

Spécificité de la diapause embryonnaire des œufs de *Meloidogyne* (Nematoda)

Georges de GUIRAN et Marie-Ange VILLEMIN*

INRA, Station de Recherches sur les Nématodes,
123 Bd Francis-Meilland, 06602 Antibes, France.

RÉSUMÉ

L'arrêt de développement des œufs, considéré comme une diapause, est présent avec un pourcentage variable, chez toutes les souches des espèces les plus répandues de *Meloidogyne* (*M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica*) testées sur tomate.

L'inoculation d'une souche de *M. incognita* et de trois souches de *M. arenaria* à trois plantes différentes (tomate, concombre, soja) a permis de montrer que la fécondité des femelles n'est pas liée à la réaction morphologique de l'hôte (indice de galle) et que le pourcentage moyen de diapause au sein des masses d'œufs dépend à la fois de la plante hôte et de la souche du parasite.

SUMMARY

Specificity of the embryonic egg diapause in Meloidogyne (Nematoda)

The arrest of development of eggs, considered to be a diapause, is present in all the strains of the most widespread *Meloidogyne* species (*M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica*) tested on tomato (Tab. 2).

By inoculating one strain of *M. incognita* and three strains of *M. arenaria* to three plants (tomato, cucumber and soybean), it has been shown that the fecundity of the females was not correlated to the morphological reaction of the host (root-knot index) and that the mean percentage of diapause within egg masses depends on the host plant and on the strain of the parasite.

Plants showing low root galling may thus highly multiply the nematode in the soil. Those promoting high percentages of diapause could be regarded as somewhat resistant but they develop an important potential inoculum and, favouring the survival of the parasite, are in fact detrimental for following susceptible crops.

Malgré leur reproduction par parthénogenèse mitotique qui devrait, par la stabilité du génome, leur assurer une grande uniformité, *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* et *M. javanica* montrent une variabilité importante sur les plans biométrique, morphologique et physiologique. Il en est ainsi, en particulier, de l'éventail des plantes hôtes qui, bien qu'étant extrêmement large (2.000 environ pour chaque espèce), diffère parfois, selon les souches, à l'intérieur d'une même espèce.

La sensibilité d'un hôte se traduit non seulement par une réaction histologique ou physiolo-

gique plus ou moins importante de cet hôte, mais également par une capacité plus ou moins grande à permettre la reproduction du parasite : Tyler (1938) a montré que le nombre des œufs pondus par une femelle, environ deux mois après l'inoculation, pouvait varier de 1.400 à près de 3.000 selon l'hôte. En outre, ces œufs ne présentent pas tous la même aptitude au développement : Ishibashi (1969) a signalé qu'ils pouvaient être « dormants » et un arrêt de leur développement à un stade indifférencié a été mis en évidence et considéré comme une diapause (de Guiran, 1979). Sur la tomate les

* Adresse actuelle : « Les Marnes », Sancy les Provins, 77320 La Ferté Gaucher, France.

pourcentages d'œufs en diapause au sein des masses d'œufs de *M. incognita* se distribuent selon une loi log-normale et cette distribution se retrouve à chaque génération. Par contre, on ne sait pas si cette diapause est présente chez les autres espèces de *Meloidogyne*, ni si elle montre les mêmes caractéristiques sur différentes plantes hôtes. Les résultats présentés ici tentent d'éclaircir ces deux points.

Matériel et méthodes

Les plantes ont été cultivées dans des pots contenant 500 cm³ d'un mélange de sol sableux et de terreau végétal. Elles ont été inoculées avec des suspensions de larves de deuxième stade (L₂) écloses depuis moins de 24 heures à raison de 1.000 L₂ par plante. Huit semaines après l'inoculation les plantes ont été déterrées, leurs racines lavées avec précaution et leur degré d'attaque évalué par un indice de galle échelonné de 0 à 8 suivant le tableau 1. Les masses d'œufs ont ensuite été prélevées sur les racines. Le pourcentage d'œufs en diapause a été établi en faisant éclore ces masses d'œufs dans un film d'eau aéré pendant 21 jours et en comptant ensuite le nombre d'œufs non éclos après coloration au New Blue R (de Guiran, 1979). Les tests ont toujours comporté quatre répétitions portant chacune sur dix masses d'œufs choisies au hasard dans un lot homogène.

