

ANPP - TROISIEME CONFERENCE INTERNATIONALE SUR LES  
RAVAGEURS EN AGRICULTURE  
MONTPELLIER 7-8-9 DECEMBRE 1993 .

BIODIVERSITE INTRASPECIFIQUE : ETUDE DE QUATRE POPULATIONS DE  
L'ACARIEN VERT DU MANIOC, *MONONYCHELLUS PROGRESIVUS*  
(ACARI : TETRANYCHIDAE) PAR LA BIOLOGIE MOLECULAIRE ET  
PAR CROISEMENTS

M. NAVAJAS\*, J. GUTIERREZ\*, O. BONATO\*, H.R. BOLLAND\*\* et  
S. MAPANGOU-DIVASSA\*\*\*

\*Laboratoire d'Acarologie ENSA.M-INRA-ORSTOM,  
2, place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France

\*\*Dept of pure and appl. ecology, Université Amsterdam,  
Kruislaan 320, 1098 SM Amsterdam, Pays-Bas

\*\*\*Centre ORSTOM-DGRST, B.P. 181, Brazzaville, Congo

RESUME :

La biodiversité de quatre populations de l'acarien vert du manioc *Mononychellus progresivus* Doreste, récoltées au Bénin et au Congo d'une part, en Colombie et au Brésil d'autre part, a été étudiée en se basant sur l'analyse de séquences d'ADN mitochondrial et ribosomique, ainsi que sur les résultats de plusieurs croisements. Les deux populations africaines paraissent identiques. Elle semblent proches de celle de Colombie, alors que celle du Brésil est plus éloignée.

Mots-clés : manioc, *Mononychellus progresivus*, biodiversité, biologie moléculaire, Afrique.

SUMMARY :

INTRASPECIFIC BIODIVERSITY: STUDY OF FOUR POPULATIONS OF CASSAVA GREEN MITE *MONONYCHELLUS PROGRESIVUS* (ACARI: TETRANYCHIDAE) USING MOLECULAR BIOLOGY AND CROSS-BREEDING

Biodiversity of four populations of Cassava Green Mite *Mononychellus progresivus* Doreste collected in Benin and the Congo and in Columbia and Brazil were studied using analysis of mitochondrial and ribosomal DNA sequences and the results of several cross-breeding experiments. The two African populations appeared to be identical. They were similar to the Columbia populations, while the Brazilian population was more clearly different.

Key-words: cassava, *Mononychellus progresivus*, biodiversity, molecular biology, Africa

## INTRODUCTION

Les Tetranychidae présentent de nombreux exemples de biodiversité intraspécifique liée à une variabilité génétique, elle-même favorisée par le système de reproduction haplo diploïde de ces Acariens (HELLE et OVERMEER, 1973). Des incompatibilités génétiques entre populations ont été signalées chez presque toutes les espèces de ce groupe qui ont été étudiées à ce point de vue. Il s'agit de plusieurs représentants du genre *Tetranychus* (HELLE et PIETERSE, 1965 ; GUTIERREZ et van ZON, 1973 ; OVERMEER et van ZON, 1976 ; de BOER, 1985), de *Panonychus citri* (McGregor) (INOUE, 1972) et de *Mononychellus progresivus* Doreste (MUREGA, 1981).

