

Enregistrement scientifique n°: 706  
Symposium n°: 9  
Présentation: poster

## **Etude des microorganismes auxiliaires de processus antagonistes dans la rhizosphère**

### **Study of the effect of some bacterial helper on antagonistic processes in the rhizosphere**

**DUPONNOIS Robin** (1), **BA Amadou** (2), **MATEILLE Thierry** (3),

- (1) ORSTOM, Bio-Pédologie, BP. 1386, Dakar, Sénégal
- (2) ISRA/DRPF, BP. 2312, Dakar, Sénégal
- (3) ORSTOM, Nématologie, BP. 1386, Dakar, Sénégal

La régulation des organismes pathogènes dans le sol comme la mobilisation des éléments minéraux favorables au développement des plantes sont des phénomènes largement conditionnés par l'action de microorganismes telluriques. Pourtant ce n'est que très récemment que l'impact de la microflore rhizosphérique sur un symbiote ou un antagoniste introduit a été mis en évidence. Ces interactions pouvaient entraîner une inhibition ou une stimulation de l'activité du symbiote ou de l'antagoniste. Les premiers résultats obtenus ont montré l'existence de Bactéries Auxiliaires de la symbiose ectomycorhizienne. Ces bactéries, isolées du manteau fongique de l'ectomycorhize, stimulent la mycorhization de la plante hôte.

Cette synergie a été retrouvée au niveau des relations antagonistes existant entre l'actinomycète Pasteuria penetrans et le nématode phytoparasite Meloidogyne spp.. Dans un sol très infecté par l'actinomycète, des souches de Pseudomonas fluorescents ont été isolées du sol, de la rhizosphère ou des galles induites par Meloidogyne javanica. La majorité des isolats bactériens issus des galles stimulent l'attachement des spores de P. penetrans sur le nématode. Certaines souches favorisent la multiplication de l'actinomycète dans la plante renforçant ainsi l'activité antagoniste de P. penetrans contre le nématode. Par similitude, ces bactéries ont été nommées Bactéries Auxiliaires de P. penetrans. Indépendamment de cette synergie avec l'actinomycète, ces bactéries stimulent la croissance de la plante hôte et peuvent donc être considérées comme des PGPR.

Certains groupes bactériens de la rhizosphère ont une importance considérable aussi bien pour leurs effets directs sur la plante que pour leurs effets sur d'autres microorganismes comme l'actinomycète P. penetrans et pourraient être avantageusement exploités pour renforcer le contrôle biologique des nématodes à galles en zone tropicale.

Mots clés : antagonistes, lutte biologique, P. penetrans, Pseudomonas fluorescents.

Key words : antagonists, biological control, Fluorescent Pseudomonas, P. penetrans.

Enregistrement scientifique n°: 706

Symposium n°: 9

Présentation: poster

## **Etude des microorganismes auxiliaires de processus antagonistes dans la rhizosphère**

### **Study of the effect of some bacterial helper on antagonistic processes in the rhizosphere**

**DUPONNOIS Robin (1), BA Amadou (2), MATEILLE Thierry (3),**

(1) ORSTOM, Bio-Pédologie, BP. 1386, Dakar, Sénégal

(2) ISRA/DRPF, BP. 2312, Dakar, Sénégal

(3) ORSTOM, Nématologie, BP. 1386, Dakar, Sénégal

L'utilisation de l'actinomycète Pasteuria penetrans, hyperparasite de nombreux nématodes phytoparasites, contre le nématode à galles Meloidogyne spp. a donné des résultats spectaculaires en matière de lutte biologique mais souvent peu reproductible (Zaki & Maqbool, 1992). Les différentes étapes du parasitisme de l'actinomycète sur le nématode (attachement, pénétration et infection) ont été largement étudiés (Davies & Danks, 1993). Toutefois il existe peu de données sur l'écologie de P. penetrans. Excepté certains paramètres comme l'humidité (Oostendorp et al., 1990), la température (Hatz & Dickson, 1992) et les caractéristiques physico-chimiques du sol (Mateille et al., 1995), l'influence des facteurs biotiques sur l'activité de P. penetrans est relativement peu connue. Un programme de recherches a donc été élaboré afin d'analyser l'impact de la microflore du sol et en particulier celui des Pseudomonas fluorescents sur la relation P. penetrans / Meloidogyne spp..

#### Matériels & méthodes

Deux parcelles de sol sableux ayant les mêmes caractéristiques pédologiques ont été échantillonnées. Le nématode M. javanica était présent dans les 2 sols alors que l'actinomycète P. penetrans n'a été observé que dans une parcelle (PP+) (l'autre étant nommée PP-).

