

11
28.03.96

Étude synthétique des réactions induites par les nématodes phytoparasites sur le bananier *Musa acuminata* (groupe AAA) : hiérarchisation des paramètres adaptés à la sélection variétale

Thierry Mateille, Nicole Gautier, Patrice Cadet et Domitien Debouzie

Résumé : La sensibilité des bananiers aux nématodes phytoparasites, les dégâts occasionnés par les nématodes et les réactions de défense des plantes peuvent être évalués respectivement par la multiplication des parasites, la croissance des plants et leur métabolisme primaire, et les modifications du métabolisme secondaire. L'analyse statistique comparative de ces quatre types de paramètres pour deux variétés de bananiers (cultivars Poyo et Gros Michel) de sensibilités différentes aux nématodes a permis de les hiérarchiser. Ainsi, les variables associées à la croissance végétale et les variables décrivant la physiologie de la plante (photosynthèse, assimilation du carbone, nutrition azotée, assimilation minérale), qui évoluent de manière anarchique en fonction de la pression parasitaire initiale, peuvent être considérées comme secondaires. En revanche, les populations finales de nématodes et les variables décrivant les réactions de défense de l'hôte (métabolisme secondaire) sont plus fiables car elles répondent de manière plus cohérente. Au-delà de cette étude, il est donc possible d'évaluer la fiabilité relative des paramètres de sensibilité des bananiers aux nématodes et de préciser les critères de sélection variétale les plus performants.

Mots clés : bananier, comportement de cultivars, incompatibilité, nématodes phytoparasites, résistance, tolérance.

Abstract: The susceptibility of bananas to phytoparasitic nematodes, the damages caused by nematodes, and the plant defense reactions can be evaluated respectively by the multiplication rate of parasites, the plant growth and metabolism, and the modifications of the secondary metabolism. The comparison, through multivariate analyses, of these four groups of parameters between two banana cultivars (Poyo and Gros Michel), differently susceptible to nematodes, helps to hierarchize the importance of these groups. So, the variables associated with shoot and root growth and the variables associated with plant physiology (photosynthesis, carbon metabolism, nitrogen and mineral absorption) are quite bad parameters because they evolve anarchically with the initial nematode population pressure. On the opposite, the final nematode population pressure and the variables associated with host defense reactions (secondary metabolism) are more reliable because they give more homogeneous results. It is then possible to assess the usefulness of the parameters describing banana susceptibility to nematodes and to give reliable criteria to geneticists for nematode resistance breeding programs.

Key words: banana, defense reactions, phytoparasitic nematodes, resistance, tolerance, cultivar behaviour. [Traduit par la rédaction]

Reçu le 18 octobre 1994.

T. Mateille¹. Laboratoire de nématologie, Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (ORSTOM), 01 B. P. V51, Abidjan 01, Côte-d'Ivoire.

N. Gautier et D. Debouzie. Unité de recherche associée n° 243 (Biométrie, génétique et biologie des populations) du Centre national de la recherche scientifique, Université Lyon 1, 43, boulevard du 11-Novembre-1918, 69 622 Villeurbanne Cédex, France.

P. Cadet¹. Laboratoire de nématologie, ORSTOM, B. P. 8006, 97 259 Fort-de-France, Martinique, France.

1. Adresse actuelle : Laboratoire de nématologie, ORSTOM, B. P. 1386, Dakar, Sénégal.

Introduction

Malgré les difficultés dues à la multiplication parthénogénétique du bananier, de nombreux travaux ont permis de jeter les bases de programmes de sélection de cultivars visant à améliorer sa productivité en présence de nématodes phytoparasites (Pinochet 1988). Les paramètres de comparaison habituellement utilisés sont de trois ordres (Mateille 1994b) : le développement des populations de nématodes (sensibilité ou résistance), les dégâts racinaires, la croissance accompagnée de perturbations physiologiques (intolérance ou tolérance) et les réactions de défense de l'hôte (compatibilité ou incompatibilité).



La sensibilité des bananiers est estimée par dénombrement des populations endoracinaires de nématodes (Mateille 1992). Mais ce paramètre varie selon l'âge des rejets dont proviennent les racines (Quénéhervé et Cadet 1982), l'état physiologique des rejets, l'espèce de nématode considérée (Mateille et al. 1984), le stade physiologique des plantes, la texture et la structure des sols (Davide 1980).

Les dégâts racinaires sont évalués par dénombrement des lésions superficielles (Davide et Marasigan 1985). Mais ce paramètre est assez subjectif car ces lésions atypiques peuvent être causées par d'autres agents pathogènes parfois associés (Mateille et Folkertsma 1991) aux nématodes ou par des blessures mécaniques. D'autre part, la qualité et la quantité des tâches racinaires sont rarement liées aux effectifs de nématodes (Hugon et Picard 1988).

Veerannah et al. (1976) ont étudié la physiologie du bananier en présence d'un peuplement de nématodes. Ils ont enregistré une augmentation de la concentration foliaire en phosphate et en potassium et une diminution du magnésium. Cependant, comme plusieurs espèces de nématodes interviennent simultanément dans cette expérimentation, il est impossible de décrire l'impact de chacune d'entre elles. Mateille (1993) a montré que le cv. Gros Michel est plus tolérant que le cv. Poyo au *Radopholus similis*, alors que le développement végétatif et physiologique des deux cultivars est identique en présence de l'*Helicotylenchus multincinctus* ou de l'*Hoplolaimus pararobustus*.

Les travaux sur les réactions de défense du bananier ont d'abord concerné les pathologies racinaires dues au champignon *Fusarium oxysporum* f. *cubense*. Ils ont permis de mettre en évidence le rôle prépondérant du métabolisme phénolique (Mace 1963). Des résultats similaires ont été obtenus en présence de nématodes (Mateille 1994a). Lorsque les cv. Poyo et Gros Michel sont infestés par le *Radopholus similis*, l'activité polyphénoloxidasique est renforcée chez le cv. Poyo, alors que l'activité peroxydasique est renforcée chez le cv. Gros Michel.

Le but de cette étude a été de mesurer, sur les mêmes plants de deux cultivars de bananiers, (i) le développement des populations de trois espèces de nématodes (paramètre de sensibilité), (ii) la croissance végétale et certains composants du métabolisme primaire (paramètres de tolérance) et (iii) des éléments du métabolisme secondaire (paramètres d'incompatibilité), puis étudier globalement ces paramètres pour identifier ceux qui sont les mieux adaptés à la description de la réaction d'un bananier à l'attaque de nématodes. À travers cet exemple portant sur deux cultivars, l'objectif visé est de pouvoir proposer aux sélectionneurs les critères de sensibilité les plus fiables en vue d'une utilisation rationnelle dans les tests de comportement de cultivars.

Matériel et méthodes

Matériel végétal et inoculation des nématodes

Des vitro-plants de *Musa acuminata* (triploïdes AAA), cv. Poyo et Gros Michel, âgés de deux semaines, ont été transplantés dans des conteneurs de 2 L remplis d'un substrat composé de terre sableuse et de mésocarpe fibreux broyé de noix de coco dans les proportions de 2 : 1. Les conteneurs ont été installés sous une ombrière, dans les conditions climatiques tropicales naturelles de la Côte-d'Ivoire (humidi-

dité atmosphérique moyenne de 75%, 12 h de lumière du jour (226 W/m^2) à une température moyenne de 32°C et 12 h d'obscurité à une température moyenne de 25°C).

Les plants ont été inoculés une semaine après le repiquage avec des suspensions de 1000, 5000 ou 10 000 nématodes préalablement élevés en conteneurs sur des vitro-plants du cv. Poyo. Les nématodes ont été extraits des racines (Seinhorst 1950) deux jours avant l'inoculation. Les plants infestés ont été comparés à des plants non infestés. Chaque combinaison nématode-inoculum-cultivar a été répétée cinq fois. L'essai a été installé en blocs aléatoires. Ce protocole a été exécuté successivement pour chacune des trois espèces de nématodes : le *Radopholus similis*, l'*Helicotylenchus multincinctus* et l'*Hoplolaimus pararobustus*.

Analyses nématologiques

En fin d'expérimentation (deux mois après l'inoculation des nématodes), les nématodes ont été extraits du sol et des racines selon les techniques de Seinhorst (1950, 1962); leurs effectifs (NS et NR, respectivement) ont été estimés en nombre de nématodes par plant.

Mesures de la végétation

L'émission foliaire a été estimée par le nombre de feuilles émises chaque semaine (EF). En fin d'expérimentation, la surface foliaire totale par plant (SF) a été calculée par la somme des surfaces de chaque feuille, elles-mêmes estimées par la formule de Simmonds : surface = $0,8 \times \text{longueur} \times \text{largeur}$ (Stover et Simmonds 1987). Le diamètre des bulbes (DB) a été mesuré.

