

Contribution à la connaissance de la spermo flore fongique parasite de l'arachide dans le bassin du Mayo-Kebbi au Tchad

Souapibé Pabamé SOUGNABE*, Jacob FOKO**

*ITRAD, BP 5400, N'Djamena, Tchad

**FASA, BP 409, Université de Dschang, Cameroun

Résumé — Suite à l'observation au champ de maladies de l'arachide attribuables à des champignons transmissibles par les graines, nous avons étudié la mycoflore de 5 échantillons de semences fraîches d'arachide et ensuite suivi leur évolution jusqu'au moment du semis. Dix neuf espèces fongiques ont été identifiées sur ces semences. Six d'entre elles sont présentes au champ et persistent longtemps sur les semences sèches, jusqu'au moment des semis : *Botryodiplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* sp., *Sclerotium rolfsii*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus parasiticus*. La plupart des espèces sont localisées au niveau du tégument. Mais *Fusarium* sp., *Fusarium equisetum* et *Rhizopus nigricans* sont observées dans tous les tissus séminaux. L'évolution de la flore fongique de la récolte au semis montre que certaines espèces présentes sur les semences fraîches persistent pendant le stockage, tandis que d'autres disparaissent et que d'autres font leur apparition. Des tests en laboratoire ont montré l'influence négative de certains champignons sur la germination. D'où l'importance de l'emploi de semences saines pour les producteurs.

Abstract — **Knowledge contribution to groundnut (*Arachis hypogaea* L.) spermo flora parasitic fungus in the Mayo-Kebbi Basin of Chad.** Field observations on fungal diseases of groundnuts suggested the presence of seed borne pathogens. Therefore 5 samples from seed lots of fresh groundnuts produced in Chad were submitted to seed health testing. The qualitative composition of seminal fungi and their evolution was studied until seedling. Nineteen fungal species were identified on fresh seeds. Six are present in the field and persist on the dried seeds for a long time: *Botryodiplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* sp., *Sclerotium rolfsii*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*. Most of the fungal species were located in the tegument, but *Fusarium equiseti*, *Fusarium dimerum* and *Rhizopus nigricans* were observed in all seed tissues. Evolution of seminal fungi varies from harvest to seedling. Most of them remain in the seed during storage, while others disappear and new species appear. Laboratory tests showed the pathogenicity of some fungi toward seedlings. The results underline the important role of healthy seeds for farmers.

Introduction

Nous avons observé des attaques sérieuses au champ avec des manques de levée, des nécroses racinaires suivies de flétrissements des plantes et de pertes de plantes, pendant toute la durée du cycle de la culture de l'arachide. Compte tenu de ces dégâts et du rôle bien connu des semences dans la diffusion de plusieurs champignons pathogènes (Neergaard, 1979 ; Richardson, 1983 ; Agarwal et Sinclair, 1987 ; Foko, 1987), nous avons jugé utile d'étudier la mycoflore de 5 échantillons de semences d'arachide produites au Tchad.

Beaucoup de risques sont liés à l'utilisation des semences contaminées qui peuvent entraîner des pertes partielles, sinon totales, de la récolte. McDonald et Misari (1974) rapportent que le Zaïre a connu 50 à 60 % de pertes de rendement pour l'arachide du fait de parasites fongiques transmis par les semences.

Les résultats des analyses sur les semences et des observations sur les plantes, sont une première contribution à la connaissance de la pathologie des semences et devraient contribuer à la production de semences de bonne qualité sanitaire. L'objet de la présente étude est d'analyser la composition et l'évolution de la flore fongique séminale de l'arachide de la récolte au semis, d'étudier sa localisation dans la semence et enfin l'épidémiologie sur les plantules.

Matériel et méthodes

Observation sur les plantes d'arachide

Des plantes d'arachide montrant les symptômes de maladies fongiques ont été collectées et conservées au froid à la glacière et des isollements ont été réalisés sur gélose pomme de terre dextrose agar (PDA). Les isolats, incubés dans les conditions de laboratoire à la lumière du jour, ont été identifiés.

