

**Zeitschrift:** Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

**Herausgeber:** Schweizerische Botanische Gesellschaft

**Band:** 89 (1979)

**Heft:** 1-2

**Artikel:** Observations sur la culture de Spongospora subterranea (Plasmodiophoromycètes) en milieu gélosé

**Autor:** Diriwächter, Georg / Herter, Gerhard / Gindrat, Daniel

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-63111>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 06.05.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

## Observations sur la culture de *Spongospora subterranea* (Plasmodiophoromycètes) en milieu gélosé

par Georg Diriwächter, Gerhard Herter et Daniel Gindrat

Station fédérale de recherches agronomiques de Changins,  
CH-1260 Nyon

Manuscrit reçu le 14 décembre 1978

La gale poudreuse de la pomme de terre, provoquée par *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh., présente une certaine importance en Suisse. La production de plants indigènes de qualité peut ainsi devenir difficile lors de saisons à climat favorable à la maladie. L'élimination de l'agent pathogène des plants destinés à la multiplication permettrait d'éviter la contamination des sols non encore infestés par ce parasite.

La désinfection des plants par diverses substances fongicides telles que le formol ou le mercure (Karling, 1968) se heurte à la difficulté de l'évaluation de l'efficacité de ces traitements contre l'agent pathogène. Ce dernier n'a jamais été isolé ni cultivé de manière réellement satisfaisante au laboratoire et a été considéré jusqu'à présent comme un parasite obligatoire (Jones, 1978). Il n'y a donc pas de méthode rapide et directe permettant d'établir avec certitude si le champignon est vivant ou non dans les pustules de gale, et si un traitement fongicide des plants a été vraiment efficace.

La méthode indirecte consistant à inoculer un sol, préalablement désinfecté, avec des tubercules malades, puis à piéger le parasite sur les racines de plantes sensibles, tomate ou pomme de terre par exemple (Janke, 1965), présente des inconvénients importants. L'expérimentation dure plusieurs semaines, voire des mois. Elle nécessite une place assez grande, surtout si un grand nombre d'échantillons doit être examiné. Finalement, si elle permet de déterminer l'aptitude de *Spongospora* à infecter les plantes-pièges puis à y provoquer des lésions visibles, elle n'indique pas, en revanche, si le champignon est vivant mais inapte à se comporter en parasite détectable dans les conditions expérimentales.

Les données de Kunkel (1915) et de Piard-Douchez (1949) sur la germination *in vitro* des sporocystes de *S. subterranea* nous ont incités à examiner la possibilité

de cultiver ce micro-organisme au laboratoire et, par là, de mettre au point une méthode rapide, directe et simple de détermination de sa viabilité. Nous présentons ici les résultats de nos premières expériences sur l'isolement et la culture de *S. subterranea* hors de la plante-hôte.

## Matériel et méthodes

### Matériel végétal infecté

Cinq lots de tubercules de la variété Bintje, atteints de gale poudreuse, ont été utilisés (Tableau I). Ce matériel est conservé à 8° C jusqu'à l'utilisation.

Tableau I:

Provenance des tubercules de pomme de terre infectés naturellement par *Spongospora subterranea*.

| Lot  | Provenance                                                                                                                      |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| F 75 | Champ d'essai de la Station fédérale de recherches agronomiques de Changins à La Frétaz sur Yverdon (VD), récolte du 17.8.1975. |
| F 76 | Idem. Récolte en 10.1976.                                                                                                       |
| E 75 | Champ d'essai de la Station fédérale de recherches agronomiques de Zürich-Reckenholz à Emmenmatt (BE), récolte du 17.8.1975.    |
| E 76 | Idem. Récolte en 10.1976.                                                                                                       |
| VT   | Champ d'essai de la Station fédérale de recherches agronomiques de Changins au Val de Travers (NE), récolte en 10.1976.         |

Deux lots de plantes de pommes de terre présentant des symptômes de flétrissement et de chlorose du feuillage, ainsi que des lésions brunâtres sur les racines, ont été également examinés. Des plantes de la variété Ostara ont été prélevées près d'Avully (GE) le 11.7.1977. Des plantes des variétés Bintje et Urgenta ont été cueillies à Nyon (VD) le 10.7.1978. Dans ce second cas, des pustules de gale poudreuse ont été observées sur les jeunes tubercules (Fig. 5).

