



HAL
open science

Pénétration de *Rosellinia necatrix* (Hart.) Berl. dans les racines du pommier en conditions de contamination artificielle

Denis D. Tourvieille de Labrouhe

► **To cite this version:**

Denis D. Tourvieille de Labrouhe. Pénétration de *Rosellinia necatrix* (Hart.) Berl. dans les racines du pommier en conditions de contamination artificielle. *Agronomie*, 1982, 2 (6), pp.553-560. hal-00884417

HAL Id: hal-00884417

<https://hal.science/hal-00884417>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Pénétration de *Rosellinia necatrix* (Hart.) Berl. dans les racines du pommier en conditions de contamination artificielle

Denis TOURVIEILLE de LABROUHE

I.N.R.A., Station de Pathologie végétale, 12, avenue du Brézet, F 63039 Clermont-Ferrand Cedex.

RÉSUMÉ

Rosellinia necatrix,
Dematophora necatrix,
Pourridié laineux,
Pommier,
Malus pumila,
Contamination arti-
ficielle,
Phases d'infection.

Rosellinia necatrix (Hart.) Berl. est un champignon ascomycète, agent du « pourridié laineux » de certaines plantes ornementales et cultures fruitières.

Cet article est consacré à une description de la pénétration de *R. necatrix* dans les racines du pommier. Les inoculations de jeunes plants cultivés en axénie, en pots et en caissons à brouillard, ont montré que l'infection se déroule en quatre phases faisant intervenir de la part du champignon pathogène des organes agrégés bien différents :

- prolifération externe sous la forme de toiles mycéliennes ou de cordons formés d'articles indifférenciés ;
- formation d'un « sclérote de pénétration » constitué d'un cortex mélanisé à structure pseudoparenchymateuse et d'une medulla blanche à structure prosenchymateuse ;
- pénétration dans les tissus de l'hôte effectuée par le mycélium de la medulla ;
- prolifération interne sous la forme de cordons *subcorticalis* à structure prosenchymateuse.

La discussion porte sur la plasticité morphogénétique du champignon et sur les déterminants du pouvoir pathogène.

SUMMARY

Rosellinia necatrix,
Dematophora necatrix,
White root rot,
Apple tree,
Malus pumila,
Artificial contamination,
Phases of infection.

Penetration of apple roots by Rosellinia necatrix (Hart.) Berl. following artificial inoculation

Rosellinia necatrix (Hart.) Berl. is an ascomycete causing white root rot of certain ornamental species and fruit crops.

This article describes the penetration of apple roots by *R. necatrix*. Inoculation of young plants grown under axenic conditions in pots in a mist chamber showed that infection occurs in four phases, each involving different forms of aggregate organs of the pathogen :

- 1) external proliferation in the form of a mycelial thallus or strings made up of undifferentiated cells ;
- 2) formation of a « penetration sclerotium », consisting of a melanized cortex of pseudoparenchyma and a white medulla of prosenchyma ;
- 3) penetration of host tissues by mycelium developing from the medulla ;
- 4) internal proliferation in the form of subcortical strings of prosenchyma.

The morphogenetic plasticity of the fungus and its pathogenicity factors are discussed.

I. INTRODUCTION

Dans le monde, les champignons responsables de pourridié sont nombreux et appartiennent à des groupes très éloignés du point de vue taxonomique. Cependant, en France, seules deux espèces jouent un rôle important sur vigne, arbres fruitiers et cultures florales (GUILLAUMIN *et al.*, 1982) :

— l'Armillaire : *Armillaria mellea* (Vahl) Karst. (espèce collective), basidiomycète responsable du « pourridié agaric » ;

— le Rosellinia : *Rosellinia necatrix* (Hart.) Berl., ascomycète provoquant le « pourridié laineux » ou « pourridié

blanc », ainsi appelé parce que le champignon développe sur la plante hôte un mycélium blanc et floconneux.

Les mécanismes de pénétration de l'armillaire, d'abord décrits par THOMAS (1934), ont fait l'objet d'une revue récente de RYKOWSKI (1978). Pour le rosellinia, l'étude bibliographique montre qu'il s'agit d'un parasite dont le comportement demeure très mal connu, en particulier vis-à-vis de ses hôtes les plus communs dans notre pays (pommier, cerisier, jasmin, ...). SAKURAI (1952), sur un hôte ligneux, le mûrier, a mis en évidence deux mécanismes de pénétration : sur les jeunes racines sans tissus secondaires, *R. necatrix* pénètre à travers l'écorce par dislocation des tissus ; sur les racines plus âgées qui ont formé des tissus secondaires, il envahit les tissus internes par l'intermédiaire

des lenticelles dont il provoque l'éclatement. SAKURAI note que les racines de mûrier attaquées par le *R. necatrix* forment des péridermes de blessure, mais ceux-ci sont facilement traversés par les cordons d'hyphes.

Sur un hôte charnu, le narcisse, MANTELL & WHEELER (1973) observent la formation d'un « coussin d'infection » comparable à celui d'*Helicobasidium purpureum* Pat. décrit par HERING (1962). La constitution de ce « coussin d'infection » est suivie par la pénétration de masses d'hyphes qui désorganisent le phelloderme sans macération.

Cet article est consacré à la description de l'infection par *R. necatrix* du pommier, espèce la plus fréquemment et la plus gravement attaquée en France par le pourridié laineux. (GUILLAUMIN *et al.*, 1982). Les infections décrites ont été provoquées par contamination artificielle ; on a tout particulièrement étudié le rôle joué dans le processus infectieux par les divers types d'organes agrégés initiés par le champignon.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Choix du matériel biologique

1. La plante hôte : on a utilisé des jeunes marcottes de 4 portes-greffes de pommier ; M 7, M 9, M 26 et MM 106. Leurs caractéristiques culturales figurent dans le tableau 1. On a également utilisé, pour les cultures *in vitro*, de jeunes plants de pommier obtenus à partir de pépins.