Analyse de la spermo flore

Les essais ont porté sur des lots de semences produites à Bongor, Gounou-Gaya, Fianga, Pala et Léré (tableau I). Les différents lots ont été collectés à l'état frais. Une partie a été analysée immédiatement pour la détermination des espèces fongiques et une autre partie a été séchée (10 % d'humidité) et conservée avec coques à $23 \pm 2^\circ\text{C}$ pour des études ultérieures.

Tableau I. Description des lots de semences analysés.

Variété	Origine	Lieu de collecte
Rose de Deli	Bongor	Marché local
Garoua	Fianga	Marché local
55 – 437	Léré	Ferme agricole
Locale	Pala	Agriculteur
Rose de Deli	Gounou – Gaya	Agriculteur

Un échantillon de 100 graines (non désinfectées) est semé dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre contenant une double couche de rondelles de papier buvard imbibées de 4 ml d'eau distillée stérile. Les graines sont placées à une distance d'environ 2 cm les unes des autres à raison de 10 par boîte. Ces boîtes sont par la suite incubées 6 jours durant, à une température de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ et à une alternance de 12 h de lumière et de 12 h d'obscurité.

Un autre lot de 100 graines est trempé dans une solution aqueuse d'hypochlorite de sodium à 1 % pendant 10 minutes. Les graines subissent par la suite 3 rinçages successifs à l'eau stérile pendant 5, 10 et 15 mn, puis sont trempées instantanément dans l'alcool à 95° et ressuyées entre des papiers filtres stériles. Les graines sont déposées aseptiquement dans des boîtes de Pétri.

Après 7 jours, on procède à l'identification et au dénombrement des colonies fongiques par observation à l'œil nu, au stéréo-microscope et au microscope composé. Dans certains cas, on a isolé les champignons sur PDA pour les soumettre à des observations ultérieures.

Etude de la pathogénicité des espèces isolées

Les graines d'arachide ont été mises à germer dans des bacs renfermant un sol ferrallitique ou de la vermiculite stérilisés. Les graines désinfectées et inoculées sont semées à 3 cm les unes des autres entre 2 et 3 cm de profondeur pour la terre et 5 cm pour la vermiculite. Les bacs sont arrosés avec de l'eau stérile. Les observations débutent au 5^e jour et sont effectuées tous les 2 jours pendant 20 jours. Les bacs

sont placés à la lumière du jour, sur le plancher, à une température de $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Cinq jours après le semis, on observe les plantules pour relever les symptômes et isoler les champignons présents sur les lésions. Les bacs sont disposés selon un dispositif complètement randomisé. Les effets des différentes espèces fongiques et du substrat sur la germination ont été comparés par le test de Duncan ($P = 0,05$).

Résultats

Observations sur plantes d'arachide

Les observations faites sur le matériel provenant du champ et sur les isolats ont permis d'identifier *Cercospora personata* sur les feuilles et sur la partie supérieure des tiges, *Fusarium solani* sur la partie basale de la tige, *Fusarium moniliforme* et *F. equiseti* sur les racines.

Analyse de la spermo flore

Les résultats des analyses sont présentés dans le tableau II. Dix neuf espèces fongiques ont été identifiées sur les semences d'arachide. Plusieurs espèces sont connues pour leur activité parasitaire sur les semences de l'arachide. Des espèces de champignons capables de produire des mycotoxines et d'autres qui sont considérées comme saprophytes ou faiblement pathogènes, mais qui pourraient aussi contribuer à la perte de viabilité des semences, sont également présentes.

Tableau II. Principales espèces fongiques recensées sur les divers lots de semences d'arachide analysés.

Espèces fongiques	Localité				
	Bongor	Fianga	G.Gaya	Pala	Léré
<i>Aspergillus flavus</i>	+	-	-	+	-
<i>Aspergillus niger</i>	+	-	-	+	+
<i>Aspergillus parasiticus</i>	-	-	+	+	-
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	+	+	+	+	+
<i>Cladosporium</i> sp.	-	-	-	-	+
<i>Fusarium dimerum</i>	-	-	-	-	+
<i>Fusarium equiseti</i>	-	-	+	+	+
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-	+	-	-
<i>Fusarium solani</i>	-	-	+	-	-
<i>Fusarium</i> sp.	+	+	+	+	+
<i>Macrophomina phaseolina</i>	+	+	+	+	+
<i>Penicillium</i> sp.	-	-	+	-	-
<i>Scytalidium</i> sp.	-	-	-	+	-
<i>Trichoderma</i> sp.	+	-	-	+	+
<i>Sclerotium rolfsii</i>	-	-	+	+	-
<i>Rhizopus arrhizus</i>	-	-	-	-	+
<i>Rhizopus nigricans</i>	+	+	+	+	+
<i>Rhizopus</i> sp.	+	-	+	-	-
<i>Mucor</i> sp.	+	+	+	+	+

