

19 MARS 1991

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 31.521 exp 2

Cote : B

Y (5)

Condition d'établissement des lésions foliaires de *C. personatum* sur arachide après une infection artificielle

C. LANNOU et P. BLIZOUA BI (1)

Résumé. — Afin de mettre au point une technique d'infection de *Cercosporidium personatum* sur plante entière d'arachide, le délai d'établissement des lésions foliaires a été étudié, ainsi que les conditions d'humidité relative assurant le développement des lésions.

Il apparaît sur folioles détachées, que le délai d'établissement des lésions est de six jours au moins après contamination, à 27 °C et à 100 % HR.

Sur plante entière, l'efficacité des infections est maximale lorsque l'humidité relative alterne entre 100 % et 70 %.

INTRODUCTION

Après différentes tentatives infructueuses d'infection de plantes entières d'*Arachis hypogea* L. par *Cercosporidium personatum* (Berk. & Curt.) Deighton, il est apparu que les plantes infectées artificiellement devaient être exposées à une humidité saturante pendant une période de plusieurs jours au moins. Le délai de pénétration de *C. personatum* dans les tissus foliaires a été évalué sur folioles en survie, puis deux techniques d'infection ont été testées sur plantes entières.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Un inoculum de *Cercosporidium personatum* récolté au champ est déposé au cours de deux expériences sur des folioles en survie et sur des plantes entières d'arachide.

a) Mesure du délai d'établissement des lésions de *C. personatum* sur folioles en survie.

Les folioles sont contaminées en boîtes de Pétri avec une suspension aqueuse de spores de concentration 32 spores/ μ l additionnée de Triton X-100 à la concentration de 0,0001 % (v/v), qui est pulvérisée à la main à raison de 1 ml par boîte. La dose reçue est de 850 spores par cm^2 . Les boîtes sont ensuite placées en chambre climatique à la température de 27 °C (+/- 1 °C) et leur humidité relative est maintenue à 100 %.

A différentes dates comprises entre 2 et 6 jours après l'infection, les folioles sont plongées dans une suspension de Chlorothalonil à la concentration de 4 g de matière active par litre pendant 5 minutes, puis sont rincées soigneusement. Chaque boîte contient 3 folioles ainsi traitées et une foliole témoin. Pour chaque date, un lot de 5 boîtes est utilisé.

Le nombre de lésions par foliole est ensuite noté après un délai de 20 jours, qui correspond à la durée maximale de la période d'incubation, puis transformé en densité de lésions par foliole. Celle-ci est ensuite rapportée à la densité de lésions observée sur témoin non traité au Chlorothalonil pour donner un taux d'infection (en %). Les spores ayant produit des colonies avortées, ainsi que les infections multiples [Grégory, 1948] ne sont donc pas prises en compte.

b) Développement des lésions sur plantes entières.

Un ensemble homogène de 12 plantes d'arachide, âgées de 30 jours, est utilisé pour tester l'effet de deux facteurs sur

l'efficacité et le déroulement des infections : le mode de préparation de l'inoculum et les conditions d'humidité pendant la période d'incubation. L'inoculum est administré soit sous la forme d'un mélange sec de kaolin et de spores (400 mg de mélange à 500 spores par mg), soit sous la forme d'une suspension de spores dans une solution de Triton X-100 (0,0001 %, v/v ; 40 spores par μ l). Les plantes sont ensuite exposées à une humidité relative soit maintenue à 100 % pendant 7 jours (en mini-serre), soit variant entre 100 et 60 à 80 % toutes les 12 heures pendant 14 jours. Lorsque l'humidité est saturante, des gouttelettes d'eau libre sont souvent présentes à la surface des feuilles. Pour toutes les plantes, la quantité de spores reçues est identique, de même que la durée totale d'exposition à une humidité saturante. Pour tous les traitements, la température est maintenue à 27 °C (+/- 1 °C). Chaque combinaison des deux facteurs est représentée par un lot de 3 plantes. Le nombre de lésions par plante est mesuré périodiquement et rapporté à la surface foliaire pour donner la densité de lésions par plante. La cinétique d'apparition des lésions est ainsi obtenue pour chaque traitement.