2. Le pathogène : on a travaillé avec 2 isolats : Rn 16 et Rn 17 qui, par les dégâts qu'ils avaient provoqués en verger de pommiers et de cerisiers respectivement, semblaient montrer un pouvoir pathogène élevé.

B. Méthodes de culture et de conservation des isolats

1. Conservation des isolats

Les isolats sont conservés en mycothèque : des fragments gélosés, prélevés sur des cultures en boîte de Petri (milieu malt 1 p. 100) sont plongés dans de petits piluliers contenant de l'eau stérile, qui sont placés en chambre froide à 4 °C. Cette technique permet de maintenir les souches de *Rosellinia* en vie durant 12 mois.

2. Milieu d'entretien

Les cultures sont réalisées sur le milieu malt 1 p. 100 gélosé. Le milieu est autoclavé durant 20 mn à 120 °C, puis coulé dans des boîtes de Petri de 9 cm de diamètre à raison de 20 ml par boîte. Les cultures sont incubées à 23 ± 0,5 °C à l'obscurité. Les fragments gélosés, conservés en mycothèque, sont déposés à la surface du milieu, puis les isolats sont repiqués tous les mois.

3. Culture sur substrat ligneux

Des baguettes de noisetier fraîchement cueillies et calibrées (diamètre 12 à 14 mm, longueur 50 mm) sont empilées dans un récipient en verre de 1 litre. Elles sont tout d'abord autoclavées dans l'eau, durant 30 mn à 120 °C, puis stérilisées durant 20 mn à 120 °C en présence de 250 ml de milieu à la tomate (GUILLAUMIN & LEPRINCE, 1979). Elles sont ensuite ensemencées avec un fragment de culture en boîte de Petri, puis incubées à 22 °C ± 2° durant 60 jours.

C. Méthodes de culture de la plante hôte

1. Sur milieu gélosé aseptique

Les pépins de pomme sont désinfectés durant 20 mn dans de l'eau de javel diluée (12° chlorés). Après décortication, ils sont mis à germer sur buvard humide. Lorsque la graine a émis une racine de plusieurs millimètres, elle est repiquée dans un erlenmeyer de 250 ml, à la surface d'un milieu nutritif (KNOP-BERTHELOT) préalablement stérilisé à l'autoclave durant 30 mn à 120 °C.

Les erlenmeyers sont ensuite placés dans une chambre lumineuse à 23 ± 2 °C. Le rythme d'éclairage est de 16 h de lumière pour 8 h d'obscurité, l'intensité lumineuse étant de 6 000 lux.

2. En pot

Les plants, débarrassés de leur terre de pépinière, sont empotés dans un mélange constitué de 1/3 de terre de Limagne, 1/3 terre de bruyère et de 1/3 de sable de l'Allier et stérilisé à la vapeur. Le pH initial du mélange est voisin de la neutralité : 6,8. Les pots sont placés sous un abri plastique et arrosés 2 fois par semaine.

TABLEAU 1

Caractéristiques culturales des quatre porte-greffes de pommier.
Cultural characteristics of the four apple rootstocks studied.

Porte-greffes	Origine	Vigueur	Enracinement	Asphyxie
M 7	East Malling	moyenne	bon-profond	peu sensible
MM 106	Malling Merton (Northern Spy × M 1)	moyenne	bon-traçant	peu sensible
M 26	East Malling (M 16 × M 9)	moyennement faible	moyen	sensible
M 9	East Malling (Paradis jaune de Metz)	faible	faible	moyennement sensible

