



HAL
open science

Activité parasitaire des *Trichoderma* vis-à-vis des champignons à sclérotés ; corrélation avec l'aptitude à la compétition dans un sol non stérile

Pierre Davet, Christine Roure

► **To cite this version:**

Pierre Davet, Christine Roure. Activité parasitaire des *Trichoderma* vis-à-vis des champignons à sclérotés ; corrélation avec l'aptitude à la compétition dans un sol non stérile. *Agronomie*, 1986, 6 (9), pp.863-867. hal-00884947

HAL Id: hal-00884947

<https://hal.science/hal-00884947>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Activité parasitaire des *Trichoderma* vis-à-vis des champignons à sclérotés ; corrélation avec l'aptitude à la compétition dans un sol non stérile

Pierre DAVET

avec la collaboration technique de Christine ROURE

I.N.R.A., Laboratoire de Biologie et Pathologie végétales de l'E.N.S.A., place Viala, Centre de Recherches de Montpellier, F 34060 Montpellier Cedex

RÉSUMÉ

Une vingtaine de clones de *Trichoderma*, comparés pour leur aptitude à détruire des sclérotés de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary et de *Sclerotium rolfsii* Sacc. dans un sol non stérile, se classent d'une manière analogue vis-à-vis de ces deux champignons pathogènes. La comparaison de ces résultats avec les données obtenues en présence de terre stérile (ARTIGUES & DAVET, 1984a) montre que la microflore du sol interfère notablement avec les capacités théoriques des clones à parasiter les sclérotés. Par contre, l'activité parasitaire des clones en milieu non stérile varie dans le même sens que leur aptitude à la compétition, mesurée dans le même sol par la méthode des pastilles gélosées (DAVET & CAMPOROTA, 1986). Cette mesure est proposée comme premier critère pour un tri des meilleurs clones.

Mots clés additionnels : *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, tri, compétition saprophytique.

SUMMARY

Parasitic activity of Trichoderma clones against sclerotial fungi ; correlation with their saprophytic competitive ability in a non-sterile soil.

The relative capacities of twenty clones of *Trichoderma* for destruction of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary and *Sclerotium rolfsii* Sacc. sclerotia in a non sterile soil were almost similar. However, clone performances were different from those in a sterile soil of the same origin (ARTIGUES & DAVET, 1984a), which showed that the soil microflora appreciably interferes with potential antagonistic abilities. On the other hand, the parasitic activity of the clones in a non-sterile soil varied as their competitive saprophytic ability, which had been measured in the same soil by an agar disk method (DAVET & CAMPOROTA, 1986). This measure of competitive saprophytic ability could therefore be used as a first criterion in screening for the most efficient clones.

Additional key words : *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, screening, saprophytic competition.

I. INTRODUCTION

La mise en évidence d'un comportement mycoparasitaire chez plusieurs espèces de *Trichoderma* Pers. a été suivie par de nombreux travaux de recherche qui permettent désormais d'envisager l'utilisation de ces propriétés pour une lutte biologique contre divers champignons phytopathogènes dans un avenir assez proche (PAPAVIZAS, 1985). Cependant, tous les clones de *Trichoderma* n'ont pas les mêmes potentialités (ARTIGUES & DAVET, 1984a). Aussi est-il indispensable de les trier et, dans cette perspective, il paraît

nécessaire de s'interroger sur les critères qui permettraient un choix rapide des clones les plus efficaces vis-à-vis d'une cible donnée. Par exemple, en l'absence d'interférences avec la microflore du sol, la mesure des activités β (1-3) glucanasique et chitinasi-que donne une assez bonne image des potentialités parasitaires des souches vis-à-vis des champignons à sclérotés (ARTIGUES & DAVET, 1984b). Cependant, on peut se demander si ces critères sont encore suffisants pour identifier les clones les plus performants en situation de compétition, dans un sol non stérile. Les résultats présentés ci-dessous apporteront peut-être quelques éléments de réponse à cette question.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Champignons antagonistes

