RAPPORT DE MISSION AU CNPSD
(CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE
SERINGUEIRA E DENDE) DE MANAUS - BRESIL
DU 27 MAI AU 2 JUIN 1989

F. RIVANO (IRCA - Guyane)

Institut de Recherches sur le Caoutchouc
Département du Centre de Coopération Internationale
en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD)
42, rue Scheffer 75116 Paris (France) - Tél. : (1) 47.04.32.15
Télex : 620871 INFRANCA PARIS

SOMMAIRE

CALENDRIER DE LA MISSION

INTRODUCTION

I - Le CNPSD DE MANAUS

I.1. Présentation par M. JUNQUEIRA des recherches effectuées en phytopathologie de l'hévéa.
I.2. Installations et laboratoires

II - Exposé des travaux de recherches de M. JUNQUEIRA

II.1. Isolement de *Microcyclus ulei*
II.2. Culture de *M.ulei*
II.3. Production de spores in vitro et in vivo
II.4. Conservation du champignon
II.5. Technique d'inoculation
II.6. Résultats de l'infection
II.7. Autres composantes de la résistance étudiées
II.8. Variabilité physiologique de *M. ulei*
II.9. Sources génétiques de résistance
II.10. Comportement du matériel végétal planté en Guyane

III - Visite au champ

III.1. Greffage de couronne
III.2. Champs de clones
III.3. Parcelle conservatoire d'espèces d'hévéa
III.4. "Le déclinio"

IV - Discussions avec les autres chercheurs

IV.1. Epidémiologie du SALB
IV.2. Etude d'autres champignons parasites
IV.3. Discussion avec les chercheurs allemands

V - Discussion et conclusion

ANNEXES

CALENDRIER DE LA MISSION

Samedi 27-05 :
Départ de Cayenne. Aéroport de Rochambeau 2 h 00
Arrivée Belem 4 h 30
Arrivée Manaus 7 H 15
Après-midi, visite centre ville et opéra (en restauration)

Lundi 29-05 :
Présentation au directeur du centre CNPSD. Dr Josefino FIALHO
Présentation aux différents chercheurs travaillant sur hévéa
Visite de laboratoire, des serres, des salles d'inoculation
Discussion avec N. JUNQUEIRA en bibliothèque : dernières publications, techniques, etc...

Mardi 30-05 :
Discussion avec M. KALIL, généticien hévéa au CNPSD
Travail et discussion avec M. JUNQUEIRA (laboratoire, serres, etc...)
Discussion sur les travaux de CHEE et Ismail HASHIM et avec le Dr MORAES
Entretien avec M. Marcos GARCIA responsable des recherches sur la "mosca de renda"

Mercredi 31-05 :
Entretien avec L. GASPAROTTO
Entretien avec M. SILAS sur le logiciel GESTCO
Visite en champ avec M. JUNQUEIRA et L. GASPAROTTO
Entretien avec un des deux chercheurs allemands
Travail en laboratoire avec M. JUNQUEIRA
Inoculation de plants en sacs et observation des symptômes de *M. ulei*

Jeudi 1-06 :
Entretien avec L. GASPAROTTO sur les travaux effectués sur *Tanatephorus et Phyllachora*, et épidémiologie du SALB
Evaluation des réactions résultant de l'inoculation artificielle (12 j après)
---> notations en serre
Remerciements auprès du directeur avant départ
18 h 45 : trajet vers aéroport de Manaus avec M. JUNQUEIRA
23 h 00 : arrivée à Belem

Vendredi 2-06 :
appel chez le Pr PINHEIRO qui était absentjusqu'au 9 juin
Achat de produits pharmaceutiques pour milieu de culture (PANVIT)
20 h 30 : voyage Belem - Cayenne
23 h 30 : arrivée Cayenne.

INTRODUCTION

Les travaux de K.H. CHEE et I. HASHIM réalisés à Trinidad, puis au Brésil, sur *Microcyclus ulei* sont certainement les plus connus actuellement à travers le monde grâce aux nombreuses publications - en anglais (revue du RRIM) qui existent sur le sujet. Les chercheurs brésiliens qui travaillent sur le SALB dans les différents centres de recherches du Brésil, ne jouissent pas de la même popularité car les résultats de leurs travaux, sont publiés en portugais la plupart du temps, dans des revues de l'EMBRAPA ou dans des rapports techniques internes ("communicado técnico").

La dernière mission de M. NICOLAS au Brésil, réalisée en février-mars 1989, a permis de rencontrer à Manaus, au centre national de recherche sur l'hévéa et le palmier à huile (CNPSD), le chercheur qui a très certainement la plus grande connaissance des relations hôte-parasite entre l'hévéa et le Microcyclus, qui possède la collection la plus diversifiée de souches de *M. ulei* du Brésil, et qui peut sans doute le mieux parler de la résistance de l'hévéa à cette maladie, en termes de résistance verticale et de résistance horizontale. N.T.V. JUNQUEIRA, travaille sur ce sujet à Manaus depuis 1982 ; ses travaux ont donné lieu à une thèse en 1985 puis à quelques publications dans la revue brésilienne de phytopathologie (celles-ci sont d'ailleurs tirées de sa thèse).

A la suite de ce contact, une mission d'une semaine au CNPSD de Manaus a été organisée pour rencontrer le Dr JUNQUEIRA et prendre connaissance de l'état d'avancement de ses recherches.

I - LE CNPSD DE MANAUS

Manaus est une ville totalement isolée en pleine Amazonie, ce que déplorent la plupart des chercheurs du centre : difficulté d'échanges scientifiques, de déplacement, de participation à des réunions, vie chère, etc...

Le centre de recherches est éloigné de la ville d'une trentaine de kilomètres, mais jouit d'une très grande disponibilité en terrains (plusieurs centaines d'hectares), et d'une tranquillité absolue. Les installations et les équipements sont à première vue corrects.

Les programmes de recherches souffrent de discontinuité car la plupart des chercheurs s'absentent pendant au moins 3 ans pour réaliser une thèse de doctorat dans le sud du pays.

Le CNPSD doit changer de nom dans environ 2 mois en raison de la diversification de ses activités de recherche.

En attendant, les 2 seules cultures étudiées ici sont : l'hévéa et le palmier à huile. Un sélectionneur français de l'IRHO, M. Ph. AMBLAR, est en poste dans ce centre depuis 5 ans. Pour ce qui concerne l'hévéa, la phytopathologie et l'amélioration génétique occupent la plus grande part des

activités de recherches avec une équipe de 6 chercheurs brésiliens, 2 chercheurs allemands et 3 ou 4 techniciens.

I.1. Présentation par M. Junqueira (N.J.) des recherches effectuées en phytopathologie de l'hévéa

Disposant seulement de 4 jours de visite au CNPSD, nous nous sommes limités au problème du Microcyclus étudié par N. JUNQUEIRA ; les autres sujets de recherches n'ont été abordés que très superficiellement.

- Programmes de recherches de phytopathologie :

1. Etude de la variabilité de *M. ulei*

2. Identification des composantes de la résistance horizontale (au sens général)

3. Résistance et contrôle chimique

4. Contrôle biologique (intégré avec la résistance)

5. Hérédité de la résistance

6. Biochimie de la résistance (phytoalexines) : chercheur allemand

7. Induction (création) et sélection de clones résistants par mutations chimiques (polyploïdisation)

8. Identification de sources génétiques de résistance (différentes espèces d'hévéa)

9. Epidémiologie des races physiologiques de *M. ulei*

10. Etude de *Tanatephorus cucumeris*

11. Etude des agents des "croûtes noires" : *Phyllachora huberi* et *Rosenscheldiella hevea* (L. GASPAROTTO).

12. Effet du porte-greffe sur la résistance

13. Etude du "declinio" (25 % du temps de recherche)

14. Etude des virus parasites de l'hévéa (université allemande)

15. Etude du greffage de couronne

16. Etude des mycorhizes (chercheur allemand)

I.2. Installations et laboratoires

- Le laboratoire de phytopathologie occupe un bâtiment entier à un étage et comprend :

. 1 salle de microscopie : très bien équipée, plusieurs microscopes et loupes binoculaires, 1 microscope tout neuf Zeiss avec fluorescence et photographie.

. 1 salle de manipulations : 2 centrifugeuses, 1 lyophilisateur, pH mètre, balances, étuves réfrigérées illuminées, incubateur à CO_2, spectrophotomètre, broyeur, congélateur, réfrigérateur, four Pasteur.

. 1 salle de cultures : 8 incubateurs réfrigérés illuminés (400 l), étagères avec éclairage pour cultures des champignons.

. 1 salle d'isolement : 3 hottes à flux laminaire.

. 1 salle d'autoclavage et lavage vaisselle.

. 1 pièce de rangement des produits et verrerie.

- En outre, une deuxième salle de laboratoire dans le même bâtiment est destinée à l'étude de la "mosca-de-renda" (: *Leptopharsa heveae*) et des moyens de lutte, notamment biologique, grâce à un champignon entomophage *Sporothrix insectorum*. La "mosca-de-renda" est un hémiptère (puceron) qui provoque de sévères défoliations dans le Matto Grosso do Sul. Le seul responsable de ces travaux au Brésil est Marcos V.B. GARCIA., qui cultive avec succès le champignon et a déjà obtenu, à Manaus, des résultats très encourageants.

- Pour les travaux d'inoculation in vivo de *Microcyclus, Tanatephorus et Phyllachora*, un bâtiment annexe a été aménagé pour permettre des inoculations contrôlées. Y sont régulées, la température (24 °C), l'humidité, et l'éclairement. Ces installations, peu sophistiquées, sont très fonctionnelles.

- Des pépinières de plants en sacs sous ombrière (30 % d'ombre) sont aménagées pour accueillir 10 000 plants en sacs. L'arrosage est fait par brumisation. Des arrosages fréquents et une fertilisation poussée permettent d'accélérer l'émission de nouvelles feuilles.

