

Variabilité génétique chez les *Meloidogyne* et plus particulièrement chez *M. hapla*

Antoine DALMASSO et Jean-Baptiste BERGÉ *
INRA, Station de Recherches sur les Nématodes
B.P. 78, Antibes (France)

RÉSUMÉ

Plusieurs populations de *Meloidogyne hapla*, quelques-unes de *M. arenaria* et *M. incognita*, la plupart originaires de France, ont été examinées sur le plan de leur caryotype et de leur sexualité. On a aussi étudié la variabilité de leur empreinte périnéale, de certains caractères biochimiques, de leurs agressivités sur cucurbitacées, légumineuses et porte-greffe de rosiers.

L'importante variabilité intraspécifique qui règne dans ces divers domaines (surtout étudiée ici chez *M. hapla*) et quelques considérations d'ordre génétique mettent en question la notion de race ou autre catégorie infraspécifique chez les *Meloidogyne*. Ceux-ci tendent, de plus en plus, à donner un nouvel exemple de polymorphisme génétique avec toute l'originalité qui s'attache dans ce type de problème aux espèces pratiquant différentes parthénogèneses.

ABSTRACT

General populations of *Meloidogyne hapla*, someones of *M. arenaria* and *M. incognita*, essentially found in France, have been studied to establish their caryotypes and aspects of their sexuality. Their patterns, biochemical characters pathogenicities on cucurbits, leguminous plants and rose root stocks show a great intraspecific variability.

That is conspicuous for *M. hapla* and shakes the race or others infraspecific taxa notions for the *Meloidogyne*. This genus is giving a new example of an original genetic polymorphism; specially strong because their parthenogenetic reproductions.

Les procédés écologiques de lutte tendant à limiter les populations de nématodes, par les façons culturales ou la résistance des végétaux, éveillent toujours un grand intérêt malgré la multiplication des désinfections de sol. Ceci explique l'importance qu'on attache à la connaissance des relations plantes-nématodes et à l'identification de ceux-ci.

La pénétration dans les tissus implique chez les formes endoparasites des systèmes adaptatifs élaborés pour la reconnaissance des racines favorables et le détournement par digestion des réserves cellulaires. La diversité originelle de ces systèmes et son évolution au cours de l'histoire phylogénique d'un groupe entraînent la spécialisation de tel genre, telle espèce, ou seulement de telle ou telle population, à un nombre limité d'hôtes. Dans cet ordre d'idées on peut se demander quelles sont les causes de l'apparente polyphagie des *Meloidogyne* et, en liaison avec celle-ci, quelle est la nature des cloisonnements génétiques susceptibles de se produire à des niveaux infraspécifiques ou spécifiques.

MÉTHODE D'ÉTUDE

Plusieurs populations de *M. hapla*, provenant surtout de France, ont été examinées pour leurs modes de reproduction, leurs caractères caryologiques, biochimiques et pathologiques, ces derniers en relation avec leurs exigences nutritionnelles. Les observations sur l'agressivité, l'armature enzymatique, la morphologie, portent à la fois sur les populations sauvages et sur la descendance de larves élevées isolément après sélection par leur caryotype.

L'étude de la gamétogenèse est abordée par la classique technique de Feulgen adaptée à la nématologie, avec 50 ou 100 frottis par population selon le succès obtenu et même beaucoup plus dans quelques cas. Les techniques d'électrophorèse appliquées aux nématodes ont été rapportées par ailleurs (BERGÉ & DALMASSO, 1975).

* Collaboration technique de M. BONGIOVANNI et J. M. BRIDE.

LES RÉSULTATS

LA VARIABILITÉ CHROMOSOMIQUE ET SES CONSÉQUENCES

Les lignes générales de l'ovogenèse chez les *Meloidogyne* et la grande variabilité caryotypique, dont ceux-ci font preuve, sont connues (TRIANTAPHYLLOU, 1966).

Le tableau I résume les observations recueillies chez différentes populations.

La plupart des populations naturelles présentent des variations internes dans le nombre des chromosomes : par exemple 15-16-17 chromosomes chez un *M. hapla* de Cogolin. Il faut croire que ces différences ne provoquent pas toujours de modifications importantes dans le comportement de l'espèce puisqu'elles n'entraînent pas de localisations géographiques particulières, ni d'inféodation à des hôtes déterminés pour tel ou tel caryotype.

L'amplitude de la variation s'explique par la facilité de dispersion des types transportés avec les plants et aussi, sans doute, par la fréquence des accidents chromatiques.

