, pp.291-358, Lancaster, Pa., U.S.A., Oct.Dec. 1953.

- COSTANTIN J. et BOIS D. - Sur trois types de vanilles commerciales de Tahiti - Compt. Rend. Acad. Sci., t.161, pp.196-202, Paris, 1915.
- COURS G. - La vanille dans la région d'Antalaha.
Bulletin agricole de Madagascar, n°6, pp.3-5, Dec. 1948.
- DELTEIL A. - La vanille, sa culture et sa préparation.
A. Challamel, édit. Paris, 1902.
- DOMINGO N.T. Jr. - Germination of Vanilla seeds.
The Philippine Agriculturist, vol.37, n°9, pp.543-48, Feb. 1954.
- FRAPPA C. - Sur l'acclimatement en milieu naturel de jeunes vanilliers obtenus de semis en milieu aseptique.
Bulletin agricole de Madagascar, n°10, pp.3-8, Tananarive, Avril 1949.
- GARRETT S.D. - Root disease fungi - Chronica Botanica C°
Waltham U.S.A., 1944.
- GRIMALDI J. - Les maladies cryptogamiques du Cacaoyer au Cameroun - L'Agronomie Tropicale, vol. 9, n°5, pp.544-562, Paris, Sept-Oct. 1954.
- KNUDSON L. - Germination of seeds of Vanilla - Amer. Journ. of Botany, vol.37, pp. 241-7, Mars 1950.
- LECOMTE H. - Le Vanillier, sa culture, préparation et commerce de la vanille. C. Naud, édit. Paris, 1901.
- MAUBLANC A. et BARAT H. - Une maladie nouvelle de la vanille.
L'Agronomie Coloniale, n°123, pp.77-82, Paris, Mars 1928.
- NICOT Mme J. et CHEVAUGEON J. - Comparaison des méthodes d'isolement de la microflore fongique du sol. Etude d'un terreau des serres du Muséum. Bull. Muséum, 2è série, vol. 21, pp.384-92, Paris, 1949.
- PERRIER DE LA BATHIE P. in HUMBERT H. - Flore de Madagascar.
49ème Famille. Orchidées. t.1, pp. 193-200, Paris, 1939.
- PORTERES R. - Le potentiel de variation clonale de Vanilla tahitiensis J.W. Moore. L'Agronomie Tropicale, vol.8, n°6, pp.639-40, Paris, Nov.-Déc. 1953.
- REINKING O.A. et WOLLENWEBER H.W. - Tropical Fusaria.
Philippine J. Sci., vol. 32, pp. 103-254, 1927.
- ROLFE R.A. - A revision of the genus Vanilla - Jour. Linn. Soc. Bot., vol.32, pp. 439-478. 1896.

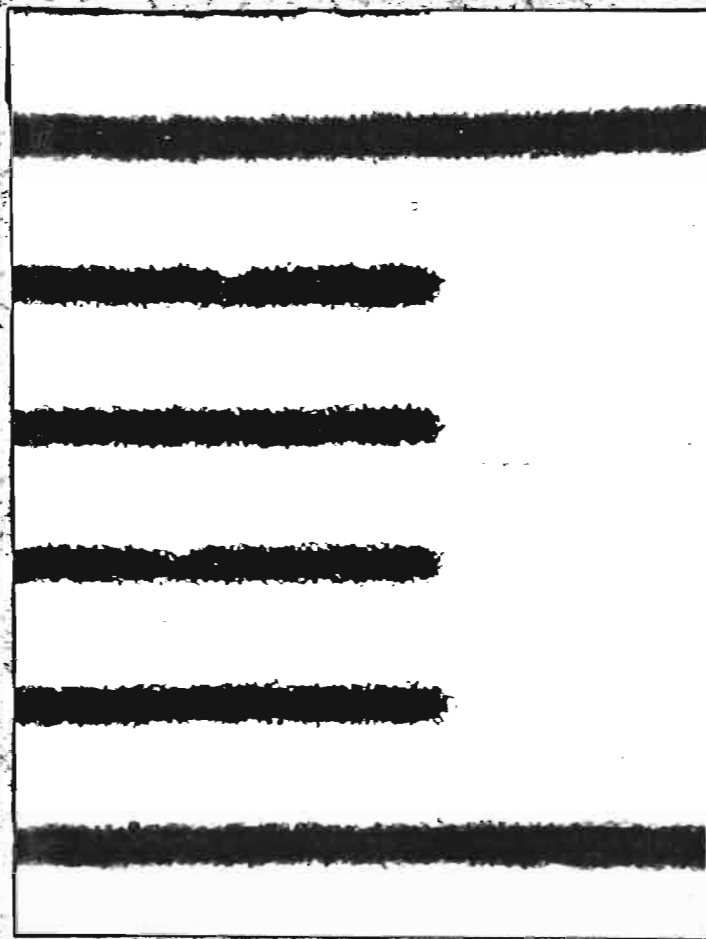
- SACCAS A.M. - La fusariose des fruits des Caféiers en Oubangui-Chari. due à *Fusarium equiseti* var. *intermedeum* n. var. L'Agronomie Tropicale, vol. 10, n°1, pp.43-59, Paris, Jan-Fev. 1955.
- SACCAS A.M. - Recherches expérimentales sur la trachéomycose des caféiers en Oubangui-Chari - L'Agronomie Tropicale, vol. 11, n°1 pp.7-38, Paris, Janv-Fev. 1956.
- SNYDER W.C. et HANSEN H.N. - The species concept in *Fusarium*. Amer. Journ. of Bot. vol. 27, n°2, pp.64-7, Feb. 1940
- THEIS T. et JIMENEZ F.A. - A vanilla hybrid resistant to *Fusarium* root rot - Phytopathology, vol. 47, n°10 pp.579-81, Oct. 1957.
- TONNIER J.P. - Observations nouvelles sur les vanilliers sauvages de l'Ankarafantsika - Bulletin agricole de Madagascar, n°17, pp.3-5, Nov. 1949.
- TONNIER J.P. - Note sur quelques travaux concernant la génétique du Vanillier - Entreprises et produits de Madagascar, n°9 pp.57-62, Tananarive, 1951.
- TONNIER J.P. - Le Vanillier - Recherche Agronomique de Madagascar n°1, pp.55-59, Tananarive, 1952.
- TONNIER J.P. - Les travaux du laboratoire du Vanillier (1950-1955). Bulletin de Madagascar, n°118, pp.247-51, Tananarive, Mars 1956.
- TUCKER C.M. - Vanilla root rot - Journ. of Agric. Res. vol.35, n°12, pp. 1121-36, 1927.
- WINOGRADSKY S. - Microbiologie du sol. Problèmes et méthodes. Masson, édit. Paris, 1949.
- WITHNER C.L. - Ovule culture and growth of Vanilla seedlings. Amer. Orchid Society Bulletin, vol.24, n°6, pp.380-92, June 1955.
- WOLLENWEBER H.W. et REINKING O.A. - Die Fusarien P. Parey, édit. Berlin, 1935.