Un fragment de la troisième feuille émise avant la dernière, notée feuille III d'après la numérotation de Lassoudière (1978) et considérée par Martin-Prével (1980) comme feuille de référence, a été pesé avant et après séchage pendant 12 h à 120°C afin de déterminer la proportion de matière sèche des feuilles (PF).

Un indice de densité des racines primaires (DR1) a été calculé par le rapport du nombre total de racines sur le diamètre du bulbe portant ces racines. La densité des racines secondaires (DR2) a été estimée par le rapport du nombre total de racines secondaires sur la longueur du fragment de racine primaire porteur de ces racines secondaires. Les proportions de matière sèche des deux types de racines (PR1 et PR2) ont été mesurées.

Analyses physiologiques foliaires

Un fragment de limbe de 1 g a été prélevé dans la partie centrale de la feuille III pour l'analyse des chlorophylles totales (CHL) selon les méthodes d'extraction acétonique de McKinney (1941) et de dosage spectrophotométrique de Lichtenthaler et Wellburn (1983).

Les restes de feuille III ont été séchés, broyés et passés au four à 450°C . Les cendres ont été minéralisées à l'acide chlorhydrique et à l'acide fluorhydrique. Les concentrations en Ca, Mg et K ont été déterminées par spectrométrie d'absorption atomique. Le P a été analysé par spectrométrie d'émission de plasma. Le C et l'N ont été déterminés par chromatographie gazeuse après combustion des extraits à 1100°C .

Analyses physiologiques racinaires

Chaque analyse a été effectuée sur des extraits racinaires bruts réalisés à partir de 1 g de racine. Les indols (IND) ont été extraits selon les méthodes d'extraction alcoolique de Meudt et Gaines (1967) et de dosage colorimétrique au réactif de Salkowsky (Pilet 1961). Les phénols (PHE) ont été extraits selon les méthodes d'extraction alcoolique de Ferraz et al. (1984) et de dosage colorimétrique au réactif de Folin et Ciocalteu (Marigo 1973). Les activités enzymatiques peroxydasiques (PO), polyphénoloxydasiques (PPO) et lysiques (phénylalanine ammonia-lyase (PAL) et tyrosine ammonia-lyase (TAL)) ont été analysées respectivement selon les méthodes de Chance et Maehly (1955), Bzrozowska et al. (1978) et Takayoshi et Kawamura (1964).

Méthodes d'analyse statistique

Le plan expérimental choisi conduit à des données structurées par

(i) le cultivar de bananier (Poyo ou Gros Michel), l'espèce de nématode (*R. similis*, *H. multincinctus* ou *H. pararobustus*) et l'indice de densité de nématodes inoculés (1, 0 nématode; 2, 1000 nématodes; 3, 5000 nématodes; 4, 10 000 nématodes), à raison de cinq répétitions par combinaison de ces trois facteurs, pour un total de 120 individus;

(ii) le type de variables mesurées (tableau 1); quatre groupes sont distingués : 1) les effectifs de nématodes dans le sol et les racines en différenciant les mâles, les femelles et les juvéniles; 2) huit variables agronomiques; 3) sept variables d'assimilation; 4) six variables décrivant le métabolisme secondaire.

Des analyses multivariées préliminaires nous ont conduit à (i) transformer les effectifs de nématodes en logarithmes décimaux, $\log(n + 1)$; (ii) ne conserver qu'un nombre limité de variables décrivant les effectifs, du fait de leur très forte corrélation; les effectifs totaux dans le sol et dans les racines ont été retenus dans toutes les analyses; s'y ajoutent le nombre de mâles dans le sol pour l'*H. multincinctus* et l'*H. pararobustus* et le nombre de juvéniles dans le sol pour le *R. similis*; (iii) éliminer, pour le *R. similis*, la variable PAL très corrélée ($r = 0,95$) à la TAL (ce qui n'est pas le cas pour les deux autres espèces); (iv) éliminer cinq individus sur les 120, soit pour cause de données incomplètes, soit pour valeurs aberrantes; (v) pratiquer l'analyse statistique par espèce de nématode et une analyse globale sur les 115 individus, séparant très clairement les trois espèces.

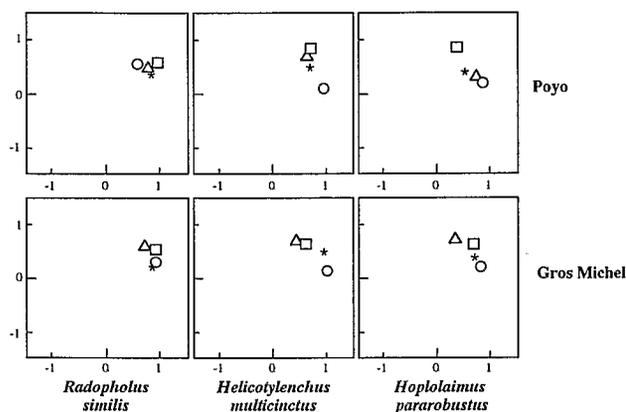
L'analyse factorielle multiple (AFM; Escofier et Pagès 1990; Pagès et al. 1991) a été utilisée pour rechercher à la fois les liaisons globales entre les quatre groupes de variables et individualiser les variables appartenant à des groupes différents et corrélées entre elles. Cette méthode multitableaux offre divers avantages: (i) Elle pondère chaque groupe de variables de façon à ce qu'il ait le même « poids ». (ii) Elle identifie des corrélations entre des variables de valeur très différente (ce qui est le cas de nos données) par le biais d'une analyse en composantes principales (ACP) normée des variables pondérées. (iii) Elle recherche des liaisons globales entre les groupes de variables par le calcul d'un coefficient de corrélation canonique entre les facteurs et les groupes. Une structure commune à tous les groupes est d'autant plus marquée que les coordonnées entre le premier facteur de l'AFM et les groupes sont proches de 1 et que ce

Tableau 1. Légende des variables mesurées.

Variable	Définition
Nombre de nématodes	
Effectifs	
JR	juvéniles dans les racines (g^{-1})
JS	juvéniles dans le sol (dm^{-3})
FR	femelles dans les racines (g^{-1})
FS	femelles dans le sol (dm^{-3})
MR	mâles dans les racines (g^{-1})
MS	mâles dans le sol (dm^{-3})
NR	total dans les racines (g^{-1})
NS	total dans le sol (dm^{-3})
Critères de croissance	
Agronomie	
EF	émission foliaire (nombre de feuilles par semaine)
SF	surface foliaire totale par plant (cm^2)
PF	proportion de matière sèche foliaire (%)
DB	diamètre des bulbes (cm)
DR1	densité de racines primaires (indice)
PR1	proportion de matière sèche des racines primaires (%)
DR2	densité de racines secondaires (indice)
PR2	proportion de matière sèche des racines secondaires (%)
Concentrations en éléments foliaires	
Assimilation	
CHL	chlorophylles totales <i>a</i> et <i>b</i> ($\mu g/g$ de masse fraîche)
C	carbone (% de la matière sèche)
N	azote (% de la matière sèche)
P	phosphore (% de la matière sèche)
K	potassium (% de la matière sèche)
Ca	calcium (% de la matière sèche)
Mg	magnésium (% de la matière sèche)
Concentrations et activités racinaires	
Métabolisme	
IND	indols ($\mu g/g$ de masse fraîche)
PHE	phénols ($\mu g/g$ de masse fraîche)
PO	activité peroxydasique (densité optique (DO), λ_{max} à 470 nm)
PPO	activité polyphénoloxydasique (DO, λ_{max} à 480 nm)
PAL	activité phénylalanine ammonia-lyasique (DO, λ_{max} à 270 nm)
TAL	activité tyrosine ammonia-lyasique (DO, λ_{max} à 330 nm)

premier facteur est dans la même direction que celui du groupe. (iv) Des ACP normées par groupe de variables peuvent être réalisées pour compléter l'interprétation de l'AFM. On peut alors calculer les corrélations entre les facteurs de l'AFM et ceux des ACP. Pour chaque espèce de nématode, trois AFM ont été effectuées : une incluant les deux cultivars de bananier et permettant de les comparer, et une par cultivar pour détecter les liaisons entre variables. L'analyse globale est d'interprétation plus délicate car certaines liaisons entre variables résultent en fait des différences entre cultivars. Les calculs ont été réalisés avec le logiciel Laddad sur station de travail Sun.

Fig. 1. Coordonnées factorielles des quatre groupes de variables dans le plan F1 (en abscisse) × F2 (en ordonnée) des AFM par espèce de nématode et par cultivar de bananier. ○, variables effectifs; □, variables agronomie; △, variables assimilation; *, variables métabolisme.