Nous utilisons la collection de 20 isollements monospores de *Trichoderma*, décrite précédemment (ARTIGUES & DAVET, 1984a). L'inoculum nécessaire aux essais est préparé dans des fioles de Roux (200 g de sable, 6 g de farine d'avoine, 30 ml d'eau distillée ; 2 autoclavages à 24 h d'intervalle). Les fioles sont placées dans une étuve à 28 °C durant 2 semaines ; pendant cette période, elles sont secouées manuellement le 9^e j pour améliorer la colonisation du milieu : elles sont maintenues 2 autres semaines à la température du laboratoire et à la lumière du jour. Leur contenu est alors séché à l'air, dans des conditions aseptiques, pendant 3 j. Après homogénéisation, un échantillon des poudres ainsi obtenues est prélevé pour déterminer leur teneur en propagules (DAVET, 1979). Le reste est stocké à 5 °C dans des boîtes étanches et constitue l'inoculum.

B. Champignons cibles

La souche de *Sclerotium rolfsii* Sacc. a été isolée sur poivron à Saint-Martin-de-Hinx (Landes). Le champignon est ensemencé sur milieu PDA en boîtes de Petri et cultivé à 24 °C. Les sclérotés sont recueillis par grattage de la surface lorsque le milieu de culture est desséché, après 5 ou 6 semaines d'incubation.

Les sclérotés de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary proviennent d'un inoculum naturel, recueilli après le battage d'une parcelle expérimentale de colza du Centre Technique Interprofessionnel des Oléagineux Métropolitains (CETIOM), située à Saint Pathus (Seine-et-Marne). Ils hébergent une mycoflore naturelle comprenant moins de 1 p. 100 de *Trichoderma*. Ils sont conservés au sec, à la température du laboratoire.

C. Sol

La terre provient d'un jardin de Montpellier. C'est un sol sablo-limoneux de pH (Ca Cl₂) = 6,7, contenant 1,94 p. 100 de carbone organique. La quantité nécessaire aux essais est tamisée, puis stockée au laboratoire dans un sac en polyéthylène fermé.

D. Confrontations entre les sclérotés et les antagonistes

Dans les essais comprenant toute la collection, on mélange, à 200 ml de terre, un inoculum constitué de 10 ml de sable ensemencé séché. Dans d'autres essais, réalisés avec des échantillons réduits de 12 clones, l'inoculum est ajusté de façon à avoir exactement une proportion de 10⁵ propagules par g de terre. Cette concentration représente, pour la plupart des clones, un volume analogue au précédent ; pour certains cependant, le volume nécessaire est nettement différent (de 2 à 60 ml). On ajoute à ce mélange 150 mg de sclérotés de *S. rolfsii* ou bien 170 sclérotés de *S. sclerotiorum* (le poids des sclérotés de ce champignon étant très variable, on ne peut procéder par pesée). L'ensemble est homogénéisé, humidifié à 70 p. 100 de la capacité de rétention et introduit dans un sac de polyéthylène scellé d'un ruban adhésif. Les sacs sont maintenus à 22 ou à 28 °C pendant 3 semaines.

rotiorum (le poids des sclérotés de ce champignon étant très variable, on ne peut procéder par pesée). L'ensemble est homogénéisé, humidifié à 70 p. 100 de la capacité de rétention et introduit dans un sac de polyéthylène scellé d'un ruban adhésif. Les sacs sont maintenus à 22 ou à 28 °C pendant 3 semaines.

E. Estimation de l'activité parasitaire

Le contenu des sacs est tamisé sous un courant d'eau. On recueille 100 sclérotés de *S. rolfsii* par sac (tamis à mailles de 250 µm) et 150 sclérotés de *S. sclerotiorum* (mailles de 500 µm). Lorsqu'ils sont mous, les sclérotés sont considérés comme détruits et comptabilisés d'emblée, car des essais préliminaires nous ont montré qu'ils étaient, dans ce cas, complètement parasités et incapables de germer. Les autres sclérotés sont mis en culture sur milieu PDA acidifié (100 mg/l d'acide citrique), après désinfection superficielle à l'hypochlorite de sodium à 5 p. 100 pendant 3 mn. Les cultures sont observées après 5 j d'incubation à l'étuve à 28 °C et 2 j à la lumière du jour, à la température du laboratoire. Seuls sont considérés comme attaqués les sclérotés qui fournissent exclusivement une colonie de *Trichoderma* sp. Les sclérotés qui sont colonisés mais parviennent à germer ne sont pas pris en compte. Chaque essai est répété au moins 3 fois.

