

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER

DÉPARTEMENT DE NÉMATOLOGIE

Etude des relations interspécifiques et de la formation
des biotypes à l'intérieur du genre Meloidogyne

p a r

C. NETSCHER

M a i 1963

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

N° : 33938, ex 1

Cote : B

P4 M

INTRODUCTION

Dans tous les pays chauds, y compris la région méditerranéenne, aussi bien que dans les serres dans les régions tempérées, les sols sont très souvent infestés par différentes espèces de nématodes appartenant au genre Meloidogyne et connues sous le nom vulgaire de "nématodes des racines noueuses" ("root-knot nematodes"). Ces nématodes attaquent un grand nombre d'espèces végétales. Les plantes maraîchères, entre autres, sont particulièrement sensibles à ces parasites : c'est ainsi que la tomate, la laitue, le concombre, le gombo (Hibiscus esculentus), le piment, les haricots, les carottes, le céleri, le persil, les oignons, etc. sont parasités par les Meloidogyne. En dehors des plantes maraîchères, les Meloidogyne constituent un fléau en pays chauds pour les cultures de tabac, de pommes de terre, de certaines plantes à fibres (jute en particulier), de Vigna sinensis, etc....

A/ LES DONNÉES :

1) Symptômes et dégâts

Ce sont les racines qui montrent les symptômes d'attaque ; elles portent de nombreuses galles dont la forme et la taille varient selon la plante-hôte, le type du parasite et les conditions environnantes. Sur un système racinaire de laitue, par exemple, on peut observer un grand nombre de petites galles d'un diamètre de 1 à 4 mm et, par contre, sur les tomates des galles irrégulières de plus de 10 cm de longueur et 3 cm de diamètre. Dans la plupart des cas on trouve des galles d'une taille moyenne (1 cm environ).

En général le développement de la plante est retardé, les feuilles des plantes attaquées sont souvent d'apparence malade, frisées, chlorotiques, petites, et la récolte en fruits ou en racines comestibles est faible. Les dégâts peuvent aller, chez la tomate, jusqu'à l'absence complète de fruits et chez le tabac jusqu'à la mort du plant avant que les feuilles n'atteignent une taille commercialisable.

2) Biologie du parasite

Les oeufs de Meloidogyne sont enrobés dans une masse gélatineuse attachée au corps de la femelle. Un bon nombre d'entre eux éclot dans le sol. Le nombre des oeufs produits par une femelle varie considérablement, mais à Adiopodoumé une moyenne de 1.000 oeufs par femelle a été observée chez M. incognita acrita.

Les larves qui sortent des oeufs ont une longueur de 0,3-0,4 mm et sont capables de se déplacer dans le sol ; elles constituent le stade infectant du parasite ; les larves peuvent en effet pénétrer dans les parties jeunes des racines en se forçant une entrée grâce au stylet situé à la partie avant du nématode. Une fois entrées, les larves perdent leur mobilité, s'épaississent et subissent plusieurs transformations ou "mues". C'est dans les racines que la différenciation en mâles et femelles s'accomplit. Les femelles sont piriformes à globuleuses, d'une teinte blanchâtre, à cuticule lisse et brillante ; elles peuvent atteindre un diamètre de 1 à 1,5 mm et sont donc visibles à l'oeil nu. Tout le cycle peut se réaliser en 3 à 5 semaines selon les conditions environnantes. Les Meloidogyne secrètent des substances qui activent le développement des tissus végétaux les entourant et causent ainsi les galles décrites plus haut. Ces galles peuvent contenir plusieurs femelles, et dans les plus grosses d'entre elles on peut rencontrer plusieurs générations du nématode. Les mâles, allongés, vermiformes, sont en général rares et n'ont qu'un rôle parasitaire discret.

3) Caractérisation des espèces

Jusqu'à une date récente, les "nématodes des racines noueuses" étaient considérés comme une seule espèce appartenant au genre Heterodera (H. marioni) car ils étaient très proches morphologiquement des autres membres de ce genre. Cependant les Heterodera typiques ne produisent pas de galles et possèdent une

cuticule plus dure, souvent colorée ; de plus la plupart de leurs oeufs ne sont pas déposés directement dans le sol mais demeurent dans le corps de la femelle dont la cuticule durcit après la mort et devient ainsi un "kyste" à l'intérieur duquel les oeufs peuvent rester quiescents pendant des périodes atteignant plusieurs années.

