

ÉTUDE DE LA MYCOFLORE DES RACINES DU BANANIER 'POYO'

III. INOCULATIONS EXPÉRIMENTALES (*)

par **R. MALLESSARD**

Stagiaire à l'Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (I.F.A.C.)

ÉTUDE DE LA MYCOFLORE DES RACINES DU BANANIER 'POYO'

III. — Inoculations expérimentales.

par R. MALLESSARD (I.F.A.C.).

Fruits, vol. 21, n° 10, novembre 1966, p. 543 à 552.

RÉSUMÉ. — Description d'un dispositif expérimental et d'une méthode d'inoculation artificielle sur racines de bananier 'Poyo' permettant l'observation et l'étude de symptômes causés par un pathogène inoculé.

La principale caractéristique du dispositif expérimental est la culture de bananiers sur milieu nutritif liquide, qui a pour but l'obtention de racines principales adventives.

Ces racines ainsi émises sont élevées dans des tubes de culture spéciaux permettant leur inoculation avec un pathogène donné.

Les résultats obtenus avec *Rhizoctonia solani* en utilisant ces techniques expérimentales mettent en évidence la possibilité d'une forte attaque de la région sub-apicale.

Ces résultats montrent également l'importance des nécroses en présence de blessures artificielles ou naturelles dans n'importe quelle zone de la racine.

On peut donc admettre l'action pathogène certaine de *Rhizoctonia solani* sur racines de bananiers 'Poyo' dans ces conditions expérimentales.

I. INTRODUCTION

Les chapitres précédents de cette étude (*Fruits*, 1964, vol. 19, n° 8, p. 435-449; n° 9, p. 521-528 et *Fruits*, 1965, vol. 20, n° 3, p. 123-128) présentaient les résultats des travaux effectués par MM. J. BRUN et E. LAVILLE.

Dans une première partie, une revue bibliographique des principaux travaux effectués jusqu'à présent sur le système racinaire du bananier et sa mycoflore, avait permis une mise au point récente de cette question.

Une deuxième partie présentait les résultats d'observations effectuées en particulier au Cameroun, ainsi qu'en Côte d'Ivoire, aux Antilles et au Mali; et dressait un inventaire des principales espèces fongiques isolées, ainsi que leur distribution autour de la plante.

Ce troisième chapitre concernera les résultats et les observations obtenus à partir d'injections expérimentales réalisées en laboratoire.

(*) Étude de la mycoflore des racines du bananier 'Poyo'. E. Laville.

Chapitre I : *Fruits*, Vol. 19, n° 8, sept. 1964, p. 435-449. — Chapitre II : Principales données géographiques, climatiques et pédologiques de la région où se situe l'étude, *Fruits*, vol. 19, n° 9, octobre 1964, p. 521-528.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODE

Le dispositif décrit ci-dessous, nous a permis d'obtenir des racines de bananier utilisées pour cette étude. Il rend possible leur croissance puisqu'elles restent rattachées au bulbe-mère et en outre facilite leur accès et leur observation malgré leur grande fragilité.

A. La serre.

Les bananiers utilisés pour la production des racines sont élevés dans des bacs de culture contenant un milieu nutritif liquide. Ces bacs sont disposés dans une serre où la température ambiante est maintenue autour de 27° C environ et l'hygrométrie entre 70 et 80 %.

Un éclairage est dispensé pendant la journée par une lampe à arc au xénon dont le spectre est semblable à celui de la lumière solaire.

B. Les bacs.

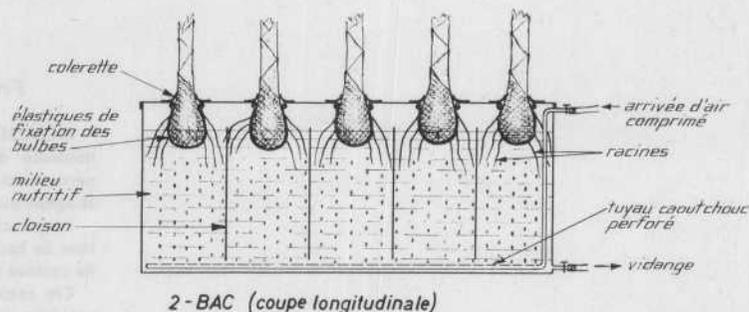
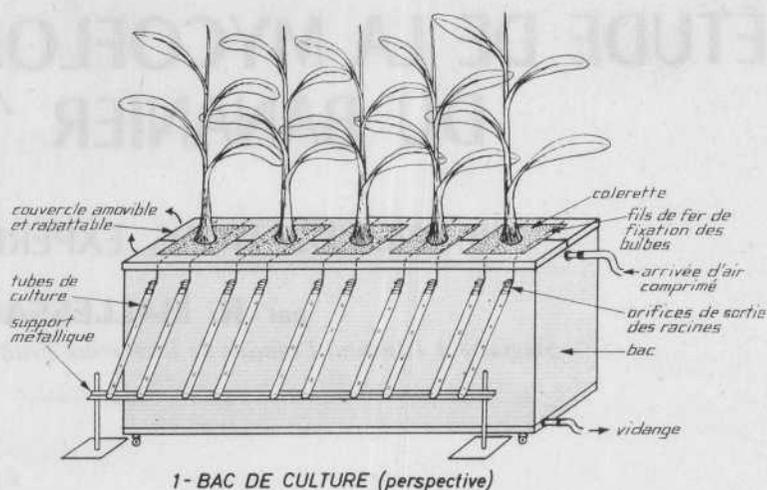
La solution nutritive est contenu dans des bacs de culture en « Leucoflex » noir (matière plastique rigide) de 1,10 m de long, 0,45 m de haut et 0,20 m de large. Chaque bac repose sur un petit chariot facilitant son déplacement (voir schéma n° 1).