Une estimation des périodes d'incubation a été faite pour chaque plante selon deux méthodes. La première consiste à rechercher la date d'apparition de la moitié des lésions selon une méthode graphique [Parlevliet, 1975] [4] et la seconde, à calculer une moyenne de différentes dates pondérées par le nombre de lésions apparues entre deux notations [Savary, 1987].

RÉSULTATS

a) Délai d'établissement des infections chez *C. personatum*.

Une expérience précédente effectuée selon le même protocole avait montré que les folioles contaminées puis nettoyées avec un fongicide moins de 48 heures après l'infection ne présentaient pas de symptômes.

Cette fois-ci, on observe un taux d'infection croissant de 2 à 6 jours mais qui n'atteint toutefois pas le maximum du témoin non traité au Chlorothalonil (Fig. 1). Pour une durée de 6 jours, il ne représente que 34 % du taux témoin.

Une analyse de variance à un critère (nombre de jours avant traitement fongicide) indique un effet très significatif du traitement sur le taux d'infection ($\alpha < 0,01$). Dans le cas des témoins, on ne note pas d'effet significatif ($\alpha = 0,147$).

Un classement des moyennes selon la plus petite différence significative au niveau $\alpha = 0,05$ indique trois classes : pour

(1) ORSTOM, Laboratoire de Phytopathologie, Centre d'Adiopodoumé, B.P. V51 Abidjan, Côte d'Ivoire.

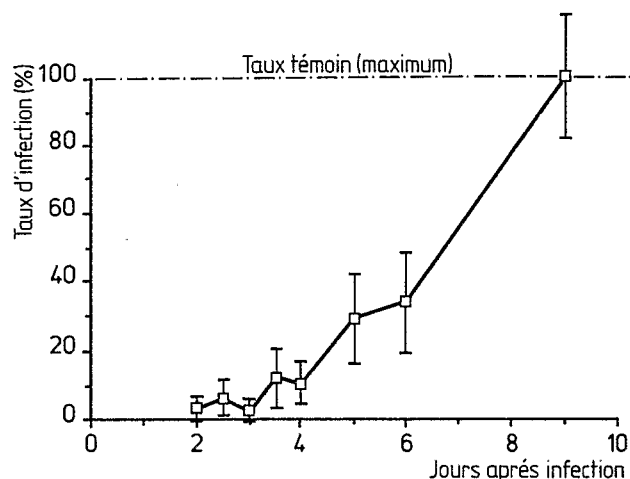


FIG. 1. — Délai d'établissement des infections chez *Cercosporidium personatum* dans une foliole d'arachide (Les intervalles de confiance, représentés par des barres verticales, sont calculés au niveau de signification $\alpha = 5\%$) (Time taken for *Cercosporidium personatum* infection to develop in a groundnut leaflet — the confidence intervals, represented by vertical lines, are calculated to a level of significance $\alpha = 5\%$).

une durée de 2 à 4 jours (taux d'infection très faible), de 5 à 6 jours (taux moyen) et le lot non traité au fongicide.

b) Développement des lésions sur plantes entières.

Deux types de courbes apparaissent, déterminés par le traitement « humidité relative » (Fig. 2). Les courbes 21 et 22 (humidité saturante pendant 7 jours consécutifs) sont de type logarithmique. Elles présentent une croissance initiale très forte et un maximum rapidement atteint. Les courbes 11 et 12 (humidité relative variable) sont de type sigmoïde. Leur croissance est lente, puis atteint un maximum avant de diminuer pour former un palier.

Les différents maxima sont soumis à une analyse de variance à deux facteurs, révélant un effet très significatif du facteur humidité relative ($\alpha < 0,001$) et suggérant une tendance au niveau du facteur technique d'infection ($\alpha = 0,094$). L'interaction est significative ($\alpha = 0,013$).

