

Interactions entre les symbioses bactériennes et fongiques et les nématodes à galles chez *Acacia holosericea*

Robin Duponnois,
Nématologiste

Marc Ducouso,
Microbiologiste

Khadidiatou Senghor,
Nématologiste

Patrice Cadet,
Nématologiste

Amadou Moustapha Bâ,
Microbiologiste

Introduction

Deux types principaux de microorganismes peuvent intervenir dans les processus d'absorption de l'azote et du phosphore par la plante : les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*) et les champignons mycorhiziens (endomycorhiziens et ectomycorhiziens).

Dans le sud du Sahara, où les problèmes de déforestation et de désertification sont particulièrement graves, la recherche d'espèces nouvelles en vue de leur introduction constitue un facteur important dans l'amélioration des reboisements. Dans ce cadre, de nombreuses espèces d'acacias australiens ont été testées. La réussite des introductions est cependant conditionnée d'une part par la présence d'une microflore symbiotique indigène compatible avec l'essence exotique et, d'autre part, par la sensibilité de ces espèces ligneuses aux pathogènes présents dans les zones de reboisement.

Les nématodes phytoparasites, particulièrement ceux du genre *Meloidogyne* (Netscher, 1970), provoquent des dégâts importants sur le plan agronomique. Ces nématodes sont ubiquistes et polyphages (De Guiran et Netscher, 1970). Le genre regroupe une cinquantaine d'espèces observées dans toutes les régions et sous tous les climats (Sasser et Carter, 1985). Il existe 3 espèces majeures dans les zones tropicales et subtropicales : *M. javanica*, *M. incognita* et *M. arenaria* (Prot, 1984).

Si différentes données concernant la présence de *Meloidogyne* sur certains acacias australiens sont disponibles (Duponnois *et al.*, 1997), toutefois, la qualité d'hôte des *Acacia* pour ce nématode est largement ignorée. Une étude visant à classer les acacias australiens en fonction de leur tolérance et de leur sensibilité à *M. javanica* a été réalisée (Duponnois *et al.*, 1997). Leur sensibilité au nématode diffère selon l'espèce : *A. sclerosperma*, *A. hilliana*, *A. holosericea* et *A. mangium* sont sensibles alors qu'*A. trachycarpa*, *A. tumida* et *A. lysiphloia* le sont peu. Leur tolérance est aussi variable : *A. sclerosperma*, *A. hilliana*, *A. mangium*, *A. trachycarpa* et *A. lysiphloia* sont tolérants envers *M. javanica*, alors que le développement d'*A. holosericea* est significativement inhibé, au contraire d'*A. tumida* dont la croissance est stimulée.

A. holosericea apparaissant comme une espèce très vulnérable vis-à-vis du nématode à galles, nous avons choisi cette essence comme modèle biologique pour l'étude de l'impact du nématode sur la symbiose fixatrice d'azote et de l'effet des champignons mycorhiziens sur cette relation pathogénique.

Matériels et méthodes

Effet de M. javanica sur la symbiose fixatrice d'azote avec A. holosericea

Des plants d'*A. holosericea* ont été mis en culture dans des tubes de 300 ml, remplis par du sol stérilisé. Au moment des semis, différentes souches bactériennes ont été inoculées. Après un mois de

culture en serre, la moitié des plants inoculés par une souche bactérienne donnée a été inoculée par *M. javanica* à raison de 1000 juvéniles par plant. Deux mois après, les plants ont été dépotés et la biomasse aérienne ainsi que la teneur en azote des parties aériennes ont été mesurées. Les résultats sont exprimés en % des valeurs obtenues avec les plants non inoculés.

Interaction M. javanica / Endomycorhize/ A. holosericea

Le champignon endomycorhizien utilisé est *Glomus* sp. Il a été multiplié sur du sorgho dans des pots de deux litres remplis de sol autoclavé et placés dans une serre à température ambiante. Au bout de douze semaines, les plants sont arrachés et les systèmes racinaires, soigneusement lavés à l'eau du robinet, sont coupés en fragments de 1 à 2 cm. Des échantillons de racines mycorhizées de 1 gramme (poids frais) sont ensuite inoculés au moment du repiquage des jeunes plantules d'*A. holosericea*. Les témoins sont constitués d'*A. holosericea* mis en culture en présence de fragments racinaires non mycorhizés. Après un mois de croissance, les plants sont inoculés par des juvéniles de *M. javanica* à raison de 3000 J2 par plant. Au bout d'un mois et demi de confrontation, les plants sont arrachés et différents paramètres sont mesurés : le taux de mycorhization par la technique de Kormanik et Mc Graw (1984), le taux de multiplication du nématode et le développement végétatif de la plante.