### Mise en culture à partir des pustules de gale sur tubercules.

Quelques jours avant la mise en culture, les tubercules sont lavés soigneusement sous l'eau courante et frottés à l'aide d'une brosse tendre. Ils sont ensuite séchés à l'air du laboratoire pendant 24 h. Les pustules de gale poudreuse sont alors raclées avec une lame de rasoir. Le matériel ainsi obtenu est moulu au mortier et les particules de diamètre supérieur à 0,5 mm éliminées par tamisage. Cette poudre de sporocystes, qui renferme des débris de l'épiderme de l'hôte, est conservée 5 jours au laboratoire. Dans certaines expériences, cette incubation est réalisée à 5, 20 et 31° C.

L'ensemencement est pratiqué en déposant une très petite quantité de poudre de sporocystes au centre d'une boîte de Petri contenant 20–25 ml du milieu gélosé adéquat. Cet inoculum contient environ 40 balles, soit approximativement 8000 sporocystes. Les cultures sont laissées au laboratoire (18–25° C).

#### *Mise en culture à partir de lésions sur racines.*

Les racines sont soigneusement lavées sous l'eau courante, puis essorées dans un tissu propre. Des fragments de 3–5 cm sont placés 30 à 60 secondes dans NaClO (0,5 ou 1%). Après égouttage sur un papier buvard stérile, les racines sont découpées aseptiquement en très petits fragments qui sont déposés à la surface de l'eau gélosée (1,2% d'agar Oxoid No. 3 dans de l'eau déminéralisée) ou d'agar glucosé à la pomme de terre (Bacto-Potato Dextrose Agar, Difco), les cultures sont alors laissées au laboratoire (18–25°C).

#### *Identification de *Spongospora subterranea* en culture.*

Dix sub-cultures sur eau gélosée en boîtes de Petri, primitivement obtenues à partir des pustules de gale poudreuse sur tubercules et constituées exclusivement d'amibes et de sporocystes néo-formés, sont mêlées à 500 g de terre désinfectée à la vapeur. Des plantules de tomate de la variété Montfavet 63-5 au stade 2 feuilles sont plantées. Des plantes-témoins sont mises en place dans une terre identique non inoculée. Après 50 jours, les racines de toutes les plantes sont examinées.

#### *Evaluation de la croissance en milieu gélosé.*

Les boîtes ensemencées par les sporocystes sont examinées directement sous le microscope dès le 8ème jour d'incubation. Des transferts successifs sur milieux frais sont effectués à l'aide de cylindres (7 mm de diamètre) prélevés dans les colonies en développement. L'estimation de la croissance est réalisée par comptage du nombre d'amibes et de sporocystes néo-formés autour de l'inoculum.

Les boîtes ensemencées par les fragments de racines sont examinées régulièrement dès l'apparition de colonies de micro-organismes. Certaines colonies sont transférées en milieux adéquats pour détermination et conservation.

## Résultats

#### *Mise en culture et croissance à partir de pustules de gale poudreuse sur tubercules.*

Dès le 8ème jour après l'ensemencement des boîtes de Petri, des amibes sont observées autour des inocula des 5 souches de *S. subterranea* (Fig. 1, 3). Quelques jours plus tard, l'enkystement des amibes en nouveaux sporocystes commence (Fig. 1, 2). Les sporocystes constituant l'inoculum original sont vides (Fig. 4), ce qui permet de supposer que les amibes ont été produites à partir de ces sporanges de résistance. La production d'amibes par division et celle de sporocystes se poursuivent jusqu'à l'envahissement complet de l'agar. Des cultures âgées de 4 semaines contiennent une grande quantité de sporocystes.

Les plantes de tomates qui se sont développées en terre infestée par les amibes et les sporocystes obtenus sur agar présentent des galles typiques contenant les zoosporanges caractéristiques de *S. subterranea*. Cette donnée, jointe à l'observation de la disparition du contenu des sporocystes constituant l'inoculum initial, permet de conclure qu'amibes et sporocystes néo-formés sont des structures de *S. subterranea*.

Des colonies bactériennes sont observées sur tous les milieux examinés. Elles se développent avec celles de *S. subterranea*.