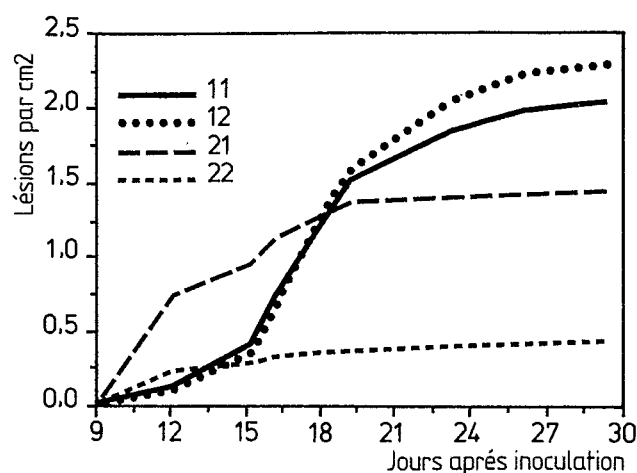


FIG. 2. — Evolution du nombre de lésions par cm^2 au cours du temps : moyennes sur trois plantes. Courbe 11 : humidité relative variable et apport d'un inoculum à sec. Courbe 12 : humidité relative variable et apport d'un inoculum en suspension aqueuse. Courbe 21 : humidité relative constante et apport d'un inoculum à sec. Courbe 22 : humidité relative constante et apport d'un inoculum en suspension aqueuse — (Evolution in number of lesions per cm^2 over time : mean for 3 plants. Curve 11 : Variable relative humidity and dry inoculum application. Curve 12 : Variable relative humidity and inoculum application in aqueous suspension. Curve 21 : Constant relative humidity and dry inoculum application. Curve 22 : Constant relative humidity and inoculum application in aqueous suspension).

Un classement des moyennes selon la plus petite différence significative au niveau $\alpha = 0,05$ permet de mettre en évidence trois classes (Tabl. I) contenant respectivement les courbes 11 et 12, 12 et 21, et 22.

Dans le cas d'une humidité relative maintenue en permanence à la saturation, la contamination à sec par un mélange de spores et de kaolin donne des résultats bien supérieurs à l'apport d'une suspension aqueuse.

La période d'incubation a été calculée individuellement pour chaque plante. Les deux méthodes de calcul donnent des résultats sensiblement égaux, la deuxième fournissant cependant des chiffres légèrement supérieurs à la première. Les chiffres obtenus sont supérieurs à ceux présentés par Nevill [1981]. Une analyse de variance a été effectuée sur les résultats obtenus (Tabl. 1). Dans les deux cas, le facteur

TABLEAU I. — Cinétique de la densité de lésions : maxima des courbes et périodes d'incubation calculées selon deux méthodes (moyennes sur trois plantes). Les classements sont donnés au niveau de signification de 5 %. Pi.1 et Pi.2 désignent les deux modalités de calcul de la période d'incubation — (Kinetics of lesion density : maxima for curves and incubation periods calculated using two methods — mean for 3 plants — Classifications are given to a level of significance of 5 %. Pi.1 and Pi.2 denote the two methods of calculating the incubation period).

| Courbe (Curve) | Type de courbe (Type of curve) | Densité maximale de lésions (Maximum lesion density) | Classement des densités maximales (Maximum lesion density classification) | Période d'incubation (Incubation period) | | Classement des périodes d'incubation (Incubation period classification) |
|----------------|--------------------------------|--|---|--|-------|---|
| | | | | Pi.1 | Pi.2 | |
| 11 | Sigmoïde (Sigmoid) | 2,00 | AB | 17,13 | 17,60 | A |
| 12 | Sigmoïde (Sigmoid) | 2,26 | A | 17,80 | 18,18 | A |
| 21 | Logarithmique (Logarithmic) | 1,40 | B | 12,33 | 13,39 | B |
| 22 | Logarithmique (Logarithmic) | 0,38 | C | 12,23 | 13,80 | B |

