

Infections artificielles de jeunes plants d'*Hevea brasiliensis* par *Rigidoporus lignosus* (Kl.) Imaz. et *Phellinus noxius* (Corner) G. H. Cunn.¹

Par D. NANDRIS, M. NICOLE et J. P. GEIGER

Abstract

Inoculations of young plants of *Hevea brasiliensis* by *Rigidoporus lignosus* (Kl.) Imaz. and *Phellinus noxius* (Corner) G. H. Cunn. Inoculations of young Rubber plants by two root rotting fungi, *Rigidoporus lignosus* and *Phellinus noxius* were performed under greenhouse conditions. For each parasite, parameters such as method of inoculation and level of soil moisture, were investigated. The results are discussed in relation to the fungal biology.

1 Introduction

En matière de recherches en phytopathologie, la maîtrise d'une technique d'inoculation artificielle permettant de reproduire le cycle infectieux d'un parasite au sein d'un hôte est utile dans l'approche des modalités d'une interaction hôte-parasite. Si généralement la mise au point d'une telle technique présente moins de difficultés pour les maladies foliaires (TOUZE 1964), il n'en est pas de même en ce qui concerne les maladies racinaires d'essences ligneuses. DAY (1948) rapporte en effet, qu'il est souvent difficile d'infecter artificiellement des arbres vivants alors que paradoxalement, au champ, les infections naturelles sont fréquentes. L'analyse bibliographique révèle que dans la grande majorité des cas, les essais d'inoculation ont été réalisés sur arbre adulte, volontairement blessés ou sains. Des portions de bois naturellement infectés (RISBETH 1951; JOHN 1958; SHAIN 1967; SACCAS 1975) ou artificiellement inoculés (KUHLMANN 1969; VARGHESE 1971; SINGH 1980) servent d'inoculum pour ces expérimentations.

En ce qui concerne plus particulièrement *Hevea brasiliensis* (Willd. Ex. Adr. de Jun.) Müll. Arg. et *Rigidoporus lignosus* agent du pourridié blanc des racines, des méthodes comparables ont également été proposées. Toutefois les résultats obtenus tant par JOHN (1958 et 1966), LYANAGE et al. (1977) et PERIES et SAMARAWEERA (1963) avec un inoculum ligneux, que par DE JONG (1933) et FOX (1961) à l'aide d'une culture pure du parasite semblent assez mal adaptés à la réalisation d'études fines de la pathogénèse en conditions contrôlées.

C'est pourquoi il nous est apparu nécessaire de repenser ces techniques d'inoculations à la lumière de données acquises au laboratoire (DECLERT 1960; BOISSON 1973; GEIGER et al. 1976; NANDRIS et al. 1981) sur la biologie du parasite. Cette expérimentation, initiée sur de jeunes plants d'Hévéa inoculés avec *Rigidoporus lignosus* a été étendue à *Phellinus noxius*. Cet agent du pourridié brun des racines d'Hévéa est en effet responsable de dégâts conséquents dans de jeunes plantations de Côte d'Ivoire.

La présente note décrit pour chacun de ces deux parasites, les résultats des inoculations réalisées *in vitro* et *in vivo*.

¹ Note présentée au Congrès International sur la Protection des Cultures Tropicales tenu à Lyon - France 8-10 juillet 1981.

2 Matériel et méthodes

2.1 Le matériel biologique

2.1.1 La plante hôte

Les expérimentations ont été réalisées sur des jeunes plants issus de graines d'*H. brasiliensis* clône GT₁, récoltées fin août dans la plantation expérimentale de l'IRCA², à l'Anguédédou (Région d'Abidjan). Compte tenu de l'altération rapide du pouvoir germinatif de ces graines - 3 à 4 semaines en moyenne - celles-ci sont utilisées immédiatement ou stockées à 4°C en atmosphère saturée en eau. Après leur récolte ou à l'issue de leur conservation, les graines sont mises à germer en bacs de sable humide. Quinze jours plus tard, les plantes sont repiquées en bacs de végétation, puis inoculées à l'âge d'un mois.

2.1.2 Les champignons parasites

La souche de *R. lignosus* a été isolée au laboratoire (janvier 1978) à partir d'un pivot parasité d'*H. brasiliensis* provenant de la plantation de l'IRCA. La souche de *P. noxius* (isolée en juillet 1977) provient de la plantation d'Hévéa de la SOGB³.

Les souches sont cultivées à l'obscurité à 28°C en boîte de Petri sur un milieu malté (DIFCO) à 2% et gélosé à 2%.

2.2 Réalisation expérimentale des confrontations hôte-parasite

2.2.1 In vitro

Deux types d'essais ont été réalisés:

a. en tube de verre: au fond de chacun des tubes ($\varnothing = 3$ cm, L = 30 cm) sont coulés 15 ml d'un milieu malté et gélosé à 2%; l'ensemble est stérilisé 1 heure à 120°C. Les tubes sont ensuite ensemencés d'un implant mycélien de 5 mm de diamètre, prélevé à la périphérie d'une culture du champignon âgée de 5 jours. Après 10 jours de colonisation du culot malté on apporte, par tube, soit 30 ml d'un milieu KNOP gélosé à 0.8% coulé à la température de surfusion, soit un volume identique de terre stérile humide. Une graine décortiquée, ayant germé sur coton stérile, est alors déposée dans chaque tube.

b. en fiole de Roux: dans cette expérience, l'inoculum est apporté sous forme de 4 bûchettes déposées au fond de la fiole (vol. = 500 ml). Celle-ci est alors remplie jusqu'au goulot de terre stérile humide ou de vermiculite humidifiée à l'aide d'une solution de KNOP. La graine germée est déposée dans le goulot à la surface du substrat.

