

DEUXIEME CONFERENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
BORDEAUX 8-10 Novembre 1988

ETUDE DE L' ASSOCIATION NEMATODES-CHAMPIGNONS DU SOL SUR
BANANIER EN COTE D'IVOIRE

T. MATEILLE S. FOLKERTSMA

Laboratoire de Nématologie, ORSTOM, 01 BP V51, ABIDJAN 01, Côte d'Ivoire

RESUME

L'isolement des champignons des lésions superficielles de racines de bananier *Musa* AAA cv 'Poyo' (sous-groupe Cavendish) a montré la prédominance de *Fusarium oxysporum* dans les bananeraies de Côte d'Ivoire. L'extraction des nématodes de ces lésions a précisé que le couple *Radopholus similis*-*F. oxysporum* est le plus fréquent (12 à 25%), suivi du couple *Helicotylenchus multicinctus*-*F. oxysporum* (6 à 13%). Mais ces associations sont aléatoires et ne dépendent ni de l'espèce de nématode, ni du type de sol (argiles, limons, sables et tourbes). Jusqu'à 30 à 50% des lésions ne contiennent que des nématodes; inversement, 5 à 10% d'entre elles n'abritent que des champignons, indiquant ainsi que les parasites peuvent être individuellement pathogènes.

SUMMARY

NEMATODE-FUNGI ASSOCIATIONS ON BANANA IN
IVORY COAST

Fungi isolation from superficial lesions on roots of banana *Musa* AAA cv 'Poyo' (Cavendish sub-group) showed that *Fusarium oxysporum* is the most widespread in Ivory Coast. After nematode extraction from these lesions, we noticed that *Radopholus similis*-*F. oxysporum* pair is the most frequent (12 to 25%), followed by the *Helicotylenchus multicinctus*-*F. oxysporum* one (6 to 13%). But these associations are random and depend neither on the nematode species nor on the soil type (clay, silty, sandy and peat). Till 30 to 50% of the lesions contain only nematodes; on the other hand, 5 to 10% of them keep only fungi, showing so that both of the parasites can be individually pathogenic.



010022339

Non

815

L'impact de l'association nématodes-champignons sur le bananier a été étudiée depuis longtemps. NEWHALL (1958), LOOS (1959) et LOOS et LOOS (1960) avaient conclu que l'expression de la maladie de Panama causée par *F. oxysporum* f.sp. *cubense* sur la variété 'Gros Michel' était considérablement accélérée en présence de *R. similis*; l'invasion des racines par ce champignon serait activée par l'établissement de conditions nutritives favorables à son développement, conditions créées par le premier parasite qu'est le nématode (BLAKE, 1966; 1969). La croissance de la plante et son rendement s'en trouvent alors d'autant plus affectés (SIKORA et SCHLÖSSER, 1973).

La structure des communautés de nématodes parasites du bananier est déterminée par les caractéristiques physico-chimiques des sols (QUENEHERVE, 1988).

D'autre part, la nature des populations fongiques peut être liée à celle des populations de nématodes. C'est ainsi que BOOTH et STOVER (1974) indiquent que *Cylindrocarpon musae* est communément associé à *Radopholus similis*, représentant 15 à 50% de la microflore isolée de racines de bananiers en Amérique Latine et aux Antilles Françaises.

Par ailleurs, STOVER (1966) mentionne que *Fusarium solani* et *Rhizoctonia* sp. prédominent dans les lésions racinaires, causées ou non par les nématodes; il s'avère que *F. solani* est fréquent dans les lésions à *R. similis*, et *Rhizoctonia* sp. dans les lésions à *Helicotylenchus multicinctus*. En 1980, PINOCHET et STOVER ont isolé des champignons à partir de lésions dues à *Pratylenchus coffeae*: *Acremonium stromaticum* et *C. musae* représentaient 74% des échantillons.

