

## Résumé

La maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa, due à *Microcyclus ulei* (M.u.), reste le principal obstacle au développement de l'hévéaculture en Amérique latine. Dès 1960, le M.u. contourne le matériel végétal, issu de croisements interspécifiques, censé lui résister et révèle sa variabilité. L'étude de cette dernière commence au Brésil et se poursuit en Guyane. Là, l'inoculation d'une gamme de 10 clones différentiels avec 16 isolats de M.u. révèle la présence de 7 facteurs de virulence et de 12 races de *Microcyclus*, d'où une grande capacité de diversification du champignon face à la population-hôte.

## Abstract

South American Leaf Blight caused by *Microcyclus ulei* (M.u.) remains the main obstacle to the development of rubber cultivation in Latin America. As early as 1960, M.u. overcame the supposed resistance of the planting material derived from interspecific crosses, and revealed its variability. Studies of its variability began in Brazil and are continuing in French Guiana, where the inoculation of a range of 10 differential clones with 16 M.u. isolates has revealed the existence of 7 virulence factors and 12 *Microcyclus* races, hence the substantial diversification capacity of this fungus with respect to the host population.

## Resumen

La enfermedad suramericana de las hojas del hevea causada por *Microcyclus ulei* (M.u.) sigue siendo el principal obstáculo al desarrollo de la heveicultura en América latina. A partir de 1960, el M.u. evita el material vegetal, oriundo de cruzamientos interespecíficos, dado como resistiéndole y demuestra su variabilidad. El estudio de este último empieza en Brasil y se prosigue en Guayana. Allí, la inoculación de una gama de 10 clones diferenciales con 16 aislados de M.u. revela la presencia de 7 factores de virulencia y de 12 razas de *Microcyclus*, de donde una gran capacidad de diversificación del hongo frente a la población-huésped.

# La maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa

## I. Variabilité du pouvoir pathogène de *Microcyclus ulei*

### Rivano F.

CIRAD-CP, c/o Gremial de Huleros, 7 A Avenida. 11-63, zona 9, Edificio España, 3° nivel, Guatemala CA, Guatemala

La maladie sud-américaine des feuilles (*South American Leaf Blight* : SALB), provoquée par le champignon ascomycète *Microcyclus ulei* (P. Henn.) von Arx., constitue, depuis le début du siècle, le principal obstacle au développement de l'hévéaculture en Amérique latine. La production de caoutchouc naturel de celle-ci représente, en 1996, moins de 2 % de la production mondiale (photo 1). Aujourd'hui, la maladie s'étend depuis le sud du Mexique (18° de latitude nord) jusqu'à l'Etat de São Paulo au Brésil (24° de latitude sud). L'Asie et l'Afrique, qui fournissent plus de 95 % de la production mondiale en caoutchouc naturel, sont épargnées. L'introduction du parasite dans ces continents serait catastrophique car le matériel végétal planté est hautement sensible au *Microcyclus*.

Depuis plus d'un demi-siècle, tous les efforts entrepris pour mettre au point des méthodes de lutte (agronomique, biologique ou chimique) n'ont pas donné les résultats escomptés. La culture de l'hévéa a dû être déplacée vers des zones marginales du bassin amazonien pour échapper à la maladie. La lutte génétique est considérée comme la voie la plus prometteuse pour l'avenir de l'hévéaculture sur le continent sud-américain.

En 1937, Ford lança le premier programme d'amélioration génétique sur ses plantations de Santarem. Mais, en raison des ravages du *Microcyclus ulei* (M.u.), il

dut abandonner en 1946. Firestone le relaya en 1949 en développant un réseau comprenant le Guatemala (*finca* Clavellinas), le Brésil (*fazenda* Tres Pancadas, Etat de Bahia), la Floride (station de quarantaine) et le Liberia. Dans ce programme de lutte, Firestone utilisa comme source de résistance le matériel sélectionné au Brésil dans la plantation Ford et à l'Instituto Agronomico do Norte (IAN), (Bos et McIndoe, 1965).

Ces premières sources de résistance provenaient des populations sauvages d'*Hevea brasiliensis*, rencontrées dans le bassin amazonien. On trouva des arbres à résistance élevée dans l'Acre (Brésil), dans le Madre de Dios (Pérou) ainsi que dans une région commune au Brésil, au Pérou et à la Colombie, entre Leticia et Iquitos. Holliday (1970) pense que c'est dans cette vaste région que vivent des populations hautement résistantes de *H. brasiliensis*.

Deux espèces, *H. pauciflora* et surtout *H. benthamiana* (Rio Negro), ont été utilisées pour leur très haut niveau de résistance ; surtout le clone F 4542 (Ford 4542), employé comme parent résistant dans les programmes de croisement. L'espèce *H. pauciflora*, totalement résistante au SALB mais non productive, présentait un intérêt pour sa vigueur et l'absence d'hivernage (Chee *et al.*, 1986).

Pour améliorer la résistance de l'hévéa au SALB, les meilleurs résultats ont été obtenus par croisements interspécifiques



F. Rivano

**Photo 1.** Clone sensible (RRIC 121), ravagé par *Microcyclus ulei*. / Susceptible clone (RRIC 121), seriously affected by *Microcyclus ulei*.

entre *H. brasiliensis* et *H. benthamiana*. Cependant, la base génétique de la résistance se limita essentiellement au clone F 4542 en raison, notamment, de sa résistance au *Phytophthora* de feuilles (Holliday, 1970 ; Pinheiro et Libonati, 1971).

Chez *H. brasiliensis*, les sources primaires de résistance pour effectuer les croisements précédents proviennent de l'Acre (Brésil) et sont réduites aux clones F 351, F 409, FA 1717 des sélections Ford. Les clones recommandés, et le plus largement plantés, en Amérique du Sud sont des clones de première génération (F1), dont :

- *H. brasiliensis* x *H. benthamiana* = FX (Ford cross) 3810 – 3899 – 3925, IAN 717 (Belém) ;
- *H. brasiliensis* x *H. brasiliensis* = FX 25 – 3864 – 4098, IAN 710 – 713 – 873 (Holliday 1970 ; Chee *et al.*, 1986).

Ces clones sont encore plantés de nos jours à l'échelle industrielle, là où le *Microcyclus* n'autorise pas la culture de clones orientaux.

A partir de 1960, on s'est aperçu que les résistances obtenues dans ces matériels étaient finalement contournées par *M. ulei* qui développait de nouveaux pathotypes ou races physiologiques. Depuis, au fur et à mesure que les recherches progressent, le nombre de races de *M. ulei* identifiées augmente. Récemment, Gasparotto et Junqueira (1994) ont mis en évidence des pathotypes, encore appelés éco-

de l'hévéaculture dans le Mato Grosso (Brésil).

Il est donc nécessaire de s'intéresser non plus seulement à la résistance de type spécifique, ou totale, mais à une autre forme de résistance dite partielle, plus durable par nature car non spécifique (Simmonds, 1982).

De nouvelles sources de résistance devaient donc être recherchées. En 1974 et 1981, 2 prospections ont été réalisées en Amazonie ; elles ont enrichi de façon significative le *pool* génétique de l'hévéa et un fonds de résistance aux maladies foliaires a pu être observé (Nicolas *et al.*, 1994 ; Clément-Demange *et al.*, 1995).

En Amérique du Sud, l'hévéaculture se trouve donc confrontée au double problème de la variabilité du parasite, encore mal définie, et d'une base génétique réduite sur laquelle repose la résistance du matériel planté actuellement. En outre, ce matériel possède un potentiel de production maintenant dépassé par les clones modernes.