Ces tubes et ces fioles sont disposés dans une enceinte climatique à la température constante de 28°C et soumis à une alternance de 12 h d'éclaircissement et 12 h d'obscurité. Le taux d'humidité relative de l'air (100%) est obtenu et maintenu par de fréquentes vaporisations d'eau à l'aide d'un brumisateur Defensor 505. La durée de l'expérimentation est de 3 mois.

2.2.2 In vivo

Les expérimentations sont réalisées sous serre dans des bacs de végétation en béton de 1m³. Une couche de graviers de 5 cm d'épaisseur, déposée dans le fond du bac, facilite l'écoulement de l'eau par un tuyau de drainage. Les bacs sont remplis avec de la terre prélevée dans la forêt du Banco (région d'Abidjan). La durée des expérimentations est de cinq mois.

² Institut de Recherches sur le Caoutchouc.

³ Société des Caoutchoucs de Grand Béréby (Sud Ouest de la Côte d'Ivoire).

2.2.2.1 Modes d'inoculations

a. l'inoculum naturel:

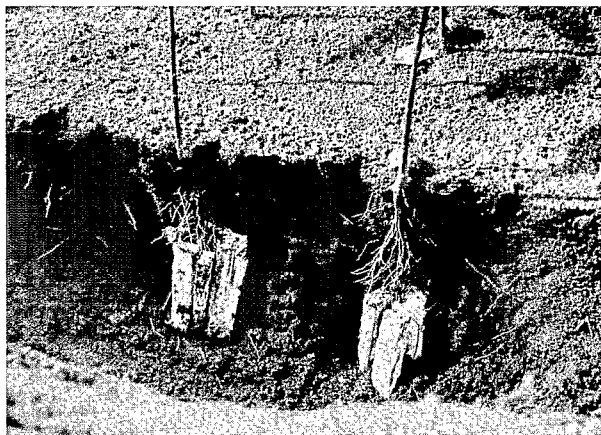
Il est constitué de pivots d'*H. brasiliensis* infectés naturellement en plantation. Selon le type d'expérimentation ces pivots sont:

- soit utilisés tels quels en les enfouissant verticalement jusqu'au collet dans la terre des bacs. Les plantes sont ensuite disposées en couronne au contact du pivot.
- soit tronçonnés en rondelles de 5 cm d'épaisseur. Après examen, seules les portions de bois bien infectées sont retenues et disposées sous la terre, à 30 cm de profondeur en une couche homogène. Les plants sont alors repiqués dans le bac. Dans ces conditions, le poids de bois parasité apporté à chaque plant est de 500 gr. environ.

b. l'inoculum artificiel:

Des fragments de bois frais de branches d'Hévéa (8 cm de longueur sur 1,5 cm de diamètre) sont disposés dans des fioles de Roux de 1 litre contenant 100 ml d'eau. Chaque fiole comprenant environ 45 bâchettes est autoclavée 1 heure à 110°C, puis ensemencée à l'aide de 8 implants mycéliens (\varnothing 5 mm) prélevés à partir d'une culture du parasite âgée de 5 jours. L'incubation est réalisée dans une chambre de culture à 28°C pendant 1 mois et demi, 5 et 11 mois pour *R. lignosus* et 3, 5 et 10 mois pour *P. noxius*. L'inoculation de la plante est effectuée en disposant 5 bâchettes parasitées, contre le pivot, à 20 cm de la surface du bac (photographie). Le poids de bois parasité apporté par plante est de 60 grammes.

Des plantes non inoculées et des plantes dont le pivot est entouré de 5 bâchettes non infectées servent de témoins à ces essais.



Inoculation de plants d'Hévéa à l'aide d'un inoculum artificiel constitué de bâchettes préinfectées par *Rigidoporus lignosus*

2.2.2.2 Mesures et contrôle du taux d'humidité de la terre des bacs

Les caractéristiques du dispositif expérimental sont décrites dans la figure 1. Afin d'homogénéiser pour chacun des bacs les paramètres physiques et hydrodynamiques du matériau sol, la terre est apportée en lits successifs de 20 cm d'épaisseur puis saturée en eau pendant une semaine. La mesure de l'humidité volumique du sol (HV) est réalisée sur tout le profil du bac à l'aide d'une sonde à neutrons de type Solo 20. Le taux d'humidité retenu pour l'expérience est alors obtenu, au niveau où sont situées les bâchettes-inoculum, par apports en eau modulés en fonction des données de la sonde. Durant toute la durée de l'essai, la mesure et le contrôle de HV sont réalisés trois fois par semaine (figure 2).

Le préalable technique de caractérisation des paramètres hydro-pédologiques et neutroniques de la terre (COUCHAT 1974) ainsi que ces mesures à la sonde ont été réalisés par le laboratoire des Radioisotopes du Centre ORSTOM d'Adiopodoumé.