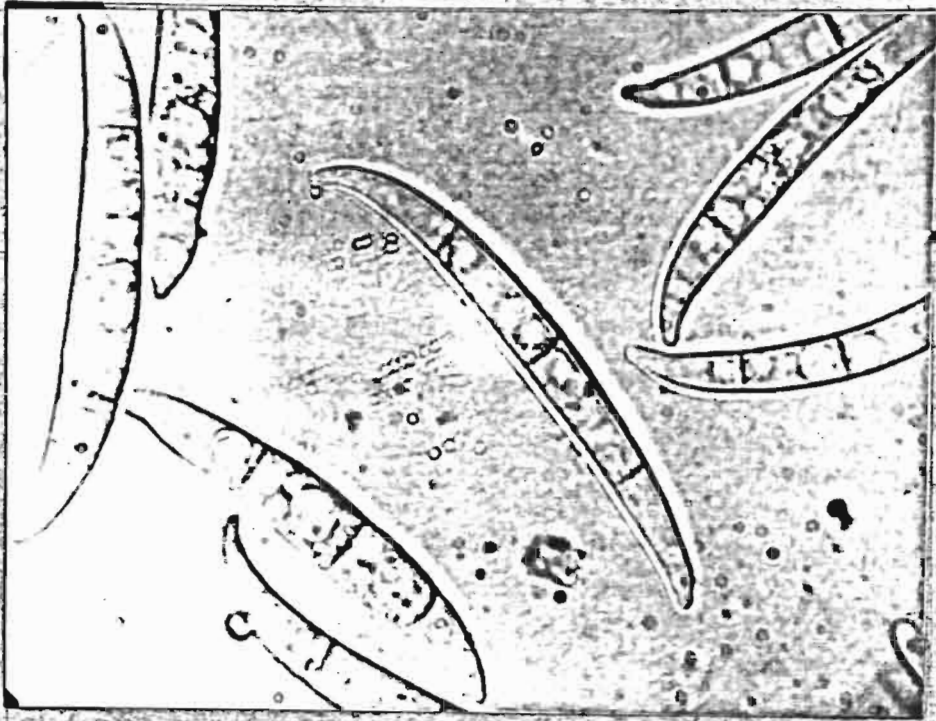
Symptômes de la fusariose observés sur *V. fragrans* à la suite du test de virulence: nécroses des racines, arrêt de croissance et flétrissement de l'appareil végétatif, rhizogénèse accrue.



