

# ETUDE DE L'EFFET DES BACTÉRIES RHIZOSPHÉRIQUES SUR L'ATTACHEMENT DE *PASTEURIA PENETRANS* SUR *MELOIDOGYNE* SPP.

Robin DUPONNOIS\*, Lucie Awa THIONE\*\*, Mckinto BATCHIO\*\*\* & Thierry MATEILLE\*

\* Nématologie ORSTOM Dakar

\*\* UCAD Biologie Végétale/Nématologie ORSTOM Dakar

\*\*\* UCAD Biologie Végétale

## I. Introduction

L'actinomycète *Pasteuria penetrans* est un parasite obligatoire de nombreux nématodes phytoparasites dont *Meloidogyne*, pathogène majeur des zones maraîchères au Sénégal. De nombreux travaux ont montré que ce microorganisme pouvait être utilisé comme agent de lutte biologique contre ces nématodes. Cependant ces études ont été généralement réalisées dans des conditions contrôlées et les effets des paramètres environnementaux sur la relation *P. penetrans* / *Meloidogyne* spp. sont mal connus. En effet, les travaux réalisés dans ce domaine ne concernent que l'humidité du sol et la température du sol.

Une enquête sur la répartition de *P. penetrans* a été réalisée au Sénégal par l'équipe du laboratoire ORSTOM de nématologie. Les résultats ont montré que la présence de l'actinomycète était fonction de la composition du sol. Dans cette étude, une zone située à l'ENSA de Thiès a retenu notre attention pour les raisons suivantes : (i) *P. penetrans* y a été trouvé en abondance, mais réparti de façon très hétérogène, (ii) les caractéristiques physico-chimiques du sol peuvent être considérées comme identiques, (iii) *M. javanica* est présent majoritairement sur toute la zone et (iiii) dans les endroits où *P. penetrans* a été trouvé en abondance, la microflore bactérienne tellurique est très importante.

Le but de ce travail est d'étudier l'influence de cette microflore bactérienne sur l'attachement des spores de *P. penetrans* sur des espèces de *Meloidogyne* compatibles avec l'actinomycète : *M. chitwoodii*, *M. graminicola* et *M. javanica*.

## II. Matériels & méthodes

### II.1. MICROFLORIE TELLURIQUE

Des échantillons de sol ont été collectés dans les endroits contenant *P. penetrans* (Sol + P.p.) et dans les endroits ne contenant pas P.p. (Sol - P.p.). Ces sols ont été stérilisés ou non à la vapeur (140°C, 40 mn). Puis à partir de ces sols stérilisés ou non, des filtrats de sol ont été réalisés. Afin de mettre en évidence l'effet de la microflore tellurique, des volumes croissants de filtrats de sol ont été ajoutés au volume total de confrontation :

- 1 ml d'eau distillée stérile contenant 60 juvéniles de *M. javanica*,
- 250 ml d'une suspension de spores de *P. penetrans* contenant 2500 spores,
- volumes de filtrats : 0 - 0,1 - 0,25 - 0,5 - 0,75 - 1,0 - 1,5 - 1,75 et 2 ml,
- eau distillée : qsp 3 ml

Pour chaque combinaison, il y a 5 répétitions. Le comptage du nombre de spores par juvénile a été effectué après 24 h de confrontation. Toutes les données ont été traitées par le test "U" de Mann Whitney ( $P < 0,05$ ).

### II.2. MICROFLORIE RHIZOSPHERIQUE

Des plants de tomate ont été plantés dans des pots de 1 litre remplis par du sol + P.p.. Après 7 semaines de culture en serre, les plants ont été dépotés et les systèmes racinaires soigneusement lavés. Ils ont été ensuite broyés et filtrés (45  $\mu$ m) afin d'éliminer les éléments grossiers. Le broyat racinaire a été réparti dans des tubes Corning, à raison de 50 ml par tube, et centrifugé (3000 g, 20 mn). Le surnageant a été éliminé. Pour la moitié des tubes, le culot a été repris dans de l'alcool à 97° et mis à incuber pendant 24 h à température ambiante. L'alcool a été utilisé pour éliminer la microflore bactérienne, mais pas les spores de *P. penetrans*. Après une nouvelle centrifugation (3000 g, 20 mn), les culots ont été repris avec du tampon phosphate stérile. Chaque semaine pendant 3 semaines, des tests d'attachement ont été réalisés avec *M.*

*graminicola* et les 2 types de suspensions contenant *P. penetrans* avec ou sans la microflore bactérienne (50 juvéniles pour 50 000 spores de *P. penetrans*). Le nombre de spores par juvéniles a été déterminé pour chaque traitement (5 répétitions par traitement).