Quatre demi-cloisons verticales, placées à l'intérieur de chaque bac, divisent celui-ci en cinq cases d'égales dimensions pouvant recevoir chacune un bananier, mais permettant la libre circulation du milieu nutritif dans l'ensemble du bac et le développement latéral des racines (voir schéma n° 2).

Un couvercle amovible et rabattable en son milieu recouvre chaque bac. Il est percé de cinq orifices circulaires de 10 cm de diamètre, coïncidant chacun avec une case du bac. Ces orifices permettent la mise en place des bulbes et la sortie des faux-troncs.

Sur les deux parois latérales du bac et à 5 cm de leur bord supérieur, en face de chaque case, quatre orifices de sortie prolongés chacun par un court conduit incliné vers le bas permettent de diriger les racines dans des tubes de culture (voir schéma 1 et 3).

Enfin, au fond du bac, par l'intermédiaire d'un tuyau de caoutchouc perforé sur toute sa longueur, une distribution continue d'air comprimé permet une



aération homogène de la solution nutritive. Et dans un des angles inférieurs du bac, un orifice de sortie rend possible une vidange totale de la solution (voir schéma n° 2).

C. La solution nutritive.

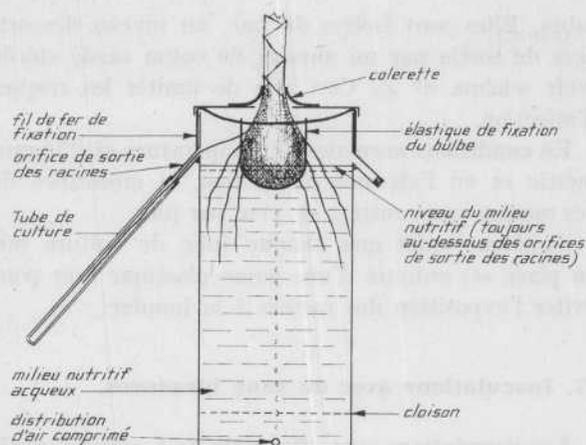
Pour les différentes solutions mères et pour la solution nutritive définitive on emploie de préférence de l'eau permutée afin d'éviter la précipitation des sels minéraux mis en solution :

Une solution nutritive mère est préparée à l'avance et se compose comme suit :

— NO ₃ K.....	101 g/l d'eau permutée
— Ca(NO ₃) ₂	236 g/l d'eau permutée
— MgSO ₄	246 g/l d'eau permutée
— NH ₄ H ₂ PO ₄	115 g/l d'eau permutée

— Préparation de la solution mère de Fe edta (sel de fer de l'acide éthylène diamine tétracétique).

— Fe edta.....	261 g	} 10 l d'eau permutée
— KOH.....	150 g	
— Fe ₂ SO ₄ 7H ₂ O.....	249 g	



3-BAC (coupe transversale)

On dissout l'ensemble dans 8 l d'eau permutée et on laisse barboter toute une nuit (air comprimé). On ajuste ensuite à 10 l.

Solution mère d'oligo-éléments :

— $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,08 g
— $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,88 g
— $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	21,6 g
— BO_3H_3	5,7 g
— NH_4MoO_4	0,35 g
— NH_4VO_3	0,066 g

— Pour 50 l d'eau permutée, on apporte une fois par mois environ :

- 50 cm³ de la solution mère de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
- 300 cm³ de la solution mère de NO_3K
- 200 cm³ de la solution mère de $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$
- 100 cm³ de la solution mère de MgSO_4
- 10 cm³ de la solution mère de Fe edta
- 25 cm³ de la solution mère d'oligo-éléments

On acidifie éventuellement l'ensemble de la solution du bac pour obtenir un pH voisin de 5,5 à 5,6 par apport de 1 cm³ de SO_4H_2 à 1/10 par litre de solution. Ceci pour prévenir un développement bactérien dans le bac.

La totalité du milieu nutritif du bac est renouvelé régulièrement tous les mois.

D. Les tubes de culture.

Ils sont en matière plastique rigide transparente et constitués par deux corps cylindriques s'emboî-

tant l'un dans l'autre et clos chacun à une même extrémité. Ils ont une longueur de 30 cm et possèdent chacun à trois niveaux différents un orifice d'inoculation (voir schéma n° 4).

Le corps intérieur a ses trois orifices d'inoculation dans le même alignement alors que ceux du corps extérieur sont disposés en spirale. Ainsi il ne peut y avoir correspondance entre deux orifices d'un même niveau que par rotation du tube extérieur.

