

# **Lutte biologique contre les nématodes à galles**

## **Evaluation du développement et de la survie**

### **d'*Arthrobotrys conoïdes* en sol maraîcher.**

---

Alain ARRUFAT, Marie SINGER  
Elisabeth PANCHAUD-MIRABEL

---

CIVAM BIO PO

#### **I - Enjeu**

Les nématodes à galles (*Meloidogyne spp.*), sont un problème très important pour les cultures sous abri en région méditerranéenne. Actuellement les méthodes de lutte contre ces pathogènes telluriques sont peu efficaces ou difficiles à mettre en œuvre et très consommatrices d'énergie comme la désinfection vapeur, seule technique utilisable en AB. En agriculture conventionnelle la gamme des fumigants utilisables se réduit sous la pression des mesures environnementales.

Une lutte biologique efficace contre les nématodes à galle serait une avancée notoire dans la protection des cultures.

#### **II - But de l'essai**

Vérifier l'implantation et le développement d'*Arthrobotrys conoïdes* dans différents types de sol. Ce champignon est apporté dans l'essai sous la forme d'un produit formulé en granulés de 2 mm de couleur brune.

#### **III - Matériel et Méthodes**

##### **A) Essai en pots :**

L'essai est réalisé dans un tunnel expérimental du Civambio66 (400 m<sup>2</sup>), sur le site de Théza (66).

Les pots sont enterrés pour que le sol soit dans des conditions de température d'une culture.

Mise en place le 24 avril 06.

Apport de 0,14 gr de produit formulé par pot (correspondant à la dose de 20 kg /ha)

4 sols testés :

Site expérimental du Civam bio, Théza 66 (Tunnel 4)

Exploitation Mr Mignot à Thuir 66 (Tunnel 2)

Exploitation de Mr Menoury à Mauguio 34 (Tunnel 20)

Exploitation de Mr Falip à Toulouges 66 (Tunnel 1/3)

Afin d'éviter le compactage du sol, un apport de terreau à raison de 10% du volume est réalisé. Une modalité supplémentaire sans apport de terreau est également mise en place avec le sol du site expérimental du Civam.

Chaque modalité est composée de 3 pots de 12 l.  
Plantation un pied de tomate par pot.  
Irrigation manuelle puis par goutte à goutte (un capillaire par pot).  
Prise d'échantillon sur les 3 pots de chaque modalité

### **B) Essai en sol :**

Epandage du produit formulé à la dose de 20 kg/ha sur 100m<sup>2</sup> de sol sur deux sites.

⇒ Tunnel (T4) du site expérimental de Théza :

Epandage du produit après travail du sol à la roto bêche, enfouissement au rotavator sur 10 – 15 cm le 12 avril 06, plantation d'une culture d'aubergine le 13 avril 06 sur 4 planches paillées irrigation par 2 lignes de goutte à goutte sous le paillage plus aspersion à partir du 20 juin. Le produit est épandu sur 100m<sup>2</sup> au sud de l'arceau central.

La récolte a eu lieu du 2 juin au 16 octobre, arrachage le 17 octobre.

Le 18 octobre, aucune galle n'est repérée sur les racines des plants d'aubergine greffée sur KNVF, l'observation a été réalisée sur tous les plants du tunnel.

⇒ Tunnel (T1) sur l'exploitation de Mr Mignot à Thuir :

Epandage du produit sur le sol travaillé au canadien, enfouissement à la roto bêche + rouleau sur 20 – 25 cm le 21 avril 06, plantation d'une culture de fenouil le 24 avril 06 sur paillage plastique intégral, irrigation par aspersion, récolte 20 juin puis le tunnel est resté inutilisé, l'engrais vert (sorgho) prévu n'a pas été semé.

Prise d'échantillon : 20 prélèvements à la gouge par parcelle sur une profondeur de 0–25 cm.

Envoi de 10 gr par échantillon tous les mois (fin mai, fin juin et fin juillet).

### **C) Analyse des échantillons :**

Les observations en laboratoire sont réalisées par madame Elisabeth PANCHAUD-MIRABEL.

Pour ce test, chaque échantillon de sol est mélangé, puis une cuillère à café de chaque sol est déposée au centre d'une boîte de Petri contenant 20 ml de milieu de culture.

