

NOTE

Lutte biologique contre *Polymyxa betae* (Keskin) au moyen de *Trichoderma* sp. Résultats préliminaires *in vivo*

Pierre CAMPOROTA, Vasile BORDEI (*), Marc RICHARD-MOLARD (*)

I.N.R.A., Station de Recherches sur la Flore pathogène dans le sol, 17, rue Sully, BV 1540, F 21034 Dijon Cedex

(*) I.T.B., 45, rue de Naples, F 75008 Paris

RÉSUMÉ

Des plantules de betterave (Var : Monosvalof) sont cultivées en conditions contrôlées dans un sol naturellement infesté par *Polymyxa betae* et traité par un inoculum de *Trichoderma* sp. 17 souches sont comparées. On observe une réduction significative de la colonisation racinaire pour 7 souches. Par ailleurs une baisse importante des attaques par *Pythium* sp. et *Aphanomyces* est obtenue pour 4 souches, dont 3 sont également efficaces sur *P. betae*.

Mots clés additionnels : Betterave sucrière, rhizomanie, sol naturel, essai biologique, antagonisme, *Pythium*, *Aphanomyces*.

SUMMARY

Biological control of Polymyxa betae (Keskin) with Trichoderma sp.. Preliminary results in vivo.

Seedlings of sugar beet (cv. : Monosvalof) were grown under controlled conditions in a soil naturally infested by *Polymyxa betae* and treated with an inoculum of *Trichoderma* sp. 17 strains were compared. Seven of them induced a significant decrease in root colonization by *P. betae* and three were also effective against damping-off induced by *Pythium* and *Aphanomyces* spp.

Additional key words : Sugar beet, rhizomania, natural soil, bioassay, antagonism, *Pythium*, *Aphanomyces*.

I. INTRODUCTION

La rhizomanie de la betterave provoquée par le virus BNYVV transmis par le champignon du sol *Polymyxa betae*, Keskin, est devenue, au fil des années, le problème phytosanitaire prioritaire sur cette culture dans l'ensemble des pays producteurs (PUTZ & RICHARD-MOLARD, 1984). Cette note a pour but de rapporter des essais préliminaires effectués *in vivo*, dans un sol naturellement infesté, pour lutter contre cette maladie au moyen de *Trichoderma* sp. Pers. ex Fr, champignon antagoniste bien connu (PAPAVIZAS, 1985).

pour leurs capacités antagonistes vis-à-vis d'autres champignons phytopathogènes (ARTIGUES & DAVET, 1984 ; CAMPOROTA, 1985) et leur aptitude à coloniser les sols (DAVET & CAMPOROTA, 1986).

Le *Trichoderma* est cultivé sur un support à base de pulpe de betterave. Pour chaque souche, 50 g de ce support sont inoculés par une suspension de conidies. Après 12 j d'incubation à 25 °C, une fraction du substrat colonisé est mise en suspension dans de l'eau et la concentration en conidies est estimée par comptage à l'hématimètre : elle s'établit en moyenne à 10⁹ conidies/g.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Inoculum de *Trichoderma*

17 souches sont choisies dans les mycothèques de P. DAVET (I.N.R.A.-Montpellier) et P. CAMPOROTA

B. Sol

Un sol naturel, où la présence de la rhizomanie est notoire, a été prélevé en août 1987. Un « inoculum », constitué de la terre adhérente et des radicelles prélevées sur des plantes appartenant à des génotypes sensibles présentant les symptômes caractéristiques, est

mélangé à ce sol à raison de 15 p. 100 en poids afin d'assurer un niveau d'infestation important et homogène.

C. Conditions d'expérimentation

Pour chaque souche de *Trichoderma* sp., 200 g de sol infesté sont mélangés soigneusement avec la quantité d'inoculum (pulpe colonisée) nécessaire pour amener 10⁶ conidies par gramme. Les sols ainsi traités et 2 témoins (T1 et T2), placés dans des cristallisoirs, sont amenés à 70 p. 100 de la capacité de rétention, recouverts d'un film plastique perforé et incubés à 25 °C pendant un mois. Le sol traité avec chaque souche est alors réparti en 3 godets qui reçoivent chacun 8 glomérules de la variété « Monosvalof » recouverts par 60 g de sol désinfecté tassé de manière homogène.

