

ETUDE DE LA LONGÉVITÉ DE L'INOCULUM DE *Plasmopara halstedii*, AGENT DU MILDIOU DU TOURNESOL, CONSERVÉ À -30°C

El Hassan Achbani^{1*}, Aziz Lamrhari², Mohamed Najeb Serrhini²,
Allal Douira³, Denis Tourvieille De Labrouhe⁴

¹ Laboratoire de Phytobactériologie, INRA, B.P. S/40 Meknes, Maroc

² Laboratoire de Phytopathologie, ENA, B.P. S/40 Meknes, Maroc

³ Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences Kénitra, Maroc

⁴ GREAT-INRA, Unité de Pathologie Végétale, 234 av. de Brézet,
63039 Clermont-Ferrand, cedex 02, France

Received: October 11, 1998

Accepted: December 05, 1999

RÉSUMÉ

Cet article présente une méthode simple de conservation des zoosporanges de *Plasmopara halstedii* à -30°C. Si cette technique ne permet pas de conserver avec fiabilité l'inoculum plus de 5 mois, elle a l'avantage de ne pas nécessiter d'azote liquide ni de matériel sophistiqué.

Mots clés: mildiou, *Plasmopara halstedii*, tournesol, conservation, température

INTRODUCTION

Les champignons du genre *Plasmopara* sont connus comme des parasites obligatoires: ils ne peuvent pas se développer en dehors des tissus de leur hôte. Dans le cas de *Plasmopara halstedii*, les chercheurs assurent le maintien des souches en contaminant des plantules de tournesol, *Helianthus annuus*, tous les 15 à 20 jours ce qui permet de garder à leur disposition un matériel toujours jeune et virulent. En milieu aérien, la longévité des organes de fructification (zoosporanges) sur les cotylédons de l'hôte est relativement courte et ne dépasse pas quelques jours (Delanoe, 1972). Ces deux contraintes ont obligé les chercheurs à développer des méthodes de conservation appropriées pour assurer la survie des souches sans le recours aux infections successives des plantules de tournesol.

Gossen et Sackston (1968) ont rapporté que dans un sol ordinaire, les zoosporanges ne pouvaient survivre que 7 jours. A une température de -20°C, Bahsine (1996) n'a pu maintenir la survie des zoosporanges que pendant deux mois. En

* correspondant

1985, Viranyi a mis en évidence la possibilité d'une conservation par congélation profonde des zoosporanges sur cotylédons de l'hôte. L'utilisation de l'azote liquide a été reprise avec succès par Vear et Tourvieille (1987) qui ont pu maintenir le mildiou durant plusieurs mois. Enfin, Gulya *et al.* (1993) et Viranyi et Gulya (1995) signalent la survie de souches de *P.halstedii* durant plusieurs années par conservation dans l'azote liquide.

L'utilisation de l'azote liquide pose un certain nombre de problèmes techniques et n'est pas toujours envisageable. Nous avons donc étudié la possibilité de conserver ce champignon par des méthodes plus simples.

MATERIEL ET METHODES

Méthode de conservation

L'inoculum (deux isolats de la race 1) a été multiplié sur la variété de tournesol Oro 9 sensible à toutes les races de *P.halstedii*. La sporulation est induite en plaçant les plantules infectées en humidité saturante durant 48 heures. Les cotylédons et les feuilles portant la fructification sont prélevées, puis déposées dans des boîtes en matière plastique. Celles-ci sont placées directement au congélateur réglé à une température de -30°C.

Contrôle de viabilité de l'inoculum

Nous avons préparé, tous les 15 jours, un inoculum à partir des organes (cotylédons et feuilles) ainsi conservés. La concentration est ajustée à 50000 zoosporanges/ml d'eau distillée stérilisée. Trente graines prégermées sont infectées par la méthode du trempage (Vear et Tourvieille, 1987), puis repiquées dans un sol stérile. A chaque prélèvement, deux répétitions par isolat ont été analysées. Les pots de culture sont placés dans une chambre de croissance sous une température de $18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et une photopériode de 16 heures de lumière. Après 12 jours d'incubation, les pots sont recouverts (durant 48 heures) par un sac en matière plastique pour induire la sporulation du champignon. Les pourcentages de plantes infectées (PI) correspondant au taux de fonte de semis (FS) et de plantes sporulantes (PS) sont calculées.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus sur 270 jours de conservation sont présentés dans la figure.