### II.3. EFFET DES SOUCHES BACTÉRIENNES

Par la technique de suspension/dilution, environ 300 souches bactériennes ont été isolées à partir du broyat racinaire et mises en culture. Ces bactéries ont été multipliées dans des tubes sur milieu TSB liquide (Tryptic Soy Broth) à 0,3 %. Après 3 jours de culture, environ 50 000 spores de *P. penetrans* désinfectées à l'alcool 97° ont été injectées dans chaque tube. Cinq jours après, les tests d'attachement ont été réalisés avec *M. chitwoodii* et chaque mélange (bactéries/*P. penetrans*). Le nombre de spores par juvéniles et le pourcentage de juvéniles parasités ont été déterminés pour chaque traitement (5 répétitions par traitement).

### III. Résultats & Discussion

Seul le filtrat de sol + P.p. non désinfecté a un effet positif sur l'attachement des spores de *P. penetrans* sur *M. javanica* (Fig.1). Cet effet a été enregistré avec plusieurs volumes de filtrat : 0,1, 0,25 et 0,5 ml. Dans les 3 autres cas, aucune différence n'a été observée. La désinfection du sol éliminant principalement la microflore, nous pouvons déduire de ces résultats que la microflore tellurique intervient dans le processus d'attachement des spores de *P. penetrans* sur *M. javanica*.

La désinfection des spores à l'alcool 97° n'altère pas l'attachement des spores sur la cuticule du nématode (Fig.2). En revanche, lorsque les spores sont en contact avec la microflore bactérienne pendant au moins une semaine, l'attachement est beaucoup plus important. Il existe donc une microflore qui stimule l'attachement des spores de *P. penetrans* sur les nématodes. Nous avons nommé cette microflore : Microflore Auxiliaire de *P. penetrans* (MAP). Certaines bactéries augmentent le pourcentage de juvéniles infectés et d'autres augmentent le nombre de spores par juvéniles (Fig.3). Il existe des souches bactériennes qui agissent positivement sur la relation antagoniste entre *P. penetrans* et *M. chitwoodii*. Nous avons nommé ces bactéries : bactéries auxiliaires de *P. penetrans* (BAP).

### IV. Conclusion & Perspectives

Dans cette étude, il a été montré que la microflore du sol et de la rhizosphère agissaient de manière active sur la relation antagoniste entre *P. penetrans* et *Meloidogyne* spp.. Certaines souches bactériennes rhizosphériques stimulent aussi ce processus. Les différentes voies d'étude qui seront explorées sont les suivantes : (i) identification des BAP par des techniques de biologie moléculaire (PCR/RFLP); (ii) effet sur le développement de *P. penetrans*; (iii) étude du mode d'action des BAP (productions enzymatiques, production de métabolites interférant avec le processus de reconnaissance) et (iv) effet des BAP sur le développement de *Meloidogyne* spp..

Figure 1 : Effet de filtrats de sols autoclavés ou non sur l'attachement de *P. penetrans* sur *M. javanica*.

