

Éléments de caractérisation de *Cylindrocladium* sp. agent de nécroses racinaires du bananier en Martinique

J.M. RISÈDE
CIRAD-FLHOR
Laboratoire de phytopathologie
B.P. 153
97202 Fort-de-France
Martinique

Éléments de caractérisation de *Cylindrocladium* sp., agent de nécroses racinaires du bananier en Martinique.

RÉSUMÉ

Certaines caractéristiques morphologiques, l'écologie, les structures de conservation et la pathogénie de ce nouveau parasite fongique du système souterrain du bananier ont été étudiés. Les caractères morphologiques rapprochent ce *Cylindrocladium* de l'espèce *C. pteridis* WOLF. Sa recherche dans des sols fersiallitiques a permis de confirmer qu'il semble moins fréquent dans les sols à haute teneur en bases échangeables, où l'argile dominante est la montmorillonite. Par piégeage à l'aide de jeunes bananiers issus de culture *in vitro*, on a montré que le champignon se maintient dans le sol après des rotations culturales de durée inférieure à 2 ans. Des microsclérotos ont par ailleurs pu être observés tant dans les racines de bananiers artificiellement inoculés et cultivés en pots, que dans celles de bananiers provenant du champ. La production *in vitro*, l'extraction puis l'inoculation de microsclérotos à des jeunes plants de bananiers sains ont permis de montrer que ces propagules sont pathogènes.

Fruits, vol. 49, n°3, p. 167-178

MOTS CLÉS

Cylindrocladium, *Musa*, Martinique, champignon pathogène, racine, sol à montmorillonite, inoculation, culture *in vitro*.

Partial Characterization of *Cylindrocladium* sp., a Root Pathogen of Banana in Martinique.

ABSTRACT

Vegetative characteristics, survival structures, aspects of ecology and pathogenicity of this new root pathogen of banana were studied. The fungus produced tan to brownish colonies with irregular margins on 1% malt extract agar medium. Numerous chlamydospores arranged in chains and brown microsclerotia were yielded. Conidia were straight, cylindrical, hyaline, mostly with one septate. They measured 69-86 μm x 5.6-6.2 μm . The stipe vesicle was narrowly clavate. The fungus seemed to belong to *Cylindrocladium pteridis* WOLF. Investigations in fersiallitic soils confirmed that it is less common in heavy soils containing montmorillonite. The fungus could be trapped in the soil with *in vitro*-derived banana plantlets. This technique revealed that short crop rotations (< 2 years) do not eliminate *Cylindrocladium* sp. By another approach microsclerotia were detected in artificially inoculated banana roots, and in naturally infected roots from the field. Extraction and inoculation of laboratory grown microsclerotia demonstrated the pathogenicity of these structures.

KEYWORDS

Cylindrocladium, *Musa*, Martinique, pathogenic fungi, roots, montmorillonitic soils, inoculation methods, *in vitro* culture.

Elementos de caracterización de *Cylindrocladium* sp. causante de la necrosis de las raíces del banano en la Martinica.

RESUMEN

Ciertas características morfológicas, la ecología, las estructuras de conservación y la patogenicidad de este nuevo parásito del sistema radicular subterráneo del banano fueron estudiados. Las características morfológicas acercan a este *Cylindrocladium* a la especie *C. pteridis* WOLF. La investigación en suelos ferrolíticos ha permitido confirmar que es más frecuente en suelos con alta cantidad de bases intercambiables, donde la arcilla dominante es la montmorillonita. Mediante muestreos utilizando plantas de cultivo *in vitro*, se demostró que el hongo se mantiene en el suelo después de dos rotaciones del cultivo inferiores a dos años. Los microesclerotos pueden ser observados tanto en las raíces de banano de plantas *in vitro* inoculadas artificialmente y cultivadas en potes, como en raíces de plantas provenientes del campo. La producción *in vitro*, la extracción y la inoculación de microesclerotos en plantas jóvenes de banano sanas han permitido mostrar que sus propágulos son patógenos.

PALABRAS CLAVES

Cylindrocladium, *Musa*, Martinica, hongos patógenos, raíces, suelo montmorillonítico, inoculación, cultivo *in vitro*.

•••• introduction

Le genre *Cylindrocladium* regroupe environ 25 espèces (PEERALY, 1991) dont la plupart sont responsables de maladies aussi bien chez les plantes ornementales (TIMONIN et SELF, 1955 ; BAUDRY *et al.*, 1988), que chez les espèces forestières comme les pins et plus généralement les conifères (HODGES et MAY, 1972), ou chez les espèces fruitières (SOBERS et SEYMOUR, 1966 ; KRAUSZ et CALDWELL, 1987). Des organes aussi divers que les fleurs, feuilles, gousses, tiges (rhizomes compris) et racines peuvent être affectés. Certaines espèces de *Cylindrocladium* sont à l'origine de dégâts économiques considérables, à l'instar de *C. crotalariae* qui au début des années 70 ravagea les plantations d'arachide en Caroline du Nord, aux Etats-Unis (ROWE *et al.*, 1973).

La première mention d'un *Cylindrocladium* sur bananier remonte à 1970 (MESSIAEN, comm. pers.), mais ce n'est que vers 1985-86 que son implication dans le complexe parasitaire à l'origine de la dégradation de l'état sanitaire de l'appareil souterrain du bananier fut démontrée (LORIDAT, 1989). L'étude de la pathogénie de ce champignon fut alors entreprise et l'existence d'interactions avec le nématode endoparasite *Radopholus similis* fut mise en évidence (LORIDAT et GANRY, 1991). Ce champignon fut par ailleurs détecté par le CIRAD-FLHOR en Guadeloupe et en Côte-d'Ivoire, et par une autre équipe au Costa-Rica (SEMER *et al.*, 1987).

Cette étude fait le point sur les derniers résultats acquis concernant la morphologie, l'écologie et la pathogénie de ce *Cylindrocladium* sp.

•••• matériel et méthodes

caractéristiques morphologiques de *Cylindrocladium* sp.

Des échantillons racinaires prélevés en plein champ ont servi à l'isolement de

souches de *Cylindrocladium* sp. sur un milieu gélosé contenant 1 % d'extrait de malt et 100 ppm de chloramphénicol. Après avoir subi un clonage monospore, les souches ont été repiquées sur ce milieu. Les caractéristiques culturales et morphologiques suivantes ont été prises en compte :

- forme des colonies, couleur des thalles ;
- présence et caractéristiques des propagules autres que les conidies (chlamydo-spores, microsclérotés) ;
- conidies : forme, taille, nombre de septa ;
- forme et dimension de la vésicule terminale de la soie surmontant les conidio-phores.

