

Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer
Laboratoire de Nématologie
Institut d'Enseignement et de Recherches Tropicales — Abidjan Côte d'Ivoire

ETUDE COMPARATIVE DE LA PENETRATION
DES LARVES DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* (TREUB,
1885) CHITWOOD, 1949 ET DE *MELOIDOGYNE*
INCOGNITA ACRITA CHITWOOD, 1949 DANS LES
RACINES DES PLANTES HOTES ET NON HOTES

Résultats Préliminaires

par

G. de Guiran

Le fait que les larves de *Meloidogyne* pénètrent avec autant de facilité dans les racines de certaines plantes dites „résistantes” que dans celles des plantes sensibles est reconnu depuis longtemps; il a été signalé pour les crotalaires par Sasser & Taylor (1952) puis par Peacock (1957). Plus récemment Peacock (1959) a observé le développement de *Meloidogyne incognita* dans les racines de *Lycopersicon peruvianum* et Riggs & Winstead (1959) ont étudié la pénétration de larves dans les racines de variétés résistantes de tomate.

Le terme de „plante résistante” dans son acception la plus stricte implique l'impossibilité pour les larves d'infecter la plante, donc de pénétrer dans les tissus. Or tous les degrés existent entre cette résistance absolue et une sensibilité totale qui permet aux larves de pénétrer en nombre important dans les racines, d'arriver à maturité et de multiplier l'espèce. C'est pourquoi les termes de „plante hôte” et de „plante non hôte” seront de préférence employés ici, étant entendu qu'une plante hôte d'une espèce donnée de *Meloidogyne* permet aux larves de cette espèce de pénétrer dans ses racines, de se développer et de se multiplier, et qu'une plante non hôte peut ou non être envahie par les larves, mais que ces dernières, lorsqu'elles pénètrent dans les racines, ne peuvent terminer leur développement et se multiplier.

Le travail que nous avons entrepris et dont nous exposons ici les premiers résultats, a pour but de préciser quelques aspects du comportement des larves de *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 et de *M. incognita acrita* Chitwood, 1949 envers les plantes hôtes et les plantes non hôtes.

1047

18

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

N° : 14467

Cote : B 24

En premier lieu nous avons tenté de récupérer vivantes les larves de *Meloidogyne javanica* ayant pénétré dans les racines d'une plante non hôte dans le but de les réinoculer à une plante hôte pour vérifier l'apparition de modifications éventuelles dans le pouvoir infectant de ces larves. Les résultats quantitatifs de cette récupération nous ont amené à comparer le développement des larves dans les deux sortes de plantes. Ces études ont ensuite été étendues à une autre espèce de nématode galligène : *Meloidogyne incognita acrita*.

Matériel et techniques utilisés

La plante hôte utilisée pour ces expériences fut *Lycopersicon esculentum* var. St. Pierre, la plante non hôte *Crotalaria astragalina*. Les graines, désinfectées à l'hypochlorite de calcium à 4,5% et rapidement rincées à l'eau stérile ont été mise à germer stérilement sur papier filtre humide. Les plantules ont ensuite été transportées sur des plaques de gel de silice préparées en boîtes de Petri selon la méthode de Ph. D a s t e (1958) et conservées à l'obscurité. Le gel de silice, employé ici, est parfaitement apte au déplacement des nématodes et n'est pas nutritif, ce qui défavorise la prolifération de champignons ou de bactéries et permet d'éviter la stérilisation des cultures. Les plantules peuvent être maintenues vivantes sur ce milieu pendant 10 à 15 jours. Il peut arriver que les racines s'entourent d'un voile bactérien; la seule désinfection des graines permet d'éviter cet inconvénient dans une très large mesure.

La souche de *Meloidogyne javanica* provient de Madagascar, celle de *M. incognita acrita*, espèce indigène d'Afrique Occidentale, a été multipliée depuis plusieurs années au Laboratoire de Nématologie d'Adiopodoumé (Côte d'Ivoire) à partir d'une seule femelle. Les œufs ont été récoltés sur des racines de tomate infectées et mis à éclore dans l'eau distillée; les larves, écloses depuis 24 heures, pêchées et déposées au voisinage des racines.

