

# Etudes sur la « chlorose voltaïque » des légumineuses due au nématode *Aphasmatylenchus staturatus* Germani. I.

Gaétano GERMANI et Michel LUC \*

ORSTOM, Laboratoire de Nématologie, B.P. 1386, Dakar, Sénégal et Muséum national d'Histoire naturelle, Laboratoire des Vers, 61 rue de Buffon, 75005 Paris.

## RÉSUMÉ

Les auteurs démontrent *i*) que l'agent de la « chlorose voltaïque » des légumineuses est bien le nématode *Aphasmatylenchus staturatus* Germani ; *ii*) qu'il existe une relation directe, calculée, entre la densité des nématodes et l'intensité de la chlorose, mesurée par la valeur de l'assimilation de  $N_2$  par la plante. D'autre part des mesures comparatives faites sur parcelles infestées et dénématées pendant un cycle de culture d'arachides (cv. hâtif et tardif) montrent que : *i*) les horizons du sol (0-20, 20-40, 40-60 cm) sont différemment peuplés, mais qu'une migration verticale ne peut être affirmée ; *ii*) que la population endophyte des nématodes est encore très élevée à la récolte chez le cv. hâtif mais décroît à partir du 68<sup>e</sup> jour chez le cv. tardif ; *iii*) que le poids des racines et la valeur de la nodulation sont significativement moindres chez les arachides chlorotiques ; *iv*) que la fixation de  $N_2$  est environ cinq fois

cultivars tardifs (cycle de 150 jours) on observe parfois en fin de cycle un reverdissement qui peut intéresser des surfaces de plusieurs dizaines de mètres carrés.

Le succès des traitements nématicides (Dhéry, Germani & Giard, 1975) laissait penser que le nématode était la cause de l'affection.

Dans le présent article la preuve expérimentale de la responsabilité d'*A. straturatus* dans la chlorose voltaïque est apportée, de même que sont définies les relations quantitatives entre densité des nématodes et intensité de la chlorose ; enfin les valeurs des différents facteurs étudiés (nombre de nématodes dans le sol et les racines, poids des racines, intensité de la nodulation et de la fixation de  $N_2$ ) sont suivies pendant le cycle cultural de cultivars hâtifs et tardifs d'arachide.

## Reproduction expérimentale de la chlorose

### MATÉRIEL ET MÉTHODE

Trois séries de quatre pots de 1,5 dm<sup>3</sup> remplis de sol préalablement stérilisé à l'autoclave sont ensemencés chacun avec une graine d'arachide hâtive cv. KH 149A. Chaque pot est inoculé avec 1 500, 2 300 ou 3 000 *A. straturatus* par dm<sup>3</sup> de sol, suivant la série.

Trois autres séries de quatre pots de même type sont ensemencés chacun avec une graine de *Cajanus cajan* et infestés par 2 300, 3 000 et 4 000 nématodes par dm<sup>3</sup> de sol, suivant la série.

Dans l'un et l'autre cas, les nématodes ont été préalablement rincés plusieurs fois dans de l'eau distillée. Cinq pots ensemencés avec de l'arachide et cinq avec *C. cajan*, mais non inoculés, servaient de témoin. Les observations sont faites au 30<sup>e</sup> jour.

*C. cajan* qui ont reçu le plus grand nombre de nématodes montrent des symptômes de chlorose dès le 24<sup>e</sup> jour. Aucune des plantes non inoculées ne montre de symptôme de chlorose.

Tableau 1

Reproduction expérimentale de la chlorose voltaïque sur arachide et *Cajanus cajan*. (+ : symptômes de chlorose, — : pas de symptômes de chlorose)  
Experimentally induced voltaic chlorosis on peanut and cow-pea (+ : chlorosis symptoms present; — : no chlorosis symptoms)

Inoculum <sup>(1)</sup>	1500	2300	3000	4000
Arachide	—	+	+	
<i>C. cajan</i>		+	+	( <sup>2</sup> )

(<sup>1</sup>) Nombre d'*A. straturatus* par dm<sup>2</sup> de sol.

(<sup>2</sup>) Symptômes visibles au 24<sup>e</sup> jour.