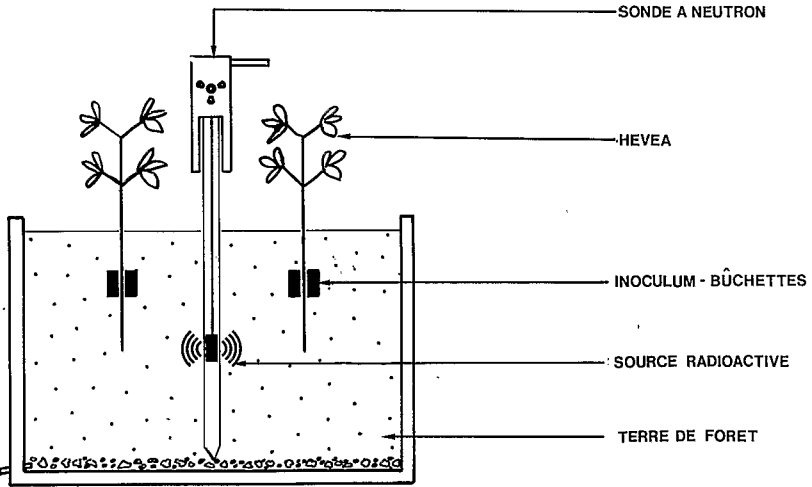


Fig. 1. Schéma du dispositif expérimental d'inoculation artificielle de jeunes plants d'Hévéa à l'aide d'un inoculum bûchettes: bacs de végétation sous serre

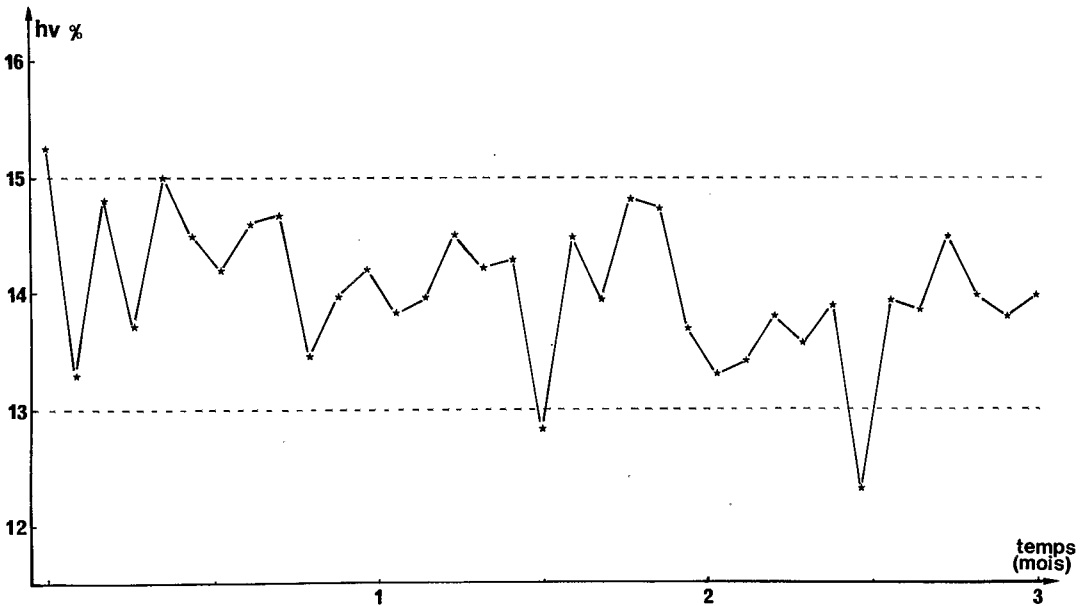


Fig. 2. Maintien, au cours du temps, du niveau de l'humidité volumique (Hv) de la terre d'un bac par des apports modulés en eau. (Motif Hv: $14 \pm 1\%$)

2.2.2.3 Evaluation du niveau de l'attaque

Pour chaque plante inoculée, l'évaluation du niveau de l'attaque parasitaire et de la note phytosanitaire qui en découle, résultent d'un examen macroscopique du système racinaire, d'un examen cytologique de coupes de racines colorées au bleu coton ainsi que d'une révélation enzymatique de la laccase fongique dans les tissus de l'hôte (GEIGER et al. 1976). Ce dernier test, réalisé en incubant pendant 20 h. les portions de racines dans le milieu

Tableau 1
Barème phytosanitaire

En fonction du degré de sévérité de l'attaque, une note est affectée à chacun des plants soumis à l'examen au terme de l'expérience

Note	Appréciation de la gravité de l'attaque
<i>Rigidoporus lignosus</i> . Plants d'Hévéa	
0	Aucune trace mycélienne
1	Filaments mycéliens non agrégés
2	Rhizomorphes
3	Rhizomorphes + Pénétrations ponctuelles
4	Rhizomorphes + Nécrose localisée visible à l'oeil nu
5	Rhizomorphes + Pourriture partielle du pivot < 20 %
6	Rhizomorphes + Pourriture partielle du pivot de 20 à 50 %
7	Rhizomorphes + Pourriture du pivot > 50 %
8	Symptômes foliaires de la maladie
9	Mort de la plante
<i>Phellinus noxius</i> . Plants d'Hévéa	
0	Aucune trace mycélienne
1	Début de manchon mycélien
2	Manchon mycélien constitué
3	Manchon + Pénétrations ponctuelles
4	Manchon + Nécrose localisée visible à l'oeil nu
5	Manchon + Pourriture de pivot < 20 %
6	Manchon + Pourriture du pivot de 20 à 50 %
7	Manchon + Pourriture importante > 50 %
8	Symptômes foliaires de la maladie
9	Mort de la plante

réactionnel de l'enzyme, permet en effet de révéler de façon exhaustive les pénétrations ponctuelles d'une racine difficilement décelables au microscope.

Le barème phytosanitaire présenté dans le tableau 1 rend compte de l'ensemble de ces données.

3 Résultats

Les résultats des expérimentations sont présentés dans les tableaux 2 à 5. Ils sont exprimés, selon le mode de répartition des plants par classe de note sanitaire, en % par rapport au total des plants inoculés. Le pourcentage de contamination (C) représente le nombre de plants ayant obtenu une note supérieure ou égale à 1. Le pourcentage de pénétration (P) représente le nombre de plants ayant obtenu une note supérieure ou égale à 3. La note phytosanitaire moyenne ($\bar{N}\bar{S}$) traduit pour chaque motif la réussite de l'inoculation.