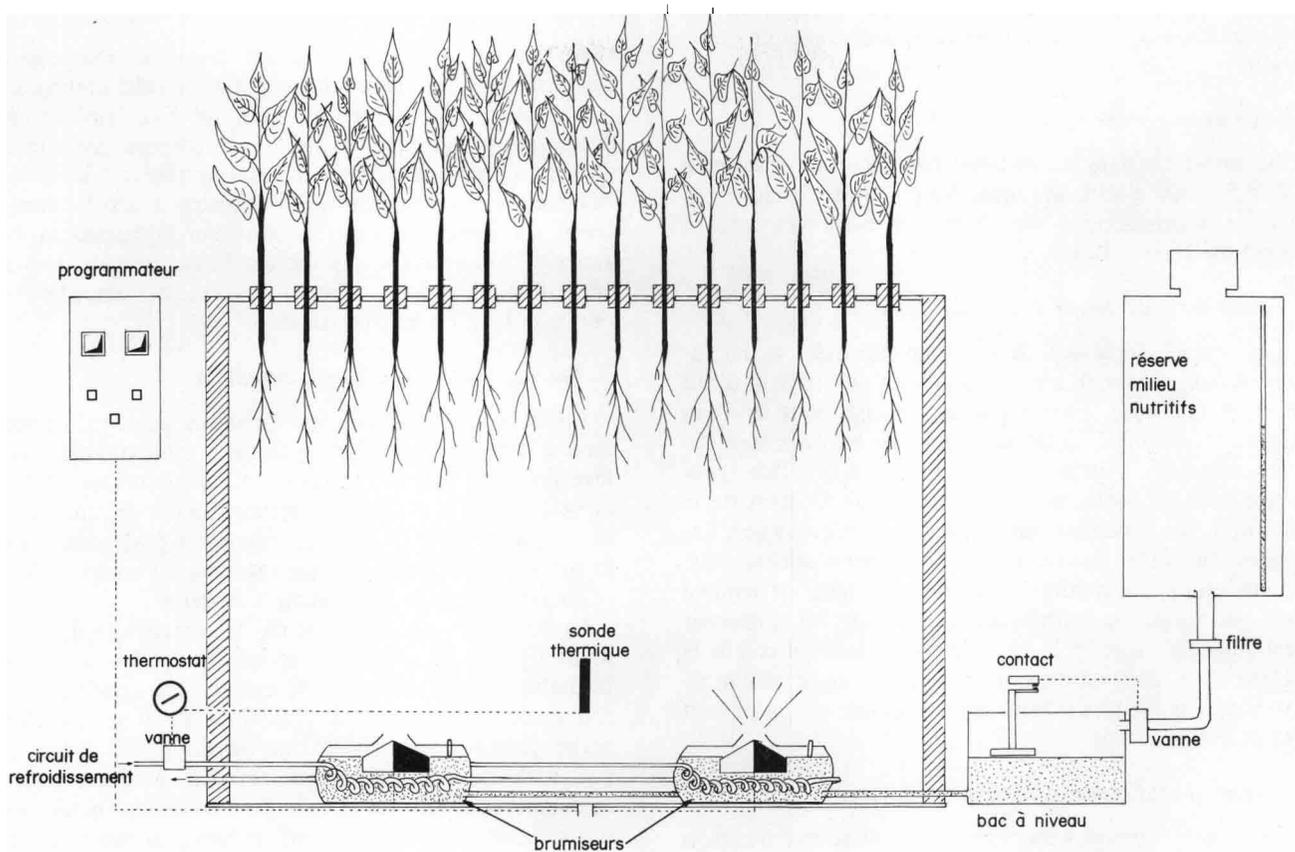


Figure 1
Dispositif de culture en caisson à brouillard.
Growing system in mist chamber.

3. En caisson à brouillard

Le dispositif de culture de jeunes plants en caisson à brouillard, mis au point par LAMOND (1975) (fig. 1) a dû être adapté aux besoins de notre étude.

Le caisson a été installé dans une serre. Pour éviter une augmentation excessive de la température à l'intérieur du caisson, il nous a fallu isoler celui-ci avec du polystyrène expansé et refroidir la solution nutritive à l'intérieur des brumisateurs grâce à un serpentin dans lequel circule de l'eau froide. Ce dispositif réglé sur un thermostat nous a permis de maintenir la température interne en dessous de 25 °C.

Le rythme de brumisation était de 20 s toutes les 3 mn au départ de la culture, puis nous l'avons progressivement augmenté en fonction de l'âge des plants afin de satisfaire leurs besoins en eau, pour atteindre finalement un rythme de 1 mn toutes les 3 mn. Ce rythme est fixé de telle sorte que les gouttelettes formées sur le pivot des marcottes aient le temps de disparaître entre deux brumisations. Ceci a pour but de limiter le développement d'un certain nombre d'organismes saprophytes (bactéries et champignons) susceptibles de devenir des parasites de faiblesse.

La brumisation était réalisée avec la solution nutritive minérale T1 de MORIZET & MINGEAU (1976).

Dans ces conditions de culture, les plants se développent moins qu'en pot, cependant leur système racinaire reste accessible, ce qui permet l'observation en continu de tous les stades de l'infection sans destruction de la plante.

D. Méthodes d'inoculation

1. Plants cultivés en axénie

Un implant gélosé de 1 cm de diamètre est prélevé à l'emporte-pièce à la périphérie d'une culture en boîte de Petri, âgée de 6 j, puis déposé sur la surface du support nutritif à 1 cm du collet de la plantule au stade 4 à 5 feuilles.

2. Plants cultivés en pot

La méthode est calquée sur celle employée et décrite par GUILLAUMIN (1977), pour réaliser les inoculations par *Armillaria mellea*. Elle consiste à enfoncer dans la terre des pots, à 5 cm du pivot des plantes, une baguette de noisetier colonisée par le champignon.

3. Plants cultivés en caisson à brouillard

Nous employons des baguettes de noisetier identiques à celles utilisées pour les inoculations en pot. Ces baguettes sont suspendues par des fils de fer galvanisés à l'intérieur du caisson, au contact des racines.

E. Modes d'observations de l'infection

1. Observations macroscopiques

Les observations, en erlenmeyer et en caisson, sont effectuées en continu sur les plantes en place.

Elles sont faites sur les plantes en pot après dépotage lorsque celles-ci montrent les premiers symptômes de dépérissement.

2. Conservation des échantillons

Ils sont fixés dans un mélange contenant 2/3 d'alcool à 95°, 0,5 p. 100 d'acide acétique, 0,5 p. 100 de formol et de l'eau. Les échantillons ainsi fixés sont conservés dans ce même mélange à 12 ± 1 °C.

3. Techniques de coupe et de coloration

Les coupes d'épaisseur 20 μ m sont effectuées au microtome à congélation. Elles sont éclaircies par un bain d'eau de javel (12° chl), rincées par un passage dans de l'eau légèrement acidifiée (acide acétique) puis colorées dans des bains successifs. Après coloration et rinçage à l'eau courante, nous les montons entre lame et lamelle dans de la glycérine. Les lames sont lutées avec du vernis à ongles. Les coupes ainsi préparées peuvent se conserver plusieurs mois. La coloration des parois des cellules de l'hôte est réalisée avec le rouge de ruthénium qui colore les composés pectiques en rouge et le bleu de méthylène qui colore la lignine et le suber en bleu ou vert. Quant au mycélium de *Rosellinia*, il est très difficilement colorable par la plupart des colorants usuels.

4. Techniques d'observations microscopiques

Les observations des coupes s'effectuent au microscope à contraste de phase (Reichert). Le contraste de phase positif a permis d'obtenir une coloration différentielle du mycélium et des parois cellulaires pecto-cellulosiques : le mycélium prend une coloration violette alors que les parois conservent la couleur rouge.

III RÉSULTATS

A. La prolifération externe

Le champignon pousse dans les anfractuosités du sol où il peut s'agréger en cordons blancs de plusieurs centimètres de long et de quelques millimètres de diamètre ou envahir les cavités sous forme de mycélium diffus. Lors des contaminations artificielles, on a retrouvé ces 2 types d'organisation mycélienne. Au contact d'une racine hôte, le mycélium a tendance à s'agréger sous forme de cordons ou de manchons.