C'est dans cette optique que, depuis 1982, des recherches ont été entreprises en Guyane française (Rivano *et al.*, 1989), pour évaluer l'étendue de la variabilité génétique du parasite et pour identifier, chez les clones disponibles (anciens et nouveaux), des composantes de la résistance partielle, pouvant servir de base dans un nouveau programme d'amélioration génétique de l'hévéa pour l'Amérique latine (Rivano, 1992).

## Variabilité du pouvoir pathogène de *M. ulei*

### Etude antérieures

L'étude des relations entre l'hôte et le parasite ont débuté avec Langford (1957), poursuivies par Langdon (1965) et Miller (1966). Ces auteurs ont mis en évidence une variabilité génétique dans la population pathogène et l'existence de 4 races, différentes par leur virulence, parmi des isolats de *M. ulei* provenant du Guatemala, du Costa Rica et du Brésil (Miller, 1966 ; Holliday, 1970).

Les travaux ultérieurs effectués aux Antilles, en Amérique centrale et au Brésil, utilisant la technique des disques de feuilles et une gamme de clones différentiels, ont conduit à recenser 9 races physiologiques (Chee *et al.*, 1986), dont une absente au Brésil et identifiée en Amérique centrale (carte).

Pour expliquer les relations de ces 9 races avec la gamme de 7 clones, il faut émettre

l'hypothèse qu'elles sont porteuses chacune de 0 ou de plusieurs parmi 7 facteurs de virulence susceptibles de s'associer.

Cependant, Hashim et de Almeida (1987), utilisant à la fois la technique des disques de feuilles et la méthode *in situ* des plants en sacs, et après avoir inoculé 68 isolats de *M. ulei* sur cette même gamme de clones différentiels, ne retiennent l'existence que de 4 races. Leur correspondance avec les races de Chee est imparfaite et 3 facteurs de virulence suffisent pour rendre compte de l'existence de ces 4 races.

Junqueira *et al.* (1986), préférant la méthode d'inoculation des feuilles *in situ* à celle des disques de feuilles, a étudié la variabilité physiologique de 16 isolats de *M. ulei* provenant de 11 Etats ou territoires du Brésil, sur 33 clones appartenant à plusieurs espèces d'hévéa ou issus de croisements interspécifiques. S'intéressant au diamètre des lésions formées et à l'intensité de sporulation, il constate une forte variabilité entre ses isolats. Tous les isolats testés diffèrent au moins par un clone de sa gamme de clones différentiels. Il observe aussi des différences d'agressivité suivant les isolats, pour un même clone, ou suivant les clones, pour un même isolat (interactions clones-isolats). Ses travaux le conduisent à regrouper ses isolats suivant leur aptitude à attaquer et à sporuler sur des clones possédant des gènes de telle ou telle espèce. Il distingue ainsi 3 groupes :

- groupe 1 : constitué des isolats qui sporulent sur tous les clones portant des gènes de F 4542 (*H. benthamiana*) et la majorité des clones d'*H. brasiliensis* sauf sur FX 985 et MDF 180 (*H. brasiliensis*) ;
- groupe 2 : les isolats sporulent sur la plupart des clones d'*H. brasiliensis*, y compris FX 985 et MDF 180 (et sur quelques hybrides de F 4542) ;
- groupe 3 : les isolats sporulent sur la majorité des clones d'*H. brasiliensis* et sur la majorité des clones porteurs de gènes de F 4542.

Un 4<sup>e</sup> groupe a ensuite été signalé par le même auteur, il comprend les isolats qui sporulent seulement sur des clones appartenant à l'espèce *H. camporum* ou dérivés possibles (CNS-AM 7665, CNS-AM 7718).

Les différences entre ces groupes, séparés sur ces nouvelles bases, s'apparentent à celles attribuées aux formes spéciales, en particulier au sein des *Fusarium oxysporum*.

La comparaison de ses résultats avec les travaux de Miller (1966) lui permet un rapprochement de ses isolats avec les 4 races décrites par cet auteur. Par rapport aux tra-



Répartition des races de *M. ulei*. (d'après Holliday, 1970 et Chee, 1986). On notera que la maladie est signalée en Haïti. / Distribution of *M. ulei* races (according to Holliday, 1970 and Chee, 1986). Note that the disease is indicated in Haiti.

vaux de Chee (1986) il ne reconnaît que les races 1 et 3. Il reconnaît, enfin, la difficulté de caractériser ses isolats en raison de l'incohérence des gammes de clones différentiels utilisées par les différents auteurs. Il souligne que les résultats contradictoires peuvent être également dus à des méthodologies et des critères d'évaluation différents (Junqueira *et al.*, 1986).

#### Etude réalisée en Guyane française

##### Le site expérimental

L'espèce *guianensis* est *a priori* la seule espèce représentant le genre *Hevea* dans les forêts de Guyane française. Considérée comme probablement la plus ancienne des espèces du genre, elle est aussi celle dont l'aire est la plus étendue. Sa distribution coïncide pratiquement avec celle du genre lui-même (Compagnon, 1986). Des prélèvements de feuilles d'*H. guianensis*, en forêt sur différents sites, ont révélé sans excep-

tion la présence de stromas de *M. ulei*, entre autres parasites.

Les plantations expérimentales du site de Combi, installées en zone de forêt près de Sinnamary depuis 1982, sont fortement infestées de parasites foliaires de l'hévéa et en particulier de *M. ulei*. Il est évident que l'inoculum initial provient de cette proche forêt où habite *H. guianensis* à l'état endémique.

Parmi les espèces cultivées sur ce site, *H. brasiliensis* est la plus largement plantée avec un grand nombre de clones orientaux. En outre, des clones issus de croisements interspécifiques *H. benthamiana* x *H. brasiliensis* sont également mis à l'essai en champs comparatifs.

Un certain nombre de clones et de génotypes en collection sont aussi issus des espèces *pauciflora*, *camargoana*, *guianensis*. Les deux premières montrent, depuis qu'elles ont été introduites en collection en Guyane, une résistance totale à *M. ulei*.

Les clones appartenant à l'espèce *brasiliensis* sont, pour la plupart, bien attaqués par *M. ulei* qui accomplit son cycle infectieux depuis la phase conidienne jusqu'à la phase ascogène, tout au long de l'année (figure 1).

##### Matériel et méthodes

Les clones d'*Hevea* spp., employés pour cette étude, ont été greffés sur des porte-greffes de GT 1 illégitimes, élevés en sacs, puis transférés en containers de 15 l dans une pépinière sous abri, avec un arrosage automatique au goutte à goutte. Placés dans ces conditions à Kourou, les plants sont totalement indemnes de *M. ulei* et autres champignons foliaires et ne nécessitent pas de traitements fongicides.