Chitwood, en 1949, disjoint H. marioni des autres Heterodera et rétablit pour cette espèce le genre Meloidogyne qu'il subdivise en cinq espèces et une variété. Auparavant, Christie & Albin (1944) avaient noté la présence probable de races biologiques suivant que les différentes populations se reproduisaient ou non sur le cotonnier. On ne pouvait, à ce moment, différencier des espèces à l'intérieur du groupe H. marioni car l'on ne possédait pas de critères taxonomiques précis. Chitwood découvrit que l'ornementation cuticulaire de la région périnéale était caractéristique de différentes populations de Meloidogyne et pouvait servir de base à la différenciation des espèces. Malheureusement l'ornementation périnéale est très variable à l'intérieur d'une même espèce et il est parfois très difficile de dire si un type donné appartient à une espèce a ou à une espèce b, les caractéristiques de cette ornementation étant souvent très vagues. Ainsi il est extrêmement difficile de distinguer entre certaines populations de M. arenaria et de M. hapla, de même entre M. incognita et M. incognita acrita. Nous avons même trouvé parfois certaines ornementations périnéales dont le côté gauche était du type incognita et côté droit du type arenaria. En ajoutant à cela que fréquemment les populations rencontrées dans un même échantillon appartiennent à plusieurs espèces, cette ornementation périnéale représente donc un outil difficile à utiliser, et parfois extrêmement aléatoire.

4) Spécificité parasitaire

Jusqu'au travail de Chitwood des centaines de plantes hôtes appartenant à différentes familles avaient été signalées.

Depuis le rétablissement du genre Meloidogyne on a commencé à établir des listes d'hôtes pour chaque espèce de Meloidogyne mais un grand nombre d'entre eux, sinon la majorité, sont sensibles à plusieurs espèces. Sasser (1954) put définir un petit nombre d'hôtes ayant des réactions différentes envers quatre espèces de Meloidogyne ; il pouvait ainsi distinguer ces espèces grâce aux différences dans les réactions de l'hôte. La valeur pratique de semblables tests est très limitée car ils demandent un temps assez long avant que les résultats en puissent être enregistrés et, de plus, ils ne permettent pas d'identifier les populations mélangées. En vue de recommander des rotations de cultures, il est cependant essentiel d'entreprendre ce type de travail expérimental.

Avec l'accroissement des connaissances sur l'éventail des hôtes des différentes espèces de Meloidogyne, il devint clair que la même espèce ne produit pas toujours la même réaction sur un hôte donné. Il doit être souligné que ces différences enregistrées chez diverses populations de la même espèce ont été très fréquemment observées : ainsi M. javanica de Louisiane n'est pas capable d'infecter Lycopersicum peruvianum, tandis qu'en Australie la même plante est gravement attaquée par cette espèce (Sasser, 1954 ; Sauer & Giles, 1957) ; de même M. javanica n'attaque pas le fraisier aux Etats-Unis (Sasser, 1954) tandis que cette plante y est sensible en Israël (Minz, 1958).

5) Nombres chromosomiques

La variabilité dans la réaction de l'hôte jointe aux difficultés dues à l'identification par les caractères morphologiques incitèrent la recherche d'autres méthodes pour clarifier ce problème. Malheureusement les résultats obtenus lors des recherches cytologiques ne sont guère encourageants car s'ils révèlent une variabilité dans les nombres chromosomiques des différentes espèces, cette variabilité existe également à l'intérieur d'une même espèce (cf. tableau ci-après).

	Triantaphyllou	Mulvey	Triantaphyllou
	1956	1960	1962
<u>M. incognita</u>	40	20	-
<u>M. incognita</u> <u>acrita</u>	-	27	-
<u>M. arenaria</u>	56	18-20 27-30	34, 35, 37, 51, 54
<u>M. hapla</u>	16	20	-
<u>M. javanica</u>	48	43,46,48	18-27

Ces différences peuvent être dues aux diverses techniques de coloration employées, ou représenter certains degrés de polyploidie ou d'aneuploidie ; en tout état de cause ces données n'apportent aucune solution pour la caractérisation des espèces.