3.1 *Rigidoporus lignosus*

3.1.1 *Inoculation in vitro* (tableau 2)

Au terme de l'expérience, les pourcentages de contamination et de pénétration des plants inoculés en tubes sont faibles voire nuls. De ce fait, les notes sanitaires attribuées à ces essais sont inférieures à 1.

On observe, par contre, dans le cas de l'inoculation en fiole à l'aide de bûchettes, une prolifération du mycélium aboutissant à la contamination de 80 à 100 % des plants. Cependant, dans le meilleur des cas (sur vermiculite) la note sanitaire moyenne est de 3,2 c'est-à-dire que les plants ne présentent que des nécroses très localisées.

Tableau 2

Inoculations artificielles «in vitro» de jeunes plants d'Hévéa par *Rigidoporus lignosus*

Les résultats sont exprimés en % du nombre de plants inoculés (Nb)

Type d'inoculum	Note										C	P	Nb	ÑS
	0	1	2	3	4	5	6	7	8D	9M				
Tube-gelose + terre	62,5	0	25	12,5	0	0	0	0	0	0	37,5	12,5	8	0,87
Tube-gelose+KNOP	90	0	10	0	0	0	0	0	0	0	10	0	10	0,2
FiOLE-bûchettes														
+ terre	10	10	70	0	10	0	0	0	0	0	80	10	10	1,9
FiOLE-bûchettes														
+ vermiculite	0	10	10	30	50	0	0	0	0	0	100	80	10	3,2

C: contamination, P: pénétration, D: dépérissement, M: mortalité, Nb: nombre de plants inoculés
ÑS: note sanitaire moyenne

3.1.2 Inoculation in vivo (en serre)

3.1.2.1 Choix du type d'inoculum

Les résultats sur l'efficacité respective des deux types d'inoculum testés – naturel et artificiel – sont reportés dans le tableau 3 et font apparaître les faits suivants :

La forte proportion de plants contaminés démontre dans les 3 cas, la capacité à différencier des rhizomorphes à partir du matériel infecté. Cependant, à mortalité comparable, les pourcentages de plantes pénétrées (83 %) et de plantes dépérissantes (37,5 %) sont plus élevés avec l'inoculum-bûchettes. La note ÑS (5,6) reflète l'efficacité de ce mode d'inoculation qui est donc retenu pour la suite de l'expérience.

Tableau 3

Inoculations artificielles «in vivo» de jeunes plants d'Hévéa par *Rigidoporus lignosus*

Les résultats sont exprimés en % du Nombre de plants inoculés (Nb)

Type d'inoculum	Note										C	P	Nb	ÑS
	0	1	2	3	4	5	6	7	8D	9M				
Pivot	2	2	45	12	2	12	6	2	10	6	98	51	49	3,85
Rondelles	9,5	8	12	20	19	9,5	3	0	9,5	9,5	90,5	70	64	3,97
Bûchettes (11 mois)	4	0	12,5	8,5	12,5	16,5	0	0	37,5	8,5	96	83	24	5,6

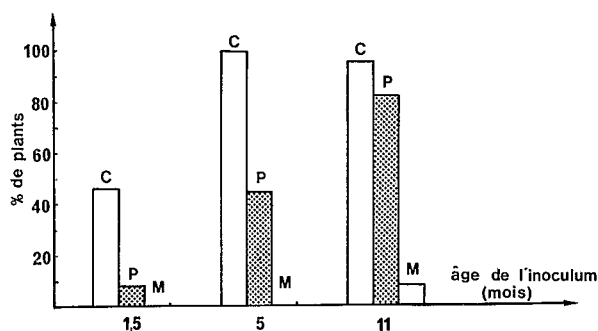
C: contamination, P: pénétration, D: dépérissement, M: mortalité, Nb: nombre de plants inoculés,
ÑS: note sanitaire moyenne

3.1.2.2 Incidence de l'âge de l'inoculum sur l'infection

Afin de préciser les conditions optimales de l'utilisation de cet inoculum, l'incidence de l'âge du matériel sur l'infection a été étudiée. Pour ce faire, la durée d'incubation du parasite dans les bûchettes a été modulée de 1,5 à 11 mois. On constate ainsi (figure 3) que les meilleurs résultats sont enregistrés pour des bûchettes colonisées durant onze mois avant leur utilisation.

Le pourcentage de plants morts obtenus au terme de cette expérience (8 %) demeure cependant peu satisfaisant. Une amélioration du rendement de la méthode a été envisagée en essayant de recréer dans les bacs d'inoculation, des conditions édaphiques se rapprochant de celles d'un milieu naturel.

Fig. 3. Influence de l'âge de l'inoculum bâchettes (*Rigidoporus lignosus*) sur l'infection de jeunes plants d'Hévéa. C: contamination; P: pénétration; M: plantes mortes



3.1.2.3 Incidence de l'humidité du sol sur le pouvoir pathogène

Les travaux de BOISSON (1973) et GEIGER (1975) sur la morphogénèse et le patrimoine enzymatique de *R. lignosus* ont démontré qu'en plus de la forme rhizomorphe assurant principalement la dissémination de la maladie, existait un type mycélien particulier directement impliqué dans le processus infectieux. Plus récemment les travaux de NANDRIS et al. (1981) ont mis en évidence les conditions physico-chimiques qui régissent l'infection de l'hôte. Il a ainsi été établi qu'une anoxie partielle du sol est déterminante dans la transformation du rhizomorphe en mycélium infectieux et dans la mise en place de l'interaction hôte-parasite. Ces données ont été mises à profit pour lever le facteur limitant le rendement des inoculations. Expérimentalement des conditions d'anoxie ont été réalisées en saturant en eau la terre des bacs de végétation. Afin de mettre en évidence la relation anoxie du sol-pouvoir pathogène, un gradient d'humidité volumique de la terre a été établi sur la base des quatre motifs suivants: 10, 14, 17 et 21%. Les valeurs 10 et 21% correspondent aux niveaux extrêmes de l'humidité du sol, en saison sèche et en saison des pluies, dans la zone forestière de Côte d'Ivoire.