Ces deux derniers caractères qui permettent de discriminer les espèces au sein du genre *Cylindrocladium* (PEERALY, 1991), ont été examinés sur 18 isolats issus de 3 types de sols :

- andosols développés sur cendres et ponces : isolats AD1 à AD6 ;
- sols peu évolués développés sur cendres et ponces : isolats PE1 à PE6 ;
- sols brun rouille à halloysite : isolats BH1 à BH6.

Une série de 40 mesures a été effectuée par isolat et par caractère.

écologie de *Cylindrocladium* sp.

L'étude des relations entre les types de sols et la pression parasitaire tellurique (LORIDAT, 1989) a montré que *Cylindrocladium* sp. est isolé couramment dans les ferrisols où l'argile dominante est la kaolinite, mais beaucoup moins fréquemment dans les vertisols où la montmorillonite domine. Il paraissait intéressant de rechercher la fréquence de ce champignon dans les sols fersiallitiques. Ces sols, surtout localisés dans le centre de la Martinique où le climat est contrasté et la saison sèche relativement bien marquée, sont caractérisés par :

- une fraction argileuse composée d'argiles de type 2/1 (ex : montmorillonite) et d'argiles de type 1/1 (ex : kaolinite) ;

- la conservation des cations alcalino-terreux au sein du profil, avec un complexe argilo-humique souvent saturé, ou presque ;
- la rubéfaction des oxydes de fer liés aux argiles.

En raison de leur fraction argileuse mixte, les sols fersiallitiques constituent donc un intermédiaire (pas au sens pédogénétique) entre les vertisols et les ferrisols. Les prospections ont porté sur 35 parcelles dont 17 situées en ferrisols, 11 en sols fersiallitiques et 7 en vertisols. Des fractions de sols ont été prélevées pour effectuer leur caractérisation chimique. Les échantillons de racines de bananiers ont servi aux isolements fongiques sur milieu malt-acide.

incidence des rotations culturales sur le potentiel infectieux des sols en *Cylindrocladium*

L'effet des rotations culturales sur le maintien de *Cylindrocladium* sp. dans les sols et par comparaison sur celui des nématodes endoparasites (dont notamment *R. similis*) a été recherché. L'étude a consisté en une prospection de terrain (sols développés sur cendres et ponces, sols brun rouille à halloysite) associée à un test en pots conduit en serre. Pour cela, 21 parcelles cultivées en bananes, ananas (*Ananas comosus*), ignames (*Dioscorea* spp.), chou de chine (*Colocasia esculenta*), canne à sucre (*Saccharum officinarum*), ou en "jachère enherbée spontanée" (JES) ont été prospectées. Toutes ces parcelles ont eu un précédent cultural "bananes" de plusieurs cycles (tableau 1).

L'ananas, cultivé après un cycle de bananes, étant la rotation la plus couramment pratiquée, cette culture a fortement été privilégiée au cours de la prospection. Sur chaque parcelle, un échantillon de sol a été prélevé dans l'horizon 0-25 cm puis ramené en serre. Chaque échantillon de sol a été réparti dans 10 pots de 2 l. Un plant de bananier issu de culture *in vitro* (sevré et acclimaté en 12 semaines) a alors été placé dans chacun de ces pots,

Tableau 1
Caractéristiques des parcelles échantillonnées.

| Code parcelle | Culture | Durée de la culture | Localisation de la parcelle |
|---------------|---------------|---------------------|-----------------------------|
| AN3 | Ananas | 3 mois | H° Edén (Ajoupa-Bouillon) |
| AN4 | Ananas | 4 mois | H° Chalvet (Basse-Pointe) |
| AN5-1 | Ananas | 5 mois | H° Leyritz (Basse-Pointe) |
| AN5-2 | Ananas | 5 mois | H° Bellevue (Macouba) |
| AN12-1 | Ananas | 12 mois | H° Macouba (Macouba) |
| AN12-2 | Ananas | 12 mois | H° Leyritz (Basse-Pointe) |
| AN12-3 | Ananas | 12 mois | H° Bellevue (Macouba) |
| AN15 | Ananas | 15 mois | H° Bellevue (Macouba) |
| AN18 | Ananas | 18 mois | H° Leyritz (Basse-Pointe) |
| AN24-1 | Ananas | 24 mois | H° Leyritz (Basse-Pointe) |
| AN24-2 | Ananas | 24 mois | H° Bellevue (Macouba) |
| PR -1 | JES** | - | H° Bellevue (Marigot) |
| PR -2 | JES | - | FLHOR (Saint-Joseph) |
| PR12 | JES | 12 mois | FLHOR (Saint-Joseph) |
| PR24 | JES | 24 mois | FLHOR (Saint-Joseph) |
| PR2 -64 | Prairie | 22 ans | S/C Jean-Joseph (Marigot) |
| CH3 | Chou de Chine | 3 mois | H° Edén (Ajoupa-Bouillon) |
| IG5 | Igname | 5 mois | H° Chalvet (Basse-Pointe) |
| CS9 | Canne à sucre | 9 mois | H° Bellevue (Macouba) |
| BN27 | Banane | 27 mois | H° Bellevue (Macouba) |
| BN36 | Banane | 36 mois | H° Leyritz (Basse-Pointe) |

* H° : habitation

** JES : jachère enherbée spontanée.

afin de piéger les parasites telluriques. Huit semaines après, le système racinaire de ces bananiers a été observé, puis soumis d'une part à une analyse fongique (20 à 25 isolements racinaires sur milieu malt-acide par sol) et d'autre part à une analyse nématologique par centrifugation-flottation (VILARDEBO et GUEROUT, 1974).

recherche de microscélérotés dans les tissus racinaires infectés

La recherche de microscélérotés dans le parenchyme cortical des racines de bananiers a été effectuée d'après la technique utilisée par ROWE *et al.* (1974). Ce sont principalement les fines racines secondaires et tertiaires déjà complètement noircies qui ont été examinées. Après avoir été décolorées dans une solution bouillante de KOH 1N pendant 20-25 min

(deux changements de la solution potassique au fur et à mesure de la décoloration), elles ont été rincées deux fois dans de l'eau distillée, puis observées au microscope. Ces racines provenaient, soit de champs naturellement infestés par *Cylindrocladium* sp., soit de plants issus de culture *in vitro* — variétés Grande-Naine et Yangambi km5 — contaminés artificiellement par une souche de ce champignon.