- A côté de ces pépinières une serre tropicale de 200 m2 environ abrite une très grande quantité de plants en sacs. Cette serre permet de suivre, à l'abri de toute contamination extérieure, l'évolution de la maladie plusieurs semaines après l'inoculation artificielle. Signalons au passage que les insectes et notamment les fourmis sont capables de mélanger les races sur un même plant en véhiculant des spores d'une feuille à l'autre.

II - EXPOSE DES TRAVAUX DE RECHERCHE DE N. JUNQUEIRA

II.1. Culture de *M. ulei* : voir composition des milieux en annexe n° 1 et 1bis)

Le Microcyclus est un champignon à croissance lente. Ceci présente des avantages et des inconvénients.

- Avantages : cultivé en gros tubes à essai sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar), le champignon peut être maintenu dans le même tube (à 24 °C et l'obscurité) jusqu'à 3 mois sans repiquage. La culture présente un aspect velouté gris dû au mycélium uniquement (absence de spores).

- Inconvénients : l'obtention de quantités importantes de mycélium pour sa multiplication nécessite la préparation d'une grande série de tubes de culture d'où de nombreuses manipulations ainsi qu'une organisation et une planification parfaites. Ceci devient assez lourd lorsqu'il s'agit de travailler avec un nombre élevé de souches.

La culture en milieu liquide en erlen meyers ne donne aucun résultat satisfaisant (pas de table d'agitation).

II.2. Isolement de *M. ulei*

L'isolement est effectué à partir de conidies, sur feuilles au stade C, portant des lésions duveteuses. Les conidiospores sont prélevés sur une seule lésion, face inférieure de la feuille, à l'aide d'une aiguille, sous une loupe binoculaire.

Les isolements ne sont donc pas strictement monospores mais N. JUNQUEIRA considère qu'une lésion bien isolée sur la feuille et parfaitement circulaire, est le résultat de l'infection d'une seule spore ; les chances de recueillir une seule souche à la fois sont donc très grandes avec cette technique. Les repiquages sont effectués tous les mois ou tous les 3 mois suivant la taille des tubes à essai utilisés, et la quantité de milieu disponible.

II.3. Production de spores in vitro et in vivo

A partir des cultures en tubes, des fragments de mycélium sont prélevés et transférés dans des tubes contenant du milieu PSA (potato sucrose agar) + Panvit (A.A. + sels minéraux), pH 5 ± 0,5. Ces fragments sont écrasés contre les parois du tube à l'aide d'un instrument plat monté sur le manche Pasteur, puis étalés sur le milieu. Les tubes ainsi préparés sont exposés à la lumière (2 000 lux) 12 h sur 24 h, la sporulation se produit à partir du 10e jour, dans ces conditions.

Les spores ainsi produites sont mises en suspension dans 2 ou 3 ml d'eau et appliquées au pinceau sur de jeunes feuilles (stade B2), sur des plants élevés en sacs. Ce passage sur la plante permet d'obtenir une très

grande quantité de spores en 5 jours tout en conservant le pouvoir pathogène de la souche cultivée (intensité de la sporulation).

II.4. Conservation du champignon

Aucune technique de conservation à long terme n'est utilisée. La conservation à l'azote liquide n'a pas été essayée, le centre ne dispose pas de l'équipement nécessaire.

Des feuilles au stade C très infectées peuvent être conservées au freezer ou au congélateur pendant 1 mois ; les conidies gardent un bon pouvoir germinatif après ce délai.

Pour l'instant, les souches sont repiquées régulièrement en tubes puis passent par le stade plante en sac avant d'être inoculées pour des tests de résistance. La conservation des cultures en tubes peut se faire à 15 °C, à l'obscurité, pendant 3 mois pour des tubes de gros diamètre.

N. JUNQUEIRA conseille aussi la conservation in vivo des souches, un peu comme ce qui se fait dans le cas de la rouille du café. Il est possible de cultiver plusieurs races sur le même plant (jusqu'à 10 races différentes) lorsque le clône le permet (très grande compatibilité), par exemple RRIM600, GT1, PB86. Après l'inoculation, le plant est mis en incubation, pendant 15 jours à 24 °C puis est placé en incubateur illuminé à 16 °C ; le champignon se maintient parfaitement en sporulation sur les feuilles et peut se conserver ainsi jusqu'à 60 jours (il faut cependant veiller aux acariens). Sous abri, il est aussi possible de conserver, pour des périodes plus courtes, le champignon à l'état sporulant, mais il est plus difficile de contrôler les insectes, responsables de contaminations et de mélanges de races. N. JUNQUEIRA connait en serre un problème d'hyperparasitisme de *M. ulei*, dû à *Hansfordia puvinata* (voir annexe n° 2). Ce champignon pourrait être utilisé en lutte biologique ; un essai à petite échelle, en JB, a d'ailleurs été effectué et a donné des résultats positifs. Il détruit les spores et les stromas qui se développent sur les feuilles, ce qui est très ennuyeux pour suivre le cycle de *M. ulei*. Cet hyperparasite n'a pas été observé en Guyane.

La conservation à long terme des souches de *M. ulei* n'a pas été envisagée et il n'existe pas de mycothèque de *M. ulei*. Il serait regrettable de perdre le fruit de 7 années de travail et une collection aussi diversifiée que celle de N. JUNQUEIRA.

II.5. Technique d'inoculation

La technique des disques de feuilles utilisée par CHEE et I. HASHIM est très critiquée par N. JUNQUEIRA ; il n'a semble-t-il pas obtenu de résultats, même qualitativement, positifs, et a abandonné complètement cette technique.

Si nous revenons aux spores produites in vivo (voir II3), celles-ci sont récupérées à l'aide d'un pinceau, après une semaine d'incubation en conditions contrôlées. On peut arriver à produire à partir d'une seule foliole 10 ml de suspension à 2 x 10^5 spores/ml, ce qui est très suffisant pour la

suite des opérations. En effet, la vaporisateur alimenté par un petit compresseur qui est employé ici, consomme de très faibles quantités d'inoculum (0,04 ml par foliole inoculé) grâce à la très grande finesse de la pulvérisation.

A l'intérieur de chaque salle d'inoculation, des parois en polyéthylène noir permettent de constituer plusieurs cellules indépendantes qui peuvent contenir une dizaine de plants chacune. Après l'inoculation, chaque cellule est fermée pendant 24 h (100 % d'humidité), les plants restent pendant 12 h à l'obscurité. Le cycle 12 h jour, 12 h nuit est ensuite rétabli.

A partir du 5ème jour, la réaction est déjà visible à l'oeil nu et il faut attendre le 12e jour pour effectuer la notation définitive des résultats pour chaque facteur étudié.

Le nombre de répétitions est de 4 plants par clône, chaque plant peut être inoculé de 6 - 8 isolats différents, chacun inoculé sur une seule feuille (3 folioles) du même étage. Pour chaque clone étudié, le test est répété 2 à 3 fois. Deux clones témoins, 1 sensible et 1 résistant sont ajoutés aux clones testés.

Le stade de la feuille à inoculer est le stade B2 (7 jours), de couleur brun-rouge ; un plant qui présente une teinte verdâtre avec une faible teneur en anthocyane est à écarter de l'essai.

II.6 - Résultats de l'infection

La réaction due à l'attaque de *M. ulei* est évaluée au bout de 12 jours d'incubation. Les observations qui sont pratiquées sur des feuilles arrivant en fin de stade C se rapportent surtout à la taille des lésions et à la sporulation.

- D'un point de vue qualitatif, il existe toujours une réaction de la feuille, ce qui veut dire qu'on observe toujours un symptôme même quand il s'agit d'un point chlorotique de moins d'un millimètre, qui correspond à la pénétration du tube germinatif ou au point de fixation de l'appressorium. La réaction est considérée comme négative lorsqu'il ne se produit aucune sporulation, et positive si on observe la formation de conidies.

Nous voyons tout de suite que la méthode des disques foliaires mise au point par CHEE est critiquable car des lésions qui se forment au bout de 7 jours n'indiquent pas forcément que la réaction est positive ; il peut s'agir d'une réaction d'hypersensibilité sans aucune sporulation. Il se forme dans ce cas des lésions pouvant aller jusqu'à 1 mm de diamètre, celles-ci sont classées d'après la méthode d'évaluation de CHEE, qui ne s'intéresse qu'au diamètre des lésions, comme des réactions de très grande sensibilité. Le clone étudié est donc noté "hautement sensible" à l'égard de la race qui lui est inoculée, alors qu'au contraire on se trouve dans le cas d'une résistance, complète, qui se traduit par une réaction d'hypersensibilité (= résistance verticale). Comme nous l'avons déjà signalé, la prise en compte d'une seule composante de la résistance, en l'occurrence le diamètre des lésions, est dangereuse et peut conduire à des interprétations totalement aberrantes. La

méthode des disques foliaires est évidemment séduisante car facile d'application, mais elle est le résultat d'une simplification méthodologique qui ne permet pas d'étudier rationnellement un phénomène aussi complexe que la relation hôte-parasite.

La sporulation est donc un facteur qui, qualitativement, permet de déceler les résistances verticales et quantitativement, permet d'évaluer pour ce facteur, le niveau de résistance horizontale. La méthode des disques ne permet malheureusement pas d'étudier ce facteur ; c'est pourquoi N. JUNQUEIRA la rejette catégoriquement.

- D'un point de vue quantitatif, plusieurs facteurs sont évalués séparément et notamment :

. nombre de lésions/cm2
. taille des lésions (diamètre en mm) sur la face supérieure de la feuille
. intensité de la sporulation.

