

Une technique nouvelle de détection des agents de pourridié: la bûchette - piège

Son application à l'étude du *Leptoporus lignosus* (Kl.) Heim

Par CLAUDE DECLERT

(Planche II)



La technique de la bûchette-piège consiste à mettre en incubation dans le sol une bûchette taillée en bois d'hévéa et stérilisée, en contact plus ou moins étroit avec la source d'inoculum à détecter. Une durée d'incubation de 12 à 15 jours, lorsque le sol reçoit un total de précipitation atteignant au moins 50 mm permet de reconnaître la présence d'un thalle actif de *Leptoporus lignosus* (Kl.) Heim. L'usage de cette technique est étendu à l'étude des Champignons supérieurs du sol et permet dans plusieurs cas des déterminations sûres et rapides.

Nous poursuivons, depuis plusieurs années, l'étude des pourridiés de l'hévéa en Côte d'Ivoire. Au cours de ces travaux nous avons été amené à chercher une méthode rapide de détection valable, en particulier, pour le *Leptoporus lignosus* (Kl.) Heim.

L'étude d'un pourridié peut comporter trois phases :

- 1) Présence d'un parasite sous forme virulente dans le sol au voisinage des racines;
- 2) Infestation, c'est-à-dire pénétration du Champignon dans l'hôte;
- 3) Dépérissement de l'arbre.

Seule, cette dernière, aux symptômes externes visibles, est accessible à l'observation courante. Sans doute, Napper (1932, 1938) avait-il préconisé, en Malaisie, un moyen d'étude des deux premières phases en pratiquant des cuvettes de dépistage dégagant les racines. Il n'en reste pas moins que leur réalisation est un travail méticuleux, donc lent et onéreux; l'interprétation des symptômes est en outre parfois malaisée lorsque les attaques ne revêtent pas les symptômes classiques. L'intérêt

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° / 1771 0x1

3 NOV 1967

le plus certain de la méthode de Napper est son effet curatif : l'exposition à l'air et à la lumière des rhizomorphes du *Leptoporus lignosus* suffit souvent pour arrêter la maladie dès son premier stade.

Pour le chercheur, cette technique n'est pas tout-à-fait satisfaisante puisqu'elle rompt le cours naturel de la maladie et perturbe son évolution : dans certaines études le phytopathologiste doit proscrire ces interventions dont les effets interféreront avec les facteurs analysés. C'est avec la préoccupation de déceler la présence active du parasite sans l'influencer, qu'a été mise au point une technique nouvelle apparentée à celle des plantes-pièges, mais beaucoup plus maniable, dite de la bûchette-piège.

I — Description de la méthode

Notre technique est fondée sur la propension du *Leptoporus lignosus* à la fonction rhizomorphique et, en particulier, à l'exubérance des rhizomorphes de contamination lorsque cet organisme rencontre un support et des conditions favorables. Le support destiné à recueillir les rhizomorphes du *Leptoporus lignosus* est une bûchette taillée en bois d'hévéa, préalablement stérilisée avant son enfouissement contre le pivot de l'arbre à tester.

Confection des bûchettes, taille et appointage.

De jeunes arbres, sujets de pépinière âgés de 2 ou 3 ans, non utilisés, conviennent parfaitement : la partie rectiligne du tronc, depuis la base jusqu'au deuxième départ des ramifications, est sciée en rondins de 22-23 cm. Selon l'importance de leur section, ils sont fendus en 2, 4 ou 6 bûchettes. La forme définitive de la bûchette-piège est donc sensiblement un prisme à trois faces dont l'une porte un lambeau d'écorce. La taille et un appointage sommaire sont pratiqués à la matchette.

Les dimensions définitives de chacune des trois faces de la bûchette sont : 20-21 × 1,5-2 cm.

LÉGENDE DE LA PLANCHE HORS-TEXTE

Bûchettes-pièges et détection du *Leptoporus lignosus*

- En haut, à gauche* : Contamination des bûchettes selon l'humidité du sol. Expérimentation en pots.
A droite : Développement de rhizomorphes du *Leptoporus lignosus* sur bûchette-piège d'hévéa.
Au milieu, à gauche : sur bûchette-piège de parasolier.
A droite : sur éclat de bois mis dans le sol.
En bas : Palmettes caractéristiques du *Leptoporus lignosus*.

Stérilisation.

Les renseignements précis demandés à cet instrument requièrent sa stérilisation. Cette condition est d'ailleurs impérieuse pour la détection de certains Champignons (*Armillariella mellea*, *Sphaerostilbe repens*). Les normes de travail sont 90-100 degrés C. pendant 4 à 5 heures en étuve sèche dont la cheminée d'aération est ouverte.