production *in vitro*, extraction et inoculation des microscélérotés

La technique de production-extraction utilisée s'inspire de celle décrite par ROWE *et al.* (1974). Les microscélérotés sont produits en 5 semaines, à 25 °C et à l'obscurité, en milieu liquide contenant 2 % d'extrait de malt. Les cultures sont ensuite broyées au mixer. La suspension obtenue est filtrée sur une colonne de différents tamis avec des mailles de 250, 125, 63 et 45 µm de diamètre. Les résidus récupérés dans les tamis de mailles de 125 et 63 µm sont mis en agitation pendant 5 min avec des billes de verre de 2 mm de diamètre. Cette opération permet de détacher des microscélérotés extraits des fragments de mycélium restants. L'ensemble est alors repassé sur la colonne de tamis et les microscélérotés des tamis 125 et 63 µm sont récupérés dans de l'eau. Les suspensions ainsi obtenues sont ajustées aux concentrations désirées après comptage au stéréomicroscope du nombre de microscélérotés contenus dans une aliquote. La pathogénie de ces microscélérotés a été étudiée dans un essai mené en pots de 2 l, en conditions contrôlées de température, lumière et hygrométrie. Les caractéristiques de cet essai ont été les suivantes :

- 5 doses d'inoculum ont été utilisées : 0, 0,12, 0,60, 3, et 10,5 microscélérotés par g de sol stérilisé à la vapeur (2 fois 30 min à 48 h d'intervalle) ;
- 8 plants de bananiers ont été testés (répétitions) pour chaque dose : les plants étaient issus de culture *in vitro* et ils avaient été sevrés et acclimatés en 9 semaines ;
- pour l'inoculation, la suspension calibrée de microscélérotés a été mélangée au

sol préalablement humidifié (approximativement à la capacité au champ), puis le plant acclimaté a été repiqué dans le sol ainsi contaminé ;

- le dépotage a eu lieu 4 semaines après l'inoculation ;
- les essais ont été menés selon un dispositif de randomisation totale ;
- les mesures et notations ont été effectuées après dépotage des bananiers. Le poids frais total des plants (PFT), le poids frais racinaire (PFR) et la surface de la dernière feuille déroulée (S) (assimilée à un losange : $S = [\text{longueur} \times \text{largeur}] \times 0,5$) ont été mesurés. L'indice d'intensité des nécroses racinaires (INR), fondé sur le pourcentage de surface nécrosée (SN) des racines primaires et secondaires, a été estimé à partir d'une échelle de notation donnée dans le tableau 2.

Tableau 2
Echelle de notation pour la mesure
des nécroses racinaires.

| | |
|---|---------------------|
| 0 | : pas de nécrose |
| 1 | : quelques nécroses |
| 2 | : SN < 20 % |
| 3 | : 20 < SN < 40 % |
| 4 | : 40 < SN < 60 % |
| 5 | : 60 < SN < 80 % |
| 6 | : SN > 80 % |

SN : pourcentage de surface nécrosée.

● ● ● ● résultats

caractéristiques culturales et morphologiques de *Cylindrocladium* sp.

Cylindrocladium sp. se cultive facilement sur milieux malt, PDA, V8, ou S. Sur milieu gélosé contenant 1 % d'extrait de malt, il produit des colonies à bord crénelé et dont le mycélium aérien est peu foisonnant. Les jeunes colonies ont un mycélium d'abord blanc mais qui, au bout de quelques jours, se pigmente en prenant une coloration brun-rouille. Des gouttelettes d'exsudation peuvent apparaître à la surface de la culture. Dès les premiers jours de croissance, on peut noter la présence de chlamydozoospores qui sont en fait des articles mycéliens de forme arrondie et à paroi épaissie, et à l'intérieur desquels on distingue de gros

globules. Ces chlamydo-spores sont produites en chaînettes, puis en amas (photo 1) déterminant ainsi des micro-sclérotés bruns plus ou moins bien individualisés qui parsèment le milieu de culture.

La sporulation conidienne est en général peu intense, se développant surtout autour de l'implant ayant servi à initier la culture. L'aptitude à la sporulation se perd d'ailleurs rapidement au bout de quelques repiquages. Cependant une production importante de conidies peut être obtenue soit en ensemençant les cultures avec un broyat de mycélium jeune et en les plaçant en lumière continue, soit en cultivant le champignon sur des disques foliaires de bananier préalablement autoclavés.

Les conidiophores prennent naissance soit directement sur le mycélium, soit latéralement sur une soie stérile ou "stipe". La vésicule terminale de ce stipe est étroitement clavate, mesurant en moyenne 4,9 à 7,4 μm de diamètre (photo 2). Elle est quelquefois recouverte par une sorte de pellicule (reste d'exsudat ?), ce qui peut conduire à une méprise quant à sa vraie forme. Les conidiophores se ramifient de façon di ou trichotomique déterminant ainsi des branches d'ordre primaire, secondaire ou tertiaire portant chacune 2 à 4 phialides de forme arquée qui mesurent 10 à 22 μm de long pour 3,7 à 6,2 μm de large (photo 3).

Les conidies sont émises par bourgeonnement, à l'apex des phialides. Elles sont cylindriques, en forme de bâtonnets, arrondies aux extrémités, hyalines, et ne comportent qu'une seule cloison, très rarement deux ou trois (photo 4). Elles sont généralement maintenues en "paquets" par une sorte de mucilage facilement soluble dans l'eau. Les mesures effectuées sur les conidies des 18 isolats étudiés révèlent que la longueur moyenne varie de 69 à 86 μm pour une largeur de 5,6 à 6,2 μm . Les tableaux 3 et 4 résument les tests de comparaison de moyennes pour les caractères "longueur" et "largeur" des conidies. Les résultats traduisent l'existence de différents groupes de taille qui se chevauchent pour la plupart et qui ne paraissent pas liés au sol d'origine. La variation de ces 2 caractères est presque continue d'un isolat à l'autre.

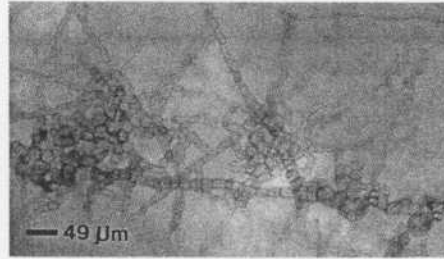


Photo 1
Microsclérote de
Cylindrocladium sp.
en cours de formation
(agrégat de chlamydo-spores).