En relation avec ces barrières reproductives, on a souvent remarqué des différences intraspécifiques portant sur la morphologie, la composition chimique de l'hémolymphe ou le comportement à l'égard d'un facteur du milieu. C'est ainsi que pour l'espèce polytypique *Tetranychus urticae* Koch, on a noté des différences dans l'aspect des lobes des stries du tégument dorsal des femelles ou même de légères variations de la forme de l'édéage (BOUDREAUX, 1956, 1963). La longueur des soies dorsales varie considérablement chez plusieurs taxons des genres *Eutetranychus* et *Mononychellus*, y compris parmi les individus d'une même espèce. Ils réagissent également de façon différente vis-à-vis de la photopériode (VEERMAN, 1985) ou de leurs plantes hôtes (de BOER, 1985). L'hémolymphe peut avoir des pigments variant quantitativement et qualitativement, ou présenter des estérases différents selon les prélèvements (SULA et WEYDA, 1983). *Mononychellus progresivus* est une espèce originaire de la région néotropicale inféodée au manioc, introduite accidentellement en Afrique de l'Est, en Ouganda, au début des années 1970 (LYON, 1973). A partir de ce foyer, ce tétranyque a envahi la majeure partie des plantations de manioc en Afrique (YANINEK et HERREN, 1988). La variabilité de la longueur des soies dorsales est ici si évidente que pendant plusieurs années on a cru être en présence de plusieurs taxons distincts. Une étude de la chétotaxie des pattes et de la morphologie de l'édéage des mâles de *Mononychellus progresivus* prélevés dans plusieurs localités d'Afrique de l'Est (Kénya), d'Afrique Centrale (Congo et RCA) et d'Afrique de l'Ouest (Bénin et Côte d'Ivoire), tend à prouver l'identité des formes rencontrées. Une série de croisements entrepris en Afrique de l'Est par MUREGA (1981) a montré la compatibilité de six populations originaires du Kénya et d'Ouganda, avec un taux de mortalité des oeufs inférieur à 10 %.

La mise au point récente d'une technique d'analyse du génome des tétranyques (NAVAJAS *et al.*, 1992) nous a fourni l'occasion d'examiner le degré de diversité de quatre populations de *Mononychellus progresivus* prélevées sur manioc d'une part en Afrique (Congo et Bénin), d'autre part en Amérique du Sud (Colombie et Brésil). Cette comparaison entre populations a été complétée par une série de croisements entre celles qui présentaient des différences sensibles.

## 1. ETUDE MOLECULAIRE

### Matériel et méthode

Les prélèvements du Congo et du Bénin proviennent respectivement de Brazzaville et de Cotonou, ceux de Colombie (Col.) et du Brésil (Brés.), respectivement de Cali et de Petrolina (Permanbouc - Nord Est).

Pour chaque population, deux régions du génome ont été séquencées : un fragment de 334 paires de bases de la Cytochrome oxydase I (COI) de l'ADN mitochondrial et 789 paires de bases de l'espaceur interne transcrit 2 (ITS 2) de l'ADN ribosomique. Les techniques d'amplification de l'ADN par PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne) et le séquençage des produits de la PCR ont été utilisés selon le protocole suivi par NAVAJAS *et al.* (1992). Les extractions d'ADN ont été chaque fois effectuées à partir d'une femelle. La variabilité intrapopulation a été vérifiée trois fois pour les spécimens du Congo. L'alignement des séquences a été réalisé à l'aide du programme Multalin (CORPET, 1988). Les séquences ont été comparées deux à deux et les différences comptées.

### Résultats et discussion

Les résultats sont indiqués sur le tableau I

Tableau I - Matrice de comparaison des séquences de l'ADN mitochondrial (COI) et ribosomique (ITS 2) des quatre populations étudiées. Les chiffres correspondent au nombre de différences nucléotidiques

Table I - Pairwise sequence differences in the mitochondrial (COI) and ribosomal (ITS 2) DNA of the four populations studied. The figures show the number of nucleotide differences

	ITS 2	CONGO	BENIN	COL.	BRES.
COI					
CONGO			0	0	3
BENIN		0		0	3
COL.		2	2		3
BRES.		7	7	5	

En ITS 2 : Congo, Cotonou et Colombie se présentent de façon identique ; en revanche, Brésil se différencie par trois mêmes mutations.