L'analyse est réalisée sur milieu de culture CMA/2. Ce milieu permet de visualiser les organes reproducteurs des champignons de la famille des Monilliales et les pièges des champignons prédateurs de nématodes.

Les observations se font après une semaine de culture et durant une autre semaine. Ce laps de temps permet à la microfaune et à la microflore présentes dans le sol de se développer.

Le champignon nématophage *Arthrobotrys conoides* est déterminé grâce à ses organes de reproduction (conidies) mais aussi par la présence de nématodes piégés à la surface de la gélose.

Les nématodes observés sont saprophages (ou nématodes libres), ils se développent très rapidement en boîtes de Pétri en se nourrissant du milieu de culture. Ces nématodes permettent de détecter la présence de champignons nématophages. En effet les champignons du genre *Arthrobotrys* peuvent piéger en très petites quantités ces nématodes.

## IV - Résultats / Discussion

### Présence de champignons prédateurs :

Essai pots	Contrôle 1	Contrôle 2	Contrôle 3
Sol Falip	<i>Arthrobotrys conoïdes</i>	<i>Arthrobotrys conoïdes</i>	
Sol Menoury		Nématodes piégés	Nématodes piégés
Sol Mignot		<i>Arthrobotrys conoïdes</i>	<i>Arthrobotrys conoïdes</i>
Sol Civambio	Nématodes piégés		Nématodes piégés
Sol - terreau Civam bio	<i>Arthrobotrys sp</i>	<i>Arthrobotrys sp</i>	<i>A. conoïdes</i> + nématodes piégés
Essai sols	Contrôle 1	Contrôle 2	Contrôle 3
Sol Mignot			
Sol Civambio			<i>A. conoïdes</i> + nématodes piégés

Le champignon introduit *Arthrobotrys conoïdes* a été retrouvé dans trois des quatre sols.

Dans le sol de l'exploitation de Mr Menoury l'observation de nématodes piégés traduit la présence de champignons nématophages (*Arthrobotrys*, *Dactyllela*, *Dactylaria*...) mais l'absence d'organes de reproduction n'a pas permis de déterminer le genre présent.

### V – Conclusion :

Ce premier test est encourageant au niveau de la survie d'*Arthrobotrys conoïdes* dans les sols maraîchers testés.

Des essais d'efficacité en sols contaminés sont à réaliser pour évaluer l'impact de ce champignon sur les populations de nématodes.

Le Civam bio 66 peut envisager des essais sur des parcelles dont nous possédons une cartographie des dégâts de nématodes par observation du système racinaire de tous les plants de la culture de printemps.

Annexe 1 : contrôle fongique 31 mai

Annexe 2 : contrôle fongique 29 juin

Annexe 3 : contrôle fongique 24 août

Annexe 4 : caractéristique des sols en test

**Renseignements complémentaires auprès de :** Alain ARRUFAT - CIVAM BIO PO

19 Av de Grande Bretagne 66025 PERPIGNAN.

Courriel : [arrufat.civambio.66@wanadoo.fr](mailto:arrufat.civambio.66@wanadoo.fr) - Tél. : +334 68 35 34 12 - Fax. : 04 68 34 86 15.



## Lutte biologique contre les nématodes à galles Evaluation du développement et de la survie d'*Arthrobotrys conoides* en sol maraîcher

### Rapport de l'analyse concernant les essais réalisés par le CIVAM Bio PO selon le protocole reçu le 17 mai 2006

Les échantillons de sol ont été reçus le 31 mai 2006

L'analyse est réalisé sur milieu de culture CMA/2. Ce milieu permet de visualiser les organes reproducteurs des champignons de la famille des Monilliales et les pièges des champignons prédateurs de nématodes.

Pour ce test, le sol de chaque sachet est mélangé, puis une cuillère à café de chaque sol est déposé au centre d'une boîte de Petri contenant 20 ml de milieu de culture.

Les observations se font après une semaine de culture et durant une autre semaine. Ce laps de temps permet à la microfaune et à la microflore présentent dans le sol de se développer.