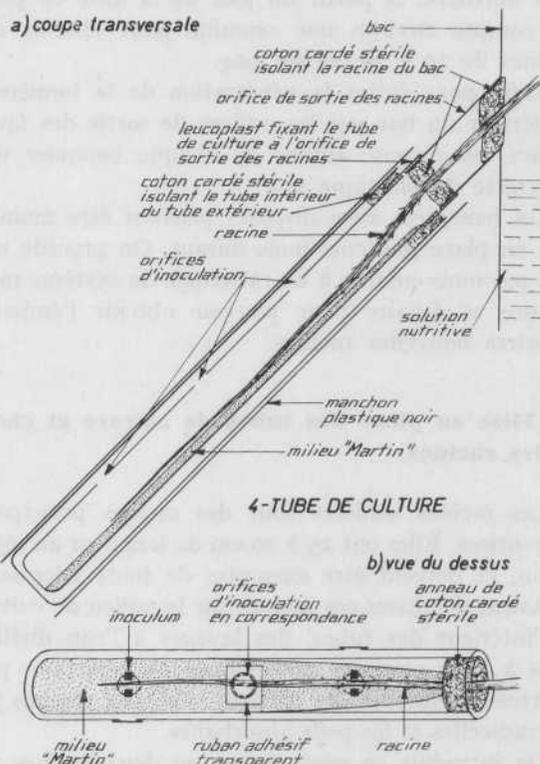
Par cette méthode on réduit ainsi les risques d'infection par les orifices d'inoculation.

La désinfection et la préparation de ces tubes demandent des précautions particulières. Ainsi toutes ces manipulations auront lieu en pièce stérile.

Cette désinfection est effectuée par une succession de trempages et rinçages dans une solution d'hypochlorite de Na à 2,5 ‰ et dans l'eau stérile.

Après séchage pendant une nuit, ces tubes sont préparés pour recevoir le milieu de culture. Cette préparation consiste à clore les orifices d'inoculation avec du ruban adhésif transparent et à isoler les corps intérieurs des corps extérieurs par un manchon de coton cardé stérile.

Enfin, dans chaque corps intérieur, est coulé un milieu de culture. Nous avons choisi le milieu « Martin » (MARTIN, 1950, JOHNSON, 1957) qui nous a



4-TUBE DE CULTURE

donné d'assez bons résultats. Mais on pourrait également utiliser comme milieu, la solution nutritive du bac, gélosée, à laquelle on apporterait du Rose bengal et de la Streptomycine (pour limiter le développement des bactéries).

E. Mise en place des bananiers.

Les jeunes rejets de bananiers 'Poyo' utilisés pour cette étude ont des bulbes de 1,5 kg à 2 kg. Avant leur mise en place ils sont sévèrement parés et nettoyés, puis désinfectés par trempage dans une solution d'hypochlorite de Na à 5 ‰.

Ainsi préparés, ils sont mis en place dans le bac au moyen d'un système de fils de fer et d'élastiques (voir schéma n° 3). Deux fils de fer sont fixés parallèlement et transversalement au-dessus de chaque case du bac. Deux gros élastiques disposés en X y sont accrochés et forment ainsi une sorte de berceau sur lequel chaque bulbe repose. Les fils de fer maintiennent le bulbe verticalement en faisant pression sur ses épaulements et les élastiques le soutiennent tout en le plaquant à ces derniers. Ainsi, par ce moyen, la croissance du bulbe et l'émission des racines ne sont pas entravées.

Seule la base du bulbe est en contact avec la solution nutritive. A partir du jour de la mise en place on compte environ une semaine pour obtenir des racines de 15 à 20 cm de long.

Enfin pour éviter la pénétration de la lumière à l'intérieur du bac par les orifices de sortie des faux-troncs, on dispose autour de chaque bananier une collerette de plastique noir.

Ces bananiers ainsi disposés peuvent être maintenus en place plusieurs mois durant. On procède une fois par mois environ à un rabattage du système radiculaire et foliaire pour pouvoir obtenir l'émission d'autres nouvelles racines.

F. Mise en place des tubes de culture et choix des racines.

Les racines utilisées sont des racines principales adventices. Elles ont 15 à 20 cm de longueur au minimum, et doivent être exemptes de toute nécrose.

Avant de glisser ces racines sur le milieu de culture à l'intérieur des tubes, des lavages à l'eau distillée puis à l'eau stérilisée additionnée de pénicilline permettent d'éliminer les déchets végétaux retenus par les radicelles et les poils absorbants.

On introduit en général une ou deux racines par

tubes. Elles sont isolées du bac, au niveau des orifices de sortie par un anneau de coton cardé stérile (voir schéma n° 4). Ceci afin de limiter les risques d'infection.

En conditions normales de température et d'hygrométrie et en l'absence d'infection, la croissance de ces racines varie entre 2 et 3 cm par jour.

Signalons enfin que chaque tube de culture mis en place est entouré d'une gaine plastique noir pour éviter l'exposition des racines à la lumière.

G. Inoculations avec ou sans blessures.

Les inoculations sont effectuées 24 h environ après la mise en place des racines.

Nous avons considéré quatre régions anatomiques principales pour effectuer ces inoculations ; à savoir :

- la coiffe,
- la zone des poils absorbants,
- la zone différenciée (Mature Région, J. L. RIOPEL),
- la zone des ramifications (radicelles).