De même, il n'apparaît guère plus de différences nettes entre la population mitotique de Saulcy et les divers types méiotiques, qu'entre ces derniers entre eux. Dans le cas de celle-ci l'absence de variation biologique importante laisse penser que l'ensemble du pool de gènes originels ne s'est pas trouvé beaucoup modifié et qu'il s'agit, selon toute probabilité, d'un autopolyploïde.

Cependant des phénomènes intéressants interviennent au niveau de la sexualité. Pour toutes les populations il est facile d'obtenir les deux sexes dans la descendance de larves élevées isolément montrant que le déterminisme est assuré par un système de balance génique favorisant aussi l'inversion épigamique. Pour la population de Saulcy l'équilibre doit être encore plus déplacé vers l'inter-sexualité puisque la masculinisation des individus est plus facile à obtenir. Les mâles à deux gonades sont aussi plus fréquents, peut-être parce que la période du développement, où l'inversion est possible, est ici prolongée.

On sait qu'il en est de même pour les populations de *M. incognita*, *M. arenaria* et à un degré encore supérieur chez *M. javanica*. Cette dernière espèce fait preuve, à ce titre, d'une certaine indépendance génotypique par rapport aux deux précédentes avec

CARYOTYPES DE MELOIDOGYNE

Type morphologique	Localités Origines	Hôtes d'origine	Caryotypes	Mode de reproduction
<i>M. hapla</i>	Saint-Emilion	Vesce	n = 17	Amphimixie et parthénogenèse méiotique
	Milly	Aconitum	n = 14-15	Parthénogenèse méiotique (Amphimixie possible)
	Angers	Rosier	n = 16-17	
	Aubenas	Vigne	n = 16-17	
	Beucaire	Vigne	n = 16-17	
	Dax	Actinidia	n = 17	
	Cogolin	Vigne	n = 15-16-17	
	Langon	Vigne	n = 16-17	
	Le Beausset	Vigne	n = 16	
	Leognan	Vigne	n = 17	
	Juan-les-Pins	Rosier	n = 16-17	
	Fleury-les-Aubrais	Rosier	n = 17	
	La Môle	Vigne	n = 16-17	
	Langeais	Rosier	n = 15-16-17	
	Lyon	Rosier	n = 16	
	Manziat	Maraîchages	n = 16-17	
	Varennes/Loire	Rosier	n = 16	
	Sandillon	Rosier	n = 16	
Saint-Cyr-en-Val	Rosier	n = 16		
Saint-Laurent	Rosier	n = 17		
Saulcy/Meurthe	Pomme-de-terre	2 n = 45	Parthénogenèse mitotique	
<i>M. javanica</i>	Rabat Salé (Maroc)	Rosier	2 n = 46-47	
	Cagnes-sur-Mer	Maraîchages	2 n = 47	
<i>M. incognita</i>	Le Lude	Pomme de terre	2 n = 47	
<i>M. arenaria</i>	Le-Grand-du-Roi	Vigne	2 n = 51-52-(53)	
	Cagnes-sur-Mer	Maraîchages	2 n = (51)-52-(53) (dont 12 macro)	
<i>M. arenaria-incognita</i>	Monteux	Maraîchages	2 n = 56	