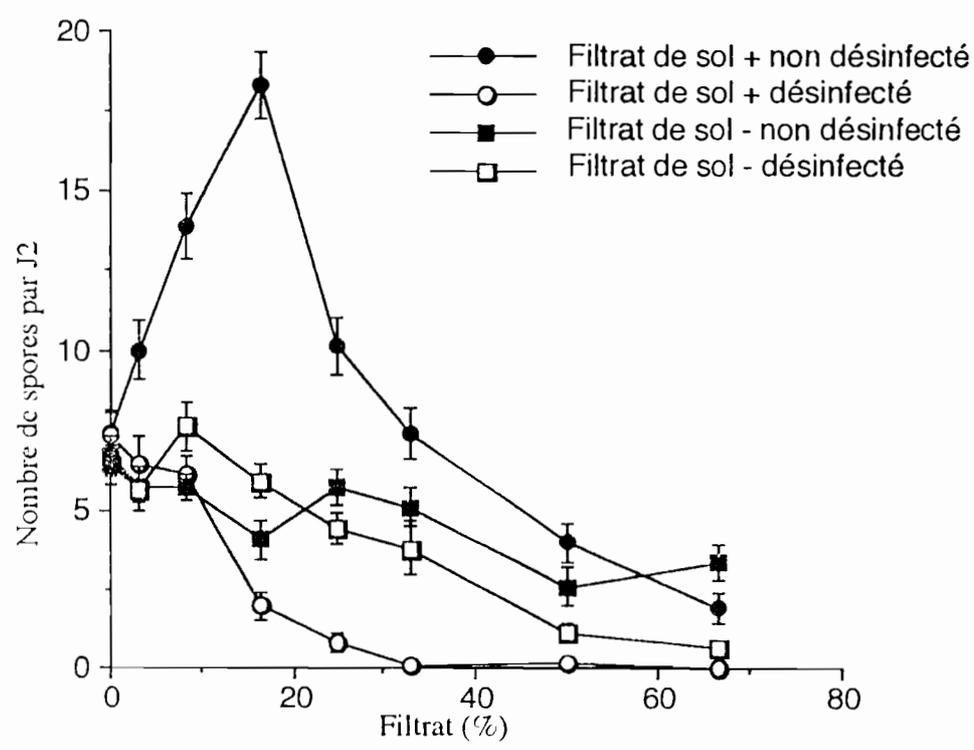


Figure 2 : Effet de la microflore rhizosphérique sur le nombre de spores de *P. penetrans* par juvéniles de *M. graminicola*

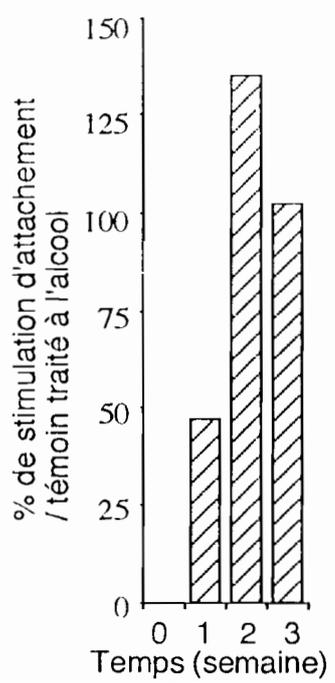
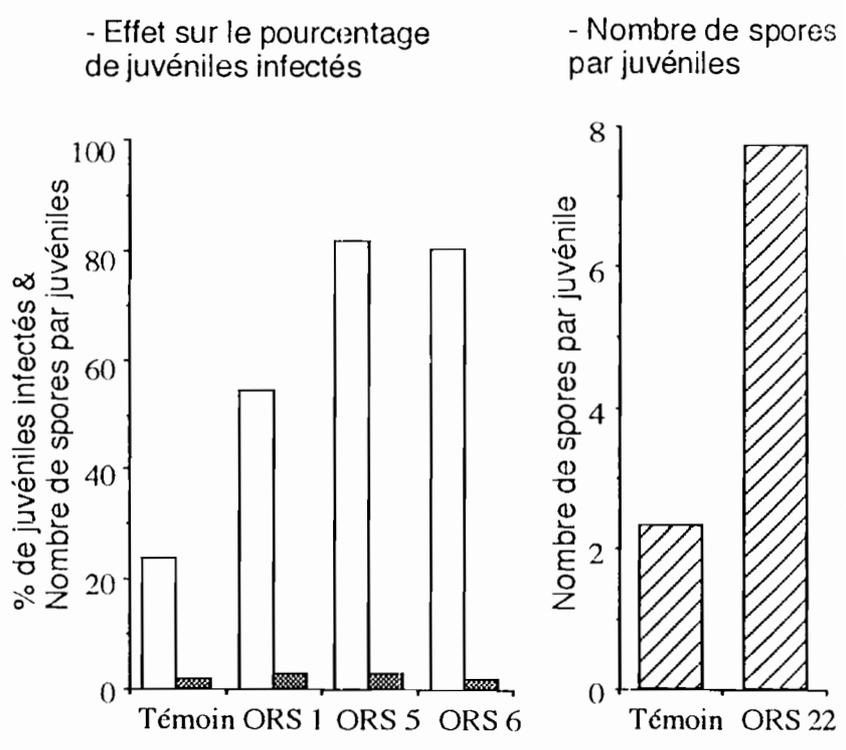


Figure 3 : Mise en évidence de l'effet des bactéries auxiliaires de *P. penetrans*



Duponnois Robin, Thione L.A., Batcho M.,  
Mateille Thierry. (1995).

Etude de l'effet des bactéries rhizosphériques  
sur l'attachement de *Pasteuria penetrans* sur  
*Meloidogyne* spp.

In : Cadet Patrice (ed.). Compte Rendu de  
l'atelier du GIS LINNE.

Dakar : ORSTOM, 3 p. multigr.

Atelier du GIS LINNE, Thies (SEN), 1995/05/04.