1. Sur plantules issues de semis de pépins de « Golden delicious »

Dans les cultures en erlenmeyer, *R. necatrix* progresse à partir de l'implant gélosé, sous la forme d'un mycélium aérien diffus. Au contact du collet de la plantule, le champignon se condense en un manchon blanc. Il peut être très dense et former un anneau étroitement lié au végétal, ou plus ou moins diffus et granuleux, c'est-à-dire constitué de petites zones de mycélium agrégé de quelques dixièmes de millimètre de diamètre.

Même au cœur de ces agrégats, le mycélium reste constitué d'hyphes indifférenciés parallèles à la surface de l'épiderme. Les articles sont longs et riches en ampoules piriformes.

2. Sur marcottes en pot

Au contact des racines et du pivot, le champignon s'agrége soit en un manchon comparable à celui observé sur les plantules en erlenmeyer, soit en fins cordons qui progressent à la surface de l'hôte. Ces cordons, reliés entre eux par du mycélium diffus, forment un réseau à la surface des racines. Ils sont constitués d'hyphes à articles longs, riches en ampoules. Sous le manchon, apparaissent des zones de concentration mycélienne étroitement soudées au végétal. Les cordons adhèrent aux racines en plusieurs points le long de leur parcours.

3. Sur marcottes en caisson à brouillard

A l'intérieur du caisson, le champignon pousse abondamment à partir de l'inoculum. Il forme une importante masse mycélienne qui s'accroche aux racines, les enveloppant dans un voile qui peut atteindre plusieurs dizaines de centimètres de longueur. Sous ce voile et au contact des racines, il se forme des zones de concentrations hyphales comparables à celles observées sur les pommiers en pots.

La pollution s'effectue donc par l'intermédiaire de mycélium, agrégé ou non en cordons. Dans des conditions favorables, ce mycélium peut croître très rapidement et contaminer une plante hôte aussi bien au niveau d'une petite racine qu'au niveau du pivot ou du collet. La formation de cordons au contact des racines s'observe essentiellement lors des infections en conditions naturelles : inoculations des plantes en pots et attaques naturelles. Ce mode de contamination est à opposer à celui d'*Armillariella mellea*, agent du pourridié agaric, qui utilise pour cette phase de l'infection une structure très différenciée, le rhizomorphe *subterranea*.

B. La pénétration

Elle est plus ou moins complexe suivant l'âge des tissus infectés. On distingue 2 cas :

— la pénétration de jeunes tissus, sans formations secondaires, est observée lors de l'attaque des plantules en erlenmeyer et des jeunes racines en caisson à brouillard. Elle fait intervenir un « cône de pénétration ». Ce type de pénétration n'a jamais été observé lors des inoculations des plantes en pots ;

— le deuxième type de pénétration, beaucoup plus complexe, s'observe lors de l'infection des grosses racines (diamètre supérieur à 3 mm) et des pivots des marcottes cultivées en pots et en caisson. Il se forme alors des « sclérotés de pénétration ».

1. Les « cônes de pénétration » (fig. 2)

Sur les plantules et les jeunes racines, le mycélium indifférencié qui rampe à la surface de l'épiderme se condense ; les hyphes prennent une orientation perpendiculaire à la surface de l'hôte et se ramifient abondamment. Les articles se raccourcissent et nous pouvons reconnaître une structure prosenchymateuse, c'est-à-dire de pseudo-tissu constitué d'articles ayant conservé leur forme d'hyphes allongés, mais étroitement accolés et ayant tous la même direction. Ce cône mycélien s'insinue entre 2 cellules de l'épiderme et pénètre en force dans les tissus. Cette pénétration a lieu sans destruction des parois et les cellules du parenchyme cortical restent cohérentes et bien individualisées. A ce stade il n'y a que peu ou pas de pénétration cellulaire et le cône mycélien n'adhère pas aux tissus : sur de nombreuses coupes il se détache, laissant une plaie béante.