Le champignon nématophage *Arthrobotrys conoides* est déterminé grâce à ses organes de reproduction (conidies) mais aussi par la présence de nématodes piégés à la surface de la gélose

Les résultats observés sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

N°	pH	Caractéristiques	Microfaune	Microflore	Champignons prédateurs	Photos
Fa	6	<b>Essai pot</b> : sol de M. Falip Toulouges (66) Tunnel 1/3	Nématodes +++	Rhizopus	<i>Arthrobotrys conoides</i>	
Me	6,5	<b>Essai pot</b> : sol de M. Menoury Mauguio (34) Tunnel 20	Nématodes + Acarien	Rhizopus		
Mi	6	<b>Essai pot</b> : sol de M. Mignot Thuir (66) Tunnel 2	Nématodes +	Rhizopus		
Sol Mi	6	<b>Essai sol</b> : sol de M. Mignot Thuir (66) Tunnel 1		Rhizopus		
Sol T4	6,5	<b>Essai sol</b> : Site expérimental Théza (66) Tunnel 4	Nématodes +	Rhizopus Mycotypha		
T4 + T	6,5	<b>Essai pot</b> : sol + terreau Site expérimental Théza (66) Tunnel 4	Nématodes ++ Acariens +++	Rhizopus	<i>Arthrobotrys sp</i>	
T4 ST	6,5	<b>Essai pot</b> : Site expérimental Théza (66) Tunnel 6	Nématodes +	Rhizopus	Nématodes piégés	

- + : < 50 nematodi    ++ : 50 a 150 nematodi    +++ : > 150 nematodi

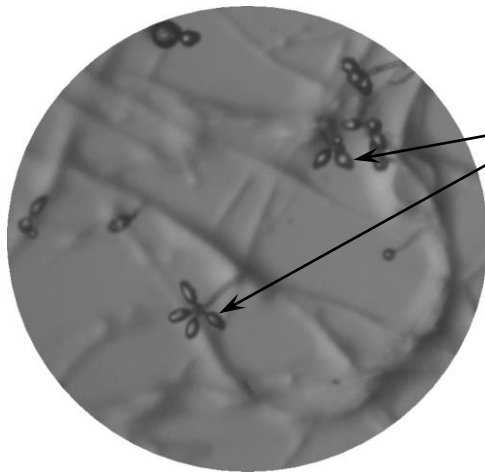
Auteur	Date	Pages
Elisabeth Panchaud-Mirabel Dr. PhD	19 06 2006	Page 4 sur 11

L'*Arthrobotrys conoides* n'a été retrouvé que dans le sol prélevé sur l'exploitation de M. Falip.

Par contre les sols provenant du site expérimental du Civam Bio à Théza contiennent un autre champignon prédateur (probablement de l'*Arthrobotrys oligospora*).

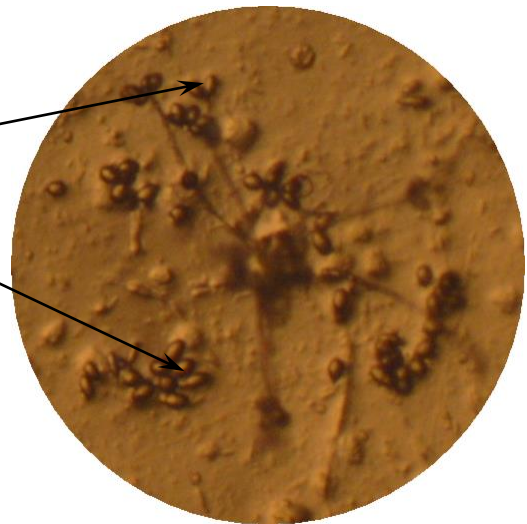
Ces analyses sont faites visuellement sans milieu sélectif. Si l'*Arthrobotrys conoides* est en très faible quantité il est possible de ne pas le détecter.

Les résultats obtenus pour ce premier prélèvement peuvent évoluer lors des suivants en fonction du développement du champignon dans le sol.



Conidies (organes reproducteurs) d'*Arthrobotrys conoides*

Conidies d'*Arthrobotrys sp.*  
Photographiées sur les boîtes du site de Théza



Nématode.

