

QUARANTAINE DE TABAC EN CULTURE ASEPTIQUE

par

P. BAUDIN

C. BAUDIN

Maître de Recherches

Institut de Recherches Agronomiques Tropicales et des Cultures Vivrières

Aucune méthode de quarantaine n'est appliquée d'une manière générale pour introduire du Tabac par graines quand il y a doute sur leur état sanitaire. Ces introductions sont souvent indispensables, notamment en République Malgache, où toutes les améliorations variétales reposent sur des apports extérieurs. Quelques parasites sont transmis par les semences non seulement par les graines proprement dites, mais aussi par les nombreuses impuretés, débris du pied-mère, qu'il est parfois difficile d'éliminer totalement. Les phytopathologistes conseillent fréquemment la désinfection des graines, notamment contre les maladies suivantes :

1) Feu sauvage (*Pseudomonas tabaci*). En Rhodésie, HOPKINS (3) recommande le traitement des graines de Tabac pour empêcher la transmission de la bactérie. Les graines doivent être immergées dans une solution de nitrate d'argent à 1‰ pendant quinze minutes.

2) L'anthraxose (*Colletotrichum tabacum*). BÖNING (2) a montré que le champignon peut être transmis par les graines. Il a obtenu une désinfection satisfaisante par immersion dans le nitrate d'argent. Ce résultat est maintenant contesté en Rhodésie.

Pour certaines affections, la désinfection externe n'est pas suffisante. La graine est parasitée. VALLEAU (6) a montré que le virus responsable du « ring spot » était transmis par les semences. Il est recommandé de ne pas prélever de graines sur les plants atteints par cette maladie.

Dans le cas du mildiou du Tabac (*Peronospora tabacina*), la transmission par graine est très controversée. Toutefois, la commission phytosanitaire Interafricaine ou IAPSC (1), estimant que cette transmission est possible, a prohibé, dans les pays encore indemnes, l'introduction des graines provenant des régions où le *Peronospora tabacina* existe.

Pour de nombreuses plantes, il est possible de mettre un barrage supplémentaire à la propagation d'un parasite d'un pays à un autre en observant la plante pendant une génération en quarantaine. Dans le cas particulier du Tabac, les serres de quarantaine classiques ne peuvent assurer une sécurité absolue, car le vent est un agent de propagation très important, par exemple, pour la dissémination du mildiou du Tabac. Il faut pouvoir détruire le plant à l'apparition des symptômes sans avoir à craindre la propagation ultérieure du parasite. Cela est possible si le plant a été maintenu dans des conditions de culture aseptique analogues à celles adoptées pour les cultures de tissu. Mais alors que dans les laboratoires on désire protéger la culture contre des contaminations extérieures, ici on veut éviter la propagation d'un parasite à l'extérieur. La méthode permet d'obtenir des plants de Tabac au stade six feuilles, suffisamment développés pour être repiqués : des raisons matérielles évidentes interdisent d'envisager le cycle complet du Tabac en condition aseptique.

Méthode de production des plants.

Des plants de Tabac de variété « Amarelo » ont été cultivés dans des erlenmeyers de 750 ml ou de 1.000 ml à col large, sur un milieu synthétique.

a) PRÉPARATION DU MILIEU.

Le milieu comporte :

Knop 1/2	Q.S.P.F.	1.000 ml
Gélose		14 g
Saccharose		35 g
Solution de micro-éléments de Heller		1 ml
Vitamine B ₁		1.10 ⁻⁶

Solution de Knop diluée de moitié :

Eau	Q.S.P.F.	1.000 ml
(NO ₃) ₂ Ca, 4 H ₂ O		0,5 g
NO ₃ K		0,125 g
SO ₄ Mg, 7 H ₂ O		0,125 g
PO ₄ H ₂ K		0,125 g

Solution de micro-éléments de Heller :

Eau	Q.S.P.F.	1.000 ml
Fe Cl ₃ , 6 H ₂ O		1 mg
SO ₄ Zn, 7 H ₂ O		1 mg
BO ₃ H ₃		1 mg
SO ₄ Mn, 4 H ₂ O		0,1 mg
SO ₄ Cu, 5 H ₂ O		0,03 mg
Al Cl ₃		0,03 mg
Ni Cl ₂ , 6 H ₂ O		0,03 mg
IK		0,01 mg

La gélose en branche est préalablement lavée, rincée à l'eau distillée et séchée à 50°. Elle est fondue en présence du Knop 1/2 à 110° pendant un quart d'heure. Puis on ajoute le saccharose, la vitamine B₁ et la solution d'oligo-éléments de Heller. Les milieux sont répartis à raison de 250 ml par fiole de 750 ml et de 500 ml par fiole de 1.000 ml. On stérilise vingt minutes à 110°.

b) SEMIS.