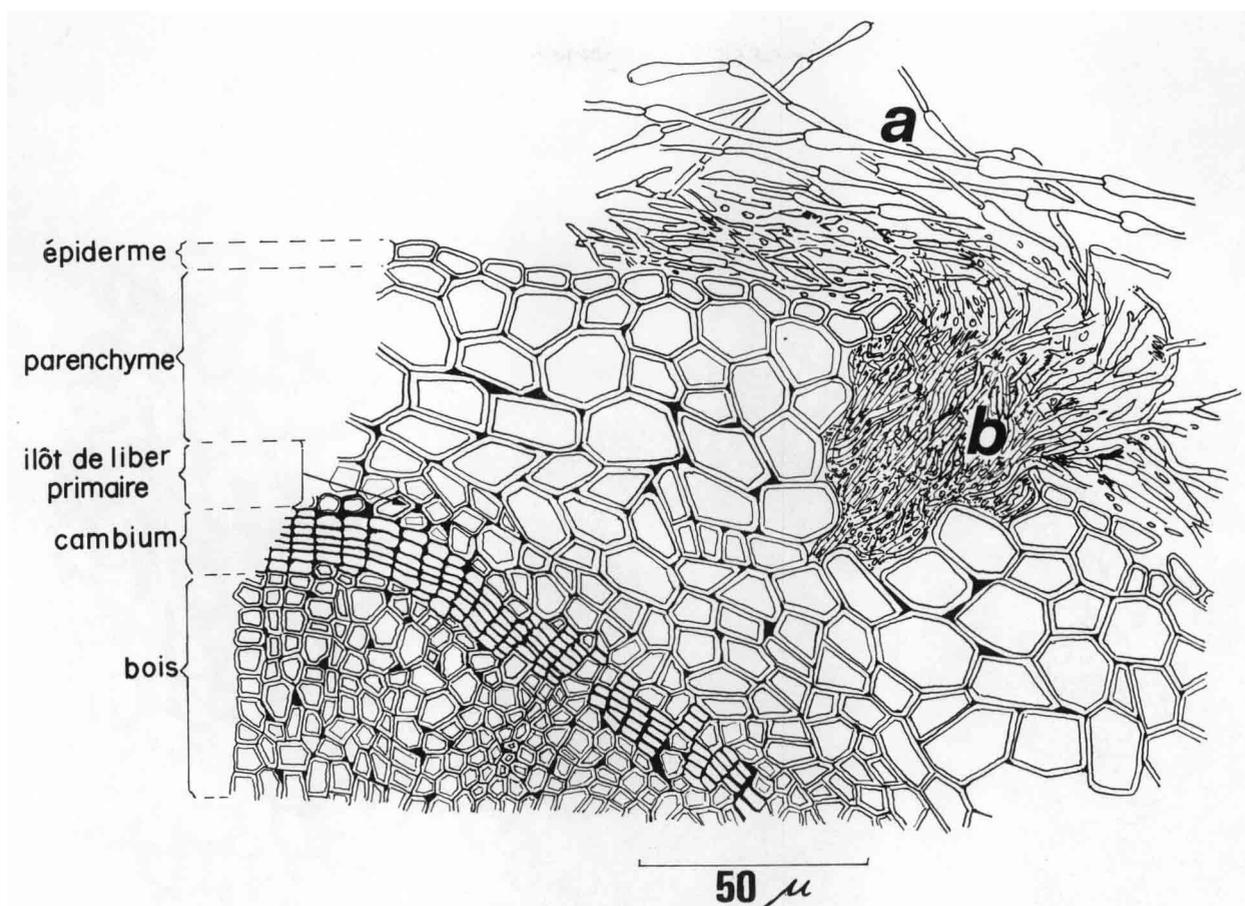


Figure 2
Pénétration du *R. necatrix* au collet d'une plantule de *Golden delicious*.
Penetration of *R. necatrix* in the stem base of a « *Golden delicious* » seedling.

a : Mycélium externe
b : « Cône de pénétration »

Ce type de pénétration est donc caractérisé par l'absence d'organe différencié ; seul le « cône de pénétration », qui peut atteindre plusieurs centaines de micromètres, montre un début d'organisation. Sa structure rappelle celle du « coussinet d'infection » d'*Helicobasidium purpureum* décrit par HERING (1962). Cependant, sa forme allongée en cône nous a fait préférer le terme de « cône de pénétration ».

2. Les « sclérotés de pénétration » (fig. 3)

Ils apparaissent sous le mycélium externe et à la surface de la plante hôte. Visibles à l'œil nu, ce sont de petits amas noirs granuleux de 0,1 à 1 mm de diamètre. Ils se forment sous le manchon mycélien ou sur le parcours d'un cordon à la surface de la racine ; dans ce dernier cas, le cordon reste étroitement lié au sclérote. Ils peuvent être assez nombreux, couvrant une bonne partie de la racine infectée, ou isolés et bien individualisés. Constitués d'un cortex noir, épais et dur, et d'une médulla blanche, ils correspondent à des points de pénétration. Le cortex montre une structure pseudoparenchymateuse ; il est constitué d'articles presque isodiamétriques à paroi épaisse et fortement mélanisée. La médulla présente une structure prosenchymateuse ; elle est formée d'hyphes à articles courts, convergeant vers le centre du sclérote. La structure prosenchymateuse disparaît progressivement à l'approche de l'épiderme pour laisser place à une structure pseudoparenchymateuse où seuls quelques articles restent allongés. C'est ce mycélium pseudoparenchymateux qui pénètre les tissus végétaux en rompant les

couches subérisées. Le mycélium envahit alors rapidement le phelloderme. Comme dans le cas des « cônes d'infection », la pénétration s'effectue sans rupture des parois cellulaires.

Chez le pommier, les attaques ne semblent pas localisées en des points particuliers, par contre nous avons pu observer, sur le charme, lors de contaminations artificielles, la formation de « sclérotés de pénétration » au niveau de lenticelles, type de pénétration identique à celui décrit par SAKURAI (1952) sur le mûrier.

Sur le pommier, aucun tissu néoformé n'apparaît au voisinage de l'infection, l'hôte ne manifeste pas de réaction histologique. Au contraire, l'inoculation du pin Weymouth provoque une augmentation de l'activité de l'assise subéro-phellodermique, expulsant vers l'extérieur, avec le rhytidome, les couches subérisées pénétrées par le champignon.

C. L'installation

Ici encore, on différencie les cas d'attaques sur tissus jeunes et ceux qui ont lieu sur les racines âgées dont les formations secondaires sont bien développées. Il se forme alors des cordons *subcorticalis*.

1. Destruction des tissus jeunes

Après pénétration, le mycélium envahit très rapidement les cellules sous-épidermiques, désorganisant le parenchyme cortical. Cependant la pénétration des cellules par