L'ensemble des godets est placé à 25 °C sous une intensité lumineuse de 10 000 lux avec une photopériode de 15 h et une humidité relative de l'air de 70 p. 100. L'arrosage est assuré quotidiennement, de façon à maintenir l'humidité du sol à environ 70 p. 100 de sa capacité de rétention. Deux jours après le début de l'émergence, l'apparition de fontes de semis a conduit à traiter les témoins avec de l'hymexazole (sans effet sur *P. betae*) à raison de 1 et 0,25 g MA/m² respectivement pour T1 et T2. Chaque jour, les plantules atteintes de fontes de semis sont prélevées et au 11^e j on effectue un démariage de manière à ne laisser que 5 plantules par répétition.

D. Estimation du degré de colonisation racinaire par *P. betae*

Après 21 j de culture, les plantules sont délicatement lavées sous un jet d'eau pour permettre d'apprécier le degré de colonisation des racines par le parasite au moyen de la technique élaborée par BOUHOT & BORDEI (publication en préparation). Les systèmes racinaires sont colorés avec une solution de bleu coton dans du lacto-glycérol. La quantification de l'infection est réalisée sous le microscope stéréoscopique suivant l'échelle de notation :

p. 100 de colonisation par <i>P. betae</i>	Absence	Traces	Jusqu'à 20	de 20 à 40	de 40 à 60	plus de 60
Classe	0	0,5	1	2	3	4

III. RÉSULTATS

Le tableau 1 indique les notations de colonisation racinaire obtenues dans chaque combinaison. Les souches de *Trichoderma* sont classées par ordre d'efficacité décroissante de part et d'autre des résultats des témoins (T1 et T2).

Il ressort clairement que 7 souches de *Trichoderma* permettent de réduire nettement l'infection des racines par *P. betae* : moyennes de colonisation de 0,38 à 0,93 contre 1,66 et 1,96 respectivement pour T1 et T2.

TABLEAU 1

Fréquence et indices moyens (X) (en %), des plantules par classe de colonisation racinaire par *P. betae*, déterminés pour les 17 souches de *Trichoderma* sp. et les témoins (T1 et T2). Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de confiance de 5 p. 100 (Test de Newman et Keuls).

Frequency and mean % index (X) of seedlings in different classes of root colonization by *P. betae*. Means followed by the same letter are not significantly different (5 %) in the Newman and Keuls test.

Souches	Fréquences des plantules dans les différentes classes de colonisation racinaire (p. 100)						Indices moyens de colonisation racinaire X
	0	0,5	1	2	3	4	
1	13	73	14	—	—	—	0,38 ^a
2	8	58	26	8	—	—	0,70 ^a
3	—	62	32	6	—	—	0,77 ^a
4	—	44	50	6	—	—	0,86 ^a
5	6	47	35	12	—	—	0,88 ^a
6	—	39	55	6	—	—	0,85 ^a
7	13	27	40	20	—	—	0,93 ^a
8	—	19	50	31	—	—	1,17 ^{a-b}
9	—	18	36	29	17	—	1,59 ^b
T1	—	—	47	40	13	—	1,66 ^b
11	—	18	18	64	—	—	1,70 ^b
12	—	—	37	37	19	7	1,90 ^b
13	—	—	15	46	15	15	1,92 ^b
14	—	6	25	32	37	—	1,94 ^b
15	—	10	40	10	30	10	1,95 ^b
T2	—	6	18	53	23	—	1,96 ^b
17	—	—	33	33	34	—	2,00 ^b
18	—	6	12	41	41	—	2,27 ^b
19	—	—	15	60	25	—	2,40 ^b

Après le début de la levée, on a observé des fontes de semis par *Pythium* sp., suivi, 11 j après, par *Aphanomyces* sp. Le tableau 2, présentant à la fois le classement d'efficacité des souches de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de *P. betae* (cf. tabl. 1) et les pourcentages de plantes atteintes de fontes, montre le double effet protecteur de certaines souches de l'antagoniste, en particulier les 3, 4 et 5.