Parmi ces 3 facteurs, les 2 derniers sont considérés comme les plus importants et ont permis la mise au point d'une échelle de 14 types de lésions différentes (voir annexe n° 3 et 3bis). Une évaluation réalisée en compagnie de N. JUNQUEIRA montre que la méthode est simple et efficace.

Cette échelle permet de distinguer les résistances verticales (races avirulentes) lorsqu'il n'y a pas de sporulation (notes 0 à 3), des résistances horizontales (notes 4 à 10) pour lesquelles les lésions forment toujours des spores.

- La formation des stromas sur le contenu des lésions n'est cependant pas prise en compte. Les stromas se forment en effet dans tous les cas chaque fois que le champignon sporule (d'après N. JUNQUEIRA) ; leur apparition se produit à peine 20 jours après l'inoculation et les ascospores sont mûres au bout de 30 jours. N. JUNQUEIRA cite dans son dernier article "Reaçoes de clones de Seringuera a varios isolados de *M. ulei*", 1988, le cas exceptionnel de FX 3844 qui malgré une réaction d'hypersensibilité à 2 isolats a permis la formation partielle de stromas.

II.7. Autres composantes de la résistance étudiée

- Dans son dernier article précédemment cité, les facteurs étudiés sont :

. période d'incubation,
. période de latence infectieuse (temps nécessaire pour que 50 % des lésions sporulent),
. période sensible de la feuille,
. l'abscission des feuilles malades.

Tout comme le nombre de lésions formées par unité de surface, JUNQUEIRA montre que la période d'incubation n'est pas non plus un paramètre efficace pour analyser la résistance des clônes d'hévéa au Microcyclus.

- En revanche, (voir annexe n° 4), il s'intéresse particulièrement à une composante totalement indépendante, selon lui, de la souche de *M. ulei* inoculée : la durée de la phase sensible de la feuille jeune (PSF) depuis le stade A jusqu'au stade D. Celle-ci est une caractéristique clonale, elle est immuable et conditionne le nombre de générations de *M. ulei* par flux foliaire (NGPF). Celui-ci est le résultat de la période sensible (en jours) sur le temps nécessaire (en jours) pour que le champignon sporule (= période de latence infectieuse = période d'une génération PG) = NGPF = $\frac{PSF}{PG}$.

La détermination de la période sensible pour 15 clones a été réalisée au cours de ces 4 dernières années (publication à paraître). La méthode employée est plutôt fastidieuse, elle nécessite de réaliser plusieurs inoculations sur les feuilles d'un même flux foliaire, depuis le stade A jusqu'au stade où la feuille ne sera plus sensible (échec à l'inoculation). Une nouvelle inoculation est pratiquée chaque fois que *M. ulei* arrive à se reproduire sur la feuille (sporulation).

- L'observation attentive d'une feuille portant des lésions sur la face permet de déterminer le nombre de générations produites par *M. ulei*.

En effet, lors de la première infection les tissus de la feuille sont très jeunes, le champignon s'installe rapidement et produit des spores (1ère génération) qui vont à leur tour infecter la même feuille mais donner des lésions de plus petite taille (tissus plus âgés). Ces dernières lésions à leur tour vont sporuler (2ème génération), et ainsi de suite. Nous sommes ainsi arrivés à compter 3 générations sur la même feuille d'un clone très sensible (IAN 717).

Le nombre de générations peut toutefois varier en fonction de la souche utilisée et de l'âge de l'inoculum (période d'une génération plus longue).

La période sensible de la feuille peut s'étendre du stade A2 jusqu'au stade C-D comme dans le cas du GT1 (16 jours), ou au contraire être réduite à 9 jours entre le stade A3 et le stade B3 (cas de IAN 6158).

- L'abscission des jeunes feuilles est étudiée en jouant sur la concentration en spores de l'inoculum pour déterminer le seuil de tolérance à la chute des feuilles.

Il semblerait aussi que lorsque l'inoculation se produit au stade très jeune (moins de 7 jours), les feuilles tombent pour la plupart des clones, même ceux qui manifestent une résistance complète ; la réaction d'hypersensibilité se traduit en fin de compte par l'asbcission.

Ce facteur ne paraît pas cependant bien maîtrisé et aucune explication n'est satisfaisante pour l'instant. S'agit-il de la concentration trop élevée en spores, de l'âge des feuilles infectées, des toxines produites pour le pathogène, ou de HCN libéré dans les tissus infectés et qui inhibe le transport des aliments vers les nouvelles feuilles émises un étage plus haut ?

II.8. Variabilité physiologique de *M. ulei*

N. JUNQUEIRA possède 56 isolats de *M. ulei* récoltés dans différentes régions du Brésil. Il travaille avec ces isolats depuis 7 ans. Il est difficile de savoir, à la suite des travaux de CHEE et ISMAIL, combien de races ont pu être différenciées parmi ces 56 isolats.

Ce qui est sûr, c'est qu'il existe une spécificité de certains isolats vis-à-vis des espèces d'hévéa.

Ainsi N. JUNQUEIRA arrive actuellement à différencier, en fonction de l'aptitude de la souche inoculée à sporuler sur les feuilles infectées, 4 groupes :

. **groupe I** : les isolats sporulent sur tous les clones possédant des gènes de *H. benthamiana* et sur quelques *H. Brasiliensis* purs.

. **groupe II** : les isolats sporulent sur tous ou la plupart des clones d'*H. brasiliensis* et sur quelques hybrides d'*H. benthamia* (IAN 6323 - IAN 6158).

. **groupe III** : les isolats sporulent autant sur la majorité des clones hybrides de *H. benthamiana* que sur la majorité des clones de *H. brasiliensis*, sauf sur FX985 et MDF 180.

. **groupe IV** : sporulation seulement sur les clones d'*H. camporum* et dérivés possibles comme CNS-AM7665 et CNS-AM7718.

Les souches des 3 premiers groupes sporulent abondamment sur des clones orientaux tels que LCB510, GT1, PB86 et RRIM600.

Cette différenciation en groupes est toutefois un peu générale et une gamme différentielle de clones est nécessaire pour identifier un nouvel isolat :

. pour le GI : IAN717, IAN3087, FX3925, FX3899
. pour le GII : FX25, FX4098, FX2261, FX985, MDF180
. pour le GIII : FX4098, FX25, FX2261.

Le groupe III, selon M. JUNQUEIRA, pourrait être un groupe hybride des groupes I et II ; ce croisement pourrait se produire facilement dans les régions où *H. brasiliensis et H. benthamiana* changent de feuilles à la même période de l'année, comme c'est le cas dans l'état de Sao Paulo (d'après N.J.).

- Si l'on se reporte aux travaux de CHEE ("The occurence of eight races of M. ulei on hevea rubber in Bahia, Brasil" 1986) on peut, d'après N. JUNQUEIRA, classer les 9 races qu'il cite de la manière suivante :

GI : races 2, 3 et 8
GII : races 1, 4, 5, 6, 7, 9.

Ismail HASHIM et LCC DE ALMEIDA, en 1987, dans leur article "Identification of races and in vitro sporulation of M. ulei" n'arrivent à identifier que 4 races sur les 8 de CHEE : la race 2 qui appartient au groupe I et les races 4, 5 et 6 qui appartiennent au groupe II d'après la résistance constatée des clones d'*H. benthamiana*

- N. JUNQUEIRA a donc identifié à ce jour 4 groupes spécialisés de *M. ulei*. En existe-t-il d'autres ? On ne connaît pas encore de groupe spécifique de l'espèce Pauciflora ni d'ailleurs de l'espèce Guianensis. En effet les essais d'inoculations artificielles, avec tous les isolats disponibles sur l'espèce *H. guianensis* ont donné des résultats négatifs. Seule l'espèce *H. guianensis var. marginata* (en fait très différente de *H. guianensis*) est sensible à quelques isolats. Pourtant en Guyane française nous savons qu'il n'existe pas d'*Hevea brasiliensis*, nous connaissons seulement l'espèce *H. guianensis* et nous avons récolté en forêt des feuilles portant des stromas de *M. ulei*. L'inoculum qui a infecté les premiers hévéas de *brasiliensis* (expérience Combi n°1), les pépinières, les J.B., provient de la forêt primaire proche, comme nous avons pu le démontrer sur le champ de clones 1985 (expérience Combi n°2).

Nous avons recherché avec N. JUNQUEIRA et le Dr MORAES sur l'ouvrage intitulé "o genero hevea : descriçao das especies e distribuçao geografica" (1971), annexe n° 7 du plan national de l'hévéa, la répartition des différentes espèces du genre Hévéa et nous avons pu vérifier que l'espèce *guianensis* est bien la seule espèce connue dans nos forêts guyanaises.

Ces quelques informations sont tout-à-fait nouvelles pour N. JUNQUEIRA et l'ont beaucoup intrigué. Il semblerait qu'il existe en Guyane un nouveau groupe de *M. ulei*, spécifique de l'espèce *guianensis* et pouvant s'attaquer avec certitude aux clones de *H. brasiliensis* (la sensibilité des clones de *H. benthaniana* aux races présentes n'est pas démontrée en Guyane).

Signalons également qu'en ce qui concerne *Phyllachora huberi*, reconnu sur *H. guianensis* sauvage en Guyane, N. JUNQUEIRA et L. GASPAROTTO ne l'ont pas observé non plus sur cette espèce.

Il y a sans aucun doute, dans ce que nous venons de dire, matière à intéresser N. JUNQUEIRA à l'occasion d'une prochaine visite en Guyane. Ces observations démontrent l'intérêt de créer un réseau Microcyclus sur le continent sud américain et même jusqu'en Amérique centrale. N. JUNQUEIRA signale qu'au Costa Rica il existe une race qui s'attaque à *H. benthamiana* alors qu'on se trouve en dehors de l'aire de *H. benthamiana*. S'agit-il d'une introduction accidentelle ou naturelle, ou bien d'une mutation du champignon sous l'effet de la pression de sélection exercée par l'hôte sur le parasite ?