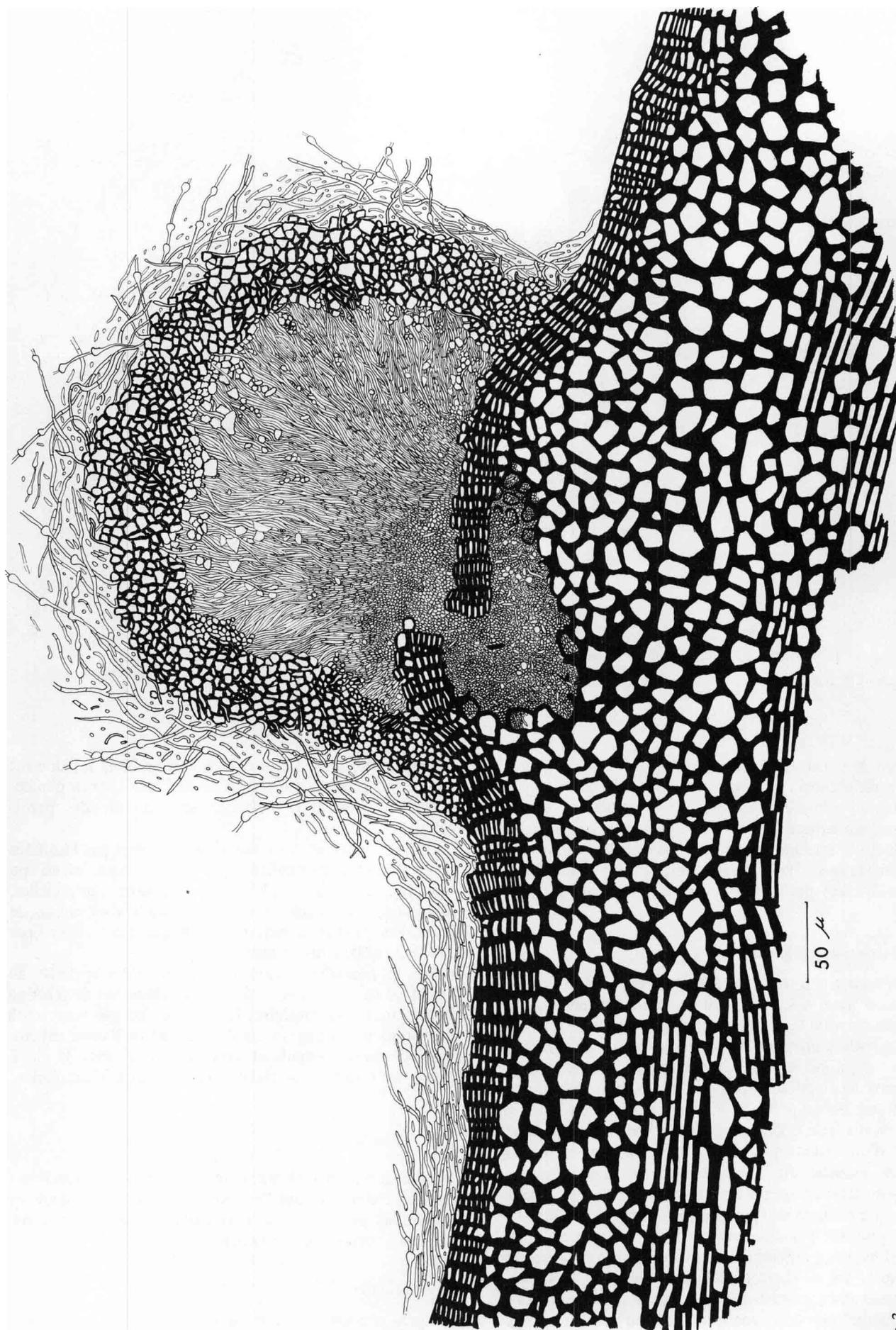


Figure 3

« Sclérote de pénétration » du *R. necatrix*.
« Penetration sclerotium » of *R. necatrix*.

les hyphes a lieu bien avant que la destruction des parois cellulaires ne soit observable. Le mycélium se retrouve jusque dans les tissus conducteurs. Cette infection se traduit par une nécrose brune de l'hypocotyle et la mort rapide de la plantule (flétrissement des feuilles) ou par la destruction des jeunes racines infectées lors des inoculations en caisson (à ce stade, les marcottes ne montrent pas de signe de faiblesse et, très souvent, il apparaît, au-dessus des tissus nécrosés, une racine de remplacement). Le manchon mycélien continue sa croissance à la surface et devance de plusieurs millimètres la nécrose de la racine, occasionnant de nouveaux points d'attaque dans les tissus encore sains.

Sur un certain nombre de plantules inoculées, on observe l'apparition d'une zone de nécrose située sous les cotylédons. Aucune présence de mycélium n'a pu être mise en évidence à ce niveau. Cette nécrose localisée en avant du point d'infection pourrait être due à la migration de toxines.

2. Installation dans les racines âgées

Elle est assurée par des cordons mycéliens blancs qui se développent entre le suber et le phelloderme et qui jouent donc le même rôle que les cordons *subcorticalis* de l'armillaire. Ils s'observent après découpe de l'écorce autour du « sclérote de pénétration » et apparaissent comme des étoiles blanches centrées autour du point de pénétration. Ces lames blanches de petites dimensions progressent parallèlement à la surface et soulèvent progressivement le suber. Nous observons alors une zone de décoloration autour du sclérote.

Le cordon *subcorticalis* est constitué d'un mycélium prosenchymateux dont les articles longs, étroitement liés entre eux, ne forment pas d'ampoules piriformes.

La pénétration des cellules du phelloderme n'a lieu que plusieurs millimètres en arrière du front de progression. La destruction des parois cellulaires et la désorganisation des tissus est très tardive. L'aspect du réseau formé par les cordons *subcorticalis* est un des symptômes qui permet de reconnaître le pourridié dû à *Rosellinia* : présence dans l'écorce et au niveau du cambium de palmettes blanches, minces et peu étendues, constituées de cordons étroits ramifiés en éventail et formant une sorte de « persillé » discontinu.

La croissance du champignon dans le végétal est limitée aux parties souterraines. Ceci permet de différencier le pourridié laineux du pourridié agaric qui présente dans l'écorce, et surtout au niveau du cambium, des palmettes blanches, épaisses, de grande surface et des cordons rubanés longs et blancs qui peuvent se développer bien au-dessus du collet.

D. L'évolution

1. Le mycélium externe

Le manchon et les cordons précèdent de plusieurs centimètres la nécrose des tissus ; le mycélium de la marge, qui reste blanc, recouvre des tissus encore sains. Ce mycélium devient brun ou gris en vieillissant ; ce brunissement correspond à la nécrose totale des tissus sous-jacents.