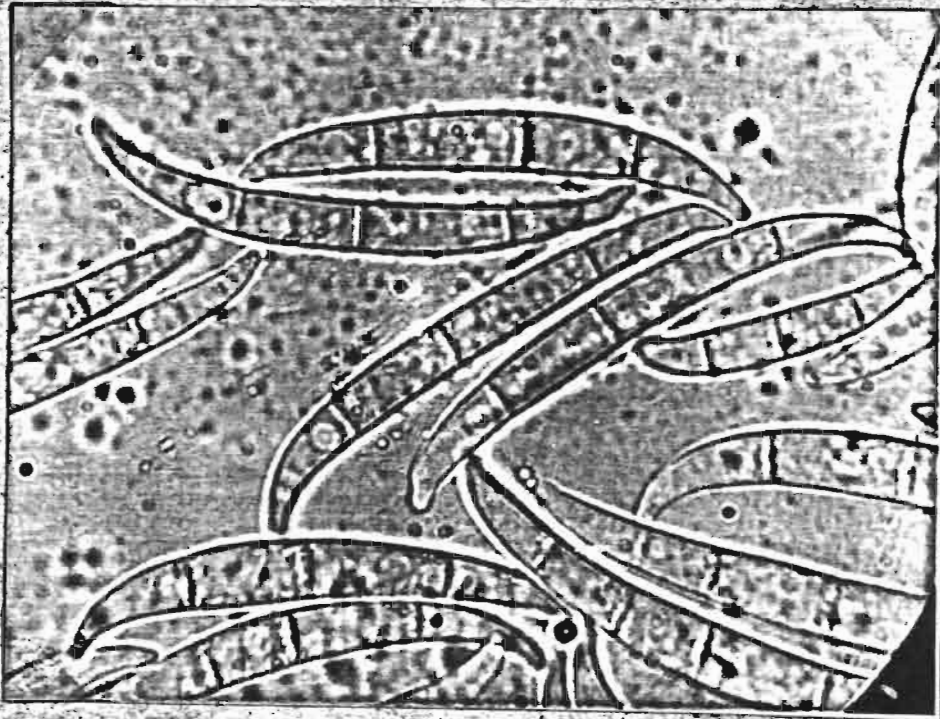
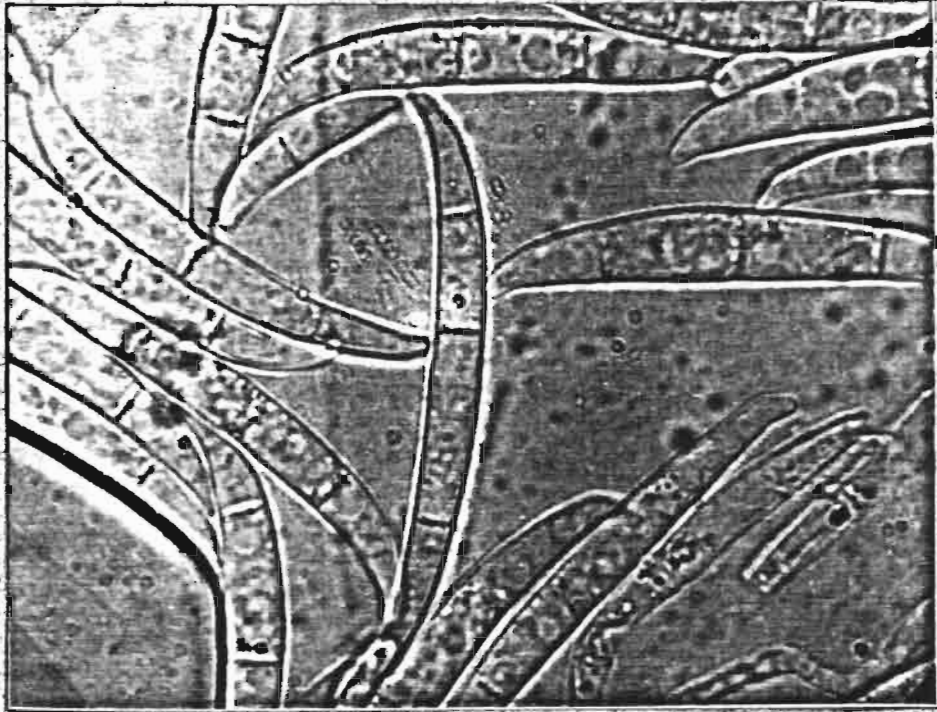
Symptômes de la fusariose observés sur *V. fragrans* à la suite du test de virulence: nécroses des racines, arrêt de croissance et flétrissement de l'appareil végétatif, rhizogénèse accrue.



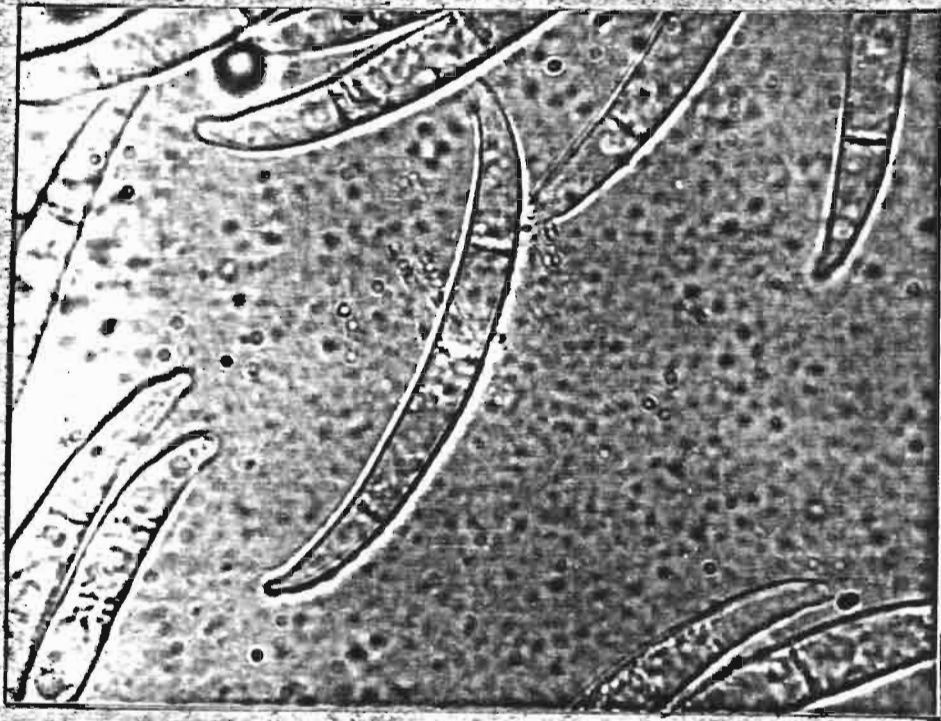
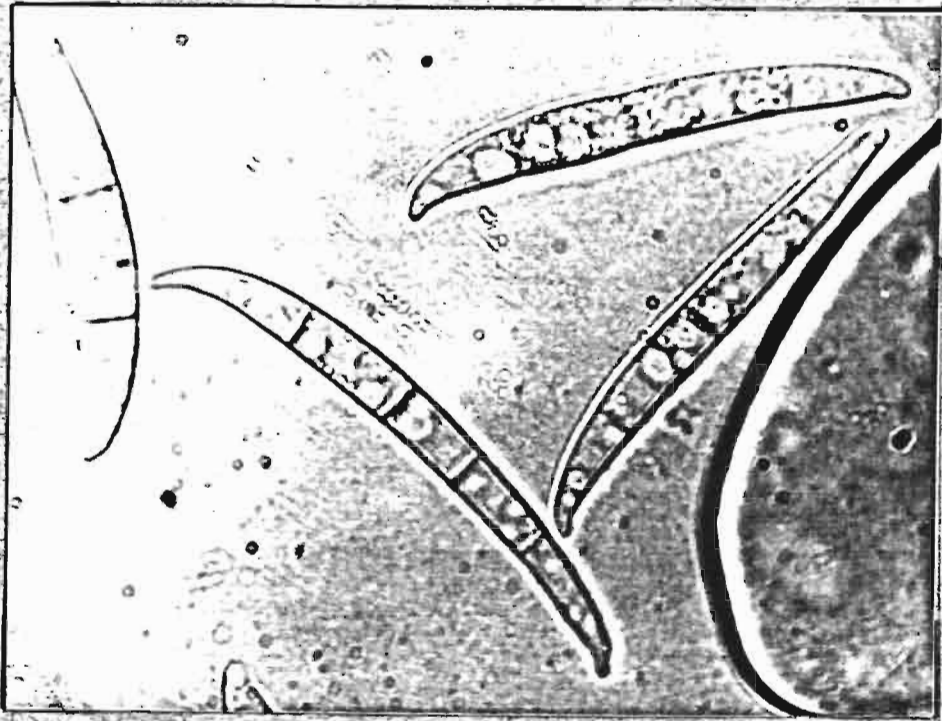
Micromètre objectif. Le grossissement adopté ici ($\times 1.800$) correspond à celui des seize photos suivantes : une division au centre de la photo égale 10 microns.