- L'étude de la variabilité de M. ulei a été abordée par les techniques d'électrophorèse (publication 1987 : "variabilidade isoenzimatica de isolados de M. ulei com diferentes niveis de virulencia", N. JUNQUEIRA et coll.). Les auteurs ont pu mettre en évidence une corrélation entre la virulence des isolats étudiés et leurs témoins isoenzymatiques, mais concluent que le nombre d'enzymes testées fut insuffisant dans leurs études.

- Pour conclure ce chapitre, signalons que M. ulei est capable de s'adapter à des conditions climatiques particulières d'une région. Les isolats récoltés dans le Matto Grosso montrent que le champignon peut parfaitement sporuler sur un clone sensible, une semaine après l'inoculation, avec 3 h d'eau libre (période d'humectation) et une température de 16 °C. Ces conditions sont tout-à-fait compatibles avec les conditions climatiques de la région ; le développement de Microcyclus semble cependant freiné par une longue saison sèche de 5 mois. Il existe donc chez M. ulei des adaptations climatiques, écologiques que N. JUNQUEIRA appelle des écotypes. De nouveaux pathotypes adaptés sont donc susceptibles d'apparaître dans ces régions à priori défavorables au développement du SALB (voir annexe n° 5).

II.9. Sources génétiques de résistance (voir annexe n° 6)

Selon N. JUNQUEIRA la résistance horizontale de haut niveau est très difficile à trouver, voire inexistante, chez *H. brasiliensis* tandis que les espèces *benthamiana* et *pauciflora*, outre des résistances de type vertical, possèdent des niveaux assez élevés et même très élevés de résistance horizontale.

Le cas du clone F4542, à l'origine de la plupart des clones issus de croisements brasiliensis x benthamiana, est maintenant bien caractérisé. Ce clone possède un bon niveau de résistance horizontale, associée à des résistances verticales. Utilisé dans des rétrocroisements avec *H. brasiliensis* cette résistance horizontale s'est peu à peu diluée tandis que les résistances spécifiques sont restées.

N. JUNQUEIRA doit présenter à un congrès de phytopathologie (9 au 15 juillet 1989) un résumé de ses travaux sur ce sujet.

Il montre clairement, par une représentation graphique de la réaction des clônes à 8 ou 10 races différentes, le type de résistance (verticale ou horizontale) et le niveau de résistance partielle auquel il faut s'attendre. Bien que non publiés, ces résultats montrent que RRIM 600 ne possède pas de résistances spécifiques aux isolats inoculés et que le niveau de résistance à ces isolats est très faible. Pour IAN 717 (PB86 x F4542), il existe des résistances spécifiques (totales) à certaines races ; par contre les races virulentes mettent en évidence des niveaux de résistance horizontale très faible (graphe très hétérogène). F4542, IAN6158, PA31 montrent, pour toutes les races inoculées des niveaux de résistance horizontale moyens à élevés.

Dans son article "reaçoes de clones de seringueira", N. JUNQUEIRA cite le clône IAN6158, hybride de F4542, qui a conservé un bon niveau de résistance horizontale, contrairement à IAN717. Dans ses conclusions, il cite parmi les clones les plus recommandés au Brésil, en raison de leur résistance totale à certaines races et d'un certain niveau de résistance partielle, les clones FX985, FX4098, FX2261, FX25 et MDF180. Malgré tout, certains isolats donnent des réactions très sensibles sur ces clones, ce qui n'est pas très rassurant.

Viennent ensuite les clones PA31, CNS-AM7907, CNS-AM7745 qui présentent soit de la résistance complète (verticale) soit de la résistance partielle (horizontale) de haut niveau.

Signalons le cas de PFB5 (clone primaire d'*H. brasiliensis*) qui était classé résistant avec ces derniers clones ; N. JUNQUEIRA a trouvé récemment une race, très agressive qui semble démontrer que le niveau de résistance horizontale est faible pour ce clone. D'après lui, la résistance de ce clone s'est effondrée, ce qui est plutôt étonnant compte tenu des résultats obtenus avec ses 15 isolats. Enfin, le clone P10 (clone primaire d'*H. pauciflora*) est le seul clone qui a montré une résistance totale (pas de sporulation) à tous les isolats testés.

II.10. Comportement du matériel végétal planté en Guyane :

En regard des travaux de N. JUNQUEIRA, des résultats et conclusions qui en découlent, et des observations très fructueuses réalisées au cours de cette visite, nous pouvons nous demander, outre l'existence possible d'un nouveau groupe de *M. ulei* de la région de Guyane, s'il n'existe pas en Guyane des résistances verticales (complètes) notamment à l'égard des clones hybrides *brasiliensis x benthaniana* tels que IAN717, IAN3087 mais aussi à l'égard de clones d'*H. brasiliensis* tels que FX3864, IAN710, etc...

En effet, la présence de lésions, résultat d'attaques de *M.ulei* est presque toujours constatée sur feuilles adultes mais on ne s'est pas intéressé de très près à la sporulation de ces lésions.

Or, il semble bien, après vérification en plein champ sur les quelques clones cités plus haut et sur des individus classés "très résistants" en C.E.S., que les symptômes correspondent tout-à-fait soit à des lésions de type "chlorotic flecks" (quelques cellules seulement présentent un aspect chlorotique), soit à des lésions nécrosées de 1 mm de diamètre maximum, en très faible nombre sur chaque feuille. Il s'agit bien de résistance totale car on n'observe pas de sporulations sur les lésions et on peut être tenté de conclure que nous sommes en présence de résistance verticale. Si cette hypothèse est vraie, de combien de temps dispose-t-on avant que n'apparaissent les virulences nécessaires pour infecter avec succès ce matériel "hautement résistant" ?

Rappelons pour exemple le cas de la région de Bahia où l'hévéaculture a débuté après 1950 avec des clones résistants au M. ulei tels que FX25, IAN717, FX2261. Il a fallu attendre 10 ans pour que tous les clones soient très sévèrement attaqués par le Microcyclus.

Dans le Pernambouc, *M. ulei* est présent en pépinière et en J.B. mais ne sévit pas, sans doute parce que l'hévéaculture est encore nouvelle et que *M. ulei* n'en est qu'au début de son évolution dans cette région. Cependant l'introduction de souches virulentes est facilitée par les échanges de matériel végétal à travers le pays sans aucune précaution phytosanitaire.

En dehors des résistances verticales supposées exister à Combi, certains matériels sont particulièrement intéressants, en raison de leur très bonne croissance malgré leur sensibilité au Microcyclus. C'est le cas de RRIC101 et IRCA19 plantés en CCPE (exp. Combi n°1) depuis 1983.

Il y a dans ce matériel des facteurs de résistance qui contribuent à

un développement satisfaisant de l'arbre, et qui doivent être identifiés, grâce à l'inoculation artificielle en conditions contrôlées, avant l'utilisation de ce matériel dans un programme d'amélioration.

Enfin, nous devons rester prudents sur la variabilité de *M. ulei* présent en Guyane et penser dès maintenant à nous constituer une collection d'isolats aussi variée que possible, représentative de la variabilité de *M. ulei* à travers toute l'Amazonie, voire tout le continent sud-américain. N. JUNQUEIRA possède déjà une collection assez complète et variée (56 souches) au CNPSD de Manaus ; cette collection risque fort de disparaître si N. JUNQUEIRA quitte Manaus. Il paraît urgent d'étudier les possibilités de sauver cette collection, en Guyane par exemple.

III - VISITE EN CHAMP

Cette visite rapide s'est déroulée en compagnie de L. GASPAROTTO, auteur d'une thèse sur l'épidémiologie de *M. ulei* et travaillant actuellement sur *Phyllachora huberi*, et N. JUNQUEIRA.
Quelques champs à proximité du centre ont été parcourus.

III.1. Greffage de couronne :

C'est la solution qui paraît la plus efficace, au moins pour l'oeil du visiteur qui se rend sur des parcelles âgées de 10 ans de IAN717, ou de FX3864, où les arbres présentent une croissance très médiocre, et sont complètement dépourvus de feuilles.

Les essais de traitement fongicides des couronnes ont été abandonnés.

Les couronnes utilisées, entre autres, sont PA31 et IAN6486.

Le greffage peut être pratiqué sur des arbres de 2 à 4 ans, plusieurs greffes peuvent être effectuées sur les différentes branches principales du même arbre. Après recépage l'aspect est curieux ; plusieurs greffons démarrent en même temps. Dans le cas de PA31 utilisé comme couronne, des tailles sont nécessaires par la suite, en raison de l'architecture ouverte et du branchement important de ce clone (risque de casse).

Le greffage de couronne est probablement la seule solution dans la région pour sauver des plantations de clones sensibles, malgré une baisse notable de la production du clone planté. Des essais clonaux de couronnes sont en cours.

III.2. Champ de clones

Sur les champs de clones visités, où chaque clone est représenté pour un faible nombre d'individus, nous nous sommes arrêtés devant le clone considéré comme l'élite du point de vue résistance au Microcyclus et potentiel de production : IAN6158. La déformation du tronc ne rend pas la saignée impossible, le potentiel est estimé à 1 200 kg/ha. Nous avons retrouvé ce clone isolé au milieu d'un champ où tous les autres clones avaient disparu.

Depuis peu de temps, 2 000 ha ont été plantés avec ce clone dans la région.

Bien qu'exempt de Microcyclus et de Phyllachora on y a trouvé un autre champignon foliaire qui provoque des symptômes très voisins de Phyllachora ; il s'agit de *Rosenscheldiella heveae*, dont l'importance comme Phyllachora paraît assez secondaire par rapport au Microcyclus. Ce champignon n'a pas été observé en Guyane.

III.3. Parcelle conservatoire d'espèces d'hévéa

Cette parcelle est plantée d'hévéas de différentes espèces
. *H. pauciflora* : très beau, indemne de maladies, couronne très large et très fournie, feuilles très épaisses.

