

Résumé

Sept traitements ont été appliqués (un désherbage manuel, des cultures de *Pueraria*, *Brachiaria*, *Acacia*, palmiers sensibles ou palmiers tolérants à la fusariose, un apport de rafles) à un sol préinfesté ou non par 1×10^4 spores de *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*. m^{-1} . Après une année, le niveau de réceptivité des sols à la fusariose du palmier à huile ainsi que leurs caractéristiques microbiologiques ont été déterminés.

La mise en culture des sols, quels que soient l'espèce végétale cultivée et le niveau initial d'infestation du sol, tend à diminuer la réceptivité des sols à la fusariose, le témoin nu étant le sol le plus sensible.

L'apport de rafles entraîne, par rapport au terrain nu, une diminution de la réceptivité du sol non préinfesté et un maintien de la réceptivité du sol préinfesté.

Ces résultats s'expliquent par des modifications des densités des populations fongiques, et en particulier fusariennes, et/ou par des différences de survie de l'agent pathogène comme dans le cas du sol cultivé avec du *Pueraria*.

Abstract

Seven treatments were applied (manual weeding, planting with *Pueraria*, *Brachiaria*, *Acacia*, oil palms susceptible to or tolerant of vascular wilt and empty bunch applications) to soils either inoculated or not with 1×10^4 *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* spores. m^{-1} . After a year, soil receptivity to oil palm vascular wilt and soil microbiological characteristics were determined.

Planting the soils, irrespective of the plant species and the initial soil infestation level, tended to reduce soil receptivity to vascular wilt, bare soil being the most receptive.

Compared to the bare soil control, applying empty bunches reduced the level of receptivity of non-inoculated soil and maintained that of inoculated soil. These results can be put down to modifications in fungal population densities, particularly *Fusarium*, and/or to differences in pathogen survival, as in the case of soil planted with *Pueraria*.

Resumen

Se aplicaron siete tratamientos (desmalezado manual, cultivos de *Pueraria*, *Brachiaria*, *Acacia*, palmeras sensibles o palmeras tolerantes a la fusariosis y aporte de tusas) en un suelo pre-infestado o no por 1×10^4 esporas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*. m^{-1} . Al cabo de un año, se determinó el nivel de receptividad de cada suelo a la fusariosis de la palma aceitera así como sus características microbiológicas.

La puesta en cultivo del suelo, cualesquiera que sean la especie vegetal cultivada y el nivel inicial de infestación del mismo, tiende a disminuir su receptividad a la fusariosis, siendo el testigo desnudo el suelo más sensible.

El aporte de tusas produce, en comparación con el terreno desnudo, una disminución de la receptividad del suelo no pre-infestado y un mantenimiento de la receptividad del suelo pre-infestado. Estos resultados se explican por modificaciones de las densidades de las poblaciones fúngicas, y especialmente de la fusariosis, y/o por diferencias de supervivencia del agente patógeno, como es el caso del suelo cultivado con *Pueraria*.

Influence de quelques techniques culturales sur la gravité de la fusariose du palmier à huile

Abadie C.¹, de Franqueville H.², Renard J.L.¹, Alabouvette C.³

¹ CIRAD-CP, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

² CIRAD-CP, laboratoire de phytopathologie, plantation Robert Michaux, IDEFOR-DPO, BP 8, Dabou, Côte d'Ivoire

³ CMSE, laboratoire de recherches sur la flore pathogène du sol, INRA, 17 rue Sully, 21034 Dijon Cedex, France

La fusariose vasculaire est la principale maladie qui affecte le palmier à huile en Afrique de l'Ouest (Hartley, 1988). La résistance variétale constitue le meilleur moyen de lutte contre les fusarioses. D'importants travaux ont été consacrés à la sélection de croisements tolérants à la maladie (Locke et Colhoun, 1974 ; Meunier *et al.*, 1979 ; Prendergast, 1963 ; Renard *et al.*, 1972 ; Renard *et al.*, 1980). La mise au point d'un schéma de sélection récurrente réciproque (Meunier et Gascon, 1972) et le tri systématique des croisements en pépinière (Renard *et al.*, 1972) ont permis de substituer, aux géotypes sensibles, des géotypes beaucoup plus tolérants à la fusariose. Depuis que l'on replante les zones fusariées avec ces derniers, l'incidence de la maladie a diminué significativement (de Franqueville et Renard, 1990). L'attention se porte actuellement sur un certain nombre de facteurs édaphiques et culturels qui semblent également conditionner la gravité de la maladie. En effet, la comparaison du comportement de géotypes de sensibilité équivalente à la maladie, a permis d'émettre des hypothèses quant au rôle favorable, ou défavorable, de certaines pratiques culturales telles que le désherbage ou l'apport de matière

organique, sur l'expression de la fusariose vasculaire.

Des essais, réalisés sur la plantation expérimentale Robert Michaux à Dabou en Côte d'Ivoire, montrent que l'incidence de la fusariose varie selon que les parcelles sont désherbées ou au contraire cultivées avec diverses espèces de plantes de couverture. Renard et Quillec (1983) notent que la fusariose n'atteint que 7,4 % des arbres dans la parcelle désherbée contre 12,4 % dans la parcelle cultivée en *Pueraria* sp. Si le *Brachiaria* sp. remplace le *Pueraria* sp., la gravité de la fusariose diminue de 27 %. Une autre expérience a confirmé que le désherbage manuel ou chimique des parcelles contribue à limiter l'incidence de la fusariose en comparaison des parcelles cultivées avec des légumineuses comme plantes de couverture (*Calopogonium* sp., *Centrosema* sp., *Pueraria* sp.).

Le précédent culturel constitue un autre facteur qui conditionne la gravité de la fusariose. Lors de la replantation en zone fusariée, la maladie se manifeste plus rapidement et plus intensément sur les parcelles cultivées en première génération avec des palmiers sensibles, que sur les parcelles ayant été cultivées avec des palmiers tolérants à la maladie (de Franqueville et Renard, 1988 ; Renard et Quillec, 1983).



C. Abadie

Photo 1. Influence des techniques culturales sur la gravité de la fusariose du palmier à huile : réalisation des traitements. Au premier plan : culture de palmiers tolérants dans le sol de savane préinfesté avec l'agent pathogène. / Effect of crop techniques on oil palm vascular wilt severity: carrying out treatments. In the foreground: tolerant oil palms planted in savannah soil inoculated with the pathogen.

L'apport de rafles au sol de la palmeraie peut entraîner une augmentation variable de la gravité de la fusariose selon la dose et la localisation, au pied des arbres ou dans l'interligne (Renard et de Franqueville, 1991). Compte tenu de l'intérêt agronomique d'une telle pratique, qui contribue à la fertilisation potassique et à l'augmentation de la teneur en matière organique, il

était important d'étudier son effet sur la fusariose vasculaire.

Le but de cette expérimentation était de confirmer la validité des observations de terrain et de les corrélérer aux caractéristiques microbiologiques des sols ayant subi l'influence de différents facteurs culturels. En effet, la gravité d'une maladie d'origine tellurique dépend de la réceptivité de la

culture, mais aussi du potentiel infectieux du sol, correspondant à l'énergie pathogène disponible à la surface des organes sensibles de la plante-hôte (Lockwood, 1988). Le potentiel infectieux d'un sol résulte de l'interaction entre la population de l'agent pathogène et la réceptivité du sol, c'est-à-dire l'ensemble des facteurs biotiques et abiotiques qui conditionnent la survie et l'activité de cet agent pathogène dans le sol (Bouhot, 1980 ; Alabouvette *et al.*, 1982). Les études des sols résistants aux fusarioses vasculaires ont démontré que l'activité antagoniste de la microflore tellurique peut, dans certains cas, inhiber l'expression des capacités infectieuses de l'agent pathogène. Ce dernier, bien que présent dans les sols étudiés, n'entraîne qu'une faible gravité de la maladie (Alabouvette *et al.*, 1984).

Comme dans le cas d'études d'autres fusarioses vasculaires, telle celle de la tomate (Bouhot, 1980), notre hypothèse de travail était la suivante : la faible incidence de la fusariose dans certaines parcelles résulte d'une réduction du potentiel infectieux du sol, due soit à une baisse de la densité d'inoculum pathogène naturel, soit à une diminution de la réceptivité du sol sous l'effet des facteurs culturels étudiés. Ce type de démarche scientifique est appliqué pour la première fois à une culture tropicale pérenne. Pour vérifier la validité de cette hypothèse, un sol préinfesté ou non à la dose de 1×10^4 spores de *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (F.o.e.) ml^{-1} de sol a été soumis aux 7 traitements suivants :

- désherbage manuel (traitement sol nu) comparé à une jachère cultivée en *Pueraria* ou en *Brachiaria* ;
- culture de palmiers tolérants ou de palmiers sensibles à la fusariose comparée à une culture d'*Acacia mangium* ;
- apport de rafles à la dose de 100 t/ha.

Après 13 mois, des échantillons de sol sont prélevés dans chaque parcelle pour des analyses microbiologiques et l'évaluation du niveau de réceptivité à la fusariose vasculaire du palmier à huile de ces sols.

Matériel et méthodes

Infestation artificielle du sol

Le sol utilisé est un sol de la zone dite de la « savane de Dabou ». Il n'a jamais été cultivé en palmier. Son pH est acide ($\text{pH}_{\text{eau}} = 4,4$) et sa texture de type argilo-sableuse (71 % de sable, 8 % de limon, 21 % d'argile).