Un asperseur de Seinhorst, de dimensions réduites, a été utilisé pour extraire les larves vivantes à partir des racines. Pour permettre un comptage précis de ces larves, les cuvettes de récupération de l'eau ayant ruisselé sur les racines ont été modifiées

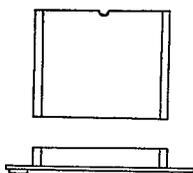


Fig. 1. — Schéma du type de cuvette utilisé pour récupérer les larves à l'asperseur.

dans le but d'éviter des transvasements successifs qui peuvent occasionner des pertes gênantes lorsqu'on travaille sur des nombres très faibles d'individus. Une cuvette en plexiglas à fond plat et rainuré, de 0,5 cm de hauteur et de section cylindrique est surmontée d'un cylindre de même matière et de même section haut de 4 cm, exactement ajustable, de telle sorte que les deux éléments puissent être collés à la paraffine. Après avoir aspiré l'eau surnageante et décollé la partie supérieure (fig. 1) les larves peuvent être aisément comptées et repêchées dans la partie basale.

L'étude du développement des larves dans les racines s'est faite, soit par dissection, soit par coloration au lactophenol-fuschine acide selon la technique de G o o d e y (1951) pour examen au microscope après écrasement; cette dernière technique nous a également permis de chiffrer le taux de pénétration des larves dans les racines.

Résultats

Huit boîtes de Petri contenant chacune cinq plantules de *Crotalaria astragalina* poussant sur gel de silice ont été inocuées avec *Meloidogyne javanica* à raison de 20 larves âgées de moins de 24 heures déposées au voisinage de chaque plantule, soit 100 larves par boîte. Les racines des cinq plantules de chaque boîte

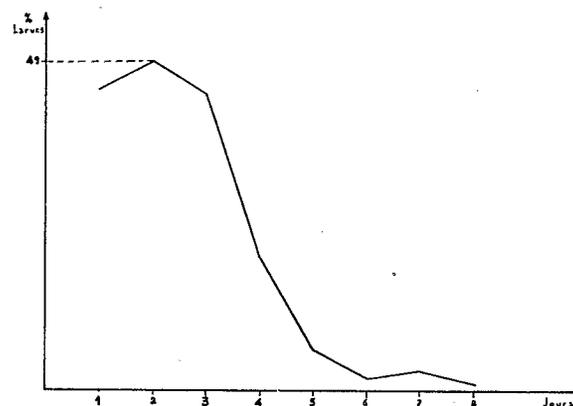


Fig. 2. — Pourcentage de récupération des larves vivantes de *Meloidogyne javanica* à partir des racines de crotalaire en fonction du temps séparant l'inoculation de la mise des racines à l'asperseur.

ont été lavées et mises ensemble sur un tamis de l'asperseur après un temps variant, selon les boîtes, de un à huit jours après l'inoculation. La figure 2 montre le résultat de cette expérience :

- En abscisses : le nombre de jours séparant la mise des racines à l'asperseur de l'inoculation.
- En ordonnées : le nombre de larves sorties à l'asperseur exprimé en pourcentage des larves inoculées.

On voit que le pourcentage maximum apparaît lorsqu'on met les racines à l'asperseur deux jours après l'inoculation; il décroît ensuite pour être presque nul au bout de huit jours. Les larves extraites n'ont pas changé de forme et possèdent la même motilité que les larves ayant servi à l'inoculation; elles ont seulement des granulations intestinales beaucoup plus clairsemées (fig. 3).



Fig. 3. — Larve extraite à l'asperseur des racines de *Crotalaria astragalina*, montrant les granulations intestinales clairsemées.

La même expérience a été renouvelée avec des plantules de tomate variété St. Pierre et des larves de *Meloidogyne javanica*. Aucune larve n'est sortie des racines quel que soit le temps au bout duquel celles-ci ont été mises à l'asperseur après l'inoculation.