Piège en réseau

Piège en anneau

Nématode piégé par *Arthrobotrys sp.* Photographié au microscope Gx100

Auteur	Date	Pages
Elisabeth Panchaud-Mirabel Dr. PhD	19 06 2006	Page 5 sur 11



## Lutte biologique contre les nématodes à galles Evaluation du développement et de la survie d'*Arthrobotrys conoides* en sol maraîcher

### Rapport de l'analyse concernant les essais réalisés par le CIVAM Bio PO selon le protocole reçu le 17 mai 2006

Les échantillons de sol ont été reçus le 29 juin 2006

L'analyse est réalisé sur milieu de culture CMA/2. Ce milieu permet de visualiser les organes reproducteurs des champignons de la famille des Monilliales et les pièges des champignons prédateurs de nématodes.

Pour ce test, le sol de chaque sachet est mélangé, puis une cuillère à café de chaque sol est déposé au centre d'une boîte de Petri contenant 20 ml de milieu de culture.

Les observations se font après une semaine de culture et durant une autre semaine. Ce laps de temps permet à la microfaune et à la microflore présentent dans le sol de se développer.

Le champignon nématophage *Arthrobotrys conoides* est déterminer grâce à ses organes de reproduction (conidies) mais aussi par la présence de nématodes piégés à la surface de la gélose

Les résultats observés sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

N°	pH	Caractéristiques	Microfaune	Microflore	Champignons prédateurs	Photos
Fa	6	<b>Essai pot</b> : sol de M. Falip Toulouges (66) Tunnel 1/3	Nématodes +	Rhizopus Mycotypha	<i>Arthrobotrys conoides</i>	
Me	6,5	<b>Essai pot</b> : sol de M. Menoury Mauguio (34) Tunnel 20	Nématodes +	Rhizopus	Nématode piégé	Photo 1
Mi	6	<b>Essai pot</b> : sol de M. Mignot Thuir (66) Tunnel 2	Nématodes +	Rhizopus Mycotypha	<i>Arthrobotrys conoides</i>	Photo 2
Sol Mi	6	<b>Essai sol</b> : sol de M. Mignot Thuir (66) Tunnel 1		Rhizopus		
Sol T4	6,5	<b>Essai sol</b> : Site expérimental Théza (66) Tunnel 4	Nématodes +	Rhizopus Mycotypha		
T4 + T	6,5	<b>Essai pot</b> : sol + terreau Site expérimental Théza (66) Tunnel 4	Nématodes ++ Acaris +++	Rhizopus	<i>Arthrobotrys sp</i>	Photo 3
T4 ST	6,5	<b>Essai pot</b> : Site expérimental Théza (66) Tunnel 6	Nématodes +	Rhizopus Mycotypha		

• + : < 50 nematodi    ++ : 50 a 150 nematodi    +++ : > 150 nematodi

Auteur	Date	Pages
Elisabeth Panchaud-Mirabel Dr. PhD	19 06 2006	Page 6 sur 11

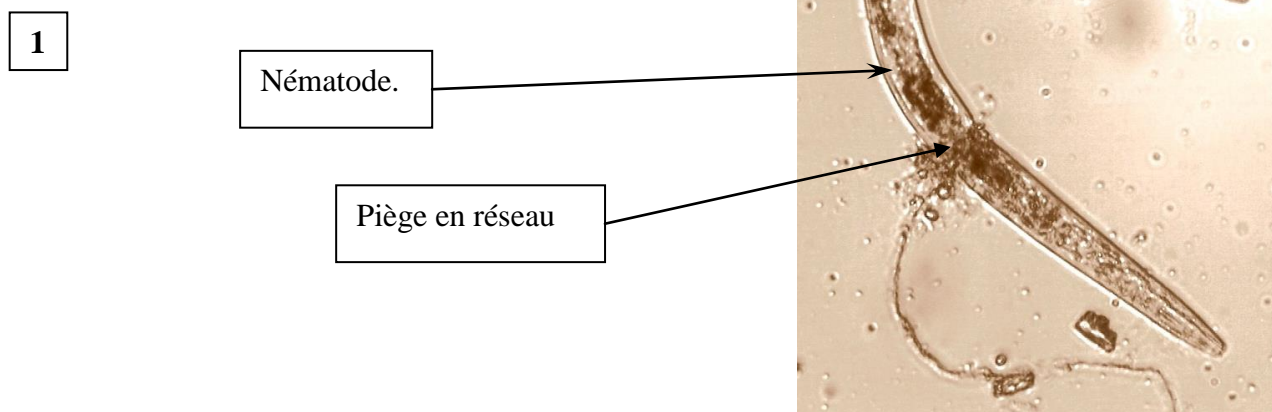
L'*Arthrobotrys conoides* a été retrouvé et déterminé dans les sols prélevés sur l'exploitation de M. Falip et sur celle de M. Mignot.