Les inoculum utilisés sont prélevés sur de jeunes souches cultivées sur milieu P. D. A. (Potatoes Dextrose Agar) en boîte de Pétri. Ils ont 4 à 5 m² environ et sont déposés de part et d'autre de la racine sur le milieu nutritif, au point d'inoculation choisi.

Dans le cas d'inoculation avec blessure, les zones radiculaires choisies, sont avant dépôt de l'inoculum, blessées artificiellement au scalpel.

Ces blessures longitudinales, effectuées au scalpel préalablement désinfecté ont une longueur de 10 à 15 mm. Elles intéressent le cortex et parfois une partie du cylindre central.

Signalons enfin, que des racines non inoculées et non blessées sont utilisées comme témoins.

H. Observation des symptômes.

L'observation des nécroses provoquées par le pathogène s'effectue en deux temps.

Une première étude macroscopique quotidienne permet d'apprécier dans le temps, l'évolution et l'importance des nécroses externes. Elle se poursuit jusqu'au moment où les racines sont retirées des tubes.

Une seconde étude, microscopique, vient alors compléter la première. Pour cela, on pratique à l'aide d'un microtome à congélation, des coupes transversales et longitudinales dans les différentes zones nécrosées des racines ainsi extraites.

Les coupes obtenues sont préparées et colorées

avant leur examen au microscope. Pour cela nous avons utilisé la méthode suivante : (LANGERON).

— Trempage pendant 5 mn à l'hypochlorite de sodium à 50 %.

— Lavage pendant 5 mn à l'eau acidulée par l'acide acétique (solution à 10 %).

— Lavage à l'eau distillée pendant 5 mn.

— Coloration au bleu de méthylène aluné en solution aqueuse pendant 10 mn (bleu de méthylène : 1, alun : 10, eau : 100).

— Coloration au rouge de ruthénium en solution

aqueuse (quelques mlg dans quelques centimètres cubes d'eau distillée) pendant 10 mn.

— Rinçage à l'eau distillée pendant 5 mn.

Si la préparation a été effectuée correctement, on doit obtenir les colorations suivantes :

— vert pour le suber,

— bleu pour le xylème (bois),

— ± rose pour le phloème (liber),

— bleu ± foncé pour le mycélium.

Les coupes ainsi obtenues sont montées à la glycérine sur lames de verre et sous lamelles.

III. RÉSULTATS

A. ÉTUDE DES NÉCROSES CAUSÉES PAR *RHIZOCTONIA SOLANI*

a) Le pathogène.

Le choix de ce pathogène utilisé pour les inoculations expérimentales a été influencé par les résultats d'une série d'isolements effectués par E. LAVILLE sur racines de bananier « Poyo » au Cameroun.

En effet, ces résultats ont mis en évidence l'importance relative de ce pathogène en fonction de la profondeur des racines et du stade des nécroses de ces dernières. Ce champignon se trouvant souvent placé quantitativement et qualitativement en seconde position après l'ensemble des *Fusarium* sp.

Le *Rhizoctonia solani* Kühn (*Corticium vagum* B. et C.) (DE MEL, 1927, GADD et BERTUS, 1928) est un champignon imparfait et stérile. Sa forme parfaite est le *Pellicularia filamentosa*.

De nombreux auteurs (MAT., 1921; BRYCE, 1921; ASHEY, 1925; ROGER, etc.) l'observent et l'identifient sur racines et souches de bananiers dans différentes régions du monde (LAVILLE, 1964).

Ce cryptogame est partout signalé comme important pour les dégâts qu'il est susceptible d'occasionner.

b) Infections.

I. Infections de la région sub-apicale. Observations de l'évolution des nécroses.

C'est une zone turgescente, blanche et très fragile. Elle est protégée à son extrémité par une coiffe gélatineuse. C'est la région d'élongation la plus active de la racine puisqu'elle est le siège d'une importante division cellulaire due à la présence du méristème

terminal. Sa structure anatomique est faiblement différenciée.

En raison de sa grande fragilité et de cette faible différenciation nous n'avons pas effectué de blessure artificielle dans cette partie de la racine.

Une telle action mécanique effectuée à quelques millimètres de la coiffe, engendrerait un arrêt de croissance, une formation de racines secondaires et l'apparition d'une nécrose (RIOPEL). Et cette dernière ne pourrait être imputable au pathogène inoculé.

Les inoculations que nous avons effectuées dans cette région ont été faites de deux manières différentes :

— Dans un premier cas, les inoculum ont été déposés de part et d'autre de cette zone et en contact direct avec celle-ci (fig. A).

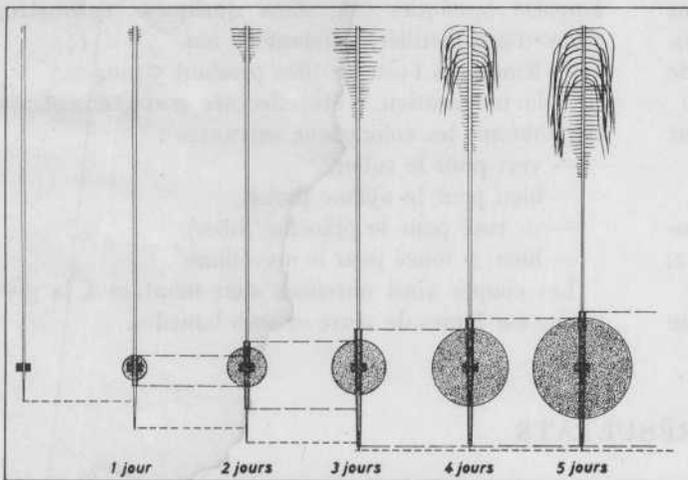
— Dans un second cas, l'inoculation a été effectuée 3 cm environ devant la coiffe (fig. B). Ainsi l'inoculum n'est pas en contact avec la racine, mais par son développement et par l'allongement de cette dernière le contact s'établira un ou deux jours après.