Mise en place et incubation.

Chaque bûchette est enterrée verticalement contre le pivot de Phévéa à tester, à l'aide d'un maillet en bois ou d'un marteau en fonte. Ne dépassent du sol que quelques centimètres permettant la localisation de la bûchette. et sa préhension convenable entre les mâchoires d'une tenaille. La durée d'incubation fixée initialement à 12 jours a été portée à 14-15 jours pour obtenir une réponse plus nette.

Extraction et examen des bûchettes.

Il est préférable d'examiner les bûchettes-pièges dans les quelques heures qui suivent leur extraction, les symptômes du *Leptoporus lignosus* perdant assez vite leur aspect caractéristique et devenant difficiles à distinguer de ceux de quelques Champignons banaux. Si le diagnostic sur le terrain ne peut avoir lieu, les bûchettes sont transportées au laboratoire rangées en ordre dans des paniers de façon que chaque résultat puisse être rapporté à l'arbre correspondant. Eventuellement, ces paniers pourront être conservés un jour ou davantage en enceinte humide (sac de polythène) s'il est nécessaire de départager les cas douteux.

II — Réponse du *Leptoporus lignosus* sur la bûchette-piège

Description des symptômes.

D'une façon typique, sur les racines d'arbres, le *Leptoporus lignosus* se présente sous forme de cordons ou rhizomorphes, assez minces (ne dépassant pas 0,5 mm de large), ramifiés plusieurs fois et s'élargissant à leur extrémité en palmettes. Ils peuvent aussi se terminer par une nappe homogène en éventail. L'ensemble est blanc et d'aspect soyeux. Parfois, les rhizomorphes peuvent être jaune-orangé, de la même teinte que les carpophores. Ces cordons sont constitués par les entrelacs d'hyphes mycéliens faiblement anastomosés et n'ont pas de structure propre.

Leur aspect aplati laisse prévoir un caractère d'adhérence au support. La sagesse des planteurs l'a observé depuis longtemps, d'où

cet adage « Frottez le *Fomes* avec le doigt, il ne se détache pas ». Encore qu'elle renferme une part de vérité, cette « recette » paraît bien futile pour diagnostiquer seule le *Leptoporus lignosus*. En fait, il semble bien que le frottement en question doive être effectué de façon à décoller les agrégats de terre recouvrant les rhizomorphes. Effectivement alors, les rhizomorphes demeurent en place.

Nous avons observé des symptômes tout-à-fait comparables sur des éclats de bois enterrés, provenant de l'abattage à la hache de la forêt initiale.

Sur bûchette-piège, les symptômes sont du même ordre mais avec un caractère beaucoup plus net, puisque la méthode est dynamique et décèle du mycélium jeune en voie de croissance sous forme de rhizomorphes non dégradés par le milieu extérieur ni par le vieillissement. C'est donc cette constance des symptômes qu'il faut souligner sur bûchette.

Le caractère d'adhérence devient également plus accessible et plus précis : puisque le *Leptoporus lignosus* manifeste une adhérence plus forte pour son support que pour les agrégats terreux qui le recouvrent, il suffit de frapper quelques coups l'extrémité de la bûchette sur un objet dur, pour que se dégage la gangue de terre et que paraissent les rhizomorphes. Cette adhérence préférentielle pour la bûchette-piège constitue un élément non négligeable dans le diagnostic.

Comme la bûchette décèle l'aptitude du *Leptoporus lignosus* à la contaminer, ce phénomène se traduisant essentiellement par un développement superficiel, il paraît intéressant d'apprécier ce développement par une note établie d'après un barème simple :

- note 1 : contamination faible (de la taille d'une petite pièce de monnaie);
- note 2 : contamination moyenne (quelques cm);
- note 3 : contamination sur une demi-longueur de la bûchette;
- note 4 : contamination de plus de la moitié de la bûchette;
- note 5 : contamination totale ou quasi-totale.

Pour établir cette échelle de notes, il a été tenu compte de la vitesse de croissance *in vitro* sur milieu favorable (macéré de sciure et à température optimale, soit 8 mm par jour pour les souches les plus vigoureuses étudiées à Adiopodoumé). Il est évident que cette notation ne peut être utilisée qu'à titre comparatif sur le plan expérimental, la bûchette-piège étant placée à 1 cm de l'inoculum. Dans la nature, il faut en effet envisager le temps mis par les rhizomorphes pour circuler dans le sol avant d'atteindre la bûchette et s'y développer.