Pour BOOTH et STOVER (1974), la pénétration de *C. musae* dans les racines ne serait possible que par l'intermédiaire de blessures superficielles; mais sa pathogénie a été démontrée en l'absence d'autres parasites (PINOCHET et STOVER, 1980a). Par ailleurs, il semble que les types d'associations soient semblables sur d'autres groupes génétiques de *Musa* sp. comme le Plantain (PINOCHET, 1979; PINOCHET et STOVER, 1980b).

Mais la pathogénicité de ces associations est encore inconnue: l'étude biologique de l'infestation des champignons avec ou sans nématode n'a été abordée que sous l'aspect des dégâts occasionés mais jamais sous l'angle physiologique.

CONDITIONS DE L'ETUDE

La bananeraie de Côte d'Ivoire offre une diversité de sols importante. Les associations nématodes-champignons au niveau de la rhizosphère du bananier ont été identifiées en fonction de cette diversité pour nous permettre de rechercher l'existence d'une inter-relation entre les nématodes et les champignons et d'en conclure sur les facteurs relationnels:

Inventaire des associations nématodes-champignons

Quatre types de sols caractéristiques de la bananeraie ivoirienne ont été choisis: sols limoneux, sols sableux, sols argileux et sols tourbeux (Tab. I).

Sur chaque site, des échantillons de racines de 50 bananiers AAA cv. 'Poyo' ont été collectés. Les racines ont été lavées à l'eau. Puis, dans chaque échantillon, deux fragments racinaires présentant des lésions superficielles ont été retenus. Ces fragments ont ensuite été désinfectés en surface pendant 2 minutes dans une solution de chlorure de sodium (NaOCl 1%) puis 2 minutes dans une solution de streptomycine à 0,7%, et enfin rincés à l'eau distillée stérile.

Fonds Documentaire IRD

Cote: BX 22 339 Ex: unique

Les lésions racinaires, tirets rouges-bruns de 0,5 à 1 cm de longueur, ont été prélevées puis coupées longitudinalement.

Tableau I : Analyse de sols de la bananeraie ivoirienne et fréquences des nématodes parasites du bananier cv. 'Poyo' (QUÉNEHERVE, 1988).

Structure	Limons	Sables	Argiles	Tourbes
% Argiles 0-2µm	21,7	8,6	61,2	0
% Limons 2-20µm	26,8	7,4	20,3	0
% Limons 20-50µm	23,2	20,5	0,2	0
% Sables 50-200µm	17,5	46,7	0,2	0
% Sables 200-2000µm	5,5	15,7	0,2	0
% H ₂ O	2,2	0,7	3	*
% Matière organique	2,5	1,2	14,2	*
pH H ₂ O	5,9	4,9	4	3,4
pH KCl	5,4	4,5	3,5	3
% C	14,9	6,6	109,5	397,3
% N	1,4	0,5	5,5	15,5
C/N	10,9	12,8	20,1	25,6
Nématodes dans les racines (%)				
<i>Helicotylenchus multicinctus</i>	2,2	15,1	87,6	92,1
<i>Hoplolaimus pararobustus</i>	16,9	16,5	0,5	1,7
<i>Radopholus similis</i>	77,2	62,1	10,8	5,8
Autres nématodes	3,7	6,3	1,1	0,4

* Données manquantes

Pour l'isolement des champignons, une moitié de lésion a été déposée en boîtes de Pétri sur milieu malt à 2%.

Pour l'extraction des nématodes, l'autre moitié des lésions a été déposée dans des tubes à essais contenant 10 ml d'une solution d'eau oxygénée (H₂O₂ 100v. 1%) selon la technique de GOWEN et EDMUNDS (1973).

Impact d'une association nématode-champignon : cas de *R. similis*-*F. oxysporum*

Si l'existence de ces associations au niveau des racines du bananier est un fait réel, leur pouvoir pathogène est inconnu et la part de chacun de deux parasites (nématode ou champignon) dans une pathologie racinaire du bananier reste à définir. Comme préliminaire, une inoculation combinée d'un nématode et d'un champignon a été expérimentée sur vitro-plants de bananiers.