. *H. rigidifolia* : feuilles brillantes, dirigées vers le bas, espèces très résistantes.
. *H. guianensis var marginata* : feuilles dirigées vers le haut, très caractéristiques, très résistantes.

. *H. camporum* : malade, aspect chétif.

. *H. camargoana* : également très chétif et malade.

III.4. Le "declinio"

Cette maladie, qui est apparue il y a 4 ans environ préoccupe beaucoup les phytopathologistes qui y consacrent 25 % de leur temps. Le "declinio" se traduit en fait par des symptômes de jaunissement des feuilles sans que l'on ait pu identifier l'agent responsable de cette maladie. Toutes les hypothèses sont émises mais rien n'a été démontré, semble-t-il. Il semble que cette année, la hauteur des pluies supérieure à la normale, entraînant une hydromorphie dans la plupart des sols qui sont très argileux, soit jugée responsable du "declinio". Les feuilles jaunissent mais restent sur l'arbre, jusqu'à la période naturelle de défoliation. En principe, les arbres ne meurent pas, tout se passe comme s'il s'agissait d'un problème physiologique. L'affaiblissement qui en résulte peut contribuer à l'entrée de parasites dits "de faiblesse" ; on a trouvé par exemple dans les tissus des arbres adultes *Agrobacterium tumefasciens, Botriodiplodia*. Certains affirment que le declinio ne concerne pas seulement l'hévéa, mais peut toucher d'autres espèces comme l'avocatier, par exemple. Cette maladie s'observe sur des arbres qui sont âgés de 10 ans et plus. L'examen du système racinaire n'a jamais été pratiqué pour essayer de trouver une explication en relation avec le type de sol, les conditions d'aération, le développement racinaire.

Il est bien évident que l'étude des maladies en champ est extrêmement compliquée en raison du nombre élevé de parasites que l'on peut rencontrer sur le seul genre hévéa :

Champignons parasites des feuilles

. *Microcyclus ulei*
. *Tanatephorus cucumeris*
. *Phyllachora huberi*
. *Corynespora cassiicola*
. *Helminthosporium hevea*
. *Colletotrichum gloesporioïdes*
. *Phytophthora palmivora*
. *Rosenscheldiella heveae*
. *Ceratobasidium sp.*

Viennent s'ajouter à ces parasites des maladies bactériennes, virales et des attaques d'insectes dont la "nosca de renda" (puceron), *Jathrophorbia*, responsable de criblures, etc...

IV - DISCUSSIONS AVEC LES AUTRES CHERCHEURS

IV.1. Epidémiologie du SALB. L. GASPAROTTO a réalisé une thèse sur ce sujet en 1988 intitulée "Epidemiologia do mal das folhas (*Microcyclus ulei* (P. Henn.) v. Arx) da Seringueira (hévéa spp.)" Viçosa - Minas Gerais - Brasil.

Il y conclut que la température et la période d'humectation sont 2 facteurs qui sont bien corrélés avec la gravité des attaques de M. ulei. Il signale qu'à 16 °C, on n'observe pas de symptômes sur feuilles ; depuis peu, JUNQUEIRA et L. GASPAROTTO ont pu démontrer en conditions contrôlées que l'infection et la sporulation étaient tout-à-fait possibles à cette température (voir chap. II 8).

IV.2. Etude d'autres champignons parasites

< *Phyllachora huberi* : L. GASPAROTTO travaille sur cette maladie désormais. Le champignon ne peut être cultivé pour l'instant in vitro. Son étude oblige donc de passer par l'inoculation d'ascospores prélevés sur des stromas, sur la face inférieure des feuilles adultes. L'inoculation marche très bien avec une concentration de 2 x 10^5 spores/ml, les feuilles sont inoculées au stade B-C, en conditions contrôlées identiques à celles nécessaires à l'étude de *M. ulei* (salles d'inoculation). Les premiers symptômes apparaissent au bout de 40 jours (taches chlorotiques) ; les symptômes caractéristiques (stromas noirs sur la face inférieure des feuilles) sont visibles 2 mois après l'inoculation.

Tanatephorus cucumeris : ce champignon (basidiomycète) se cultive très bien en boîte de Pétri, mais ne sporule pas. Les essais d'inoculation avec du mycélium (fragments de culture) ne donnent pas de très bons résultats. L'inoculation de plants en sacs est réalisée en salle d'incubation avec des feuilles malades disposées sur un grillage au-dessus des plants. La technique réussit, mais les symptômes que l'on obtient sont un peu différents de la "tache en auréole" caractéristique ; on obtient plutôt des lésions circulaires, bordées de noir, de 1 cm à 1,5 cm de diamètre.

IV.3. Discussion avec les chercheurs allemands

Deux chercheurs allemands terminent leur séjour au CNPSD après 1 an 1/2 - 2 ans de recherches avec N. JUNQUEIRA, sous la direction du Pr LIEBEREI. Le premier travaille sur les composés phénoliques de jeunes feuilles d'hévéa, sur un très grand nombre de clones ; outre la grande consommation de jeunes feuilles pour ses analyses, il n'a pas été possible d'avoir un entretien avec lui. Les résultats de ses travaux seront publiés bientôt.

Le deuxième chercheur, plus ouvert, travaille sur les mycorhizes et recherche leur effet bénéfique sur la résistance de l'hévéa au Microcyclus ; ses premiers résultats sont, selon lui, encourageants. Il utilise les mêmes techniques d'inoculation de *M. ulei* que N. JUNQUEIRA et les mêmes échelles de notation de la maladie.

Ce chercheur nous a fait une démonstration originale et séduisante de

la mise en évidence directe, par la microscopie à fluorescence sur des feuilles au stade C préalablement infectées, des différences de coloration qui peuvent apparaître entre un clone sensible portant des lésions importantes et un clone résistant présentant une réaction d'hypersensibilité de type "chlorotic flecks". Pour notre exemple, les différences de coloration traduisaient la présence de composés phénoliques (phytoalexines) sur le clone résistant seulement (avec le rayonnement rouge, on observait autour du "fleck" une auréole de teinte jaune). Cet examen microscopique simple et rapide, in vivo, permet de déceler à un moment donné la présence de composés phénoliques dans les tissus infectés. Les feuilles peuvent immédiatement être immergées et conservées dans l'alcool pour analyse.

V - DISCUSSION ET CONCLUSION

- N. JUNQUEIRA possède une très grande expérience sur les relations hôte-parasite entre l'hévéa et le Microcyclus. Les résultats acquis après 7 années de recherches au CNPSD de Manaus contribuent au renforcement de nos connaissances dans les domaines de la symptomatologie (grâce à l'inoculation artificielle) de la variabilité du champignon, et surtout de la résistance horizontale de l'hévéa. Celle-ci se décompose en plusieurs facteurs (ou composantes) , dont ceux qui ont été retenus par N. JUNQUEIRA : la période sensible des feuilles (PSF), la période de génération de M. ulei (PG), le nombre de générations du pathogène par flux foliaire (= $\frac{PS}{PG}$) le diamètre des lésions, l'intensité de la sporulation, la tolérance à l'abscission.

Ces facteurs que l'on peut contrôler et tester grâce à une méthodologie mise au point par N. JUNQUEIRA et aux installations dont il dispose (salles d'inoculation) constituent une base solide pour la recherche de matériel résistant au SALB, dans un programme d'amélioration génétique.

Outre ces facteurs que l'on peut étudier hors champ, l'expérimentation plein-champ permet, elle, de suivre, ou tout au moins de mettre en évidence d'autres composantes qui entrent dans la résistance générale de l'hévéa, par exemple la phénologie, la tolérance à la défoliation partielle en relation avec la croissance (cas de RRIC101 et IRCA19) et aussi la production, la résistance à l'abscission (que l'on a appelé en Guyane facteur "pointes sèches").

- Selon N. JUNQUEIRA, l'avenir de l'hévéaculture réside dans l'amélioration génétique, les sources de résistance horizontale existent mais n'ont jamais, ou peu, été exploitées.

Le greffage de couronne peut être une solution pour sauver des plantations existantes, ravagées par le SALB. L'hévéaculture en zone marginale en est une autre (sud du Brésil) ; cependant on constate que Microcyclus possède une faculté extraordinaire d'adaptation au milieu. Se détourner du problème SALB paraît extrêmement dangereux pour l'avenir.

- L'IRCA a choisi de s'intéresser au problème du SALB et a donc choisi la solution génétique. Une station IRCA est en place en Guyane avec 18 ha de collections et de champs de comportement, qui n'existent pas à Manaus car l'incidence des maladies est tellement grave que les clones en expérience disparaissent en quelques années. Le laboratoire de phytopathologie de Kourou est de taille modeste et possède un équipement minimum pour poursuivre les recherches sur le Microcyclus.

Deux abri-pépinières de 50 m^2 chacun ont été installés à proximité du laboratoire mais ces installations devront être renforcées par une structure de 100 m^2 minimum pour y effectuer des inoculations artificielles en conditions de température, de lumière et d'humidité contrôlées.

Cette structure représente un investissement dont le financement est à trouver rapidement si l'on veut disposer en Guyane d'un outil de recherche performant, indispensable pour la réussite de notre programme SALB.

- N. JUNQUEIRA possède actuellement une collection très diversifiée de souches de *M. ulei*. Cette collection doit être sauvée avant son départ imminent de Manaus. La solution de la conserver en Guyane est envisagée sérieusement et tout est mis en oeuvre pour être éventuellement prêts à la recevoir (techniques conservation, culture, multiplication). Cette collection est de toute façon nécessaire pour la poursuite de nos travaux compte tenu de la très grande variabilité de *M. ulei* et de la spécificité soupçonnée des souches existant en Guyane.