#### 1/ Analyses microbiennes

Des plantules de tomate ont été élevées dans des pots de 1 litre remplis par chacun des sols fraîchement prélevés. Après 1 mois de culture en serre, des échantillons de sol et de racines ont été récupérés à raison de 1 g de sol ou de matière fraîche de racine par pot.

La biomasse microbienne totale, les bactéries et les Pseudomonas fluorescents, les spores de champignons mycorhiziens, les champignons nématophages ont été quantifiés et déterminés respectivement selon les méthodes décrites par Amato & Ladd (1988), Duponnois (1992), Furlan et al. (1980) et Duponnois et al. (1995). Les souches de P. fluorescents isolés du sol, des racines ou des galles ont été nommées respectivement Sx, Rx ou Gx.

#### 2/ Inoculum de M. javanica et de P. penetrans

M. javanica a été multiplié en serre sur des plants de tomate. Après 2 mois de culture, les systèmes racinaires ont été prélevés, coupés en fragments de 1 à 2 cm et placés dans une chambre à brouillard (Seinhorst, 1950).

Des racines de Solanum aethiopicum (Aubergine africaine) ont été prélevées dans la parcelle PP+, soigneusement nettoyées, fragmentées en morceaux de 1 cm et immergées dans une solution enzymatique selon la méthode de Hussey (1971). Après environ 12 h d'incubation, les femelles ont été extraites des racines, déposées et broyées dans des Ependorfs contenant 1 ml d'alcool 70%. Après 72 h, ces suspensions de spores de P. penetrans ont été centrifugées 3 fois et le culot a été repris dans une solution de sulfate de magnésium 0,1M. La concentration de spores a été estimée en microscopie (x 400) utilisant une cellule de Mallassez.

### 3/ Expérience en serre

Des plantules de tomate (Lycopersicon esculentum cv. Roma) ont été élevées dans des pots de 600 ml remplis par un sol sableux (sable 92,8% ; limon 2% ; argile 5,2%, pH H<sub>2</sub>O 7,1) préalablement autoclavé (140°C, 0,25 MPa, 60 min). Une semaine après, les plants ont été inoculés par 100 juvéniles de M. javanica dans 5 ml d'eau distillée et/ou 5 10<sup>9</sup> ufc de la bactérie G97 en suspension dans une solution MgSO<sub>4</sub> 0,1 M et retenue d'après les résultats des test d'attachement et/ou 10<sup>5</sup> spores de P. penetrans dans 5 ml d'eau distillée. Après un mois de culture en serre, les systèmes racinaires (15 par traitement) ont été récoltés et soigneusement lavés. Dix d'entre eux ont été placés dans une chambre à brouillard afin de permettre l'éclosion des oeufs. Le nombre de juvéniles ainsi que le nombre de spores par nématodes ont été déterminés pour chaque plant. Les biomasses aériennes et racinaires ont ensuite été déterminées. Les racines des 5 plants restant ont été broyées au Waring Blender. Le nombre de spores de P. penetrans pour chaque plant a ensuite été calculé. Les moyennes ont été comparées 2 à 2 par le test U de Mann Whitney au seuil de 5%.

### Résultats & discussion

Le nombre de bactéries et de champignons endomycorhiziens est beaucoup plus important dans le sol PP+ que dans le sol PP- (Tableau 1). De plus, les champignons nématophages et les Pseudomonas fluorescents n'ont été observés que dans le sol PP+ (Tableau 1). En ce qui concerne ce groupe bactérien, la population au niveau des galles est beaucoup plus importante que celle observée au niveau des racines et dans le sol. Cette observation suggère des relations relativement intimes entre ces bactéries et les femelles infestées par P. penetrans. Ceci a été confirmé à travers les résultats obtenus dans les tests d'attachement. La majeure partie des bactéries isolées des galles a stimulé l'attachement des spores de P. penetrans sur la cuticule des nématodes alors qu'une seule souche isolée du sol S58 a provoqué le même phénomène (Fig. 1). La souche G97 a amélioré : (i) la croissance de la plante, (ii) l'attachement et la multiplication des spores de P. penetrans (Tableau 2). Par contre, elle a significativement inhibé la multiplication du nématode.