Une souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (F.o.e.) conservée en sol sté-

rile est repiquée, au moment de son utilisation, sur milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*). Cultivée à 25°C pendant 7 j dans des fioles de Roux contenant du milieu Armstrong (Abadie, 1995), elle est ensuite filtrée (porosité de 100 µm) puis broyée pendant 30 s et son titre est déterminé à la cellule de Malassez.

La suspension de spores est diluée de manière à apporter au sol un volume liquide suffisant pour obtenir une humidité favorable à une bonne répartition de l'inoculum (soit 23 % par rapport au poids sec). Cet inoculum liquide est aspergé sur le sol puis réparti de façon homogène après un brassage manuel de ce mélange. La dose d'inoculum est de 1×10^4 spores de F.o.e.ml⁻¹ sol. De la même manière, de l'eau est apportée aux sols témoins non-préinfestés.

Dispositif expérimental

Une aire de terre battue non ombragée a été aplanie et une tranchée d'une trentaine de centimètres a été creusée pour l'écoulement de l'eau de pluie. Des bacs de 2 m³ (5 x 2 x 0,20 m) sont isolés de la terre par une bâche plastique et remplis de sol de savane.

Réalisation des traitements

Les parcelles témoins sont désherbées manuellement (traitement sol nu). Pour les parcelles cultivées : des graines de *Pueraria javanica* et d'*Acacia mangium* sont semées ; des boutures de *Brachiaria brachylopha* sont repiquées à une densité de 16 pieds.m⁻². Des plantules de palmiers d'une catégorie tolérante, au stade 1 à 2 feuilles, et des graines prégermées d'une catégorie sensible sont repiquées à la densité de 16 pieds.m⁻² (Photo 1)

Les parcelles amendées en matière organique sont réalisées en incorporant 50 kg de rafles (résidus d'usine après égrappage des régimes), découpées finement, par m³ de sol (soit un épandage de 100 t.ha⁻¹).

Après 13 mois d'incubation, un échantillon de sol de chaque bac est prélevé, placé sous abri pendant 4 jours, puis tamisé à 5 mm.

Mesures du niveau du potentiel infectieux et de la réceptivité des sols

L'appréciation du potentiel infectieux consiste à repiquer des plantules de palmiers sensibles directement dans des échantillons de sol prélevés dans les bacs. Cette modalité correspond aux traitements témoins « dose 0 » de la mesure de la réceptivité des sols. Celle-ci consiste à repiquer

des plantules de palmiers sensibles dans des échantillons de sol de bacs infestés artificiellement avec des doses croissantes d'un inoculum pathogène.

Infestation artificielle des sols

L'inoculum est préparé dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment. Trois doses d'inoculum sont utilisées (1×10^4 , 5×10^4 et 1×10^5 spores de F.o.e.ml⁻¹ sol) ; le témoin non-infesté reçoit de l'eau.

Lors de l'infestation des sols, de l'eau est apportée de telle sorte que l'humidité finale des sols atteigne 18 % du poids sec. Le sol infesté est homogénéisé dans une bétonnière pendant 2 min. Pour chaque dose d'inoculum et chaque traitement de sol, 5 répétitions de 20 l de sol sont infestées puis réparties dans 5 fois 20 sachets de matière plastique.

Repiquage des plantules et notation des symptômes

Des plantules de palmiers d'une catégorie sensible à la fusariose, cultivées dans du sable humide, jusqu'au stade 2 feuilles, sont repiquées individuellement dans les sachets plastiques contenant le sol infesté (photo 2).

Les relevés bimensuels de fusariose débutent 1 mois après l'infestation des sols et durent 5 mois. À la dernière notation, un relevé des symptômes internes est effectué

après une dissection longitudinale du pseudobulbe des plantules.

Analyse statistique des résultats

La cinétique d'évolution de la maladie est analysée à l'aide de la procédure LIFEREG du logiciel SAS. Ce test paramétrique permet de calculer, pour chaque dose d'inoculum et chaque sol, la durée de demi-vie des plantes (durée pour laquelle 50 % des palmiers sont fusariés). Plus la valeur de ce paramètre est faible, plus l'incidence de la maladie est élevée. Un test du Chi² permet de comparer statistiquement, au seuil de 5 %, ces durées de demi-vie.

Analyses microbiologiques

Des dénombrements des populations microbiennes telluriques sont réalisés à l'aide de la technique des suspensions-dilutions (Pochon et Tardieux, 1962). Trois répétitions de 10 g de sol frais sont analysées par type de sol.

L'utilisation du milieu malt acide (250 ppm d'acide citrique) et du milieu Komada (Komada, 1975) permet de quantifier respectivement la flore totale fongique et la flore totale fusarienne. Un ml des dilutions appropriées de sol est incorporé à 10 ml de milieu maintenu en surfusion (40°C). Cinq boîtes sont ensemencées par niveau de dilution et par répétition. Les colonies sont dénombrées après 4 et 8 j d'incubation à 25°C.



C. Abadie

Photo 2. Dispositif expérimental des mesures de potentiel infectieux et de réceptivité des sols à la fusariose du palmier à huile. / *Experimental design for measuring soil infection potential and receptivity to oil palm vascular wilt.*

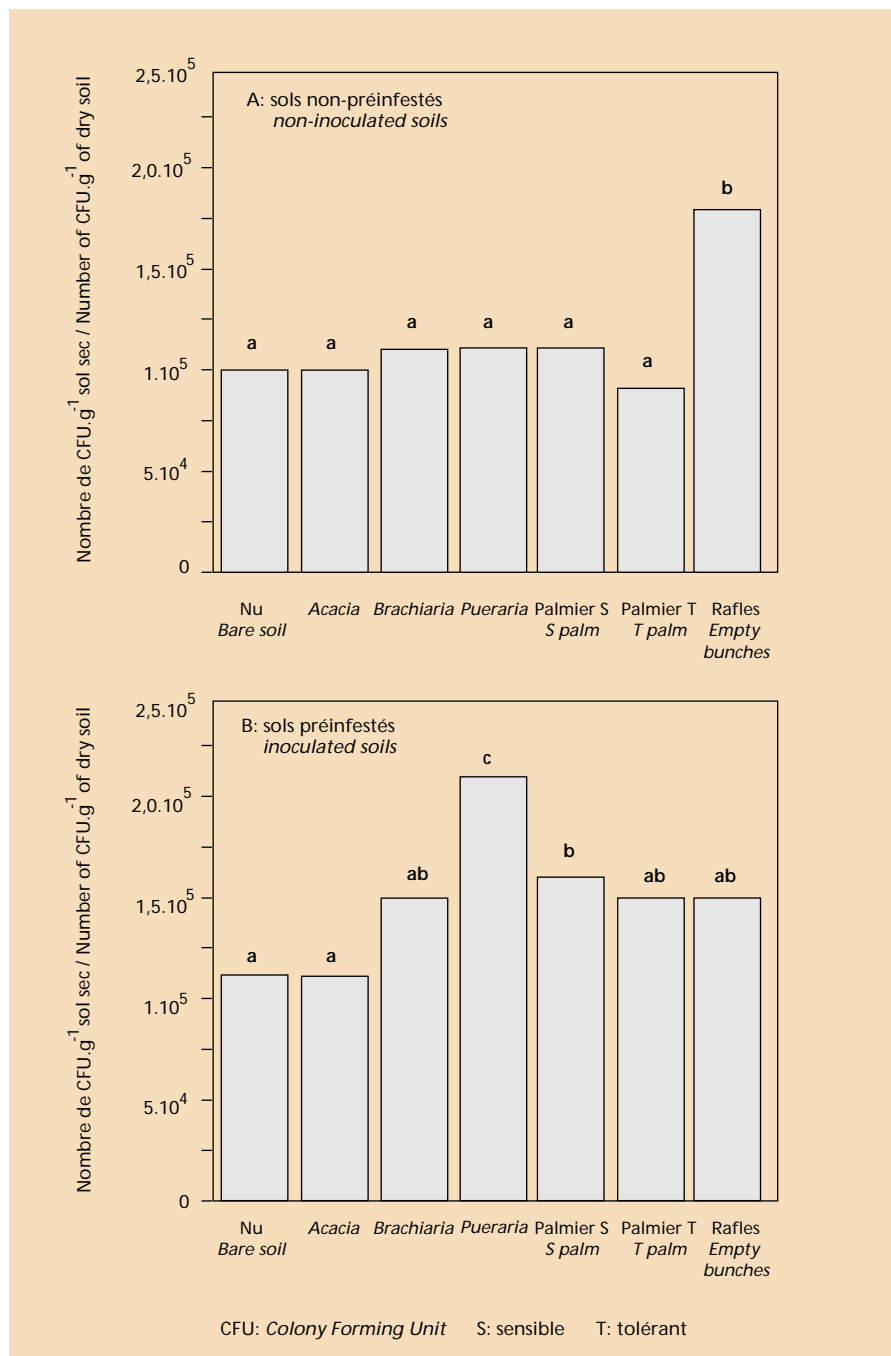


Figure 1. Incidence des techniques culturales sur les densités des populations fongiques du sol de savane préinfesté (B) ou non (A) avec l'agent pathogène, 13 mois auparavant. / Effect of crop techniques on fungal population densities in savannah soil inoculated (B) or not inoculated (A) with the pathogen, 13 months beforehand.