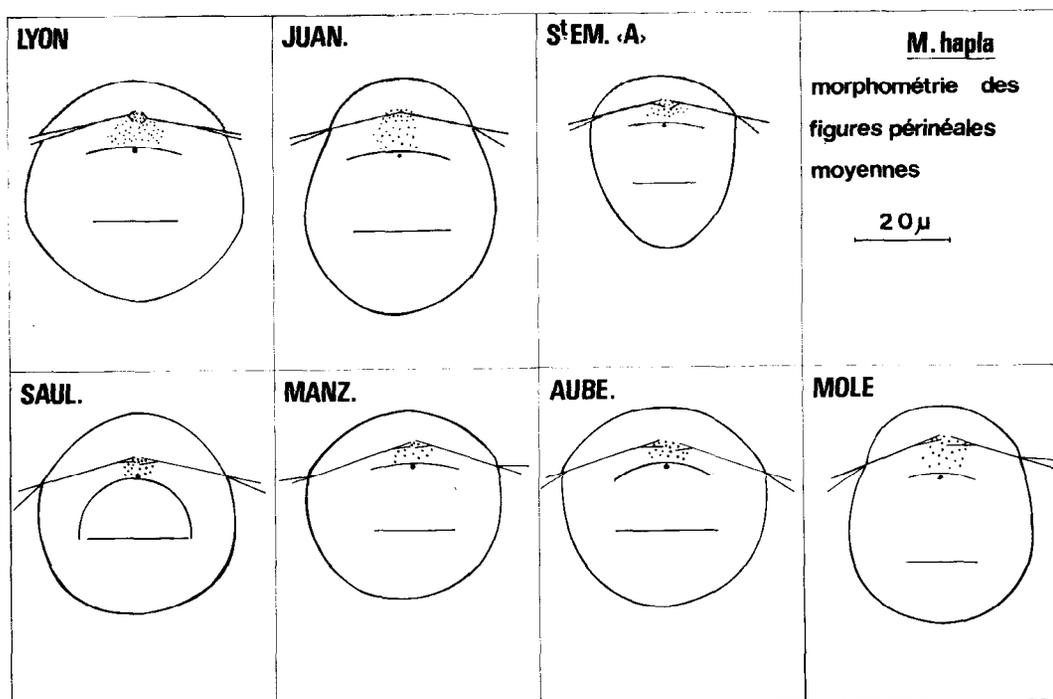


Fig. 1. — Diagramme montrant la structure standardisée des empreintes périnéales de quelques populations de *Meloidogyne hapla* (moy. pour 30 individus)

lesquelles elles présentent, par ailleurs, des affinités bien connues.

Dans tous les cas il est difficile de préciser si le mode de maturation ovocytaire a une influence sur le système de détermination du sexe, car les polyploïdies élevées sont toujours associées à la reproduction mitotique.

Le tableau I signale aussi quelques caryotypes nouveaux :

— La population prélevée à Montoux (Vaucluse) possède 56 chromosomes. Elle se rattache par la cytologie et la biochimie à *M. arenaria*, mais les figures périnéales sont intermédiaires entre *M. incognita* et *M. arenaria*. Chez d'autres *M. arenaria* on remarque des différences de taille dans les chromosomes. Douze environ parmi la cinquantaine existant à Cagnes-sur-Mer et au Grau-du-Roi sont plus gros que les autres.

Une population de *M. hapla* provenant de Milly-la-Forêt présente 14 bivalents (fig. 2). C'est le nombre le plus bas connu chez les *Meloidogyne* à l'exception de *M. spartinae* qui n'en a que 7 (FASSULIOTTIS & RAU, 1966).

Beaucoup d'hypothèses pourraient être avancées. En bref, quelle que soit l'espèce, la polysomie (ou bien aneuploïdie) a pu intervenir avant ou après la polyploïdisation des formes, ce qui expliquerait l'imbraglio actuel.

LA VARIABILITÉ DANS L'EMPREINTE PÉRINÉALE

Divers auteurs, dont SASSER (1954) et NETSCHER (1971), ont remarqué que l'empreinte périnéale (« pattern ») est affectée par une grande variabilité, même dans la descendance d'une seule larve.

Le diagramme (fig. 1) schématise les moyennes des relevés effectués sur les plages périnéales de 30 femelles de *M. hapla* pour chacune des populations.

L'observation d'un nombre élevé de figures permet aussi de constater que certaines populations sont dépourvues de tissu granuleux circumvaginal (Lyon) ou en a très peu (La Môle). Ce tissu granuleux est par contre très développé chez les femelles de Saint-Émilien où il se développe même à la base de l'empreinte (fig. 2).

A ces différences morphologiques ne correspondent pas de caryotypes particuliers : celui de Saint-Émilien est banal, $n = 17$. Pourtant les mâles à deux testicules sont rares et il semble que la reproduction passe plus souvent par le processus amphimictique.

LA VARIABILITÉ DANS L'AGRESSIVITÉ

Les différentes lignées caryotypiques définies ci-dessus, ont été testées sur des gammes d'hôtes com-