Dans le sol prélevé chez M. Menoury seul ont été retrouvés des nématodes piégés mais pas d'organes de reproduction permettant la détermination du champignon

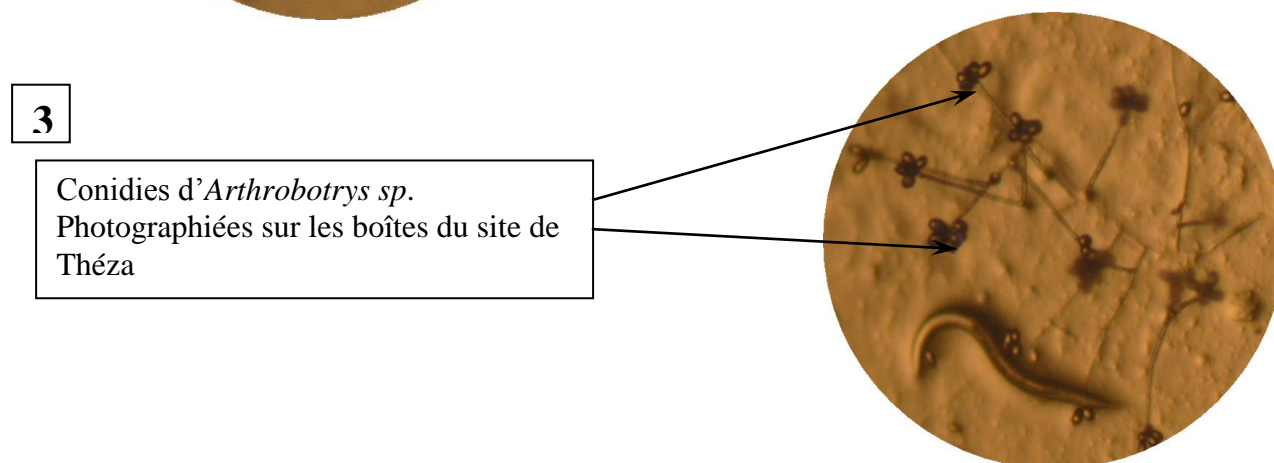
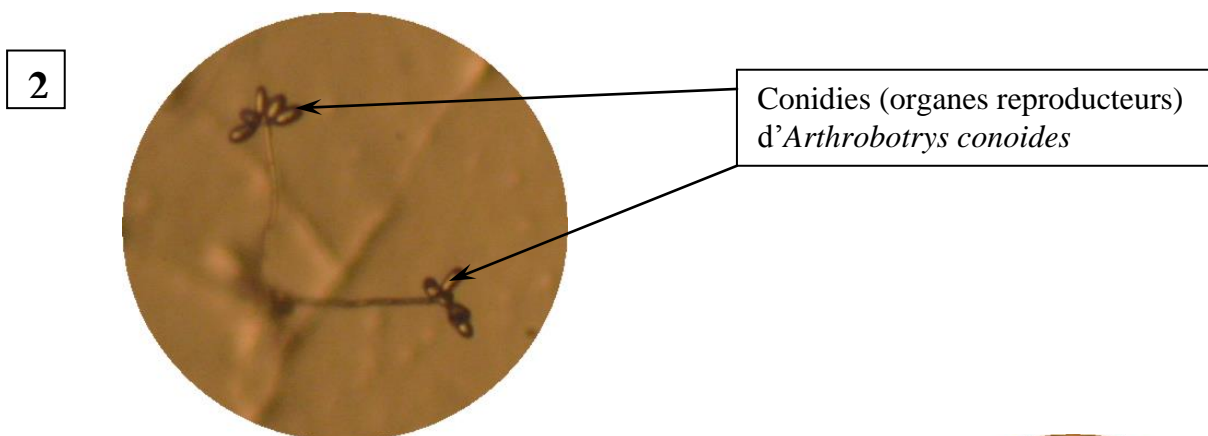
Par contre le sol provenant du site expérimental du Civam Bio à Théza contient un autre champignon prédateur (probablement de l'*Arthrobotrys oligospora*).