Les traitements affectés d'une même lettre ne sont pas significativement différents selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5 %.

Treatments with the same letter are not significantly different according to Newman and Keuls' test at 5%.

Les résultats sont exprimés en nombre de CFU (*Colony Forming Unit*) par g de sol sec. Les données sont transformées par la fonction logarithme décimale, et les

différences statistiques des résultats sont déterminées par des analyses de variance monofactorielle suivies du test de Newman et Keuls au seuil de 5 %.

Dynamique de l'agent pathogène dans le sol

Obtention d'une souche de *F.o.e.* résistante au bénomyl

Après une mutation provoquée aux ultra-violets, on a obtenu une souche de *F.o.e.* résistante au bénomyl (*F.o.e.*_b). Le maintien du pouvoir pathogène et des capacités saprophytiques de cette souche mutante a été vérifié. Elle est cultivée pendant 5 j en milieu liquide agité (10 g d' extrait de malt .l⁻¹). La culture est filtrée (porosité de 40 μm) et le filtrat est centrifugé (3 000 g, 20 min). Le culot (conidies) est mis en suspension dans de l'eau stérile ; cette opération est réalisée 3 fois. La suspension conidienne finale est titrée à la cellule de Malassez.

Infestation des sols

Les sols non-préinfestés, correspondant aux traitements : nu, *Pueraria* et rafles, sont infestés avec 1 x 10⁴ et 1 x 10⁶ spores de *F.o.e.*_b ml⁻¹ de sol. Trois répétitions de 300 ml de sol sont inoculées pour chaque sol et chaque dose d'inoculum. Les sols sont placés dans des boîtes fermées en aluminium maintenues à 23°C.

Lors de l'infestation des sols, de l'eau leur est apportée de telle sorte que le potentiel hydrique final soit voisin de pF3, ce qui correspond à une humidité relative de 14,1 % pour le sol nu, 9,9 % pour le traitement *Pueraria* et 13,1 % pour le traitement rafles. Cette humidité est maintenue constante au cours de la cinétique.

Dynamique de l'agent pathogène en sol naturel

La densité de population de la souche mutante est déterminée à l'aide de la technique des suspensions-dilutions et l'emploi du bénomyl (50 ppm) et de streptomycine (100 ppm) dans un milieu malt acide. Les analyses sont effectuées toutes les semaines pendant 1 mois, puis tous les mois pendant les 3 mois suivants.

Résultats

Caractéristiques microbiologiques des sols

Dans les sols non-préinfestés par l'agent pathogène (figure 1A), les densités des populations totales fongiques sont comprises entre 9,1 x 10⁴ CFU.g⁻¹ sol sec pour le traitement palmier tolérant et 1,8 x 10⁵ CFU.g⁻¹ sol sec pour le traitement rafles. Seules les densités enregistrées dans le traitement rafles sont significativement supérieures, au seuil 5 %, à celles enregistrées dans les autres traitements.

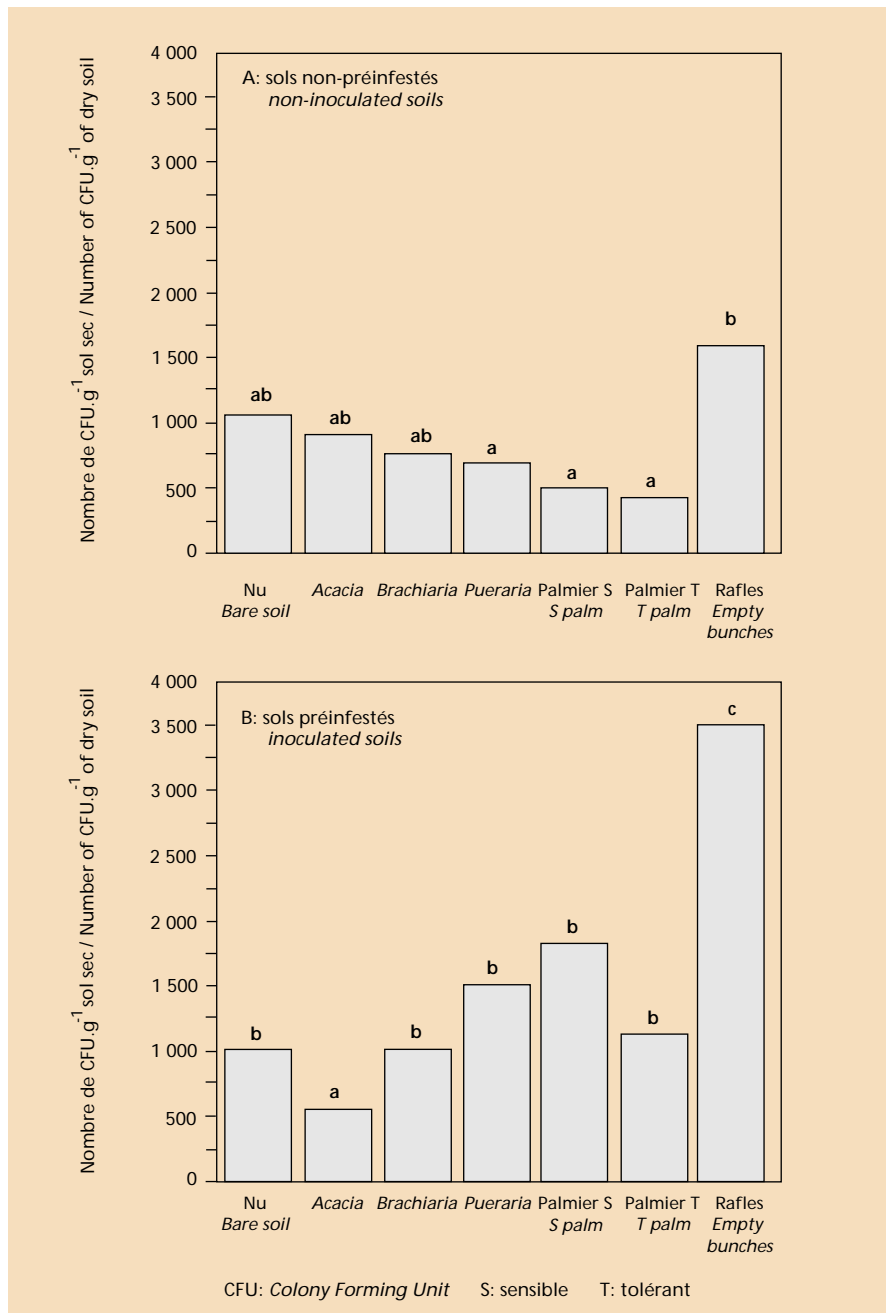


Figure 2. Incidence des techniques culturales sur les densités des populations de *Fusarium* spp. du sol de savane préinfesté (B) ou non (A) avec l'agent pathogène, 13 mois auparavant. / Effect of crop techniques on *Fusarium* spp. population densities in savannah soil inoculated (B) or not inoculated (A) with the pathogen 13 months beforehand.

Les traitements affectés d'une même lettre ne sont pas significativement différents selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5 %.

Treatments with the same letter are not significantly different according to Newman and Keuls' test at 5%.

Dans ces mêmes sols, les densités des populations fusariennes (figure 2A) sont comprises entre 477 CFU.g⁻¹ sol sec pour le traitement palmier tolérant et 1 638 CFU.g⁻¹ sol sec pour le traitement raffles, la densité dans le sol nu étant intermédiaire. Seul le traitement raffles est significativement dif-

férent des traitements palmier sensible, palmier tolérant et *Pueraria*.

Dans les sols préinfestés (figure 1B), les densités des populations totales fongiques sont comprises entre 1,1 x 10⁵ CFU.g⁻¹ sol sec pour le sol nu et 2,1 x 10⁵ CFU.g⁻¹ sol sec pour le traitement *Pueraria*. Les densi-

tés enregistrées dans les traitements *Pueraria* et palmier sensible sont significativement différentes entre elles, et significativement supérieures à celles enregistrées pour les autres traitements.

Les densités des populations fusariennes (figure 2B) varient de 580 CFU.g⁻¹ sol sec, pour le traitement *Acacia*, à 3 481 CFU.g⁻¹ sol sec pour le traitement raffles. Ces 2 traitements sont significativement différents des autres traitements et significativement différents entre eux.

Appréciation du potentiel infectieux des sols

Dans les sols non-préinfestés, le potentiel infectieux naturel (dose 0) est extrêmement faible puisque parmi les 700 plantes utilisées, seules 4 manifestent des symptômes de fusariose dans les traitements palmier sensible, palmier tolérant et *Acacia* (tableau 1).

Dans les sols préinfestés, la maladie se manifeste de manière sporadique dans 5 des 7 traitements (traitements nu, palmier sensible, palmier tolérant, *Acacia* et raffles). Le taux de maladie le plus élevé, enregistré dans le traitement raffles, se limite à 6 %. Le potentiel infectieux demeure donc faible et aucun traitement statistique n'a été réalisé sur ces valeurs très basses.