- Tous ces éléments recueillis au cours de cette mission consolident nos bases pour poursuivre notre programme de recherche sur le Microcyclus en Guyane. L'IRCA et maintenant bien engagé pour entreprendre un programme d'amélioration génétique face au problème du SALB. Son antenne en Guyane lui apporte certaines garanties de sécurité et pérennité qui lui permettent d'y effectuer une recherche amont fondamentale et indispensable. Cette recherche ira en s'intensifiant en très peu de temps et nécessitera de disposer d'équipements et installations complémentaires. Tel est l'avenir que l'on peut envisager et que l'on doit espérer pour la station de l'IRCA en Guyane.

A N N E X E S

ANNEXE N° 1

- Milieu conseillé par N. JUNQUEIRA

Pomme de terre	250 g	
Agar	15 g	
KH_2PO_4	2 g	
Saccharose	10 g	
(ou glucose)	(7 g)	
Thréonine	0,25 mg)	Acides Aminés pouvant être
Tryptophane	0,25 mg)	remplacés par 2 ml de PANVIT
Lysine	10 mg)	voir composition page suivante
Eau q.s.p.	1000 ml.	

- Préparation : les pommes de terre sont coupées en rondelles et cuites dans l'eau bouillante pendant 35 à 40 mn. Après filtration sur buchner, le filtrat et maintenu à 60 - 70 °C (bain-marie), on y ajoute les acides aminés (ou le PANVIT) et 100 mg de choramphénicol) = solution n° 1.

La solution n°2 contient : 500 ml H_2O + saccharose + KH_2PO_4 + l'agar. On porte à ébullition par fusion et dissolution de l'agar.

Les solutions 1 et 2 sont aussitôt mélangées dans un erlen de 1 l ; la solution finale est répartie dans des tubes à essai, puis stérilisation à 120 °C pendant 15 - 20 mn.

Le pH est ajusté à 5,0 $\pm$ 0,2.

ANNEXE N° 1bis

COMPOSITION DU PANVIT (LABORATOIRE TEUTO-BRASILEIRO LTDA)

	Composition pour 1 cuillère à thé de solution	Dragées (1 dragée)
- Vitamines :		
Vit. A	2000 u.i	5000 u.i
Vit. D_2	400 u.i	400 u.i
Vit. B_1	1,5 mg	1,5 mg
Vit. B_2	1,7 mg	1,7 mg
Vit. B_{12}	6,0 mg	6,0 mg
Vit. E	30,0 mg	30,0 mg
Vit. B_6	2,0 mg	2,0 mg
Pantothénate de calcium	10,0 mg	10,0 mg
Vit. C	-	65 mg
Facteur PP (ac. nicotinique)	-	20 mg
Levure de bière	-	100 mg
- Sels minéraux :		
Sulfate de Cu	0,4 mg	0,4 mg
Sulfate de Mg	4,0 mg	5,0 mg
Sulfate de Mn	2,0 mg	2,5 mg
Sulfate de K	10,0 mg	10,0 mg
Sulfate de Zn	2,0 mg	2,0 mg
Fluorure de Ma	0,05 mg	0,05 mg
Phosphate dibasique de calcium	-	30,00 mg
Sulfate de fer	-	30,00 mg
Iodure de Kg	-	0,20 mg
_ Acides aminés :		
Chlorhydrate de lysine	20,0 mg	20,0 mg
Thréonine	0;50 mg	0,50 mg
Thryptophane	0,50	0,50
		Excipient 600 mg.

ANNEXE 2

PRAZO PARA INSCRIÇÃO ATÉ DIA:
30 DE ABRIL/1989

PARA USO DA S.B.F.
Resumo nº
Sessão
Dia
Horário

XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE Fitopatologia
Período: de 09 a 15 de julho de 1989
Mar Hotel - Recife Pernambuco

FORMULÁRIO DE APRESENTAÇÃO DE RESUMOS DE TRABALHOS

Autor(es) N.T.V. JUNQUEIRA; L.GASPAROTTO; M.I.P.M. LIMA; R. LIEBEREI & M.C.S. NORMANDO
(Sublinhar o autor que irá apresentar o trabalho)
Endereço(s) e telefone(s) (EMBRAPA/CNPSD, C.P. 319, 69001 Manaus,AM) e BOTANISCHES INSTITUT T.U. BRAUNSCHWEIG, Postfach 3329 D-3300, BRAUNSCHWEIG, F.R.GERMANY).

ATENÇÃO: ANTES DE PREENCHER O FORMULÁRIO LEIA AS INSTRUÇÕES E VERIFIQUE O NOVO MODELO NO VERSO

POTENCIAL DO FUNGO *Hansfordia pulvinata* NO CONTROLE BIOLÓGICO DO MAL-DAS-FOLHAS DA SERINGUEIRA. N.T.V. JUNQUEIRA[1]; L. GASPAROTTO[1]; M.I.P.M. LIMA[1]; R. LIEBEREI[2] & M.C.S. NORMANDO[1] [1](EMBRAPA/CNPSD, C.P. 319, 69001 Manaus,AM) [2]BOTANISCHES INSTITUT T.U.BRAUNSCHWEIG, Postfach 3329 D-3300, BRAUNSCHWEIG, F.R. GERMANY). Potential of the *Hansfordia pulvinata* fungus to the biological control of the rubber tree leaf blight.

O *Microcyclus ulei* provoca a queda de folhas jovens e sobrevive nos estromas em folhas remanescentes no seringal. Testou-se a eficiência do hiperparasita *H. pulvinata* na redução do inóculo primário de *M. ulei*, realizando-se pulverizações com conídios deste fungo num jardim clonal, num seringal formado por clones com diferentes níveis de resistência e em outro seringal com o IAN 717 (altamente suscetível ao patógeno) e em ambiente controlado. Efetuaram-se as avaliações durante 3 anos, através do percentual de estromas colonizados por *H. pulvinata*, da incidência do *M. ulei* e do percentual de retenção de copa. Em ambiente controlado, os conídios e os estromas do patógeno foram destruídos. No seringal, com IAN 717 não houve controle, embora *H. pulvinata* estivesse presente no 1º ano de avaliação. No jardim clonal e no seringal policlonal reduziu a incidência da doença mesmo nos clones altamente susceptíveis. Nestes plantios, o hiperparasita sobrevive desde a sua aplicação há 3 anos, colonizando em alguns clones, até 95% dos estromas. Admite-se que o controle biológico de *M. ulei* por *H. pulvinata*, poderá ser eficiente se associado à resistência genética a ao controle cultural, como a enxertia de copa com clones resistentes ou cultivo intercalares com outras espécies de copa alta.

DECLARAMOS QUE O RESUMO DESTE TRABALHO FOI POR NÓS REVISADO

(1) Nome: Doralice Campos Castro
Inst.

(2) Nome: Cristina Lima da Silva
Inst.

Remeter o formulário à: PRISMA CONGRESSOS E FEIRAS LTDA, - Av. Cons. Rosa e Silva, 632 - Espinheiro - Recife/PE - CEP: 52020
Comissão Organizadora do 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA

APRESENTAÇÃO: ( ) ORAL (X) POSTER

ÁREA DO TRABALHO:

PATÓGENOS
(X) Fungos
( ) Bactérias
( ) Vírus

SUBÁREAS
( ) Etiologia
( ) Epidemiologia
( ) Metodologia
(X) Controle

ÁUDIO VISUAL NECESSÁRIO
( ) Projetor de slides 35 mm
( ) Retroprojetor
( ) Outros (especificar)

Estudo da patogenesis por Microcyclus ulei em diferentes clones seringueira.

TIPO 0 - LESOES CLOROTICAS (FLECK) COM MENOS DE 1,0mm DE DIAMETRO SEM ESPOROS.

TIPO 1 - LESOES NECROTICAS COM MENOS DE 1mm DE DIAMETRO, DESTITUIDA DE ESPOROS.

TIPO 2 - LESOES NECROTICAS COM 1,0 A 2,0 DE DIAMETRO, DESTITUIDA DE ESPOROS.

TIPO 3A- LESOES NECROTICAS COM MAIS DE 2,00mm DE DIAMETRO, DESTITUIDA DE ESPOROS.

TIPO 3B- LESOES NAO NECROTICAS DESTITUIDAS DE ESPOROS.

TIPO 4A- LESOES COM ATE 2,00mm DE DIAMETRO, COM ESPORULACAO SOMENTE NAS BORDAS DA LESAO.

TIPO 4B- LESOES COM MAIS DE 2,00mm DE DIAMETRO, COM ESPORULACAO SOMENTE NAS BORDAS DAS LESOES.

TIPO 5A- LESOES COM ATE 2,00mm DE DIAMETRO, PARCIALMENTE ESPORULADOS (PRESENCA DE ESPOROS EM TODA A SUPERFICIE LESIONADA).

TIPO 5B- LESOES COM MAIS DE 2,00mm DE DIAMETRO, PARCIALMENTE ESPORULADA (PRESENCA DE ESPOROS EM TODA A SUPERFICIE LESIONADA).

TIPO 6 - LESOES COM ATE 1,5mm DE DIAMETRO COM ABUNDANTE ESPORULACAO NA FACE ABAXIAL.

TIPO 7 - LESOES DE 1,5mm A 2,5mm DE DIAMETRO COM ABUNDANTE ESPORULACAO NA FACE ABAXIAL DA LESAO.