Des analyses de variance à un facteur sont utilisées pour tester des effets globaux dus aux différents inocula en se limitant aux variables pertinentes dégagées par les AFM. Lorsque les variations d'une variable en fonction de ces inocula sont linéaires, les analyses de variance sont remplacées par des tests de régression classique (test F de la pente).

Résultats

Liaisons entre les quatre groupes de variables

Six AFM ont été réalisées par espèce de nématode et par cultivar (fig. 1). Pour le cv. Gros Michel, les corrélations les plus fortes ($r > 0,90$) entre le premier facteur de l'AFM et les groupes sont dues aux effectifs ($r = 0,95$ pour l'*H. multicinctus* et l'*H. pararobustus*), aux variables métabolisme ($r = 0,93$ pour l'*H. multicinctus*) et agronomie ($r = 0,93$ pour l'*H. pararobustus*). Toutes les autres corrélations sont comprises entre 0,74 et 0,89, sauf pour les variables assimilation du groupe *H. pararobustus* ($r = 0,50$). Les corrélations les plus fortes entre le second facteur de l'AFM et les groupes concernent surtout les variables agronomie ($0,83 \leq r \leq 0,90$) et, à un degré moindre, les variables assimilation ($0,61 \leq r \leq 0,82$).

Pour le cv. Poyo, et dans le cas du *R. similis*, le F1 de l'AFM est surtout corrélé aux groupes de variables agronomie ($r = 0,92$), métabolisme ($r = 0,85$) et assimilation ($r = 0,84$). Aucune structure n'émerge sur le F2. Pour l'*H. multicinctus*, les effectifs sont fortement corrélés au F1 ($r = 0,91$). Les trois autres groupes le sont un peu moins ($0,80 \leq r \leq 0,83$). Pour l'*H. pararobustus*, les corrélations avec le F1 sont moins fortes ($0,72 \leq r \leq 0,87$), tandis que les variables agronomie se détachent nettement sur le F2.

Influence globale de l'inoculum

Trois AFM, une par espèce de nématode mais regroupant les deux cultivars, permettent de dégager l'effet principal dû au nombre de nématodes inoculés (fig. 2). Le dépouillement des AFM a été fait en projetant, dans le plan factoriel F1 × F2 les huit ellipses regroupant les points correspondant à chaque inoculum pour chaque cultivar. Pour le cv. Gros Michel, les

quatre valeurs moyennes des coordonnées des centres des ellipses M1 à M4 s'ordonnent des valeurs positives aux valeurs négatives du F1; il faut noter la quasi-superposition des points moyens des ellipses correspondant aux inocula 3 et 4 pour l'*H. pararobustus*. En revanche, la situation est plus contrastée pour le cv. Poyo : pour l'*H. multicinctus* et l'*H. pararobustus*, les individus correspondant à la dose d'inoculum la plus forte (P_4) sont situés en position intermédiaire entre les inocula 2 et 3. Pour le *R. similis*, le F1 sépare surtout le témoin non inoculé des autres. Une organisation selon la dose d'inoculum est observée sur les valeurs positives du F2.

Les trois AFM séparent les deux cultivars, les points correspondant au cv. Poyo ayant presque tous une abscisse positive sur le F2, et ceux du cv. Gros Michel, une abscisse négative sur le même axe. Les variables impliquées relèvent des différents groupes : la DR1, la PF et la PR2, les concentrations en Ca et en PHE et enfin la PPO. Ainsi la DR1 était nettement plus faible pour le cv. Poyo (9,0) que pour le cv. Gros Michel (12,0) lors de l'expérience réalisée avec le *R. similis* ($F_{1,30} = 54,31$; $P < 0,001$). Une différence similaire a été trouvée lors de l'expérience avec le *H. pararobustus* (8,0 contre 10,3; $F_{1,26} = 48,97$; $P < 0,0001$). De même, en présence du *R. similis*, le cv. Poyo a une PF inférieure (0,70) contre 0,84; $F_{1,30} = 11,44$; $P = 0,002$). En revanche, la PR2 du cv. Poyo dépasse nettement celle du cv. Gros Michel dans l'expérience avec l'*H. multicinctus* (0,067 contre 0,046; $F_{1,32} = 15,89$; $P = 0,0004$). Parmi les variables assimilation, la teneur en Ca sépare bien les deux cultivars de l'espèce *H. pararobustus* (0,45 pour le cv. Poyo et 0,34 pour le cv. Gros Michel; $F_{1,26} = 31,72$; $P < 0,0001$). Enfin, deux variables métabolisme discriminent les cultivars : la concentration en PHE, plus faible chez le cv. Poyo : 1647 contre 2269 (expérience avec l'*H. pararobustus*; $F_{1,26} = 23,53$; $P < 0,0001$) et la PPO, plus forte chez le cv. Poyo : 168 contre 104 (expérience avec le *R. similis*; $F_{1,30} = 13,30$; $P = 0,001$).

Relations entre les variables selon l'espèce de nématode et le cultivar de bananier

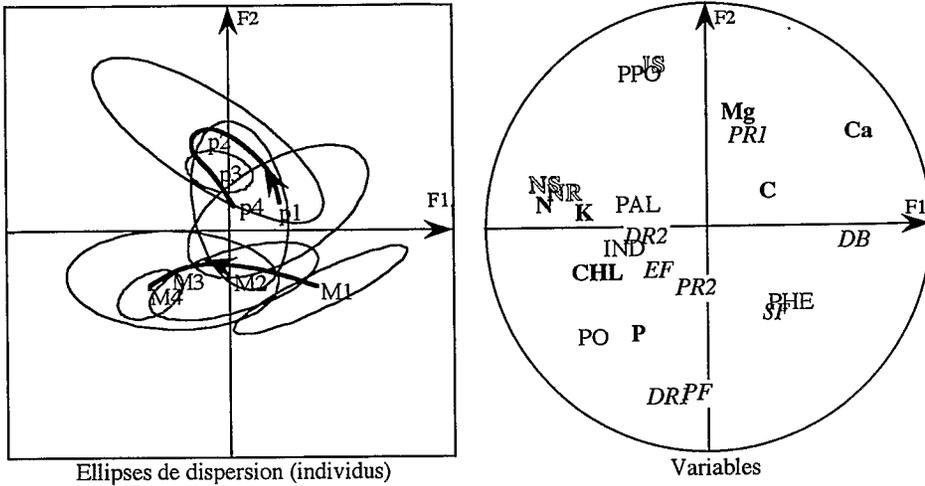
Radopholus similis (fig. 3 et 4)

Le facteur 1 de l'AFM effectuée pour le cv. Gros Michel est défini par les effectifs NR et NS, le taux de Ca et le DB; pour le cv. Poyo, l'effet effectif se retrouve selon une combinaison F1 × F2. Chez le cv. Gros Michel, la seule variable agronomique liée aux effectifs de nématodes est la DR2 ($F_{3,15} = 6,16$; $P = 0,006$). Celle-ci augmente avec les effectifs. Notons que le DB s'accroît de la même manière, mais non significativement chez le cv. Poyo, et qu'une relation inverse existe chez l'autre cultivar (fig. 4).

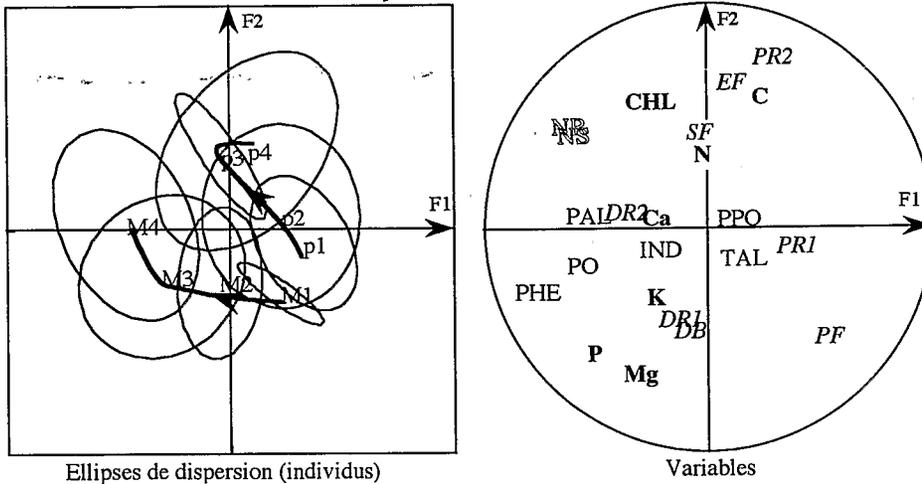
La concentration en N, corrélée à l'axe F1 uniquement chez le cv. Gros Michel, augmente significativement pour les inocula 3 et 4 ($F_{1,15} = 3,77$; $P = 0,034$). La concentration en Ca varie différemment selon les cultivars (voir la position du Ca dans les deux plans factoriels). Chez le cv. Gros Michel, elle diminue significativement ($F_{3,15} = 11,76$; $P = 0,0003$) avec l'inoculum, essentiellement pour les inocula 3 et 4. En revanche, elle varie non significativement chez le cv. Poyo. Les concentrations en P et K varient également différemment selon les cultivars, mais de manière significative.