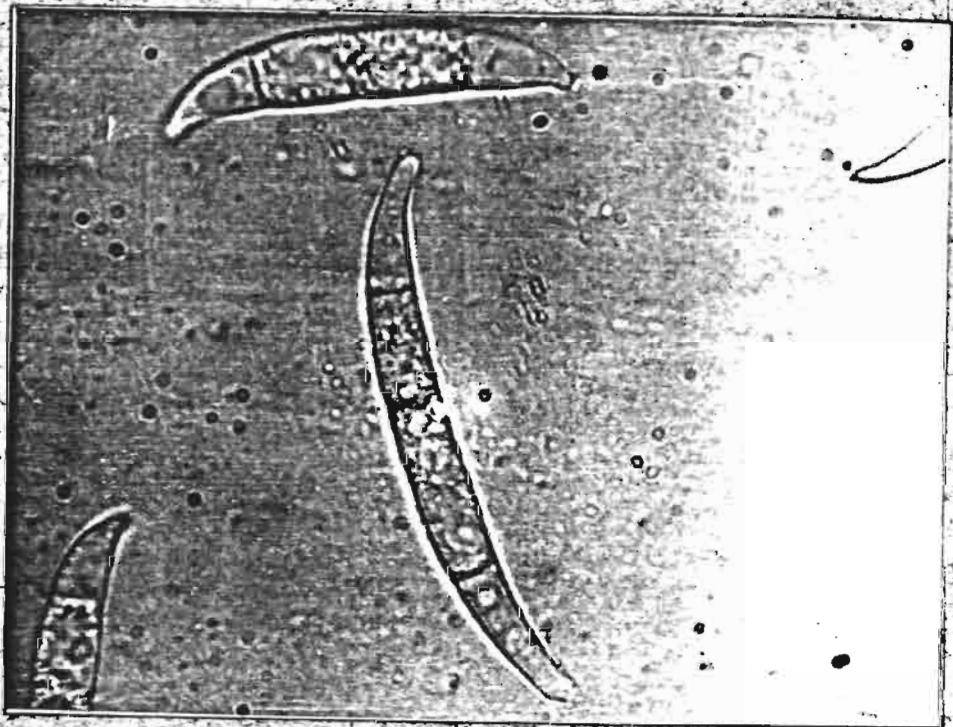
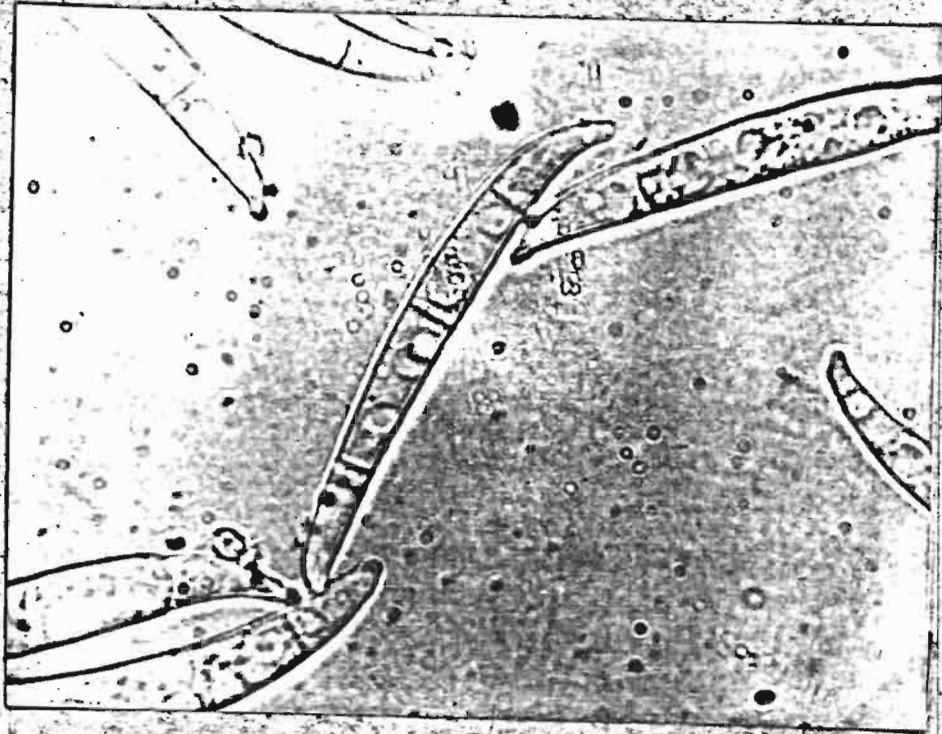
Phoma bulbigenum Cke. et Mass. var. *batatas* Wr. f. *Vanillae*
Macroconidies.