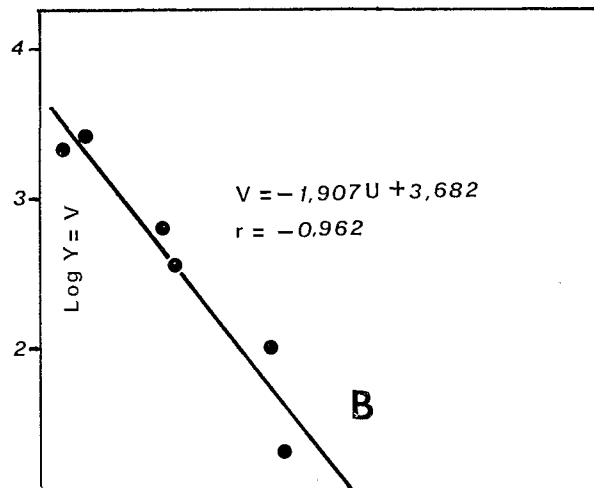
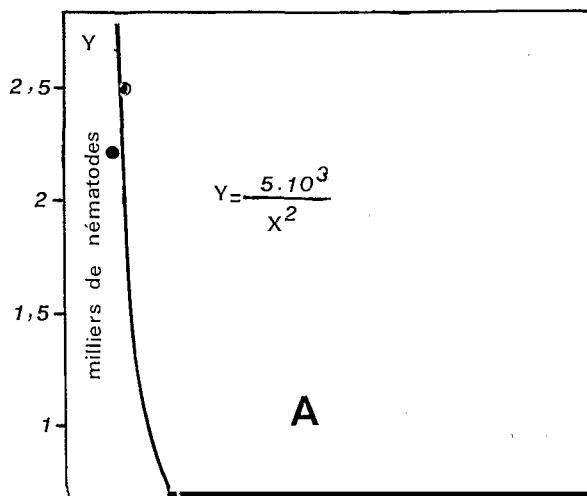
Il est donc bien démontré que le nématode *A. straturatus* est la cause de la chlorose voltaïque des Légumineuses.

## Relation entre nombre de nématodes et intensité de la chlorose

### MATÉRIEL ET MÉTHODE

Cinq séries de trois pots de 1,5 dm<sup>3</sup> sont utilisées correspondant chacune à un sol naturellement infesté à des taux variables suivant la série (environ : 100, 360, 650, 2 200 et 2 500 *A. straturatus* par dm<sup>3</sup> de sol). Chaque pot comporte une seule plantule d'arachide hâtive (cv. KH 149A) ensemencée par une souche de *Rhizobium* appartenant au groupe « cow-pea ».

La mesure de l'ARAP (activité réductrice de l'acétylène par plante) a été effectuée, pour chaque pot, 40 jours après le semis suivant la technique de Balandreau et Dommergues (1971). Cette mesure, exprimée ici en micromoles de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> réduites en C<sub>2</sub>H<sub>6</sub> par plante et par heure



séries de prélèvement pour le cultivar hâtif (cycle de 90 jours) et dix pour le cultivar tardif (cycle de 150 jours). Chaque prélèvement comportait six échantillons primaires confondus au moment des analyses, et correspondait à trois horizons : 0-20 cm, 2-40 cm et 40-60 cm.

Les nématodes ont été extraits du sol par élutriation (Seinhorst 1962). Le dénombrement des nématodes du sol a été effectué en différenciant trois horizons (0-20, 20-40 et 40-60 cm) et les chiffres rapportés à un  $\text{dm}^3$  de sol. Les nématodes des racines ont été extraits par aspersion (Seinhorst, 1950) et leur nombre rapporté à 100 g. Des analyses nématologiques de contrôle sol et racines ont également été effectuées sur le bloc  $S_3$  (témoin dénématisé). Six séries de quinze prélèvements de systèmes racinaires (cinq prélèvements par bloc  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ ) ont servi aux mesures de fixation de l'azote symbiotique.