F. Notations

On calcule pour chaque clone un « taux de destruction des sclérotés » = $\frac{n_1 + n_2}{N} \times 100$, où n₁ est le nombre de sclérotés mous, n₂ le nombre de colonies pures de *Trichoderma* sp. et N le nombre total de sclérotés comptés. Les analyses de variance sont faites après transformation des pourcentages en arc sinus et les moyennes sont comparées par la méthode de NEWMAN & KEULS. Les corrélations entre classements sont calculées par la méthode de SPEARMAN.

III. RÉSULTATS

A. Comparaison du parasitisme vis-à-vis des deux types de sclérotés

Il existe des différences importantes dans les aptitudes parasitaires des clones vis-à-vis des 2 champignons cibles. La variabilité des résultats d'une répétition à une autre est moins grande avec *S. sclerotiorum*, sans doute parce que la totalité des essais est réalisée avec un seul et même lot de sclérotés de ce champignon. Cependant, les clones qui se montrent efficaces contre *S. sclerotiorum* (HH3, B1, 24, MB) sont également efficaces vis-à-vis de *S. rolfsii* et les clones médiocres dans les confrontations avec l'un de ces parasites sont aussi médiocres avec l'autre (tabl. 1). La corrélation entre les 2 classements est significative au seuil de 1 p. 100 (r = 0,70).

TABLEAU 1

Activité parasitaire des clones de *Trichoderma vis-à-vis de Sclerotinia sclerotiorum et de Sclerotium rolfsii*, à 28 °C.
Parasitic activity of some *Trichoderma clones against S. sclerotiorum and S. rolfsii*, at 28 °C.

Clones antagonistes	Taux de destruction des sclérotés (en p. 100)		Classement selon la compétitivité	Classement selon l'activité enzymatique
	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>S. rolfsii</i>		
HH 3	90,2 a	33,3 ab	5	6
B 1	84,9 ab	54,3 a	2	18
3160	72,7 abc	5,5 ab	3	14
24	67,6 abcd	31,8 ab	1	16
LX 1	64,9 abcde	29,5 ab	12	12
HH 1	64,2 abcde	31,0 ab	4	1
MB	56,0 abcdef	35,8 ab	6	9
B 140	55,8 abcdef	24,0 ab	13	8
LW 1	45,3 bcdefg	3,0 b	16	7
LR 1	42,2 cdefg	1,0 b	15	3
KZ 1	38,9 cdefg	18,0 ab	11	15
LN 3	38,9 cdefg	5,8 ab	18	11
LN 1	36,5 cdefg	0,5 b	19	2
V 1	32,9 cdefg	19,3 ab	7	10
LR 3	28,5 cdefg	3,3 b	9	4
LK 1	20,2 defgh	24,0 ab	8	13
JE 1	17,1 efgh	7,5 ab	10	5
LX 3	13,1 fgh	5,0 b	14	19
MD 1	8,7 gh	0,5 b	17	17
JI 1	0,7 h	0,3 b	20	20

Le volume d'inoculum introduit dans le sol est de 5 p. 100 pour tous les clones. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 p. 100 (test de NEWMAN & KEULS). On a rappelé dans ce tableau le classement des clones selon leur compétitivité, établi par la méthode des pastilles gélosées (DAVET & CAMPOROTA, 1986) dans des conditions d'expérimentation comparables, et le classement selon les activités $\beta(1-3)$ glucanasique et chitinasique (ARTIGUES & DAVET, 1984b).

The volume of inoculum used was, for each clone, 5 g per 100 g of soil. Figures followed by the same letter were not significantly different at 5 per 100 level, according to NEWMAN & KEULS' test. Classifications of clones according to their competitive saprophytic ability (agar disk method : DAVET & CAMPOROTA, 1986) and according to their $\beta(1-3)$ glucanase and chitinase activities (ARTIGUES & DAVET, 1984b) have also been recorded in this table.

B. Effet du mode d'apport de l'inoculum

Si l'on compare les résultats des essais où la quantité de propagules utilisée reste constante pour tous les clones (tabl. 2) aux données obtenues avec un volume d'inoculum constant (tabl. 1), on trouve une corrélation de 0,54 (significative à 7 p. 100) entre les classements des clones. Des variations, même importantes, dans les concentrations en propagules (essais à volume d'inoculum constant) n'empêchent donc pas les différences entre les souches de se manifester.