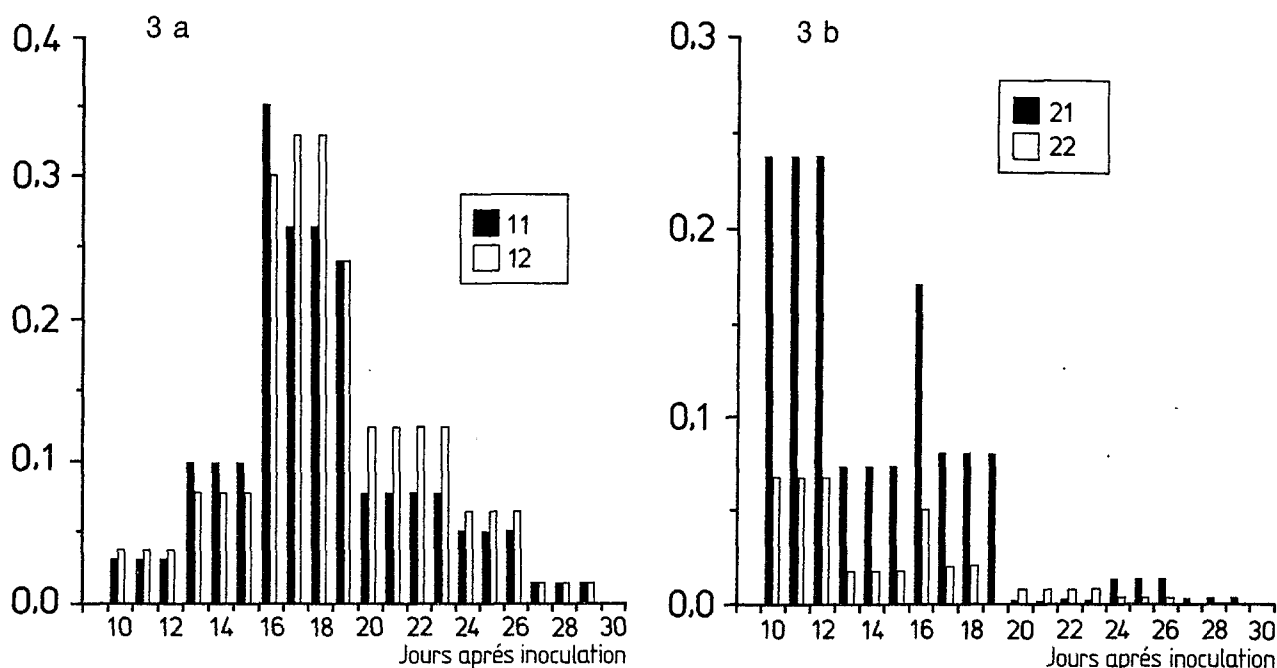


Fig. 3a. — Accroissement journalier de la densité de lésions pour une humidité relative variable — (légende des courbes : voir Fig. 2) (Daily increase in lesion density for variable relative humidity — key to curves : see Fig. 2).

3b. — Accroissement journalier de la densité de lésions pour une humidité relative constante (légende des courbes : voir Fig. 2) — (Daily increase in lesion density for constant relative humidity — key to curves : see Fig. 2).

humidité relative a un effet significatif ($\alpha \leq Lz$) 10^{-4}), tandis que le mode d'infection n'en a pas ($\alpha = 0,40$ et $\alpha = 0,66$). Il n'y a pas d'interaction significative entre les deux facteurs. Les écarts entre les périodes d'incubation pour le facteur humidité relative varient, selon la méthode de calcul, entre 4,3 et 5,2 jours. La méthode d'infection n'a pas d'effet significatif sur ces écarts (au niveau $\alpha = 5\%$).

Les courbes d'accroissement de la densité de lésions en fonction du temps (Fig. 3a et 3b) présentent deux optimums différents, correspondant à un décalage dans la réponse du champignon en fonction du type de stimulus apporté par les traitements humidité relative [Zadoks & Schein, 1979].