En COI : les populations africaines sont identiques et se séparent des populations américaines. Par rapport aux populations africaines, Colombie présente deux mutations alors que Brésil en présente cinq de plus. Cette variabilité est à mettre en parallèle avec celle que l'on a constaté pour d'autres espèces de Tetranychidae. Du point de vue intraspécifique, une analyse portant sur des populations européennes de *T. urticae* ne fait apparaître aucune différence sur les mêmes séquences de l'ITS 2. Lorsqu'on compare, toujours sur les mêmes séquences, deux espèces relativement proches comme *Tetranychus pacificus* McGregor et *T. mcdanieli* McGregor par exemple, on trouve une différence portant sur neuf sites (NAVAJAS *et al.*, 1992).

Les populations du Congo et du Bénin apparaissent donc identiques aussi bien pour l'ITS 2 que pour la COI, ce qui suggère une origine commune récente. Ces deux populations semblent proches de celle de Colombie, alors que celle du Brésil est plus éloignée.

## 2. CROISEMENTS ENTRE POPULATIONS

### Matériel et méthode

Aucune différence n'ayant été détectée entre les deux populations africaines, les croisements n'ont porté que sur des *Mononychellus* des trois provenances : Congo, Colombie et Brésil.

On a développé des élevages de quelques dizaines d'individus reçus de chaque origine géographique. Elevages et croisements testés ont tous été conduits sur des disques de feuille de manioc de 2,5 cm de diamètre, en survie sur coton humide, maintenus dans une enceinte climatique réglée à une température de  $26 \pm 0,5^\circ \text{C}$ , une hygrométrie de  $70 \pm 5 \%$  et soumis à une photopériode de 12 h de jour - 12 h de nuit, avec une intensité lumineuse de 4000 lux.

Parallèlement à un élevage témoin des trois populations pures, on a tenté de croiser chacune d'elle avec les deux autres, dans les deux sens, ce qui a entraîné au total la création de neuf élevages ou croisements. Pour obtenir chaque F<sub>1</sub> : 31 femelles prélevées au stade téliochrysalide sont élevées chacune isolément sur un disque de feuille, avec deux mâles de la population utilisée pour le croisement. Les oeufs pondus sont comptés chaque jour, de façon à obtenir la ponte totale de chaque femelle. Les parents sont déplacés sur un nouveau disque tous les cinq jours jusqu'à la mort des femelles, les mâles étant remplacés, en cas de disparition pendant les dix premiers jours. Les oeufs pondus sont conservés et les larves qui éclosent élevées jusqu'au stade adulte, de façon à déterminer en F<sub>1</sub>, le taux d'éclosion des oeufs et la proportion de mâles et de femelles. Les moyennes ont été comparées au moyen d'analyses de variance, suivies d'un test F de SCHEFFE, avec un risque de 5 %.

## Résultats et discussion

Tableau II - Résultats des élevages et croisements entre populations. Les moyennes d'une même colonne suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $\alpha = 0,05$ ) (Test F de SCHEFFE)

Table II - Results of rearing and crosses between populations. Means in the same column followed by the same letter are not significantly different ( $\alpha = 0.05$ ) (SCHEFFE'S F test).

-PARENTS		F1		
Femelles x Mâles	Ponte*	Nb de femelles*	Nb de mâles*	Nb d'oeufs morts*
CONGO x CONGO	25,9 ± 4,0 a	18,2 ± 3,1 ab	6,6 ± 1,2 a	1,1 ± 0,4 a
CONGO x COL.	19,8 ± 2,5 a	13,2 ± 2,1 ab	4,9 ± 0,9 a	1,7 ± 0,4 ab
CONGO x BRES.	32,2 ± 7,5 a	11,2 ± 3,4 a	7,9 ± 1,7 a	13,1 ± 5,0 cef
COL. x COL.	25,0 ± 4,1 a	18,9 ± 3,2 b	5,1 ± 0,8 a	1,0 ± 0,4 a
COL. x CONGO	24,2 ± 4,2 a	11,4 ± 3,0 ab	7,6 ± 1,9 a	5,2 ± 1,9 bdeg
COL. x BRES.	26,0 ± 5,4 a	13,0 ± 3,5 ab	5,9 ± 1,9 a	7,1 ± 2,2 cdeg
BRES. x BRES.	29,6 ± 4,0 a	19,1 ± 3,2 ab	9,4 ± 1,2 ac	1,1 ± 0,4 a
BRES. x CONGO	52,2 ± 7,5 b	3,9 ± 1,4 c	31,0 ± 5,9 b	17,3 ± 2,5 f
BRES. x COL.	38,6 ± 8,3 a	16,0 ± 3,4 ab	19,4 ± 5,3 bc	3,2 ± 1,0 adeg