Peridermium bulbigenum Cke. et Mass. var. *batatas* Wr. f. *Vanillae*
Macroconidies.



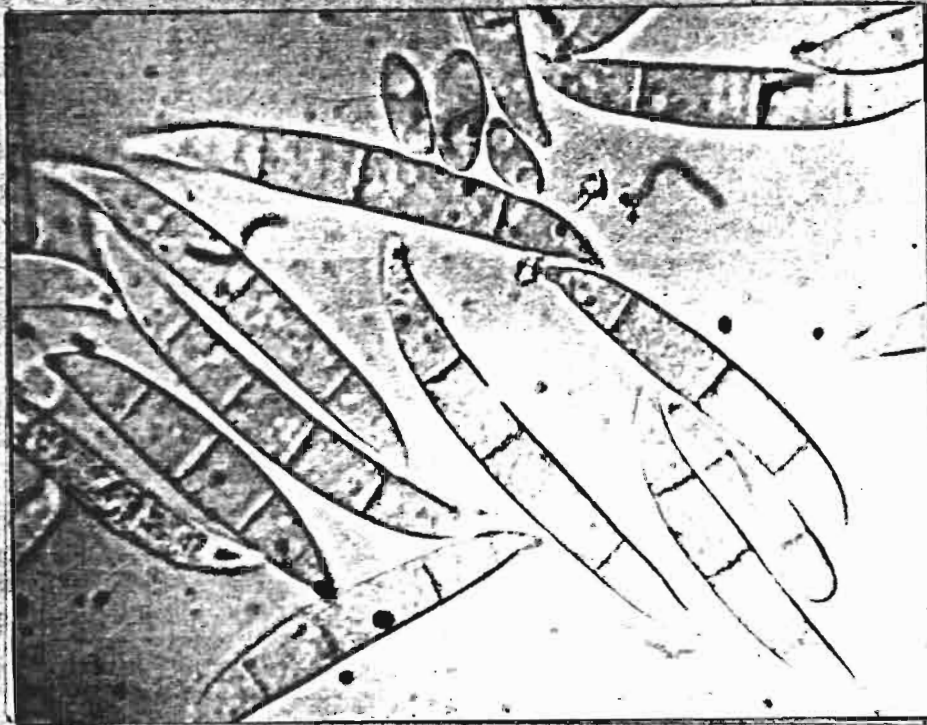
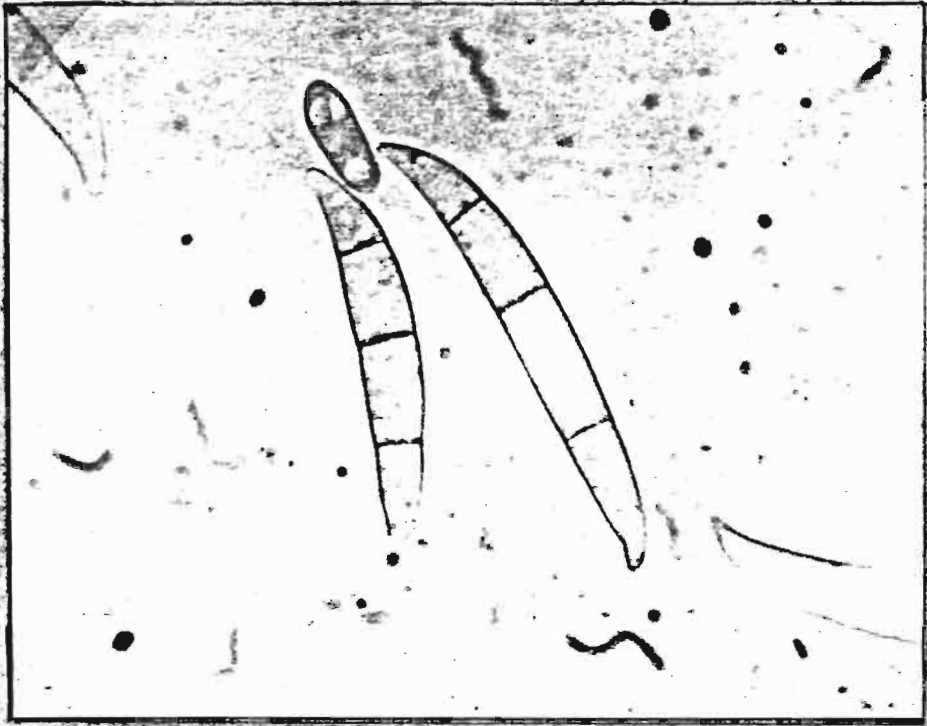
Botrytis bulbigenum Cke. et Mass. var. *batatas* Wr. f. *Vanillae*
Macroconidies.