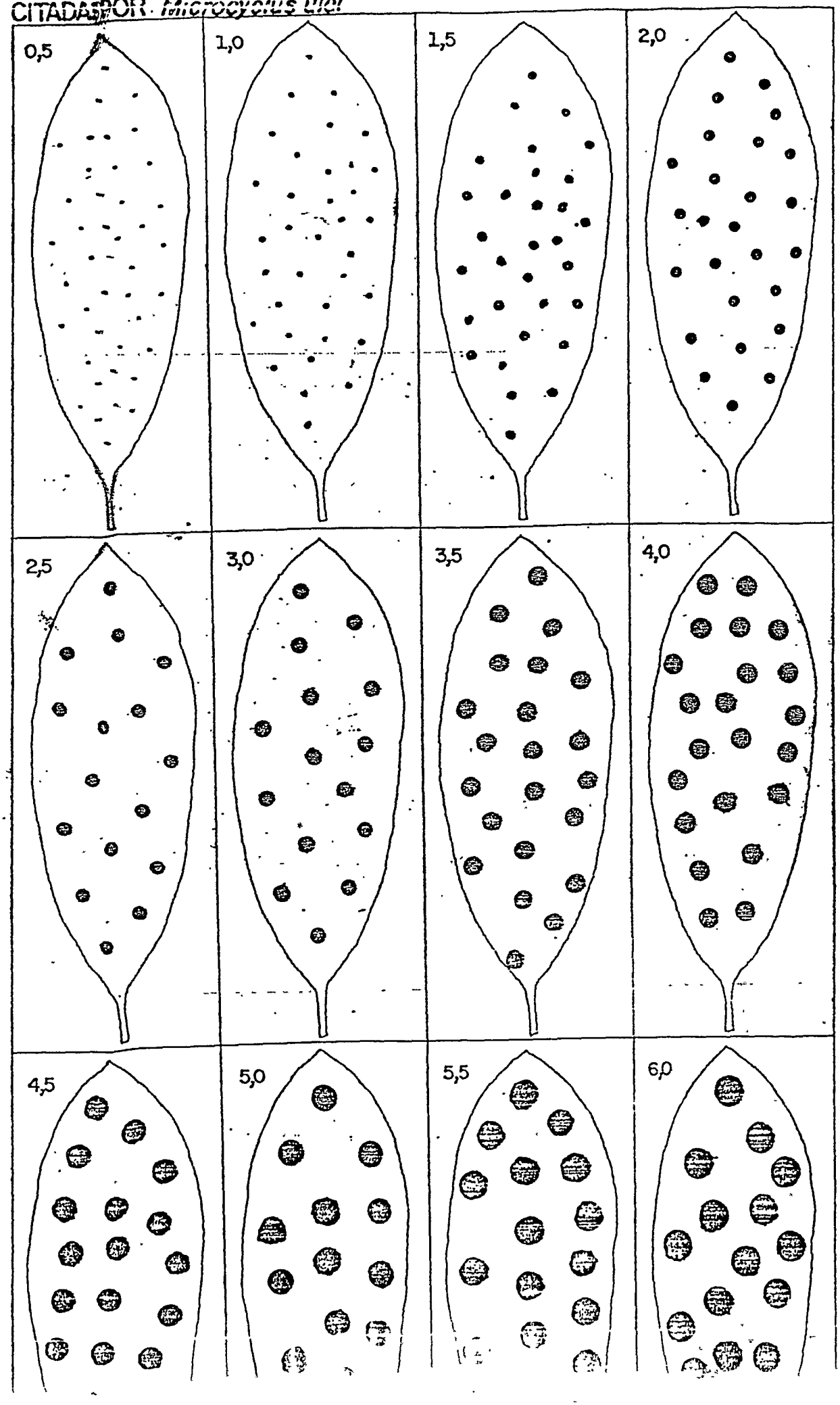
TIPO 8 - LESOES DE 1,00 A 2,5mm DE DIAMETRO COM ESPORULACAO NA FACE ADAXIAL E ABUNDANTE ESPORULACAO NA FACE ABAXIAL..

TIPO 9 - LESOES COM MAIS DE 2,5mm DE DIAMETRO COM ABUNDANTE ESPORULACAO NA FACE ADAXIAL.

TIPO 10- LESOES COM MAIS DE 2,5mm DE DIAMETRO COM ESPORULACAO NA FACE ADAXIAL E ABUNDANTE ESPORULACAO NA FACE ABAXIAL.

ANNEXE 3

ESCALA PARA AVALIAR DIAMETRO MÉDIO (TAMANHO) DE LESÕES INCITADAS POR *Microcyclus ulei*



INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM SERINGUEIRA CONTRA O MAL-DAS-FOLHAS (MICROCYCLUS ULEI) ATRAVÉS DE POLIPLOIDIZAÇÃO. N.T.V. JUNQUEIRA[1], V.H.F. MORAES[1], R. LIEBEREI[2] & G. MEYENKAMP[2] (EMBRAPA/CNPSDendê, C.P.319, CEP 69000 Manaus, AM. [2]Bot. Inst. Techn. Universitaet, Mendelssohnstr. 4, PF 3329, D-3300 - Braunschweig, F.R.G.). Resistance induction in Hevea clones against rubber tree leaf blight (Microcyclus ulei) through poliploidization.

Em virtude das dificuldades encontradas na obtenção de clones produtivos e resistentes ao mal-das-folhas, através dos métodos convencionais de melhoramento, outros métodos, entre estes a poliploidização, vêm sendo testados. A poliploidização, cujo princípio baseia-se na alteração do número de cromossomos, vem sendo feita através do tratamento das gemas com colchicina a 0,025%. A resistência dos clones poliploidizados já obtidos, foi comparada com a de seus diploides, através de inoculações com diferentes isolados de *M.ulei* virulentos para os clones diploides. Os resultados mostraram que a poliploidização aumentou a resistência dos clones Fx 985 P_1, IAN 6158 P_2 e IAC 222 (poliploides), em relação a seus diploides, reduzindo significativamente o tamanho das lesões e impedindo a esporulação. Ressalta-se porém, que entre estes clones poliploides, algumas plantas apresentaram reações de susceptibilidade semelhantes a de seus diploides. Este fato, provavelmente, deve-se a algum problema na fixação do caráter ou mixoploidia. Tal problema já vem sendo sanado através de um processo de seleção. Os demais clones poliploides (IAN 717 P_1, Fx 3925 P_1 e Fx 3899 P_1) testados, embora apresentassem lesões maiores e com o mesmo nível de esporulação que os diploides, apresentaram maior tolerância à queda de folhas.

157 COMPONENTES DE RESISTÊNCIA DE CLONES DE SERINGUEIRA AO MICROCYCLUS ULEI. N.T.V. JUNQUEIRA[1], R. LIEBEREI[2], A.N. CALIL FILHO[1] & M.I.P.M. LIMA[1], (EMBRAPA/CNPSD, C.P. 319, CPE 6900 Manaus, AM. [2]Bot. Inst. Techn. Universitaet, Mendelssohnstr. 4, PF 3329, D-3300 - Braunschweig, F.R.G.). Components of resistance in Hevea clones to Microcyclus ulei.

Objetivando-se analisar a resistência da seringueira ao mal-das-folhas, inocularam-se os clones em estudo, com isolados de *M.ulei* que se mostraram mais agressivos em testes anteriores. Os componentes de resistência analisados foram: período de incubação médio (PI) e período de geração médio (PG) do *M.ulei*, período de susceptibilidade do folíolo (PSF), número de gerações do patógeno por fluxo foliar (NGPF)=PSF:PG, freqüência de infecção (FI), diâmetro médio das lesões (DL), produção de esporos nas lesões (PEL) e tolerância à queda de folhas (TQF). Os clones apresentaram variações no PG, PSF, NGPF, DL, PEL e TQF. Não foram observadas diferenças significativas no PI e FI. Os clones Fx 3925, IAN 717 e IAN 673, considerados altamente susceptíveis, apresentaram PG de 5,0 a 5,2 dias; PSF de 15 a 16 dias; NGPF de 3,0 a 3,2; DL de 3,5mm; PEL de (+++) e TQF até $4x10^5$ conídios/ml. Os clones Fx 4098, IAN 6323, IAN 7002, considerados susceptíveis, apresentaram, respectivamente, PG de 7,2, 5,5 e 6,2 dias; PSF de 12, 12 e 10 dias; NGPF de 1,7, 2,0 e 1,7; DL de 2,0, 3,6 e 2,8mm; PEL de (++) e TQF até $4x10^5$, $6x10^5$, $8x10^5$ conídios/ml. Os clones CNS AM 7665, IAN 6158 e CNS AM 7997, considerados moderadamente resistentes apresentaram, respectivamente, PG de 8,0, 7,6 e 9,4 dias; PSF de 9 a 10 dias; NGPF de 1,0 a 1,3; DL de 2,2, 1,4 e 1,6m; PEL de (+) e TQF até $8x10^5$, 10^6 e $1,2x10^6$ conídios/ml.

SURFACE STRUCTURE OF HEVEA LEAVES AND ITS IMPORTANCE FOR THE INTERACTION WITH FUNGAL PLANT PATHOGENS AND FOR PLANT SYSTEMATICS. R. LIEBEREI[1], A. GIESEMANN[1], U. EILERT[2], N.T.V. JUNQUEIRA[3] ([1]Botanical Institut Technical University, Postfach 3329, D-3300 Braunschweig, Fed. Rep. Germany, [2] Inst. Pharm. Biol., PF 3329, TU, D-3300 Braunschweig, Fed. Rep. Germany, [3] EMBRAPA, CNPSD, CP 319, 69.000 Manaus, AM.)

Morphological characters of Hevea leaf surfaces are not a key factor for age specific leaf resistance to infection. Surfaces of young susceptible leaves were compared with surfaces of mature disease resistant leaves and with surfaces of young leaves of Hevea species with different degrees of resistance to Microcyclus ulei. Surfaces of young leaves of are smooth, whereas older leaves reveal a highly structured surface with rigid ribs and adjacent arms. The distance between these arms is less than 0.7 um. The smallest germtubes of M.ulei are 0.63 um and pass through the rough surface structures and cause leaf penetration. Leaf surfaces of young leaves of H. benthamiana, H. guianensis x H. pauciflora and H. viridis are thinner and smoother than H. brasiliensis but these leaves are resistant to M. ulei. They are penetrated by the infection hyphae. The epidermal cells react with cell collapse like mature leaves of H. brasiliensis.