Fig. 2. AFM pour chaque espèce de nématode, réalisée sur les quatre groupes de variables, les deux cultivars réunis. À gauche plan factoriel F1 × F2 des individus moyens (le code est au point moyen variété–inoculum), les ellipses mesurent la dispersion des individus autour de leur moyenne. À droite, plan factoriel des variables (les variables du groupe effectifs sont en relief, le groupe agronomie en italique, le groupe assimilation en normal, le groupe métabolisme en caractères gras). Ce plan exprime les corrélations entre les axes factoriels et les variables. p, Poyo; M, Gros Michel; 1, 0 nématode; 2, 1000 nématodes; 3, 5000 nématodes; 4, 10 000 nématodes. Les symboles des variables sont définis au tableau 1.

Radopholus similis



Helicotylenchus multicinctus



Hoplolaimus pararobustus

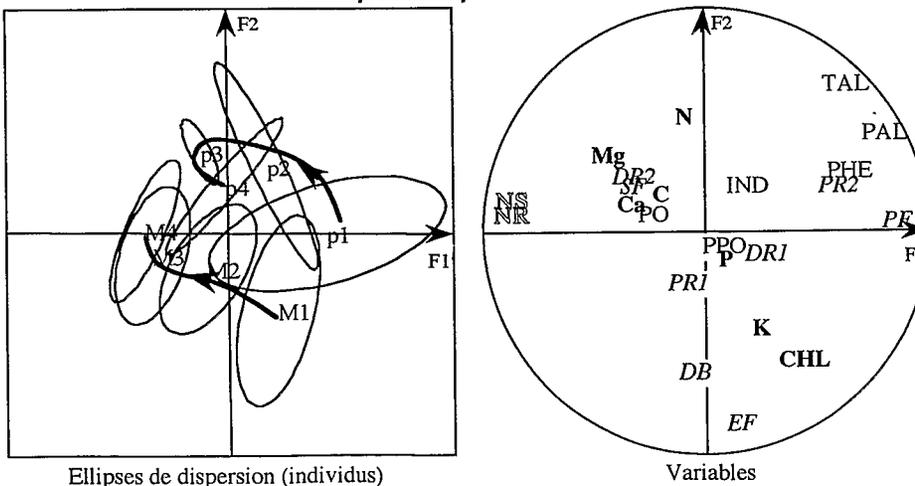
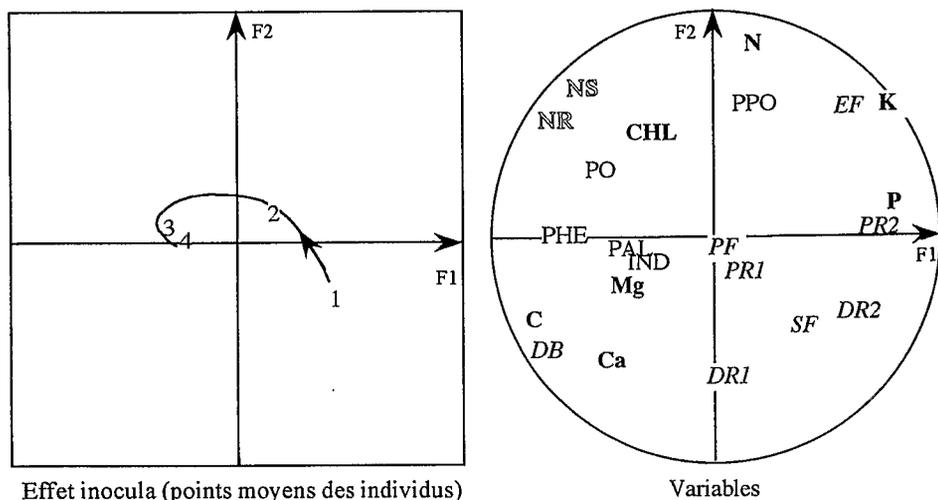


Fig. 3. AFM pour chaque cultivar de bananier, réalisée sur les quatre groupes de variables, pour le *Radopholus similis*. À gauche, plan factoriel F1 × F2 des individus (pour plus de lisibilité seuls les points moyens ont été matérialisés). La flèche illustre l'augmentation du nombre de nématodes inoculés. À droite, plan F1 × F2 des variables. 1, 0 nématode; 2, 1000 nématodes; 3, 5000 nématodes; 4, 10 000 nématodes. Les symboles des variables sont définis à la figure 2 et au tableau 1).

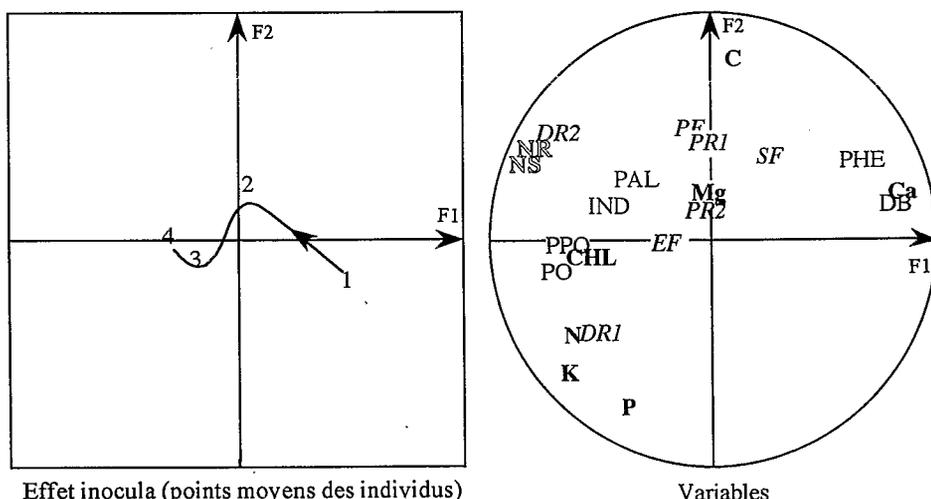
Poyo



Effet inocula (points moyens des individus)

Variables

Gros Michel



Effet inocula (points moyens des individus)

Variables

Dans le cas des variables métabolisme, la concentration en PHE augmente significativement chez le cv. Poyo ($F_{3,15} = 13,55$; $P = 0,0002$), mais uniquement pour les inocula 3 et 4, tandis qu'elle diminue régulièrement pour le cv. Gros Michel ($F_{1,17} = 5,17$; $P = 0,04$). La PO augmente avec l'inoculum chez les deux cultivars, à partir de l'inoculum 3 pour le cv. Poyo ($F_{3,15} = 8,87$; $P = 0,0013$), avec des valeurs voisines pour les inocula 3 et 4 pour le cv. Gros Michel ($F_{3,15} = 4,00$; $P = 0,028$). La PPO ne varie que pour le cv. Gros Michel ($F_{1,17} = 9,33$; $P = 0,009$) pour lequel elle augmente régulièrement avec l'inoculum.

Les teneurs en CHL et en IND augmentent avec l'inoculum chez les deux cultivars (CHL, cv. Gros Michel : $F_{3,15} = 3,66$; $P = 0,037$; CHL, cv. Poyo : $F_{1,17} = 6,26$; $P = 0,01$; IND, cv. Gros Michel : $F_{3,15} = 4,86$; $P = 0,015$; IND, cv. Poyo : $F_{1,17} = 3,04$; $P = 0,10$). Dans trois des quatre cas précédents, les augmentations ne s'observent qu'à