Ces analyses sont faites visuellement sans milieu sélectif. Si l'*Arthrobotrys conoides* est en très faible quantité il est possible de ne pas le détecter.

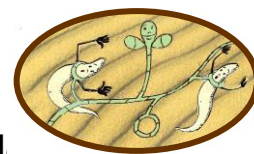
Les résultats obtenus peuvent encore évoluer en fonction du développement du champignon dans le sol.



Nématode piégé par *Arthrobotrys* sp. Photographié au microscope Gx100



Auteur	Date	Pages
Elisabeth Panchaud-Mirabel Dr. PhD	19 06 2006	Page 7 sur 11



## Lutte biologique contre les nématodes à galle Evaluation du développement et de la survie d'*Arthrobotrys conoides* en sol maraîcher

**Rapport de l'analyse concernant les essais réalisés par le CIVAM Bio PO selon le protocole reçu le 17 mai 2006**

Les échantillons de sol ont été prélevés le 1<sup>er</sup> août conservés au réfrigérateur et reçus le 24 août 2006

L'analyse est réalisée sur milieu de culture CMA/2. Ce milieu permet de visualiser les organes reproducteurs des champignons de la famille des Monilliales et les pièges des champignons prédateurs de nématodes.

Pour ce test, le sol de chaque sachet est mélangé, puis une cuillère à café de chaque sol est déposé au centre d'une boîte de Petri contenant 20 ml de milieu de culture.

Les observations se font après une semaine de culture et durant une autre semaine. Ce laps de temps permet à la microfaune et à la microflore présentes dans le sol de se développer.

Le champignon nématophage *Arthrobotrys conoides* est déterminé grâce à ses organes de reproduction (conidies) mais aussi par la présence de nématodes piégés à la surface de la gélose

Les résultats observés sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

N°	pH	Caractéristiques	Microfaune	Microflore	Champignons prédateurs	Photos
Fa	6	<b>Essai pot</b> : sol de M. Falip Toulouges (66) Tunnel 1/3	Nématodes +	Rhizopus Mycotypha (traces)		
Me	6,5	<b>Essai pot</b> : sol de M. Menoury Mauguio (34) Tunnel 20	Nématodes +	Rhizopus	Nématodes piégés	Photo 1
Mi	6	<b>Essai pot</b> : sol de M. Mignot Thuir (66) Tunnel 2	Nématodes +	Rhizopus Mycotypha	<i>Arthrobotrys conoides</i>	Photo 2
Sol Mi	6	<b>Essai sol</b> : sol de M. Mignot Thuir (66) Tunnel 1		Rhizopus Mycotypha		
Sol T4	6,5	<b>Essai sol</b> : Site expérimental Théza (66) Tunnel 4	Nématodes +	Rhizopus Mycotypha	<i>A.conoides</i> + nématodes piégés	Photo 3
T4 + T	6,5	<b>Essai pot</b> : sol + terreau Site expérimental Théza (66) Tunnel 4	Nématodes ++	Rhizopus	<i>A.conoides</i> + nématodes piégés	
T4 ST	6,5	<b>Essai pot</b> : Site expérimental Théza (66) Tunnel 6	Nématodes +	Rhizopus Mycotypha	Nématodes piégés	

• + : < 50 nematodi    ++ : 50 a 150 nematodi    +++ : > 150 nematodi

Auteur	Date	Pages
Elisabeth Panchaud-Mirabel Dr. PhD	19 06 2006	Page 8 sur 11



1 – Dans le sol provenant de l'exploitation de M. Falip à Toulouges (66), je n'ai pu retrouver aucune trace de champignon. Cependant le sol était très humide et formait une masse compacte. J'y ai dénombré beaucoup moins de champignons du sol que lors des précédentes analyses. Il est possible que le fort taux d'humidité ne permette pas un bon développement de la microflore du sol.