Interaction M. javanica / Ectomycorhize/ A. holosericea

La première étape a eu pour but de constituer une collection de champignons ectomycorhiziens appartenant au genre *Pisolithus*. Des carpophores ont été collectés au Sénégal et le mycélium a été mis en culture pure. Trente souches ont été ainsi obtenues, dont 24 isolées sous *Eucalyptus camaldulensis*. Les 6 autres provenaient de *Melaleuca leucodendron*, *Melaleuca* sp., *Casuarina equisetifolia*, *Acacia auriculiformis*, *A. holosericea* et *A. mangium*.

Ces souches ont ensuite été testées pour leur aptitude à mycorhizer de jeunes plants d'*A. holosericea* en utilisant la technique "Sandwich" en conditions axéniques (Chilvers *et al.*, 1986). Les exsudats fongiques de 35 souches ont été recueillis par congélation et décongélation successives. Des œufs de *Meloidogyne* ont été désinfectés à l'eau de javel (20 %, 2 mn) et rincés à l'eau distillée sous une hotte à flux laminaire. Une fraction (100 µl) de cette préparation a été immergée dans 100 µl d'exsudat. Après ajout de 2 ml d'eau distillée, l'ensemble a été mis à incuber dans une étuve à 25 °C pendant 24 heures. Chaque traitement comprend 5 répétitions. Les œufs ont été ensuite colorés au Bleu de Meldola (0,10 %) afin de distinguer les œufs morts des œufs vivants. La concentration phénolique de chaque souche a été préalablement déterminée par la technique de Marigo (1973).

■ Résultats et discussion

Effet de M. javanica sur la symbiose fixatrice d'azote avec A. holosericea

L'inoculation des plants par des souches bactériennes n'a pas empêché la pénétration et le développement des juvéniles à l'intérieur des racines. En effet, des galles caractéristiques ont été observées chez tous les plants inoculés par le nématode avec ou sans souche bactérienne. Par contre, les effets stimulants des souches bactériennes (en particulier des isolats de *Bradyrhizobium*) ont été réprimés lorsque *M. javanica* a été inoculé (tabl. 1). Parfois, des nécroses importantes ont été observées, entraînant soit une perte de biomasse soit la mort systématique des plants.

La symbiose mycorhizienne

La symbiose mycorhizienne est un phénomène général chez la plupart des végétaux terrestres (Harley et Harley, 1991). Ce type de symbiose améliore en particulier la nutrition phosphatée et azotée

Isolat	Genre	Hôte	Origine	Inoculation <i>M. javanica</i>			
				Sans		Avec	
				BM	N	BM	N
ORS 117	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>A. albida</i>	Nord Sénégal	62,0	19,0	- 56,7	- 30,8
ORS 166	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>A. albida</i>	Casamance	151,6	64,9	5,5	19,1
ORS 170	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>A. albida</i>	Casamance	142,6	nd	55,2	37,3
ORS 180	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>A. albida</i>	Nord Sénégal	43,8	6,4	- 34,0	- 4,2
ORS 188	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>A. albida</i>	Nord Sénégal	161,6	nd	5,3	10,6
ORS 191	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>A. albida</i>	Nord Sénégal	160,3	43,6	8,3	0,0
ORS 1001	<i>Rhizobium</i>	nd	Nord Sénégal	58,0	3,2	- 46,7	6,3
ORS 1009	<i>Rhizobium</i>	<i>A. laeta</i>	Nord Sénégal	2,7	25,4	- 63,0	- 43,1
ORS 1016	<i>Rhizobium</i>	<i>A. laeta</i>	Nord Sénégal	14,2	1,0	- 64,1	13,8
ORS 1020	<i>Rhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Sud Sénégal	85,1	0,0	- 45,9	- 33,7
ORS 1030	<i>Rhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Dakar	- 15,5	- 19,3	- 71,2	- 50,8
ORS 1035	<i>Rhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Niange Dieri	64,8	- 28,2	- 30,4	- 39,1
ORS 1036	<i>Rhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Niange Dieri	163,1	68,1	3,4	8,5
ORS 1040	<i>Rhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Thiatal Gotal	29,9	- 12,1	- 52,6	- 25,4
ORS 1047	<i>Rhizobium</i>	<i>A. horrida</i>	Dakar	- 5,8	4,9	- 61,8	- 47,5
ORS 1057	<i>Rhizobium</i>	<i>A. mollissima</i>	Dakar	15,5	2,1	- 59,3	- 13,8
ORS 1071	<i>Rhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Djokoul	- 16,2	- 10,4	- 66,6	- 33,1
ORS 1073	<i>Rhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Djokoul	49,7	47,8	- 62,8	4,2