Niveau de réceptivité des sols

Quel que soit le sol, la dose d'inoculum la plus faible (1 x 10⁴ spores.ml⁻¹) n'induit que des taux de plantes malades extrêmement faibles, la dose intermédiaire (5 x 10⁴ spores.ml⁻¹) permet d'enregistrer des pourcentages de maladie inférieurs à 20 %, la concentration la plus forte (1 x 10⁵ spores.ml⁻¹) induit de fortes incidences de la maladie à partir desquelles la durée de demi-vie des palmiers est calculée (figure 3).

Dans les sols non-préinfestés, les traitements nu et palmier sensible sont les plus réceptifs à la maladie (figure 3A), les durées de demi-vie calculées pour ces sols étant les plus faibles et correspondant respectivement à 114 et 200 j. Le traitement *Pueraria* est le moins réceptif, la durée de demi-vie des palmiers étant égale à 557 jours. Les durées de demi-vie des palmiers dans les autres sols sont intermédiaires.

La préinfestation des sols effectuée avant l'application des traitements modifie peu ces résultats (figure 3B), le sol nu demeure le plus sensible, le sol cultivé en *Pueraria* le plus résistant. La seule différence notable affecte le traitement raffles qui est aussi sensible que le sol nu, alors que sans préinfestation ce traite-

Tableau 1. Appréciation du potentiel infectieux et du niveau de réceptivité des sols à la fusariose du palmier à huile.
Assessment of soil infection potential and receptivity to oil palm vascular wilt.

Traitements/Treatments	Taux de plants fusariés* Percentage of infected plants		
	Dose d'inoculum : spores de F.o.e. ml ⁻¹ sol Inoculum dose: F.o.e. spores.ml ⁻¹ of soil	Bacs non-préinfestés Non-inoculated trays	Bacs préinfestés à 1x10 ⁴ spores de F.o.e. ml ⁻¹ sol Trays inoculated with 1x10 ⁴ F.o.e. spores/ml ⁻¹ of soil
Sol nu/ bare soil	0	0	4
	1.10 ⁴	2	4
	5.10 ⁴	19	17
	1.10 ⁵	65	58
<i>Pueraria javanica</i>	0	0	0
	1.10 ⁴	1	1
	5.10 ⁴	7	9
	1.10 ⁵	11	22
<i>Brachiaria brachylopha</i>	0	0	0
	1.10 ⁴	0	3
	5.10 ⁴	7	5
	1.10 ⁵	35	30
Palmiers sensibles <i>Susceptible oil palms</i>	0	2	3
	1.10 ⁴	0	2
	5.10 ⁴	1	5
	1.10 ⁵	43	35
Palmiers tolérants <i>Tolerant oil palms</i>	0	1	3
	1.10 ⁴	0	2
	5.10 ⁴	4	7
	1.10 ⁵	23	29
<i>Acacia mangium</i>	0	1	1
	1.10 ⁴	1	3
	5.10 ⁴	6	4
	1.10 ⁵	28	28
Rafles <i>Empty bunches</i>	0	0	6
	1.10 ⁴	2	9
	5.10 ⁴	12	15
	1.10 ⁵	32	64

* Pourcentage de plants fusariés lors de la notation finale (186 jours après infestation des sols).
Percentage of plants with vascular wilt at the time of the final observation round (186 days after soil inoculation).

ment ne se distingue pas des autres traitements. En effet, les durées de demi-vie des palmiers sont égales à 131 j pour le sol nu et de 125 j pour le traitement rafles.

Dynamique de la population pathogène

La dynamique de l'agent pathogène a été suivie pendant 140 j dans 3 des 7 sols non-préinfestés : le sol nu, les traitements *Pueraria* et rafles.

L'agent pathogène introduit, à la concentration de 1×10^4 spores.ml⁻¹ (figure 4A), reste pendant le premier mois à un niveau équivalent à celui auquel la souche a été introduite, ensuite il se maintient dans le sol nu à une densité faiblement inférieure à la densité initiale. La dynamique de la souche pathogène dans le traitement rafles est similaire à la pré-

cédente, mais se situe à un niveau de population légèrement inférieur. En revanche, dans le sol *Pueraria*, la densité d'inoculum détectée est d'emblée significativement plus faible que dans les autres traitements : elle est de 1 615 CFU.g⁻¹ sol sec, 36 h après infestation des sols et atteint 238 CFU.g⁻¹ sol sec en fin de cinétique.

L'agent pathogène, introduit à la concentration de 1×10^6 spores.ml⁻¹ (figure 4B), montre une bonne survie dans les traitements nu et rafles (cinétiques non significativement différentes entre elles). Après une stabilité d'un mois, la densité de la population pathogène décroît régulièrement, et représente encore 20 % de la densité initiale après 135 j d'incubation. Le traitement *Pueraria* se caractérise par une densité de population significativement inférieure à la densité initiale

théorique (elle ne représente que 31 % de cette valeur 36 h après inoculation), densité qui se maintient pendant 1 mois. Une décroissance plus accentuée que dans les 2 autres sols est enregistrée pendant les 3 mois suivants (seuls 3 % de la densité initiale théorique ont pu être dénombrés après 135 j d'incubation).

Discussion

L'objectif de cette expérimentation était de déterminer l'influence de certaines pratiques culturales sur le potentiel infectieux, la réceptivité des sols et la gravité de la fusariose vasculaire du palmier.

Les résultats indiquent qu'il est extrêmement difficile de détecter le potentiel infectieux des sols. En effet, dans le sol de savane,

même après infestation artificielle à une concentration de 1×10^4 spores.ml⁻¹, la maladie ne se manifeste que sur un très faible pourcentage de plantes. Ces constatations ont déjà été effectuées pour d'autres fusarioses vasculaires : il est en effet souvent difficile de mettre en évidence le potentiel infectieux d'un sol avec des tests biologiques, même lorsque ceux-ci sont appliqués à des sols prélevés dans des cultures très fusariées.

L'infestation artificielle des sols, avec des concentrations croissantes d'inoculum pathogène afin d'apprécier leur niveau de réceptivité, montre clairement qu'il faut introduire une concentration supérieure à 5×10^4 spores.ml⁻¹ pour enregistrer un pourcentage élevé de plantes malades. Dans ces conditions expérimentales (systèmes de culture, durée d'expérimentation), il semble qu'il existe un seuil en dessous duquel l'agent pathogène est incapable de provoquer la maladie. Cette observation correspond aux résultats antérieurs de de Franqueville (1990) qui doit apporter une densité d'inoculum de l'ordre de 1×10^7 spores par plante pour provoquer une intensité de maladie suffisante à la discrimination des génotypes vis-à-vis de celle-ci (données non publiées).

Dans les sols de palmeraie, l'agent pathogène n'atteint jamais de telles densités. Les analyses microbiologiques montrent en effet que la flore fusarienne totale est de l'ordre de 1 000 germes.g⁻¹ et que l'espèce *F. oxysporum* ne dépasse que très rarement 200 germes.g⁻¹ (Abadie, observation personnelle). On doit admettre que les propagules produites *in vitro* sur des milieux nutritifs extrêmement riches ne possèdent pas les mêmes aptitudes que les propagules sauvages. Cependant, la dynamique de la souche pathogène résistante au bénoïl montre que celle-ci se maintient à des niveaux élevés pendant au moins 135 j. L'absence d'infection des plantes ne s'explique donc pas par la disparition de l'inoculum pathogène mais par un manque de compétitivité de celui-ci.

L'appréciation du niveau de réceptivité des sols montre que, dans tous les cas, le sol nu est le plus favorable à l'expression de la maladie. La mise en culture des sols (tous les traitements sauf le traitement rafles), quelle que soit l'espèce cultivée, tend à diminuer la réceptivité des sols à la fusariose du palmier (le traitement *Pueraria* étant le sol le moins réceptif). Puisque les analyses microbiologiques ne révèlent, dans ces sols, aucune modification quantitative majeure des populations fongiques et fusariennes par rapport à celles enregistrées dans le sol témoin nu, on peut penser que cette diminution de la réceptivité des sols