DISCUSSION-CONCLUSION

Les résultats obtenus sur folioles en survie indiquent que le délai d'établissement des infections chez *C. personatum* dépasse en moyenne 6 jours. Durant cette période, la présence de la spore semble nécessaire au développement de la colonie mycélienne. Sur plante entière, des tentatives d'infection artificielle ont échoué tant que la durée d'exposition à une humidité saturante est restée inférieure à 5 jours. La comparaison des deux méthodes d'infection a donc été réalisée avec une durée d'exposition à une humidité relative

de 100 % de 7 jours, selon deux modalités différentes. Les résultats se sont montrés très satisfaisants pour l'obtention de plantes infectées artificiellement par *C. personatum*. L'alternance d'une humidité saturante et non saturante, plus proche des conditions naturelles, a provoqué un retard dans l'établissement des lésions et un allongement de la période d'incubation de 4 à 5 jours mais a permis une augmentation importante de la valeur finale de la densité de lésions, au moins dans le cas d'une infection par suspension aqueuse. Le taux d'humidité relative apparaît donc comme un facteur limitant pour l'établissement des lésions et d'une grande influence sur la période d'incubation [Rapilly, 1983]. Des résultats obtenus sur *Cercospora arachidicola* [Alderman & Beute, 1986] ont montré que quatre jours au moins étaient nécessaires au tube germinatif pour pénétrer dans les stomates et former un appressorium. Durant cette période, une humidité relative saturante est nécessaire mais peut être entrecoupée de périodes sèches durant lesquelles la croissance du tube germinatif s'arrête pour reprendre ensuite. D'autre part, la présence d'eau libre supprime le tropisme induit par les stomates.

Ces résultats suggèrent la nécessité de longues périodes d'humidité saturante, de préférence fractionnées dans le temps, pour l'établissement d'une épidémie de cercosporiose.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ALDERMAN S. C. & BEUTE M. K., 1986. Influence of temperature and moisture on germination and germ tube elongation of *Cercospora arachidicola*. *Phytopathology*, 76, p. 715-719.
- [2] GREGORY P. H., 1948. The multiple-infection transformation. *Ann. Appl. Biol.*, 35, p. 412-417.
- [3] NEVILL D. J., 1981. Components of resistance to *Cercospora arachidicola* and *Cercosporidium personatum* in groundnuts. *Ann. Appl. Biol.*, 99, p. 77-86.
- [4] PARLEVIET J. E., 1975. Partial resistance of barley to leaf rust: *Puccinia hordei*. Effect of cultivar and development stage on latent period. *Euphytica*, 24, p. 21-27.
- [5] RAPILLY F., 1983. Effets de quelques facteurs physiques du climat sur diverses séquences épidémiques. *EPPO Bulletin*, 13, p. 63-68.
- [6] SAVARY S., 1987. Decrease by plant development and leaf age of susceptibility of groundnut to rust (*Puccinia arachidis*) in a susceptible cultivar. *Neeth. J. Pl. Pathol.*, 93, p. 25-31.
- [7] ZADOKS J. C. & SCHEIN R. D., 1979. Epidemiology and plant disease management. *Oxford University Press. Oxford, New York*, 427 pp.

SUMMARY

Conditions for the development of *C. personatum* leaf lesions on groundnut after artificial infection.

C. LANNOU and P. BLIZOUA, *Oléagineux*, 1989, 44, N° 11, p. 531-535.

To develop an inoculation technique of *Cercosporidium personatum* on potted plants, the delay for the fungus to establish its colonies as well as the relative humidity conditions during lesion development were studied. On detached groundnut leaflets, at least six days were required for the establishment of lesions at 27 °C and 100 % HR. On potted plants, the infection efficiency was highest when a daily rhythmicity in relative humidity (70-100 %) is simulated.

RESUMEN

Condición para observar lesiones foliares producidas en mani por infección artificial por *C. Personatum*.

C. LANNOU y P. BLIZOUA, *Oléagineux*, 1989, 44, N° 11, p. 531-535.

Con el fin de puntualizar una técnica de contaminación de *C. personatum* sobre una planta de mani, la duración del establecimiento de daños foliares ha sido estudiada así como las condiciones de humedad relativa que permite el desarrollo de las lesiones.