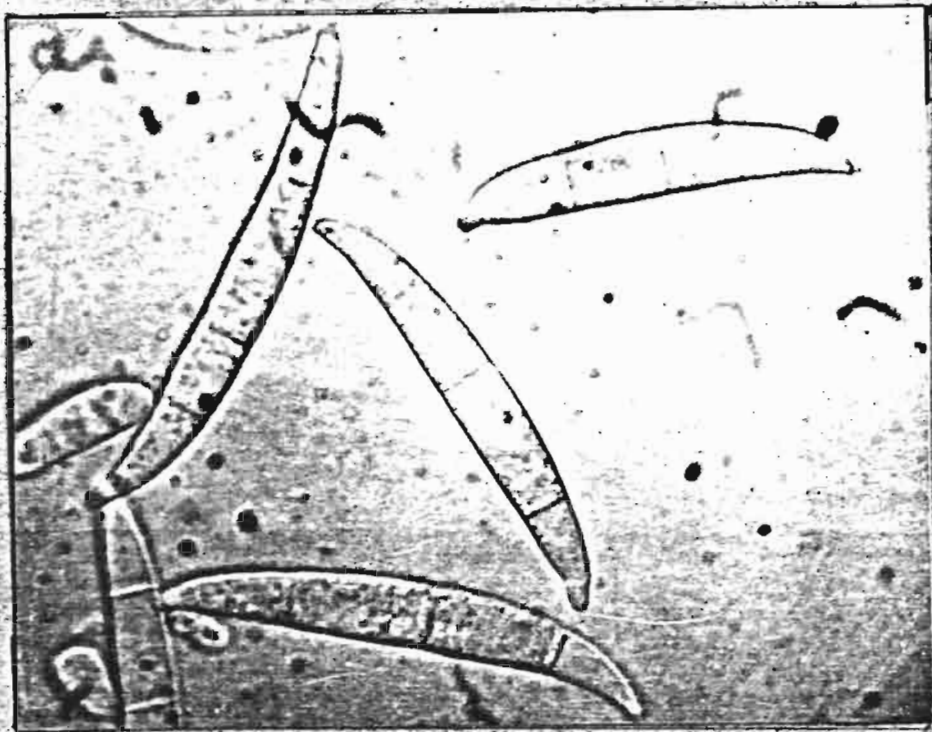
Sclerotium bulbigenum Cke. et Mass. var. *batatas* Wr. f. *Vanillae*
Macroconidies.



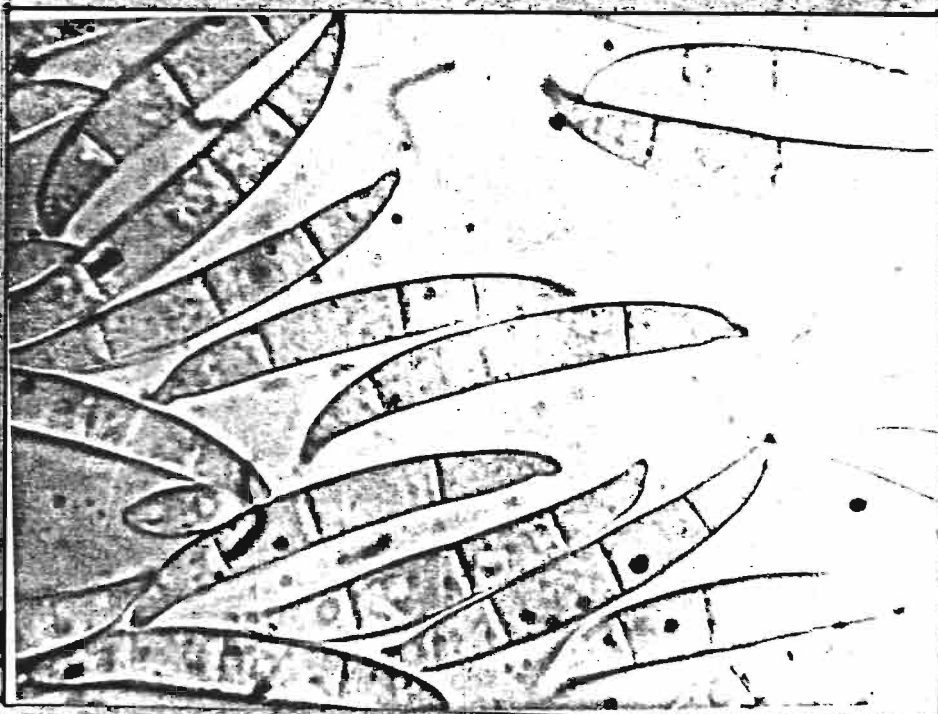
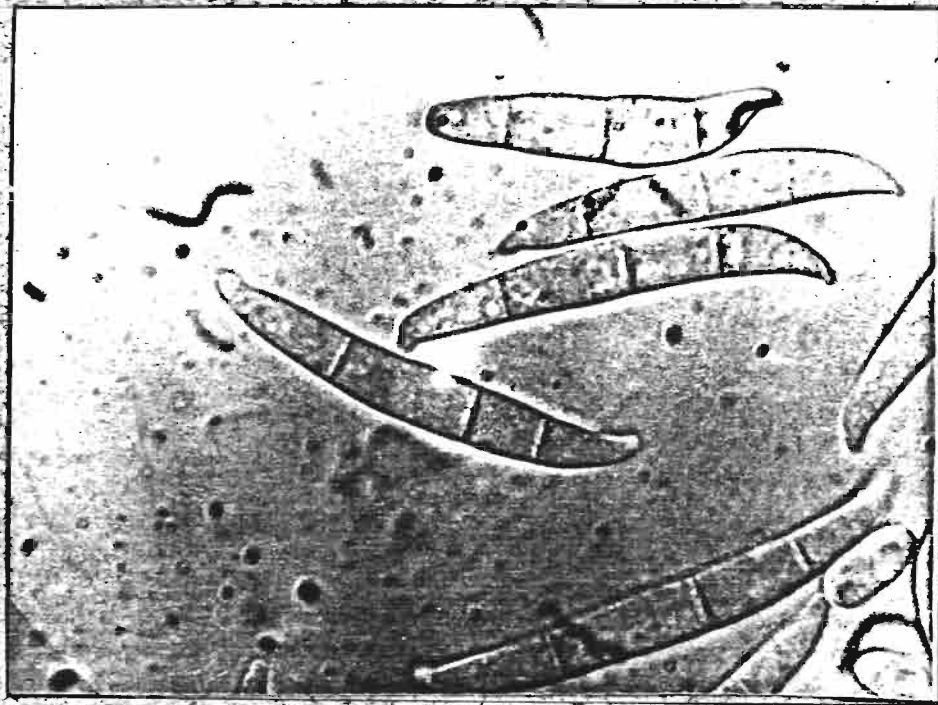
Fusarium oxysporum Schl. f. *Vanillae*.
Macroconidies et microconidies.