C. Comparaison entre le pouvoir parasitaire, l'aptitude à la compétition et certaines activités enzymatiques

Les classements des clones en fonction de leur aptitude à la compétition sont rappelés dans les tableaux 1 et 2. Les résultats auxquels nous nous référons et la méthode par laquelle nous les avons obtenus ont été exposés récemment (DAVET & CAMPOROTA, 1986). Il est ainsi possible de comparer les places obtenues par les différentes souches selon que l'on note leur activité parasitaire ou leur compétitivité, dans des conditions analogues d'expérimentation : il existe une très bonne corrélation entre ces classements dans toutes les séries étudiées (tabl. 3) : le coefficient de corrélation est compris entre 0,65 et 0,78. Par contre, il n'y a pas de corrélation nette entre le pouvoir parasitaire en terre

non stérile et les activités $\beta(1-3)$ glucanasique et chitinasique, telles qu'elles ont été évaluées dans un travail antérieur (ARTIGUES & DAVET, 1984b).

IV. DISCUSSION

Les sclérotés de *S. sclerotiorum* sont plus fortement attaqués que ceux de *S. rolfsii*. Nous avons déjà constaté, en terre stérile, que les sclérotés de *S. minor* et de *S. sclerotiorum* étaient plus intensément détruits que ceux de *S. rolfsii* (ARTIGUES & DAVET, 1984a). Ici, la fragilité des sclérotés de *S. sclerotiorum* est due sans doute à la fois à des caractères propres à l'espèce et au fait qu'ils ont été formés dans des conditions naturelles. Selon MERRIMAN (1976), en effet, les sclérotés produits *in vitro* ont un cortex plus épais et plus régulier, assurant une protection plus efficace.

Les classements des clones ne sont plus les mêmes selon que le sol dans lequel on opère a été stérilisé ou non : ceci montre bien la nécessité de prendre en compte l'aptitude des *Trichoderma* à la compétition. Cependant, dans un cas comme dans l'autre, les clones les plus actifs vis-à-vis de *S. sclerotiorum* sont aussi les plus efficaces vis-à-vis de *S. rolfsii*. *S. rolfsii*, qui se développe rapidement et produit en grand nombre des sclérotés faciles à manipuler, constitue un modèle intéressant. Selon HENIS *et al.* (1984), le clas-

TABLEAU 2

Activité parasitaire des clones de *Trichoderma vis-à-vis* de *S. rolfsii*, estimée dans des essais où le taux de propagules est, dans tous les cas, égal à 10^5 par g de terre.

Parasitic activity of some *Trichoderma* clones against *S. rolfsii*. In these trials, propagule numbers were, in every case, 10^5 per g of soil.

Clones antagonistes	Incubation à 22 °C		Incubation à 28 °C	
	Taux de destruction	Classement selon la compétitivité	Taux de destruction	Classement selon la compétitivité
B 1	26,7	1	45,0	2
B 140	25,3	8	39,5	8
24	20,0	2	28,5	4
V 1	16,7	6	34,0	5
KZ 1	15,7	5	23,5	7
HH 1	14,7	7	30,0	3
HH 3	12,0	4	52,0	1
MB	10,3	3	10,5	6
LW 1	9,3	10	27,0	12
LX 3	6,0	9	7,0	9
LR 3	4,3	12	30,0	10
MD 1	1,7	11	10,5	11

On a indiqué également le classement des clones selon leur compétitivité, établi précédemment dans les mêmes conditions d'expérimentation (DAVET & CAMPOROTA, 1986).

Competitive saprophytic ability had already been studied, in the same experimental conditions (DAVET & CAMPOROTA, 1986), and the resulting classifications are given in the table.

TABLEAU 3

Corrélations entre les classements des clones de *Trichoderma* selon leur activité parasitaire vis-à-vis de *S. rolfsii* ou de *S. sclerotiorum*, et selon leur aptitude à la compétition, mesurée par la méthode des pastilles gélosées. Les corrélations sont significatives à 1 p. 100 (***) ou à 5 p. 100 (*).