L'évaluation de la croissance de colonies de 5 souches de *Spongospora* est présentée dans le Tableau II.

Tableau II:

Développement des colonies de 5 souches de *Spongospora subterranea* sur eau gélosée.

| Souche | Nombre d'amibes et de sporocystes présents autour des inocula à différents moments après l'ensemencement *) |          |          |          |                  |          |                |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|----------|----------|------------------|----------|----------------|
|        | 1ère culture                                                                                                |          |          |          | 1ère sub-culture |          | 2e sub-culture |
|        | 8 j                                                                                                         | 13 j     | 21 j     | 49 j     | 8 j              | 30 j     | 8 j            |
| F 75   | 5-20                                                                                                        | 21-100   | 21-100   | 21-100   | 101-1000         | 101-1000 | 5-20           |
| F 76   | 5-20                                                                                                        | 21-100   | 21-100   | 101-1000 | 21-100           | 21-100   | 21-100         |
| E 75   | 5-20                                                                                                        | 101-1000 | 101-1000 | > 1000   | 21-100           | 101-1000 | 21-100         |
| E 76   | 21-100                                                                                                      | 21-100   | 21-100   | 101-1000 | 5-20             | 21-100   | 21-100         |
| VT     | 5-20                                                                                                        | 5-20     | 5-20     | 21-100   | 101-1000         | 101-1000 | 21-100         |

\*) Comptages extrêmes sur 4 cultures par souche à chaque jour d'observation.

Ensemencements:

1ère culture le 21.10.1976, 1ère sub-culture le 9.11.1976, 2ème sub-culture le 1.12.1976.

Une excellente croissance des colonies a été observée tant sur eau gélosée que sur les milieux nutritifs suivants: Standard II-Nähragar (Merck); Nutrient Agar, Lima Bean Agar, Potato Dextrose Agar, Corn Meal Agar (Difco). Le développement des bactéries est plus faible sur l'eau gélosée que sur les milieux nutritifs. L'addition de streptomycine, d'oxytétracycline ou de chlortétracycline aux milieux réduit la contamination bactérienne, mais la multiplication des amibes est fortement inhibée.

Des sporocystes incubés 5 jours à 31°C avant l'ensemencement libèrent les amibes plus rapidement (7 j) que des sporocystes laissés à 20 ou 5°C pendant 10 j.

Les sporocystes formés en culture produisent des amibes lorsqu'ils sont transférés en milieu frais. Ils conservent leur pouvoir germinatif pendant plusieurs mois lorsqu'ils sont conservés au laboratoire ou au réfrigérateur (4–8°C). Ils sont donc équivalents en ce sens, aux sporocystes représentant la phase ultime, pulvérulente, de la gale poudreuse des tubercules de pommes de terre. Nous n'avons pas observé la germination

## Planche I:

Fig. 1–4: Photomicrographies de *Spongospora subterranea* en culture sur eau gélosée.

Le trait horizontal représente 10 µ.