6) Modes de reproduction

Un autre fait qui complique la compréhension de ce genre c'est que nous ne savons pas s'il existe ou non une reproduction sexuée. Il a été montré (Tyler, 1933) que la parthénogenèse existe. Triantaphyllou (1962), d'autre part, a observé que dans le cas où la copulation a eu lieu les spermatozoïdes pénètrent dans les oeufs mais que la caryogamie ne se produit pas. Naturellement, les observations cytologiques sont restreintes à un petit nombre d'oeufs alors qu'en fait le nombre d'oocytes produit par une seule femelle peut dépasser le millier. Il demeure donc possible que de temps en temps la reproduction sexuée se produise.

Triantaphyllou a également observé que les changements défavorables pour le nématode dans les conditions environnantes accroissent le nombre de mâles dans la population. D'autre part dans les galles radiculaire ne contenant que quelques nématodes

~~aucun mâle n'est observé, alors que dans les racines contenant~~
une forte population il existe un nombre considérable de mâles.
En l'absence de mâles les femelles sexuellement mûres ne contiennent pas de spermatozoïdes tandis que ceux-ci sont présents dans la spermathèque des femelles associées à des mâles. Dans les racines de tomate mises en incubation en atmosphère humide il a été observé que des femelles en cours de développement peuvent subir un changement de sexe et devenir mâles. Chez certaines variétés de soja il a été démontré qu'il existe une corrélation positive entre le pourcentage de mâles et le degré de résistance des variétés (Dropkin, 1959). Tous ces faits peuvent se résumer en un seul : lorsque les circonstances sont défavorables, le nombre de mâles s'accroît rapidement ; lorsque les circonstances sont favorables, la reproduction asexuée est la règle.

Les observations mentionnées ci-dessus révèlent un grand désordre dans les aspects morphologique, physiologique et cytologique de la systématique du genre Meloidogyne ; ceci n'a cependant pas empêché que depuis le rétablissement de ce genre sept nouvelles espèces aient été décrites, principalement basées sur la morphologie de l'ornementation périnéale.

RECHERCHES PROPOSÉES

Nous espérons aboutir à une plus grande compréhension des différents problèmes exposés ci-dessus en combinant les méthodes taxonomique, physiologique et cytologique de la manière suivante :

1/ Collecter des femelles de Meloidogyne sur différents hôtes et dans différentes localités ; les identifier ; procéder, si possible, à une numération chromosomique ; multiplier chaque population sur la plante-hôte originelle. Pour parer aux difficultés suscitées par la culture de la plante-hôte et éviter

les infestations par d'autres espèces de nématodes, il est suggéré de ne collecter de nématodes que sur des plantes facilement propageables par semences et, si possible, annuelles.

2/ a) Mettre au point un éventail d'hôtes d'environ dix plantes-tests différentes, les inoculer avec la population originale (à condition que cette population présente une certaine uniformité morphologique).

b) Infester avec la population originelle des variétés appartenant aux plantes-tests (2a) et réputées résistantes au Meloidogyne en question de façon à établir de nouvelles races physiologiques agressives, capables d'attaquer les variétés résistantes de la plante-hôte (races appelées "races B").

3/ Essayer de trouver une relation entre les caractères morphologiques des souches et leur réaction sur les plantes-tests 2a.

4/ Observer la présence de galles et de masses d'oeufs sur les plantes résistantes (cf. 2b) et inoculer avec ces races B les plantes tests (2a) ; observer si des différences se font jour avec la "population-mère" ; essayer de trouver des différences morphologiques avec la "population-mère".

Les races B mentionnées en 2b ont été observées par différents auteurs (Triantaphyllou, 1956 ; Riggs & Winstead, 1959) ; elles peuvent procurer le moyen de résoudre quelques uns des problèmes, ainsi que cela sera développé ci-après. Les points 3 et 4 combinent les critères morphologiques et physiologiques. Nous espérons par ce moyen montrer si le concept d'espèce proposé par Chitwood et accepté par la plupart des nématologistes possède une valeur pratique. S'il est établi une corrélation entre le type d'ornementation périnéale et l'éventail des hôtes, autrement dit si le concept d'espèce est valable, ce résultat sera d'une grande valeur pour proposer des rotations de cultures destinées à supprimer les populations de Meloidogyne.

L'incertitude au sujet du rôle des mâles dans la reproduction du nématode, combinée avec la faculté de parthénogenèse et avec la grande variabilité des Meloidogyne, rend très spéculatives les théories sur le mécanisme de la reproduction. Cependant une hypothèse de travail peut être avancée et des essais destinés à vérifier ces vues seront proposés plus loin.

