

Étude ultrastructurale de la cuticule de *Pratylenchus brachyurus*, *P. loosi* et *P. sefaensis* (Nemata : Pratylenchidae)

Danamou MOUNPORT*, Pierre BAUJARD** et Bernard MARTINY**

* Laboratoire de Biologie Animale, Faculté des Sciences, Dakar, Sénégal, et ** ORSTOM, Laboratoire de Nématologie, B.P. 1386, Dakar, Sénégal.

RÉSUMÉ

L'ultrastructure de la cuticule de femelles de *Pratylenchus brachyurus*, *P. loosi* et *P. sefaensis* en microscopie électronique à transmission est décrite. *P. brachyurus* a une cuticule deux fois plus épaisse que celle des deux autres espèces étudiées. La cuticule chez les trois espèces comprend une zone corticale essentiellement granuleuse, une zone médiane vacuolaire et une zone basale striée ou fibreuse. L'étude des champs latéraux révèle : *i*) une spécificité de leur forme et de la conformation de la couche médiane vacuolaire en coupe transversale, *ii*) l'existence de couches supplémentaires d'aspect granuleux dans la zone médiane.

SUMMARY

Transmission electron microscopy studies on cuticle of Pratylenchus brachyurus, P. loosi and P. sefaensis (Nemata : Pratylenchidae)

The cuticle of female specimens of *Pratylenchus brachyurus*, *P. loosi* and *P. sefaensis* is studied with transmission electron microscope. *P. brachyurus* cuticle is two times thicker than in *P. loosi* and *P. sefaensis*. The cuticle of the three species is a three-layered structure with a granular cortical zone, a vacuolar median zone and a striated or fibrous basal zone. The study of lateral fields shows *i*) a specificity of their shape and their vacuolar median zone in cross sections, *ii*) supplementary granular layers in the median zone.

L'utilisation de la microscopie électronique a considérablement amélioré notre connaissance de la structure des nématodes phytoparasites. Pendant longtemps, les caractéristiques externes de la cuticule observées au microscope photonique ont été utilisées dans la systématique des nématodes. La tendance depuis quelques années est à la prise en compte de plus en plus courante de critères ultrastructuraux : région labiale, organes de l'appareil digestif, ultrastructure de la cuticule (Shepherd, Clark & Dart, 1972; Maggenti, 1979; Clift & Baldwin, 1985). Dans une étude comparée de la cuticule de divers groupes de nématodes, Maggenti (1979) montre la spécificité de son ultrastructure en fonction des ordres; l'auteur en tire les conclusions phylogéniques, en prenant comme référence un modèle dans l'ordre des Enoplida. La présente étude vise à décrire la cuticule de trois espèces de *Pratylenchus* Filip'ev, 1936 et d'apprécier la variabilité intragénérique de son ultrastructure.

respectivement des localités de Touba Saloum, Touba Gueye et Nebe au Sénégal. Ils sont maintenus en élevage de routine au laboratoire sur niébé [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], sorgho (*Sorghum vulgare* Pers.) et maïs (*Zea mays* L.), respectivement. Les nématodes femelles sont fixés au glutaraldéhyde 2,5 % à froid (4° C) dans du tampon cacodylate de sodium 0,1 M, pH 7,2 pendant une nuit. Ils sont ensuite sectionnés, rincés et postfixés au trétoxyde d'osmium 1 % dans le même tampon pendant 2 heures. Les fragments de nématodes sont alors déshydratés dans des bains à concentration croissante d'éthanol suivis de deux bains d'oxyde de propylène. L'inclusion est réalisée dans la résine de Spurr (1969). Des coupes ultrafines sont obtenues à l'aide d'un couteau de diamant monté sur un ultramicrotome Porter Blum MT1; elles sont recueillies, contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. L'observation est faite au microscope électronique Jeol 100 CXII sous une tension d'accélération de 80 kV.