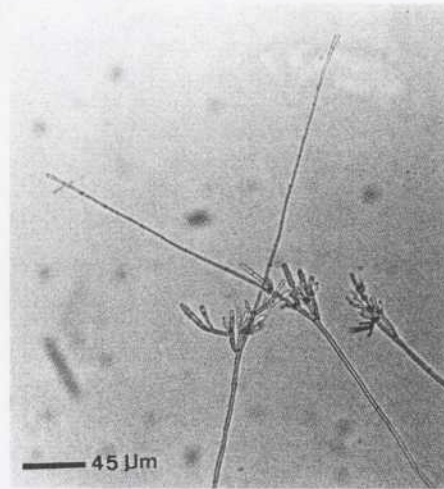


Photo 2
Conidiophore et stipe
de *Cylindrocladium* sp.

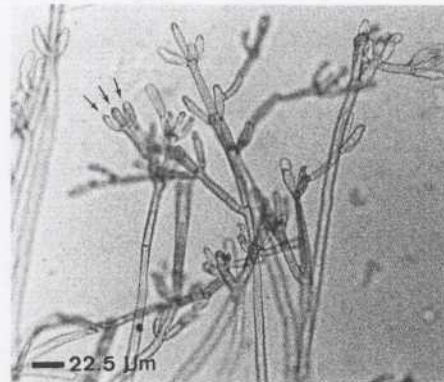


Photo 3
Phialides de *Cylindrocladium* sp.

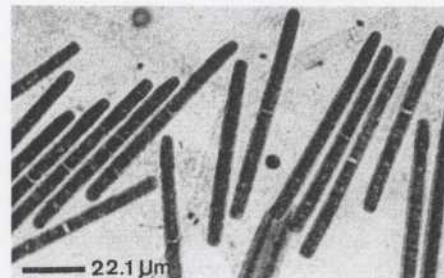


Photo 4
Conidies de *Cylindrocladium* sp.

Tableau 3
Test de comparaison de moyennes (Newman et Keuls) pour la longueur des conidies de 18 isolats de *Cylindrocladium* sp.

| N° isolat | Libellés | Moyennes | Groupes homogènes |
|-----------|----------|----------|-------------------|
| 18 | PE6 | 86.08 | a |
| 11 | BH5 | 85.50 | a |
| 14 | PE2 | 83.96 | a |
| 9 | BH3 | 80.39 | b |
| 1 | AD1 | 9.40 | b c |
| 8 | BH2 | 78.72 | b c d |
| 12 | BH6 | 76.72 | b c d e |
| 7 | BH1 | 76.04 | c d e |
| 17 | PE5 | 75.74 | c d e f |
| 4 | AD4 | 75.53 | c d e f |
| 16 | PE4 | 75.12 | c d e f |
| 2 | AD2 | 74.49 | d e f |
| 6 | AD6 | 74.44 | d e f |
| 3 | AD3 | 74.44 | d e f |
| 5 | AD5 | 74.13 | d e f |
| 10 | BH4 | 72.20 | e f g |
| 12 | PE1 | 71.06 | f g |
| 15 | PE3 | 69.27 | g |

Tableau 4
Test de comparaison de moyennes (Newman et Keuls) pour la largeur des conidies de 18 isolats de *Cylindrocladium* sp.

| N° isolat | Libellés | Moyennes | Groupes homogènes |
|-----------|----------|----------|-------------------|
| 18 | PE6 | 6.23 | a |
| 14 | PE2 | 6.12 | a b |
| 11 | BH5 | 6.09 | a b |
| 1 | AD1 | 6.06 | a b c |
| 8 | BH2 | 5.97 | a b c d |
| 13 | PE1 | 5.93 | a b c d |
| 16 | PE4 | 5.89 | b c d |
| 12 | BH6 | 5.84 | b c d |
| 6 | AD6 | 5.76 | c d |
| 15 | PE3 | 5.74 | c d |
| 4 | AD4 | 5.73 | c d |
| 5 | AD5 | 5.73 | c d |
| 17 | PE5 | 5.73 | c d |
| 7 | BH1 | 5.71 | d |
| 10 | BH4 | 5.68 | d |
| 9 | BH3 | 5.68 | d |
| 3 | AD3 | 5.65 | d |
| 2 | AD2 | 5.62 | d |

Tableau 3 et 4
Les isolats sont issus de 3 types de sols différents :
- AD1 à AD6 : andosols développés sur cendres et ponces ;
- BH1 à BH6 : sols brun rouille à halloysite ;
- PE1 à PE6 : sols peu évolués développés sur cendres et ponces.

Les résultats enregistrés pour ces descripteurs morphologiques permettent, d'après la récente classification du genre effectuée par PEERALLY (1991), de rapprocher ce *Cylindrocladium* de l'espèce *C. pteridis* WOLF.

recherche de *Cylindrocladium* sp. en sols fersiallitiques

L'analyse de la figure 1 révèle que *Cylindrocladium* sp. est présent dans les racines des bananiers des sols fersiallitiques, mais sa fréquence (26 %) est intermédiaire entre celle des vertisols (7 %) et celle des ferrisols (45 %). La figure 2 illustre la grande variabilité des fréquences d'isolement racinaire de ce champignon dans les sols ayant une teneur en bases échangeables inférieure à 20 meq/100 g (ferrisols et certains sols fersiallitiques), et une variabilité nettement plus réduite au delà des 35 meq/100 g (cas des vertisols et de certains sols fersiallitiques). Dans ce deuxième cas de figure, les teneurs en bases échangeables se situent entre des valeurs moyennes et élevées. Elles sont à corrélérer avec la présence croissante en montmorillonite (minéral argileux à haute capacité d'échange cationique). Les fréquences d'isolement de *Cylindrocladium* restent alors, en moyenne, nettement plus faibles que sur le reste de l'échantillonnage.

Ces résultats confirment donc que la présence de *Cylindrocladium* sp. semble plus faible dans les sols à haute teneur en bases échangeables où la fraction argileuse dominante est la montmorillonite. L'origine de ce phénomène reste cependant à préciser. Il peut être lié à la présence de montmorillonite dont l'effet adverse sur les parasitismes microbiens d'origine bactérienne ou fongique est signalé par différents auteurs pour d'autres complexes sol/plante/parasite (SANTORO *et al.*, 1967 ; MARSHALL, 1976 ; STOTZKY, 1986). Cela peut correspondre à l'existence d'équilibres microbiens particuliers pouvant exister dans de tels sols (STOTZKY, 1986). Enfin, il peut s'agir de contraintes d'ordre chimique.

maintien d'un potentiel infectieux en *Cylindrocladium* sp. dans les sols

La figure 3 indique que *Cylindrocladium* sp. est isolé après toutes les rotations testées à l'exception des jachères enherbées spontanées (JES). Ces derniers cas doi-

vent cependant être interprétés avec prudence car le non isolement du champignon n'implique pas de façon absolue son absence dans le sol testé. Il conviendrait d'étudier ces cas JES sur un plus grand nombre de parcelles, pour pouvoir affirmer que ce type de rotation est défavorable à ce parasite. En revanche, le fait que le champignon ait pu être isolé après les autres rotations suggère qu'il a pu se maintenir dans les sols sous une forme ou une autre, et ce, en l'absence de culture bananière. Il faut noter que ce résultat illustre, de manière indirecte, la nécessité de connaître la gamme d'hôtes de *Cylindrocladium* sp. Quant aux différences observées entre les fréquences d'isolement racinaires, elles ne témoignent très probablement que de la variabilité des potentiels infectieux en *Cylindrocladium* sp. des parcelles inventoriées qui n'ont pas le même passé cultural.