The submicroscopical plant surface structures in different Hevea species are of distinct differences. It is assumed that these factors are a suitable help for the species identification of collected wild material.

317 THE IMPORTANCE OF THE HYDROCYANIC ACID CAPACITY OF THE RUBBER TREE FOR BIOCHEMICAL RESISTANCE SCREENING TO FUNGAL DISEASES. R. LIEBEREI[1], N.T.V. JUNQUEIRA[2] ([1]Botanical Institute. Technical University BS, Postfach 3329, D-3300 Braunschweig. Fed. Rep. Germany, [2] EMBRAPA, CNPSD, C.P. 319, 69.000 Manaus, AM.)

The rubber tree Hevea brasiliensis is a cyanogenic plant. It contains the cyanogenic glucosides linamarin and lotaustralin and the enzymes which split the cyanogenic precursors to liberate HCN. During tissue destruction or fungal plant infection the cells are destroyed, the cyanogenic compounds are mixed with the enzymes and HCN is liberated. HCN liberation is known to occur from Hevea leaves infected with Microcyclus ulei, Thanatephorus cucumeris or Colletotrichum gloeosporioides. In screening experiments it was shown that high cyanogenic Hevea clones are highly susceptible to M. ulei, whereas weakly cyanogenic Hevea plants are resistant. HCN, liberated during fungal infection, represses the active defense reactions in rubber leaves. Therefore, HCN acts as a "susceptibility factor". This has to be taken into account in future rubber breeding work. All plants with high capacity for HCN liberation are highly susceptible and provide a genetic source for susceptibility to M. ulei. These plants should be excluded from further resistance breeding work.

pas encore publiés → ? mais

Nulle possibilité en ce point de prémunir les plantes [illegible] par suite de la libération de HCN [illegible]

ANNEXE 5

PRAZO PARA INSCRIÇÃO ATÉ DIA: 30 DE ABRIL/1989

PARA USO DA S.B.F.

Resumo nº
Sessão
Dia
Horário

XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA
Período: de 09 a 15 de julho de 1989
Mar Hotel - Recife - Pernambuco

FORMULÁRIO DE APRESENTAÇÃO DE RESUMOS DE TRABALHOS

Autor(es) (Sublinhar o autor que irá apresentar o trabalho): L.GASPAROTTO, N.T.V. JUNQUEIRA, M.C.S. NORMANDO & M.I.P.M. LIMA

Endereço(s) e telefone(s) EMBRAPA-CNPSD, C.P. 319, 69001 Manaus-MA (092) 233-5612

ATENÇÃO: ANTES DE PREENCHER O FORMULÁRIO LEIA AS INSTRUÇÕES E VERIFIQUE O NOVO MODELO NO VERSO

EFEITOS DA TEMPERATURA NOS PERÍODOS DE INCUBAÇÃO E GERAÇÃO, DIÂMETRO DAS LESÕES, ESPORULAÇÃO E INFECÇÃO DE SERINGUEIRA POR ISOLADOS DE *Microcyclus ulei* DE DIFERENTES REGIÕES. L. GASPAROTTO, N.T.V. JUNQUEIRA, M.C.S. NORMANDO & M.I.P.M. LIMA. (EMBRAPA-CNPSD, C.P. 319, 69001 Manaus,AM). Effects of temperature on incubation and generation period, lesion diameter, sporulation, and infection of rubber tree by *Microcyclus ulei* isolates from differents regions of Brazil.

Compararam-se os efeitos da temperatura nos períodos de incubação (PI) e de geração (PG), na esporulação, no diâmetro das lesões e associado ao molhamento foliar (MF) na infecção de seringueira por 6 isolados de *M. ulei* (2 de Manaus-AM e os demais de Manicoré-AM, Viana-ES, Registro-SP e Ituberá-BA). A 24°C, o de Manicoré infectou com apenas 3 horas de MF, os de Manaus e Viana, com 4 e os demais, com 8 horas. Inocularam-se plantas com os isolados, mantendo-as 24 horas a 24°C e transferindo-se para 16, 20, 24 e 28°C. A 16°C o PI foi maior e não esporularam, exceto o de Viana que esporulou. A 20°C, 1 de Manaus e o de Manicoré não esporularam. A 24 e 28°C o PI e o PG foram reduzidos, exceto o de Registro com PG de 8 dias. Inocularam-se plantas a 16, 20, 24 e 28°C, mantendo-as 24 horas nestas temperaturas e transferindo-as para 24°C. A 16 e 20°C, o diâmetro das lesões e a esporulação dos isolados foram reduzidos, exceto o de Viana que não fora afetado. A variação no período de MF para infecção, chegando a 3 horas no de Manicoré e a esporulação de Viana a 16°C, mostra a existência de ecótipos ou de raças de *M. ulei* adaptadas à regiões com clima diferente e à chance do aparecimento de patótipos adaptados à regiões desfavoráveis à doenças.

DECLARAMOS QUE O RESUMO DESTE TRABALHO FOI POR NÓS REVISADO

(1) Nome: Doralice Campos Castro
Inst.

(2) Nome: Cristina Lima da Silva
Inst.

Remeter o formulário à: PRISMA CONGRESSOS E FEIRAS LTDA, - Av. Cons. Rosa e Silva, 655 - Espinheiro - Recife/PE - CEP: 52020

Comissão Organizadora do 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA

APRESENTAÇÃO: (X) ORAL ( ) POSTER

ÁREA DO TRABALHO:

PATÓGENOS
(X) Fungos
( ) Bactérias

SUBÁREAS
( ) Etiologia
(X) Epidemiologia
( ) Fisiologia

ÁUDIO VISUAL NECESSÁRIO
(X) Projetor de slides 35 mm
(X) Retroprojetor
( ) Outros (especificar)

ANNEXE 6

PRAZO PARA INSCRIÇÃO ATÉ DIA:
30 DE ABRIL/1989

PARA USO DA S.B.F.
Resumo nº
Sessão
Dia
Horário

XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA
Período: de 09 a 15 de julho de 1989
Mar. Hotel - Recife - Pernambuco

FORMULÁRIO DE APRESENTAÇÃO DE RESUMOS DE TRABALHOS

Autor(es) N.T.V. JUNQUEIRA; L. GASPAROTTO; A.N.K.FILHO; R. LIEBEREI & M.I.P.M. LIMA
(Sublinhar o autor que irá apresentar o trabalho)
Endereço(s) e telefone(s) EMBRAPA-CNPSD, C.P. 319, 69001 Manaus-AM.

ATENÇÃO: ANTES DE PREENCHER O FORMULÁRIO LEIA AS INSTRUÇÕES E VERIFIQUE O NOVO MODELO NO VERSO

IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTENCIA AO *Microcyclus ulei*, AGENTE CAUSAL DO MAL-DAS-FOLHAS DA SERINGUEIRA. N.T.V. JUNQUEIRA[1]; L. GASPAROTTO[1]; A.N.K. FILHO[1]; R. LIEBEREI[2] & M.I.P.M. LIMA[1]. [1](EMBRAPA-CNPSD, C.P. 319, 69001 Manaus-AM. [2]BOTANISCHES INSTITUT T.U. BRAUNSCHWEIG, Posfach 3329 D - 3300 BRAUNSCHWEIG, F.R. GERMANY). Sources of resistance to *Microcyclus ulei*, causal agent of rubber tree leaf blight.

O uso de clones resistentes e produtivos é o método mais eficaz de se controlar o mal-das-folhas. Inocularam-se 10 espécies de seringueira e vários clones com 15 diferentes isolados de *M. ulei*. Efetuaram-se avaliações determinando-se o período de geração, o diâmetro de lesões, a produção de esporos nas lesões e o período de susceptibilidade dos folíolos. Tanto os clones como as espécies, apresentaram reações que variaram com o isolado. Houveram isolados que produziram esporos em *Hevea pauciflora* (clone PA 31), *H. camargoana, H. camporum, H. brasiliensis, H. guianensis* var. *marginata, H. benthamiana* e *H. spruceana*, mas nenhum isolado produziu esporos em *H. rigidifolia, H. viridis* e *H. guianensis*. Entre as espécies mais utilizadas no melhoramento genético (*H. brasiliensis, H. benthamiana* e *H. pauciflora*), verificou-se que *H. benthamiana* (clone F 4542) apresentou resistência do tipo vertical (RV) para alguns isolados e do tipo horizontal (RH) para outros. Essa RH geralmente é diluída quando o F4542 é retrocruzado com *H. brasiliensis* altamente susceptível ao *M. ulei*, ao passo que a RV permanece. A *H. pauciflora* apresenta níveis mais elevados de RH, que também é diluída durante os retrocruzamentos com clones altamente susceptíveis. Em *H. brasiliensis*, detectaram-se alguns genótipos somente com resistência vertical.

DECLARAMOS QUE O RESUMO DESTE TRABALHO FOI POR NÓS REVISADO

(1) Nome: Doralice Campos Castro
Inst.

(2) Nome: Cristina Lima da Silva
Inst.

Remeter o formulário a: PRISMA CONGRESSOS E FEIRAS LTDA, - Av. Cons. Rosa e Silva, 637 - Espinheiro - Recife/PE - CEP: 52020
Comissão Organizadora do 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA

APRESENTAÇÃO: (X) ORAL ( ) POSTER

ÁREA DO TRABALHO:
PATÓGENOS
(X) [illegible]

SUBÁREAS
( ) Etiologia
( ) Epidemiologia
( ) Metodologia
* (X) Controle

ÁUDIO VISUAL NECESSÁRIO
( ) Projetor de slides 35 mm
( ) Retroprojetor
( ) Outros (especificar)