Fusarium oxysporum Schl. f. *Vanillae*. Macroconidies
et microconidies.



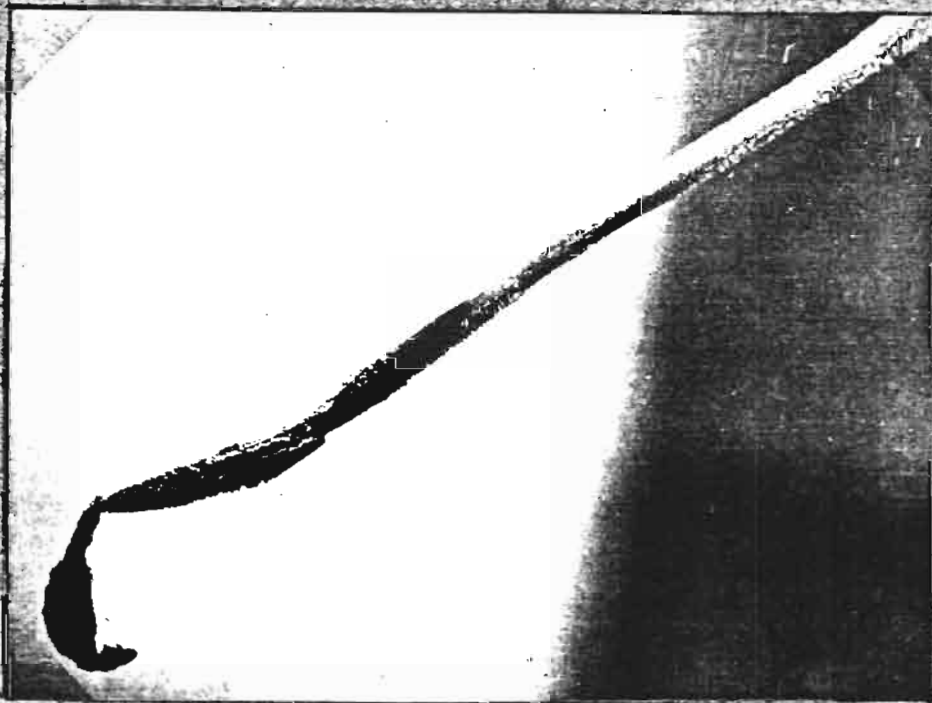
Fusarium oxysporum Schl. f. *Vanillae*.
Macroconidies et microconidies.



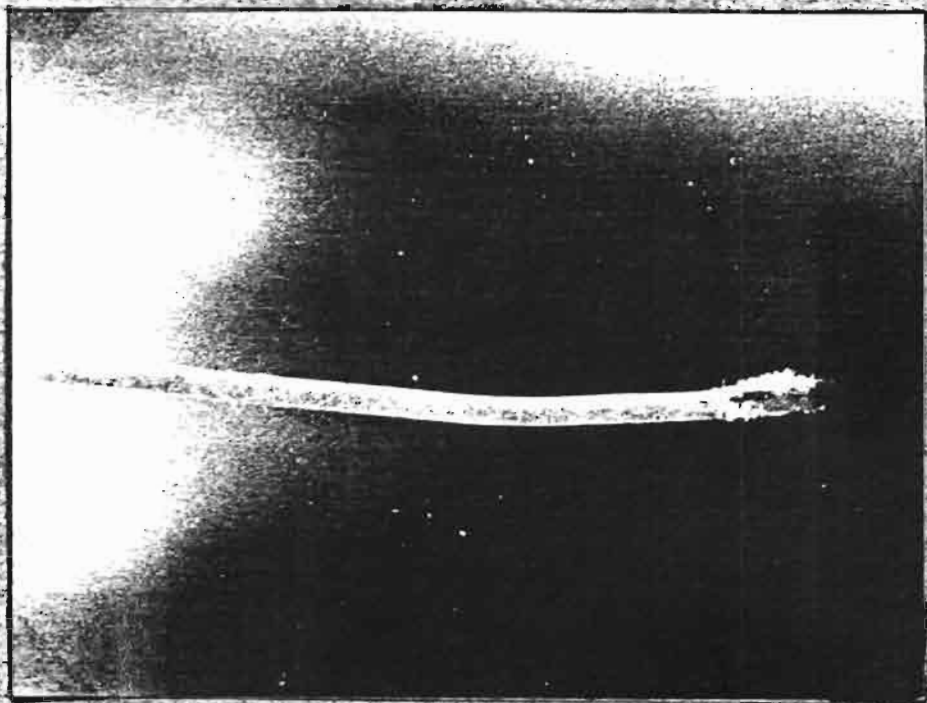
Fusarium oxysporum Schl. f. *Vanillae*
Macroconidies et microconidies.