Les produits classiquement utilisés pour la désinfection des graines de Tabac exigent un lavage soigné après traitement afin d'éviter toute altération de leur faculté germinative. Pour simplifier les manipulations, on a cherché des produits pour lesquels il n'est pas nécessaire de laver après stérilisation. Pour ensemercer les erlenmeyers, les graines seront prélevées directement dans le désinfectant avec une anse de platine, désinfectée à la flamme. Divers produits ont été essayés.

1) Traitement à l'alcool et à l'hypochlorite de calcium. Les résultats ont été décevants. Ce produit a été abandonné, car il n'a pas été possible d'obtenir, à Madagascar, d'hypochlorite de calcium en bon état de conservation.

2) L'immersion pendant trente minutes dans l'eau de brome, au tiers de saturation (une partie saturée, deux parties d'eau), a donné de bons résultats. Malheureusement, l'emploi de ce désinfectant est désagréable et dangereux.

Désinfectant	Graines germées	Cultures infectées	Graines non germées
Alcool + hypochlorite Ca	7	7	7
Eau de brome 1/3	12	0	0
Eau de brome 1/3	15	5	0

C'est à partir des Tabacs « Amarello », dont les graines ont été désinfectées à l'eau de brome, que l'expérimentation a été poursuivie.

3) Lors d'essais ultérieurs sur d'autres variétés, l'immersion dans l'eau oxygénée à vingt volumes pendant quarante-cinq minutes, méthode utilisée par SCHILTZ et IZARD (5), a donné des résultats satisfaisants. Ce désinfectant est facile à se procurer et à conserver, de plus son emploi n'est pas désagréable.

Variétés	Graines germées	Graines infectées	Graines non germées
Criollo Correntino	38	0	2
Criollo Misionero	19	2	7
Bahia Correntino	18	2	0
Rio-Grande	35	11	4

Une seule graine de Tabac a été ensemençée dans chaque fiole d'Erlenmeyer.

Croissance des plants.

Après ensemencement par des graines de Tabac « Amarello » désinfectées à l'eau de brome, les Erlenmeyers ont été placés dans une étuve à 27°C, éclairée en permanence par un tube « lumière du jour ». Toute la croissance des jeunes plants doit se faire en étuve; les essais de culture en laboratoire, à température ordinaire, à la lumière du jour, ont entraîné soit un dessèchement trop rapide du milieu, soit une croissance trop lente avec chlorose des plants.

En cours de culture, les deux tiers des plants ont été éliminés pour mauvaise végétation ou contamination ultérieure par des champignons ou des bactéries communes. Les Erlenmeyers sont alors stérilisés à l'autoclave. La vaisselle peut être réutilisée pour de nouveaux semis.



Plant de tabac en Erlenmeyer de 750 ml.

Production des graines.

Les plants ont été repiqués au stade six feuilles alors qu'ils avaient 7 à 8 cm de haut. Ce stade a été atteint au bout de soixante-dix jours, délai assez long. Le plant occupe le volume de l'Erlenmeyer. On les en retire très facilement, en cassant le milieu gélosé et en les faisant glisser doucement le long du verre. Les racines sont lavées pour éliminer la gélose qui pourrait provoquer la multiplication gênante de moisissures banales autour des racines après repiquage en terre. La reprise du plant n'a pas posé de problèmes.

Quatre plants de Tabac « Amarello » ont été conservés en serre de quarantaine, principalement pour des raisons climatiques. La floraison a été obtenue une centaine de jours après le repiquage. Dix grammes de graines ont été produites, ce qui est très modeste. Par amélioration des techniques culturales après repiquage, il doit être possible d'obtenir un meilleur rendement.

Contrôle du pouvoir germinatif.

Le pouvoir germinatif des graines obtenues a été observé deux mois après leur récolte afin de déterminer la possibilité de les mettre en culture. La méthode décrite par IZARD et SCHILTZ (4) notamment pour la levée d'une éventuelle dormance.