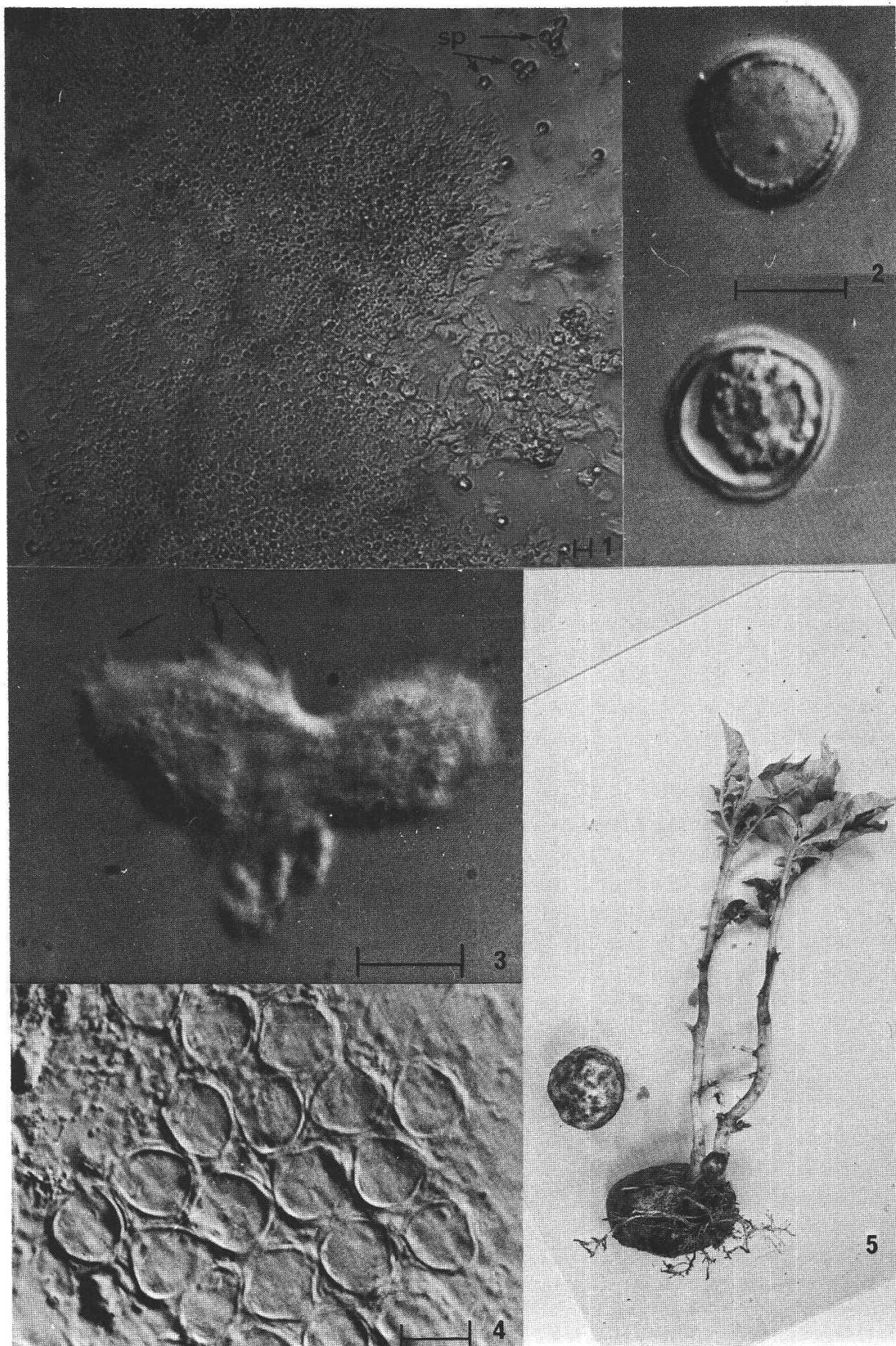
Fig. 1: Aspect d'une colonie de 7 jours. Les amibes sont bien visibles à gauche et à droite de la masse centrale constituée par l'agglutination des amibes et par des sporocystes. Quelques-uns de ces derniers sont signalés par les flèches.

Fig. 2: Sporocystes obtenus en culture.

Fig. 3: Amibe obtenue en culture. Quelques pseudopodes sont signalés par les flèches.

Fig. 4: Sporocystes prélevés sur tubercule de pomme de terre et placés 2 jours sur eau gélosée. Le contenu a disparu et seules les parois cellulaires subsistent.

Fig. 5: Plante de pomme de terre attaquée par *S. subterranea* (Nyon, juillet 1978). En plus des symptômes typiques de gale poudreuse sur le nouveau tubercule, il faut relever les lésions graves des racines d'où le champignon a été isolé en masse. La plante, âgée de plus de 3 mois, est fortement rabougrie.



des sporocystes, ni la division des amibes en l'absence de bactéries. Aucune autre structure (zoospore ou plasmode) n'a encore été observée dans nos cultures sur agar. Les cultures mixtes de *S. subterranea* et de bactéries sont maintenues en activité sans difficultés par transferts successifs en milieu frais (eau gélosée, par exemple) comme toute autre culture de champignon au laboratoire.