La figure 4 montre que les rotations testées sont défavorables au *Radopholus similis*, nématode endoparasite le plus agressif sur bananier en Martinique. Excepté le cas de la culture de la banane, cela est l'inverse de ce qui se passe pour le *Cylindrocladium* sp. Le cas de l'ananas, étudié sur des durées variables, est bien explicite. En ce qui concerne les autres nématodes endoparasites, les *Meloidogyne* notamment se maintiennent assez bien après une culture d'ananas ou après des JES. Ces nématodes parasitent en effet de très nombreuses espèces végétales en induisant des dérèglements de balances hormonales à l'origine de phénomènes d'hyperplasie et d'hypertrophie cellulaires matérialisés sur les racines, par des galles et des balais de sorcière.

détection de microscélérotés dans les tissus racinaires infectés

L'observation microscopique de racines de bananiers Yangambi et Grande-Naine, artificiellement inoculées puis éclaircies au KOH, a permis de déceler la présence de propagules de *Cylindrocladium* sp. Ces propagules sont des microscélérotés

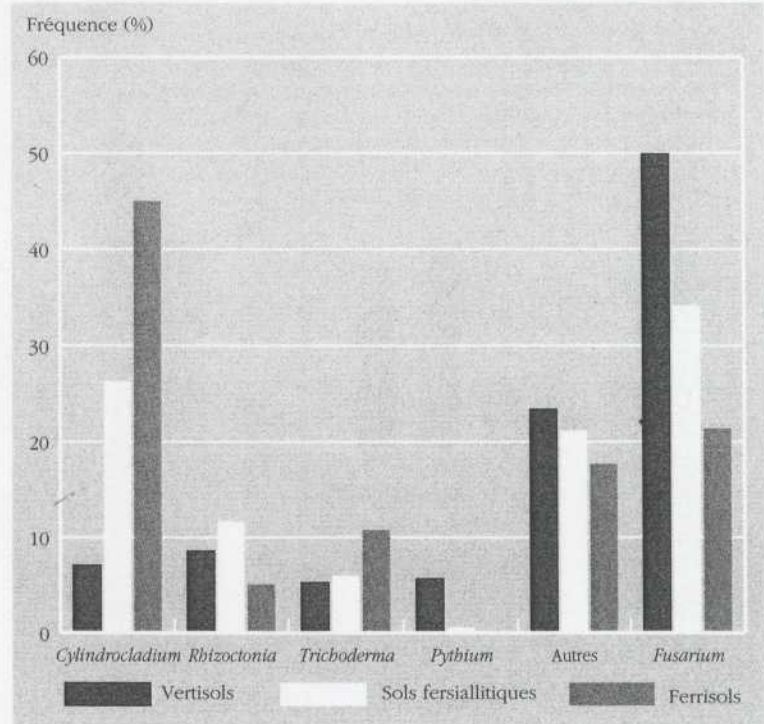
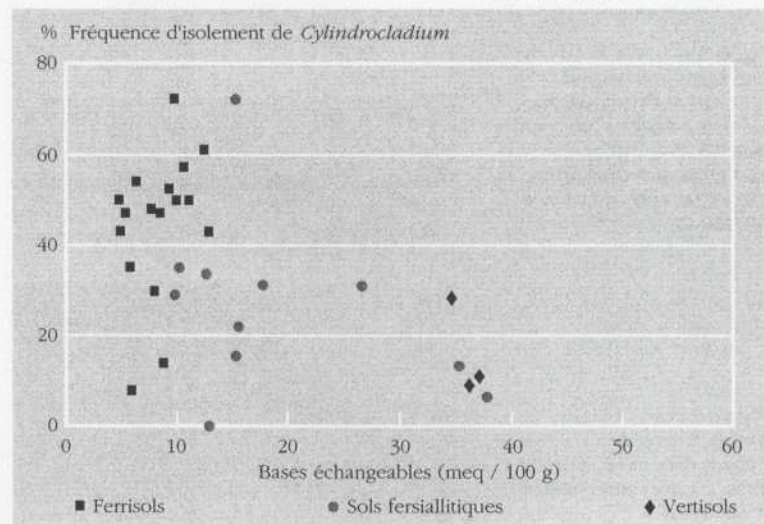


Figure 1
Fréquence d'isolement des principaux champignons associés aux nécroses racinaires du bananier, en fonction des types de sol.

de taille variable (photos 5 et 6). Ces microscélérotés sont toujours localisés dans le parenchyme cortical des racines, et jamais dans le cylindre central. Ils ont également été observés, mais de façon moins fréquente, dans les racines de plants de Grande-Naine prélevées en plein champ et donc "naturellement" infectées.

Figure 2
Fréquence d'isolement de *Cylindrocladium* sp. et teneurs en bases échangeables des sols inventoriés.