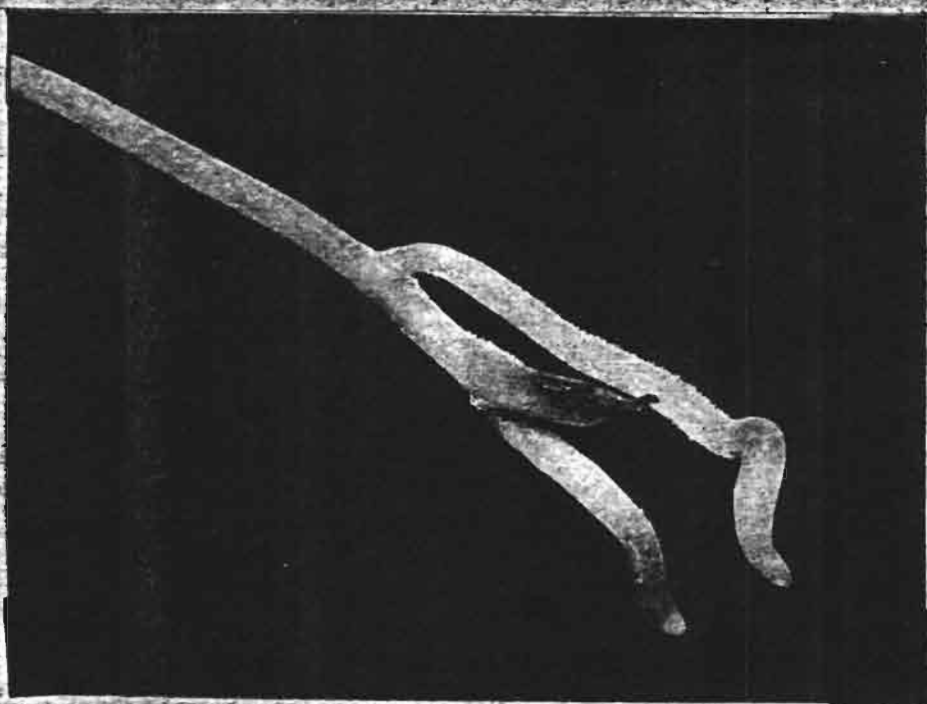
Test individuel de sensibilité à la fusariose; dispositif expérimental.



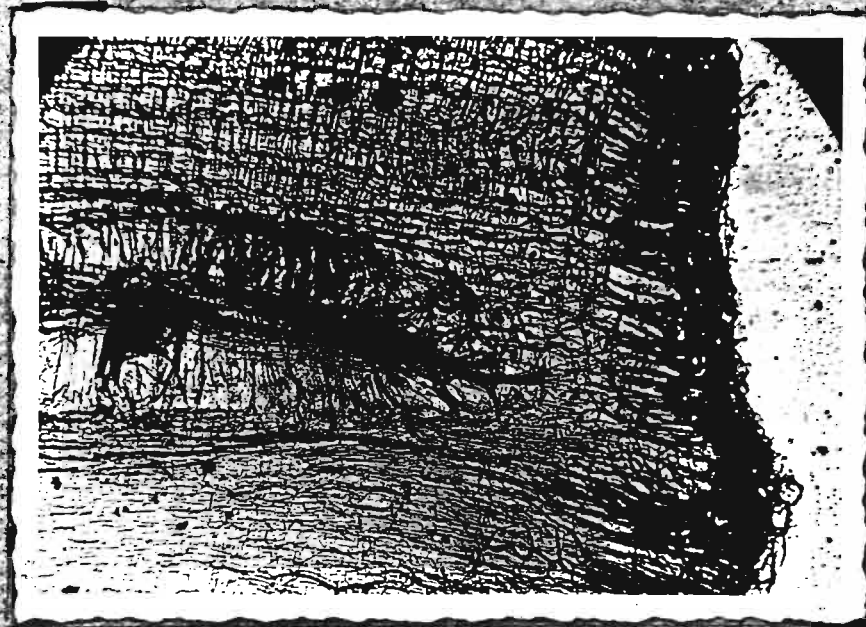
Test individuel de sensibilité à la fusariose; 26 jours après l'inoculation, la racine de *V. fragrans* est partiellement détruite.



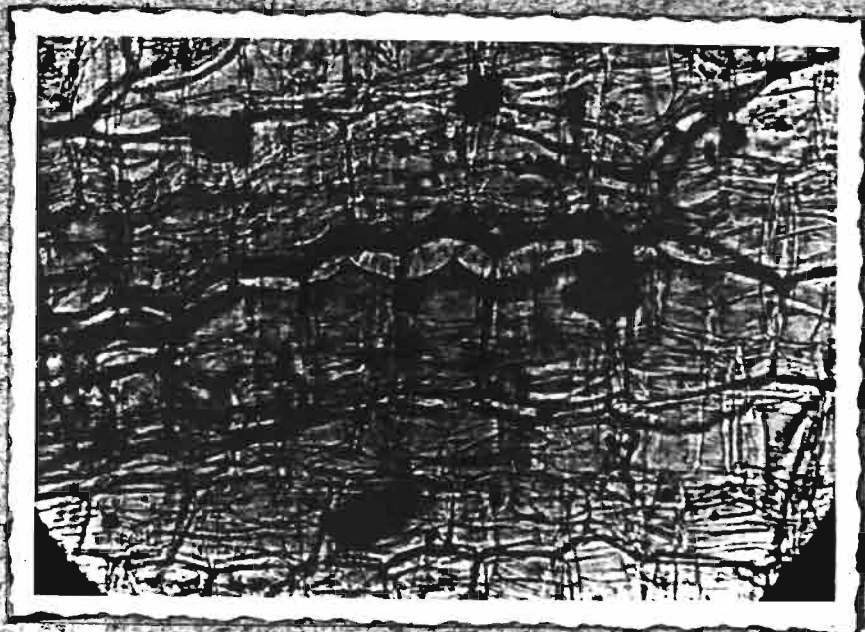
Test individuel de sensibilité à la fusariose;
21 jours après l'inoculation, la racine de V.sp.33
est restée saine.



Test individuel de sensibilité à la fusariose;
30 jours après l'inoculation, la racine de l'hybride
V. fragrans x V. sp.33 demeure saine et a repris sa
croissance.



Barrière subéreuse observée sur un Vanillier résistant à la fusariose après traumatisme et inoculation du parasite; coupe longitudinale dans une racine de *V. Phaeantha*, trente jours après le test.



Cellules corticales à membranes subérifiées, observées dans une racine de *V. Phaeantha* au voisinage de la barrière subéreuse, trente jours après le traumatisme et l'inoculation du parasite.