Les résultats de cette expérimentation (tableau 4) font nettement apparaître une corrélation entre l'augmentation du taux d'humidité et la sévérité de l'attaque fongique (figure 4).

Celle-ci se caractérise dans le bac le plus humide par un taux élevé de mortalité des plants inoculés (55%); en outre, les plantes restantes présentent des nécroses importantes de leur système racinaire ($\bar{N}\bar{S} > 5$). En ce qui concerne l'essai réalisé à $Hv = 10\%$, aucun cas de mortalité n'a été enregistré, la majorité des plants ne présente qu'une pourriture partielle du pivot. Les motifs intermédiaires ($Hv = 14$ et 17%) s'inscrivent entre ces deux situations extrêmes.

Tableau 4

Influence de l'humidité volumique (Hv) du sol sur l'expression du pouvoir pathogène de *Rigidoporus lignosus* inoculé à de jeunes plants d'Hévéa

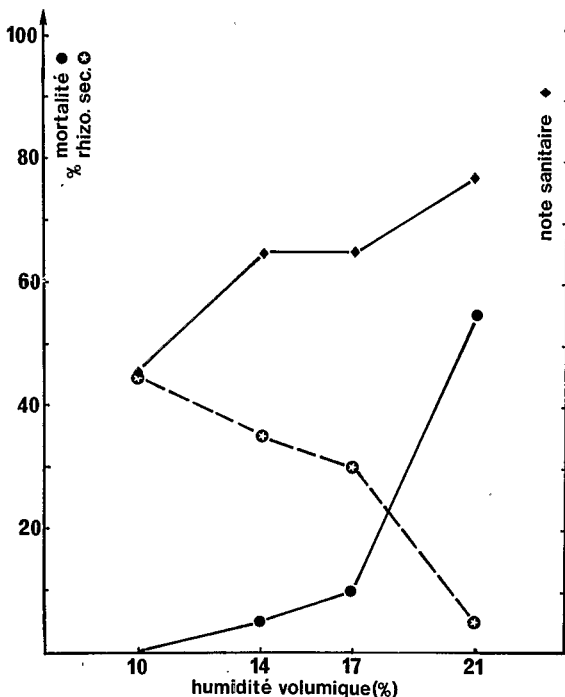
Les résultats sont exprimés en % du nombre de plants inoculés (Nb)

Hv %	Note										C	P	Nb	N̄S
	0	1	2	3	4	5	6	7	8D	9M				
10	0	0	5	30	10	20	30	5	0	0	100	95	20	4,5
14	0	0	0	5	0	2,5	37,5	50	0	5	100	100	40	6,5
17	0	0	0	2,5	0	5	47,5	30	2,5	12,5	100	100	40	6,6
21	0	0	0	0	0	10	15	20	0	55	100	100	20	7,7

C: contamination, P: pénétration, D: dépérissement, M: mortalité, Nb: nombre de plants inoculés, N̄S: note sanitaire moyenne

Par ailleurs, il faut souligner les faits suivants :

- le taux d'humidité de la terre n'a pas eu d'incidence sur la rhizomorphogénèse du parasite. De même, au vu des mesures hebdomadaires de la taille de chaque plante, aucun effet conséquent du gradient en eau sur la morphogénèse végétale n'a été noté.
- il existe une relation inverse entre la mortalité des plantes et leur aptitude à mettre en place une rhizogénèse secondaire réactionnelle (figure 4). Ce phénomène se caractérise



par une hyperélongation de racines latérales et une orthotropisation de certaines d'entr'elles. A ce titre dans le bac le plus humide, le faible pourcentage de réaction des plantes est à relier avec l'existence au dessus du plateau racinaire, de fréquentes nécroses du collet. Ce fait expliquerait la brutalité de l'attaque fongique marquée par le dépérissement de certaines plantes deux mois seulement après leur inoculation.

Fig. 4. Influence de l'humidité volumique du sol sur l'expression du pouvoir pathogène de *Rigido-porus lignosus*: évolution de la mortalité des plants, de la note sanitaire et mise en place d'une rhizogénèse secondaire réactionnelle (rhizo. sec.)

3.2 *Phellinus noxius*

3.2.1 *Inoculations in vitro*

Une démarche identique à celle conduite pour *R. lignosus* a été entreprise pour *P. noxius*. A l'issue des trois mois d'expérience et quel que soit le motif considéré — en tube ou en fiole — on note un échec quasi total des inoculations. En effet, la contamination des plants n'a pratiquement pas été obtenue et de ce fait, la meilleure des notes sanitaires moyennes attribuée par essai n'est que de 0,8 pour l'essai fiole-bûchettes-vermiculite.

3.2.2 *Inoculations in vivo (en serre)*

3.2.2.1 *Choix du type d'inoculum*

L'efficacité respective d'un inoculum naturel et d'un inoculum artificiel a été étudiée. Aucune contamination n'a été observée sur les plants inoculés à l'aide de pivots. En revanche, l'essai avec des bûchettes (tableau 5) est plus concluant dans la mesure où le système racinaire des plants infectés présente le manchon mycélien décrit par PICHELL (1956) comme étant caractéristique d'une attaque par *P. noxius*.