Dans les expérimentations en cours, une mesure plus précise est obtenue par la pesée du mycélium de contamination recueilli par grattage de la bûchette.

Détermination des conditions optimales pour la technique.

A. — Nature du bois constituant la bûchette

Initialement les symptômes ont été observés sur des baguettes de bois d'*Hibiscus* utilisées comme porte-étiquette dans une expérimentation d'infection de *Crotalaria* en pots.

Le bois d'hévéa, déjà employé dans le laboratoire pour la confection de bûchettes-inoculum, se trouvait naturellement indiqué pour ces nouveaux pièges. Quelques jours d'attente sont nécessaires après l'abatage, pour permettre la disparition du latex, seul obstacle au débitage du fût en bûchettes.

Deux autres qualités de substrats ont été essayées : le bambou et le bois de parasolier, l'un et l'autre assez abondants aux approches de la plantation de l'Anguédedou (IRCA) où nos essais ont été faits.

Pour le bambou, à durée d'incubation égale, la contamination est beaucoup plus faible (atteignant au plus la note 1 contre 3 ou 4 pour l'hévéa); elle s'observe d'ailleurs exclusivement sur la face interne (concave) de la bûchette, la face externe cirreuse semble impropre à supporter le *Leptoporus lignosus*.

Les bûchettes de parasolier manifestent une intensité de contamination comparable à celle de l'hévéa, mais comme pour le bambou, les caractères du *Leptoporus lignosus* sont moins marqués : les cordons rhizomorphiques sont plus courts, moins pressés contre leur support, et se terminent en mèches cotonneuses courtes rappelant les symptômes d'un *Leucoporus*.

L'avantage reste donc aux bûchettes confectionnées en bois d'hévéa, pour lesquelles les symptômes sont bien individualisés tant sur la face nantie du lambeau d'écorce que sur les deux autres.

B. — Stérilisation des bûchettes

Pour la détection du *Leptoporus lignosus en plantation* cette précaution ne semble pas nécessaire. Le tronc des hévéas héberge parfois le *Lasiodiplodia theobromae* en infection latente. Huit à dix jours après avoir été coupés, les troncs sont couverts des pycnides de cette Sphaeropsidale. L'écorce est désorganisée et le bois lui-même teinté de noir dans sa masse trahit l'invasion mycélienne. Les bûchettes qui subissent cette évolution particulière sont impropres à recevoir les rhizomorphes de contamination du *Leptoporus lignosus*. On échappe à cette menace en choisissant des troncs demeurés sains une dizaine de jours après leur abatage.

Par ailleurs, une expérimentation en serre a montré que le *Leptoporus lignosus* se développait au moins deux fois plus abondamment sur la bûchette lorsqu'elle avait été stérilisée. Cette expérimentation fait partie d'une série dite « pots à *Fomes* » réalisée à des fins diverses.

C'est ainsi que des pots tronconiques d'horticulteur, de 22 cm de diamètre à la partie supérieure, sont remplis de terre tamisée au tamis pour sable grossier (maille de 2 mm); ils sont soumis à une stérilisation normale à l'autoclave, puis imbibés d'eau jusqu'à la capacité de rétention.

Des bûchettes inoculum (culture du *Leptoporus lignosus* âgée d'un mois sur bûchette d'hévéa de 8,5 cm³) sont enfouies verticalement contre la paroi du pot, à raison de 2 par pot et diamétralement opposées. De part et d'autre, à 1 cm de distance, sont enfouies 2 bûchettes-pièges, l'une stérilisée, l'autre non stérile. Pour une durée d'incubation de 12 jours l'arrosage quotidien des pots a été de 150 cm³ (eau ordinaire).

Les résultats des contaminations des bûchettes-pièges sont les suivants (barème indiqué plus haut) :

N° DES POTS	BÛCHETTES STÉRILISÉES	BÛCHETTES NON-STÉRILISÉES
1	3 — 2	3 — 1
2	5 — 0	2 — 1
3	4 — 1	4 — 0
4	2 — 4	1 — 3
5	5 — 5	2 — 3
6	0 — 5	0 — 1
7	5 — 0	1 — 0
8	5 — 5	3 — 0
9	5 — 4	5 — 4
10	4 — 3	1 — 2
	TOTAL 67	37
	Note moyenne par bûchette :	3,3 1,8

Le protocole de ce type d'expérimentation, mis au point après quelques tâtonnements (la position en contact de la bûchette-piège le long de l'inoculum ne peut être réalisée identiquement à elle-même pour toutes les répétitions), permet une homogénéité de réponse des bûchettes-pièges. Cet essai préliminaire doit être repris de toutes façons avec un nombre plus important de bûchettes et analysé quantitativement par pesée des masses de rhizomorphes en contamination.