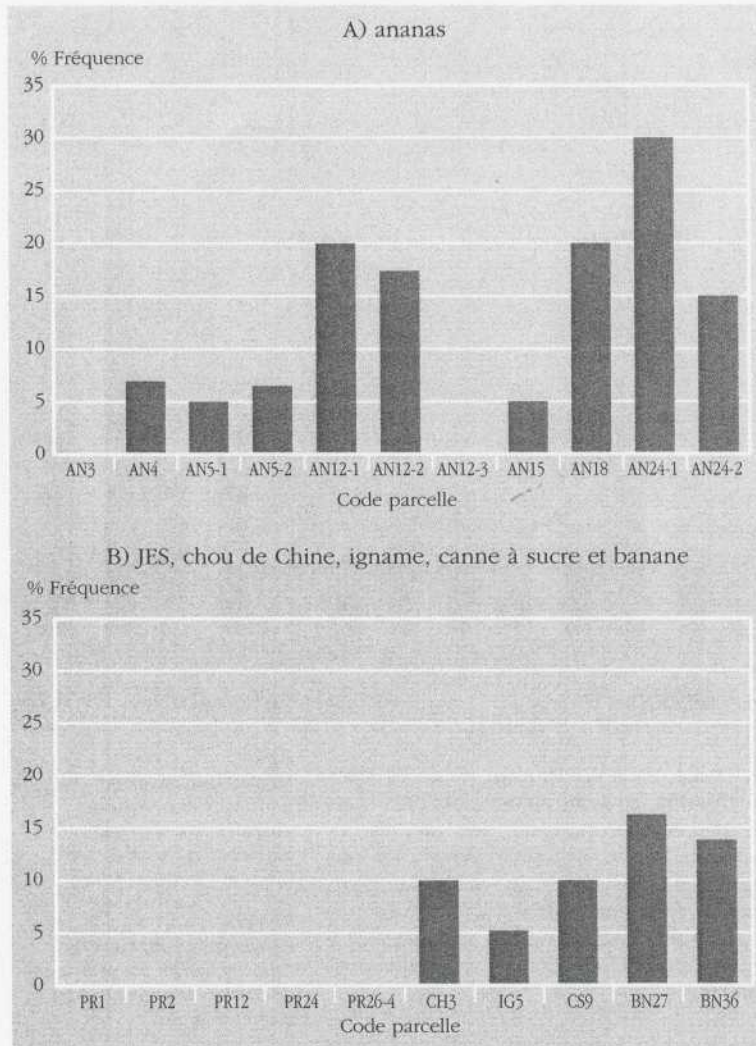
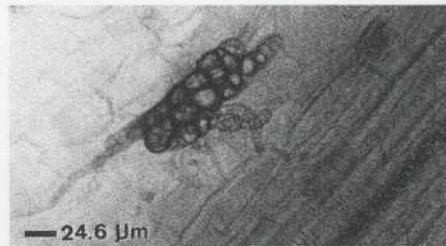
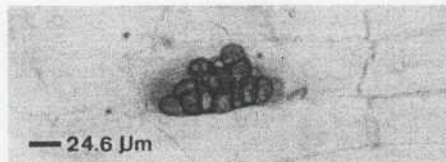


Figure 3
Fréquence d'isolement racinaire de *Cylindrocladium sp.* après diverses rotations culturales. La signification des codes parcelle est donnée dans le tableau 1.

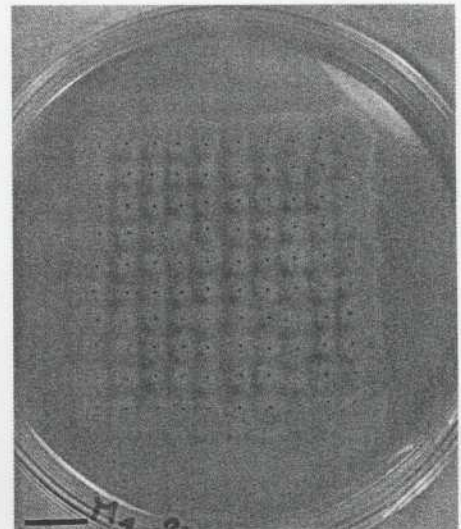


Photos 5 et 6
Microscloérotos de Cylindrocladium sp. enfouis dans le parenchyme cortical d'une racine.

pathogénie des microscloérotos

Avant inoculation, la viabilité des microscloérotos produits *in vitro* a été vérifiée par étalement d'une aliquote de suspension de microscloérotos ayant servi aux inoculations sur milieu gélosé nutritif. Chaque microscloérote (ms) a germé en donnant une colonie déjà visible à l'oeil nu en moins de 48 h (photo 7).

L'analyse de variance, puis le test de comparaison de moyennes pour les variables PFT et PFR (tableau 5) révèlent que les plants inoculés avec les doses les plus élevées de microscloérotos (3,4 et 10,5 ms/g de sol) ont, 4 semaines après la contamination, un poids frais total et un poids frais racinaire significativement plus faibles que ceux des plants témoins non inoculés. Pour la variable "Surface de la dernière feuille déroulée" (S), le phénomène est cependant moins marqué. En effet, seule la surface foliaire des plants inoculés avec la dose la plus élevée est significativement réduite par rapport à celle des plants des autres traitements tous confondus (tableau 5). L'observation du système racinaire des plants inoculés a révélé la présence de nécroses à différents stades et présentant une intensité



Photos 7
Vérification de la viabilité de microscloérotos de *Cylindrocladium sp.* produits en laboratoire ; chaque microscloérote germe en donnant une colonie, en moins de 48 h.

variable selon la dose d'inoculum initiale. Ainsi l'analyse de l'importance de ces dégâts racinaires (tableau 5) met en évidence le fait qu'une liaison semble exister entre dose d'inoculum et intensité des nécroses racinaires : plus la densité de microsclérotés est forte et plus l'intensité des nécroses est élevée. Des isollements effectués sur milieu gélosé à 2 % d'extrait de malt, amendé de 100 ppm de chloramphénicol, à partir de 50 nécroses prélevées dans chacun des 2 traitements comportant les doses les plus élevées (3 et 10,5 ms/g de sol), ont révélé des fréquences de réisolements racinaires respectives de 50 et 65 %.

discussion et conclusion

Si l'on se réfère à la nouvelle taxonomie du genre *Cylindrocladium* proposée par PEERALLY (1991), les caractéristiques morphologiques de l'espèce s'attaquant au bananier en Martinique paraissent proches de celles de *Cylindrocladium pteridis* WOLF. Cette espèce, dont SOBERS (1968) a clairement démontré la synonymie avec *C. macrosporum* SHERB., est capable de causer des dégâts sur eucalyptus, palmier, fougère, pomme de terre et arachide. Aucune référence n'est faite au bananier. La seule description phénotypique connue d'un *Cylindrocladium* parasite du bananier est celle de SEMER *et al.* (1987). Ces auteurs indiquent que l'espèce qu'ils ont étudiée au Costa-Rica possède une vésicule terminale de forme sphérique, et des conidies plus grandes que celles de toute autre espèce de *Cylindrocladium*. De plus, les profils protéiques de cette espèce diffèrent de ceux des autres espèces à vésicule terminale sphérique. L'équipe de SEMER a donc considéré qu'il s'agissait d'une nouvelle espèce qu'elle a appelée *Cylindrocladium musae* sp. nov. En tout état de cause, *C. musae* sp. nov. semble bien différent de *C. pteridis*, et on peut supposer qu'il existe donc au moins deux espèces de *Cylindrocladium* parasites du bananier : celle présente au Costa-Rica et celle observée en Martinique.