Pour expliquer ces résultats, des infections de tomates et de crotalaires ont été effectuées dans les mêmes conditions, soit à raison de 100 larves de *Meloidogyne javanica* âgées de moins de 24 heures par plaque de gel portant 5 plantules. 48 heures après l'inoculation les plantules ont été transplantées après lavage sur des plaques de gel dépourvues de larves. Certaines racines ont été colorées à la fuschine 48 heures après l'inoculation. Ces colorations

ont permis de constater qu'environ 50% des larves avaient pénétré dans les racines de tomate et de crotalaire.

Le comportement des larves et les réactions des racines ont été observées et, tous les deux jours, des racines ont été prélevées pour coloration et dissection afin de contrôler le devenir des larves après leur pénétration dans les racines des deux plantes.

Chez la tomate

Les larves se groupent autour de la zone sous-apicale qu'elles suivent au cours de son déplacement dans le milieu. Les jeunes racines réagissent très tôt et très fortement à la pénétration des larves par la formation de galls déjà nettement apparentes 48 heures après l'inoculation, tandis que leur croissance est stoppée ou très ralentie (fig. 4).

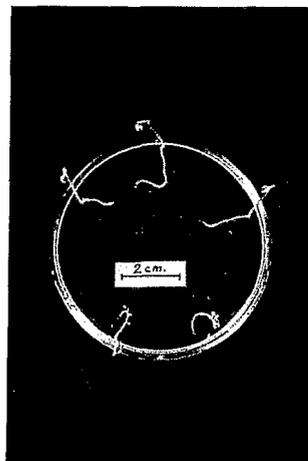


Fig. 4. — Réaction des racines de tomates deux jours après l'inoculation à raison de 20 larves de *Meloidogyne javanica* par plantule.

Les larves extraites des racines de tomate par dissection, 2 jours après l'inoculation n'ont pas subi de transformations morphologiques visibles; elles ont seulement perdu en grande partie leur motilité. 4 jours après l'inoculation on constate une augmentation du diamètre du corps qui commence à prendre un aspect tortueux. Au bout de 6 jours le diamètre du corps a con-

tinué à s'élargir et on peut voir pour la première fois une séparation des deux parois cuticulaires. Parallèlement la partie postérieure commence à prendre une allure hémisphérique tandis que la pointe caudale se différencie. Au bout de 8 jours les larves présentent un aspect sub-réniforme caractéristique avec une pointe caudale très nette; de plus le corps s'est rétracté et complètement séparé de l'enveloppe cuticulaire externe.

Il s'agit là d'une succession normale des transformations qui affectent les larves après leur pénétration dans les racines d'une plante hôte. Bird (1959) indique un rythme plus rapide du déroulement du cycle dans les racines de tomate lorsque les conditions sont optima; le léger retard constaté ici peut être dû aux conditions particulières de l'expérience, entre autres à l'absence de lumière (Gillard & Van den Brande 1955) ou d'éléments nutritifs dans le milieu.

Chez la Crotalaire

Si les larves se groupent également autour de la zone sous-apicale les racines ne réagissent par contre à leur pénétration que par de très légers renflements difficilement assimilables à des galles.

Les larves extraites des racines de crotalaire 4 jours après l'inoculation présentent également une légère augmentation du



Fig. 5. — Larve de *Meloidogyne javanica* extraite par dissection des racines de *Crotalaria astragalina* 4 jours après l'inoculation. Le renflement du corps se traduit par l'ouverture plus grande de l'angle céphalique.

diamètre du corps (fig. 5), elles sont encore vivantes comme on peut le constater par une légère mobilité du corps dans sa partie antérieure. Une larve présentait déjà une partie postérieure hémis-

sphérique avec une pointe caudale vide bien différenciée (Fig. 6) cette transformation paraissant prématurée par rapport au diamètre du corps de cette larve. Au 6ème jour une seule larve extraite

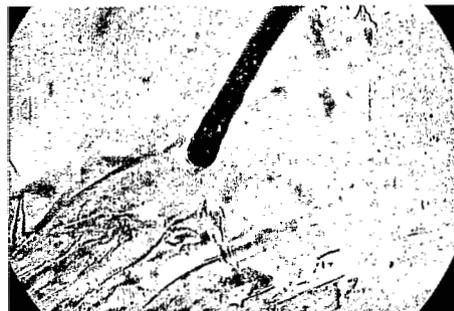


Fig. 6. — Coloration d'une racine de *Crotalaria astragalina* inoculée 4 jours plus tôt avec *Meloidogyne javanica*, montrant une larve renflée dans sa partie postérieure et possédant une pointe caudale différenciée.