Ces résultats montrent que dans le cas du sol PP+, il existe un ensemble de microorganismes présents en abondance qui sont directement favorables à la plante (champignons endomycorhiziens, P. fluorescents) ou indirectement favorables (champignons nématophages, Pasteuria penetrans, P. fluorescents) en étant des

antagonistes potentiels contre le nématode. D'autre part, il existe entre ces divers groupes des relations qui peuvent être synergiques en améliorant l'efficacité du symbiote ou de l'antagoniste. Dans cette étude, nous avons montré que l'activité antagoniste de P. penetrans pouvait être renforcée grâce à la présence de certaines souches de Pseudomonas fluorescents. D'autres études réalisées dans notre laboratoire ont mis en évidence ce même effet synergique sur des champignons nématophages (Duponnois et al., 1998). Enfin il est connu que des souches de Pseudomonas fluorescents peuvent stimuler la symbiose endomycorhizienne (Paula et al., 1992).

Ces résultats mettent en évidence l'existence de microorganismes comme les Pseudomonas fluorescents ayant plusieurs fonctions : intrinsèques en ayant un effet positif direct sur la croissance de la plante (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) ou négatif en agissant sur la multiplication du nématode. De plus elles peuvent agir sur divers microorganismes symbiotiques ou antagonistes en améliorant leur efficacité. Ces bactéries appelées auxiliaires deviennent donc un facteur important en ce qui concerne les opérations de mycorhization contrôlée ou de lutte biologique.

#### Références

AMATO, M. & LADD, J.N. (1992). Decomposition of <sup>14</sup>C-labelled glucose and legume material in soils : properties influencing the accumulation of organic residue C and microbial biomass C. Soil Biology and Biochemistry **24**, 455-464.

DAVIES, K.G., DANKS, C. (1993). Interspecific differences in the nematode surface coat between Meloidogyne incognita and M. arenaria related to the adhesion of the bacterium Pasteuria penetrans. Parasitology **105**, 475-480.

DUPONNOIS, R. (1992). Les bactéries auxiliaires de la mycorhization du Douglas (Pseudotsuga menziesii) (Mirb.) Franco) par Laccaria laccata souche S238. Thèse de l'Université de Nancy 1, février 1992. Pages 240.

DUPONNOIS, R., BA, A.M. & MATEILLE, T. (1998). Interactions between one strain of the nematophagous fungus Arthrobotrys oligospora S18692 S7 and some rhizospheric bacteria. Fundamental & Applied Nematology. Accepté pour publication.

DUPONNOIS, R., MATEILLE, T. & GUEYE, M. (1995). Biological characteristics and effects of two strains of Arthrobotrys oligospora from Senegal on Meloidogyne species (with reference to M. mayaguensis) parasitizing tomato plants. Biocontrol Science & Technology **5**, 517-525.

FURLAN, V., BARRTSCHI, H. & FORTIN, J.A. (1980). Media for density gradient extraction of endomycorrhizal spores. Transactions of the British Mycological Society **75**, 336-338.

HATZ, B. & DICKSON, D.W. (1992). Effect of temperature on attachment, development, and interactions of Pasteuria penetrans on Meloidogyne arenaria. Journal of Nematology **24**, 512-521.

HUSSEY, J.N. (1971). A technique for obtaining quantities of living Meloidogyne females. Journal of Nematology **3**, 99-100.

MATEILLE, T., DUPONNOIS, R. & DIOP, M.T. (1995). Influence des facteurs telluriques abiotiques et de la plante hôte sur l'infection des nématodes phytoparasites du genre Meloidogyne par l'actinomycète parasitoïde Pasteuria penetrans. Agronomie **15**, 581-591.

OOSTENDORP, M., DICKSON, D.W. & MITCHELL, D.J. (1990). Host range and ecology of isolates of Pasteuria spp. from the southeastern United States. Journal of Nematology **22**, 525-531.

PAULA, M.A., URQUIAGA, S., SIQUEIRA, J.O. & DOBEREINER, J. (1992). Synergistic effects of vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi and diazotrophic bacteria on nutrition and growth of sweet potato (*Ipomoea batatas*). Biology and Fertility of Soils **14**, 61-66.

SEINHORST, J.W. (1950). De betekenis van de toestand von de grond voor het optreden van aanstasting door het stengelaaltje (Ditylenchus dipsaci (Kühn) Filipjev). Tijdschrift over Plantenziekten **56**, 292-349.

ZAKI, M.J. & MAQBOOL, M.A. (1992). Effect of spore concentrations of Pasteuria penetrans on the attachment of Meloidogyne larvae and growth of okra plants. Pakistan Journal of Nematology **10**, 69-73.

Mots clés : antagonistes, lutte biologique, P. penetrans, *Pseudomonas fluorescens*.