nd : non déterminé

Tableau 1

Effet de *Meloidogyne javanica* sur la symbiose fixatrice d'azote entre *Acacia holosericea* et plusieurs souches de *Rhizobium* et *Bradyrhizobium*. BM : Biomasse aérienne. N : teneur en azote. Ces deux paramètres sont exprimés en % des valeurs des traitements témoins non inoculés avec les bactéries.

(Tinker, 1984). Elle stimule aussi la fixation symbiotique de l'azote (Linderman et Paulitz, 1990). Ces symbiotes fongiques peuvent aussi améliorer la tolérance de la plante à différentes pathologies ou avoir un effet toxique contre le microorganisme pathogène (Rosendahl et Rosendahl, 1990). Des informations très fragmentaires sont disponibles concernant l'état mycorhizien des acacias (Warcup, 1980; Reddell et Warren, 1986; Le Tacon *et al.*, 1989). Celles-ci ne concernent que 4 % des espèces connues. Parmi ces dernières, 68 % sont à MVA (Mycorhize à Vésicules et à Arbuscules), 22 % à ECM (Ectomycorhize) et 10 % possèdent la double symbiose. Les champignons endomycorhiziens ont été par-

ticulièrement étudiés sur *A. holosericea*. Bâ *et al.* (1996) ont inventorié les Glomales associés à cette espèce d'*Acacia* au Burkina Faso. Différentes expériences ont montré que les champignons endomycorhiziens pouvaient stimuler la croissance de la plante hôte mais aussi améliorer la nutrition minérale de la plante en particulier au niveau du phosphore mais aussi au niveau de la fixation symbiotique de l'azote (Guissou, 1994; Cornet et Diem, 1982).

En ce qui concerne les ectomycorhizes, les données de la littérature montrent que de nombreuses espèces d'*Acacia* australiens peuvent contracter une symbiose de type ectomycorhizien (Warcup, 1980; Ducouso, 1990). Mais, contrairement aux champignons endomycorhiziens, l'importance des ectomycorhizes sur la croissance d'*A. holosericea* n'a pas été mise en évidence (Reddell et Warren, 1986).

Interactions *Meloidogyne javanica* / endomycorhize / *A. holosericea*

Nous avons montré que le champignon endomycorhizien *Glomus* sp. stimule la croissance des plants et améliore la tolérance des plants à l'effet pathogène de *M. javanica* ou *M. mayaguensis* (fig.1). De plus, il est apparu que lorsque la mycorhize avait atteint son

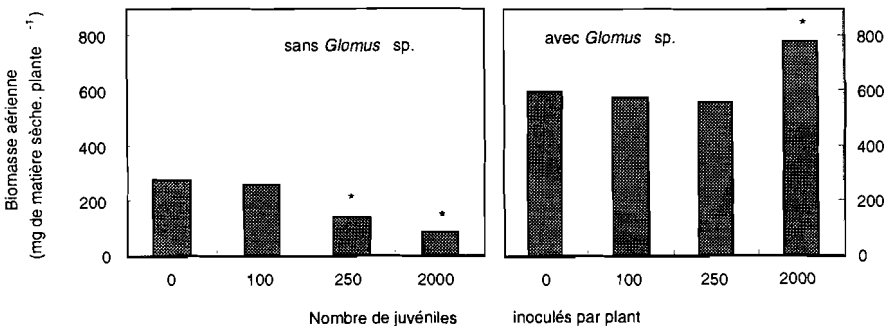


Figure 1
Effet d'un champignon endomycorhizien *Glomus* sp. sur la biomasse aérienne (mg matière sèche) de plant de *A. holosericea* inoculé ou non par *M. mayaguensis*.