Des pousses feuillées et enracinées de bananier AAA cv. 'Poyo' ont été cultivées *in vitro* sur le milieu de base de Murashige et Skoog (1962) modifié pour la micropropagation du bananier (MATEILLE et FONCELLE, sous presse).

Dix femelles de *R. similis* issus d'élevages monoxéniques (MATEILLE, sous presse) et *F. oxysporum* ont été inoculés *in vitro* aux pousses de bananier. Quatre conditions ont été comparées :

- pousses non inoculées (Témoin).

- pousses inoculées avec *R. similis*.
- pousses inoculées avec *F. oxysporum*.
- pousses inoculées avec *R. similis* puis, 2 semaines après, avec *F. oxysporum*.

RESULTATS ET DISCUSSION

Inventaire des associations

Une étude plus approfondie de la littérature montre que, si les expérimentations passent par l'isolement systématique des champignons des lésions racinaires, il n'en est pas de même pour les nématodes. En effet, une lésion est supposée contenir tel ou tel nématode simplement par son aspect; ou bien la description des nématodes est faite après leur extraction globale des racines. Ensuite, les auteurs se sont basés sur les fréquences des associations pour conclure sur des spécificités nématode-champignon, sans vérifier si ces associations étaient probables ou non.

L'extraction des nématodes des lésions a permis la détermination de *Helicotylenchus multicinctus*, *Hoplolaimus pararobustus* et *Radopholus similis*. Les champignons isolés des lésions appartenaient à 6 genres : *Aspergillus*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizoctonia* et *Trichoderma*. L'espèce représentante du genre *Fusarium* était *F. oxysporum*.

Tableau II : Fréquences des associations nématodes-champignons observées dans les lésions racinaires de bananier cv. 'Poyo' sur quatre types de sols.

Fréquences (%) [probabilités f ²]	<i>Helicotylenchus multicinctus</i>	<i>Hoplolaimus pararobustus</i>	<i>Radopholus similis</i>	Aucun nématode	Total
Limons					
<i>Fusarium oxysporum</i>	6,15 [0,42]	1,54 [0,67]	20,77 [0,76]	5,38	33,84
Autres champignons*	2,31	0,77	5,39	2,31	10,78
Aucun champignon	13,08	3,08	32,30	6,92	55,38
Total	21,54	5,39	58,46	14,61	100,00
Sables					
<i>Fusarium oxysporum</i>	10,15 [0,02]	5,47 [0,61]	11,72 [0,55]	3,13	30,47
Autres champignons*	4,68	7,02	10,93	7,80	30,43
Aucun champignon	7,05	3,92	21,88	6,25	39,10
Total	21,88	16,41	44,53	17,18	100,00
Argiles					
<i>Fusarium oxysporum</i>	13,20 [0,73]	0,00	24,53 [0,44]	5,66	43,39
Autres champignons*	6,60	0,00	13,20	4,72	24,52
Aucun champignon	10,38	0,00	16,05	5,66	32,09
Total	30,18	0,00	53,78	16,04	100,00
Tourbes					
<i>Fusarium oxysporum</i>	6,00 [0,47]	0,00	15,00 [0,06]	8,00	29,00
Autres champignons*	9,00	3,00	12,00	12,00	36,00
Aucun champignon	11,00	5,00	9,00	10,00	35,00
Total	26,00	8,00	36,00	30,00	100,00

**Aspergillus*, *Cylindrocarpon*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Trichoderma* spp.

L'analyse de l'ensemble des lésions a révélé (Tab. II) que, quel que soit le type de sol, les lésions dues à *R. similis* sont dominantes (36 à 58,5%), suivies par celles à *H. multincinctus* (21,5 à 30%) alors que, d'après QUENEHERVE (1988), les proportions des populations en équilibre dans les racines dépendent de la nature des sols (Tab. I).