En supposant qu'il n'existe pas de reproduction sexuée la variabilité des nématodes peut être expliquée par la présence d'un grand nombre de clones ; les différences observées entre les clones seraient alors le fait de mutations. En opposition avec cette théorie le nombre de mutations est généralement bas et beaucoup d'entre elles sont léthales ou aboutissent à une moins bonne adaptation au milieu. D'un autre côté Triantaphyllou n'a jamais observé de fusion entre les gamètes mâles et femelles ; mais sur ce point il ne doit pas être oublié que dans les circonstances normales plusieurs centaines de femelles produisant chacune au moins mille ovocytes sont présentes dans un mètre carré de sol moyennement infesté. On devrait donc travailler sur un très grand nombre d'individus pour pouvoir espérer observer la reproduction sexuée.

Dropkin (1953) a observé dans la descendance d'une femelle deux animaux avec une ornementation périnéale particulière ; dans la descendance de ces individus le pourcentage de ces plaques périnéales anormales fut beaucoup plus grand. Triantaphyllou (1956) rapporte que Riggs a pu séparer d'une seule masse d'oeufs provenant d'une femelle "normale" une population de "race B" attaquant les tomates résistantes.

Grâce à ces quelques informations on peut émettre une théorie expliquant ces phénomènes, mais elle demeure cependant très spéculative. On peut supposer que dans des conditions normales une population moyenne de nématodes se reproduisant parthénogénétiquement est présente dans un champ. Si les conditions deviennent défavorables pour le nématode, il en résultera un accroissement du nombre des mâles. La reproduction sexuée peut

alors avoir lieu entraînant l'échange des matériels génétiques, ce qui fournit une base plus large à la sélection de types adaptés aux nouvelles conditions. L'accroissement du nombre des mâles a pour effet que peu de femelles se reproduiront sans copulation. Si l'on suppose qu'une fois sur quelques millions une vraie fécondation (avec caryogamie) a lieu, cela signifie que une sur mille des femelles ayant copulé, et produisant chacune au moins mille oeufs, peut produire un oeuf fécondé. En tablant sur une infestation moyenne de dix femelles par gramme de racines de tomate, un nématode pour cent grammes de racines peut se reproduire sexuellement. Ainsi avec un très faible taux de reproduction sexuée un relativement haut degré de variation peut être obtenu, cela dû au grand nombre des individus touchés par le phénomène. On peut objecter que le même calcul peut être fait pour obtenir le même taux de mutations, mais si l'on suppose que la mutation est seule responsable de la diversité des Meloidogyn il n'est pas possible d'expliquer les variations dans la descendance d'une seule masse d'oeufs comme il a été mentionné par Dropkin et Riggs.

Pour essayer de déterminer si la reproduction sexuée a lieu, les expériences suivantes peuvent être mises en place :

A partir d'une population provenant d'une seule masse d'oeufs on inocule des tomates avec un faible nombre de larves (de façon à éviter l'apparition des mâles) et les variations morphologique, physiologique et cytologique sont notées. Une autre partie de cette même population est utilisée pour infecter un hôte moins favorable avec un grand nombre de larves (pour induire la présence de mâles) et la variabilité sera notée dans la descendance.

Un autre type d'expérience peut être mis en place pour observer si la recombinaison de matériel génétique a lieu : les races B de la tomate n'attaquent pas les tabacs résistants (Triantaphyllou, 1956 ; Riggs & Winstead, 1959) ; de même les races B du tabac n'attaquent pas les tomates résistantes. Un nombre

égal de larves des deux races B-sera utilisé pour inoculer une plante-hôte commune en prenant soin que toutes les circonstances soient favorables à la production de mâles ; cette population sera appelée population I. Cette population consistera soit en un mélange des deux populations originales, soit en un mélange de ces deux populations et de quelques hybrides. Pour séparer les hybrides des populations parentes originales la méthode suivante peut être employée : la population I sera utilisée pour inoculer des tabacs résistants et des tomates résistantes. Sur les tomates résistantes seule la race B-tomate peut se reproduire (population II-tomate), et sur des tabacs résistants seules les populations B-tabac peuvent se reproduire (population II-tabac). Ainsi si des hybrides sont présents il est possible que soit en F1, soit dans une génération ultérieure, un type intermédiaire de préférence envers l'hôte soit observé. La population II-tabac pourra être utilisée pour inoculer des tomates résistantes et la population II-tomate sera utilisée pour inoculer des tabacs résistants. Si quelques individus se développent et donnent des oeufs, ce sera là une indication certaine que la reproduction sexuée a eu lieu.