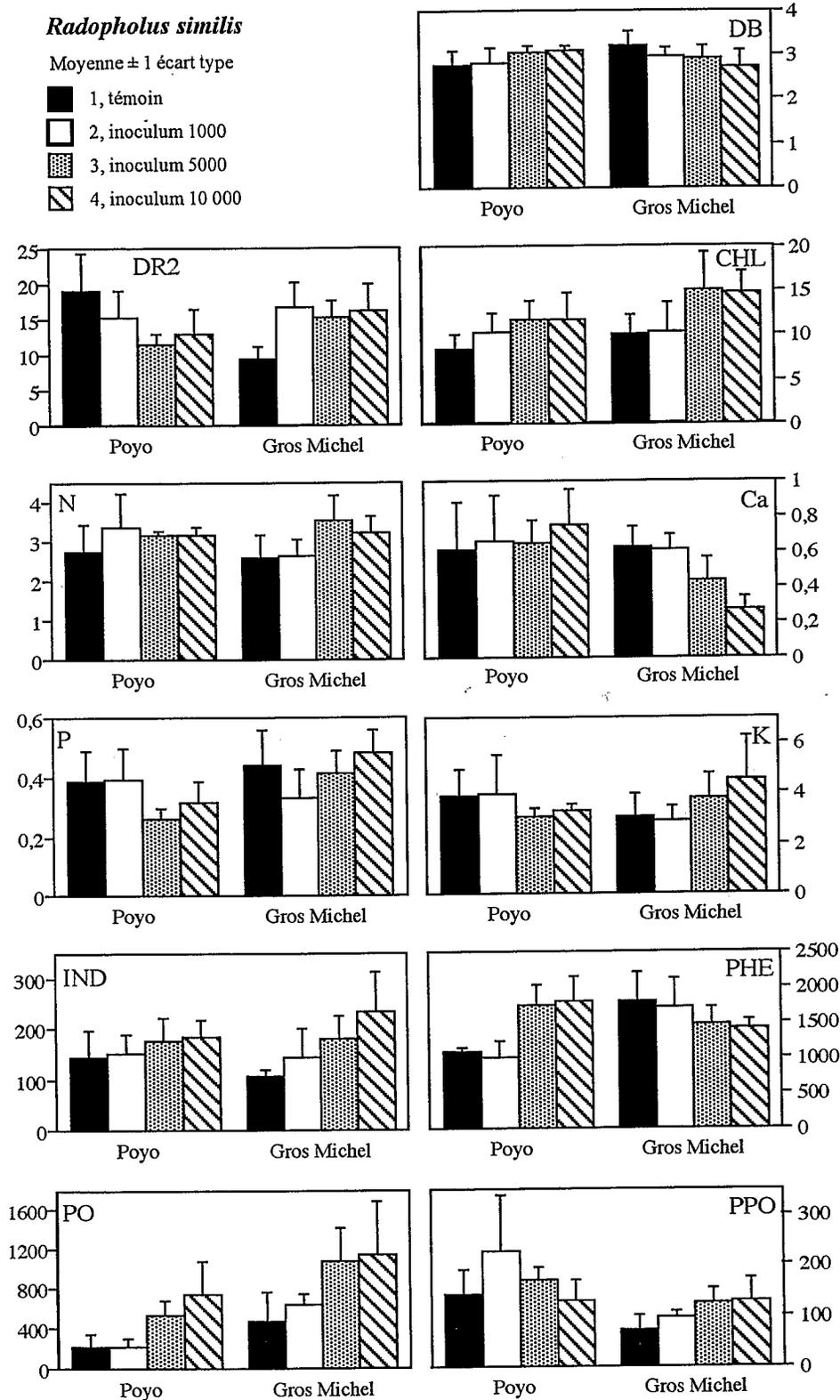
partir de l'inoculum 3 et sont faibles, voire nulles, pour l'inoculum 4.

Helicotylenchus multicinctus (fig. 5 et 6)

Le premier facteur de chaque analyse est toujours très corrélé aux effectifs de nématodes. Cependant, les deux AFM diffèrent par leur degré de structuration : fort pour le cv. Gros Michel, et faible pour le cv. Poyo. Pour le cv. Gros Michel, les effectifs sont corrélés à d'autres variables sur le F1, ce qui n'est pas le cas pour le cv. Poyo.

Pour le cv. Gros Michel, la seule variable agronomique qui varie significativement avec l'inoculum ($F_{3,15} = 13,27$; $P = 0,0001$) est la PF. Celle-ci est significativement plus faible pour les inocula les plus forts (3 et 4) que pour le témoin non inoculé et l'inoculum 2. En ce qui concerne les variables assimilation, la concentration en CHL augmente en présence de nématodes ($F_{3,15} = 3,408$; $P = 0,0433$), mais cette

Fig. 4. Valeurs moyennes des variables pertinentes pour le *Radopholus similis* en fonction de l'inoculum. Les symboles des variables sont définis au tableau 1.

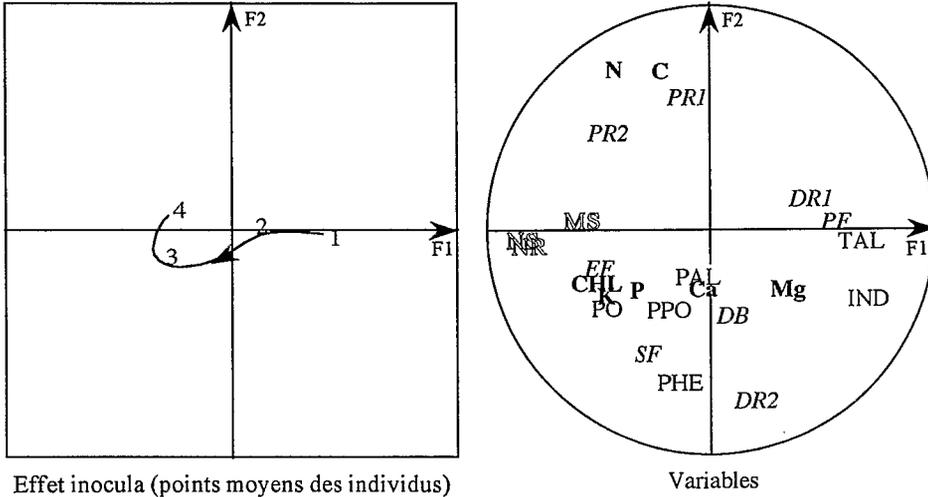


différence n'apparaît qu'entre le témoin et les séries inoculées. Cette tendance se dessine également chez le cv. Poyo, avec une régression significative ($F_{1,18} = 4,78; P = 0,0042$) malgré une stabilisation pour les deux inocula les plus forts.

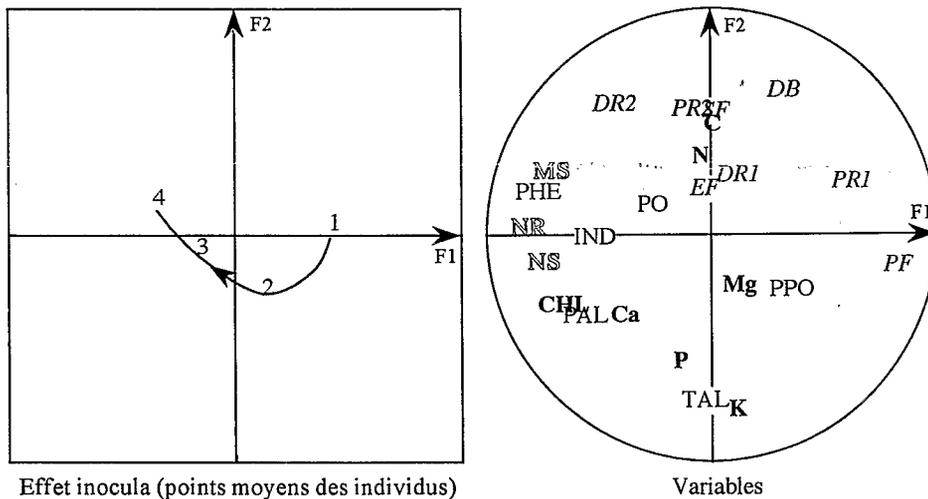
Dans le cas des variables métabolisme, la concentration en PHE et la PAL augmentent significativement en présence des nématodes chez le cv. Gros Michel. Dans le premier cas, cette progression est linéaire, mais dans le second, la différence n'apparaît qu'entre le témoin et l'inoculum le plus fort.

Fig. 5. AFM pour chaque cultivar de bananier, réalisée sur les quatre groupes de variables, pour l'*Helicotylenchus multicinctus*. Plans factoriels F1 × F2 des individus et des variables (voir fig. 3).

Poyo



Gros Michel



La concentration en IND augmente de manière significative chez le cv. Gros Michel. À l'inverse, chez le cv. Poyo, cette concentration diminue avec l'inoculum ($F_{1,18} = 4,68$; $P = 0,044$). Dans les deux cas, un effet seuil se manifeste pour les inocula les plus forts (3 et 4).

Pour le cv. Poyo, la PR2 augmente régulièrement avec l'inoculum ($F_{1,18} = 4,89$; $P = 0,040$). Une autre particularité de ce cultivar concerne la diminution de la TAL ($F_{1,18} = 8,85$; $P = 0,008$) et l'augmentation en PO ($F_{1,18} = 4,69$; $P = 0,044$). Dans les deux cas, on retrouve des valeurs similaires pour les deux inocula les plus forts.