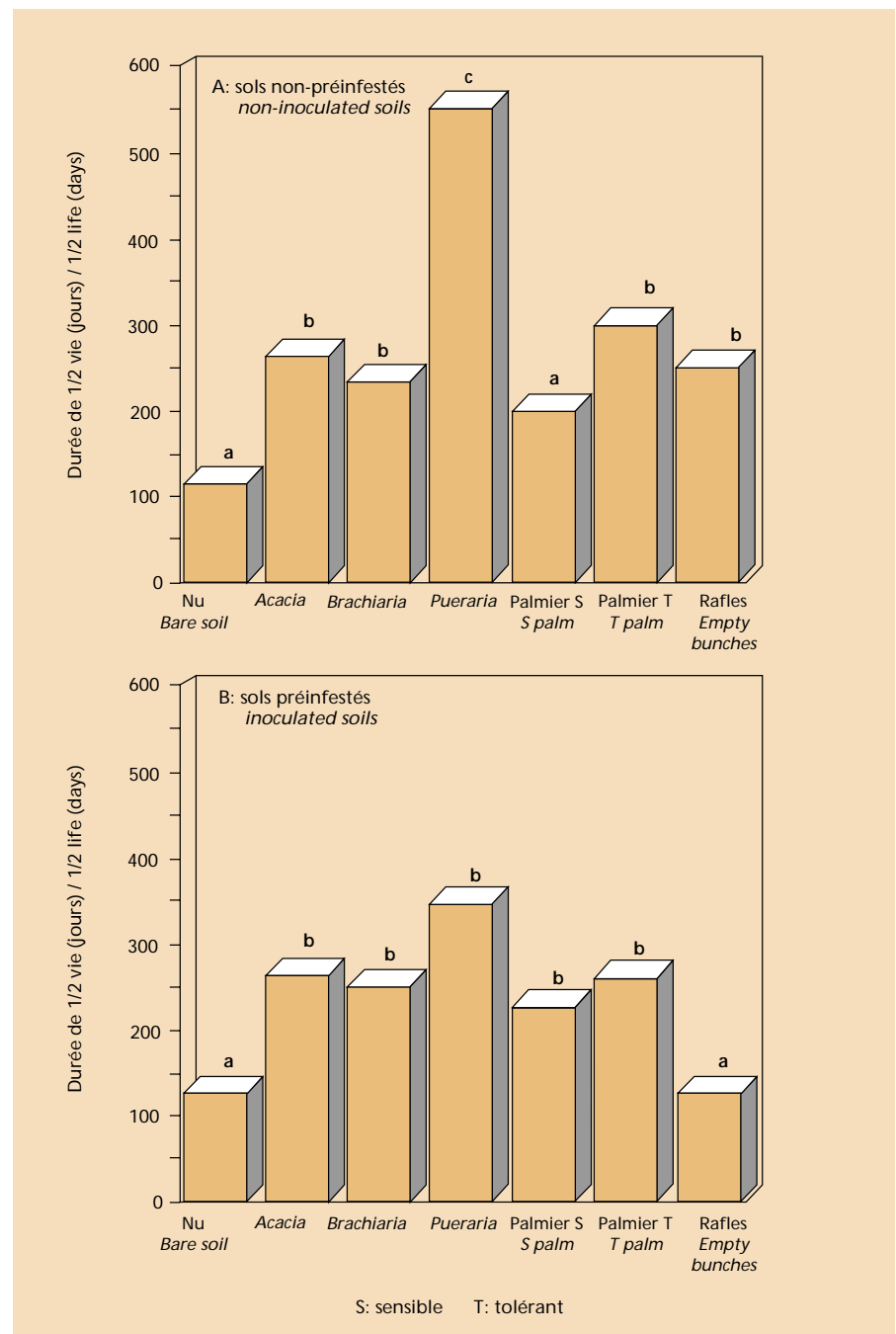


Figure 3. Incidence des techniques culturales sur le niveau de réceptivité à la fusariose du palmier à huile du sol de savane préinfesté (B) ou non (A) avec l'agent pathogène, 13 mois auparavant. / Effect of crop techniques on the receptivity to oil palm vascular wilt of savannah soil inoculated (B) or not inoculated (A) with the pathogen 13 months beforehand.

Les traitements affectés d'une même lettre ne sont pas significativement différents selon un test du Chi² au seuil de 5 %. Dose d'inoculum : 1×10^5 spores de *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*.ml⁻¹ sol. / Treatments with the same letter are not significantly different according to the Chi² test at 5%. Inoculum dose = 1×10^5 *F. Oxysporum* f.sp. *elaeidis* spores.ml⁻¹ of soil.

est en relation avec l'activité des populations microbiennes, beaucoup plus intense dans la rhizosphère des plantes que dans le sol nu. Il a été précédemment démontré que le niveau de résistance des sols aux fusarioses vasculaires est en relation avec l'activité respiratoire des

sols qui traduit l'activité de la biomasse microbienne (Alabouvette *et al.*, 1985).

L'apport de matière organique constituée de rafles se traduit par une baisse du niveau de réceptivité du sol, lorsque celui-ci n'est pas préinfesté par l'agent pathogène, et par le

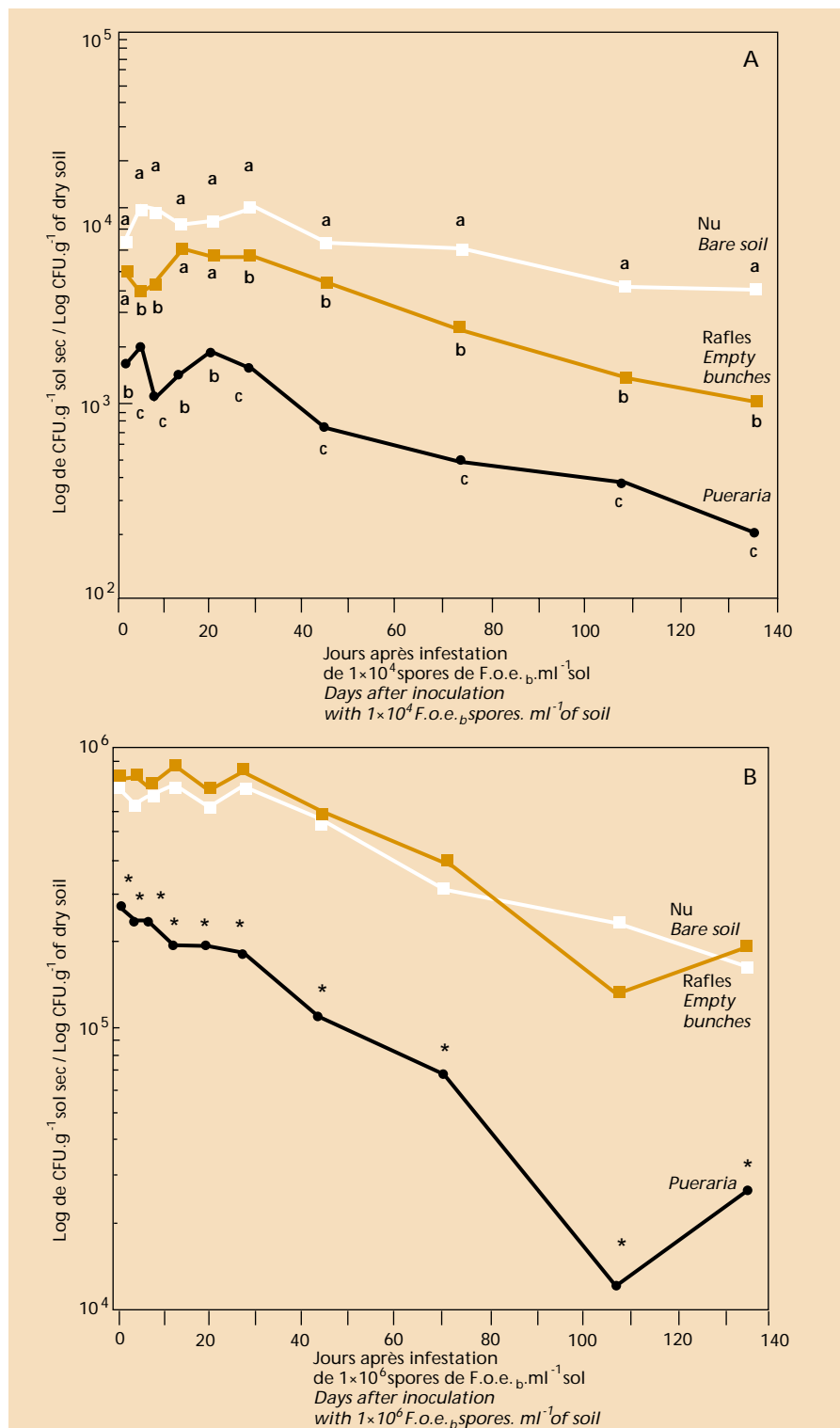


Figure 4. Incidence des techniques culturales sur la dynamique de l'agent pathogène, *F. oxysporum* f.sp. *elaedis*. (*F.o.e._b* = résistant au benomyl), dans le sol de savane infesté avec 1×10^4 (A) et 1×10^6 spores de *F.o.e._b*.ml⁻¹ sol (B). / Effect of crop techniques on the dynamics of the pathogen, *F. oxysporum* f.sp. *elaedis* (*F.o.e._b* = resistant to benomyl) in savannah soil inoculated with 1×10^4 (A) and 1×10^6 *F.o.e._b* spores.ml⁻¹ of soil (B).

Les traitements affectés de lettres différentes ou notées * sont significativement différents selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5 %.

Treatments with the same letter or an asterisk are significantly different according to Newman and Keuls' test at 5%.

maintien d'un niveau de réceptivité comparable à celui du sol nu dans le cas de la préinfestation. Les analyses microbiologiques indiquent que l'apport de matière organique a permis une multiplication de la flore fusarienne et ceci de manière plus importante dans le sol préinfesté. Ainsi, ces résultats laissent penser que, en sol naturel, seules les populations de *Fusarium* spp. non-pathogènes se sont multipliées entraînant une baisse de la réceptivité du sol. Au contraire, en présence de l'agent pathogène, les populations pathogènes et non-pathogènes sont affectées de la même manière ; le rapport pathogène/non-pathogène reste stable, d'où le maintien du niveau de réceptivité du sol.

L'effet bénéfique d'une culture de *Pueraria*, qui tend à abaisser le niveau de réceptivité des sols à la fusariose du palmier à huile, peut s'expliquer par un effet inhibiteur des exsudats racinaires de cette plante sur l'agent pathogène. En effet, contrairement à ce qui est enregistré pour le sol nu, la densité d'inoculum artificiel introduite dans le sol *Pueraria* chute brutalement, comme si le sol présentait une substance toxique pour l'agent pathogène.