A partir de ces deux méthodes d'inoculation ; nous avons pu observer diverses réactions de cette région sub-apicale.

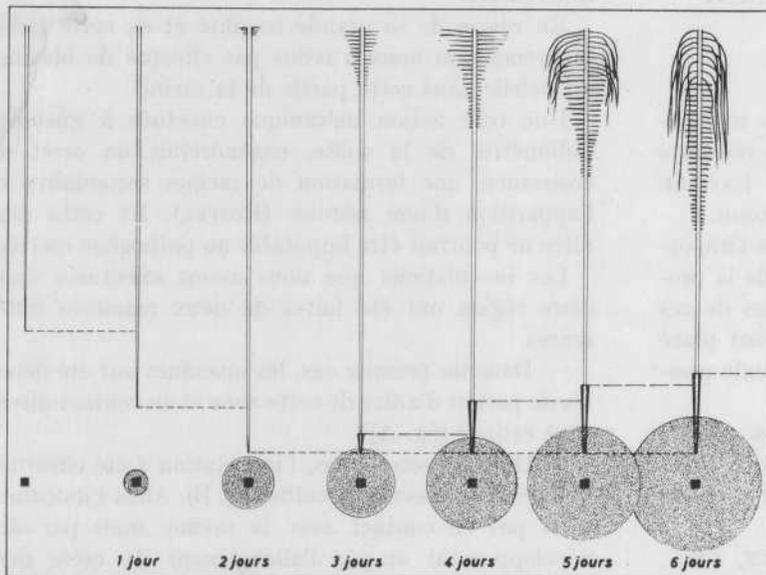
— Dans le premier cas (fig. A), 24 h environ après le dépôt de l'inoculum, on observe macroscopiquement l'apparition d'une nécrose brun rougeâtre de 8 à 10 mm de long environ.

Elle concerne anatomiquement, la partie épidermique de cette région sub-apicale. La racine continue à s'allonger.

Au bout de 48 h environ, on note un développement plus rapide de cette nécrose vers la région apicale proprement dite que vers la zone des poils absorbants. Cette constatation semble s'expliquer anatomiquement. En effet, le développement « centrifuge »



A) INFECTION DE LA REGION SUB-APICALE. L'INOCULUM EST AU CONTACT DE LA RACINE SANS BLESSURE



B) INFECTION DE LA REGION SUB-APICALE. L'INOCULUM EST PLACE DEVANT LA RACINE

de la nécrose, c'est-à-dire vers l'apex pourrait être facilité par la faible différenciation cellulaire de cette zone, alors qu'inversement le développement « centripète » trouverait un obstacle en la présence d'une différenciation cellulaire plus importante vers la zone des poils absorbants.

Cette nécrose devient brun foncé et intéresse la partie sous-épidermique, c'est-à-dire la partie externe de la zone corticale.

On constate en outre un ralentissement dans la croissance de la racine et l'apparition de jeunes radicules dans la zone des ramifications.

En 72 h environ, la nécrose atteint l'apex et le

développement de la racine est stoppé. L'évolution « centripète » de la nécrose est toujours lente ; par contre l'émission des radicules est très rapide. La nécrose intéresse l'ensemble de la zone corticale, et on observe un feutrage mycélien dense entourant cette région apicale et sub-apicale.

— Dans le second cas d'inoculation (fig. B) dès que l'apex entre en contact avec la culture mycélienne il y a arrêt de la croissance de la racine et une nécrose brun rougeâtre apparaît à son extrémité.

En 48 h environ, cette nécrose a un développement « centripète » rapide qui par la suite se ralentit en atteignant les zones plus différenciées.

On observe comme dans le premier cas, l'apparition de jeunes radicules dans la zone des ramifications et dont l'émission devient de plus en plus rapide. Notons également la présence d'un feutrage mycélien autour de la zone apicale et sub-apicale.

Mais à l'inverse du premier cas, la nécrose devenue brun foncé, concerne très vite l'ensemble du cortex et du cylindre central. Ceci parce que le pathogène a envahi la racine à partir de la zone méristématique. Alors que ce n'est qu'après 72 h au moins qu'on peut l'observer dans le cylindre central dans le premier cas. C'est-à-dire à partir du moment où il atteint la zone méristématique.

Il semblerait donc que malgré la faible différenciation cellulaire de la région apicale et sub-apicale, le mycélium emprunterait la zone méristématique pour pouvoir atteindre le cylindre central.

On observe d'ailleurs le même processus de pénétration dans le cas des radicules secondaires.

Enfin comme dans le premier cas, dès que la croissance de la racine est stoppée on assiste à une émission rapide de radicules dans la zone des ramifications.