Toutes les opérations ont été conduites à 28°, les plantes étant soumises à une photo-

période de 6.000 lux pendant quinze heures quotidiennes et à une humidité atmosphérique relative de 70 %; seul *M. hapla* a été élevé à 24°. Lorsque cela a été jugé utile, les données ont été analysées par le test de Kruskal et Wallis, avec classement par la méthode de Dunn (1964)

Résultats

POURCENTAGES DE DIAPAUSE CHEZ DIFFÉRENTES ESPÈCES ET SOUCHES DE *Meloidogyne* SUR TOMATE

Plusieurs souches de *Meloidogyne* ont été inoculées à des plantules de tomate cv. Montfavet H 63-5 (hybride F1). Les caractéristiques caryologiques et biochimiques de ces souches ont été précisées par Dalmaso et Bergé (1975, 1978). Le tableau 2 donne les chiffres de diapause exprimés en pourcent du nombre d'œufs « pleins » présents dans les masses d'œufs au moment de leur récolte.

On peut constater que le blocage de développement au stade indifférencié apparaît chez toutes les espèces et les souches testées. Il est cependant plus ou moins fréquent selon les cas. Le pourcentage de diapause peut aller de 7 (*M. arenaria* Châteauneuf-du-Pape) à 43 (*M. incognita* Calissane). De plus, si les trois souches de *M. arenaria* présentent une certaine similitude, on constate une variation intraspécifique du simple au double chez *M. incognita* et *M. javanica*.

TABLEAU 1

Indice de galle utilisé pour évaluer le degré d'attaque des racines par *Meloidogyne*.
Root-knot index used to estimate degree of root galling by *Meloidogyne* spp.

0	2	4	6	8
Néant	Quelques petites galles sur les racines secondaires	Racines principales atteintes, abondant avec galles	Racines principales très atteintes, chevelu très peu abondant avec galles	Pas de chevelu, racines principales entièrement recouvertes de galles

1, 3, 5, 7 : valeurs intermédiaires

Tableau 2

Pourcentage de diapause au sein des pontes de différentes espèces et souches de *Meloidogyne* élevées sur tomate.

Percentages of diapause within egg masses of different species and strains of *Meloidogyne* reared on tomato.

Espèce	Souche	% diapause
<i>arenaria</i>	France :	
	Le Grau du Roi (GR)	9,4
	Châteauneuf du Pape (CP)	7,2
	Cros de Cagnes (CC)	8,1
<i>incognita</i>	Côte d'Ivoire	21
	Guadeloupe	38
	France : Calissane	43
<i>javanica</i>	France : Cagnes	18
	Abou-Dabi	10
<i>hapla</i>	France : Aubenas	12

INFLUENCE DE L'HÔTE

Dans une deuxième série d'observations, une des souches de *M. incognita* (Côte d'Ivoire) et les trois souches de *M. arenaria* (Tab. 2) ont été inoculées à quatre espèces végétales : tomate cv. Montfavet H 63.5, concombre cv. Le Généreux, soja cv. Amsoy et avoine de printemps cv. Selma.

L'avoine avait été incluse en vue d'avoir un hôte peu sensible. Aucune des quatre souches ne s'est développée sur cette plante. Les résultats concernent donc la tomate, le concombre et le soja.