Matériels et méthodes

Pratylenchus brachyurus (Godfrey, 1929) Filip'ev & Schuurmans Stekhoven, 1941, *Pratylenchus loosi* Loof, 1960, *Pratylenchus sefaensis* Fortuner, 1974 proviennent

Résultats

Le rapport de l'épaisseur de la cuticule au diamètre du corps des trois espèces de *Pratylenchus* est d'environ 1/35. Ceci est à comparer à la valeur moyenne de 1/34,

proposée par Bird (1971) pour les nématodes parasites. Les champs latéraux sont proéminents (Fig. 1 A, D; Fig. 2 A); la cuticule à leur niveau est trois fois plus épaisse (Tab. 1). Les trois espèces de *Pratylenchus* se distinguent nettement entre elles par la forme des champs latéraux en coupe transversale (Fig. 2 D, E, F) : *i*) chez *P. brachyurus*, ils apparaissent sous la forme d'une importante saillie bombée et constituée de trois bourrelets aux contours arrondis; de part et d'autre du champ latéral, on distingue deux incisures longitudinales supplémentaires (Fig. 2 D); des incisures longitudinales plus ou moins marquées peuvent également apparaître au centre des différents bourrelets. Le rapport de l'épaisseur du champ latéral au diamètre du corps chez *P. brachyurus* est d'environ 1/6 vs 1/13 chez les deux autres espèces; *ii*) chez *P. sefaensis*, les champs latéraux ont une face externe plate; les deux bourrelets extérieurs ont, comme chez *P. brachyurus*, des contours arrondis; on peut distinguer, suivant le niveau de la coupe transversale, deux incisures longitudinales supplémentaires, toutefois moins marquées que chez *P. brachyurus*; *iii*) enfin, chez *P. loosi*, les champs latéraux avec quatre incisures ont également une face externe plate mais les deux bourrelets externes présentent des bords anguleux.

La cuticule extérieurement recouverte par une fine membrane limitante (Fig. 1 C, E) peut être subdivisée en trois zones, une corticale, une médiane et une basale en nous référant à la terminologie de Bird (1971). Les mensurations effectuées sur les différentes couches composant la cuticule des espèces étudiées figurent au Tableau 1.

Tableau 1

Épaisseur (μm) des différentes couches constituant la cuticule de femelles de *P. brachyurus*, *P. loosi* et *P. sefaensis* à mi-corps (les chiffres entre parenthèses indiquent les épaisseurs des différentes couches au niveau des champs latéraux. CBS : couche basale striée; CCE : couche corticale externe; CCI : couche corticale interne; CF : couches fibreuses; ZB : zone basale; ZC : zone corticale; ZM : zone médiane).

	<i>P. brachyurus</i>	<i>P. loosi</i>	<i>P. sefaensis</i>
ZC CCE	0,03 (0,03)	0,03 (0,03)	0,02 (0,02)
CCI	0,12 (0,20)	0,10 (0,10)	0,10 (0,16)
ZM	0,12 (0,08-0,35)	0,06 (0,20-0,60)	0,03 (0,16-0,32)
ZB CBS	0,30	0,17	0,15
CF	(0,65-1,00)	(0,40-0,75)	(0,56)
Épaisseur totale	0,60 (1,70)	0,35 (1,10)	0,30 (1,00)

La zone corticale : sa structure est identique chez les trois espèces. Elle comprend *i*) une couche corticale

externe (CCE) trilamellaire d'épaisseur constante apparaissant sous la forme de deux bandes opaques aux électrons séparées par une bande peu dense (Fig. 1 B). Cette structure trilamellaire n'apparaît pas dans certains cas à cause d'un excès de coloration des coupes (Fig. 1 E); *ii*) une couche corticale interne (CCI) d'aspect finement granuleux peu dense aux électrons, légèrement plus épaisse au niveau des champs latéraux (Fig. 2, D; Tab. 1).

La zone médiane : en dehors des champs latéraux, elle est constituée d'une couche unique vacuolaire renfermant des granules plus ou moins denses aux électrons (Fig. 1 B, C; Fig. 2 B). Son épaisseur, comparée à celle des autres couches de la cuticule est généralement faible (Tab. 1). Au niveau des champs latéraux, en allant dans un sens centripète, la zone médiane de la cuticule comprend trois couches : *i*) deux couches d'aspect granuleux (CG) dont la deuxième chez *P. loosi* est généralement plus dense aux électrons que la première; fines au niveau des différentes incisures en coupe transversale, elles atteignent leur épaisseur maximale au milieu de chaque bourrelet du champ latéral (Fig. 2 D, E, F); *ii*) une couche vacuolaire constituée d'une matière plus ou moins dense aux électrons dont la section en coupe transversale est variable suivant l'espèce considérée : chez *P. sefaensis*, la couche est continue, très fine sous le bourrelet central et présente des épaississements localisés sous les deux bourrelets externes (Fig. 3); chez *P. brachyurus*, la couche est discontinue; elle apparaît sous la forme de trois à quatre éléments longitudinaux, de section ovoïde, suivant le nombre de bourrelets du champ latéral (Fig. 3); enfin, chez *P. loosi*, une coupe transversale de cette couche montre deux sections de forme trapézoïdale uniquement sous les deux bourrelets externes; le bourrelet central du champ latéral est dépourvu de troisième couche dans la zone médiane de la cuticule (Fig. 3).