Tableau 5

Inoculations artificielles «in vivo» de jeunes plants d'Hévéa par *Phellinus noxius*

Les résultats sont exprimés en % du nombre de plants inoculés (Nb)

Type d'inoculum	Note										C	P	Nb	ÑS
	0	1	2	3	4	5	6	7	8D	9M				
Bûchettes 3 mois	4,5	9	32	13,5	4,5	0	0	9	4,5	23	95,5	55	22	4,36
Bûchettes 5 mois	6	14,5	0	0	11,5	17,5	17,5	6	9	18	94	79,5	34	5,26
Bûchettes 10 mois	62,5	0	0	0	12,5	0	0	0	12,5	12,5	37,5	37,5	16	2,6

C: contamination, P: pénétration, D: dépérissement, M: mortalité, Nb: nombre de plants inoculés
ÑS: note sanitaire moyenne

3.2.2.2 Incidence de l'âge des bûchettes sur l'infection

L'examen des notes (ÑS) affectés à chacune des trois expérimentations (tableau 5) montre que la meilleure infestation des plants a été obtenue avec des bûchettes âgées de cinq mois. En effet dans ce cas, près de 70 % des pivots des plants inoculés sont nécrosés. En revanche, en ce qui concerne les deux autres essais, l'attaque parasitaire ne se traduit, au mieux, que par des pénétrations ou nécroses ponctuelles.

Enfin dans l'essai réalisé avec des bûchettes de 10 mois, 62 % des plants inoculés demeurent sains à l'issue de l'expérience.

Au vu de ces résultats, l'inoculation avec des bûchettes de cinq mois a donc été retenue pour *P. noxius*.

4 Discussion

Les résultats obtenus *in vitro* tant pour *R. lignosus* que pour *P. noxius* révèlent l'inocuité des techniques utilisées. La fréquence des surinfections bactériennes et fongiques, la dégradation rapide de la cohésion de la gélose, et enfin le pourrissement de certaines graines sont autant de facteurs explicitant, entr'autres, cet échec.

Du fait des problèmes techniques rencontrés, ce type d'inoculation n'a pas été retenu. En cela, ce résultat rejoint les conclusions de DE JONG (1933) qui rapporte la difficulté d'infecter des plantes avec des cultures pures de *R. lignosus*.

En ce qui concerne les essais conduits *in vivo*, les résultats des inoculations sont plus concluants puisque la quasitotalité des plants est infestée. Cependant en fonction des types d'inocula testés, on enregistre, à terme, des variations dans la sévérité des attaques pouvant être reliées à des différences de «qualité» de l'inoculum. Il est en effet impossible d'apprécier dans un pivot naturellement infecté, l'âge du parasite, son agressivité ainsi que le degré de colonisation du substrat ligneux. D'après KUHLMANN (1969) ces différents paramètres sont déterminants dans l'agressivité fongique et le devenir de la relation hôte-parasite.

Les résultats de cette expérience démontrent également que le poids de l'inoculum apporté par plante n'est pas proportionnel à la réussite de l'infection; le poids des bûchettes est en effet plus de 8 fois inférieur à celui d'un pivot. Ces résultats sont sur ce point, en désaccord avec les travaux de DE JONG (1933), ALTON (1953), JOHN (1961; 1966), SACCAS (1975).

Les potentialités d'infestation des bûchettes varient toutefois, selon la nature du champignon, en fonction de son âge dans le bois. Ainsi, l'optimum d'efficacité de l'inoculum correspond pour *R. lignosus* à des bûchettes de onze mois et pour *P. noxius* à des bûchettes de cinq mois:

- ceci reflète d'une part des capacités particulières de la part de chacun des parasites à dégrader le bois (NICOLE et al. 1982). De telles différences d'agressivité ont par ailleurs été démontrées à l'issue d'une étude épidémiologique menée en plantation (GEIGER et al. 1981, NANDRIS et al. résultats non publiés).

— cela suggère d'autre part une relation entre le degré de colonisation du bois et le déterminisme du processus infectieux. A ce titre, les travaux de SHARPLES (1936) ont établi que la différenciation des filaments mycéliens est une réaction du champignon aux conditions d'inanition existant dans un substrat dégradé.

La saturation en eau de la terre des bacs a permis d'améliorer le rendement des infections par *R. lignosus*. Ceci démontre l'influence d'une anoxie partielle du milieu sur le comportement parasitaire de ce champignon. Ce résultat, obtenu *in vivo*, conforte de précédentes recherches entreprises, *in situ* et *in vitro*, par NANDRIS et al. (1981) sur la physiologie du parasitisme. Il peut être rapproché des travaux de ENGLERTH (1942) et FENTON (1943), qui ont caractérisé, en région tempérée, une sévérité particulière des attaques de conifères poussant dans des sols hydromorphes par *Fomes annosus*.

Les protocoles expérimentaux proposés pour réaliser ces infections artificielles sont certainement perfectibles et ce, tout particulièrement, en ce qui concerne *P. noxius*. En effet, à l'issue de plusieurs séries d'inoculations, la reproductibilité des résultats pour ce champignon laisse à désirer. Les variations enregistrées dans le taux de contamination des plants sont certainement à relier à l'inexistence de filaments mycéliens assurant, comme chez *R. lignosus*, une propagation rapide de la maladie. Ainsi la pérennité du contact effectif entre le pivot et l'inoculum ne peut-elle être garantie au cours de l'expérience. A cet égard KÜHLMANN (1969) rapporte d'une manière analogue que pour *Fomes annosus*, le «contact intime entre l'inoculum et l'hôte est un facteur critique dans la réussite des infections».

