

INFECTIONS ARTIFICIELLES DE JEUNES PLANTS D'*HEVEA*
BRASILIENSIS PAR *RIGIDOPORUS LIGNOSUS* (Kl.) Imaz. ET
PHELLINUS NOXIUS (Corner) G.H. Cunn.

GEIGER J-P., NANDRIS D., NICOLE M. et RIO B.

Phytopathologie

INTRODUCTION

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, 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. 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 (JOHN 1958 ; SACCAS 1975) ou artificiellement inoculés (KUHLMANN 1969) servent d'inoculum pour ces expérimentations.

En ce qui concerne plus particulièrement *Hevea brasiliensis* et *Rigidoporus lignosus* agent du pourridié blanc des racines, des méthodes comparables ont également été proposées. Toutefois les résultats obtenus par JOHN (1958) avec un inoculum ligneux, et par 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 ; NICOLE *et al.*, 1982 a,b) sur la biologie du parasite. Cette expérimentation, initiée sur de jeunes plants d'Hévéa inoculés avec *Rigidoporus lignosus* a été étendue à *Phellinus noxius*.

MATERIEL ET METHODES

Le matériel biologique

Les expérimentations ont été réalisées sur des jeunes plants issus de graines d'*H. brasiliensis* clone GT1, récoltées fin août dans la plantation expérimentale de l'IRCA, à l'Anguédédou. 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. 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 SOGB.

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

Réalisation expérimentale des confrontations hôte-parasite
(NANDRIS *et al.*, 1983)

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.

Les expérimentations sont réalisées sous serre dans des bacs de végétation en béton de 1 m³. 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. La durée des expérimentations est de cinq mois. Les caractéristiques du dispositif expérimental sont décrites dans la figure 1.

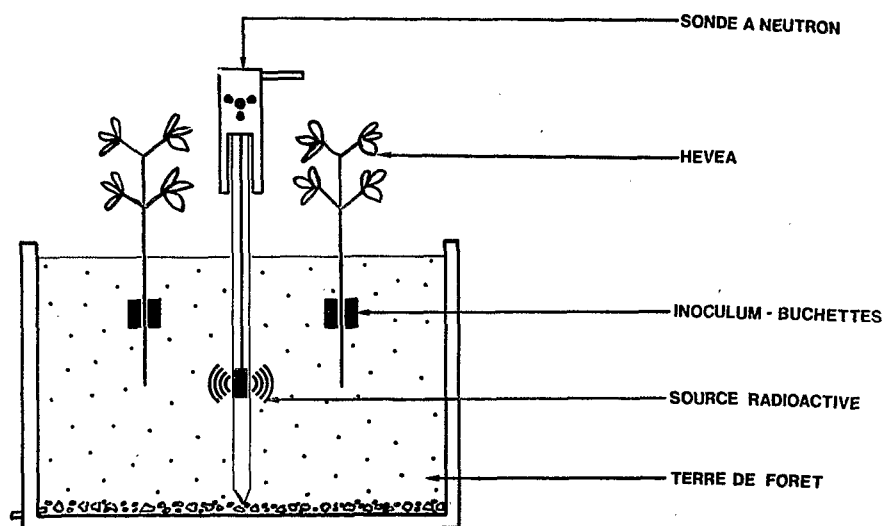


Fig. 1 : Schéma du dispositif expérimental d'inoculation artificielle de jeunes plants d'Hévéa à l'aide d'un inoculum bâchettes : bacs de végétation sous serre.

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 bûchettes-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).