La zone basale : chez les trois espèces, en dehors des champs latéraux, la zone basale est une couche unique striée représentant en épaisseur approximativement la moitié de la cuticule; elle se rétrécit légèrement et périodiquement entre les anneaux en coupe longitudinale (Fig. 1 B, E; Fig. 2 B). Les stries sont perpendiculaires aux fibres musculaires et apparaissent avec une périodicité d'environ 0,018 μm chez *P. brachyurus* et 0,015 μm chez les deux autres espèces. En coupe transversale, les stries sont radiales avec une périodicité de 0,020 μm chez les trois espèces de *Pratylenchus*. Une coupe tangentielle passant dans la couche striée montre le quadrillage formé par les striations longitudinales et transversales (Fig. 2 G, I). La couche striée est rattachée aux structures sous-jacentes par des hemidesmosomes (Fig. 1 B). Sous les champs latéraux, la couche basale striée est remplacée par deux couches fibreuses (CF₁, CF₂) chez les trois espèces (Fig. 2 D, E, F). Une coupe tangentielle chez *P. sefaensis* (Fig. 2, H) montre que les

fibres de chaque couche sont orientées obliquement par rapport à l'axe longitudinal de l'animal, formant un angle de 30° environ. On pourra enfin noter que la direction des fibres dans l'une des couches est croisée par rapport à celle des fibres dans l'autre.

Discussion

L'épaisseur de la cuticule des espèces étudiées varie du simple au double. Une comparaison des épaisseurs observées avec celles de quelques nématodes phytopara-