5 Conclusion

L'infection artificielle de jeunes plants d'*Hevea brasiliensis* par *Rigidoporus lignosus* ou *Phellinus noxius* est réalisable avec des bûchettes de bois d'Hévéa colonisées *in vitro* par le champignon. Il est toutefois nécessaire avant l'inoculation de moduler l'âge du champignon dans les bûchettes en fonction des aptitudes de chaque parasite à dégrader le bois. Enfin, et tout particulièrement pour *R. lignosus*, une humidité saturante de la terre des bacs de végétation est un facteur prépondérant dans la sévérité de l'attaque parasitaire.

Sur la base des protocoles décrits, il est possible d'obtenir, dans un temps relativement court pour ce genre de matériel végétal, des plantes infectées aux différents stades du processus infectieux.

Cette méthodologie a d'ores et déjà été mise à profit pour réaliser une étude physiopathologique des interactions Hévéa-agents de pourridié ainsi qu'une recherche de races pathologiques au sein des populations ouest-africaines de ces parasites.

Résumé

Infections artificielles de jeunes plants d'Hévéa brasiliensis par Rigidoporus lignosus (Kl.) Imaz. et Phellinus noxius (Corner) G. M. Cum.

Des méthodes d'inoculation *in vitro* et *in vivo* à l'aide de deux champignons agents de pourriture des racines ont été testées sur de jeunes hévéas. *In vitro*, l'expérimentation n'a pas réussi. *In vivo*, dans les conditions d'une serre, l'effet des différents paramètres a été mesurée et une méthode pratique d'infection des plants est proposée. Avec *Rigidoporus lignosus*, un inoculum artificiel, c'est-à-dire des segments de bois provenant de branches d'hévéas pré-infectées pendant onze mois, fournissait les meilleures infections. A cause de la biologie particulière de ce champignon (pouvoir pathogène contrôlé par le micro-environnement aérien) la saturation du sol des pots d'inoculation accroissait la mortalité des plants de façon significative.

Avec *Phellinus noxius*, on doit utiliser une méthode d'inoculation voisine. Toutefois, l'étude de l'effet de l'âge de l'inoculum sur la sévérité de l'attaque a révélé une meilleure efficacité d'un inoculum âgé de cinq mois. L'absence de rhisomorphes chez ce parasite nécessite un contact direct hôte-parasite pendant la phase d'incubation.

Finalement, avec ce modèle expérimental, il s'avère possible d'étudier des plantes infectées par *R. lignosus* et *P. noxius* à tous les stades pathogènes.

Summary

In vitro and *in vivo* inoculation methods with two root rotting fungi were tested on young rubber trees. *In vitro*, experimentation did not succeed. *In vivo*, under greenhouse conditions, the effect of different parameters has been quantified and a practical method for infecting plants is proposed.

With *Rigidoporus lignosus*, an artificial inoculum i. e. eleven months preinfected wood segments of rubber branches, produced the best infections. Because of the particular biology of this fungus (pathogenicity controlled by an aerobic micro-environment), saturation of the soil of the inoculation pots increased plant mortality significantly.

With *Phellinus noxius*, a similar method of inoculation has to be used. However, study of the effect of age of inoculum on the severity of attack revealed a better efficacy of a five months old inoculum. The nonexistence of rhizomorphs for this parasite necessitates direct host-parasite contact during the incubation.

Finally, with this experimental model, it is possible to study plants infected by *R. lignosus* and *P. noxius* at all the pathogenic stages.

Zusammenfassung

Künstliche Infektionen mit Rigidoporus lignosus (Kl.) Imaz und *Phellinus noxius* (Corner) G. H. Cunn. an jungen Kautschukbäumen (*Hevea brasiliensis*)

Es wurden *in vitro* und *in vivo* Inokulationsverfahren mit zwei Wurzelfäuleerregern an jungen Kautschukbäumen getestet. Während die Versuche *in vitro* erfolglos verliefen, wurden unter Gewächshausbedingungen verschiedene Parameter quantifiziert und eine praktikable Infektionsmethode entwickelt.

In bezug auf *R. lignosus* erbrachten Inokulationen mit 11 Monate zuvor bewachsenen Holzklötzen aus Kautschukästen die besten Resultate. Der Biologie dieses Pilzes entsprechend (Zusammenhang zwischen Pathogenität und Mikroklima) erhöhte die Wassersättigung des Substrates in den Töpfen die Mortalität signifikant.

Bei *P. noxius* fand zunächst die gleiche Art des Inokulums Verwendung. Nach weiteren Untersuchungen stellte sich jedoch ein 5 Monate altes Inokulum als günstiger heraus. Das Fehlen von Rhizomorphen bei diesem Pilz macht den direkten Kontakt von Inokulum und Wirt während der Inkubation erforderlich.

Mit Hilfe der vorgestellten Inokulationsmethode wird es möglich, mit *R. lignosus* und *P. noxius* infizierte Pflanzen in allen Stadien der Pathogenese zu gewinnen.