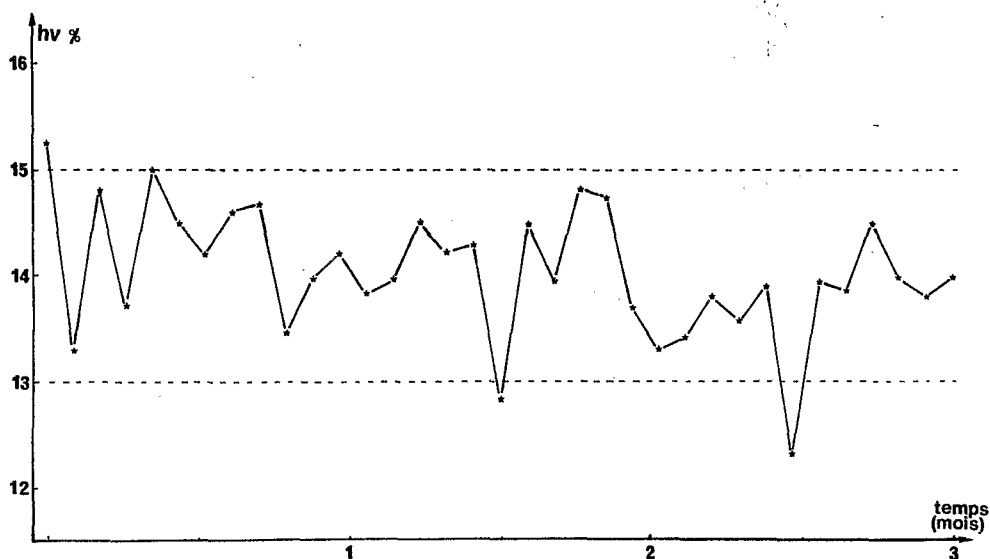


Fig. 2 : Maintien, au cours du temps, du niveau de l'humidité volumique (Hv) de la terre d'un bac par des apports modulés en eau. (Motif Hv : 14 ± 1 %).

Le préalable technique de caractérisation des paramètres hydropédologiques et neutroniques de la terre ainsi que ces mesures à la sonde ont été réalisés par le laboratoire des Radioisotopes du Centre ORSTOM d'Adiopodoumé.

Pour chaque plante inoculée, l'évaluation du niveau de l'attaque parasitaire et de la note phytosanitaire (de 1 à 9) 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).

RESULTATS

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 rhizomorphique 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 1) font nettement apparaître une corrélation entre l'augmentation du taux d'humidité et la sévérité de l'attaque fongique. 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 (NS > 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 1

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													Nb	NS
	0	1	2	3	4	5	6	7	8 D	9 M	C	P			
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, NS : 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,
- il existe une relation inverse entre la mortalité des plantes et leur aptitude à mettre en place une rhizogénèse secondaire réactionnelle (figure 3).

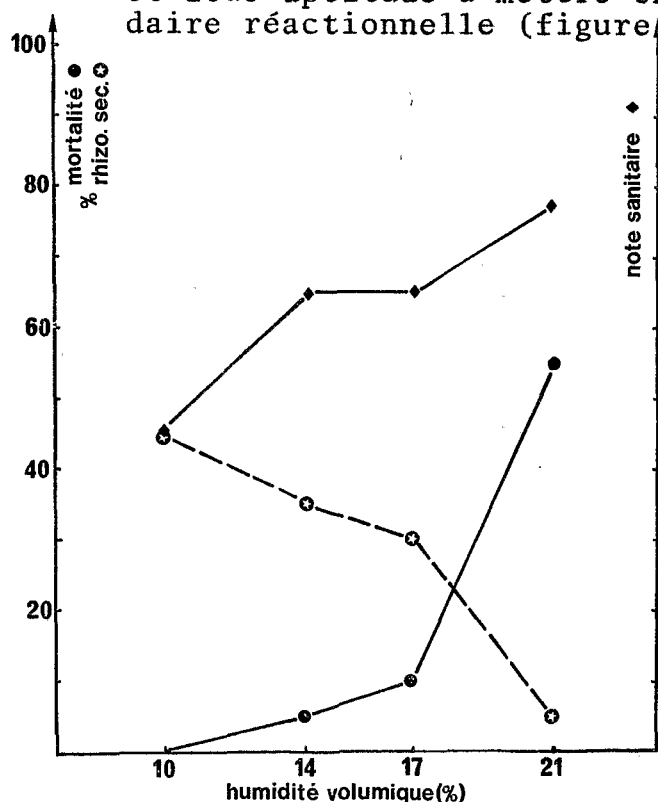


Fig. 3 : Influence de l'humidité volumique du sol sur l'expression du pouvoir pathogène de *Rigidoporus lignosus* : évolution de la mortalité des plants, de la note sanitaire et mise en place d'une rhizogénèse secondaire réactionnelle (rhizo. sec.)