Au niveau des tissus nécrosés recouverts de mycélium gris, apparaît un nouveau mycélium externe qui prend naissance dans le végétal. Il forme des houppes blanches de 1 à 2 cm de long, qui se développent perpendiculairement à la surface des racines. Observées lors des infections en caisson à brouillard, elles sont constituées d'hyphes parallèles à articles longs possédant quelques ampoules piriformes. Elles se mélanisent assez rapidement.

2. La mort de l'hôte

La mort des marcottes survient lorsque 50 à 80 p. 100 du pivot sont nécrosés. Les feuilles flétrissent ou se dessèchent très rapidement. Sur certains pommiers inoculés en pot, les feuilles montrent des symptômes nettement différents de ce flétrissement généralisé, qui peuvent revêtir deux aspects :

- une nécrose des nervures, de couleur ocre ou rougeâtre. Des coupes pratiquées dans les pétioles des feuilles présentant ce symptôme montrent également des nécroses au niveau des tissus conducteurs ;
- des taches brunes régulièrement réparties sur toute la surface du limbe.

IV. CONCLUSION ET DISCUSSION

Les contaminations artificielles ont confirmé les observations effectuées au champ (GUILLAUMIN *et al.*, 1982). Si l'infection peut avoir lieu au niveau de jeunes racines, c'est sans doute l'infection des grosses racines et même celle du collet qui provoquent la mort de la plante.

L'infection peut se diviser en 4 phases faisant intervenir des organes agrégés bien différents (fig. 4) :

- 1^{re} phase : prolifération externe sous la forme de toiles mycéliennes ou de cordons sans différenciation cellulaire qui correspondent à une condensation des hyphes au contact de l'hôte ;
- 2^e phase : formation, au sein du mycélium externe, d'un sclérote étroitement accolé à l'hôte. La présence de sclérotés a été à plusieurs reprises décrite dans la littérature mais jamais associée aux phénomènes de pénétration. SZTEJNBERG & MADAR (1980) les observent lors de cultures pures en boîtes de Petri ; VIALA (1891) affirmait qu'ils étaient formés sur les arbres morts de pourridié laineux par le mycélium interne et jamais par le mycélium externe. Nos observations montrent que la formation de sclérotés est indispensable pour la pénétration des tissus âgés et que, dans ce cas, ils sont initiés à partir du mycélium externe, agrégé ou non en cordons. Les « sclérotés de pénétration » sont constitués d'un cortex mélanisé à structure pseudoparenchymateuse et d'une medulla blanche à structure prosenchymateuse. Ces sclérotés ressemblent à ceux qui, d'après VIENNOT-BOURGIN (1949), sont formés par *R. quercina* Hart. au cours de l'infection de jeunes chênes ;
- 3^e phase : pénétration dans les tissus de l'hôte. Elle est effectuée par le mycélium pseudoparenchymateux présent au centre du sclérote. Le mycélium envahit le phelloderme et pénètre dans les cellules sans en détruire les parois ;
- 4^e phase : prolifération interne sous la forme de cordons *subcorticalis* à structure prosenchymateuse qui provoquent le décollement du suber puis la destruction des tissus.

Il faut noter la plasticité morphogénétique du champignon. En effet, *R. necatrix*, lors de l'infection de tissus sans structures secondaires, narcisses (MANTELL & WHEELER, 1973) et plantules de pommier, pénètre sans s'agréger en sclérotés ; on observe alors la formation d'un « cône de pénétration » à structure prosenchymateuse. Cette plasticité morphogénétique du champignon est à rapprocher de son caractère polyphyte et peut expliquer en partie l'agressivité des souches de *R. necatrix*.

A priori, on pouvait envisager l'intervention de 3 catégories de facteurs dans l'infection du pommier par *R. necatrix*.

- les forces mécaniques ;
- les enzymes (BÄRTSCHI *et al.*, 1979) ;
- les toxines (TOURVIELLE, 1981).