Une gamme de 10 clones différentiels a été préparée. Il s'agit de : IAN 710-717-3087, FX 25-985-2261-2804-3899-3925-4098. Cette gamme comprend les clones testeurs de Chee *et al.*, ainsi que ceux de Junqueira (à



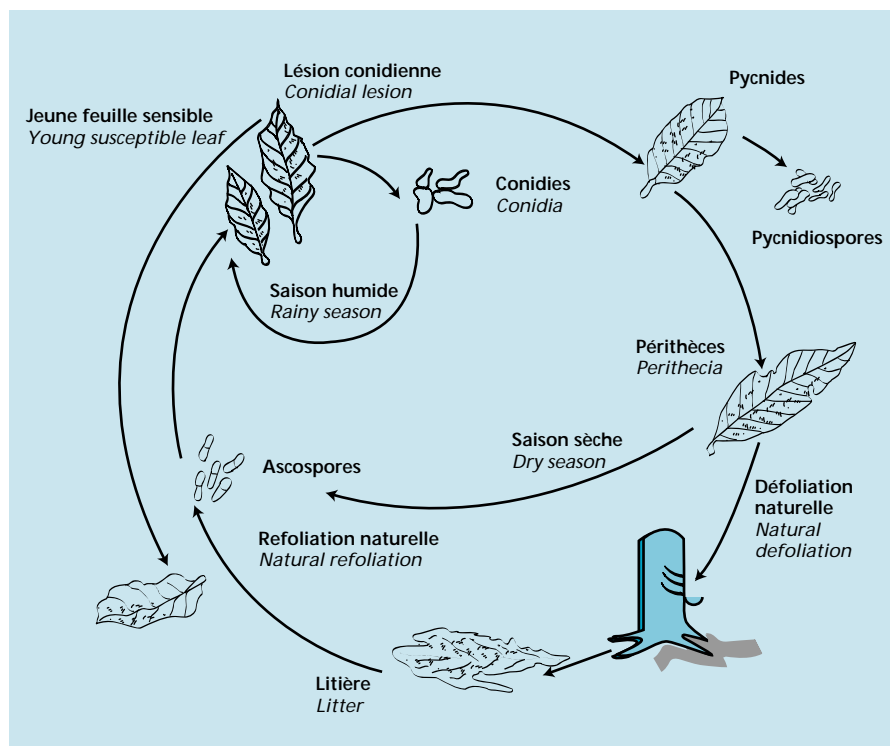


Figure 1. Cycle biologique de *M. ulei*. / *M. ulei* biological cycle.

l'exception de F 4542 et MDF 180, non disponibles en Guyane au moment de l'étude).

Depuis 1988, une mycothèque a été constituée à partir d'isolats conidiens prélevés sur différents clones d'hévéas infectés naturellement, en plantations expérimentales.

Les inoculations artificielles ont été pratiquées à l'intérieur d'une chambre climatique de 20 m<sup>2</sup>, où sont régulés la température à 25 °C ± 2 °C, l'humidité relative entre 85 et 100 % et l'éclairage (photopériode).

L'inoculum est obtenu *in vitro*, à partir de cultures en tubes dont le mycélium a été transféré et fragmenté sur milieu gélosé en tubes à essai, puis exposé pendant 15 à 20 jours sous un éclairage quotidien de 12 h. Les conidies sont mises en suspension dans de l'eau déminéralisée, la concentration est amenée à 5 x 10<sup>4</sup> spores/ml.

Les inoculations sont effectuées sur la face inférieure des folioles âgées de 6 à 8 jours (stade B2), soit à l'aide d'un pinceau lorsque la quantité d'inoculum est faible, en ajoutant un mouillant tel que le Tween 80 à 0,1 %, soit à l'aide d'un pulvérisateur (type Ecospray, buse 0,5 mm) lorsque l'on dispose de volumes suffisants de suspension de spores.

Les feuilles ainsi traitées sont aussitôt recouvertes pendant 24 h d'un sachet en polyéthylène transparent pour assurer une humidité relative de 100 % (photo 2). L'obscurité est maintenue pendant 12 h

après l'inoculation, puis la photopériode est rétablie à 12 h de jour / 12 h de nuit.

Chaque isolat est inoculé sur au moins 3 feuilles d'un même étage foliaire, sur le même plant. Chaque clone est inoculé avec le même isolat au moins 2 fois, sur 2 plants différents, à des dates différentes, et avec l'inoculum provenant de 2 plants sensibles différents, ceci afin de toujours utiliser des conidies parfaitement viables.

Parallèlement à l'infection des clones testeurs, des plants témoins appartenant à des clones sensibles sont inoculés avec la même suspension. De plus, un test de germination des conidies est effectué pendant 12 h à l'obscurité, sur des lames à concavité, afin de s'assurer que le taux de germination est au moins égal à 60 %.

Douze jours après l'inoculation, les symptômes sont parfaitement visibles et nous notons le résultat de l'infection, à savoir la présence ou l'absence de lésions sporulantes. Il s'agit d'une appréciation visuelle et qualitative de la réponse de l'hôte à l'attaque du parasite ; elle prend en compte la présence réelle de spores à la surface des lésions pour décider si un isolat est, oui ou non, virulent.

En outre, une mesure quantitative de la réaction est effectuée en notant visuellement l'intensité de la sporulation, combinée à la taille des lésions formées, selon une échelle de gravité comprise entre 1 et 14, mise au point par Junqueira en 1986 (encadré). Cette notation permet d'apprécier en partie, pour 2 composantes essentielles de la résistance générale, le niveau d'agressivité de chaque isolat étudié.

Seize isolats de *M. ulei*, choisis au hasard dans notre mycothèque, ont ainsi fait l'objet d'une étude approfondie du pouvoir pathogène.

### Résultats-Discussion

Le tableau présente les résultats d'inoculations artificielles des 16 isolats sur la gamme de 10 clones. Ils montrent que les isolats de Guyane diffèrent par leur viru-



Photo 2. Plant d'hévéa en pot, inoculé artificiellement en conditions contrôlées. / Potted rubber plant, artificially inoculated under controlled conditions.

■ Type de réaction (TR) engendrée par *M. ulei* sur l'Hevea (échelle de Junqueira, 1986).

1. Lésions chlorotiques (flecks)  $\leq$  1 mm de  $\varnothing$ , sans spores.
2. Lésions nécrotiques  $\leq$  1 mm de  $\varnothing$ , sans spores.
3. Lésions nécrotiques de 1 à 2 mm de  $\varnothing$ , sans spores.
4. Lésions nécrotiques  $>$  2 mm de  $\varnothing$ , sans spores.
5. Lésions non nécrotiques, sans spores.
6. Lésions  $\leq$  2 mm de  $\varnothing$ , sporulant seulement en bordure.
7. Lésions  $>$  2 mm de  $\varnothing$ , sporulant seulement en bordure.
8. Lésions  $\leq$  2 mm de  $\varnothing$ , sporulant partiellement sur toute la surface.
9. Lésions  $>$  2 mm de  $\varnothing$ , sporulant partiellement sur toute la surface.
10. Lésions  $\leq$  1,5 mm de  $\varnothing$ , sporulant abondamment sur la face inférieure.
11. Lésions de 1,5 à 2 mm de  $\varnothing$ , sporulant abondamment sur la face inférieure.
12. Lésions de 1,5 à 2 mm de  $\varnothing$ , sporulant abondamment sur les 2 faces.
13. Lésions  $>$  2,5 mm de  $\varnothing$ , sporulant abondamment sur la face inférieure.
14. Lésions  $>$  2,5 mm de  $\varnothing$ , sporulant abondamment sur les 2 faces.

■ Intensité de sporulation (IS) et correspondance avec l'échelle de Junqueira (1986).

0. Pas de sporulation (TR : 1 à 5).
1. Sporulation seulement en bordure de lésions (TR : 6 et 7).
2. Sporulation partielle des lésions sur toute la surface (TR : 8 et 9).
3. Sporulation abondante seulement sur la face inférieure (TR : 10 + 11 + 13).
4. Sporulation abondante sur les 2 faces des lésions (TR : 12 et 14).

lence. Cependant, on peut observer que certains d'entre eux se regroupent en races physiologiques pourvues du même spectre de virulence (+) ou d'avirulence (-). Par exemple G 18 et G 26 ou G 22 et G 28.