L'évaluation de la fixation de l'azote est donnée par l'activité réductrice de l'acétylène exprimée en micromoles de  $\text{C}_2\text{H}_2$  réduite en  $\text{C}_2\text{H}_4$  par plante et par heure (ARAP). La technique employée pour mesurer l'ARAP est celle de Hardy *et al.* (1968), modifiée par Germani, Diem et Dommergues (1980). Les racines ont été ensuite pesées et la valeur de la nodulation évaluée en attribuant à chaque système racinaire une note de 0 à 5 suivant le nombre de nodules observés. La note zéro a été attribuée aux plantes ayant peu ou pas de nodules et une végétation chlorotique et rabougrie ; la note 5 aux plantes ayant une abondante nodulation, un développement végétatif vigoureux et un feuillage vert.

Sur les arachides tardives, à partir du 110<sup>e</sup> jour du cycle végétatif, on pouvait discerner, par leur aspect et leur développement, parmi les plants chlorotiques des blocs  $S_1$  et  $S_2$ , ceux qui allaient reverdir. La distinction a été faite entre les pieds reverdissants et les autres, tant dans les prélèvements que dans les analyses et le nombre de répétitions porté à dix pour les dernières séries de prélèvement.

## RÉSULTATS

L'analyse de variance concernant l'étude de l'influence des facteurs « bloc », horizon et date

de prélèvement montre qu'il n'y a pas d'effet « bloc ». En conséquence, dans le cadre d'une analyse de variance simplifiée, les données recueillies sur les blocs  $S_1$  et  $S_2$  ont été réunies. Par contre les effets « horizon » et « date de prélèvements », ainsi que l'interaction « horizon/prélèvement » sont significatifs au seuil de  $p = 0,01$ , aussi bien pour les arachides hâtives que tardives.

### *Nématodes du sol*

Dans le cas des arachides hâtives (Fig. 21), le peuplement de l'horizon 0-20 cm est différent de celui des deux autres qui sont entre eux à la limite de la signification. Mais compte tenu de la non-normalité des données (Roger, Germani & Reynaud, 1981) et du coefficient de variation très élevé (83%), on peut considérer que les trois horizons sont différemment peuplés. Chez les arachides tardives (Fig. 211) les populations de nématodes ne sont statistiquement différentes ni pour les deux premiers horizons, ni pour les différentes dates de prélèvement à l'intérieur de ces horizons. Seul l'horizon 40-60 cm, différent en valeur absolue, présente également des différences significatives pour les dates de prélèvement.

### *Nématodes des racines*

L'analyse de variance simplifiée montre que l'effet « date de prélèvement » est significatif au seuil de 5% et 1% pour les cultivars hâtif et tardif, respectivement. Dans le cas des arachides hâtives, le nombre de nématodes endophytes est maximum 40 jours après le semis et demeure encore très élevé à la récolte (Fig. 31). Dans le cas des arachides tardives, le maximum, observé au 68<sup>e</sup> jour, est suivi par une décroissance rapide et régulière jusqu'au 110<sup>e</sup> jour où la population endophyte est pratiquement nulle (Fig. 311).

### *Poids des racines et nodulation*

En présence de nématodes le poids des racines (Fig. 4 I & II) et la nodulation (Fig. 5 I & II) se maintiennent à un niveau très bas. Le reverdissement de certaines arachides tardives s'accompagne d'une augmentation sensible du nombre de nodules et du poids des racines (Fig. 5 II).