\* moyenne par femelle ± t. sm

Le tableau II présente la liste des élevages et croisements effectués. La colonne F<sub>1</sub> indique le nombre de femelles et de mâles obtenus ainsi que celui des oeufs qui n'éclosent pas. La composition en pourcentage de cette F<sub>1</sub> est reprise sur le tableau III.

Pour chaque élevage ou croisement, on a enregistré la perte d'une, deux ou trois femelles initiales par noyade ou disparition sans ponte. Pour permettre une analyse statistique des résultats, tous les calculs ont été effectués sur la base de 28 femelles, en éliminant lorsque cela était nécessaire, la ou les femelles qui avaient le moins pondu.

D'après le tableau II, les pontes des femelles sont très homogènes, sauf dans le cas du croisement Brésil x Congo.

Si l'on rappelle que dans la parthénogenèse arrhénotoque, les mâles naissent d'un oeuf haploïde non fécondé et les femelles d'un oeuf diploïde, il apparaît ici que toutes les populations sont génétiquement compatibles puisqu'on obtient des femelles pour tous les croisements tentés.

Le sens du croisement intervient sur le nombre de femelles et de mâles dans le cas du croisement Congo x Brésil. Ceci est probablement dû à un effet maternel déjà signalé par plusieurs auteurs cités par de BOER (1985) et récemment analysé chez *T. urticae* par FRY (1981).

Alors que le nombre d'oeufs morts est un peu plus élevé que celui des populations pures dans le sens Colombie x Congo seulement, ou dans le sens Colombie x Brésil seulement par les croisements faisant intervenir ces populations, il est significativement plus important dans les deux croisements Congo x Brésil et Brésil x Congo, ce qui correspond à une incompatibilité plus grande de ces deux populations.

Ces résultats permettent finalement de dire qu'il existe un flux génique entre les populations étudiées et que les *Mononychellus* du Congo sont plus proches des populations considérées de Colombie que de celles du Brésil.

Tableau III - Composition en pourcentage des F<sub>1</sub> résultant des croisements entre populations

Table III - Distribution in percentage of F<sub>1</sub> resulting from rearing and crosses between populations

PARENTS	F <sub>1</sub> COMPOSITION EN %		
	Femelles	Mâles	Oeufs morts
Femelles x Mâles			
CONGO x CONGO	70,3	25,5	4,2
CONGO x COL.	66,7	24,7	8,6
CONGO x BRES.	34,8	24,5	40,7
COL. x COL.	75,6	20,4	4,0
COL. x CONGO	47,1	31,4	21,5
COL. x BRES.	50,0	22,7	27,3
BRES. x BRES.	64,5	31,8	3,7
BRES. x CONGO	7,5	59,4	33,1
BRES. x COL.	41,4	50,3	8,3

### CONCLUSION

L'étude moléculaire indique que les deux populations africaines sont identiques, ce qui tend à confirmer une origine commune récente. Les croisements mettent en évidence l'appartenance des *Mononychellus* étudiés à un même taxon, ce qui souligne l'intérêt des deux principaux critères retenus pour identifier ces tétranyques au niveau spécifique : forme de l'édéage et chétotaxie des pattes.