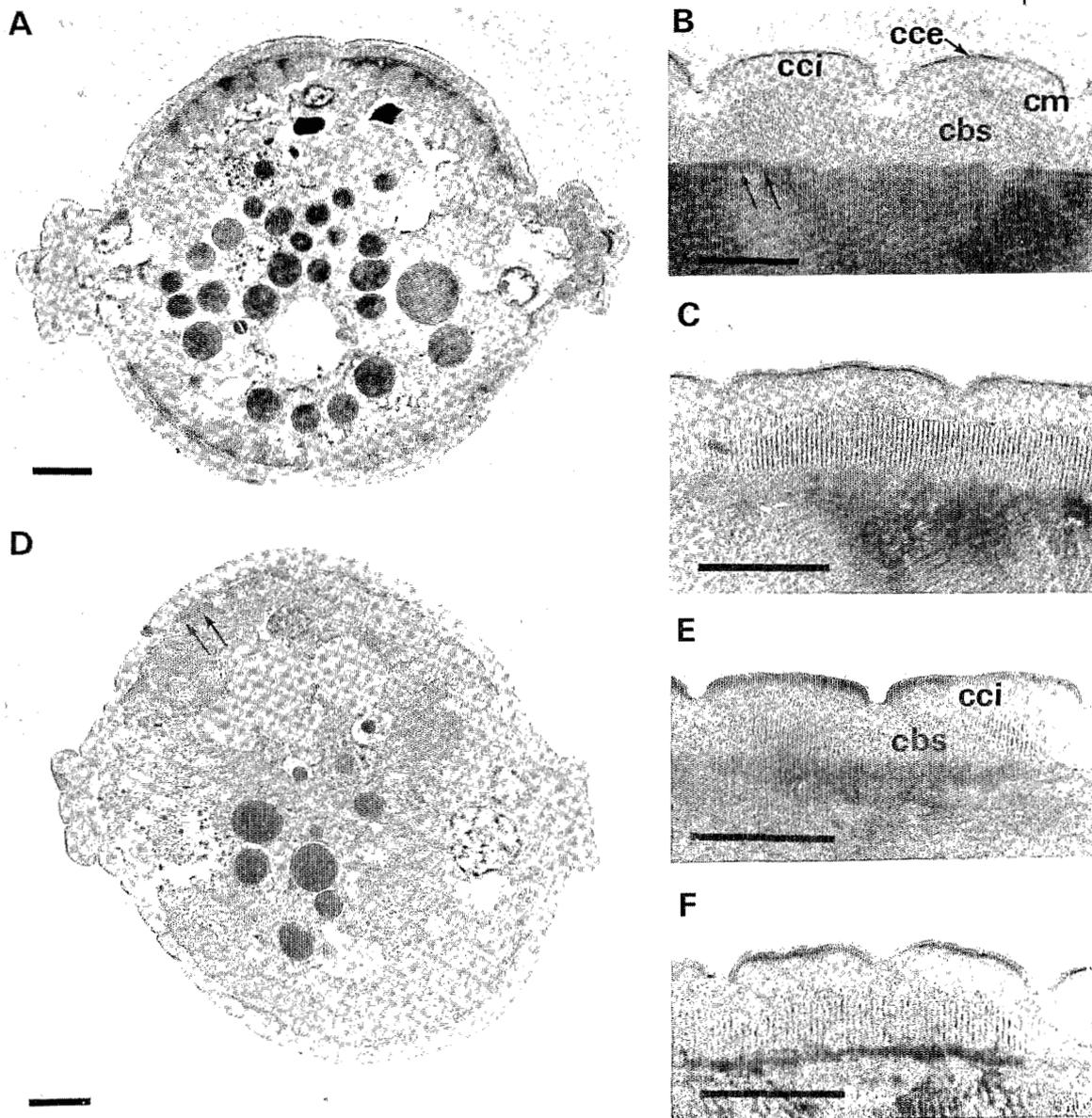


Fig. 1. Ultrastructure de la cuticule chez les femelles de *P. brachyurus* et *P. sefaensis* en coupes longitudinale (CL) et transversale (CT) — *P. brachyurus* : A (CT), B (CL), C (CT); *P. sefaensis* : D (CT), E (CL), F (CT) [l'échelle représente 2 µm (A, D) et 0,5 µm (B, C, E, F)].