Correlations between the ranking of *Trichoderma* clones when they were classified according to their ability to destroy *S. rolfsii* or *S. sclerotiorum*, and according to their saprophytic competitive ability, evaluated by the agar disk method. The correlations were significant at 1 % (***) or at 5 % (*) level.

Condition des essais	Incubation à 22 °C <i>S. rolfsii</i>		Incubation à 28 °C <i>S. rolfsii</i>		<i>S. sclerotiorum</i> même volume d'inoculum pour tous les clones
	même taux de propagules pour tous les clones	même taux de propagules pour tous les clones	même volume d'inoculum pour tous les clones	même volume d'inoculum pour tous les clones	
Corrélations	0,72 **	0,65 *	0,78 **	0,65 *	

sement des *Trichoderma* serait indépendant de la souche de *S. rolfsii* utilisée dans les confrontations. La variabilité des résultats pourrait être réduite en amenant tous les lots de sclérotés, avant leur emploi, à un état de dessiccation équivalent. HENIS & PAPAIVIZAS (1983) utilisent comme agent desséchant le sulfate de calcium, dans une enceinte à 20 °C.

Les différences observées entre les clones illustrent la variabilité des populations naturelles et confirment bien la nécessité d'un tri. Il est intéressant de constater que les classements demeurent sensiblement les mêmes de 22 à 28 °C et que les comparaisons entre les clones n'exigent pas un ajustement trop rigoureux des concentrations d'inoculum, ce qui simplifie les conditions d'expérimentation. Mais les confrontations entre sclérotés et antagonistes sont longues, fastidieuses, et la dispersion des résultats oblige à réaliser plusieurs répétitions. D'autre part, la mesure de quelques activités enzymatiques (β (1-3) glucanase, chitinase), prises

comme reflets de l'activité mycoparasitaire, ne semble pas rendre compte correctement, à elle seule, du comportement des clones dans un sol non stérile ; des critères d'activité saprophytique semblent également nécessaires. Il n'est cependant pas souhaitable, sur un plan pratique, de multiplier le nombre de paramètres. Aussi est-il intéressant de constater qu'il existe une bonne corrélation entre l'activité antagoniste et l'aptitude globale à la compétition. L'aptitude à la compétition, facile à évaluer par la méthode des pastilles gélosées (DAVET & CAMPOROTA, 1986), pourrait constituer un bon critère pour une première étape de sélection des clones les plus intéressants dans la pratique. Selon les travaux actuellement en cours dans notre laboratoire, le classement des clones ne semble pas modifié par la nature du sol utilisé dans les essais.

Reçu le 11 mars 1986.
Accepté le 23 juin 1986.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Artigues M., Davet P.**, 1984a. Comparaison des aptitudes parasitaires de clones de *Trichoderma* vis-à-vis de quelques champignons à sclérotés. *Soil Biol. Biochem.*, **16**, 413-417.
- Artigues M., Davet P.**, 1984b. Activités β (1-3) glucanasique et chitinasiqne de quelques champignons, en relation avec leur aptitude à détruire les sclérotés de *Corticium rolfsii* dans de la terre stérile. *Soil Biol. Biochem.*, **16**, 527-528.
- Davet P.**, 1979. Technique pour l'analyse des populations de *Trichoderma* et de *Gliocladium virens* dans le sol. *Ann. Phytopathol.*, **11**, 529-533.
- Davet P., Camporota P.**, 1986. Etude comparative de quelques méthodes d'estimation de l'aptitude à la compétition saprophytique dans le sol des *Trichoderma*. *Agronomie*, **6** (6), 575-581.
- Henis Y., Papavizas G. C.**, 1983. Factors affecting germinability and susceptibility to attack of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum* in field soils. *Phytopathology*, **73**, 1469-1474.
- Henis Y., Lewis J. A., Papavizas G. C.**, 1984. Interactions between *Sclerotium rolfsii* and *Trichoderma* spp. : relationship between antagonism and disease control. *Soil Biol. Biochem.*, **16**, 391-395.
- Merriman P. R.**, 1976. Survival of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. *Soil Biol. Biochem.*, **8**, 385-389.
- Papavizas G. C.**, 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium* : biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **23**, 23-54.