Il est ainsi espéré que les recherches ci-dessus proposées pourront aboutir à une meilleure compréhension des problèmes touchant aux relations interspécifiques et à l'apparition de biotypes à l'intérieur du genre Meloidogyne.

C/ REALISATIONS AU 15 MAI 1963

En novembre 1962 MM. Luc et Merny accomplirent une mission au Congo-Brazzaville et en République Centrafricaine d'où ils rapportèrent un certain nombre d'échantillons de sol. Quelques uns de ces échantillons contenaient des larves de Meloidogyne. Des tomates ont été semées sur chacun de ces sols et après deux mois des femelles sexuellement mûres ont été prélevées et identifiées. Elles appartiennent toutes à l'espèce M. incognita acrita, mais il existe également certains types

intermédiaires entre cette espèce et M. arenaria thamesi. Ces populations sont maintenues sur tomate et seront utilisées lors des études ultérieures.

A la fin du mois de janvier nous avons effectué une tournée dans différentes zones forestières et de savane de Côte d'Ivoire où nous avons collecté 50 échantillons de sol et de racines, principalement dans les jardins potagers. L'identification a montré la présence de M. incognita acrita, M. incognita, M. arenaria, M. javanica, M. "type intermédiaire" déjà rencontré au Congo ainsi que les inévitables spécimens qui n'ont pu être identifiés par suite de leur ornementation périnéale aberrante. Nous avons pu établir vingt populations qui sont actuellement maintenues et multipliées sur tomate. Nous nous préparons à collecter un plus grand nombre de spécimens de façon à établir cinq à dix populations pour chaque espèce (définies par l'ornementation périnéale) provenant de différentes régions de l'Ouest africain. En même temps nous avons commencé à tester l'agressivité des populations établies envers différentes plantes.

Enfin une collection de six variétés de soja, quinze espèces de Lycopersicum, six espèces de Nicotiana, deux variétés résistantes d'oignons, quatre variétés résistantes de poisvrons et deux clones résistants de patate douce a été établie et pourra être utilisée pour induire l'apparition des races B.

BIBLIOGRAPHIE

- CHITWOOD B.G. - 1949 - Proc. helm. Soc. Wash., 19, 44-51.
- CHRISTIE J.R. & F.E. ALBIN - 1944 - Proc. helm. Soc. Wash., 11, 31-37.
- DROPKIN V.H. - 1953 - Proc. helm. Soc. Wash., 20, 32-39.
- - 1959 - Phytopathology, 49, 18-23.

- MINZ G. - 1958 - F.A.O. Plant protec. Bull., 6, (1 p.).
- MULVEY R.H. - 1960 - in Nematology. Ed. Sasser J.N. & Jenkins W.R. ; Univ. N. Carolina Pr., p. 321-331.
- RIGGS R.D. & N.N. WINSTEAD - 1959 - Phytopathology, 49, 716-724
- SASSER J.N. - 1954 - Univ. Maryland, Agr. exp. St., Bull. A 71, 31 pp.
- SAUER M.R. & J.E. GILES - 1957 - Nematologica, 2, 97-107,
- TRIANANTAPHYLLOU A.C. - 1956 - Ph. D. Thesis. Univ. N. Carolina, Fac. Agric., 121 pp. mimeogr.
- TRIANANTAPHYLLOU A.C. - 1962 - Nematologica, 7, 105-113.
- TYLER J. - 1933 - Hilgardia, 7, 373-380.

- MINZ G. - 1958 - F.A.O. Plant protec. Bull., 6, (1 p.).
- MULVEY R.H. - 1960 - in Nematology. Ed. Sasser J.N. & Jenkins W.R. ; Univ. N. Carolina Pr., p. 321-331.
- RIGGS R.D. & N.N. WINSTEAD - 1959 - Phytopathology, 49, 716-724
- SASSER J.N. - 1954 - Univ. Maryland, Agr. exp. St., Bull. A 71, 31 pp.
- SAUER M.R. & J.E. GILES - 1957 - Nematologica, 2, 97-107,
- TRIANANTAPHYLLOU A.C. - 1956 - Ph. D. Thesis. Univ. N. Carolina, Fac. Agric., 121 pp. mimeogr.
- TRIANANTAPHYLLOU A.C. - 1962 - Nematologica, 7, 105-113.
- TYLER J. - 1933 - Hilgardia, 7, 373-380.