En ce qui concerne l'agressivité, nous pouvons constater que 2 isolats, *a priori* semblables par leurs virulences, diffèrent par la note d'intensité de maladie observée sur les feuilles du même clone. G18 et G 26, par exemple, appartiennent à une même race physiologique, ils ne sporulent pas avec la même intensité sur les clones IAN 710 et FX 985 : G 18 présente ici un niveau d'agressivité supérieur à G 26. De ce fait, un même clone peut être sensible aux attaques de *M. ulei*, mais plus ou moins sévèrement suivant l'isolat qui lui est inoculé (voir FX

985). A l'inverse, un même isolat peut attaquer avec succès plusieurs clones, avec des notes d'agressivité différentes (cas de G 9).

Ces résultats, obtenus avec 16 isolats, ne permettent pas encore de connaître l'étendue de la variabilité de *M. ulei* en Guyane, mais ils nous donnent déjà un aperçu de sa complexité. Nous déduisons que ces isolats appartiennent à 12 races différentes, dont une est dépourvue de virulence (l'isolat G 23). Pour rendre compte de leurs caractéristiques, il faut faire appel à 7 facteurs de virulence parmi les 10 dont nous avons été amenés à postuler l'existence en Amérique du Sud, 3 d'entre eux n'ayant pas encore été décelés en Guyane (virulences 2, 5 et 8 sur les clones IAN 717, FX 2261 et FX 2804 respectivement : cas de résistance totale).

La combinaison de ces virulences conduit au schéma de la figure 2 :

- l'isolat G 23 ne possède aucun facteur de virulence ;
- les isolats G 16-G 24-G 34 appartiennent à la même race qui possède un facteur de virulence (4) ;
- les isolats G 18 et G 26 (virulences 4 et 7), G 15 (virulences 4 et 11), G 11 (virulences 10 et 12), G 35 (virulences 7 et 9) constituent 4 races qui possèdent chacune 2 facteurs de virulence ;
- les isolats G 2 (virulences 7, 9 et 11), G 5 (virulences 4, 7 et 11), G 14 (virulences 7, 9 et 12), G27 (virulences 4, 6 et 7), G 22 et G 28 (virulences 4, 9 et 10) constituent 5 races différentes qui possèdent 3 facteurs de virulence ;
- enfin, l'isolat G 9 est le représentant d'une race qui regroupe 5 facteurs de virulence (4-6-7-9-10).

Les 7 facteurs de virulence détectés en Guyane forment donc un nombre de combinaisons qui conduisent à 11 races différentes, sans que l'on puisse exclure l'existence d'autres combinaisons ( $2^7$  au total).

Si l'on se reporte aux travaux de Chee *et al.* (1986) qui identifièrent 8 races dans l'État de Bahia (Brésil), on peut dire que sur les 7 facteurs de virulence reconnus à travers leurs résultats, les facteurs 4, 6, 7 et 9 sont présents en Guyane, chacun s'exprimant respectivement sur les clones IAN 710, FX 25, FX 985 et FX 4098.

Cependant, les combinaisons entre ces facteurs permettent seulement de reconnaître une seule race décrite par ces auteurs, la race 7 qui s'attaque aux clones FX 985 et FX 4098. Telle qu'elle est définie par ces auteurs, elle peut se reconnaître en Guyane à travers l'isolat G 35.

Par rapport aux travaux de Hashim, qui n'a identifié réellement que 3 races, une

seule est présente en Guyane (isolat G 27).

Par rapport aux travaux de Junqueira, nous pouvons conclure qu'aucun de nos isolats testés ne correspond au groupe 1, caractérisé par des isolats qui provoquent des réactions de sensibilité élevée chez tous les clones porteurs de gènes d'*H. benthamiana*, sans exception. En revanche, le groupe 2 comprend des isolats dont le comportement vis-à-vis des mêmes clones se rapproche de celui de nos isolats, avec toutefois quelques variantes.

Le groupe 3, qui se distingue par l'absence de sporulation sur FX 985, ne correspond pas non plus à nos isolats.

### Conclusion

Malgré la petite taille de l'échantillon de *M. ulei* analysé, il paraît bien établi que cette population est hétérogène. Elle provient de quelques représentants sauvages de *H. guianensis*, unique espèce d'hévéa vivant à proximité du site très ponctuel des prélèvements. Les virulences détectées en Guyane concernent l'espèce *H. guianensis*, ainsi que *H. brasiliensis* et certains clones issus d'hybrides interspécifiques *H. brasiliensis* x *H. benthamiana* qui sont sensibles aux isolats guyanais de *M. ulei*.

La détection de 7 facteurs de virulence est inattendue. Mais la diversité de leurs associations en 11 races (plus une avirulente), inconnues pour la plupart jusqu'ici, peut trouver son origine dans le recours fréquent du champignon à la méiose, et à la reproduction sexuée (figure 1), et dans son passage par le crible d'une population-hôte nouvelle, très hétérogène, faite de plusieurs espèces et d'hybrides représentés chacun par un nombre réduit d'individus.

La variabilité de *M. ulei* rencontrée dans nos plantations est sans doute liée à la riche diversité génétique du matériel végétal qui constitue nos essais et nos collections. On peut donc s'attendre à voir la population de l'agent pathogène y poursuivre sa diversification dans les années à venir.

Pourtant, sur la base d'un système d'identification très discriminant, certaines virulences n'ont pas été décelées sur nos plantations expérimentales, 12 ans après leur mise en place ; l'absence de ces virulences est confirmée en conditions contrôlées.

Mais peut-on préjuger de la nature de ces résistances insurmontées : résistance seulement à des gènes de virulence, ou résistance horizontale très efficace, ou bien encore combinaison de résistance verticale et de résistance horizontale ?

Etude de la variabilité de *M. ulei* sur le site de Combi-Sinnamary (Guyane). / Study of *M. ulei* variability at the Combi-Sinnamary site (French Guiana).

Clones et facteurs de virulence Clones and virulence factors	Isolats / Isolates															
	G 23 (0)	G 16 (1)	G 24 (1)	G 34 (1)	G 18 (2)	G 26 (2)	G 15 (2)	G 11 (2)	G 35 (2)	G 27 (3)	G 5 (3)	G 22 (3)	G 28 (3)	G 2 (3)	G 14 (3)	G 9 (5)
IAN 710 4	-	+	+	+10	+10	+9	+	-1	-5	+9	+7	+13	+13	-5	-4	+7
IAN 717* 2	-2	-2	-	-	-3	-3	-3	-2	-2	-3	-3	-2	-1	-3	-3	-3
IAN 3087* 11	-2	-	-	-	-4	-5	+	-4	?	-3	+6	-2	-	+7	-3	-3
FX 25 6	-	-	-	-	-4	-2	-	-	-2	+8	-3	-3	-2	-4	-3	+8
FX 985 7	-	-	-2	-	+10	+7	-	-	+	+9	+9	-	-	+14	+9	+13
FX 2261 5	-	-	-	-1	-3	-5	-	-	-	-1	-2	-	-	-2	-1	-3
FX 2804* 8	-2	-	-2	-1	-2	-	-2	-2	-	-4	-1	-1	-4	-4	-1	-2
FX 3899* 12	-	-	?	-2	-2	-5	-2	+10	-1	-2	?	-3	-3	-	+10	?
FX 3925* 10	-2	-3	-2	-	-4	-3	-4	+7	-1	-3	-2	+13	+13	?	-3	+9
FX 4098 9	-3	-	-	-1	-4	-1	-3	-3	+8	-2	-3	+13	+11	+9	+8	+10

+/- = présence ou absence de sporulation conidienne / Existence or absence of conidial sporulation