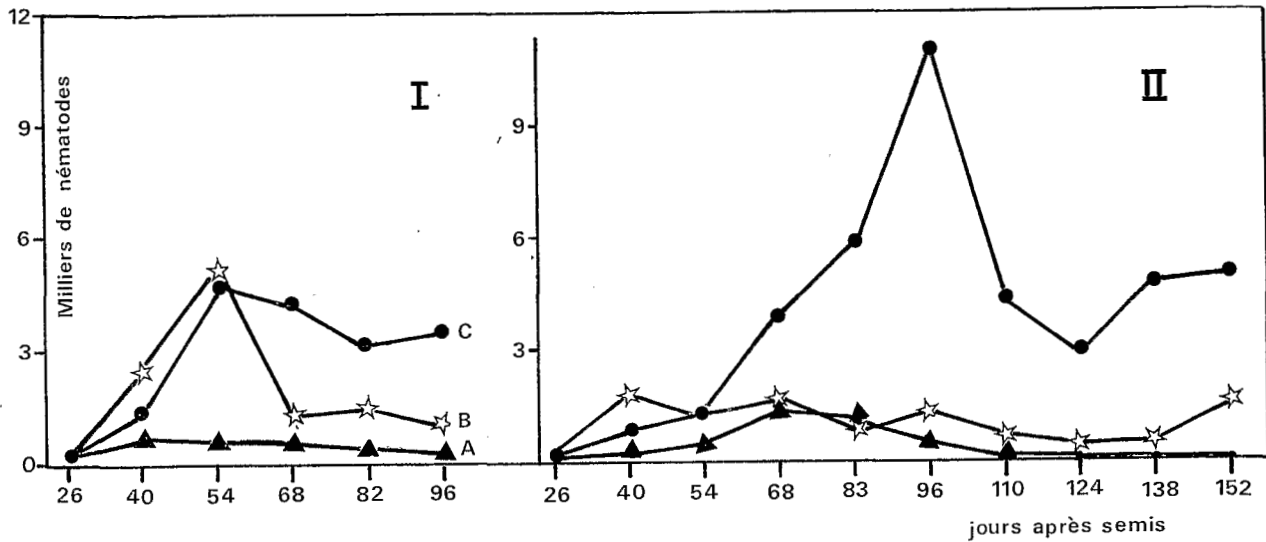


Fig. 2. Evolution des populations de *A. straturatus* dans le sol au cours d'une culture d'arachide hâtive (I) et tardive (II). (Nématodes par dm<sup>3</sup> de sol. A : horizon 0-20 cm ; B : 20-40 cm ; C : 40-60 cm).

Evolution of the population of *A. straturatus* in the soil during cultivation of a short cycle (I) and a long cycle (II) peanut cultivar. (Nematodes in 1 dm<sup>3</sup> of soil : A : level 0-20 cm ; B : level 20-40 cm ; C : level 40-60 cm).

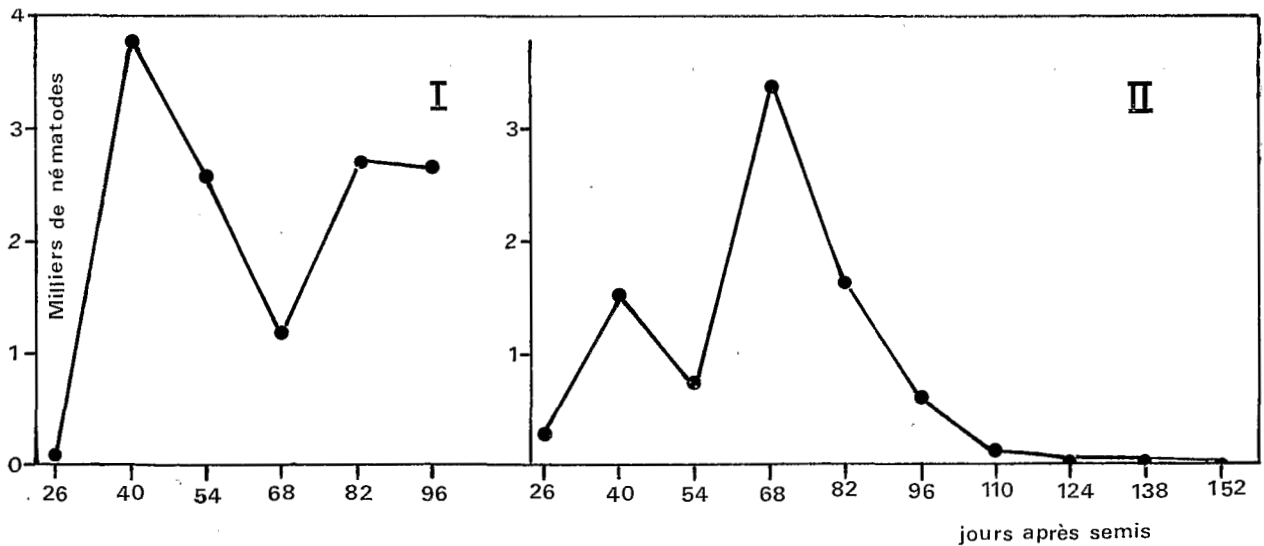


Fig. 3. Evolution des populations de *A. straturatus* dans les racines au cours d'une culture d'arachide hâtive (I) et tardive (II). (Nombre de nématodes pour 100 g de racines).