Ainsi, ce type d'expérimentation constitue un bon modèle d'étude de l'influence des techniques culturales sur la fusariose du palmier à huile. En effet, cet essai a révélé des modifications des caractéristiques microbiologiques des sols traités pouvant expliquer les différences d'incidence de la maladie.

Cependant, les résultats de cette expérimentation s'opposent pour certains points aux observations de terrain qui ont précédé la mise en place de cet essai. En effet, les parcelles désherbées présentaient un taux de fusariose inférieur à celui des parcelles portant des plantes de couverture alors que dans cet essai, les plus faibles taux de maladie sont enregistrés dans les sols cultivés. Il faut remarquer que, dans notre expérimentation, le sol témoin nu est un sol très réceptif à la fusariose. En effet, le sol de savane, n'ayant jamais été cultivé en palmier, renferme des populations microbiennes et en particulier des populations fusariennes très différentes de celles présentes dans les sols de la palmeraie (données personnelles). Dans ces sols de palmeraie, la culture de palmier depuis plus de 30 ans a pu induire une forte pression de sélection sur les populations microbiennes qui peuvent expliquer les différences de résultats obtenues. Il a été montré qu'une monoculture de blé (Shipton, 1977) entraîne, au cours du temps, la sélection de populations microbiennes antagonistes de *Gaeumannomyces graminis*, responsables de l'évolution du sol vers sa résistance au piétin-échaudage. Ainsi,

les populations fongiques présentes dans le sol de savane auraient de faibles capacités antagonistes vis-à-vis de *F.o.e.*, ce qui expliquerait le niveau élevé de réceptivité de ce sol à la fusariose.

Par ailleurs, puisque la gravité d'une maladie d'origine tellurique résulte de l'interaction entre le potentiel infectieux du sol et la réceptivité de la culture à la maladie, il se peut que la faible incidence de la fusariose observée sur le terrain dans les parcelles désherbées soit plus régie par la culture que par le sol. Des phénomènes physiques ou physiologiques (compétition hydrique, mécanismes de défense de la plante exacerbés) couplés à des facteurs environnementaux (micro-pédoclimatiques) pourraient expliquer les faibles taux de maladie enregistrés sur le terrain et, ainsi, les apparentes contradictions des résultats obtenus. Celles-ci sont liées aux différences entre les conditions expérimentales et les conditions de terrain (environnement, durée des expérimentations).

Sur le plan agronomique, cet essai est riche d'enseignements. Nous pouvons en effet considérer que le traitement palmier tolérant préinfesté représente le mieux la situation rencontrée en palmeraie, dans le cas de replantation en zone fusariée. Dans ces conditions, nos résultats montrent que l'apport de rafles peut présenter des risques pour une replantation de matériel végétal moyennement tolérant sur une parcelle infestée. Une jachère cultivée en *Acacia* ne modifiera pas le potentiel infectieux du sol, alors qu'une jachère en *Pueraria* abaisse ce potentiel infectieux. Ces résultats concordent avec une observation antérieure (de Franqueville, communication personnelle) qui a montré qu'une jachère, cultivée en *Pueraria* sur une parcelle fortement infestée, a permis de ramener le niveau de la maladie à celui d'une parcelle faiblement infestée. ■

Remerciements

Ces travaux font partie d'un projet de recherche STD3 et ont pu être réalisés grâce à un financement européen. Ils ont été conduits en collaboration avec l'Idefor-DPO sur la plantation Robert Michaux en Côte d'Ivoire.

Bibliographie / References

- ABADIE C., 1995. La fusariose du palmier à huile : influence des facteurs édaphiques et culturaux sur la gravité de la maladie. Thèse de doctorat, université Paris XI, Orsay, France, 145 p.
- ALABOUVETTE C., COUTEAUDIER Y., LOUVET J., 1982. Comparaison de la réceptivité de différents sols et substrats de culture aux fusarioses vasculaires. *Agronomie* 2 (1) : 1-16.
- ALABOUVETTE C., COUTEAUDIER Y., LOUVET J., 1984. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. IX. Dynamique des populations de *Fusarium* spp. et *F. oxysporum* f.sp. *melonis* dans un sol résistant et dans un sol sensible aux fusarioses vasculaires. *Agronomie* 4 (8) : 729-733.
- ALABOUVETTE C., COUTEAUDIER Y., LOUVET J., 1985. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. XII. Activité respiratoire dans un sol résistant et un sol sensible aux fusarioses vasculaires enrichis en glucose. *Agronomie* 5 (1) : 69-72.
- BOUHOT D., 1980. Le potentiel infectieux des sols. Thèse de doctorat d'état, université de Nancy, France, 151 p.
- FRANQUEVILLE H. DE, RENARD J.L., 1988. La fusariose du palmier à huile en replantation. Méthodes d'études et mise en évidence de quelques facteurs de l'environnement sur l'expression de cette maladie. *Oléagineux* 43 (4) : 149-157.
- FRANQUEVILLE H. DE, RENARD J.L., 1990. Bilan de l'amélioration du niveau de tolérance du palmier à huile à la fusariose. Evolution de la maladie sur la plantation R. Michaux. *Oléagineux* 45 (10) : 399-405.
- HARTLEY C.W.S., 1988. The oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). 3th ed. Essex, Grande-Bretagne, Longman, Tropical Agriculture Series, 762 p.
- KOMADA H., 1975. Development of a selective medium for a quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Rev. Plant Prot. Res.* 8 : 114-125.
- LOCKE T., COLHOUN J., 1974. Contributions to a method of testing oil palm seedlings for resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaedis*. *Phytopathol. Z.* 79 (2) : 77-92.
- LOCKWOOD J., 1988. Evolution of concepts associated with soil-borne plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26 : 93-121.
- MEUNIER J., GASCON J.P., 1972. Le schéma général d'amélioration du palmier à huile. *Oléagineux* 27 (1) : 1-12.
- MEUNIER J., RENARD J.L., QUILLIC G., 1979. Hérité de la résistance à la fusariose chez le palmier à huile *Elaeis guineensis* Jacq. *Oléagineux* 34 (12) : 555-561.
- POCHON, TARDIEUX, 1962. Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Saint-Mandé, France, Editions de la Tourelle 11, 108 p.
- PRENDERGAST A.G., 1963. A method of testing oil palm progenies at the nursery stage for resistance to vascular wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* Schl. J. West Afr. Inst. Oil Palm Res. 4 (14) : 156-175.
- RENARD J.L., NOIRET J.M., MEUNIER J., 1980. Sources et gammes de résistance à la fusariose chez les palmiers à huile *Elaeis guineensis* et *Elaeis melanococca*. *Oléagineux* 35 (8-9) : 387-393.
- RENARD J.L., FRANQUEVILLE H. DE, 1991. Intérêt des techniques culturales dans un dispositif de lutte intégrée contre la fusariose du palmier à huile. *Oléagineux* 46 (7) : 255-265.
- RENARD J.L., GASCON J.P., BACHY A., 1972. Recherches sur la fusariose du palmier à huile. *Oléagineux* 27 (12) : 581-591.
- RENARD J.L., QUILLIC G., 1983. Fusariose et replantation. Eléments à prendre en considération pour les replantations de palmier à huile en zone fusariée en Afrique de l'Ouest. *Oléagineux* 38 (7) : 421-427.
- SHIPTON P.J., 1977. Monoculture and soilborne plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.* 15 : 387-407.

Effect of some crop techniques on the severity of oil palm vascular wilt

Abadie C. ¹, de Franqueville H. ², Renard J.L. ¹, Alabouvette C. ³

¹ CIRAD-CP, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

² CIRAD-CP, laboratoire de phytopathologie, plantation Robert Michaux, IDEFOR-DPO, BP 8, Dabou, Côte d'Ivoire

³ CMSE, laboratoire de recherches sur la flore pathogène du sol, INRA, 17 rue Sully, 21034 Dijon Cedex, France

Vascular wilt is the main disease affecting oil palm in West Africa (Hartley, 1988). Varietal resistance is the most effective way of controlling vascular wilt caused by *Fusarium*. Much work has been devoted to breeding crosses tolerant of the disease (Locke and Colhoun, 1974; Meunier *et al.*, 1979; Prendergast, 1963; Renard *et al.*, 1972; Renard *et al.*, 1980). With the development of a reciprocal recurrent selection scheme (Meunier and Gascon, 1972) and systematic sorting of crosses in the nursery (Renard *et al.*, 1972), it is now possible to replace susceptible crosses with genotypes that are much more tolerant of vascular wilt. Since affected areas have been replanted with tolerant genotypes, disease incidence has fallen substantially (de Franqueville and Renard, 1990). Attention is now being switched to a certain number of soil and cropping factors that also seem to govern the severity of the disease. A comparison of how genotypes with a similar degree of susceptibility perform led to hypotheses on the positive or negative effect of certain crop techniques such as weeding or organic matter applications on vascular wilt expression.