#### *Mise en culture et croissance à partir de lésions sur racines.*

Diverses colonies bactériennes et fongiques sont observées dès le 3ème jour. Quelques champignons pouvant être considérés comme agents pathogènes éventuels sont identifiés sur la variété Ostara: *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes, *Macrophomina phaseoli* (Maubl.) Ashby, *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc. et *Pythium* sp. Nous observons, en outre, de larges colonies translucides, incolores, ressemblant à des colonies bactériennes. Examinées au microscope, elles se révèlent être des colonies amibiennes parsemées de structures semblables aux sporocystes de *S. subterranea*. Transférées en milieu frais, ces colonies présentent des caractères culturels identiques à ceux de *S. subterranea*. Nous considérons alors qu'il s'agit de ce micro-organisme.

Une grande abondance de colonies semblables sont également obtenues des variétés Bintje et Urgenta, sur les racines desquelles aucun autre agent phytopathogène connu n'est détecté.

Dans les deux cas, les colonies de *Spongospora* ne se développent qu'en présence de bactéries.

## Discussion

Nous avons montré que les sporanges de résistance, ou sporocystes, de *Spongospora subterranea* prélevés dans les pustules pulvérulentes sur tubercules et placés à la surface d'un milieu gélosé très simple libèrent des amibes. Celle-ci se multiplient alors par division, puis s'enkystent pour former de nouveaux sporocystes. Nous confirmons et complétons ainsi les anciennes observations de Kunkel (1915) et celles, plus récentes, de Piard-Douchez (1949). Ces deux auteurs ont souligné l'irrégularité dans le taux de germination des sporocystes sur agar. Nos résultats montrent, en revanche, que même si certains sporocystes ne germent pas, chaque inoculum constitué de quelques milliers d'entre eux donne naissance à une colonie amibienne. Cinq lots de tubercules infectés naturellement ont fourni chacun un clone de *S. subterranea* sans aucune difficulté. Après plus d'une année de conservation à 8°C, les tubercules récoltés en 1975 ont fourni des colonies du parasite.

Bien que ni les structures flagellées, ni les plasmodes de *S. subterranea* n'aient été encore observés dans nos cultures, le micro-cycle „sporange-amibe-sporange-amibe“ obtenu *in vitro* fournit l'évidence que cette Plasmodiophorale n'est plus à considérer comme un parasite obligatoire. D'autre part, sa mise en culture aisée à partir des racines de pommes de terre est, à notre connaissance, la première mention de l'isolement direct sur milieu nutritif d'une Plasmodiophorale à partir de la racine de la plante-hôte.

Les résultats présentés dans ce travail ouvrent la voie à plusieurs champs de recherche, tant sur le plan fondamental que sur celui de l'application pratique.

L'étude du cycle de développement de *S. subterranea* et d'autres Plasmodiophorales, encore incomplètement connu, sera peut-être plus aisée *in vitro* que sur les plantes-hôtes. Les zoospores et les plasmodies de ces micro-organismes pourraient être obtenus sur agar. Bien que nous ayons souvent observé des agglutinations d'amibes (Fig. 1), nous n'avons pas pu mettre en évidence la présence de plasmodies. Les amibes agglutinées ont, jusqu'à présent, fourni des nouveaux sporocystes.

Le rôle des bactéries dans la nutrition des Myxomycètes, classe à laquelle von Arx (1967) rattache les Plasmodiophorales, est bien connu. Des cultures axéniques de *Physarum polycephalum* ont été réalisées en substituant aux bactéries certaines substances telles que l'hématine (Ross, 1964). Il devrait être possible d'obtenir ainsi des cultures pures de *S. subterranea* et d'autres Plasmodiophorales.

L'obtention massive de *Spongospora* à partir des racines lésées des plantes de pommes de terre des variétés Bintje et Urgenta présentant des symptômes sévères de rabougrissement et de chlorose du feuillage associés à une forte pourriture de l'appareil souterrain (Fig. 5), et l'absence de tout autre agent pathogène décelable, suggèrent que ce parasite pourrait intervenir dans une maladie de pourriture des racines de la pomme de terre. Sa croissance sur des milieux d'isolement gélosés a pu passer inaperçue jusqu'à ce jour, en raison de l'aspect „bactérien“ des colonies examinées à l'oeil nu. Il est probable que ces colonies sont le plus souvent négligées par les phytopathologistes recherchant des colonies fongiques mycéliennes. Cela est également vraisemblable pour d'autres Plasmodiophorales.