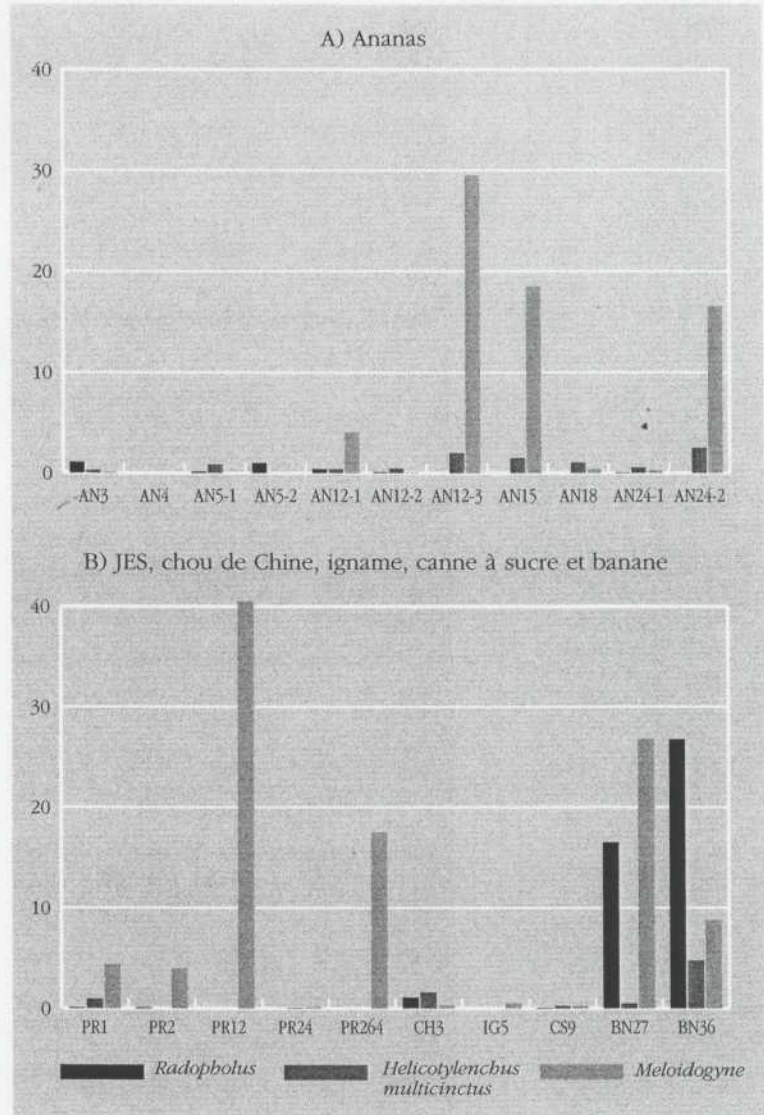


Figure 4
Dénombrement des nématodes endoparasites du bananier après différentes rotations culturales. La signification des codes parcelle est donnée dans le tableau 1.

En Martinique, la distribution de *Cylindrocladium* sp. semble être liée au type de sol. Ainsi, les faibles fréquences d'isolement de ce champignon enregistrées dans certains sols argileux paraissent liées aux fortes teneurs en bases échangeables, et par conséquent aux fortes teneurs en montmorillonite. Il faudra donc chercher à acquérir une meilleure compréhension de l'incidence des facteurs du milieu (facteurs physiques, physico-chimiques, hydriques, minéralogiques ou biotiques) sur la répartition de ce champignon afin d'exploiter ce phéno-

Tableau 5

Résultats des analyses de variances effectuées pour chacune des variables mesurées pour tester le facteur "dose d'inoculum".

• Variable PFT (poids frais total)

Tableau d'analyse de la variance

| | S.C.E. | ddl | C. moy. | F | Proba | E.T. |
|------------------|----------|-----|---------|------|--------|-------|
| Var. totale | 21100,99 | 39 | 541,05 | | | |
| Var. factorielle | 6388,79 | 4 | 1597,20 | 3,80 | 0,0115 | |
| Var. résiduelle | 14712,21 | 35 | 420,35 | | | 20,50 |

Test de comparaison de moyennes (Newman-Keuls au seuil de 5 %)

| | | | | | | |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--|
| Doses (ms)* | 0 | 0,12 | 0,60 | 3 | 10,5 | |
| Moy. PFT | 137,66 | 127,57 | 117,92 | 106,83 | 103,91 | |
| Groupes | a | a | a | b | b | |
| | | b | b | b | b | |

• Variable PFR (poids frais racinaire)

Tableau d'analyse de la variance

| | S.C.E. | ddl | C. moy. | F | Proba | E.T. |
|------------------|---------|-----|---------|------|--------|------|
| Var. totale | 3311,16 | 39 | 84,90 | | | |
| Var. factorielle | 1069,26 | 4 | 267,31 | 4,17 | 0,0073 | |
| Var. résiduelle | 2241,90 | 35 | 64,05 | | | 8,00 |

Test de comparaison de moyennes (Newman-Keuls au seuil de 5 %)

| | | | | | | |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| Doses (ms)* | 0 | 0,12 | 0,60 | 3 | 10,5 | |
| Moy. PFR | 43,60 | 39,74 | 36,53 | 31,01 | 29,92 | |
| Groupes | a | a | a | b | b | |
| | | b | b | b | b | |

• Variable S (Surface approximative de la dernière feuille émise)

Tableau d'analyse de la variance

| | S.C.E. | ddl | C. moy. | F | Proba | E.T. |
|------------------|----------|-----|---------|------|--------|-------|
| Var. totale | 70335,09 | 39 | 1803,46 | | | |
| Var. factorielle | 24365,47 | 4 | 6091,37 | 4,64 | 0,0042 | |
| Var. résiduelle | 45969,62 | 35 | 1313,42 | | | 36,24 |

Test de comparaison de moyennes (Newman-Keuls au seuil de 5 %)

| | | | | | | |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--|
| Doses (ms)* | 0 | 0,12 | 0,60 | 3 | 10,5 | |
| Moy. S | 229,59 | 221,95 | 207,28 | 200,86 | 158,74 | |
| Groupes | a | a | a | a | b | |
| | | | | | | |

• Variable INR (intensité des nécroses racinaires)

Tableau d'analyse de la variance

| | S.C.E. | ddl | C. moy. | F | Proba | E.T. |
|------------------|--------|-----|---------|-------|-------|------|
| Var. totale | 64,28 | 39 | 1,66 | | | |
| Var. factorielle | 55,40 | 4 | 13,85 | 51,71 | 0 | |
| Var. résiduelle | 9,38 | 35 | 0,27 | | | 0,52 |

Test de comparaison de moyennes (Newman-Keuls au seuil de 5 %)

| | | | | | | |
|-------------|------|------|------|------|---|--|
| Doses (ms)* | 10,5 | 3 | 0,60 | 0,12 | 0 | |
| Moy. INR | 3,38 | 1,75 | 1,00 | 0,50 | 0 | |
| Groupes | a | b | c | c | d | |
| | | | | d | d | |

* ms : microscélérotés.

mène, dans le cadre de l'élaboration de techniques de lutte raisonnée.