2 – Comme précédemment, dans le sol prélevé chez M. Menoury à Mauguio (34) seul ont été retrouvés des nématodes piégés mais pas d'organes de reproduction permettant la détermination du champignon

3 – Dans le sol provenant de l'exploitation de M. Mignot à Thuir (66) j'ai trouvé quelques organes de reproduction correspondant au champignon *Arthrobotrys conoides*. Par contre dans les prélèvements provenant directement du tunnel je n'ai rien trouvé. Il se peut que l'*A.conoides* se développe très lentement dans ce type de sol, il serait alors plus facile de le retrouver dans une enceinte confinée (pot) qu'en pleine terre.

4 – Les essais fait avec le sol provenant du site expérimental de Théza (66) sont pour moi les plus révélateurs.

Cette fois, le champignon retrouvé dans le sol et dans la série T4+T correspond bien à de l'*A.conoides*.

- le champignon s'est mieux développé dans les pots avec terreau (Conidiophore et nématodes piégés) que dans les pots sans terreau.
- Les prélèvements provenant directement du tunnel sont spectaculaires. J'ai retrouvé non seulement les organes de reproduction du champignon en grand nombre mais aussi des alignements de nématodes pris au pièges le long des filaments mycéliens. (voir photos 3), ce qui prouve un très bon développement du champignon.

Auteur	Date	Pages
Elisabeth Panchaud-Mirabel Dr. PhD	19 06 2006	Page 9 sur 11

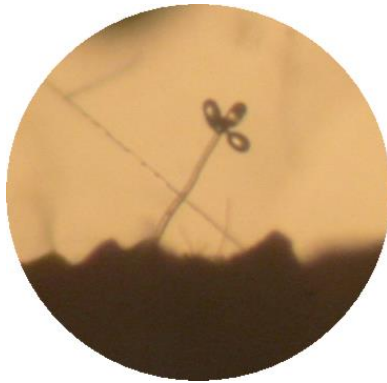
## PHOTOS

1



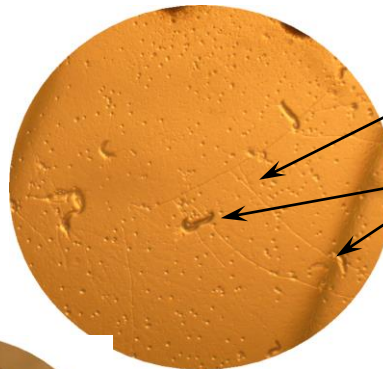
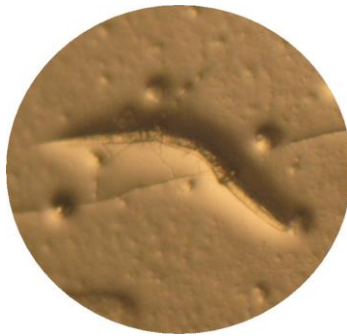
Nématode piégé par *Arthrobotrys sp.* dans le sol de Mauguio (34)

2



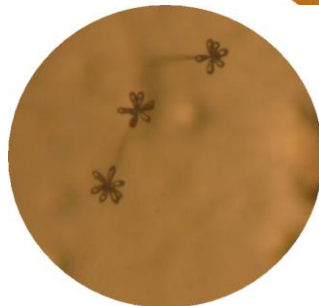
Conidiophore avec conidies d'*Arthrobotrys conoides* dans le sol de Thuir (66)

3



Filament mycélien

Nématodes piégés le long du filament mycélien



Nématodes piégés et Conidiophores avec conidies d'*Arthrobotrys conoides* dans le sol de Thézé (66)

Auteur	Date	Pages
Elisabeth Panchaud-Mirabel Dr. PhD	19 06 2006	Page 10 sur 11

Annexe 4 :

### Caractéristiques des sols en test

	Sables grossiers	Sables fins	Limons grossiers	Limons fins	Argiles	Matière Organique
Civam bio	325	250	143	158	142	1,8
Mig	-	-	-	-	-	-
Men	174	286	245	53	242	3
Fal	-	-	-	-	-	-