Hoplolaimus pararobustus (fig. 7 et 8)

Pour les deux cultivars, les structures sont moins fortes que précédemment. Comme dans le cas précédent, le F1 est corrélé aux effectifs. Dans le cas des variables agronomie, on constate une diminution significative de la PF ($F_{1,16} = 27,72$; $P = 0,0003$) et de la PR2 chez le cv. Gros Michel (opposition entre le témoin et les trois séries inoculées). Chez

le cv. Poyo, seule l'EF est réduite de manière uniforme par les nématodes.

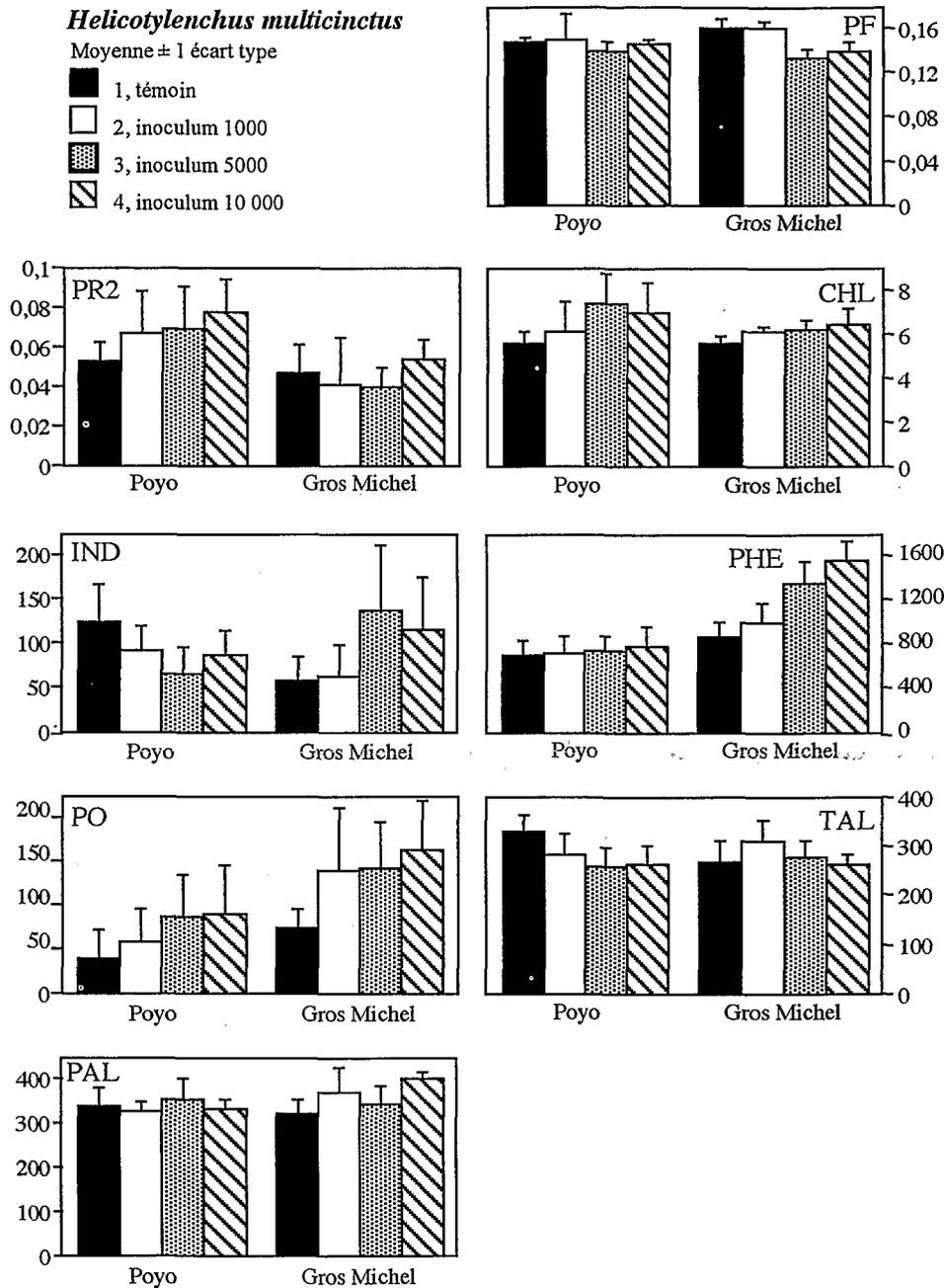
Chez le cv. Gros Michel, aucune incidence des nématodes ne se manifeste sur les variables assimilation. En revanche, chez le cv. Poyo, la teneur en N augmente parallèlement à l'inoculum, mais avec un effet plafond pour les inocula 3 et 4 ($F_{3,12} = 5,87$; $P = 0,011$).

Les variables PAL et PO varient significativement en fonction de l'inoculum mais, chez le cv. Gros Michel, la PAL décroît à partir de l'inoculum 3 ($F_{3,14} = 4,80$; $P = 0,017$), alors que, chez le cv. Poyo, la PO augmente ($F_{3,12} = 4,61$; $P = 0,023$).

Discussion

Le premier facteur de l'AFM discrimine les variables par rapport à l'effet des inocula, et le deuxième, par rapport aux cultivars. Autrement dit, le deuxième facteur décrit surtout les caractéristiques intrinsèques des cultivars plutôt que l'effet des nématodes. La majorité des variables discriminées

Fig. 6. Valeurs moyennes des variables pertinentes pour l'*Helicotylenchus multicinctus* en fonction de l'inoculum (voir fig. 4).



par le premier facteur sont des variables effectifs ou métabolisme alors que la majorité de celles discriminées par le second sont des variables agronomie ou assimilation. Le second facteur expliquant une variabilité plus faible que le premier, donc des processus de moindre importance, les variables agronomie ou assimilation sont moins bien adaptées à l'étude comparative des cultivars par rapport à leur sensibilité aux nématodes.

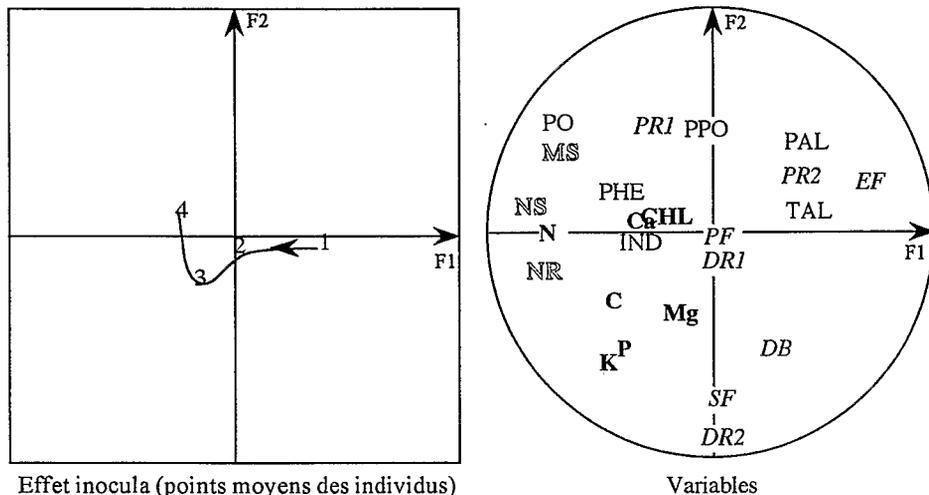
Les AFM effectuées pour chaque espèce de nématode et incluant les deux cultivars montrent que, pour l'ensemble des variables, les modifications évoluent proportionnellement à la taille de l'inoculum chez le cv. Gros Michel, alors que chez le cv. Poyo, une inversion apparaît pour les inocula les

plus forts. Ce phénomène ne se manifeste donc pas uniquement pour le paramètre de sensibilité, comme Mateille (1992) l'avait décrit sur le cv. Poyo infesté par le *R. similis*, mais touche également les autres paramètres dans le cas de l'*H. multicinctus* et de l'*H. pararobustus*.