Cette différence provient des conditions expérimentales : les lésions prélevées sont jeunes et superficielles. *R. similis* est certainement le premier nématode à parasiter les racines quel que soit le type de sol, ce qui explique qu'il soit le plus fréquent dans ce type de lésions. *H. multincinctus* ne doit infester les racines que dans un second temps. Les caractères physico-chimiques des sols vont ensuite orienter les structures des populations de nématodes.

Parmi les champignons inventoriés, *F. oxysporum* est apparu comme majoritaire (29 à 43%). Là encore, il semble que la nature des sols n'ait pas d'influence particulière sur la nature des champignons isolés des lésions.

L'analyse statistique (tests f_2) des associations par type de sol a montré que, à l'exception de l'association *H. multincinctus*-*F. oxysporum* sur sable, toutes les associations sont aléatoires ($p > 5\%$). Ceci montre donc que, bien que l'association *R. similis*-*F. oxysporum* soit la plus fréquente (12 à 25%) suivie de l'association *H. multincinctus*-*F. oxysporum* (6 à 13%), la présence d'un type de nématode dans une lésion n'entraîne pas forcément celle d'un champignon donné : il n'existe pas d'association privilégiée.

Alors que cette étude concerne les associations possibles, l'analyse du tableau II montre en outre que la majorité des lésions (25 à 48,5%) ne contiennent que des nématodes. Cela indique que, conformément au choix des lésions prélevées et donc au stade récent de leur évolution, les nématodes sont effectivement les premiers parasites qui interviennent dans le processus d'infestation des racines. Cela suggère aussi que les phénomènes physiologiques de nécrose qui sont révélés par la coloration rouge-brun des tissus lésés peuvent être induits par les nématodes seuls.

Inversement, 3 à 8% d'entre elles n'abritent que *F. oxysporum* sans nématode. Alors, plusieurs hypothèses sont possibles :

- les lésions n'ont pas été causées par des nématodes mais par un autre parasite non identifié ou par une contrainte mécanique qui s'est exercée sur la racine.
- les lésions ont été causées par des nématodes mais les conditions écologiques créées localement par la nécrose des tissus n'a pas permis ni le maintien ni le développement d'un foyer.

Impact de l'association *R. similis*-*F. oxysporum*

Les symptômes foliaires et racinaires observés ont été consignés dans le Tableau III.

Ces observations montrent que chaque parasite entraîne des perturbations physiologiques dans les pousses. Mais il est intéressant de constater que *R. similis* affecte à la fois le système foliaire et le système racinaire, ce qui n'est pas le cas de *F. oxysporum* (la coloration du collet provient plutôt d'un contact direct avec le champignon inoculé à la surface du milieu).

Par contre, l'association des deux parasites entraîne dans le même temps une nécrose beaucoup plus précoce et rapide de la plante, prouvant ainsi que les nématodes ont facilité la pénétration du champignon dans les racines. Ces résultats se rapprochent de ceux de BLAKE (1966) qui concluait sur la présence nécessaire de *R. similis* dans les racines afin que *F. oxysporum* devienne pathogène.

Tableau III : Effets de l'association *R. similis*-*F. oxysporum* sur la croissance *in vitro* de pousses de bananiers cv. 'Poyo'

Inoculum	Symptômes racinaires	Symptômes foliaires
Aucun	Racines blanches Racines primaires longues et épaisses Nombreuses racines secondaires	Collet blanc Feuilles vertes
<i>R. similis</i>	Noircissement des racines Ralentissement de la croissance et de l'émission	Jaunissement du collet Brunissement des feuilles externes
<i>F. oxysporum</i>	Idem	Jaunissement du collet Feuilles vertes
<i>R. similis</i> + <i>F. oxysporum</i>	Idem	Nécrose du collet et de l'ensemble des feuilles

CONCLUSION

Nématodes et champignons peuvent être associés dans les lésions superficielles très caractéristiques qui se développent à la surface des racines du bananier mais la présence du champignon est aléatoire par rapport à celle du nématode. Le type de sol n'a pas d'effet sur la nature des associations et il n'apparaît pas de relation spécifique entre les deux parasites.