? = non testé / not tested

Note = type de réaction suivant échelle de Junqueira (0 à 5: pas de sporulation ; 6 à 14: lésions sporulantes) / Score = type of reaction according to Junqueira's scale (0 to 5: no sporulation; 6 to 14: sporulating lesions)

2 répétitions pour chaque couple clone / souche / 2 replicates for each clone / isolate pair

\* = clones porteurs de gènes d'*H. benthamiana* (F 4542) / Clones carrying *H. benthamiana* (F 4542) genes

Dans un essai multiclonal, nous avons remarqué, sur plusieurs années, que certains clones protégés par une résistance totale à *M. ulei* pouvaient laisser apparaître une sporulation conidienne à une période de

l'année où les conditions climatiques ne favorisaient pas le développement des épidémies. Ce fait nouveau ne va pas à l'encontre des conclusions précédentes, si l'on accepte l'hypothèse de conditions d'environnement

et de compétition différentes entre les races, favorables à l'expression d'une ou plusieurs races sauvages, possédant les virulences nécessaires à un moment de l'année. Des observations ultérieures ont montré qu'en dehors de cette période, ces clones restaient protégés, au champ, par une résistance totale.

Comme le décrit Van Der Plank (1968) dans l'exemple du couple *Phytophthora infestans* - *solanum tuberosum*, certaines races possédant des virulences non nécessaires pour la survie de *M. ulei* pourraient être présentes en Guyane mais resteraient rares car elles seraient inutiles, aussi bien sur les *H. guianensis* spontanés que sur la majorité des matériels introduits sur le site.

On peut enfin pressentir que certains gènes de résistance sont plus forts que d'autres, compte tenu qu'un certain nombre de clones sont en permanence protégés par une résistance totale et n'ont jamais présenté ce type de sporulation, même fugace.

*M. ulei* a montré ailleurs, en Amérique du Sud, qu'il était armé pour envahir en quelques années des régions éloignées de son aire d'origine et attaquer avec succès des clones d'hévéa choisis pour être plantés sur de grandes surfaces, parce qu'exemptés du SALB dans les stations agronomiques où ils ont été créés. Dans l'Etat de Bahia (Bré-

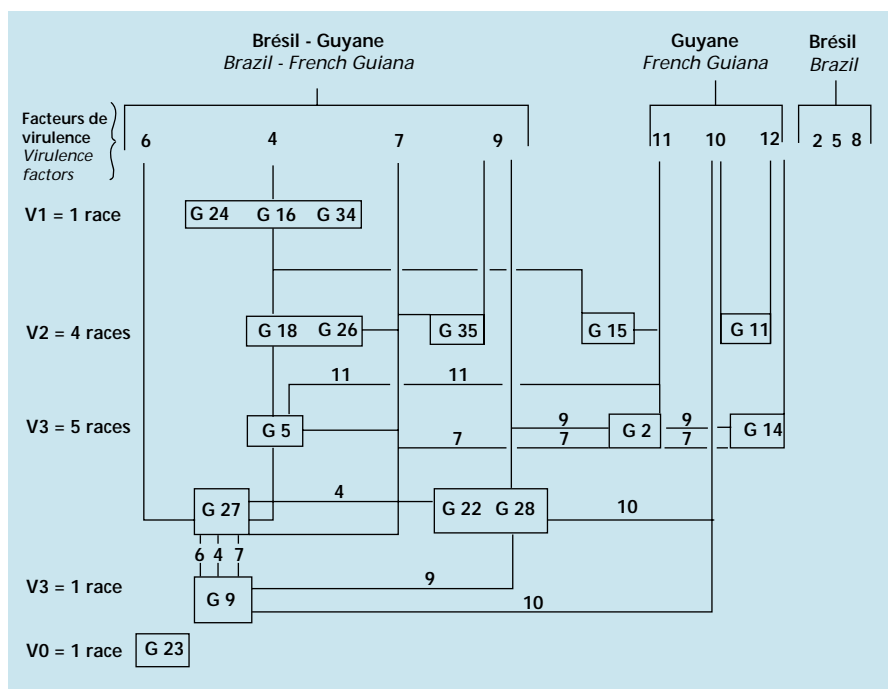


Figure 2. Parenté des races guyanaises de *M. ulei*. / Relationship of Guianan *M. ulei* races.

sil) il aura fallu attendre 10 ans pour que la pression de sélection exercée sur le parasite joue en faveur de l'apparition des virulences nécessaires à l'infection des clones plantés dans ces régions et qu'un nouvel équilibre s'installe entre l'hôte et le parasite. Cette situation est différente de celle rencontrée sur les plantations expérimentales de Guyane, constituées de petites parcelles multiclonales de quelques dizaines d'arbres, dans lesquelles sont mélangés matériels sensibles et matériels résistants. La pression de sélection exercée par ces der-

niers sur le parasite ne serait donc pas suffisante pour faire apparaître de nouvelles races virulentes. Si tel était le cas, ces races seraient minoritaires par rapport à celles qui foisonnent en toutes saisons sur le feuillage des matériels sensibles, et auraient donc peu de chance de survivre. Ceci peut expliquer une résistance encore incontrournée de certains clones après 12 ans, sur ce site expérimental.

Il serait intéressant de vérifier dans d'autres régions d'Amérique latine si de telles résistances totales incontronnées,

pourraient être utilisées afin d'assurer, pendant plusieurs années, une protection efficace des plantations dans leur jeune âge.

L'aptitude des populations de *M. ulei* à réagir aux modifications des populations-hôtes est, par conséquent, un élément majeur à prendre en considération dans tout programme d'amélioration génétique de l'hévéa en Amérique latine. ■

## Bibliographie / Bibliography

- BOS H., MC INDOE K.G., 1965. Breeding of Hevea for resistance against *Dothidella ulei*. J. Rubber Res. Inst. Malaya 19 (2) : 98-107.
- CHEE K.H., KAI-MING Z., DARMONO T.W., 1986. Occurrence of eight races of *Microcyclus ulei* on Hevea rubber in Bahia, Brazil. Trans. Bri. Mycol. Soc. 87 (1) : 15-21.
- CLÉMENT-DEMANGE A., NICOLAS D., LEGNATÉ H., RIVANO F., LE GUEN V., GNAGNE M., CHAPUSET T., 1995. Hévéa : stratégies de sélection. Plant. Rech. Dév. 2 (3) : 5-14.
- COMPAGNON P., 1986. Le caoutchouc naturel : biologie, culture, production. Paris, France, Maisonneuve et Larose, coll. Techniques agricoles et productions tropicales, 595 p.
- GASPAROTTO L., JUNQUEIRA N.T.V., 1994. Ecophysiological variability of *Microcyclus ulei*, causal agent of rubber tree leaf blight. Fitopatol. Bras. 19 (1) : 22-28.
- HASHIM I., ALMEIDA L.C.C. de, 1987. Identification of races and *in vitro* sporulation of *Microcyclus ulei*. J. Nat. Rubber Res. 2 (2) : 111-117.
- HOLLIDAY P., 1970. South American leaf blight (*Microcyclus ulei*) of *Hevea brasiliensis*. Kew, Grande-Bretagne. Commonwealth Mycological Institute, Phytopathol. papers, n° 12, 30 p.
- JUNQUEIRA N.T.V., CHAVES G.M., ZAMBOLIM L., GASPAROTTO L., ALFENAS A.C., 1986. Variabilidade fisiológica de *Microcyclus ulei*. Fitopatol. Bras. 11 (4) : 823-833.
- LANGDON K.R., 1965. Relative resistance or susceptibility of several clones of *Hevea brasiliensis* and *Hevea brasiliensis* x *Hevea benthamiana* to two races of *Dothidella ulei*. Plant Dis. Rep. 49 (1) : 12-14.
- LANGFORD M.H., 1957. The Status of *Hevea* rubber planting material for use tropical America. Turrialba 7 (4) : 104-110.
- MILLER J., 1966. Differential clones of *Hevea* fo identifying races of *Dothidella ulei*. Plant Dis. 50 : 187-190.
- NICOLAS D., RIVANO F., LEGNATÉ H., SEGUIN M., GOBINA M.S., 1994. Projet STD3 n°TS3-CT 92-0148. Etude et caractérisation de nouvelles ressources génétiques : leur utilisation en amélioration de l'hévéa. Principaux résultats obtenus depuis le début du contrat à la date du 30 novembre 1993. Montpellier, France, CIRAD-CP, 80 p. (document interne).
- PINHEIRO E., LIBONATI V.F., 1971. O emprego do *Hevea pauciflora* M.A. como fonte genética de resistencia ao mal das folhas. Polímeros 1 : 31-39.
- RIVANO F., 1992. La maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa. Etude, en conditions naturelles et contrôlées, des composants de la résistance partielle à *Microcyclus ulei* (P. Henn). V. Arx. Thèse de doctorat, université de Paris XI, Orsay, France, 260 p.
- RIVANO F., NICOLAS D., CHEVAUGEON J., 1989. Résistance de l'hévéa à la maladie sud-américaine des feuilles. Perspectives de lutte. Rev. Gén. Caoutch. Plast. 66 (690) : 199-206.
- SIMMONDS N.W., 1982. Some ideas on botanical research on rubber. Trop. Agric. 59 : 2-8.
- VAN DER PLANK J.E., 1968. Disease resistance in plants. New York, Etats-Unis, Academic Press, 223 p.