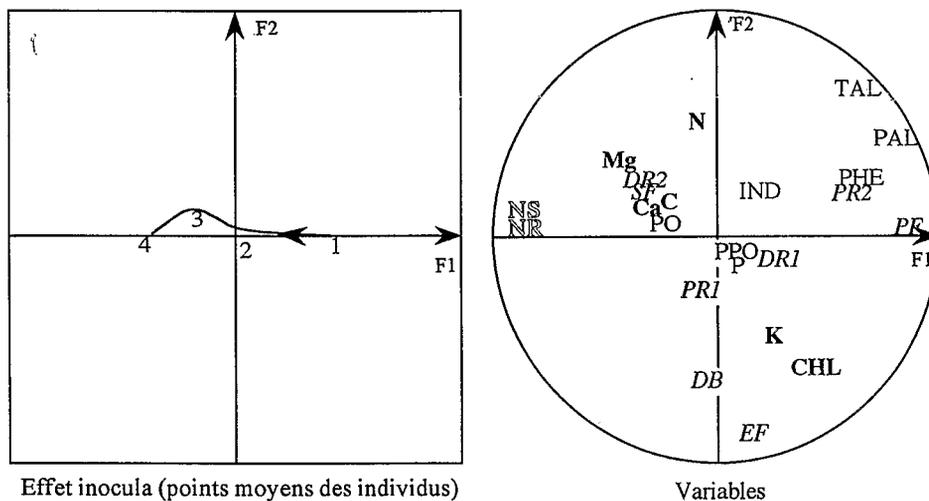
Ce résultat pose le problème du choix des niveaux d'inocula dans les expérimentations. À ce sujet, dans une étude comparative de la pathogénie d'isolats du *R. similis* sur des vitro-plants du cv. Poyo, Sarah et al. (1993) ont montré qu'un inoculum de 200 nématodes, appliqué à des plantes âgés de cinq semaines dans des pots de 800 cm³, discrimine davantage les isolats sur la base de la sensibilité et de la croissance des plants après deux mois qu'un inoculum de 300

Fig. 7. AFM pour chaque cultivar de bananier, réalisée sur les quatre groupes de variables, pour l'*Hoplolaimus pararobustus*. Plans factoriels F1 × F2 des individus et des variables (voir fig. 3).

Poyo



Gros Michel



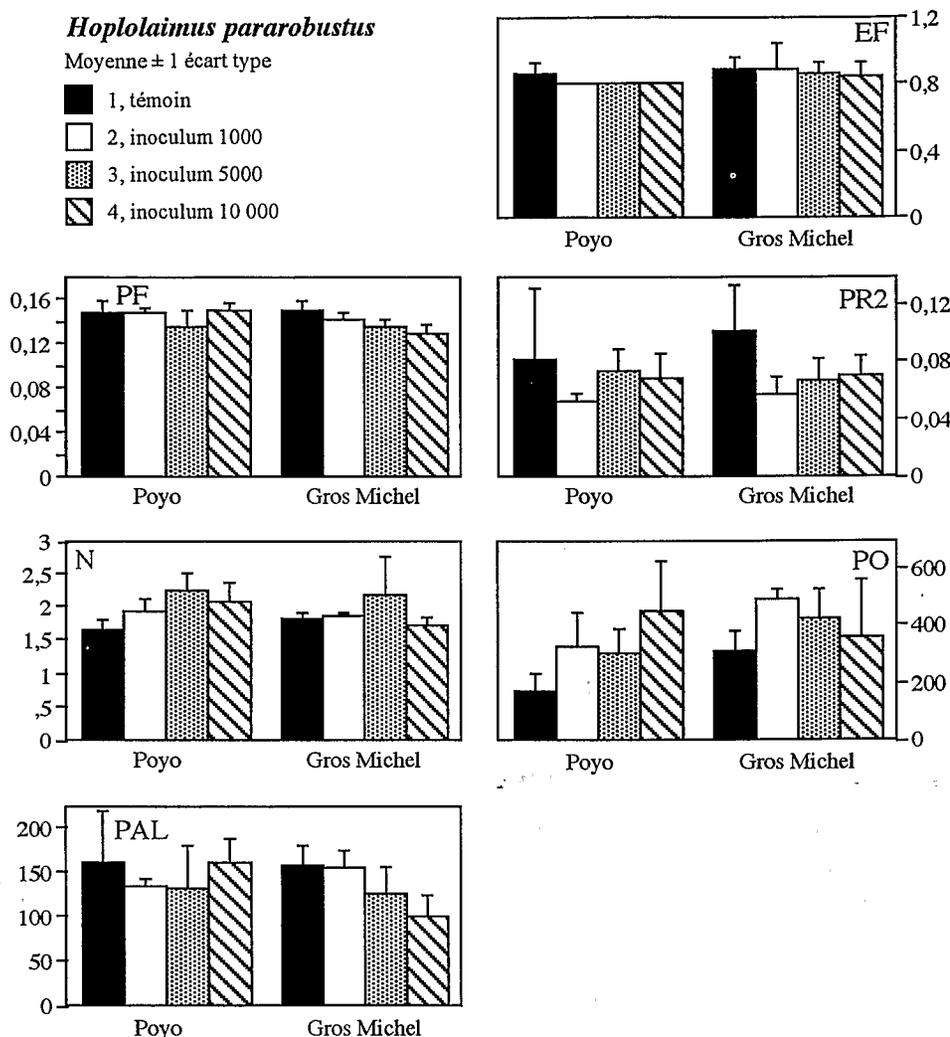
nématodes appliqué sur des plants plus âgés. Pinochet (1992) a proposé une méthode d'évaluation de la sensibilité des cultivars de bananiers au *R. similis* basée sur l'emploi de jeunes rejets de 500 à 750 g placés dans des conteneurs de 25 à 35 dm³ inoculés avec 10 000 à 20 000 nématodes. Bien que ces inocula élevés apparaissent a priori mieux adaptés à un matériel végétal plus âgé et à des conteneurs plus volumineux, nos résultats montrent que des inocula supérieurs à 1000 *R. similis* sont mal supportés par des plants âgés de trois semaines. Même si cet inoculum peut être porté à 5000 individus pour les espèces moins virulentes comme l'*H. multincinctus* et l'*H. pararobustus*, il convient de ne pas dépasser ces seuils, sous peine d'induire le phénomène d'inversion décrit précédemment et susceptible de fausser l'interprétation de résultats, en particulier dans le cas de tris de cultivars.

La lecture horizontale des trois niveaux d'analyse permet

d'identifier les paramètres susceptibles d'être des marqueurs fiables du comportement des deux cultivars testés en présence de nématodes. L'analyse globale des groupes de paramètres indique que les effets des nématodes varient en fonction de l'espèce sur le cv. Poyo, ce qui n'est pas le cas chez le cv. Gros Michel. L'attaque des nématodes sur le cv. Poyo provoquerait des réactions interactives anarchiques au niveau de divers facteurs du développement des bananiers. En revanche, pour le cv. Gros Michel, les paramètres de sensibilité et d'incompatibilité sont systématiquement séparés. Cela pourrait s'expliquer par la mise en place, quelles que soient les espèces de nématodes, d'un seul processus métabolique en réponse à l'agression parasitaire, processus initié par les réactions de défense de l'hôte.

Des travaux antérieurs ont montré que le développement morphologique et physiologique de ces deux cultivars est différent selon le cultivar et l'espèce de nématode (Mateille

Fig. 8. Valeurs moyennes des variables pertinentes pour *Hoplolaimus pararobustus* en fonction de l'inoculum (voir fig. 4).



1993). La présente étude confirme le rôle secondaire joué par les variables agronomie et assimilation, puisque celles-ci n'expliquent qu'une proportion mineure de la variabilité des données. Dans certains cas, il semble que ces variables sont plus dépendantes de la présence des nématodes que de la taille de l'inoculum. Par conséquent, elles seraient plus représentatives de l'état général des bananiers, sans rapport avec le niveau de parasitisme, confirmant ainsi leur mauvaise fiabilité.

Ces mêmes analyses confirment le rôle majeur des paramètres d'incompatibilité, mais avec des caractéristiques propres aux espèces de nématode et aux cultivars. L'état du métabolisme secondaire en réaction au parasitisme, en fonction, non pas de l'inoculum, mais des populations finales, n'a été mis en évidence que dans le cas du *R. similis* (Mateille 1994a). Or, ces analyses suggèrent la mise en place de trois mécanismes correspondant aux trois espèces de nématodes. Avec le *R. similis*, les deux cultivars ne diffèrent que par l'effet de l'inoculum sur la concentration racinaire en PHE et sur les PO et PPO. Avec l'*H. multincinctus*, ce sont les concentrations racinaires en IND et PHE et les PO, PAL et TAL qui fluctuent en fonction de l'inoculum mais pas de la même

façon pour les deux cultivars. Avec l'*H. pararobustus*, l'effet de l'inoculum permet de distinguer les deux cultivars sur la base des PO et PAL. On est donc en présence de cinq variables : concentrations en IND et PHE, PO, PPO et PAL, non corrélées mathématiquement, mais qui interviennent dans un ensemble homogène de réactions biochimiques et de régulations enzymatiques du métabolisme secondaire des plantes. Cet ensemble concerne à la fois le métabolisme des IND et celui des PHE en réponse au parasitisme des nématodes (Mateille 1994b). Parmi ces variables, la concentration racinaire en PHE est concernée, à des degrés divers, pour chaque espèce de nématode, mais la variation de ces concentrations est à rechercher au niveau de celle des enzymes de régulation du métabolisme phénolique. L'évolution des variables chez les deux cultivars de bananier en fonction de l'inoculum ou en fonction des populations finales (Mateille 1994a) est identique dans le cas du *R. similis*. Cette espèce stimulerait la production de polyphénols chez le cv. Poyo. Chez le cv. Gros Michel, l'augmentation de la PPO n'étant pas suffisante, le métabolisme phénolique serait dévié vers la production de lignines à cause d'une balance PO/PPO en faveur de la PO. Dans le cas de l'*H. multincinctus*, le

métabolisme indolique serait plus sollicité que le métabolisme phénolique. La diminution de la concentration en IND chez le cv. Poyo s'expliquerait par la participation de mono-phénols activateurs de l'acide indole-acétique oxydase (augmentation de la PO). Chez le cv. Gros Michel, l'augmentation de la concentration en PHE est certainement liée à l'accroissement de la PAL, phénomène indépendant de l'augmentation de la concentration en IND. Sur cette base, il s'avérerait que le cv. Poyo est moins sensible au *H. multicinctus* que le cv. Gros Michel. Bien que le cv. Gros Michel soit plus sensible au *H. pararobustus* que le cv. Poyo (Mateille 1992), la forte PO justifierait une tolérance plus importante de ce cultivar à cette espèce.