En résumé, après 72 h d'inoculation environ, une étude microscopique permet d'observer (fig. C) :

— Un feutrage mycélien très dense autour de la région apicale et sub-apicale (photo I).

— La présence du mycélium dans tout le cortex

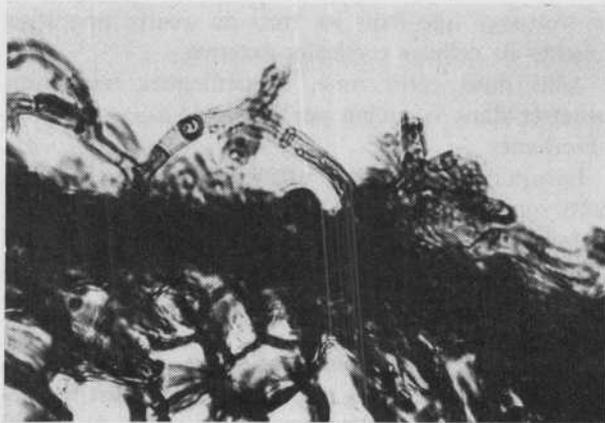


PHOTO 1. — Région sub-apicale (coupe transversale). Feutrage mycélien autour de la racine.



PHOTO 2. — Région sub-apicale (coupe transversale). Mycélium dans la zone corticale moyenne.

mais plus particulièrement dans sa zone externe et moyenne (photo II).

— Un début de pénétration mycélienne dans les vaisseaux du bois et dans le parenchyme médulaire.

— Une importante concentration mycélienne dans la zone méristématique.

II. Infections dans la région des poils absorbants.

Observation de l'évolution des nécroses.

La zone des poils absorbants dans toute racine est le siège de la fonction d'absorption. C'est une zone de longueur croissante en perpétuelle évolution. Les poils absorbants prennent naissance à sa partie inférieure et disparaissent à sa partie supérieure par l'apparition d'une couche de cellules liégeuses.

Ces poils d'origine épidermique, remplissant la fonction d'absorption par le phénomène d'osmose ont une paroi cellulosique très mince. Et ceci semble être un facteur important pour la pénétration du pathogène.

En effet, lorsqu'on dépose un inoculum en contact avec cette zone et cela sans blessure artificielle préalable, on observe :

Au bout de 24 h, l'apparition d'une nécrose rougeâtre extérieure d'une dizaine de millimètres de long environ.

— En 48 h par développement « centripète et centrifuge » égal, elle atteint 30 à 40 mm.

— Au-delà de 48 h, elle continue d'évoluer régulièrement et on note l'apparition d'un feutrage mycélien autour de cette zone.

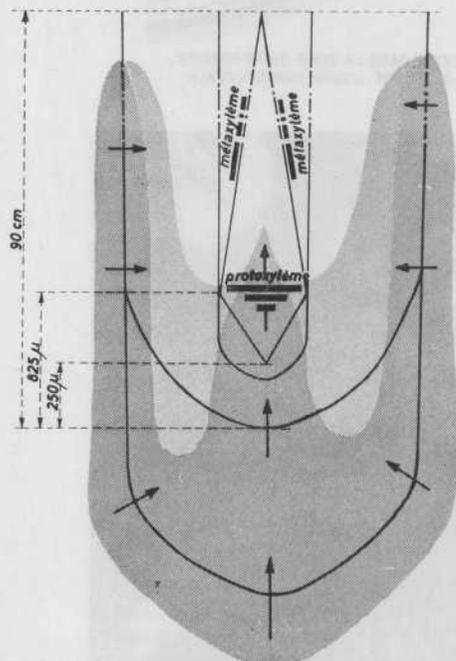
A ce stade l'étude microscopique d'une coupe transversale de cette zone (fig. D) montre :

— Un feutrage mycélien plus ou moins important autour de la racine.

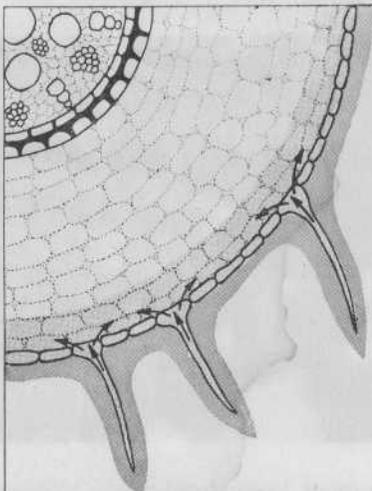
— Une concentration mycélienne plus dense autour des poils absorbants et à leur base.

— La présence de filaments mycéliens dans les cellules pilifères, filaments qui se ramifient ensuite dans la zone épidermique et sous épidermique.

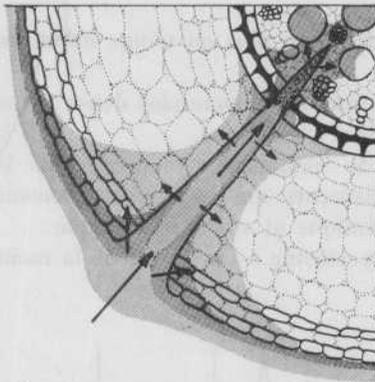
Cette présence mycélienne à l'intérieur de la racine



C) INFECTION DE LA RÉGION SUB-APICALE. COUPE LONGITUDINALE, SANS BLESSURE. (schéma d'après J. L. RIOPEL)



D) INFECTION DANS LA ZONE DES POILS ABSORBANTS. COUPE TRANSVERSALE. SANS BLESSURE



E) INFECTION DANS LA ZONE DIFFERENCIEE. AVEC BLESSURE. COUPE TRANSVERSALE



ne s'observe que dans les trois ou quatre premières couches de cellules corticales externes.