présentait un renflement important; chez les autres le diamètre du corps n'avait pas sensiblement augmenté par rapport aux larves extraites le 4ème jour et leur structure interne était en partie détruite (fig. 7). Au 8ème jour une seule larve extraite paraissait

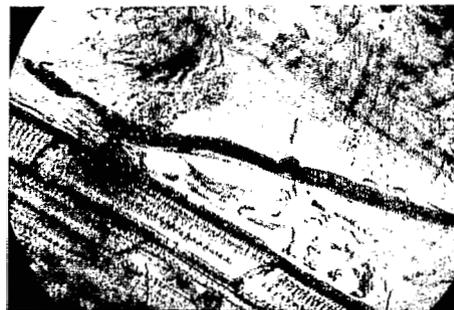


Fig. 7. — Coloration d'une racine de *Crotalaria astragalina* 6 jours après l'inoculation avec *Meloidogyne javanica* montrant la destruction de la structure interne des larves.

encore vivante, encore ne présentait-elle qu'un développement fort peu avancé. A part celle-ci nous n'avons pu extraire le 8ème jour, des racines de crotalaire, que des enveloppes cuticulaires vides.

Expériences de réinoculation

Des plantules de *Crotalaria astragalina* ont été inoculées avec des larves de *Meloidogyne javanica*. Deux jours plus tard les racines ont été prélevées, lavées et mises à l'aspersion. L'eau des bacs a été éliminée au bout de 48 heures et toutes les larves sorties des racines entre le 2ème et le 4ème jour après la mise des racines à l'aspersion ont été réinoculées à des plantules de tomate poussant en boîte de Petri sur gel de silice. Ces larves ont pénétré dans les racines sur lesquelles, deux jours après l'inoculation, sont apparues des galles, de la même manière que sur les tomates inoculées avec des larves écloses depuis 24 heures.

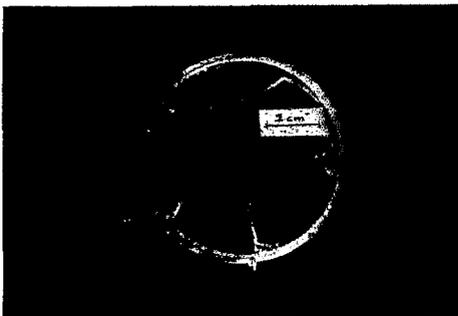


Fig. 8. — Etat des racines de tomate 4 jours après l'inoculation à raison de 20 larves de *Meloidogyne incognita acrita* par plantule. (A comparer avec la fig. 4).

Tout dernièrement, ces recherches sur la pénétration des larves de *Meloidogyne* dans les plantes hôtes et non hôtes ont été étendues à *M. incognita acrita*.

Des plantules de tomate, variété St. Pierre, poussant en boîtes de Petri sur gel de silice ont été inoculées à raison de 100 larves écloses depuis 24 heures par boîte de Petri contenant 5 plantules. Les larves se groupent autour de la zone sous-apicale et suivent cette zone pendant sa progression. Les galles n'apparaissent pas immédiatement sur les racines dont la croissance est rapide (Fig. 8). Les racines colorées deux jours après l'inoculation contiennent jusqu'à 50% des larves inoculées.

Des plantules de *Crotalaria astragalina*, inoculées dans les mêmes conditions, ne montrent aucune déformation, même légère, des racines; colorées deux jours après l'inoculation, ces racines ne contiennent que 1 à 2% des larves inoculées.

Conclusion

Si les larves de *Meloidogyne javanica* pénètrent en aussi grand nombre dans les racines de tomate que dans celles de crotalaires et qu'elles suivent chez la tomate un cycle normal de développement, chez la crotalaire utilisée dans ces expériences les larves, bien qu'ayant commencé leur développement et accompli au moins leur deuxième mue (cf. fig. 6 et 7), meurent dans un délai de 6 à 8 jours. Il y a de très fortes chances pour qu'aucune femelle ne puisse arriver à maturité dans les racines de crotalaire : dans le cours d'autres travaux il nous a été donné d'observer un très grand nombre de racines de plusieurs espèces de crotalaires, dont *Cr. astragalina*, ayant poussé sur une terre lourdement infestée par *M. javanica*, sans avoir jamais observé de femelles adultes.