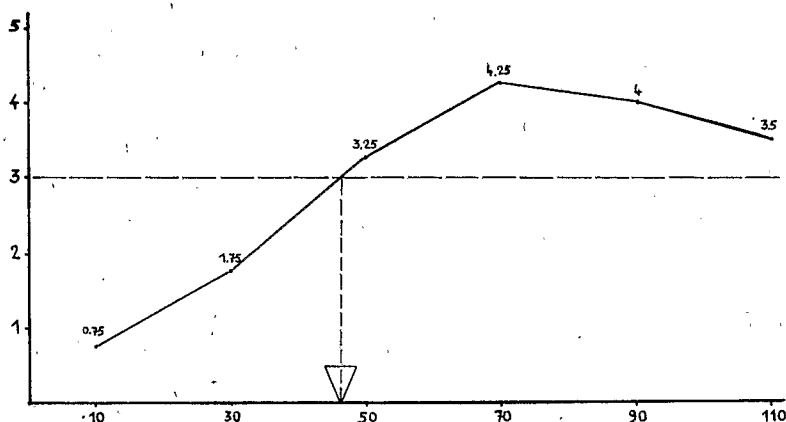
C. — *Durée d'incubation et humidité du sol*

Une expérimentation préliminaire ayant montré que pour un arrosage modéré (150 cm³ par pot et par jour) la note de contamination 3 était obtenue après 12-14 jours d'incubation, une deuxième série, réalisée cette fois selon le protocole décrit précédemment, conclut à la nécessité d'une pluviométrie de 50 mm pour une bonne réponse des pièges.

Pour une durée d'incubation fixe de 12 jours, 6 conditions d'arrosage ont été choisies, correspondant à 6 régimes de précipitations :

I	23 cm ³ /jour	10 mm pour 12 jours
II	75 »	30 » »
III	130 »	50 » »
IV	180 »	70 » »
V	235 »	90 » »
VI	285 »	110 » »

Les résultats sont exprimés dans le graphique I



GRAPHIQUE 1. — Contamination des bûchettes et humidité du sol.

En abscisses : millimètres de pluie pour 12 jours.

En ordonnées : note de contamination.

Le trait horizontal discontinu correspond à la note moyenne de contamination 3; il coupe la courbe en un point correspondant à 48 mm de pluie.

Le maximum de contamination est obtenu pour 70 mm de pluie en 12 jours. Pour 90 et 110 mm de pluie, il semble qu'il y ait un déclin de la contamination, mais, en fait, interviennent deux phénomènes : le premier est la saturation du sol obtenue dès la dose d'arrosage de 235 cm³ par jour, le second est une sorte de regroupement des rhizomorphes en épaisseur dans ces conditions de saturation. L'appréciation des symptômes par la note de contamination est plus satisfaisante.

D. — Position de la bûchette par rapport à la source du *L. Lignosus* à tester.

Initialement, la méthode a été appliquée en enfouissant la bûchette au contact de l'inoculum à tester, que ce soit pour les expérimentations en pots ou pour les détections de contamination de pivot d'hévéa.

Dans le premier cas, la technique a été modifiée en disposant inoculum et piège à 1 cm de distance mais contre la paroi du pot : le *Leptoporus lignosus* utilise en effet la paroi du pot comme support intermédiaire avant de gagner le piège.

Dans le cas des hévéas, où la détection s'accompagne assez souvent de blessures avec écoulement de latex, un même éloignement semble souhaitable assorti d'une prolongation de la durée d'incubation. Actuellement, nous utilisons la technique chaque mois pour suivre l'évolution de l'état de contamination du jardin expérimental n° 1 à la Station de l'IDERT; les bûchettes-pièges sont enfoncées à 1 cm du pivot des arbres et la durée d'incubation est fixée à 15 jours pour des conditions de pluviométrie favorables (supérieures à 50 mm de pluie pour cette période). Les blessures aux racines sont devenues tout-à-fait exceptionnelles.

III — Utilisation des bûchettes-pièges

Cette technique nouvelle peut être utilisée à diverses fins. Elle peut rendre service tout d'abord pour la détection du *Leptoporus lignosus* en activité en forêt, dans une forêt défrichée, en plantation. Nous la préconisons dans diverses expérimentations, notamment pour étudier des contaminations artificielles et l'évolution des infections, pour comparer, dans le temps et l'espace, le développement de foyers naturels et de foyers artificiels, pour contrôler l'efficacité *in situ* de divers fongicides.