# South American Leaf Blight of *Hevea*

## I. Variability of *Microcyclus ulei* pathogenicity

Rivano F.

CIRAD-CP, c/o Gremial de Huleros, 7a ave. 11-63, zona 9, Edificio España, 3° nivel, Guatemala CA, Guatemala

South American Leaf Blight (SALB), caused by the ascomycete fungus *Microcyclus ulei* (P. Henn.) von Arx., has been the main obstacle to developing rubber cultivation in Latin America since the turn of the century. In 1996, Latin American natural rubber production was less than 2% of world production (photo 1). The disease now extends from southern Mexico (18° latitude North) to the State of São Paulo in Brazil (24° latitude South). Asia and Africa, which supply more than 95% of world natural rubber production, have been spared. Introduction of the parasite on these continents would be catastrophic, as the material planted there is highly susceptible to *Microcyclus*.

For more than fifty years, all the efforts made to develop control methods (agronomical, biological, or chemical) have failed to give the expected results. Rubber cultivation has had to be shifted to marginal zones in the Amazon basin to escape the disease. Genetic control is considered to be the most promising channel for the future of rubber growing on the South American continent.

The first genetic improvement programme was launched in 1937 by Ford at its Santarem estates, but it had to be abandoned in 1946 because of the damage caused by *Microcyclus ulei* (*M.u.*). Firestone took over in 1949, developing a network including Guatemala (*finca* Clavellinas), Brazil (*fazenda* Tres Pancadas, Bahia State), Florida (quarantine station) and Liberia. In this control programme, Firestone used material bred in Brazil at the Ford estate and at the *Instituto Agronomico do Norte* (IAN) as a resistance source (Bos and McIndoe, 1965).

These initial resistance sources came from wild *Hevea brasiliensis* populations found in the Amazon basin. Trees with high resistance were found in Acre (Brazil), Madre de Dios (Peru) and in a region spanning Brazil, Peru and Colombia, between Leticia and Iquitos. Holliday (1970) believes that it is in this vast region that highly resistant *H. brasiliensis* populations grow.

Two species, *H. pauciflora* and particularly *H. benthamiana* (Rio Negro), have been used for their very high level of resistance; especially clone F 4542 (Ford 4542), used as the resistant parent in crossing programmes. The *H. pauciflora* species, which is totally resistant

to SALB but not productive, offered vigour and an absence of wintering (Chee *et al.*, 1986).

The best results in improving *Hevea* resistance to SALB have been obtained by interspecific crosses between *H. brasiliensis* and *H. benthamiana*. However, the genetic base of the resistance was mostly limited to clone F 4542, primarily due to its resistance to leaf *Phytophthora* (Holliday, 1970; Pinheiro and Libonati, 1971).

In *H. brasiliensis*, the primary sources of resistance for carrying out the previous crosses come from Acre (Brazil) and are limited to clones F 351, F 409, FA 1717 of the Ford selections. The recommended and most extensively planted clones in South America are first generation clones (F1), including:

- *H. brasiliensis* x *H. benthamiana* = FX (Ford cross) 3810 – 3899 – 3925, IAN 717 (Belem);
- *H. brasiliensis* x *H. brasiliensis* = FX 25 – 3864 – 4098, IAN 710 – 713 – 873 (Holliday 1970; Chee *et al.*, 1986).

These clones are still planted nowadays on an industrial scale, where *Microcyclus* prevents the cultivation of oriental clones.

From 1960 onwards, it became clear that the resistance obtained in these materials was finally being overcome by *M. ulei* which was developing new pathotypes or physiological races. Since then, the number of *M. ulei* races identified has increased as research has progressed. Recently, Gasparotto and Junqueira (1994) discovered pathotypes, still called ecotypes, which were adapted to marginal rubber growing conditions in Mato Grosso (Brazil).

It is therefore necessary to no longer only consider resistance of a specific type, or total resistance, but also another so-called partial type of resistance, which is more sustainable by its very nature since it is non-specific (Simmonds, 1982).

New resistance sources therefore had to be sought. Two surveys carried out in Amazonia in 1974 and 1981 significantly enhanced the *Hevea* genetic pool and a store of resistance to leaf diseases was observed (Nicolas *et al.*, 1994; Clément-Demange *et al.*, 1995).

Rubber cultivation in South America is therefore confronted with the double problem of as yet poorly defined parasite variability, and a

reduced genetic base on which planting material resistance currently relies. Moreover, the production potential of this material has now been overtaken by that of modern clones.

It is in this context that research has been under way since 1982 in French Guiana (Rivano *et al.*, 1989), to assess the parasite's degree of genetic variability and identify components of partial resistance in available clones (old and new) that could serve as the basis for a new *Hevea* genetic improvement programme for Latin America (Rivano, 1992).

### Variability of *M. ulei* pathogenicity

#### Earlier studies

The relations between host and parasite were first studied by Langford (1957), followed by Langdon (1965) and Miller (1966). These authors discovered genetic variability within the pathogen population and the existence of 4 races, which differed in virulence, among *M. ulei* isolates from Guatemala, Costa Rica and Brazil (Miller, 1966; Holliday, 1970).

Later work in the West Indies, Central America and Brazil, using the leaf disk technique with a range of differential clones, led to the discovery of 9 physiological races (Chee *et al.*, 1986), one of which was identified in Central America (map) but was absent from Brazil.

In order to explain the relations between these 9 races and range of 7 clones, it is necessary to start from the hypothesis that they each carry from 0 to several of the 7 virulence factors likely to be combined with each other.

However, Hashim and de Almeida (1987) found only 4 races after inoculating 68 *M. ulei* isolates on the same range of differential clones, using the leaf disk technique and the *in situ* bagged plant method at the same time. Their correspondence with the Chee races was imperfect and 3 virulence factors were sufficient to account for the existence of these 4 races.