El tiempo de establecimiento de las lesiones es, por lo menos, de seis días después de contaminación, sobre folíolos sueltos con temperatura de 27 °C y 100 % de HR.

Sobre planta entera, la eficacia de infección es máxima cuando la humedad relativa varía entre 70 y 100 %.

Conditions for the development of *C. personatum* leaf lesions on groundnut after artificial infection

C. LANNOU and P. BLIZOUA BI (1)

INTRODUCTION

After various vain attempts to infect potted *Arachis hypogea* L. plants with *Cercosporidium personatum* (Berk. and Curt.) Deighton, it became apparent that artificially infected plants have to be exposed to humidity saturation conditions for a period of several days at least. The time taken for *C. personatum* to penetrate leaf tissue was evaluated on surviving leaflets, and two infection techniques were tested on potted plants.

MATERIAL AND METHODS

A *Cercosporidium personatum* inoculum, collected in the field, was placed on surviving leaflets and potted groundnut plants in two experiments.

a. — Measurement of the time taken for *C. personatum* lesions to develop on surviving leaflets.

The leaflets were contaminated in Petri dishes containing an aqueous spore suspension at a concentration of 32 spores/ μ l, to which Triton X-100 at a concentration of 0.0001 % (v/v) was added, and which was hand-sprayed at a rate of 1 ml per dish. The amount deposited was 850 spores per cm^2 . The dishes were then placed in a climatological chamber at a temperature of 27 °C (± 1 °C), with relative humidity maintained at 100 %.

At various dates between 2 and 6 days after infection, the leaflets were plunged into a suspension of Chlorothalonil at a concentration of 4 g of active ingredient per litre for 5 minutes, and then rinsed thoroughly. Each dish contained 3 leaflets treated in this way and a control leaflet. For each date, a batch of 5 dishes was used.

The number of lesions per leaflet was noted after 20 days, representing the maximum length of the incubation period, and then expressed as the lesion density per leaflet. This was then compared with the lesion density observed on the control not treated with Chlorothalonil, to give infection rate (in %). The spores which produced aborted colonies and multiple infections [Gregory, 1948] are not, therefore, taken into account.

b. — Lesion development on potted plants.

A homogeneous group of 12 30-day old groundnut plants was used to test the effect of two factors on infection efficiency and development: the inoculum preparation method and the humidity conditions during the incubation period. The inoculum was administered either in the form of a dry kaolin-spore mixture (400 g of

mixture at 500 spores per mg) or in the form of a spore suspension in a solution of Triton X-100 (0.0001 % v/v; 40 spores per μ l). The plants were then exposed to a relative humidity either maintained at 100 % for 7 days (under a cloche), or alternating between 100 and 60 to 80 % every 12 hours for 14 days. Under saturation conditions, free water droplets were often seen on the leaf surface. The number of spores received was the same for all the plants, as was the total length of exposure to saturation conditions. The temperature was maintained at 27 °C (± 1 °C) for all the treatments. Each combination of the two factors was represented by a batch of 3 plants. The number of lesions per plant was measured periodically and compared with the leaf area to give the lesion density per plant. Hence, the kinetics of lesion development were obtained for each treatment.

Incubation periods were estimated for each plant using two methods. The first consisted in identifying the date by which half the lesions appeared, using graphs [Parlevliet, 1975] and the second in calculating the mean of various dates, weighted by the number of lesions which appeared between two observations [Savary, 1987].

RESULTS

a. — Time taken for *C. personatum* infection to develop.

A previous experiment following the same protocol showed that leaflets contaminated and then cleaned with a fungicide within 48 hours of infection did not present any symptoms.

This time, an increasing infection rate was observed from 2 to 6 days, but this never reached the maximum seen with the control not treated with Chlorothalonil (Fig. 1). Over 6 days, the rate was 34 % of that for the control.

A single-factor analysis of variance (number of days before fungicide treatment) indicates that the treatment has a very significant effect on the infection rate ($\alpha < 0.01$). In the case of the controls, no significant effect is observed ($\alpha = 0.147$).