Les graines sont disposées sur papier filtre imbibé soit d'eau, soit d'une solution d'acide gibbérellique à la concentration de 100 mg par litre. Une série est soumise à l'action de la lumière continue (lampes « lumière du jour »), l'autre étant à l'obscurité. Le relevé des graines germées pour cent graines est effectué chaque jour, la faculté germinative étant exprimée par le nombre de graines germées au dixième jour.

	Obscurité	Lumière	Obscurité + gibbérelline	Lumière + gibbérelline
3	0	0	0	0
4	0	0	4	10
5	0	4	22	34
6	0	4	42	62
7	6	11	53	64
9	14	17	65	68
10	20	23	67	70

Il est donc possible d'utiliser immédiatement les graines en traitant éventuellement à l'acide gibbérellique pour lever la dormance.

Conclusions.

Dans un délai normal de culture, il a été possible de produire des graines de Tabac avec un contrôle sanitaire très soigné, des semis en particulier. Cette surveillance des semis est particulièrement intéressante, car les maladies que les graines sont susceptibles de transmettre sont essentiellement des maladies de semis. Les conditions dans lesquelles sont produits les plants peuvent non seulement éviter la propagation de la maladie, mais encore favoriser l'extériorisation des symptômes, ce qui permet de détruire plus rapidement les plants suspects.

Les conditions artificielles de production demandent des techniques de laboratoire très simples, un matériel courant. Il est possible de produire les graines en intercampagne, si on peut poursuivre la culture en serre. La production importante de semences de quelques pieds de Tabac peut permettre une mise en culture rapide.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) Memorandum sur les méthodes de Protection phytosanitaire applicables en Afrique. IAPSC, Commission Phytosanitaire Interafricaine, CCTA, Publ. n° 82.
- 2) BÖNING (K.). 1932. Die Bekämpfung der Brennfleckenkrankheit des Tabaks (*Colletotrichum tabacum*) durch Beizung des Samens und vorbeugende Behandlung der Pflanzen mit Chemischen Mitteln. *Prakt Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz*, X, 3-4-5, p. 89-106, 4 fig. (ABS RAM XI : 753-754, 1932).
- 3) HOPKINS (J.C.F.). 1956. Tobacco diseases, XVI, 172 p., 52 pl., 6 fig., Kew, Commonwealth Mycological Institute.
- 4) IZARD (C.), SCHILTZ (P.). 1961. Observations sur la germination des graines de quelques *Nicotianae* résistantes au mildiou du Tabac (*Peronospora tabacina* ADAM). *CR Acad. Sc.*, Paris, 252, 3113-15.

- 5) —, —. Susceptibilité cotylédonnaire et résistance à *Peronospora tabacina* ADAM. *CR Acad. Agric. Fr.*, Paris, 48, 11, p. 561-64, 1962.
- 6) VALLEAU (W.D.). 1932. Seed transmission and sterility studies of two strains of Tobacco ringspot. *Kentucky Agric. Exper. Stat. Bull.*, 327, p. 43-80 (Abst RAM XII : 471-472-473).

RÉSUMÉ. — *Les AA décrivent une méthode employée pour obtenir de jeunes plants de tabacs exempts des maladies transmises par graine. La méthode offre la possibilité à tout laboratoire de Pathologie végétale, de réaliser en toute sécurité l'importation de graines en provenance de pays contaminés par de graves maladies bactériennes ou fongiques.*

SUMMARY.—*The Authors describe a method used to obtain seedlings free from diseases transmitted by seeds.*

Thanks to the method it is possible to every phytopathological laboratory to safely import seeds from countries where they are infected by serious bacterial or fungal diseases.

RESUMEN. — *Los Autores describen un método utilizado para obtener plantas jóvenes de tabaco exentas de las enfermedades transmitidas por las simientes. Gracias a dicho método, todo laboratorio de Patología vegetal puede con seguridad importar simientes de países contaminados por enfermedades graves de origen bacterial o fúngico.*

L'AGRONOMIE TROPICALE

Extrait du n° 11
NOVEMBRE 1963

QUARANTAINE DE TABAC EN CULTURE ASEPTIQUE

par

P. BAUDIN

C. BAUDIN

Maître de Recherches

Institut de Recherches Agronomiques Tropicales et des Cultures Vivrières

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 22843

Cpte : B