Ainsi dans cette zone, le pathogène semblerait pénétrer dans la racine par l'intermédiaire des poils absorbants.

Lorsqu'il y a blessure artificielle du cortex dans cette zone on observe, 72 h environ après l'inoculation, la présence du pathogène dans l'ensemble de la zone corticale avec toutefois une concentration plus importante dans la zone externe et moyenne ainsi que sur les bords de la blessure.

Nous reviendrons plus en détail dans le paragraphe suivant sur le cas des blessures artificielles où l'on observe quelle que soit la zone de racine blessée, une évolution semblable des nécroses.

III. Infections dans la zone différenciée. Observation de l'évolution des nécroses.

Cette zone, définie par RIOPEL sous le terme de « mature région » a extérieurement un aspect gris-beige dû à une formation liégeuse de surface. Elle possède une certaine résistance due à son âge et à sa grande différenciation anatomique.

Dans le cas d'inoculation artificielle sans blessure de cette région on observe :

— Au bout de 24 h et plus, une légère coloration rougeâtre extérieure, uniquement au niveau de l'inoculation et ne s'étendant pas.

— Après 72 h d'inoculation environ, l'observation microscopique d'une coupe transversale de cette zone permet d'observer :

— Un très faible feutrage mycélien extérieur entourant la racine.

— Absolument pas de mycélium dans l'ensemble du cortex et de la zone sous-épidermique.

Cette formation subéreuse externe, non encore desquamée, semble être un obstacle à la pénétration du pathogène.

— Dans le cas d'inoculation avec blessure artificielle, après 72 h environ, nous avons observé :

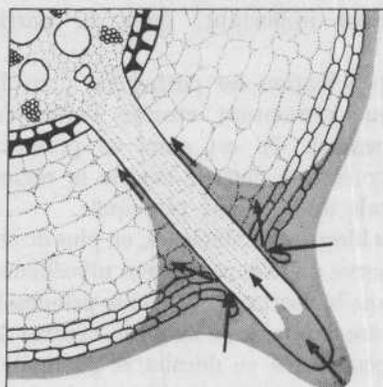
Lorsque seul le cortex a été touché par la blessure :

— Un feutrage mycélien très faible autour de la racine et très important à l'entrée de la blessure.

— Une importante concentration de mycélium dans la blessure et plus particulièrement sur ses bords.

— Un développement du pathogène dans l'en-

PHOTO 3. — Zone différenciée. Concentration mycelienne dans le fond de la blessure du cylindre central et dans les grands vaisseaux centraux.



F) INFECTION DANS LA ZONE DES RAMIFICATIONS. SANS BLESSURE. COUPE TRANSVERSALE

semble du cortex, plus important dans les zones externes et moyennes de celui-ci.

— Enfin aucune trace de mycélium dans le cylindre central, l'ensemble endoderme-péricycle formant barrière et n'étant pas traversé.

Lorsque la blessure atteint le cylindre central, nous avons observé (fig. E) :

— Les mêmes symptômes pour le cortex que précédemment.

— Une concentration mycélienne très importante dans le fond de la blessure située dans le cylindre central (voir photo III).

— Une diffusion du mycélium dans le parenchyme médulaire et dans les vaisseaux centraux de grande taille (vaisseaux du bois, métaxylème) (voir photo III).

Ce mycélium est retrouvé à des niveaux supérieurs ou inférieurs à la blessure dans les vaisseaux, où il se développe plus rapidement que dans le parenchyme médulaire et le cortex.

Par contre l'endoderme et le péricycle ne sont pas envahis par le mycélium sauf les cellules voisines de la blessure.

— Ces observations sont valables pour toutes les parties de la racine bien différenciées où nous avons effectué des blessures artificielles suivies d'inoculations.

IV. Infections dans la zone des ramifications. Observation de l'évolution des nécroses.

Cette zone très différenciée est le siège de l'émission des radicelles (racines secondaires) et de leur développement.

C'est une région assez résistante, recouverte d'une couche de cellules subérifiées.

Pour étudier l'action du pathogène dans cette région nous avons divisé cette dernière en deux parties distinctes.

— La zone des radicelles déjà émises.

— La zone d'émissions futures.

Dans ces deux cas nous avons envisagé les inoculations avec ou sans blessure artificielle.

— Dans le cas de la zone d'émission future, après inoculation sans blessure, nous avons observé :

— Un très léger feutrage mycélien autour de la racine au bout de 48 h environ.

— Aucune présence mycélienne dans le cortex et le cylindre central.

De plus cette inoculation n'entrave pas l'émission des radicelles. Mais ces dernières sont nécrosées, stoppent leur développement et se dessèchent 48 h environ après leur sortie.

A partir de ce moment-là, le cortex est infecté par le pathogène, qui pénètre dans ce dernier par les craquelures des tissus subérifiés dues à la sortie des radicelles.