Classification of means according to smallest significant difference at level $\alpha = 0.05$ produces three classes: a period lasting 2 to 4 days (very low infection rate), 5 to 6 days (average infection rate) and the batch not treated with fungicide.

b. — Lesion development on potted plants

Two types of curve emerge, determined by the « relative humidity » treatment (Fig. 2). Curves 21 and 22 (saturation conditions for 7 consecutive days) are logarithmic. They present very strong initial growth, rapidly reaching a maximum. Curves 11 and 12 (variable relative humidity) are sigmoid. Their growth is slow, reaching a maximum and then decreasing to form a plateau.

The various maxima undergo twin-factorial analysis of variance, revealing the very significant effect of the relative humidity factor ($\alpha < 0.001$), and suggesting a tendency towards the level of the infection technique factor ($\alpha = 0.094$). The interaction is significant ($\alpha = 0.013$).

Classification of means according to smallest significant difference at level $\alpha = 0.05$ reveals three classes (Table I) containing curves 11 and 12, 12 and 21, and 22 respectively.

In the case of relative humidity maintained permanently at saturation point, dry contamination with a spore-kaolin mixture gives much better results than applying an aqueous suspension.

The incubation period was calculated individually for each plant. The two calculation methods give almost equal results, although the latter produces slightly higher results than the former. The figures obtained are higher than those presented by Nevill (1981). An analysis of variance was carried out on the results obtained (Table I). In both cases, the relative humidity factor had a significant effect ($\alpha \leq 10^{-4}$), whilst the infection method did not ($\alpha = 0.40$ and $\alpha = 0.66$). There was no significant interaction between the two factors. The differences between incubation periods for the relative humidity factor varied between 4.3 and 5.2 days, depending on the calculation method. The infection method has no significant effect on these differences (at level $\alpha = 5\%$).

The curves for the increase in lesion density over time (Figs. 3a and 3b) give two different maxima, corresponding to the delay in fungal response depending on the type of stimulus given by the relative humidity treatments [Zadoks and Schein, 1979].

DISCUSSION — CONCLUSION

The results obtained on surviving leaflets indicate that the time taken for *C. personatum* infection to develop exceeds 6 days on average. During this period, the presence of spores seems to be necessary for mycelian colony development. On potted plants, attempts at artificial infection failed as long as the length of exposure to humidity saturation conditions was less than 5 days. Comparison of the two infection methods was thus made using a 7-day period of exposure to 100% relative humidity, in two different ways. Results proved very satisfactory for obtaining plants artificially infected with *C. personatum*. Alternating saturated and non-saturated conditions, more closely resembling natural conditions, led to a delay in lesion development and an extension of 4 to 5 days in the incubation period, but also enabled a significant increase in the final lesion density value, at least in the case of infection by aqueous suspension. The relative humidity rate thus appears to be a limiting factor on lesion development and very influential for the incubation period [Rapilly, 1983]. Results obtained on *Cercospora arachidicola* [Alderman and Beute, 1986] showed that it takes at least four days for the germination tube to penetrate the stomata and form an appressorium. During this period, humidity saturation conditions are necessary, but can be interspersed with dry periods, during which germination tube growth stops, to resume later. In addition, the presence of free water prevents the tropism induced by the stomata.

These results suggest a need for long periods under humidity saturation conditions, preferably spread out over time, for the development of a *cercospora* leafspot epidemic.

ATELIERS DE CONSTRUCTION

DE HERSTAL

société anonyme



**POMPES INDUSTRIELLES
ET HYDROCYCLONES**

pour LIQUIDES CHARGES et ABRASIFS

Nombreuses références dans :

- les huileries de palme
- le transport hydraulique des minerais
- les lavoirs à charbon
- les cimenteries

RUE HAYENEUX 148
B - 4400 — HERSTAL
(BELGIQUE)

Tél. (041) 64 08 40 (3 l.)
Télex : 42107 «erstal b»