Sur le plan pratique, finalement, nous montrons qu'il est possible de mettre au point une méthode simple et rapide pour l'examen de la viabilité du champignon au niveau des pustules de gale poudreuse sur les tubercules. La recherche d'un moyen de désinfection des plants assurant une efficacité complète serait alors grandement facilitée.

## Résumé

Les Plasmodiophorales ont été considérées jusqu'à présent comme des parasites obligatoires des Spermaphytes, des Ptéridophytes, des Algues et des Champignons.

Les spores de résistance (sporocystes) de *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh., l'agent de la gale poudreuse de la pomme de terre, germent sans difficulté sur des milieux gélosés simples. Les amibes ainsi formées constituent des colonies mêlées à des bactéries. Elles s'enkystent, après quelques jours, sous la forme de sporocystes qui, transférés en milieu frais, libèrent à leur tour des amibes. Ces cultures peuvent être maintenues indéfiniment par transferts successifs en milieu gélosé.

Les cultures du champignon, ses amibes et sporocystes sont décrits et illustrés. L'importance de la germination des sporocystes *in vitro* pour l'évaluation de produits de désinfection des plants, destinés à l'élimination du parasite, est soulignée.

## Zusammenfassung

### *Beobachtungen an Kulturen von Spongospora subterranea (Plasmodiophoromycetes) auf Agarsubstraten.*

Die Plasmodiophorales gelten bis heute als obligate Parasiten von Blütenpflanzen, Farnen, Algen und Pilzen.

Dauersporen von *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh., dem Erreger des Pulverschorfes auf Kartoffel keimen auf einfachen Agarmedien aus. Die aus-schlüpfenden Amöben bilden Mischkulturen mit Bakterien. Sie bewegen sich einige Tage auf dem Agar und bilden dann Zysten, die nach Überimpfung auf frisches Medium wieder mit Amöben auskeimen. Durch periodisches Übertragen lässt sich der Pilz während einer unbegrenzten Zeit in Kultur halten.

Kulturen des Pilzes sowie Amöben und Zysten werden beschrieben und abgebildet. Die Bedeutung der Keimung für den Test von Kartoffel-Knollenbeizmitteln zur Bekämpfung des Parasiten wird diskutiert.

## Summary

### *Observations on cultures of Spongospora subterranea (Plasmodiophoromycetes) on agar substrates.*

Previous workers have considered the Plasmodiophorales to be obligate parasites of higher plants, ferns, algae and fungi. However, resting spores (sporocysts) of *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh., the causal agent of powdery scab of potato, germinated readily on simple agar media. They produced amoebae which formed colonies, mixed with colonies of bacteria. After a few days, some amoebae encysted to form new sporocysts, which in turn produced amoebae when transferred onto fresh medium. These cultures were kept going indefinitely on agar medium by serial subculture. Colonies, sporocysts, and amoebae of *S. subterranea* are described and illustrated. The importance of these findings for the evaluation of chemicals to control the pathogen on seed-potato tubers is emphasized.

Nous remercions la Fédération Suisse des Sélectionneurs de son appui financier, le Prof. H. Kern, le Dr. J. Munster et le Dr. B.D. Harrison de leurs suggestions au sujet du travail ou du manuscrit, et le Dr. R. Pezet de son aide dans les travaux photographiques.

## Bibliographie

- von Arx J.A. 1967. Pilzkunde. Cramer, Lehre. 356 p.
- Janke C. 1965. Untersuchung über den Wirtspflanzenkreis von *Spongospora subterranea* (Wallr.) Johns. Nachricht. bl. dt. PflSchutzdienst 19, 1–4.
- Jones D. 1978. Scanning electron microscopy of cystosori of *Spongospora subterranea*. Trans. Br. mycol. Soc. 70, 292–293.
- Karling J.S. 1968. The Plasmodiophorales. Hafner, New York and London, 192 p.
- Kunkel L.O. 1915. A contribution to the life history of *Spongospora subterranea*. J. agric. Res. 4, 265–278.
- Piard-Douchez Y. 1949. Le *Spongospora subterranea* et son action pathogène. Ann. Sci. nat. Bot. 2, 91–122.
- Ross J.K. 1964. Pure culture of some Myxomycetes. Bull. Torrey bot. Club 91, 23–31.

Adresse des auteurs:

Station fédérale de recherches agronomiques  
de Changins  
CH-1260 Nyon, Suisse