Key words : antagonists, biological control, Fluorescent *Pseudomonas*, P. penetrans.

Tableau 1. Analyse microbienne dans les 2 sols infestés ou non par P. penetrans (PP+ et PP-). (1) les données d'une même ligne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test "U" Mann Whitney (P<0.05). (a) : MVA mycorhize à vésicule et à arbuscules. + : presence.

	PP+	PP-
Total microbial biomass		
C ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ of soil)	117.6 a	86.6 b
N ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ of soil)	5.6 a	4.1 b
Population bactérienne tellurique (ufc x $10^6$ ) par g de sol		
Nombre total de bacteries	317.2 a	78.2 b
<u>Pseudomonas</u> spp.	18.1 a	8.1 b
<u>Pseudomonas</u> fluorescent	+	0
Distribution des <u>P.</u> fluorescents sur le système racinaire (ufc x $10^6$ ) par g de poids sec		
Racine	7416.7 a	303.3 b
Galle	10683.8 a	122.4 b
Population fongique		
MVA <sup>(a)</sup> Spores par 100 g de sol	191.8 a	112.0 b
Champignons nématophages		
<u>Arthrobotrys</u> spp.	+	0
<u>Dactylaria</u> spp.	+	0

Fig. 1. Effet des souches de *Pseudomonas* fluorescents sur l'attachement des spores de *P. penetrans* sur les juvéniles de *Meloidogyne javanica*.

■ Significativement différent du témoin d'après le test U Mann Whitney (P<0.05)

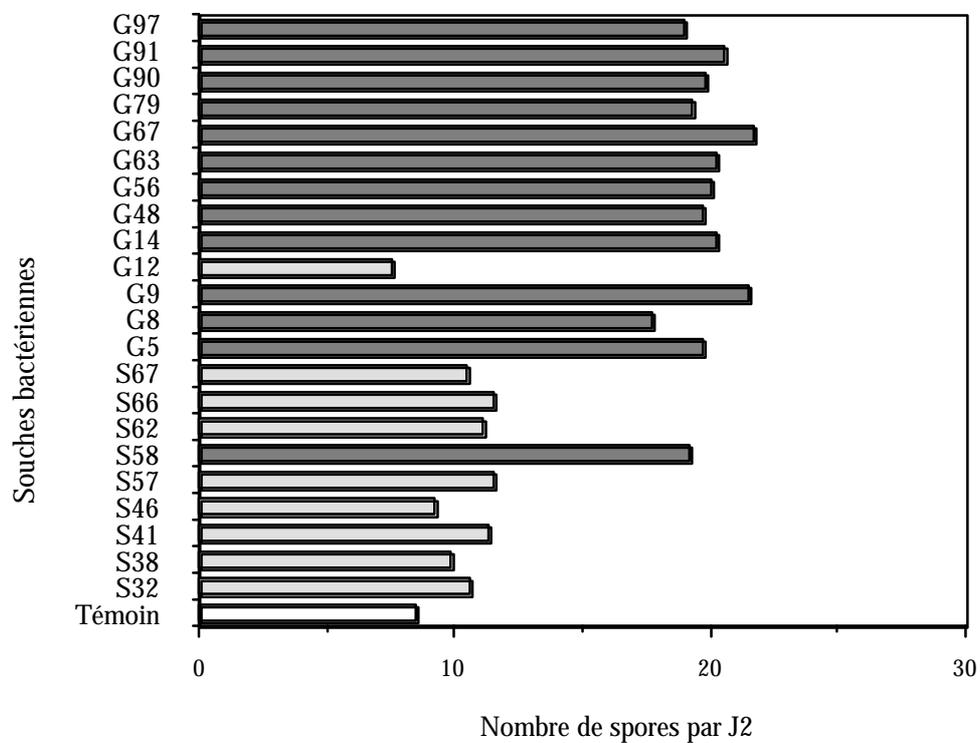


Tableau 2. Effet de la souche G97 sur la croissance de la plante, la multiplication de M. javanica et de P. penetrans. <sup>(1)</sup> les données d'une même ligne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test "U" Mann Whitney (P<0.05).

	Témoin	+ G97
Biomasse aérienne (mg poids sec)	432,5 b <sup>(1)</sup>	541,3 a
Biomasse racinaire (mg poids sec)	320,0 b	501,3 a
Nbre de J2/plant	10991,3 a	2350,3 b
Nbre de spores de <u>P. penetrans</u> par J2	9,1 b	18,5 a
Nbre de spores de <u>P. penetrans</u> par plant (x 10 <sup>6</sup> )	0,5 b	1,6 a