* : significativement différent par rapport au témoin d'après l'analyse de variance à un facteur contrôlé ($P < 0,05$).

stade ultime de développement (présence de spores autour des racines), l'infection par le nématode était très réduite (4000 juvéniles issus des racines sans spores contre 90 issus des racines avec spores). En conséquence, lorsque les relations symbiotiques entre la plante et le champignon endomycorhizien se sont bien développées, cet organe a une action antagoniste contre le nématode phytoparasite.

Interactions *Meloidogyne javanica* / ectomycorhize / *A. holosericea*

Lors de l'établissement de ce type de symbiose, un manchon mycélien (le manteau) se forme autour de la racine courte. Cette structure pourrait constituer une barrière contre la pénétration du nématode. Certains champignons ectomycorhiziens (*Pisolithus tinctorius*, *Paxillus involutus*) produisent de grandes quantités de substances phénoliques lorsqu'ils sont cultivés en culture pure (Duponnois et Garbaye, 1990) qui pourraient être toxiques pour ces nématodes. Des études anatomiques et histochimiques ont démontré que les ectomycorhizes provoquent également une accumulation de composés phénoliques dans les cellules corticales (Malajczuk *et al.*, 1984) qui pourraient avoir une incidence sur le développement des nématodes dans les racines. Enfin, il a été montré que les ectomycorhizes provoquent des modifications qualitatives et quantitatives des exsudats racinaires (Rambelli, 1973). Cette faculté serait susceptible de perturber les mécanismes d'attraction du nématode vers la plante.

Pour toutes ces raisons, un programme d'étude a été élaboré pour connaître l'impact de champignons ectomycorhiziens du genre *Pisolithus* (communément observé au Sénégal) contre le nématode *M. javanica*. Trois isolats fongiques se sont avérés compatibles avec *A. holosericea*. D'autre part, il a été montré que deux d'entre eux produisent des substances toxiques pour la capacité des œufs à éclore. Enfin, ces champignons inhibent la pénétration des juvéniles dans les racines (Senghor et Duponnois, 1996). Les travaux actuels visent maintenant à montrer l'effet de ces champignons sur le cycle de développement de *M. javanica*.

Conclusion

Ces travaux montrent que l'introduction d'essences forestières exotiques est à manipuler avec précautions en particulier vis-à-vis de certains pathogènes indigènes. Le choix de l'arbre doit se faire de manière intégrée, en prenant en compte de multiples paramètres, et en ne se limitant pas aux qualités intrinsèques de l'essence forestière choisie. En foresterie tropicale, les arbres du genre *Acacia* ont été plus particulièrement étudiés car ils montrent une résistance à la sécheresse et aussi, grâce à la symbiose fixatrice d'azote, ils peuvent se développer dans des sols carencés en azote. Toutefois, comme les nématodes du genre *Meloidogyne* inhibent de façon spectaculaire cette symbiose, il ne suffit pas de disposer d'un couple arbre-bactérie fixatrice d'azote performant, mais aussi d'une espèce ligneuse résistante à ce nématode. Dans le cas contraire, il sera nécessaire de doter l'arbre de microorganismes antagonistes de ces nématodes préalablement sélectionnés, comme les champignons mycorhiziens.

Bibliographie

- BA (A. M.), DALPE (Y.), GUISSOU (T.), 1996 - Les glomales d'*Acacia holosericea* et d'*Acacia mangium*. *Bois et Forêts des Tropiques*, 250 : 5-18.
- CHILVERS (G. A.), DOUGLAS (P. A.), LAPEYRIE (F.), 1986 - A paper-sandwich technique for rapid synthesis of ectomycorrhizas. *New Phytol.*, 103 : 397- 402.
- CORNET (F.), DIEM (H. G.), 1982 - Etude comparative de l'efficacité des souches de *Rhizobium* d'*Acacia* isolées de sols du Sénégal et effet de la double symbiose *Rhizobium* / *Glomus mossae* sur la croissance d'*Acacia holosericea* et *A. raddiana*. *Bois et Forêts des Tropiques*, 198 : 3-15.
- DE GUIRAN (G.), NETSCHER (C.), 1970 - Les nématodes parasites des cultures maraîchères du Sénégal. *Cahiers ORSTOM, Série biologique*, 11 : 151-158.
- DUCOUSSO (M.), 1990 - *Importance des symbioses racinaires pour l'utilisation des acacias en Afrique de l'Ouest*. Thèse de Doctorat, Université de Lyon 1, 260 p.
- DUPONNOIS (R.), CADET (P.), SENGHOR (K.), SOUGOUFARA (B.), 1997 - Etude de la sensibilité de plusieurs acacias australiens au nématode à galles *Meloidogyne javanica*. *Ann. Sci. For.*, 54 : 179-188.
- DUPONNOIS (R.), GARBAYE (J.), 1990 - Some mechanisms involved in growth