La méthode des bûchettes-pièges a été mise au point avec le *Leptoporus lignosus*. Nous l'appliquons à la détection et la détermination de nombreux autres agents de pourridiés : *Armillariella mellea*, *Sphaerostilbe repens*, *Ganoderma pseudoferreum*, *Ganoderma laccata*, ainsi que des *Leucoporus*, *Xylaria*, *Lentinus*, etc.

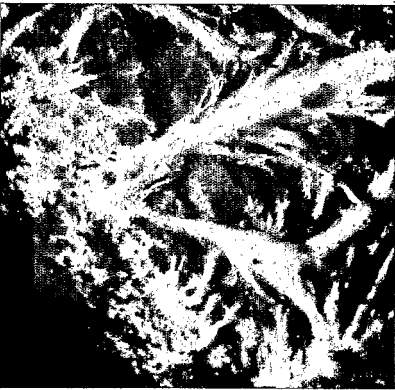
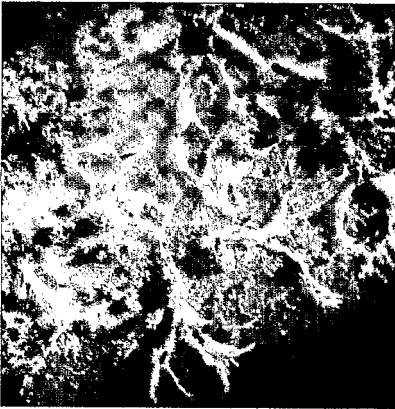
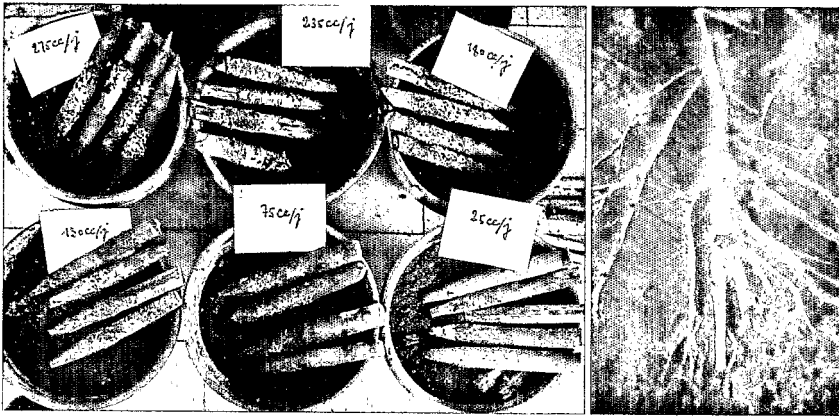
Nous remercions particulièrement M. MERNY, du Laboratoire de Phytopathologie de l'I.D.E.R.T.-Adiopodoumé, pour les conseils et les encouragements qui nous ont aidé à mettre au point les modalités de cette technique, ainsi que ses applications.

Nous remercions également M.S. DE BREUVERY, Directeur de l'I.R.C.A. et ses collaborateurs, MM. MARTIN et DU PLESSIS, pour la liberté d'action et les facilités qui nous ont été accordées dans la plantation de l'Anguédédou.

BIBLIOGRAPHIE

- CHEVAUGEON J. — Le problème des pourridiés en Côte d'Ivoire. *Rev. de Mycol.*, t. XXIV, fasc. 1, p. 39-53, 1959.
- NAPPER R. P. N. — Observations on the root diseases of rubber trees caused by *Fomes lignosus*. *J. Rubb. Res. Inst. Malaya*, t. IV, fasc. 1, p. 5-33, 1932.
- — A scheme of treatment for the control of *Fomes lignosus* in young rubber areas. *J. Rubb. Res. Inst. Malaya*, t. IV, fasc. 1, p. 34-38, 1932.
- — Root disease and underground pests in new plantings. *Planters*, t. XIX, p. 453-455, 1938.

(Laboratoire de Phytopathologie de l'I.D.E.R.T., Adiopodoumé, Côte d'Ivoire)



Imp. LAHURE

Clichés C. DECLERT

Bûchettes-pièges et détection du *Leptoporus lignosus* (Kl.) Heim

11791

UNE TECHNIQUE DE DÉTECTION
DES AGENTS DE POURRIDIE :
LA BUCHETTE-PIÈGE. SON APPLICATION
A L'ÉTUDE DU LEPTOPORUS LIGNOSUS

par

Claude DECLERT

Extrait de la REVUE DE MYCOLOGIE
LABORATOIRE DE CRYPTOLOGIE
DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12, RUE DE BUFFON, PARIS V^e

Juillet 1960

11791