Evolution of the population of *A. straturatus* in the roots during the cultivation of a short cycle (I) and a long cycle (II) peanut cultivar. (Nematodes in 100 g of roots).

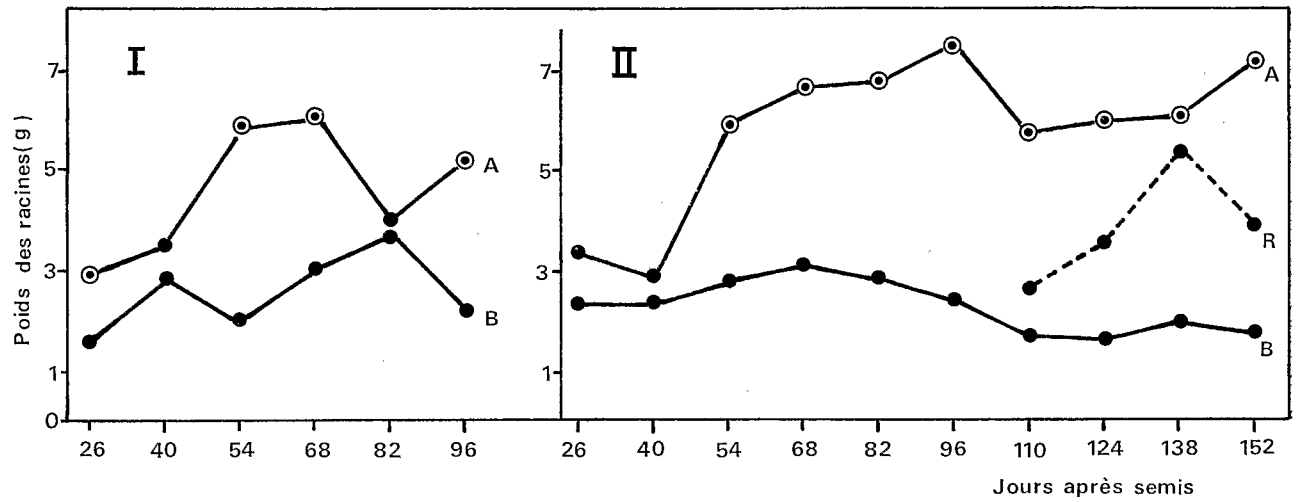


Fig. 4. Variation du poids frais des racines au cours d'une culture d'arachide hâtive (I) et tardive (II). (A : plantes saines ; B : plantes chlorotiques ; R : plantes reverdissantes).

Variation of fresh weight of peanut roots during the cultivation of a short cycle (I) and a long cycle (II) peanut cultivar. (A : healthy plants ; B : chlorotic plants ; R : "re-greening" plants).