Trials carried out at the Robert Michaux experimental plantation in Dabou, Côte d'Ivoire, showed that vascular wilt incidence varies depending on whether plots are weeded or, on the contrary, planted with various cover crops. Renard and Quillec (1983) observed that vascular wilt affected just 7.4% of palms in a weeded plot compared to 12.4% in a plot planted with *Pueraria* sp. Replacing *Pueraria* sp. with *Brachiaria* sp. reduced vascular wilt incidence by 27%. Another experiment confirmed that manual or chemical weeding in plots helps to reduce vascular wilt incidence compared to plots planted with legume cover crops (*Calopogonium* sp., *Centrosema* sp., *Pueraria* sp.).

The previous crop is another factor affecting vascular wilt severity. When replanting affected zones, the disease occurs more rapidly and more severely in plots initially planted with a first

generation of susceptible palms than in plots planted with palms tolerant of the disease (de Franqueville and Renard, 1988; Renard and Quillec, 1983).

Leaving empty bunches on the soil can increase vascular wilt severity to varying degrees, depending on how many are applied and where: at the foot of the palms or in the interrows (Renard and de Franqueville, 1991). Given the agronomic merits of such a technique, which contributes to potassium fertilization and increase organic matter content, it was important to study its effect on vascular wilt.

The aim of this trial was to confirm the validity of the field observations and correlate them to the microbiological characteristics of soils modified by different cultivation factors. In fact, the severity of diseases that originate in the soil depends not only on the receptivity of the crop in question, but also on the inoculum potential of the soil, which corresponds to the pathogenic energy available on the surface of the sensitive organs of the host plant (Lockwood, 1988). The inoculum potential of a soil arises from the interaction between the pathogen population and the receptivity of the soil, i.e. a whole range of biotic and abiotic factors that govern pathogen survival and activity in the soil (Bouhot, 1980; Alabouvette *et al.*, 1982). Studies of *Fusarium* wilt suppressive soils showed that the antagonistic activity of the soil microflora can sometimes inhibit expression of the pathogen's infection capacity. Although the pathogen was present in the soils studied, the resulting disease incidence was not very high (Alabouvette *et al.*, 1984).

As in the studies of other types of *Fusarium* wilt, such as that of tomato (Bouhot, 1980), we assumed that the low vascular wilt incidence in some plots resulted from a reduction in the infection capacity of the soil, either due to a fall in the natural pathogenic inoculum density or to a drop in soil receptivity as a result of the cultivation factors studied. This was the first time that this type of scientific approach had been applied to a tropical tree crop. To check

the validity of our assumption, soil samples that were either not inoculated or inoculated at a dose of 1×10^4 *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (F.o.e.) spores.ml⁻¹ of soil were subjected to the following seven treatments:

- manual weeding (bare soil treatment) compared to fallow with *Pueraria* or *Brachiaria*;
- planting with oil palms that were either tolerant or susceptible to vascular wilt, compared to *Acacia mangium*;
- empty bunches, at a rate of 100 t/ha.

After 13 months, soil samples were taken from each plot for microbiological analyses, to determine the level of receptivity of the soils to oil palm vascular wilt.

Material and methods

Artificial inoculation of the soil

The soil used was from the so-called "Dabou savannah" zone, which had never been planted with oil palm. Its pH was acid (pH_{water} = 4.4) and its texture sandy clay (71% sand, 8% loam, 21% clay).

A *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (F.o.e.) strain kept in sterile soil was transferred to PDA (Potato Dextrose Agar), cultured at 25°C for seven days in Roux flasks containing Armstrong medium (Abadie, 1995), filtered (porosity: 100 µm) and then homogenized for 30 seconds before determining the density of the resulting conidial suspension with a Malassez unit.

The spore suspension was diluted to ensure a sufficient soil moisture content and effective inoculum distribution (23% in relation to dry weight). The liquid inoculum was sprayed onto the soil and then mixed in by hand to ensure uniform distribution. The inoculum dose was 1×10^4 F.o.e. spores.ml⁻¹ of soil. The non-inoculated control soils were also watered.

Experimental design

A non-shaded area of compacted earth was flattened and a trench some thirty centimetres deep dug to drain off rainwater. Trays with a volume of 2 m³ (5 x 2 x 0.20 m) were isolated

from the ground by a plastic tarpaulin and filled with savannah soil.

Treatments

The control plots were hand-weeded (bare soil treatment). In the cultivated plots, *Pueraria javanica* and *Acacia mangium* seeds were sown; *Brachiaria brachylopha* cuttings were planted at a density of 16 plants.m⁻². Tolerant oil palm plantlets, at the one or two leaf stage, and germinated seeds of a susceptible variety were planted out at a density of 16 plants.m⁻². (Photo 1)

The organic matter treatment involved digging in 50 kg of finely chopped empty bunches (mill waste after stripping the bunches) per m³ of soil (i.e. 100 t.ha⁻¹).

After 13 months' incubation, a soil sample was taken from each tray, placed under shelter for 4 days and then sieved through a 5 mm mesh.

Measurement of soil infection potential and receptivity

The inoculum potential was assessed by transferring susceptible oil palm plantlets directly to the soil samples taken from the trays. This method corresponded to the "dose 0" control treatments for measuring soil receptivity, consisting in transferring susceptible oil palm plantlets to soil samples from trays artificially inoculated with increasing doses of pathogenic inoculum.

Artificial soil inoculation

The inoculum was prepared under the same conditions as above. Three doses were used (1x10⁴, 5x10⁴ and 1x10⁵ F.o.e. spores.ml⁻¹ of soil); the non-inoculated control was watered.

When inoculating the soils, enough water was applied to ensure a final soil moisture content of 18% in relation to dry weight. The inoculated soils were mixed in a concrete mixer for 2 min. For each inoculum dose and each soil treatment, five replicates of 20 l of soil were inoculated and placed in five times 20 plastic bags.

Plantlet transfer and disease recording

Oil palm plantlets susceptible to vascular wilt, grown on damp sand up to the 2 leaf stage, were transferred individually to the plastic bags containing inoculated soil (photo 2).

Fortnightly vascular wilt records began a month after soil inoculation and lasted for 5 months. When carrying out the last observations, the pseudobulb of the plantlets was dissected lengthwise and internal symptoms were recorded.

Statistical analysis of results

The kinetics of disease development were analysed using the LIFEREG function of the SAS software. This parametric test calculated the half-life time for the plants (time when 50% of the palms were affected), for each inoculum

dose and each soil. The lower this value, the higher the disease incidence. The Chi² test was carried out to compare these half-life values statistically, at the 5% threshold.

Microbiological analyses

Soil microbial populations were counted using the suspension-dilution technique (Pochon and Tardieux, 1962). Three replicates of 10 g of fresh soil were analysed per soil type.

Using an acid malt medium (250 ppm of citric acid) and Komada medium (Komada, 1975), the total fungal flora and total *Fusarium* flora were quantified respectively. One millilitre of the appropriate soil dilutions was added to 10 ml of medium maintained in superfusion (40°C). Five dishes were inoculated per dilution level and per replicate. The colonies were counted after 4 and 8 days' incubation at 25°C.

The results were expressed as the number of CFU (Colony Forming Units) per g of dry soil. The data were processed by the decimal logarithmic function and the statistical differences determined by monofactorial analyses of variance, followed by the Newman and Keuls test at the 5% threshold.

Pathogen dynamics in the soil

Obtaining an F.o.e. strain resistant to benomyl

After mutation under ultraviolet light, we obtained an F.o.e. strain resistant to benomyl (F.o.e._b). The ability of the mutant strain to maintain its pathogenic and saprophytic capacities was checked. The strain was cultured for five days in a stirred liquid medium (10 g of malt extract.l⁻¹). The culture was filtered (40 µm mesh) and the filtrate centrifuged (3,000 g, 20 min). The pellet (conidia) was suspended in sterile water; the operation was repeated three times. The final conidial suspension was titrated using a Malassez unit.

Soil inoculation

The non-inoculated soils, corresponding to the bare soil, *Pueraria* and empty bunch treatments, were inoculated with 1x10⁴ and 1x10⁶ F.o.e._b spores.ml⁻¹ of soil. Three replicates of 300 ml of soil were inoculated for each soil and each inoculum dose. The soils were placed in sealed aluminium boxes and kept at 23°C.

When inoculating the soils, water was added to bring the final water potential up to around pF3, corresponding to a relative humidity of 14.1% for bare soil, 9.9% for the *Pueraria* treatment and 13.1% for the empty bunch treatment. This humidity was maintained throughout the kinetics.

Pathogen dynamics in natural soil

The mutant strain population density was determined using the suspension-dilution technique, with benomyl (50 ppm) and

streptomycin (100 ppm) in an acid malt medium. Analyses were carried out every week for a month, then once 1 month for the next 3 months.

Results

Microbiological characteristics of the soils

In the soils not inoculated with the pathogen (figure 1A), total fungal population densities were between 9.1x10⁴ CFU.g⁻¹ of dry soil for the tolerant oil palm treatment and 1.8x10⁵ CFU.g⁻¹ of dry soil for the empty bunch treatment. Only the densities recorded in the empty bunch treatment were significantly higher than those in the other treatments, at the 5% threshold.

In these same soils, *Fusarium* population densities (figure 2A) were between 477 CFU.g⁻¹ of dry soil in the tolerant oil palm treatment and 1,638 CFU.g⁻¹ of dry soil in the empty bunch treatment, with the density in bare soil somewhere in between. Only the empty bunch treatment differed significantly from the susceptible oil palm, tolerant oil palm and *Pueraria* treatments.