Réaction des racines (indice de galle)

Le tableau 3 donne les indices de galle relevés sur les racines des plantes. On constate une bonne homogénéité entre les quatre répétitions d'un même traitement, ce qui permet de parler de différences d'agressivité entre les souches ou de sensibilité entre les plantes. C'est ainsi que le concombre est la plante la plus sensible, tandis que *M. incognita* et la souche Cros de Cagnes de *M. arenaria* sont les plus agressives. Il faut noter que le soja peut réagir faiblement à deux souches de *M. arenaria* et pas du tout à une troisième.

Fécondité des femelles

Pour évaluer d'éventuelles différences de fécondité, dix masses d'œufs supplémentaires ont été choisies pour chaque plante et dissociées par agitation modérée dans une solution de NaClO à 0,5 %. L'ensemble des œufs pleins et des coques vides a été compté sous le microscope. La figure 1 en donne les résultats.

De fortes différences se manifestent à la fois entre les souches et entre les plantes. En particulier on peut voir que les trois souches de *M. arenaria* montrent une capacité de reproduction différente sur la même plante.

Tableau 3

Indices de galle relevés sur les racines de trois espèces végétales inoculées avec une souche de *M. incognita* et trois souches de *M. arenaria* (cf. tableau 2)

Root-knot index of three plant species inoculated with one strain of *M. incognita* and three strains of *M. arenaria* (cf. table 2).

	<i>M. incognita</i>	<i>M. arenaria</i>		
		GR	CP	CC
Tomate	4	3	3	4
	4	3	3	2
	4	3	4	2
	4	3	4	3
Concombre	6	4	5	4
	6	4	4	7
	6	4	4	7
	6	4	5	8
Soja	1	2	0	2
	1	2	0	2
	2	3	0	2
	2	0	0	2

Corrélation indice de galle-fécondité

Le tableau 3 et la figure 1 montrant d'apparentes divergences, une corrélation a été établie entre l'indice de galle, c'est-à-dire la réaction des racines d'une plante, et la fécondité des femelles sur cette même plante. La figure 2 montre les résultats obtenus. Le nuage de points ne révèle aucune orientation privilégiée et le coefficient de corrélation ($r = 0,356$ avec $t = |1,14|$) n'est pas significatif. Il n'y a donc pas de liaison entre l'intensité de la réaction des racines d'une plante à une souche donnée et

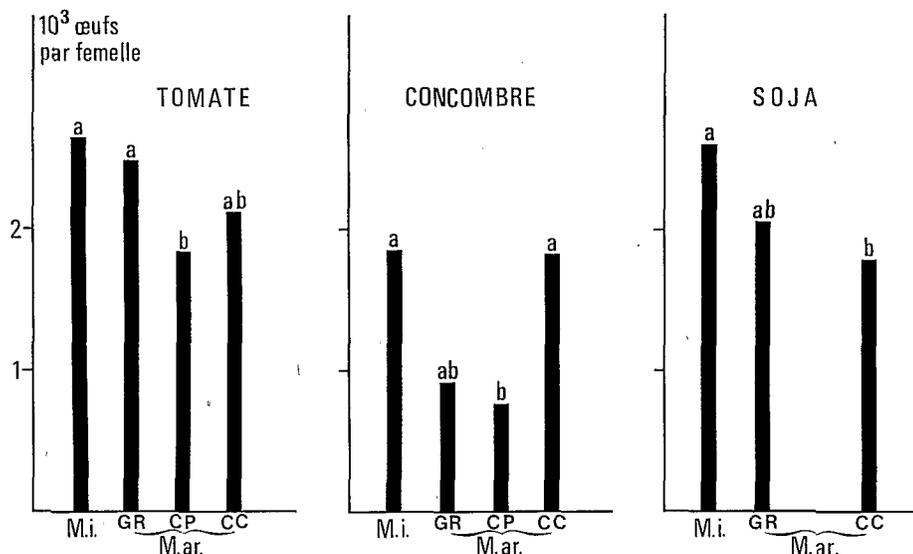


Fig. 1 : Fécondité des femelles d'une souche de *M. incognita* et de trois souches de *M. arenaria* sur tomate, concombre et soja. Les traitements affectés de la même lettre ne diffèrent pas au seuil $\alpha = 0,05$.