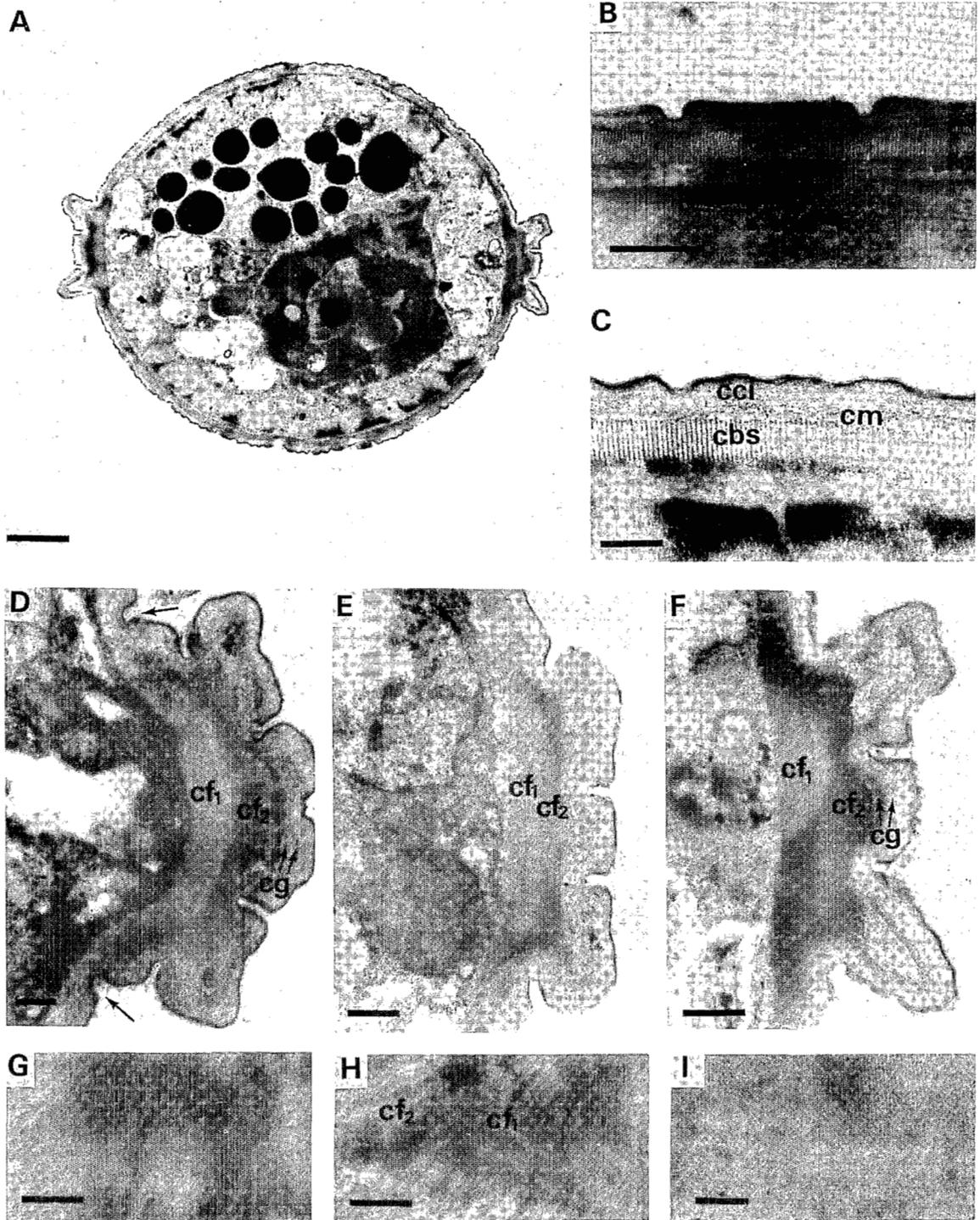


Fig. 2. Ultrastructure de la cuticule chez les femelles de *P. brachyurus*, *P. loosi* et *P. sefaensis* en coupes longitudinale (CL), transversale (CT) et tangentielle (CTG) — *P. loosi* : cuticule en dehors des champs latéraux [A (CT), B (CL), C (CT), I couche basale striée (CTG)] et au niveau du champ latéral [F (CT)]; *P. brachyurus* : D (CT, champ latéral; les flèches indiquent les incisures longitudinales supplémentaires), G, couche basale striée (CTG); *P. sefaensis* : E, champ latéral (CT), H, couches fibreuses (CTG). L'échelle représente 2 μm (A), 0,5 μm (B, D, E, F) et 0,25 μm (C, G, H, I).

sites de l'ordre des Tylenchida précédemment étudiés (Tab. 2) montre que *P. loosi* et *P. sefaensis* ont une cuticule très fine approchant celle d'*Aphelenchus avenae*; *P. brachyurus* occupe une position intermédiaire entre les espèces précitées et celles du genre *Tylenchorhynchus*; on peut établir un parallèle entre la forme des champs latéraux et celle de la couche médiane vacuolaire en coupe transversale (Fig. 3). Chez *P. loosi* et *P. sefaensis* où les champs latéraux ont une face externe aplatie, la couche médiane vacuolaire apparaît nettement au niveau des bourrelets externes; elle est très fine (*P. sefaensis*) ou inexistante (*P. loosi*) au niveau du bourrelet central. *P. brachyurus* qui se distingue des deux autres espèces par des champs latéraux bombés, présente une couche vacuolaire d'épaisseur uniforme sous les différents bourrelets. Nous avons également remarqué au niveau des champs latéraux la présence de deux couches granuleuses situées immédiatement sous la couche corticale interne; à notre connaissance, la présence de telles couches dans la zone médiane n'a jamais été signalée dans les travaux antérieurs sur l'ultrastructure de la cuticule de tylenchides phytoparasites. Johnson, Van Gundy et Thomson (1970) ont présenté des descriptions détaillées de champs latéraux de *Hirschmanniella belli*, *H. gracilis*, *Aphelenchus avenae* et *Hemicyclophora arenaria*, sans mentionner la présence de telles couches granuleuses dans la zone médiane. Kisiel, Himmelhoch et Zuckerman (1972) ont décrit la cuticule de *Pratylenchus penetrans* mais n'ont pas révélé l'ultrastructure des champs latéraux.

Tableau 2

Épaisseur totale (μm) de la cuticule de quelques nématodes phytoparasites (F = femelles)

Espèces	Épaisseur de la cuticule	Auteurs
<i>Pratylenchus brachyurus</i>	0,60	Présent travail
<i>Pratylenchus sefaensis</i>	0,30	Présent travail
<i>Pratylenchus loosi</i>	0,35	Présent travail
<i>Pratylenchus penetrans</i>	0,51	Kisiel, Himmelhoch & Zuckerman, 1978
<i>Tylenchorhynchus dubius</i>	1,00	Byers & Anderson (1972)
<i>Tylenchorhynchus annulatus</i>	0,80	Ibrahim & Hollis (1973)
<i>Hemicyclophora arenaria</i> (F)	0,82	Johnson, Van Gundy & Thomson, 1970
<i>Aphelenchus avenae</i> (F)	0,37	Johnson, Van Gundy & Thomson, 1970

L'étude de l'ultrastructure des champs latéraux d'autres espèces du même genre ou de genres voisins serait

nécessaire pour savoir si de telles couches granuleuses sont particulières au genre *Pratylenchus* ou à la famille des Pratylenchidae.