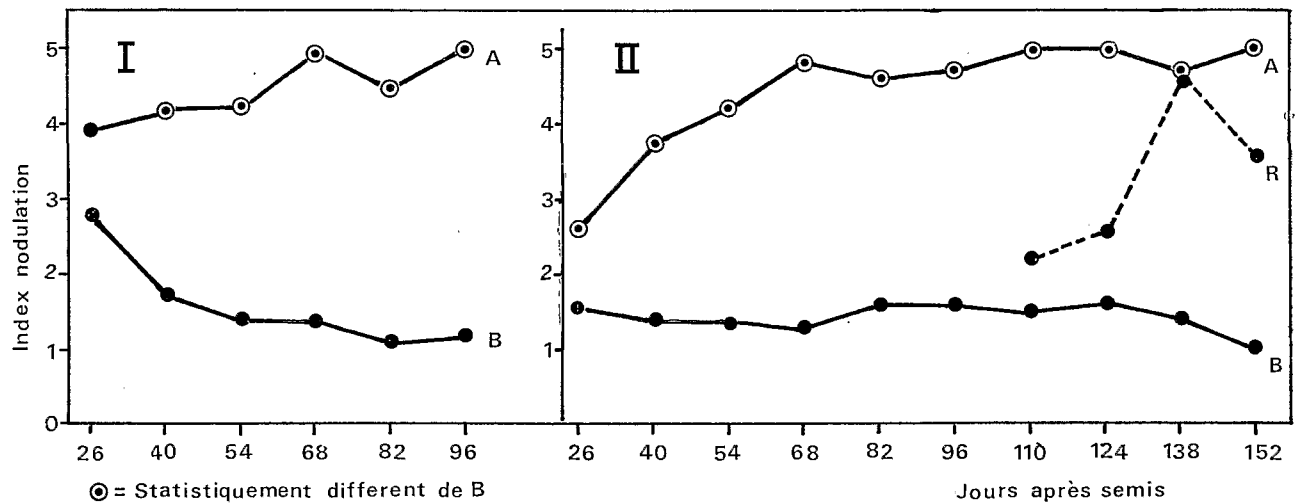


Fig. 5. Variation de l'abondance des nodules bactériens au cours d'une culture d'arachide hâtive (I) et tardive (II) (A : plantes saines ; B : plantes chlorotiques ; R : plantes reverdissantes).

Variation of the density of bacterial nodules during the cultivation of a short cycle (I) and a long-cycle (II) peanut. (A : healthy plants ; B : chlorotic plants ; R : "re-greening" plants).

### Fixation de $N_2$ (ARAP)

Chez les arachides saines, l'activité symbio-

hâtives (Fig. 6 I) et plus lentement chez les arachides tardives (Fig. 6 II). Chez les arachides chlorotiques les courbes sont écrasées et le pic de 54<sup>e</sup> jour est effacé.