Junqueira *et al.* (1986), who preferred *in situ* leaf inoculation to leaf disks, studied the physiological variability of 16 *M. ulei* isolates from 11 Brazilian States or territories, on 33 clones belonging to several *Hevea* species or from interspecific crosses. With reference to the diameter of the lesions formed and sporulation intensity, he noted high variability between his



isolates. All the isolates tested differed through at least one clone from this range of differential clones. He also observed differences in aggressiveness depending on the isolates for a given clone, or depending on the clones for a given isolate (clone-isolate interactions). His work led him to group isolates according to their ability to attack and sporulate on clones possessing the genes of a given species. He distinguished between 3 groups:

- group 1: containing isolates that sporulated on all the clones possessing F 4542 (*H. benthamiana*) genes and the majority of *H. brasiliensis* clones, except FX 985 and MDF 180 (*H. brasiliensis*);
- group 2: isolates that sporulated on most *H. brasiliensis* clones, including FX 985 and MDF 180 (and on a few F 4542 hybrids);
- group 3: isolates that sporulated on the majority of *H. brasiliensis* clones and on the majority of clones possessing F 4542 genes.

A 4th group was then reported by the same author, comprising isolates that only sporulated on clones belonging to the *H. camporum* species or possible derivatives (CNS-AM 7665, CNS-AM 7718).

The differences between these groups, which were separated on this new basis, were related to those attributed to special forms, particularly within *Fusarium oxysporum*.

A comparison of his results with those obtained by Miller (1966) enabled him to liken his isolates to the 4 described by that author. Compared to the work by Chee (1986) he only recognized races 1 and 3. Lastly, he acknowledged the difficulty of characterizing his isolates due to the incoherence of the differential clone ranges used by the various authors. He emphasized that the contradictory results could also have been caused by different assessment methods and criteria (Junqueira *et al.* 1986).

#### Study conducted in French Guiana

##### Test site

In theory, the *guianensis* species is the only one representing the *Hevea* genus in the forests of French Guiana. Considered as probably the oldest species of the genus, it is also the one with the most extensive range. Its distribution practically coincides with that of the genus itself (Compagnon, 1986). Leaf samples taken from *H. guianensis* at different sites in the forest systematically revealed the existence of *M. ulei* stromata, among other parasites.

The experimental plantations at the Combi site, set up in a forest zone near Sinnamary in 1982, are seriously infested by *Hevea* leaf parasites, especially by *M. ulei*. It is clear that the initial inoculum comes from the neighbouring forest in which *H. guianensis* grows in its endemic state.

*H. brasiliensis* is the most extensively planted species at the site, with a large number of oriental clones. Clones obtained from *H. benthamiana* x *H. brasiliensis* interspecific crosses are also being tested in comparative trials.

Some clones and genotypes in the collection are also derived from the *pauciflora*, *camargoana* and *guianensis* species. Since their introduction into the collection in French Guiana, the first two have shown total resistance to *M. ulei*.

Most of the clones belonging to the *brasiliensis* species are severely attacked by *M. ulei*, which completes its infection cycle from the conidial phase to the ascogenous phase throughout the year (figure 1).

##### Material and methods

The *Hevea* spp. clones used in this study were budgrafted onto illegitimate GT 1 rootstocks reared in polybags, then transferred to 15 l containers in a sheltered nursery, with automatic drip irrigation. Under the conditions at Kourou, the plants were totally free of *M. ulei* and other leaf fungi, and did not require any fungicide treatments.

A range of 10 differential clones was prepared: IAN 710-717-3087, FX 25-985-2261-2804-3899-3925-4098. It included the clones tested by Chee *et al.*, and those of Junqueira (apart from F 4542 and MDF 180, which were not available in French Guiana at the time of the study).

In 1988, the first work was done on setting up a fungus library from conidial isolates taken from different *Hevea* clones naturally infected in experimental plantings.

Artificial inoculations were carried out in a 20 m<sup>2</sup> growth chamber, in which the temperature (25°C ± 2°C), relative humidity (between 85 and 100%) and lighting (photoperiod) were regulated.

The inoculum was obtained *in vitro*, using cultures in tubes from which the mycelium was transferred and crumbled onto an agar medium in test tubes, then exposed to a 12 hours' light per day for 15 to 20 days. The conidia were suspended in demineralized water and the concentration brought to 5 x 10<sup>4</sup> spores/ml.

The undersides of 6-8 day old leaflets (stage B2) were inoculated either with a brush, when the amount of inoculum was small, adding a wetting agent such as Tween 80 at 0.1%, or by sprayer (Ecospray type, 0.5 mm nozzle) when sufficient volumes of spore suspension were available.

The treated leaves were covered for 24 hours in a clear polythene bag to ensure 100% relative humidity (photo 2). The leaves were kept in the dark for 12 hours after inoculation, then the 12 h day/12 h night photoperiod was resumed.

Each isolate was inoculated on at least 3 leaves of the same leaf whorl on the same plant. Each

clone was inoculated at least twice with the same isolate, on two different plants, on different dates, with the inoculum from two different susceptible plants, in order always to use perfectly viable conidia.

At the same time as the tester clones were infected, control plants belonging to susceptible clones were inoculated with the same suspension. In addition, conidium germination was tested for 12 hours in darkness on cavity slides, to check that the germination rate was at least 60%.

Symptoms were visible twelve days after inoculation, and we noted the infection result, namely the existence or absence of sporulating lesions. This was a visual and qualitative assessment of host response to the parasite attack; it took into account the actual presence of spores on the surface of the lesions to decide whether or not the isolate was virulent.

The reaction was also quantitatively measured, visually scoring sporulation intensity, combined with the size of the lesions formed, on a scale of 1 to 14 developed by Junqueira in 1986 (box). This marking system can be used to partially assess the aggressiveness level of each isolate studied, for 2 essential components of general resistance.

The pathogenicity of 16 *M. ulei* isolates chosen at random from our fungus library was studied in depth in this way.

##### Results-Discussion

The table gives the artificial inoculation results for the 16 isolates on the range of 10 clones. They show that the Guianan isolates differed in virulence, but some of them were grouped into physiological races with the same virulence (+) or avirulence (-) spectrum, for example, G 18 and G 26 or G 22 and G 28.

As regards aggressiveness, it can be seen that two isolates that were theoretically similar in terms of virulence scored differently for the disease intensity observed on the leaves of the same clone. For example, G18 and G 26 belong to the same physiological race, but did not sporulate with the same intensity on clones IAN 710 and FX 985: in this case, G 18 was more aggressive than G 26. A given clone could therefore be susceptible to *M. ulei* attacks, but to different degrees depending on the isolate inoculated (see FX 985). Conversely, the same isolate can successfully attack several clones with different scores for aggressiveness (case of G 9).

It is not yet possible from these results, which were obtained with 16 isolates, to determine the extent of *M. ulei* variability in French Guiana, but they already provide a glimpse of its complexity. We deduced that these isolates belonged to 12 different races, one of which was devoid of virulence (isolate G 23). In order to

■ Type of reaction (TR) triggered by *M. ulei* on *Hevea* (Junqueira's scale, 1986).