+ : Présence de l'espèce ; - : Absence de l'espèce.

Evolution de la flore fongique séminale de la récolte au semis

Une analyse a porté sur un lot de semences fraîches dans la localité de Pala, peu de jours après leur récolte. La même étude a été reprise 8 mois plus tard sur les mêmes semences. Les résultats obtenus lors de ces différentes analyses sont consignés dans le tableau III.

Tableau III. Evolution de la flore fongique séminale de la récolte au semis.

Espèces fongiques présentes dans les semences	Fraîche (1)	Sèche (2)
<i>Aspergillus flavus</i>	-	+
<i>Aspergillus niger</i>	-	+
<i>Aspergillus parasiticus</i>	-	+
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	+	+
<i>Fusarium equiseti</i>	+	-
<i>Fusarium sp.</i>	+	-
<i>Macrophomina phaseolina</i>	+	+
<i>Rhizopus nigricans</i>	-	+
<i>Sclerotium rolfsii</i>	+	+
<i>Scytalidium sp.</i>	-	+
<i>Trichoderma sp.</i>	-	+

(1) : Humidité relative 35-50 % ; (2) : humidité relative 10-12 % ; + : absence ; - : présence.

Certaines espèces comme *Botryodiplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotium rolfsii*, se signalent à la fois sur les semences fraîches et sur les semences sèches après une longue durée de conservation. Les espèces comme *Fusarium sp.* et *Fusarium equiseti* ont disparu pendant le stockage. Des espèces nouvelles, absentes initialement, semblent avoir fait leur apparition. Il s'agit d'*Aspergillus niger*, *A. parasiticus*, *Rhizopus nigricans*, *Scytalidium sp.* et *Trichoderma sp.*. Ces espèces sont aptes à s'installer sur les semences au champ et poursuivent leur développement au cours du stockage, mais peuvent aussi s'installer seulement pendant le stockage des semences.

Localisation des espèces fongiques séminales

Le constituant de la graine le plus riche en espèces fongiques est le tégument, qui contient toutes les espèces fongiques recensées, à l'exception de *Trichoderma sp.* (tableau IV). Certaines espèces s'installent plus profondément dans la graine.

Tableau IV. Répartition des espèces fongiques dans les tissus séminaux.

Espèces fongiques	Tégument	Cotylédons	Embryon
<i>Aspergillus flavus</i>	+ (1)	+	-
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	-
<i>Aspergillus sp.</i>	+	+	-
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	+	-	-
<i>Fusarium equiseti</i>	+	+	+
<i>Fusarium sp.</i>	+	+	+
<i>Macrophomina phaseolina</i>	+	+	-
<i>Rhizopus nigricans</i>	+	+	+
<i>Sclerotium rolfsii</i>	+	-	-
<i>Scytalidium sp.</i>	+	-	-
<i>Trichoderma sp.</i>	- (2)	+	-

+ : Présence de l'espèce ; - : Absence de l'espèce.

Étude de la pathogénicité des espèces isolées

Les espèces fongiques ont été utilisées en culture pure pour tester leur influence sur la germination en fonction du substrat (tableau V). D'une manière générale, les taux de germination sont plus élevés sur l'argile que sur la vermiculite. Les deux substrats diffèrent significativement ($P \leq 0,05$), quelle que soit l'espèce fongique utilisée. Les semences inoculées avec les espèces fongiques exercent des effets sur les taux de germination, qui varient de 3 à 98 %. Les espèces fongiques diffèrent significativement ($P \leq 0,05$) quel que soit le substrat.

Tableau V. Influence des espèces fongiques et du substrat sur la germination (%) des gaines d'arachide.