Conclusion

Les analyses multivariées ont permis de relativiser l'importance des paramètres de sensibilité aux nématodes mesurés sur deux cultivars de bananiers triploïdes. Ainsi, les paramètres agronomiques et physiologiques sont plutôt le reflet d'un grand nombre de perturbations qu'il est difficile de trier et de coordonner entre elles. Ils peuvent même évoluer à l'inverse de la pression parasitaire. En revanche, les populations finales de nématodes et les perturbations du métabolisme secondaire, liées aux réactions de défense de l'hôte, sont davantage corrélées aux populations initiales et se révèlent être les critères les plus fiables pour comparer les cultivars. Les choix des paramètres doit se porter, d'une part, sur le métabolisme indolique et, d'autre part, sur les enzymes de régulation du métabolisme phénolique en relation avec le flux de phénols. Ces travaux devraient s'étendre à d'autres cultivars de bananiers afin de confirmer que leur implication est un caractère constant et être complétés par des études sur le polymorphisme phénolique et enzymatique des cultivars (Horry 1989) en relation avec leur sensibilité aux nématodes. La finalité de ces recherches serait de pouvoir proposer aux améliorateurs des critères fiables de sélection de cultivars.

Bibliographie

- Brozowska, J., Hanower, P., et Lioret, C. 1978. Étude du mécanisme de la coagulation du latex d'*Hevea brasiliensis* : systèmes enzymatiques impliqués dans le processus. I. Phenol oxydases. *Physiol. Vég.* **16** : 231–234.
- Chance, B., et Maehly, A.C. 1955. Assay of catalases and peroxydases. *Dans Methods in enzymology*. Vol. 2. *Éditeurs* : S.P. Colowick et N.O. Kaplan. Academic Press, New York. pp. 764–775.
- Davide, R.G. 1980. Influence of cultivar, age, soil texture and pH on *Meloidogyne incognita* and *Radopholus similis* on banana. *Plant Dis. Rep.* **64** : 571–573.
- Davide, R.G., et Marasigan, L.Q. 1985. Yield loss assessment et evaluation of resistance of banana cultivars to the nematodes *Radopholus similis* Thorne and *Meloidogyne incognita* Chitwood. *Philipp. Agric.* **68** : 335–349.
- Escofier, B., et Pagès, J. 1990. Analyses factorielles simples et multiples. Objectifs, méthodes et interprétation 2^e éd. Dunod, Paris.
- Ferraz de A., E.C., Orchard, J.E., et Lopez, A.S. 1984. Resposta da pimenteira-do-reino à infestação por *Meloidogyne incognita* em relação ao teor de fenóis totais. *Rev. Theobroma*, **14** : 217–227.
- Horry, J.P. 1989. Chimiotaxonomie et organisation génétique dans le genre *Musa*. *Fruits*, **44** : 455–475, 509–520.
- Hugon, R., et Picard, H. 1988. Relations spatiales entre taches et nécroses racinaires et nématodes endoparasites chez le bananier. *Fruits*, **43** : 491–497.
- Lassoudière, A. 1978. Quelques aspects de la croissance et du développement du bananier Poyo en Côte d'Ivoire. III. Le faux tronc et le système foliaire. *Fruits*, **33** : 373–412.
- Lichtenthaler, H.K., et Wellburn, A.R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* et *b*. Extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* **603** : 591–592.
- Mace, M.E. 1963. Histochemical localization of phenols in healthy and diseased banana roots. *Physiol. Plant.* **16** : 915–925.
- Marigo, G. 1973. Sur une méthode de fractionnement et d'estimation des composés phénoliques chez les végétaux. *Analisis*, **2** : 106–110.
- Martin-Prével, P. 1980. La nutrition minérale du bananier dans le monde. 1^{re} partie. *Fruits*, **35** : 503–518.
- Mateille, T. 1992. Comparative development of three banana-parasitic nematodes on *Musa acuminata* (AAA group) cvs Poyo and Gros Michel. *Nematologica*, **38** : 203–214.
- Mateille, T. 1993. Effects of banana-parasitic nematodes on *Musa acuminata* (AAA group) cvs. Poyo and Gros Michel vitro plants. *Trop. Agri. (Trinidad)*, **70** : 325–331.
- Mateille, T. 1994a. Réactions biochimiques provoquées par trois nématodes phytoparasites dans les racines de *Musa acuminata* (groupe AAA) variétés Poyo et Gros Michel. *Fundam. Appl. Nematol.* **17** : 283–290.
- Mateille, T. 1994b. Biologie de la relation plantes-nématodes : perturbations physiologiques et mécanismes de défense des plantes. *Nematologica*, **40** : 276–311.
- Mateille, T., et Folkertsma, S. 1991. A survey of nematodes and fungi in roots of banana cv. Poyo in the Ivory Coast. *Rev. Nématol.* **14** : 3–8.
- Mateille, T., Cadet, P., et Quénéhervé, P. 1984. Influence du recépage du bananier Poyo sur le développement des populations de *Radopholus similis* et d'*Helicotylenchus multicinctus*. *Revue Nématol.* **7** : 355–361.
- McKinney, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. *J. Biol. Chem.* **140** : 315–322.
- Meudt, W.J., et Gaines, T.P. 1967. Studies on the oxidation of indole-3-acetic acid by peroxydase enzymes. I. Colorimetric determination of indole-3-acetic acid oxidation products. *Plant Physiol.* **42** : 1395–1399.
- Pagès, J., Escofier, B., et Haury, J. 1991. Multiple factor analysis: a method to analyse several groups of variables measured on the same set of individuals. *Dans Applied multivariate analysis in SAR and environmental studies*. *Éditeurs* : J. Devillers et W. Karcher. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 33–83.
- Pilet, P.-E. 1961. Les phytohormones de croissance. Méthodes, chimie, biochimie, physiologie, applications diverses. Masson, Paris.
- Pinochet, J. 1988. Comments on the difficulty in breeding bananas and plantains for resistance to nematodes. *Rev. Nématol.* **11** : 3–5.
- Pinochet, J. 1992. Breeding bananas for resistance against lesion forming nematodes. *Dans Nematology from molecule to ecosystem*. Proceedings of the 2nd International Nematology Congress, Veldhoven, 11 au 17 août 1990. *Éditeurs* : F.J. Gommers et P.W.T. Maas. European Society of Nematologists, Inc., Invergowrie. pp. 157–169.
- Quénéhervé, P., et Cadet, P. 1982. Une nouvelle technique d'échantillonnage pour l'étude des nématodes endoparasites du bananier. *Rev. Nématol.* **9** : 95–97.
- Sarah, J.L., Sabatini, C., et Boisseau, M. 1993. Differences in pathogenicity to banana (*Musa* sp., cv. Poyo) among isolates of *Radopholus similis* from different production areas of the world. *Nematropica*, **23** : 75–79.

- Seinhorst, J.W. 1950. De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aanstasting door het stengelaaltje *Ditylenchus dipsaci* Kühn) Filipjev. Tijdschr. Plantenziekten, **56** : 292-349.
- Seinhorst, J.W. 1962. Modifications of the elutriation method for extracting nematodes from soil. *Nematologica*, **8** : 117-128.
- Stover, R.H., et Simmonds, N.W. 1987. Bananas, 3^e éd. Tropical Agriculture Series.
- Takayoshi, H., et Kawamura, I. 1964. Enzymes of aromatic biosynthesis. Dans *Modern methods of plant analysis* 7. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg. pp. 260-285.
- Veerannah, L., Rajagopal, P., Ramadoss, R., Thirumalaiswamy, K., et Chinna Rajan, A.M. 1976. Impaired nutrition of banana infested by nematodes. *Indian J. Hortic.* **33** : 41-43.