1. Chlorotic lesions (flecks) ≤ 1 mm in diameter, no spores.
2. Necrotic lesions ≤ 1 mm in diameter, no spores.
3. Necrotic lesions 1 to 2 mm in diameter, no spores.
4. Necrotic lesions > 2 mm in diameter, no spores.
5. Non-necrotic lesions, no spores.
6. Lesions ≤ 2 mm in diameter, peripheral sporulation only.
7. Lesions > 2 mm in diameter, peripheral sporulation only.
8. Lesions ≤ 2 mm in diameter, partial sporulation over entire surface.
9. Lesions > 2 mm in diameter, partial sporulation over entire surface.
10. Lesions ≤ 1.5 mm in diameter, abundant sporulation on underside.
11. Lesions 1.5 to 2 mm, abundant sporulation on underside.
12. Lesions 1.5 to 2 mm in diameter, abundant sporulation on both sides.
13. Lesions > 2.5 mm in diameter, abundant sporulation on underside.
14. Lesions > 2.5 mm in diameter, abundant sporulation on both sides.

■ Sporulation intensity (SI) and correspondence with Junqueira's scale (1986).

0. No sporulation (TR: 1 to 5).
1. Peripheral sporulation on lesion only (TR: 6 and 7).
2. Partial sporulation of lesions over entire surface (TR: 8 and 9).
3. Abundant sporulation on underside only (TR: 10 + 11 + 13).
4. Abundant sporulation on both sides of lesions (TR: 12 and 14).

characterize them, 7 of the 10 virulence factors we were led to assume existed in South America were used, since 3 of them have yet to be detected in French Guiana (virulence factors 2, 5 and 8 on clones IAN 717, FX 2261 and FX 2804 respectively: case of total resistance).

Combination of these virulence factors resulted in the diagram in figure 2:

- isolate G 23 did not possess any of the virulence factors;
- isolates G 16-G 24-G 34 belonged to the same race, which possessed one virulence factor (4);
- isolates G 18 and G 26 (virulence factors 4 and 7), G 15 (virulence factors 4 and 11), G 11 (virulence factors 10 and 12) and G 35 (virulence factors 7 and 9) constituted 4 races which each possessed 2 virulence factors;

- isolates G 2 (virulence factors 7, 9 and 11), G 5 (virulence factors 4, 7 and 11), G 14 (virulence factors 7, 9 and 12), G27 (virulence factors 4, 6 and 7), G 22 and G 28 (virulence factors 4, 9 and 10) constituted 5 different races which possessed 3 virulence factors;
- lastly, isolate G 9 represented a race grouping 5 virulence factors (4-6-7-9-10).

The 7 virulence factors detected in French Guiana therefore formed un number of combinations that led to 11 different races, though the existence of other combinations could not be ruled out (2<sup>7</sup> in all).

Referring to the work by Chee *et al.* (1986), who identified 8 races in the State of Bahia (Brazil), it can be said that out of the 7 virulence factors recognized in their results, factors 4, 6, 7 and 9 exist in French Guiana, each expressing itself on clones IAN 710, FX 25, FX 985 and FX 4098 respectively.

However, with the combinations of these factors it was only possible to recognize a single race described by these authors, race 7, which attacked clones FX 985 and FX 4098. Such as it was defined by these authors, it can be recognized in French Guiana through isolate G 35.

Compared to the work by Hashim, who only really identified 3 races, only one is present in French Guiana (isolate G 27).

Compared to the work by Junqueira, we can conclude that none of the isolates we tested corresponded to group 1, characterized by isolates that cause high susceptibility reactions in all the clones carrying *H. benthamiana* genes, without exception. On the other hand, group 2 included isolates which caused similar reactions on the same clones as that caused by our isolates, though with a few variants.

Group 3, which differed by its failure to sporulate on FX 985, did not correspond to our isolates either.

### Conclusion

Despite the smallness of the *M. ulei* sample analysed, it seems to be clearly established that this population is heterogeneous. It was made up of a few wild representatives of *H. guianensis*, the only *Hevea* species growing near the very restricted sampling site. The virulence factors detected in French Guiana concerned the *H. guianensis* species, along with *H. brasiliensis* and certain clones derived from *H. brasiliensis* x *H. benthamiana* interspecific hybrids that are susceptible to the Guianan *M. ulei* isolates.

The detection of 7 virulence factors was unexpected, but the diversity of their associations in 11 races (plus on avirulent), most of which had been unknown until then, may be due to the frequent occurrence of meiosis and sexual reproduction in this fungus (figure 1),

and to its passage through the screen of a new, highly heterogeneous host population made up of several species and hybrids, each represented by a small number of individuals.

The *M. ulei* variability encountered in our plantings was undoubtedly linked to the wealth of genetic diversity in the planting material involved in our trials and collections. The pathogen population can therefore be expected to continue its diversification in the coming years.

However, based on a highly discriminant identification system, some virulence factors were not detected in our experimental plantings 12 years after they were set up; the absence of these virulence factors was confirmed under controlled conditions.

But can the nature of this unconquered resistance be prejudged: resistance solely to virulence genes, or highly effective horizontal resistance, or then again a combination of vertical and horizontal resistance?

In a multiclonal trial, we noticed over several years that some clones that were protected by total resistance to *M. ulei* revealed conidial sporulation at a given time of year when climatic conditions were not propitious to epidemic development. This new fact does not contradict the previous conclusions if we accept the hypothesis of different environmental conditions and competition between the races that favour the expression of one or more wild races that have the necessary virulence factors at a given time of year. Subsequent observations showed that outside this period the clones remained protected in the field by total resistance.

As described by Van Der Plank (1968) in his example of the *Phytophthora infestans* – *Solanum tuberosum* pair, some races possessing virulence factors that are not necessary for the survival of *M. ulei* may exist in French Guiana but remain rare as they are pointless, be it on wild *H. guianensis* or on most of the planting materials introduced at the site.

Lastly, there is already an inkling that some resistance genes are stronger than others, given that a certain number of clones remain permanently protected by total resistance and have never revealed this type of sporulation, however transient.

Elsewhere in South America, *M. ulei* has shown its capacity to invade regions far from its area of origin within a few years and successfully attack *Hevea* clones chosen for planting over large areas as they were SALB-free at the agricultural research stations where they were created. In the State of Bahia (Brazil) it took 10 years for the selection pressure exerted on the parasite to become propitious to the appearance of the virulence factors necessary to infect the clones planted in these regions and for a new

balance to become established between the host and the parasite. This situation differs from that encountered in the experimental plantings in French Guiana, which are made up of small multiclonal plots of a few dozen trees, in which susceptible and resistant materials are mixed. The selection pressure exerted on the parasites by the latter would therefore not seem to be enough to make new virulent races appear. If such were the case, these races would be in the

minority compared to those that abound throughout the year on the foliage of susceptible materials and would therefore have little chance of surviving. This may explain the as yet unconquered resistance in some clones after 12 years at this experimental site.

It would be worth checking in other regions of Latin America whether such unconquered total resistance could be used to provide effective protection for several years in young plantings.

The ability of *M. ulei* populations to react to changes in host populations is consequently a major element that has to be considered in any *Hevea* genetic improvement programme in Latin America. ■

### Erratum

L'article de E. Lamade et E. Setiyo intitulé « Variations de la photosynthèse maximale du palmier à huile en Indonésie : comparaison de trois clones à morphologie contrastée », paru dans *Plantations, recherche, développement* de novembre-décembre 1996, ayant subi quelques altérations, les personnes intéressées peuvent obtenir des tirés à parts corrigés et complets auprès des auteurs.

*Certain errors occurred in the article by E. Lamade and E. Setiyo entitled "Variation in maximum photosynthesis of oil palm in Indonesia: comparison of three morphologically contrasting clones", which was published in the November-December 1996 issue of Plantations, recherche, développement. Anyone wishing to obtain a corrected and completed offprint should contact the authors.*