Fecundity of the females of one strain of M. incognita and three strains of M. arenaria on tomato, cucumber and soybean. Treatments showing the same letter do not differ at the level $\alpha = .05$.

la capacité des femelles de cette souche à se multiplier sur cette plante.

Diapause

La figure 3 montre les pourcentages de diapause observés dans les masses d'œufs au cours de cette expérience. Pour l'ensemble des résultats la variation de ce pourcentage est plus ou moins importante, le coefficient de variation allant de 5,6 % à 106,7 %. Cette variation est liée au type de distribution, log-normale (de Guiran, 1979). Par contre, au sein d'un même traitement, la variation entre les quatre répétitions est toujours plus faible (cv = 20 %), ce qui permet de considérer le nombre de répétitions comme suffisant.

Les pourcentages de diapause ne diffèrent pas toujours au niveau spécifique : *M. incognita* peut donner plus de diapause que l'une des souches de *M. arenaria* mais ne pas montrer de différence avec les deux autres. Par contre il peut exister une différence d'aptitude à la diapause entre deux souches d'une même espèce : sur le concombre la différence est significative

entre les souches de *M. arenaria* Grau du Roi (GR) et Cros de Cagnes (CC).

Enfin, il faut remarquer le chiffre particulièrement élevé de diapause montré par *M. incognita* (souche de Côte d'Ivoire) sur soja. Si l'on considère le nombre d'œufs en diapause par masse d'œufs de huit semaines, on constate que ce nombre va de 98 à 2.540 et que 77 % des masses d'œufs comprennent plus de 500 œufs en diapause. Une analyse statistique plus fine (test F de Snédécour sur arc sin \sqrt{P} et test de Dunnett) a montré que, sur le soja, *M. incognita* donne des pourcentages de diapause qui diffèrent de façon hautement significative ($\alpha < 0,01$) des deux souches de *M. arenaria*. Il faut souligner que la combinaison *M. incognita*-soja est une de celles qui ont montré la plus grande fécondité chez les femelles (Fig. 1). Mais pour l'ensemble de l'expérience il n'y a pas de corrélation entre fécondité et diapause.

On peut donc conclure que le pourcentage moyen de diapause au sein des masses d'œufs des espèces de *Meloidogyne* étudiées varie selon le type de combinaison « espèce végétale - souche de nématode ».