Jusqu'à 75 jours de conservation, l'inoculum ne perd pas son pouvoir infectieux avec des taux de plantes malades supérieures à 90%, non différents (seuil 5%) de celui obtenu avec de l'inoculum frais. A partir de 90 jours de conservation le pouvoir infectieux diminue rapidement. Le taux de plantes malade tombe à moins

de 10% après 165 jours de conservation et il est pratiquement nul après 240 jours. Nous n'avons observé aucune différence entre nos deux isolats de *P.halstedii*.

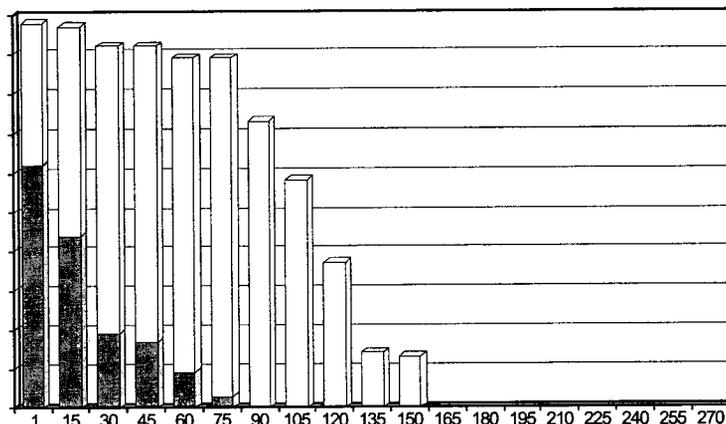


Figure 1: Variations de la proportion de plantules de tournesol infectées par *P.halstedii* en fonction de la durée de conservation des zoospores à -30°C .
PS = plantes sporulantes, FS = fonte de semis

Même si cette technique de conservation est moins performante que l'utilisation de l'azote liquide puisque nous ne pouvons envisager de conserver notre inoculum plus de 5 mois, elle apparaît fort intéressante. En effet, elle permet de maintenir la survie des isolats sans faire appel aux infections successives toutes les deux à trois semaines. D'autre part, elle est facile à mettre en place et elle est moins coûteuse que la congélation dans l'azote liquide.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bahsine, A., 1996. Mildiou du tournesol au Maroc. Importance et cartographie des races. Mémoire de fin d'études ENA, Meknès, pp 48.
- Delanoë, D., 1972. Biologie et épidémiologie du mildiou du tournesol. Inf. Techn. CETIOM, 29: 1-47.
- Gossen, P.G. and Sackston, W.E., 1968. Transmission and biology of sunflower downy mildew. Can. J. Bot., 46: 5-10.
- Gulya, T.J., Maširević, S. and Thomas, C.E. 1993. Preservation of air-dried downy mildew sporangia in liquid nitrogen without crytoprotectants or controlled freezing. Mycol, 97: 240-244.
- Vear, F. and Tourvieille, D., 1987. Test de résistance au mildiou chez le tournesol: nouvelles techniques de conservation de l'inoculum. Inf. Techn. CETIOM, 98: 19-20.
- Viranyi, F., 1985. A simple technique for long-term storage of *P.halstedii* sporangia at low temperature. Transaction of the British Mycological Society, 85: 529-531.
- Viranyi, F. and Gulya, T.J., 1995. Inter-isolate variation for virulence in *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew) from Hungary. Plant Pathology, 44: 619-624.

ESTUDIO DE LA LONGEVIDAD DEL INOCULUM DEL HONGO *Plasmopara halstedii*, AGENTE DEL MILDIU DE GIRASOL, CONSERVADO A -30°C

RESUMEN

Este trabajo presenta un simple método de conservación de esporangios del mildiu de girasol a la temperatura de -30°C. Esta técnica no permite de conservar eficazmente el inoculum más de cinco meses, pero por otro lado no hace necesario utilizar el nitrógeno líquido y el equipo especial.

STUDY OF LONGEVITY OF INOCULUM OF *Plasmopara halstedii*, CAUSAL AGENT OF DOWNY MILDEW IN SUNFLOWER, STORED AT -30°C

SUMMARY

This paper presents an easy method of conservation of sunflower downy mildew sporangia at -30°C. This technique does not allow good conservation of this parasite over five months but does not require the use of liquid nitrogen nor sophisticated equipment.

Key words: sunflower, *Plasmopara halstedii*, downy mildew, conservation, temperature