Quoiqu'il en soit, à un stade peu avancé de leur développement, les lésions contenant ces associations ne sont pas majoritaires. Les plus fréquentes sont celles qui n'abritent que des nématodes. Les symptômes foliaires et racinaires prouvent alors, qu'outre les blessures tissulaires qu'ils occasionnent, les nématodes sont aussi responsables de modifications physiologiques (nécroses) importantes au niveau des tissus qu'ils parasitent.

Bien que ces associations soient fortuites, les dégâts tissulaires qu'elles entraînent sont cumulés, confirmant que les cavités formées dans les racines par les nématodes favorisent la pénétration et l'expansion des champignons dans le système racinaire de la plante.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- NEWHALL A.G., 1958. The incidence of Panama disease of banana in the presence of the root knot and burrowing nematodes (*Meloidogyne* and *Radopholus*). Pl. Dis. Rptr., 42 : 853-856.

- LOOS C.A., 1959. Symptom expression of *Fusarium* wilt disease of the Gros Michel banana in the presence of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne 1949 and *Meloidogyne incognita acrita* Chitwood, 1949. Proc. Helm. Soc. Wash., 26 : 103-111.
- LOOS C.A., LOOS S.B., 1960. The black-head disease of bananas (*Musa acuminata*). Proc. Helm. Soc. Wash., 27 : 189-193.
- BLAKE C.D., 1966. The histological changes in banana roots caused by *Radopholus similis* and *Helicotylenchus multicinctus*. Nematologica, 12 : 129-137.
- BLAKE C.D., 1969. Nematode parasites of banana and their control. Dans : Peachey J.E. (Ed.), Nematodes of tropical crops, Tech. Commun. Commonw. Bur. Helminth., 40 : 109-132.
- SIKORA R.A., SCHLÖSSER E., 1973. Nematodes and fungi associated with root systems of bananas in a state of decline in Lebanon. Pl. Dis. Rptr., 57 : 615-618.
- QUENEHERVE P., 1988. Population of nematodes in soils under banana cv. Poyo in the Ivory Coast. 2. Influence of soil texture, pH and organic matter on nematode populations. Revue Nématol., 11 : 245-251.
- BOOTH C., STOVER R.H., 1974. *Cylindrocarpon musae* sp.nov., commonly associated with burrowing nematode (*Radopholus similis*) lesions on bananas. Transactions of the British Mycological Society, 63 : 503-507.
- STOVER R.H., 1966. Fungi associated with nematode and non-nematode lesions on banana roots. Can. J. Bot., 44 : 1703-1710.
- PINOCHET J.G., STOVER R.H., 1980a. Fungi in lesions caused by burrowing nematodes on bananas and their root and rhizome rotting potential. Trop. Agric., 57 : 227-232.
- PINOCHET J.G., 1979. Nematode-fungus associations in bananas and plantains. J. of Nematol., 11 : 311.
- PINOCHET J.G., STOVER R.H., 1980b. Fungi associated with nematode lesions on plantains in Honduras. Nematropica, 10 : 112-115.
- GOWEN S.R., EDMUNDS J.E., 1973. An evaluation of some simple extraction techniques and the use of hydrogen peroxide for estimating nematode populations in banana roots. Pl. Dis. Rptr., 57 : 678-681.
- MATEILLE T., FONCELLE B. Micropropagation of *Musa* AAA cv. Poyo in the Ivory Coast. Trop. Agric. (Trinidad), (sous presse).
- MATEILLE T. *In vitro* rearing of *Radopholus similis* on *Musa* AAA cv 'Poyo' shoots. Revue Nématol., (sous presse).