Il est intéressant de noter que la protection assurée par 4 souches de *Trichoderma* est nettement supérieure au traitement fongicide effectué sur les témoins.

IV. PERSPECTIVES

Depuis les travaux de D'AMBRA & MUTTO (1986), montrant, *in vitro*, que *Trichoderma harzianum* colonisait activement les racines de plantules de betterave et parasitait les cystosores de *P. betae*, aucune publication, à notre connaissance, n'a fait état d'expérimentation *in vivo* pour lutter contre la rhizomanie au moyen de cet antagoniste.

Les résultats présentés sont encourageants car, sur 17 souches de *Trichoderma* testées, 7 ont assuré une réduction significative de la colonisation racinaire par *P. betae*, de plus, 3 d'entre elles ont également permis de réduire l'incidence des fontes de semis. Les agents responsables de ces maladies infectant les plantules dès les premiers stades de leur croissance, il est nécessaire que *Trichoderma* soit présent dès la germination. Il est illusoire de penser que l'incorporation au sol d'un inoculum de *Trichoderma* puisse satisfaire à cette exigence, sinon dans des conditions économiques

TABLEAU 2

Pourcentages de plantules mortes par fontes de semis notés à 3 dates après l'émergence.
% damping-off noticed at three dates after emergence of the seedlings.

Dates	Souches de <i>Trichoderma</i>																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	T1	11	12	13	14	15	T2	17	18	19
11 jours	14	—	—	—	—	10	—	—	5	20	—	—	21	—	—	10	10	—	5
15 jours	21	5	—	—	—	10	10	5	5	20	10	10	70	—	—	—	—	—	—
21 jours	25	22	7	9	—	45	28	23	25	25	40	20	78	10	30	28	72	53	60

actuellement rédhibitoires. Il apparaît donc que l'enrobage des glomérules par une suspension de conidies de *Trichoderma* serait la meilleure solution : il devrait en effet permettre à l'antagoniste de coloniser le système racinaire et la rhizosphère de la plantule au fur et à mesure de son développement. Deux observations confortent cette hypothèse : d'une part, les isollements effectués durant l'essai à partir des plantes atteintes de fonte de semis ont permis de mettre en évidence *Trichoderma* sur la racine 10 j après le semis. D'autre part, une expérimentation actuellement en cours, montre que *Trichoderma*, apporté par enro-

bage avec de l'alginate sur des glomérules semés en sol naturel, est présent sur le système racinaire et l'hypocotyle dès 3 j après le semis (à 25 °C).

La recherche est maintenant orientée vers l'étude de l'influence des facteurs de l'environnement sur l'expression de l'antagonisme de *Trichoderma* sp. : température et caractéristiques du sol principalement, mais également, aptitude de divers génotypes de la plante à être colonisés par l'antagoniste.

Reçu le 4 décembre 1987.
Accepté le 30 décembre 1987.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Artigues M., Davet P., 1984. Comparaison des aptitudes parasitaires de clones de *Trichoderma* vis-à-vis de quelques champignons à sclérotos. *Soil Biol. Biochem.*, **16** (4), 413-417.

Camporota P., 1985. Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kühn, *Agronomie*, **5** (7), 613-620.

D'Ambra V., Mutto S., 1986. Parasitismo di *Trichoderma harzianum* su cistosori di *Polymyxa betae*. *J. Phytopathol.*, **115**, 61-72.

Davet P., Camporota P., 1986. Etude comparative de quelques méthodes d'estimation de l'aptitude à la compétition saprophytique des *Trichoderma*. *Agronomie*, **6** (6), 575-581.

Papavizas G. C., 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium* : biology, ecology and potential for biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **23**, 23-54.

Putz C., Richard-Molard M., 1984. Connaissances actuelles concernant la Rhizomanie. In : C. R. 1^{er} Coll. Intern. Virologistes, Colmar, p. 5-12.