In the inoculated soils (figure 1B), total fungal population densities were between 1.1x10⁵ CFU.g⁻¹ of dry soil for the bare soil treatment and 2.1x10⁵ CFU.g⁻¹ of dry soil for the *Pueraria* treatment. The densities recorded in the *Pueraria* and susceptible oil palm treatments differed significantly from each other and were significantly higher than those recorded in the other treatments.

Fusarium population densities (figure 2B) varied from 580 CFU.g⁻¹ of dry soil for the *Acacia* treatment to 3,481 CFU.g⁻¹ of dry soil for the empty bunch treatment. These two treatments were significantly different from the other treatments and from each other.

Assessment of soil inoculum potential

In the non-inoculated soils, the natural inoculum potential (dose 0) was extremely low, since of the 700 plants used, only four showed symptoms of vascular wilt in the susceptible oil palm, tolerant oil palm and *Acacia* treatments (table 1).

In the inoculated soils, the disease was seen sporadically in five of the seven treatments (bare soil, susceptible oil palm, tolerant oil palm, *Acacia* and empty bunch treatments). The highest disease incidence, recorded in the empty bunch treatment, was just 6%. The infection potential therefore remained low, and these very low values were not processed statistically.

Soil receptivity

Irrespective of the soil type, the lowest inoculum dose (1x10⁴ spores.ml⁻¹) only caused very low

rates of infected plants, the intermediate dose (5×10^4 spores.ml⁻¹) led to disease rates of less than 20% and the highest concentration (1×10^5 spores.ml⁻¹) resulted in high disease incidence rates, from which the half-life of the palms was calculated (figure 3).

In the non-inoculated soils, the bare soil and susceptible oil palm treatments were the most receptive to the disease (figure 3A); the half-life values calculated for these soils were the lowest, corresponding to 114 and 200 days respectively. The *Pueraria* treatment was the least receptive, with a half-life of 557 days. The half-life values for the palms in the other soils fell in between.

Inoculating the soils before applying the treatments had little effect on these results (figure 3B): bare soil remained the most receptive and soil planted with *Pueraria* the most suppressive. The only notable difference was in the empty bunch treatment, which was as receptive as bare soil, whereas without inoculation, the treatment was no different from the others. The half-life values were 131 days in the bare soil treatment and 125 days in the empty bunch treatment.

Pathogen population dynamics

Pathogen dynamics were monitored for 140 days in 3 of the 7 non-inoculated soils: bare soil and the *Pueraria* and empty bunch treatments.

The pathogen introduced, at a concentration of 1×10^4 spores.ml⁻¹ (figure 4A), remained at the initial inoculation density for the first month, before being maintained at a slightly lower level. Pathogen strain dynamics in the empty bunch treatment were much the same, but population levels were slightly lower. However, in the *Pueraria* treatment, the inoculum density detected was significantly lower than in the other treatments from the outset: 1,615 CFU.g⁻¹ of dry soil 36 hours after inoculation, falling to 238 CFU.g⁻¹ of dry soil by the end of the kinetics.

The pathogen, introduced at a concentration of 1×10^6 spores.ml⁻¹ (figure 4B), survived well in the bare soil and empty bunch treatments (the kinetics of the two treatments were not significantly different). After remaining stable for a month, pathogen population density fell steadily, still representing 20% of the initial density after 135 days' incubation. The *Pueraria* treatment was characterized by a population level significantly below the theoretical initial density (representing only 31% of the initial value 36 hours after inoculation), which was maintained for 1 month. A more marked reduction was observed during the following three months than in the other 2 soils (only 3% of the theoretical initial density were observed after 135 days' incubation).

Discussion

The aim of these experiments was to determine the effect of certain crop techniques on soil inoculum potential and receptivity and oil palm vascular wilt severity.

The results showed that it was extremely difficult to determine soil inoculum potential. In fact, in the savannah soil, even after artificial inoculation at a concentration of 1×10^4 spores.ml⁻¹, the disease was only seen on a small percentage of plants. These phenomena had already been seen for other vascular wilts: in fact, it is often difficult to determine the inoculum potential of a soil with bioassays, even when they are applied to soils sampled from areas severely affected by vascular wilt.

Artificially inoculating soils with increasing doses of pathogen inoculum to assess the level of receptivity clearly showed that a concentration of over 5×10^4 spores.ml⁻¹ has to be inoculated to result in a high percentage of diseased plants. Under these experimental conditions (cropping systems, experiment duration), there seemed to be a threshold below which the pathogen was incapable of causing the disease. This observation tallied with previous results obtained by de Franqueville (1990), who had to apply an inoculum density of around 1×10^7 spores per plant to cause sufficient disease intensity to be able to distinguish between the performance of different genotypes with respect to the disease (unpublished results).

The pathogen never reaches such densities in oil palm plantation soils. In fact, microbiological analyses showed that the total *Fusarium* flora was around 1,000 CFU.g⁻¹ and that the *F. oxysporum* species rarely exceeded 200 CFU.g⁻¹ (Abadie, personal observation). It has to be admitted that propagules produced *in vitro* on extremely rich nutrient media do not have the same capacities as wild propagules. However, the dynamics of the benomyl-resistant pathogen strain showed that it remains at high levels for at least 135 days. The failure to infect plants is not due to the disappearance of the pathogen inoculum, but to its lack of competitiveness.

An assessment of soil receptivity showed that in every case, bare soil was more receptive to disease expression. Planting the soils (all treatments except empty bunches) with whatever species tended to reduce soil receptivity to oil palm vascular wilt (the *Pueraria* treatment was the least receptive soil). Since microbiological analyses failed to reveal any major quantitative change in fungal and *Fusarium* population levels compared to those in the bare soil control, we can assume that the reduction in soil receptivity is linked to microbial population activity, which is much more intense in plant rhizospheres than in bare

soil. It was previously shown that the level of soil suppressiveness with respect to *Fusarium* wilts was linked to soil respiratory activity, which reflects microbial biomass activity (Alabouvette *et al.*, 1985). Applying organic matter (empty bunches) resulted in reduced soil receptivity if the soil had not been inoculated with the pathogen, and in the maintenance of a level of receptivity comparable to that of bare soil in the event of inoculation. Microbiological analyses showed that adding organic matter enabled *Fusarium* flora multiplication which was more substantial than in inoculated soil. These results suggest that in natural soils, only non-pathogenic *Fusarium* spp. populations multiplied, leading to a drop in soil receptivity. On the contrary, in the presence of the pathogen, pathogenic and non-pathogenic populations were affected in the same way; the pathogenic:non-pathogenic ratio remained stable, hence maintaining soil receptivity.

The beneficial effect of planting *Pueraria*, which tends to reduce soil receptivity to oil palm vascular wilt, can be attributed to the inhibitive effect on the pathogen of substances exuded by its roots. In fact, contrary to what was seen in bare soil, the density of the artificial inoculum added to the *Pueraria* soil fell sharply, as if the soil contained a substance toxic to the pathogen.

This type of work is therefore a good model for studying the effect of crop techniques on oil palm vascular wilt, since it revealed modifications in the microbiological characteristics of the treated soils which could explain the variations in disease incidence.

However, the results of these experiments contradicted the field observations carried out before the trial, at least in some respects. In fact, weeded plots had a lower vascular wilt rate than plots with cover crops, whereas in our trial, the lowest disease rates were seen in planted soils. It is important to bear in mind that in our trial, the bare soil control was highly receptive to vascular wilt: since the savannah soil has never been planted with oil palm, it contains microbial, and particularly *Fusarium* populations that are very different from those in oil palm plantation soils (personal data). In the oil palm plantation soils, growing oil palm for over 30 years has imposed high selection pressure on the microbial populations, which may explain the different results obtained. It has been shown that in time, a wheat monoculture (Shipton, 1977) leads to the selection of *Gaeumannomyces graminis* antagonistic populations, which are responsible for the soil developing take-all suppressiveness. The fungal populations in savannah soil would therefore seem to have low antagonistic capacities with respect to F.o.e., which would explain the high receptivity of this soil to vascular wilt.

Moreover, since the severity of a soil disease results from the interactions between soil inoculum potential and crop receptivity to the disease, the low vascular wilt incidence observed in the field and in weeded plots may be governed more by the crop than by the soil. Physical or physiological phenomena (competition for water, exacerbated plant defence mechanisms), combined with environmental factors (soil microclimate) could explain the low disease rates recorded in the field, hence the apparently contradictory results obtained, which were linked to the difference between experimental

conditions and field conditions (environment, trial duration).

From an agronomic point of view, the trial was a mine of information. In fact, we can consider that the inoculated tolerant oil palm treatment was most representative of the situation in oil palm plantations, in the event of replanting zones affected by vascular wilt. Under these conditions, our results showed that applying empty bunches can be risky when replanting infected plots with moderately tolerant material. *Acacia* on fallow land will not modify the inoculum potential of the soil, whereas

Pueraria reduces it. These results tally with previous observations (de Franqueville, personal communication), which showed that *Pueraria* fallow in a highly infested plot brought disease levels down to those of only slightly infected plots.■

Acknowledgements

This work was carried out under an STD3 project, with European funding, in conjunction with IDEFOR-DPO at the Robert Michaux Plantation, Côte d'Ivoire.