Les deux approches tendent à prouver que les populations africaines sont davantage apparentées aux populations colombiennes qu'à celles du Brésil. L'introduction de *M. progresivus* en Afrique se serait donc produite à partir d'une population plus proche de la Colombie que du Brésil. Pour préciser ces premières conclusions, il serait bien entendu intéressant d'analyser et de comparer, par la biologie moléculaire, plusieurs populations d'origine colombienne.

## REFERENCES

- BOER R. de, 1985 - Reproductive barriers. *In*: W. HELLE and M. W. SABELIS (Eds), Spider mites, their biology, natural enemies and control. World Crop Pests, Vol. IA, Elsevier, Amsterdam, 193-199.
- BOUDREAUX H.B., 1956 - Revision of the two-spotted spider male complex. Ann. Entomol. Soc. Am., 49 (1), 43-48.
- BOUDREAUX H.B., 1963 - Biological aspects of some phytophages mites. Annu. Rev. Entomol., 8, 137-154.
- CORPET F., 1988 - Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. Nucl. Acids Res., 16, 10881-10889.
- FRY J.D., 1989 - Nuclear-nuclear and nuclear-cytoplasmic interactions contribute to the reproductive incompatibility between two strains of the twospotted spider mite. Entomol. exp. appl., 50 (1), 97-100.
- GUTIERREZ, J., 1985. Systematics. *In*: W. HELLE and M.W. SABELIS (Eds), spider mites, their biology, natural enemies and control. World Crop Pests, Vol. IA, Elsevier, Amsterdam, 75-90.
- GUTIERREZ J., 1987. The Cassava Green Mite in Africa: one or two species? (Acari: Tetranychidae). Exp. appl. Acarol., 3 (2), 163-168.
- GUTIERREZ J., VAN ZON A.Q., 1973 - A comparative study of several strains of the *Tetranychus neocaledonicus* complex and sterilization of males by x-rays. Entomol. exp. appl., 16, 123-134.
- HELLE W., OVERMEER W.P.J., 1973 - Variability in Tetranychid mites. Annu. Rev. Entomol., 18, 97-120.
- HELLE W., PIETERSE A.H., 1965 - Genetic affinities between adjacent populations of spider mites (*Tetranychus urticae* Koch). Entomol. exp. appl., 8 (4), 305-308.
- INOUE K., 1972 - Sterilities, visible mutations en F<sub>1</sub> hybrid females obtained by crosses between different strains and mortalities of their eggs in Citrus red mites, *Panonychus citri* (McG.). Bull. Hortic. Res. Stn., 7, 29-36.
- LYON W.F., 1973 - A plant feeding mite *Mononychellus tanajoa* (Bondar) new to the African continent threatens cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Uganda. PANS, 19 (1), 36-37.
- MUREGA T.N., 1989. Cross-breeding studies on the Cassava Green Spider Mite *Mononychellus* sp. (Acari: Tetranychidae) in East Africa. Exp. appl. Acarol., 6 (1), 85-90.
- NAVAJAS M., COTTON D., KREITER S., GUTIERREZ J., 1992 - Molecular approach in spider mites (Acari: Tetranychidae): preliminary data on ribosomal DNA sequences. Exp. appl. Acarol., 15 (4), 211-218.
- OVERMEER W.P.J., VAN ZON A.Q., 1976 - Partial reproductive incompatibility between populations of spider mites. Entomol. Exp. Appl., 20 (3), 225-236.
- SULA J., WEYDA F., 1983 - Esterase polymorphism in several populations of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. Experientia, 39, 78-79.
- VEERMAN A., 1985. Diapause. *In*: W. HELLE and M.W. SABELIS (Eds), spider mites, their biology, natural enemies and control. World Crop Pests, Vol. IA, Elsevier, Amsterdam, 279-316.
- YANINEK J.S., HERREN H.R., 1988. Introduction and spread of the cassava green mite, *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae), an exotic pest in Africa and the search for appropriate control methods: a review. Bull. Entomol. Res., 78,1-13.