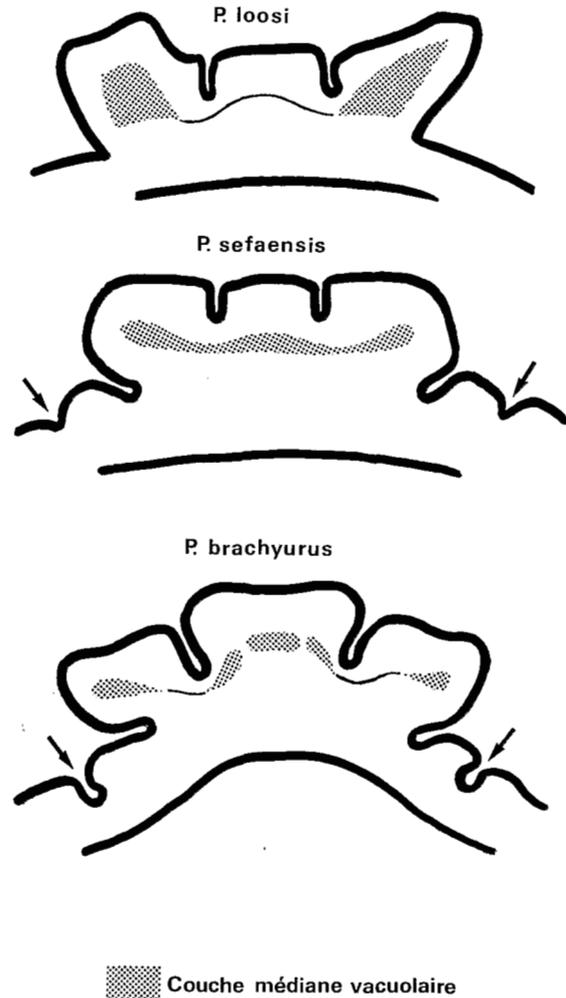


Fig. 3. Schéma des champs latéraux de *P. brachyurus*, *P. sefaensis* et *P. loosi*. Les flèches indiquent les incisions longitudinales supplémentaires.

REFERENCES

- BIRD, A. F. (1971). *The structure of nematodes*. New York & London, Academic Press, 318 p.
- BYERS, J. R., & ANDERSON, R. V. (1972). Ultrastructural morphology of the body wall, stoma and stomatostyle of the nematode *Tylenchorhynchus dubius* (Buetschli, 1873) Filipjev, 1936. *Can. J. Zool.*, 50 : 457-465.

- CLIFF, G. M. & BALDWIN, J. G. (1985). Fine structure of body wall cuticle of females of eight genera of Heteroderidae. *J. Nematol.*, 17 : 286-296.
- IBRAHIM, I. K. A. & HOLLIS, J. P. (1973). Electron microscope studies on the cuticle of swarming and nonswarming *Tylenchorhynchus martini*. *J. Nematol.*, 5 : 275-281.
- JOHNSON, P. W., VAN GUNDY, S. D. & THOMSON, W. W. (1970). Cuticle ultrastructure of *Hemicycliophora arenaria*, *Aphelenchus avenae*, *Hirschmanniella gracilis* and *H. belli*. *J. Nematol.*, 2 : 42-58.
- KISIEL, M. S., HIMMELHOCH, S. & ZUCKERMAN, B. M. (1972). Fine structure of the body wall and vulva area of *Pratylenchus penetrans*. *Nematologica*, 18 : 234-238.
- MAGGENTI, A. R. (1979). The role of cuticle strata nomenclature in the systematics of nemata. *J. Nematol.*, 11 : 94-98.
- SHEPHERD, A. M., CLARK, S.A. & DART, P. J. (1972). Cuticle structure in the genus *Heterodera*. *Nematologica*, 18 : 1-17.
- SPURR, A. R. (1969). A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.*, 26 : 31-43.

Accepté pour publication le 10 septembre 1989.