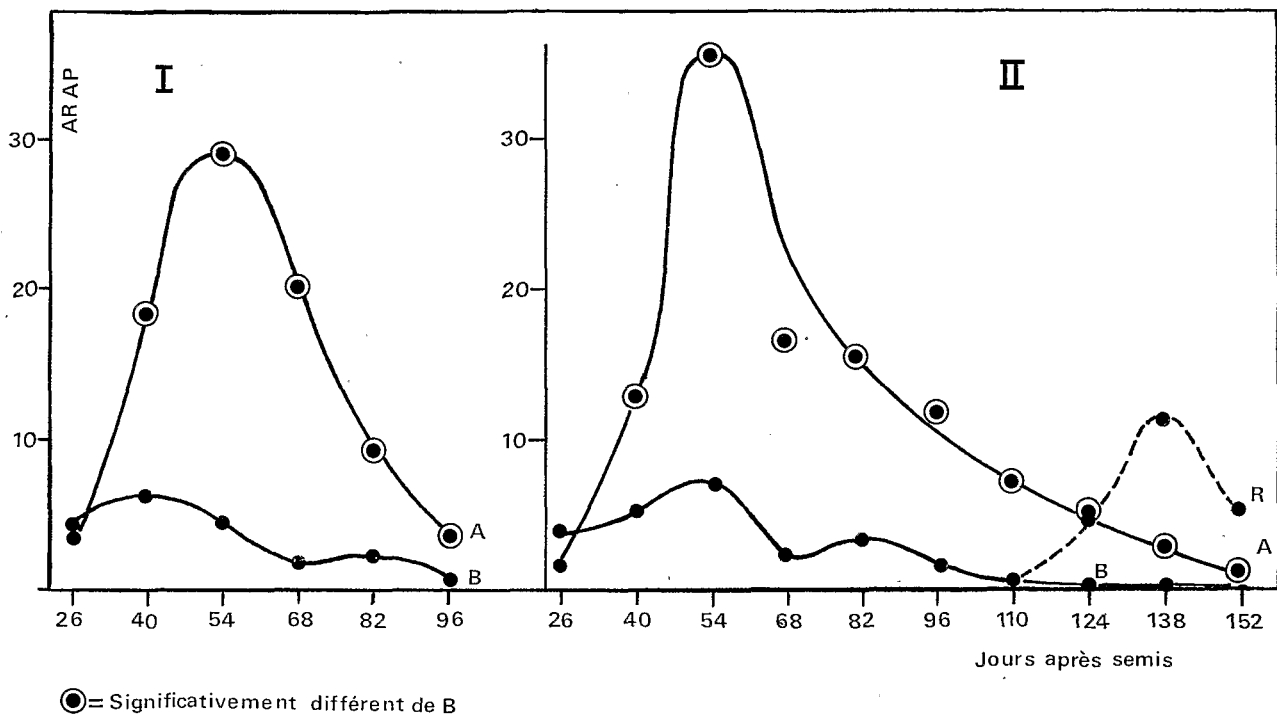


Fig. 6. Cinétique de la fixation de l'azote symbiotique au cours d'une culture d'arachide hâtive (I) et tardive (II). (A : plantes saines ; B : plantes chlorotiques ; R : plantes reverdissantes).

*Kinetics of the fixation of symbiotic nitrogen during the cultivation of a short cycle (I) and a long cycle (II) peanut cultivar. (A : healthy plants ; B : chlorotic plants ; R : "re-greening" plants).*

à l'émission d'une nouvelle génération de nodules très actifs (Fig. 5 II).

## DISCUSSION

Les résultats de l'expérience faite au laboratoire démontrent que, sans conteste, le nématode *A. straturatus* est bien l'agent de la chlorose voltaïque.

Les résultats des essais et observations sur parcelles confirment que cette chlorose est l'expression d'une carence azotée résultant d'une mauvaise assimilation de l'azote atmosphérique et peut être aussi d'une mauvaise assimilation de l'azote fixé en relation avec les désordres provoqués par le parasite sur le système racinaire. En présence de *A. straturatus* la faible nodulation des arachides se traduit par une activité symbiotique cinq fois inférieure à celle des plantes non parasitées (Fig. 5 I & II). Or il a été montré

que la réduction de la nodulation des plantes chlorosées ne provient pas d'une attaque directe du parasite, au niveau des nodules (Germani & Dhéry, 1973). L'inhibition de cette potentialité des arachides à assimiler l'azote atmosphérique pourrait se situer en fait au niveau de l'infection par le *Rhizobium*. Viennent à l'appui de cette hypothèse des observations antérieures faites sur soja : l'inoculation de plants de soja par *Rhizobium japonicum* n'améliore pas la nodulation s'ils sont parasités par *A. straturatus* ; par contre sur les plants non parasités l'inoculation de *R. japonicum* provoque une nodulation abondante, comparativement aux plants non infestés et à ceux non inoculés. Des résultats similaires ont été obtenus, sur soja également (Germani, 1979), lors d'un essai de traitement nématicide couplé à un essai d'inoculation par le *Rhizobium*.

L'action du nématode serait donc indirecte, troublant la physiologie du végétal de telle

façon que l'installation des *Rhizobium* et la constitution des nodules bactériens soient fortement diminuées ou même empêchées.

Le phénomène de reverdissement de certains pieds d'arachide en fin de cycle ne s'observe ni sur les cultivars hâtifs, du fait que leur maturation a lieu sous une pression parasitaire forte (Fig. 3 I), ni sur les cultivars tardifs fortement parasités par *A. straturatus* et présentant un fort rabougrissement; il est vraisemblable que dans ce cas l'importance des dégâts provoqués par le parasite exclut toute possibilité de rémission.

Il n'en reste pas moins que l'apparition de ce

#### RÉFÉRENCES

- BALANDREAU, J. & DOMMERGUES, Y. R. (1971). Mesure *in situ* de l'activité nitrogénasique. *C. r. Séanc. hebdom. Acad. Sci. Paris, Sér. D*, 273 : 2020-2023.
- DEHÉRY, M., GERMANI, G. & GIARD, A. (1975). Résultats de traitements nématicides contre la chlorose et le rabougrissement de l'arachide en Haute-Volta. *Cah. ORSTOM, Sér. Biol.*, 10 : 161-167.
- GERMANI, G. (1970). *Aphasmatylenchus straturatus* sp. n. (Nematoda : Hoplolaimidae) from West Africa. *Proc. helminth. Soc. Wash.*, 37 : 48-51.
- GERMANI, G. (1972). Une chlorose des légumineuses de Haute-Volta liée à la présence d'un nématode. *C. r. Séanc. Acad. Agric. France* 53 : 202-205.