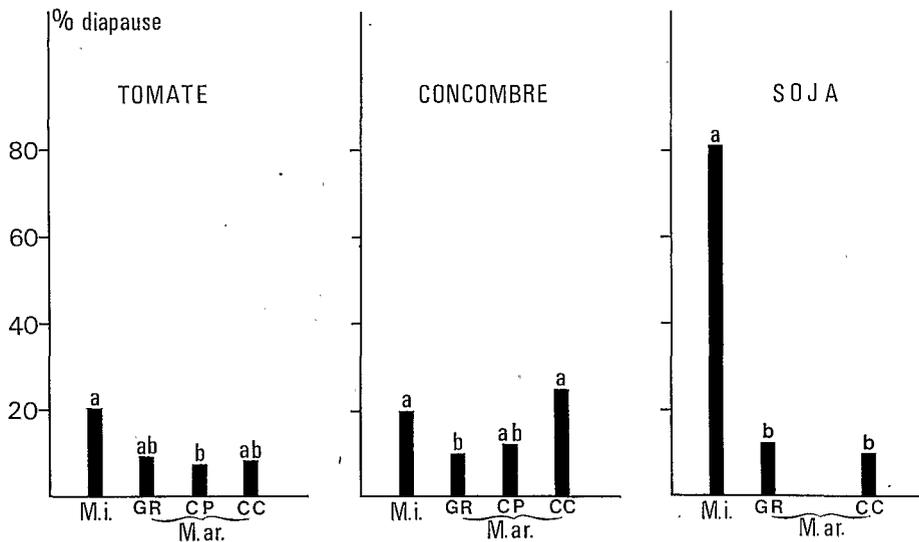


Fig. 3 : Pourcentages de diapause au sein des masses d'œufs de *M. incognita* et *M. arenaria* sur tomate, concombre et soja. Les traitements affectés de la même lettre ne diffèrent pas au seuil $\alpha = 0,05$ (soja : $\alpha = 0,01$).

Percentages of diapause within egg masses of M. incognita and M. arenaria on tomato, cucumber and soybean. Treatments bearing the same letter do not differ at the level $\alpha = .05$ (soybean : $\alpha = .01$).

produire aux différentes souches plus ou moins d'œufs en diapause à la même température, mais ceci reste à démontrer.

On constate de plus que, sur un hôte donné, différentes souches de *Meloidogyne* ne donnent pas les mêmes pourcentages de diapause. Inversement, une souche donnera des pourcentages différents de diapause sur différentes plantes. La fréquence de diapause dépend donc de la nature de la combinaison hôte-parasite et de la qualité des relations physiologiques qui s'établissent entre eux. On a pu démontrer (Ishibashi, 1966; de Guiran, 1980) qu'un défaut de nutrition de la plante tend à accroître le pourcentage de diapause. Il est possible que le nématode réagisse à une moindre aptitude de l'hôte là le nourrir en produisant davantage d'œufs en diapause. La confirmation de cette hypothèse dépend de l'élucidation des mécanismes physiologiques impliqués par le parasitisme des *Meloidogyne*, qui sont encore loin d'être connus.

L'induction d'une forte diapause pourrait alors être regardée comme une « résistance » de la plante, mais elle entraîne la formation d'un inoculum potentiel qui prolonge l'infestation du sol surtout si, comme l'affirme Ishibashi (1969), ces œufs résistent davantage aux contraintes de l'environnement. L'aptitude d'une plante à provoquer cette diapause, et donc à prolonger la survie du parasite, devrait alors être prise en compte pour en décider l'usage dans les assolements sur terrain infesté. De même, l'absence de corrélation entre fécondité du parasite et réaction de l'hôte (indice de galle) implique que des plantes apparemment peu « sensibles » peuvent néanmoins multiplier abondamment le parasite dans le sol.

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leur reconnaissance à K. Stawiecki et à L. Bonnel pour leur coopération.

RÉFÉRENCES

- DALMASSO, A. & BERGÉ, J. B. (1975). Variabilité génétique chez les *Meloidogyne* et plus particulièrement chez *M. hapla*. *Cah. ORSTOM, Sér. Biol.*, 10 : 233-238.
- DALMASSO, A. & BERGÉ, J. B. (1978). Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in *Meloidogyne* spp. Application to the taxonomy of *Meloidogyne*. *J. Nematol.*, 10 : 323-332.
- DUNN, O. J. (1964). Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics*, 6 : 241-252.
- GUIRAN, G. de (1979). A necessary diapause in root-knot nematodes. Observations on its distribution and inheritance in *Meloidogyne incognita*. *Revue Nématol.*, 2 : 223-231.
- GUIRAN, G. de (1980). Facteurs induisant chez *Meloidogyne incognita* un blocage du développement des œufs considéré comme diapause. *Revue Nématol.*, 3 : 61-69.
- ISHIBASHI, N. (1969). Studies on the propagation of the root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) 1919 Chitwood, 1959. *Rev. Pl. Prot. Res.*, 2 : 125-128.
- TYLER, J. (1938). Egg output of the root-knot nematode. *Proc. helminth. Soc. Wash.*, 5 : 49-54.

Accepté pour publication le 24 octobre 1979.