Espèces fongiques	Terre	Vermiculite	Moyenne (1)
<i>Aspergillus flavus</i>	92	86	89 c
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	100	94	97abc
<i>Fusarium dimerum</i>	96	90	93 bc
<i>Fusarium equiseti</i>	14	4	9 f
<i>Fusarium solani</i>	98	94	96 abc
<i>Fusarium sp.</i>	100	96	98 ab
<i>Macrophomina phaseolina</i>	96	92	94 bc
<i>Rhizopus nigricans</i>	4	2	3 g
<i>Sclerotium rolfsii</i>	74	52	63 d
<i>Scytalidium sp.</i>	56	46	51 e
<i>Trichoderma sp.</i>	96	92	94 bc
Temoin	100	100	100 a
Moyenne (2)	77,17 a	70,67 b	

Les moyennes suivies d'une même lettre sur la colonne (1) ou sur la ligne (2) ne diffèrent pas significativement selon le test de Duncan ($P \leq 0,05$).

Les observations faites sur les manifestations parasitaires présentées par les jeunes plantes issues de la germination des graines inoculées montrent que les champignons testés produisent des lésions sur les tiges, mais aussi dans la région du collet et les racines, se présentant d'abord par un brunissement suivi de pourriture. Les isollements réalisés à partir des organes endommagés ont mis en évidence *Macrophomina phaseolina* sur des lésions petites, rondes, brunes à noires, *Trichoderma sp.* sur des jeunes feuilles desséchées et *Fusarium dimerum* sur des lésions et des décolorations foliaires.

Discussion et conclusion

Les semences jouent un rôle très important dans la diffusion des épiphyties, particulièrement dans les conditions climatiques du Tchad où les semences infectées ou contaminées peuvent très bien assurer la présence de foyers d'infections primaires au champ. Les résultats obtenus indiquent une situation sanitaire assez critique malgré un nombre limité d'échantillons examinés. On a pu détecter plusieurs micro-organismes nuisibles. *Botryodiplodia theobromae*, observé sur les semences d'arachide, compte plus de 500 hôtes à cause de sa polyphagie (Ndzoumba *et al.*, 1990).

L'importance épidémiologique des semences est grande dans un pays où les conditions climatiques sont très favorables à plusieurs champignons pathogènes. Le contrôle de l'état sanitaire des semences à l'importation et l'adoption de mesures à appliquer pendant tout le cycle de multiplication des semences nationales pourraient contribuer à la santé des cultures. Le choix des semences de base, des lieux et des dates de semis des cultures porte-graine, les traitements des semences produites, à établir si possible sur la base de résultats d'analyses phytosanitaires appropriées, sont les outils dont disposent les autorités et les producteurs pour mener à bien cette tâche. Outre les autres contrôles concernant la qualité des semences, des analyses sanitaires de routine sont à envisager.

Remerciements

Les auteurs expriment toute leur reconnaissance à l'UNHCR sans laquelle cette étude n'aurait été possible. Nos remerciements vont également à M. Pangwi Salomon pour son aide précieuse lors des manipulations au laboratoire.

Bibliographie

AGARWAL V.K., SINCLAIR J.B., 1987. Principles of seed pathology (2 vol.) CRC Press, Boca Raton, Floride, Etats-Unis, p. 168-212.

FOKO J., 1987. La mycoflore des plantes vivrières au Cameroun et en particulier contribution à l'étude de leur spermoflore. Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences naturelles. Université de Yaoundé, 234 p.

MC DONALD D., MISARI S.M., 1974. Diseases and pests of groundnuts and their importance in crop exchange, Inter African symposium on the role of plant protection in crop improvement in Africa, Ibadan, Nigeria 7-12 October, (Mimeographed), 7 p.

NDZOUMBA B., CONCA G., PORTA-PUGLIA A., 1990. Observations sur la mycoflore de semences produites au Gabon. FAO, 38 4 : 203-212.

NEERGAARD P., 1970. Seed pathology (2 vol.) Mac Millan Press, Londres et Basingstone, 1191 p.

RICHARDSON M.J., 1981. An annotated list of seed borne diseases (supplement 1). ISTA, Zurich, 78 p.