- stimulation of ectomycorrhizal fungi by bacteria. *Can. J. Bot.*, 68 : 2148-2152.
- GUISSOU (T.), 1994 - *Amélioration de la fixation d'azote chez deux acacias australiens : Acacia holosericea et Acacia mangium. Mise en évidence d'une diversité de Glomales dans des sols du Burkina Faso.* Mémoire de fin d'étude d'ingénieur des eaux et forêts, IDR Université de Ouagadougou, 49 p.
- HARLEY (J. L.), HARLEY (E. L.), 1991 - A check list of mycorrhiza in the british flora. *New Phytol. supplement to vol.*, 105 (2).
- KORMANICK (P. P.),
MC GRAW (A. C.), 1982 - "Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots." *In Methods and principles of mycorrhizal research*, (N. C.) Schenck éd., The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota : 37-45.
- LE TACON (F.), GARBAYE (J.),
BA (A. M.), BEDDIAR (A. F.),
DIAGNE (O.), DIEM (H. G.), 1989 - "L'importance des symbioses racinaires pour les arbres forestiers en zone tropicale sèche et en zone tropicale humide." *In Trees for development in Sub-Saharan Africa.* ICRAF HQ, Nairobi, Kenya : 302-318.
- LINDERMAN (R. G.),
PAULITZ (T. C.), 1990 - "Mycorrhizal-rhizobacterial interactions." *In biological control of soil borne plant pathogens.* (D.) Hornby éd. Wallington, CAB International : 261-283.
- MALAJCZUK (N.), MOLINA (R.),
TRAPPE (J. M.), 1984 - Ectomycorrhiza formation in Eucalyptus. II. The ultrastructure of compatible and incompatible mycorrhizal fungi and associated roots. *New Phytol.*, 96 : 43-53.
- MARIGO (G.), 1973 - Sur une méthode de fractionnement et d'estimation des composés phénoliques chez les végétaux. *Analysis*, 2 : 106-110.
- NETSCHER (C.), 1970 - Les nématodes parasites des cultures maraîchères du Sénégal. *Cahiers ORSTOM, Série biologique*, 11 : 209-229.
- PROT (J. C.), 1984 - *Les nématodes phytoparasites des cultures maraîchères.* Dakar, USAID éd. 28 p.
- RAMBELLI (A.), 1973 - "The rhizosphere of mycorrhizae." *In Ectomycorrhizae, their ecology and physiology.* (G. C.) Marks, (T. T.) Kozlowski éd. Academic press, New York : 239-349.
- REDELLE (P.), WARREN (R.), 1986 - "Inoculation of acacias with mycorrhizal fungi : potential benefits." *In Australian Acacia in Developing countries.* (J. W.) Turnbull éd. ACIAR Proceeding 16 : 50-53.
- ROSENDAHL (C. N.),
ROSENDAHL (S.), 1990 - The role of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in controlling damping-off and growth reduction in cucumber caused by *Pythium ultimum*. *Symbiosis*, 9 : 363-366.
- SASSER (J. N.), CARTER (C. C.), 1985 - "Overview of the international Meloidogyne project 1975-1984." *In An advanced treatise on Meloidogyne*, Vol. 1. Biology and Control. (K. R.) Barker, (C. C.) Carter, (J. N.) Sasser éd. IMP, North Carolina State University Graphics, USA, 19-24.
- SENGHOR (K.), DUPONNOIS (R.), 1996 - "Multiplication of plant-parasitic nematodes on sahelian forest trees and antagonistic effects of ectomycorrhizae." *In Third International Nematology Congress*, Pointe à Pitre, Guadeloupe, 7-12 juillet 1996.

TINKER (P. B.), 1984 -
The role of microorganisms in
mediating and facilitating the uptake
of plant nutrients from soil. *Plant Soil*,
76 : 77-91.

WARCUP (J. H.), 1980 -
Ectomycorrhizal
association of australian
indigenous plants. *New Phytol.*,
85 : 531-535.