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.

Quant à *P. noxius*, les résultats sont mêmes significatifs. Néanmoins, avec une humidité du sol comprise entre 17 et 19 %, 60 % des plants infectés meurent.

DISCUSSION

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. En région tempérée, une sévérité particulière des attaques de conifères poussant dans des sols hydromorphes par *Fomes annosus*, a été caractérisée. De la même manière, en Côte d'Ivoire, l'agressivité d'une espèce d'Armillaire à l'encontre d'essences forestières est sublimée dans des sols souvent inondés (MALLET et NICOLE, 1985).

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 KUHLMANN (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".

Sur la base de ce protocole, il est aussi possible d'obtenir des jeunes plants d'Hévée infectés à tous les stades de la maladie (NICOLE *et al.*, 1983).

BIBLIOGRAPHIE

- BOISSON C., 1973.- De la basidiospore au rhizomorphe, déterminisme de l'agrégation chez le basidiomycète *Leptoporus lignosus* (Kl.) Heim ex Pat. Thèse Doc. d'Etat. Université Paris-Sud.
- DAY W.R., 1948.- The penetration of conifer roots by *Fomes annosus*. Quart. Journal of Forestry, 32, 99-101.
- DECLERT C., 1960.- Une technique de détection des agents de Pourri-diés, la bûchette piège. Son application à l'étude du *Leptoporus lignosus*. Revue de Mycologie, 26, 119-127.

- FOX R.A., 1961.- White root disease of *Hevea brasiliensis*. The identity of the pathogen. Proceeding of the Rubber Research Conference, Kuala Lumpur, 476-482.
- GEIGER J.P., NANDRIS D. et GOUJON M., 1976.- Activité des laccases et des peroxydases au sein des racines d'Hévéa attaquées par le pourridié blanc (*Leptoporus lignosus* (Kl.) Heim). Physiologie Végétale, 14, 271-282.
- JOHN K.P., 1958.- Inoculation experiment with *Fomes lignosus* Klotsch. Journal of Rubber Research Institute of Malaya, 15, 223-240.
- JOHN K.P., 1966.- Effect of inoculum size and age of trees on root disease infection of *Hevea brasiliensis*. Journal of Rubber Research Institute of Malaya, 19, 226-230.
- KUHLMAN E.G., 1969.- Inoculation of biology pine seedlings with *Fomes annosus* in the greenhouse. Canadian Journal of Botany, 47, 2079-2082.
- MALLET N. et NICOLE M., 1985.- *Armillaria* root rot in the Ivory Coast. A paraître dans Plant Disease.
- NANDRIS D., NICOLE M., GEIGER J.P. et HUGUENIN B., 1981.- Les pourridiés de l'Hévéa. I. Incidence des facteurs édaphiques sur le pouvoir pathogène de *Rigidoporus lignosus*. Coll. Int. Prot. Cult. Trop., Juillet 1981, Lyon.
- NANDRIS D., NICOLE M. et GEIGER J.P., 1983.- Infections artificielles de jeunes plants d'*Hevea brasiliensis* par *Rigidoporus lignosus* et *Phellinus noxius*. European Journal of Forest Pathology, 13, 65-76.
- NICOLE M., GEIGER J.P. et NANDRIS D., 1982 a. - Aspects ultra-structuraux de la dégradation du phloème d'*Hevea brasiliensis* par *Rigidoporus lignosus*. Compte rendus de l'Académie des Sciences, Paris, Série III, 471-476.
- NICOLE M., NANDRIS D. et GEIGER J.P., 1982 b. - Interactions hôte-parasites entre *Hevea brasiliensis* et les agents de la pourriture racinaire *Rigidoporus lignosus* et *Phellinus noxius*. Etude physiopathologique comparée. Phytopathologische Zeitschrift, 105, 311-326.
- NICOLE M., NANDRIS D. et GEIGER J.P., 1983.- Cinétique de l'infection de plants d'*Hevea brasiliensis* par *Rigidoporus lignosus*. Canadian Journal of Forest Research, 13, 359-364.
- SACCAS A.M., 1975.- Les pourridiés des caféiers en Afrique Tropicale. Bulletin de l'Institut Français du Café et Cacao, 13, 172 pp.