Dans le cas d'une blessure artificielle le cortex est bien entendu envahi par le mycélium mais la blessure n'entrave pas la sortie des radicelles voisines qui par la suite seront nécrosées lorsqu'elles se trouveront en présence du mycélium.

On note dans ce cas-là, le développement d'une nécrose brun rougeâtre intéressant le cortex de la racine principale.

Lorsque cette blessure artificielle atteint le cylindre central, l'émission des radicelles est alors compromise. Le mycélium, dans un premier temps envahit le cortex et dans un second temps colonise le cylindre central où il se développe en particulier dans les vaisseaux du bois.

On observe alors le développement d'une nécrose brun noirâtre et le dessèchement des radicelles déjà émises au-dessus de la blessure.

— Dans le cas d'une inoculation sans blessure dans la zone des radicelles déjà émises on observe :

— en 24 h environ le développement d'une nécrose rougeâtre sur la racine principale et en plus de 48 h les radicelles commencent à se nécroser et leur croissance est stoppée, mais ceci uniquement au niveau de l'inoculation.

En présence d'une blessure atteignant le cylindre central, on constate l'arrêt de croissance et la nécrose de l'ensemble des radicelles de la racine au bout de cinq jours environ.

L'étude microscopique de coupes transversales effectuées dans les différents cas que nous venons d'examiner, nous a permis d'observer (fig. F) :

— Un feutrage mycélien peu important autour de la racine.

— Dans le cas des inoculations sans blessure, une concentration importante du pathogène aux endroits de sortie des radicelles où les couches sous épidermiques de la racine principale sont exfoliées.

— Le mycélium pénètre alors dans le cortex de la racine et remonte en bordure des radicelles tout en diffusant dans les zones corticales latérales. Mais il ne peut pénétrer dans le cylindre central de la racine principale, l'endoderme et le péricycle entravant sa progression.

— Quant à la radicelle, elle est entourée d'un feu-

trage mycélien assez important, dans sa partie externe.

On observe la pénétration du pathogène dans la zone méristématique remontant ensuite lentement dans le cylindre central. On est alors en présence des mêmes symptômes que dans le cas de la région apicale et sub-apicale de la racine principale.

— Dans le cas des blessures artificielles, en plus de ces symptômes, on observe une concentration mycélienne plus importante dans le cortex de la racine principale et lorsque la blessure intéresse le cylindre central, la présence du pathogène dans ce dernier et particulièrement dans les grands vaisseaux centraux du bois.

CONCLUSIONS ET DISCUSSION

Ce travail représente une partie des études qui seront poursuivies avec les champignons isolés des racines du bananier Poyo, et en particulier avec les espèces appartenant au genre *Fusarium* (*F. solani* = et *F. oxysporum*).

Compte tenu des conditions expérimentales et des méthodes utilisées dans cette étude, il semble possible d'admettre l'action pathogène du *Rhizoctonia solani*, sur les racines du bananier Poyo.

Cette action s'exerce particulièrement, en l'absence de blessures dans la région de la coiffe et dans la zone sub-apicale.

Cette action pathogène sur les zones apicales et sub-apicales n'a été que rarement observée dans la nature sur des racines en place. Il se peut que les conditions

expérimentales de cette étude soient plus favorables à une telle action.

Mais il est important de noter que dans certaines conditions une attaque de ce type est possible.

D'autre part il faut souligner l'importance du développement des nécroses causées par *Rhizoctonia solani*, en présence d'une blessure préalable. Ces résultats confirment les observations effectuées par BLAKE (1966) sur des inoculations expérimentales par des associations nématodes-Fusarium ou nématodes-Rhizoctonia.

Les blessures du cortex, de quelque origine qu'elles soient (nématodes, insectes, lésions mécaniques) sont en définitive indispensables à un développement rapide et important des nécroses causées par le *Rhizoctonia solani*.

BIBLIOGRAPHIE

- BLAKE (C. D.). — The histological changes in banana roots caused by *Radopholus similis* and *Helicotylenchus multicentus*. *Nematologia*, XII, p. 129-137 (1966).
- BRUN (J.) et LAVILLE (E.). — Étude de la mycoflore des racines du bananier 'Poyo'. Résultats d'observations effectuées en Côte d'Ivoire, aux Antilles et au Mali. *Fruits*, vol. 20, n° 3, p. 123-128 (1965).
- JOHNSON (F.), CURL (A.), BOND (H.), FRIBOURG (A.). — Methods for studying soil microflora — plant disease relationships. Burgess publishing company U. S. A. (1960).
- LANGERON (M.). — Précis de microscopie. Masson et C^{ie} (1949).
- LAVILLE (E.). — Étude de la mycoflore des racines du bananier 'Poyo'. Étude du système racinaire. Travaux antérieurs sur la mycoflore des racines de bananier. Résultats d'observations effectuées au Cameroun. *Fruits*, vol. 19, n° 8, p. 435-449, n° 9, p. 521-528 (1964).
- RIOPEL (J. L.). — Studies on development and wound responses of the roots of Musa 'Gros Michel' in relation to the Panama disease. These Harvard Univ. Cambridge, Massachusetts, U. S. A. (1960).
- ROGER (L.). — Phytopathologie des pays chauds. P. Lechevalier Ed. (1951).