Notre étude montre que les forces mécaniques intervien-

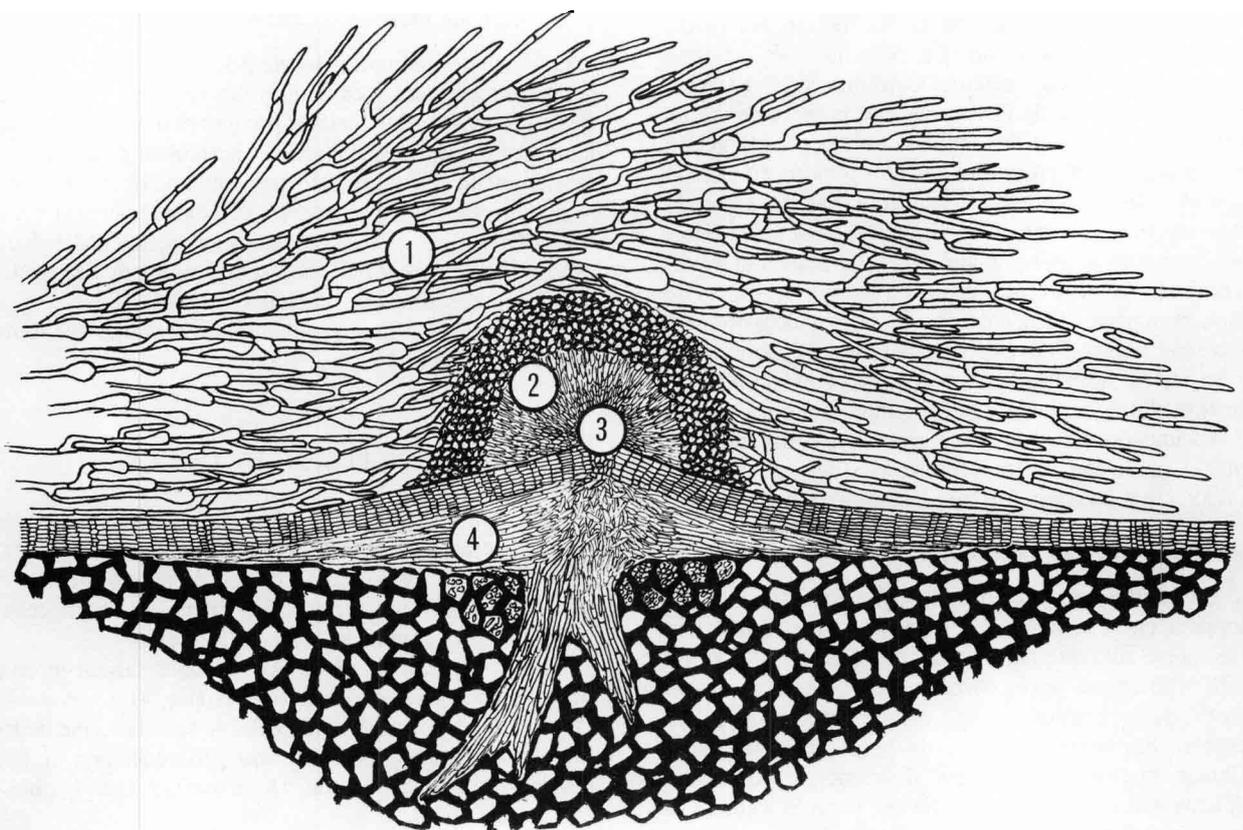


Figure 4

Les quatre phases de l'infection du pommier par le *R. necatrix*,
 — prolifération externe
 — formation du « sclérote de pénétration »
 — pénétration
 — prolifération interne.

The four phases of apple tree infection by *R. necatrix*
 — external proliferation
 — formation of « penetration sclerotium »
 — penetration
 — internal proliferation.

nent dans toutes les phases de l'infection et semblent jouer un rôle essentiel :

— dans la phase de pénétration. En effet, l'accumulation et la condensation du mycélium au contact de l'hôte permettent au champignon d'exercer une pression mécanique entraînant la déchirure de l'épiderme.

— dans la phase de généralisation s'achevant par la mort de la plante. Elles interviennent lors de l'avancement des

cordons *subcorticalis* qui décollent le suber. La destruction des tissus n'est visible qu'en arrière du front d'avancement.

Reçu le 18 août 1981.
 Accepté le 27 février 1982.

REMERCIEMENTS

Cette étude n'a été possible que grâce à la collaboration de nombreuses personnes, chercheurs et techniciens de l'I.N.R.A., auxquels nous tenons à adresser nos remerciements.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bartschi H., Debaud J. C., Bruchet G.**, 1979. Etude *in vitro* des activités cellulolytique et pectinolytique de *Rosellinia necatrix* (Hart.) Berl. et *Rosellinia quercina* Hart. agents de Pourridiés. Université Claude Bernard, Lyon I, (rapport non publié).
- Guillaumin J. J.**, 1977. Apricot Root Rot *Armillaria mellea* (Vahl) Karst. EPPO Bulletin, 17, (1), 125-136.
- Guillaumin J. J., Leprince S.**, 1979. Influence de divers types de matière organique sur l'initiation et la croissance des rhizomorphes d'*Armillariella mellea* (Vahl) Karst. dans le sol. Eur. Jour. For. Pathol., 9 (6), 355-366.
- Guillaumin J. J., Mercier S., Dubos B.**, 1982. Les pourridiés à *Armillariella* et *Rosellinia* en France sur vigne, arbres fruitiers et cultures florales, I. Etiologie et symptomatologie. Agronomie, 2 (1), 71-80.
- Hering T. F.**, 1962. Infection cushions of *Helicobasidium purpureum* Pat. Trans. br. mycol. Soc., 45 (1), 46-54.
- Lamond M.**, 1975. Dispositif de culture de plantes entières en caisson, sous brouillard nutritif en usage à Clermont-Ferrand, T. 2, 6-40. in : Compte rendu des séminaires du groupe d'études des racines. Institut. Rech. Fondam., C.E.A., Grenoble, 265 p.
- Mantell S. H., Wheeler B. E. J.**, 1973. *Rosellinia*, a white root-rot of *Narcissus* in the Scilly Isles. Trans. br. mycol. Soc., 60 (1), 23-35.
- Morizet J., Mingeau M.**, 1976. Influence des facteurs du milieu sur l'absorption hydrique. Etude effectuée sur tomate décapitée en exsudation. I. Facteurs nutritionnels. Ann. agron., 27 (2), 183-205.
- Rykowski K.**, 1978. Infection biology of *Armillaria mellea* (Vahl) Karst. p. 215-233 in C.R. 5th Inter. Conf. Problems of root and butt rots in conifers. (Kassel, R.F.A.), 425 p.
- Sakurai Y.**, 1952. Pathologico-anatomical observations on the white root rot of Mulberry trees caused by *Rosellinia necatrix* (Hart.) Berl. Res. Rep. Fac. Text. Seric., Shinshu Univ., 2, 18-26.
- Szteznberg A., Madar Z., Chet I.**, 1980. Induction and quantification of microsclerotia in *Rosellinia necatrix*. Phytopathology, 70 (6), 525-527.
- Thomas H. E.**, 1934. Studies on *Armillaria mellea* (Vahl) Quéll. : infection, parasitism and host resistance. J. agric. Res., 48, 187-218.
- Tourvieille de Labrouhe D.**, 1981. Contribution à l'étude du *Rosellinia necatrix* (Hart.) Berl., agent du « Pourridié laineux » sur Pommier. Thèse de Docteur-Ingénieur, E.N.S.A. Rennes, n° 81/3, série A, 118 p.
- Viala P.**, 1891. Monographie du Pourridié (Dematophora). Masson éd., 118 p.
- Viennot-Bourgin**, 1949. *Rosellinia* De Notaris, T. 1, 403-412. in : Les champignons parasites des plantes cultivées, Masson éd. 1 849 p.