Les granulations très clairsemées visibles sur la figure 3 trahissent l'impossibilité où se trouvent les larves de *Meloidogyne javanica* de se nourrir dans les racines de crotalaires dont elles ressortent en grand nombre lorsque l'on met ces racines à l'aspersion deux jours après l'inoculation. Dans les racines de tomate les larves trouvent tout de suite une nourriture convenable : elles commencent plus tôt leur transformation et perdent rapidement leur mobilité, d'où leur incapacité à ressortir des racines mises à l'aspersion.

Bird (1959) note que, dans les meilleures conditions, les larves de *Meloidogyne javanica* accomplissent leur deuxième mue environ 24 heures après leur pénétration dans les racines de tomate et que, dès ce moment, elles sont incapables de se nourrir. Les larves doivent donc prélever sur leur hôte, pendant un court laps de temps, suffisamment de réserves énergétiques pour parvenir à leur cinquième et dernier stade à partir duquel elles pourront recommencer à se nourrir. La pénétration d'une larve de *M. javanica* dans les racines de *Crotalaria astragalina* suffit à induire, quoiqu'avec un certain retard, le démarrage de la deuxième mue. La larve commence alors à se développer, mais ce développement prend bientôt une allure désordonnée : des transformations telles que le dédoublement de la paroi cuticulaire ou l'apparition de la pointe caudale se produisent alors que le diamètre du corps n'augmente que très peu. La larve, faute d'avoir pu se nourrir, meurt, ayant épuisé les réserves qu'elle possédait avant de pénétrer dans la racine de crotalaire.

On constate une grande différence de réaction de la tomate vis à vis des deux espèces de *Meloidogyne* étudiées ici. Cette plante réagit beaucoup plus fortement et rapidement à la pénétration des larves de *M. javanica* qu'à celle des larves de *M. incognita acrita*. Quant à la crotalaire, elle se laisse beaucoup plus facilement envahir par *M. javanica* que par *M. incognita acrita*.

Les résultats exposés ici n'ont qu'un caractère préliminaire. D'autres expériences viendront compléter cette étude et permettront peut-être d'apporter des réponses plus complètes et plus cohérentes aux problèmes que pose l'infection des plantes par les larves de *Meloidogyne*.

BIBLIOGRAPHIE

- BIRD, A. F. — (1959). Development of the root-knot nematodes *Meloidogyne javanica* (Treub) and *Meloidogyne hapla* Chitwood in the tomato. *Nematologica* 4, 1, 31-42.
- DASTE, PH. — (1958). Recherche sur l'écologie bactérienne dans la rhizosphère de quelques plantes supérieures. *Rev. Cyt. Biol. Veg.* XIX, Suppl. 1, 1-215.
- GILLARD & VAN DEN BRANDE, J. — (1956). Influence de la lumière sur le développement du nématode des racines, *Meloidogyne* sp. *Nematologica*, I, (3), 184-188.
- GOODEY, T. — (1951). Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. *Tech. Bull. Minist. Agric. Lond.* No. 2, 47 pp.
- PEACOCK, F. C. — (1957). Studies on root-knot nematodes of the genus *Meloidogyne* in the Gold Coast. I : Comparative development on susceptible and resistant host species. *Nematologica* 2, 76-84.
- PEACOCK, F. C. — (1959). The development of a technique for studying the host/parasite relationship of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* under controlled conditions. *Nematologica* 4, 43-55.
- RIGGS, R. D. & WINSTEAD, N. N. — (1959). Studies on resistance in tomato to root-knot nematodes and on the occurrence of pathogenic biotypes. *Phytopathology*, 49, 11, 716-724.
- SASSER, J. N. & TAYLOR, A. L. — (1952). Studies on the entry of larvae of the root-knot nematodes into roots of susceptibles and resistant plants. *Phytopathology* 42, 474.