Références

- ALTSON, R. A., 1953: Annual reports for 1949-1951 of the pathological division of the Rubber Research Institute of Malaya.
- BOISSON, C., 1973: De la basidiopore au rhizomorphe, déterminisme de l'agrégation chez le basidiomycète *Leptoporus lignosus* (Kl.) Heim ex Pat. Thèse doct. d'Etat. Université Paris-Sud, Paris.
- COUCHAT, P., 1974: Mesure neutronique de l'humidité des sols. Thèse doct. d'Etat. Université Paul Sabatier, Toulouse.
- DAY, W. R., 1948: The penetration of conifer roots by *Fomes annosus*. Quart. J. For. 32, 99-101.
- DECLERT, C., 1960: Une technique de détection des agents de Pourridié, la buchette piège. Son application à l'étude de *Leptoporus lignosus*. Rev. Myc. 26, 119-127.
- DE JONG, W. H., 1933: Het parasitisme van *Rigidoporus microporus* (Schwartz) van Overeem, Syn.: *Fomes lignosus* Klotzsch, bij *Hevea brasiliensis*. Arch. Rubber cult. 17, 83.
- ENGLERTH, G. H., 1942: Decay of western hemlock in western Oregon and Washington. Yale Univ. School of Forestry Bull. 50, 53 p.
- FENTON, E. W., 1943: Some observations on heart rot in conifers from an ecological point of view. Forestry 17, 55-60.
- FOX, R. A., 1961: White root disease of *Hevea brasiliensis*. The identity of the pathogen. Proc. Nat. Rubb. Res. Conf. Kuala Lumpur 1960, 473-482.
- GEIGER, J. P., 1975: Aspects physiologiques et biochimiques de la spécialisation parasitaire de *Corticium rolfsii* (Sacc.) Curzi et *Leptoporus lignosus* (Kl.) Heim. Thèse doct. 3e cycle. Université de Paris-Sud, Paris.
- GEIGER, J. P.; NANDRIS, D.; GOUJON, M., 1976: Activité des laccases et des peroxydases au sein des racines d'Hévéa attaquées par le pourridié blanc (*Leptoporus lignosus* Kl. Heim). Physiol. vég. 14, 271-282.
- GEIGER, J. P.; NANDRIS, D.; NICOLE, M.; HUGUENIN, B., 1981: Les pourridiés de l'Hévéa. II. Etude

- de l'agression du système racinaire de l'Hévéa par *Rigidoporus lignosus* et *Phellinus noxius*. Abs. Cong. Protection des cultures tropicales, section 1B, 43, Lyon, France.
- JOHN, K. P., 1958: Inoculation Experiment with *Fomes lignosus*. Klotzsch. J. Rubb. Res. Inst. Malaya 15, 223-240.
- 1961: Loss of viability of three root parasites in infected root sections buried in soil. J. Rubb. Res. Inst. Malaya 16, 173-177.
- 1966: Effect of inoculum size and age of trees on root disease infection of *Hevea brasiliensis*. J. Rubb. Res. Inst. Malaya 19, 226-230.
- KUHLMAN, E. G., 1969: Inoculation of loblolly pine seedlings with *Fomes annosus* in the greenhouse. Can. J. Bot. 47, 2079-2082.
- LIYANAGE, G. W.; LIYANAGE, A. DE S.; PERIES, O. S.; HALANGODA, L., 1977: Studies of the variability and pathogenicity of *Rigidoporus lignosus*. J. Rubb. Res. Inst. Sri Lanka, 54, 362-372.
- NANDRIS, D.; NICOLE, M.; GEIGER, J. P.; HUGUENIN, B.; GOUJON, M., 1981: Les pourridiés de l'Hévéa. I. Incidence des facteurs édaphiques sur le pouvoir pathogène de *R. lignosus*. Abs. Congr. Protection des cultures tropicales, section 1B, 43, Lyon, France.
- NICOLE, M.; GEIGER, J. P.; NANDRIS, D.; 1982: Interactions hôte-parasite entre *Hevea brasiliensis* et les agents de pourriture racinaire *Phellinus noxius* et *Rigidoporus lignosus*: étude physiopathologique comparée. Phytopath. Z. 105, 311-326.
- PERIES, O. S.; SAMARAWEEERA, S. K., 1963: Pure culture inoculation of Hevea roots with *Fomes lignosus*. J. Rubb. Res. Inst. Ceylon 39, 16-17.
- PICHEL, R. J., 1956: Les pourridiés de l'Hévéa dans la cuvette congolaise. INEAC, Sér. Tech., 49, 480 pp.
- RISHBETH, J., 1951: Observations on the biology of *Fomes annosus*, with particular reference to East Anglian pine plantations. III. Natural and experimental infection of pines, and some factors affecting severity of the disease. Ann. Bot. 58, 221-247.
- SACCAS, A. M., 1975: Les pourridiés des caféiers en Afrique tropicale. Bull. Inst. Fran. Café Cacao 13, 172 pp.
- SHAIN, L., 1967: Resistance of sapwood in stems of loblolly pine to infection by *Fomes annosus*. Phytopathology 57, 1034-1045.
- SHARPLES, A., 1936: Diseases and pests of the rubber tree. London: MacMillan and Co, 480 p.
- SINGH, P., 1980: *Armillaria* root rot: artificial inoculation and development of the disease in greenhouse. Eur. J. For. Path. 10, 420-431.
- TOUZE, A., 1964: L'antracnose du Melon. Etude de quelques manifestations physiologiques. Thèse doct. d'Etat. Université Paul Sabatier, Toulouse.
- VARGHESE, G., 1971: Infection of *Hevea brasiliensis* by *Ustulina zonata* (Lev.) Sacc. J. Rubb. Res. Inst. Malaya 23, 157-163.

Adresse des auteurs: Dr. D. NANDRIS, Dr. M. NICOLE et Dr. J. P. GEIGER, Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, Centre d'Adiopodoumé, Laboratoire de Phytopathologie, B. P. V-51, Abidjan, Côte d'Ivoire

Réception du ms. 8. 10. 1982