Comme toutes les espèces du genre *Cylindrocladium*, celle qui a été étudiée dans ce travail possède au moins deux types de propagules : des conidies et des microsclérotés. Une attention particulière doit être accordée au rôle épidémiologique de ces microsclérotés. En effet, les travaux de différents auteurs (THIES et PATTON, 1970 ; HWANG et KO, 1976) mettent en évidence que chez le genre *Cylindrocladium*, les microsclérotés constituent la principale structure de survie dans les sols. Leur morphologie semble d'ailleurs être en rapport avec leur aptitude à la conservation dans les sols : alors que les conidies sont bicellulaires et ont une paroi mince, les microsclérotés sont constitués de plusieurs cellules (les chlamydospores) à paroi épaisse. HWANG et KO (1976), étudiant la survie dans le sol de *Calonectria crotalariae* — forme parfaite de *Cylindrocladium crotalariae* —, ont montré que les populations de conidies et d'ascospores diminuent respectivement de 87 et 46 % au bout de 8 mois, alors que, dans le même temps, les populations de microsclérotés ne décroissent que de 20 %.

Dans certains cas, même après plusieurs années d'absence de l'hôte du champignon, ces microsclérotés restent viables dans le sol (THIES et PATTON, 1970). Il n'est donc pas surprenant que des rotations culturales d'une durée inférieure à 2 ans

soient insuffisantes pour l'élimination du *Cylindrocladium* étudié en Martinique. Par ailleurs, le fait d'avoir pu piéger ce *Cylindrocladium* à l'aide de vitroplants de bananiers montre bien que la forme de conservation du champignon, *a priori* les microsclérotés, constitue un véritable potentiel infectieux. Ce résultat est confirmé par l'expérience de pathogénie menée avec les microsclérotés produits *in vitro*. Ceux-ci se révèlent être de toute évidence des propagules tout à fait capables de prendre une part active à l'infection et au processus de nécrose du système racinaire du bananier.

Enfin, il faut noter que les microsclérotés présents dans les tissus racinaires du bananier infectés par le champignon ont également leur importance épidémiologique. Ils peuvent en effet, comme c'est le cas pour ceux de *C. crotalariae*, être relâchés dans le sol au fur et à mesure du pourrissement et de la dégradation des tissus racinaires (Rowe *et al.* 1974), participant ainsi de fait au maintien, voire à l'augmentation, du potentiel d'inoculum du sol.

Ces éléments relatifs au cycle et au potentiel infectieux dû à *Cylindrocladium* sp. soulignent bien que ce champignon est un parasite dont on ne pourra espérer limiter les effets néfastes, que par une bonne compréhension des mécanismes sous-tendant ses interactions avec le sol, le bananier et les techniques culturales. ●

références

BAUDRY A., BERTAUX F., BURLAT S., BELLIARD J.L., 1988.

Le *Spathiphyllum* malade de la cylindrocladiose. *Phytoma*, n° 403, 46-48.

HODGES C.S., MAY L.C., 1972.

A root disease of pine, *Araucaria* and *Eucalyptus* in Brazil caused by a new species of *Cylindrocladium*. *Phytopathology*, 62, 898-901.

KRAUSZ J.P., CALDWELL J.D., 1987.

Cylindrocladium root rot of kiwifruit. *Plant Disease*, 71, 374-375.

LORIDAT P., 1989.

Etude de la microflore associée aux nécroses de l'appareil souterrain du bananier. Mise en évidence du pouvoir pathogène du genre *Cylindrocladium*. *Fruits*, 44 (11), 587-598.

- LORIDAT P., GANRY J., 1991.
 Mise en évidence d'une interaction nématode-champignon (*Radopholus similis* - *Cylindrocladium* sp.) comme composante du parasitisme tellurique des bananiers en culture intensive aux Antilles. Proceedings of 9th ACORBAT Meeting, 24-29 sept. 1989 Merida (Venezuela), 24-29 septembre, 675 p. Maracaibo (Venezuela) : B. Añez, C. Nava, L. Sosa, R. Jaramillo (eds), 283-305.
- MARSHALL K.C., 1976.
Interfaces in microbial ecology. Ed. Harvard University Press, 152 p.
- PEERALY A., 1991.
 The classification and phytopathology of *Cylindrocladium* species. *Mycotaxon*, XL, 323-366.
- ROWE R.C., BEUTE M.K., WELLS J.C., 1973.
Cylindrocladium Black Rot of peanuts in North Carolina in 1972. *Plant Disease Reporter*, 57, 387-389.
- ROWE R.C., JOHNSTON S.A., BEUTE M.K., 1974.
 Formation and dispersal of *Cylindrocladium crotalariae* microsclerotia in infected peanuts roots. *Phytopathology*, 64, 1294-1297.
- SANTORO T., STOTZKY G., REM L.T., 1967.
 The electrical sensing zone particle analyzer for measuring germination of fungal spores in presence of other particles. *Appl. Microbiol.*, 15, 935-939.
- SEMER C.R., MITCHELL D.J., MITCHELL M.E., MARTIN F.R., ALFENAS A.C., 1987.
 Isolation, identification and chemical control of *Cylindrocladium musae* sp. nov. associated with toppling disease of banana. Abstracts of Presentations of the Annual Meeting of American Phytopathological Society, n° 334. *Phytopathology*, 77 (12), 1729.
- SOBERS E.K., SEYMOUR C.P., 1966.
Cylindrocladium floridanum sp. nov. associated with decline of peach trees in Florida. *Phytopathology*, 57, 389-393.
- STOTZKY G., 1986.
Interactions of minerals with natural organics and microbes. SSSA Special publication, n° 17. Washington DC (USA): Huang et Schnitzer (eds.), 305-428.
- TIMONIN N.I., SELF R.L., 1955.
Cylindrocladium scoparium MORGAN on Azaleas and other ornamentals. *Plant Disease Reporter*, 39, 860-863.
- VILARDEBO A., GUEROUT R., 1974.
 Techniques d'extraction de *Radopholus similis* à partir des racines de bananier. In: *Méthodes d'efficacité pratique de nématocides étudiés sur Radopholus similis COBB en bananeraie*. Soc. Fr. Phyt. Phytoph., 49, Annexe 1, 21-23.