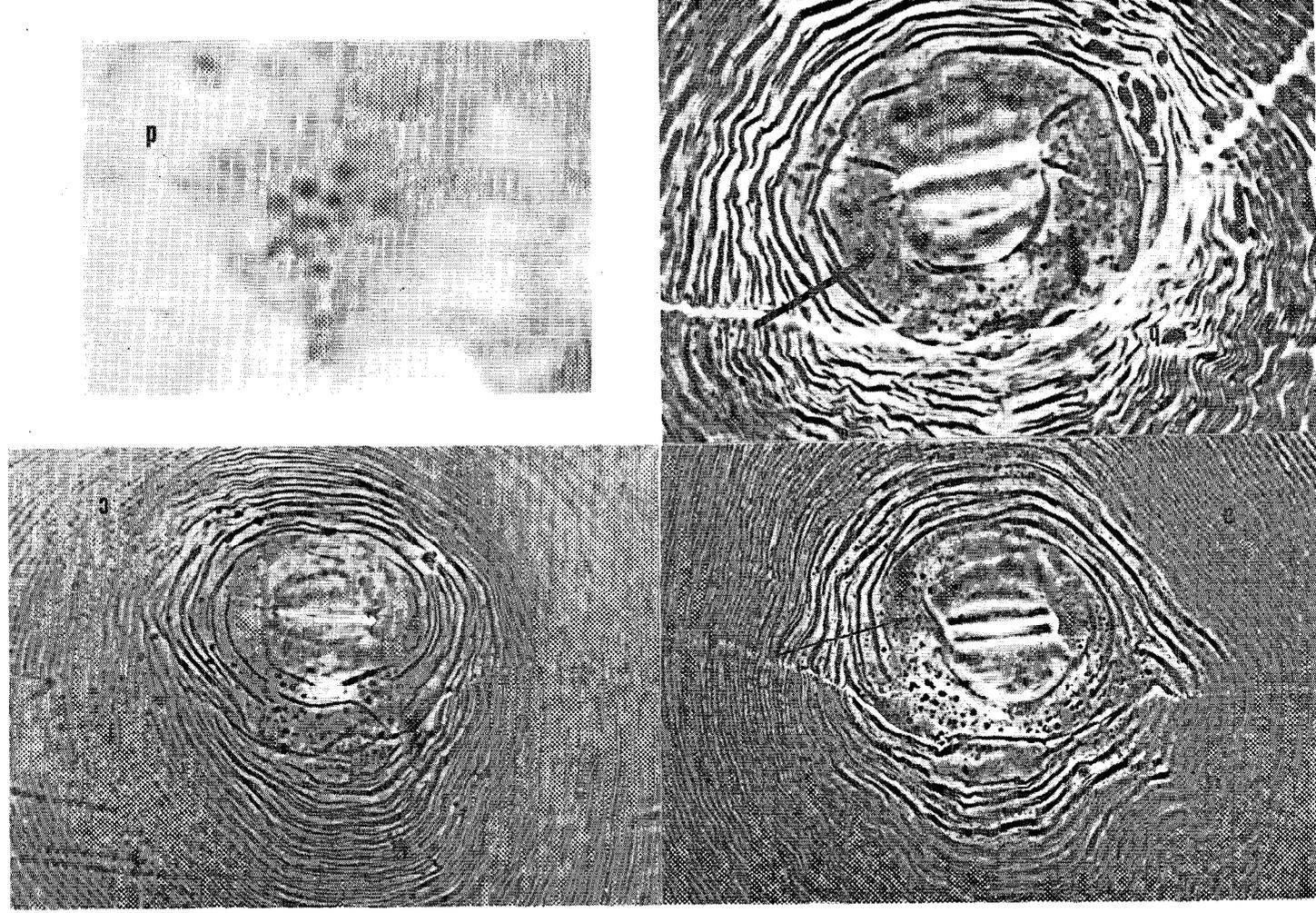


Fig. 2. — *Meloidogyne hapla*
a, b : empreintes périnéales chez la population de Saint-Emilion ($\times 600$ environ) et $\times 900$ environ), tissu granuleux circumvaginal.
c : empreinte périnéale chez la population de La Môle ($\times 600$ environ)
d : Caryotype à $n = 14$ chromosomes chez la population de Meloidogyne hapla de Milly-La-Forêt ($\times 2600$)

prenant des solanées, des cucurbitacées, des légumineuses et des rosacées.

Les variétés de tomates résistantes au « complexe mitotique » constitué par *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, sont attaquées par la population mitotique de *M. hapla* provenant de Saulcy. Une légère résistance est cependant notable.

De surprenantes différences d'agressivité apparaissent chez *M. hapla* sur les cucurbitacées maraîchères (BERGE *et al.*, 1974).

Le genre *Cucumis* présente une résistance importante à toutes les populations testées, mais à des degrés divers cependant et ce en dépit des galles présentes : par exemple *M. hapla* (Saulcy) attaque le concombre « généreux » plus que toutes les autres.

Les pastèques sont hypersensibles et inhibent le développement des nématodes. Plusieurs variétés de *Cucumis melo* (Charentais ordinaire, Charentais 3967, Ordinabel, Doublon F₁) ont une réaction analogue, mais permettent quand même une légère reproduction.

Tous les cas de résistance se traduisent par une augmentation de l'indice andrique au sein des populations.

Le genre *Cucurbita* est un bon hôte, sauf en ce qui concerne les potirons peu attaqués par les populations de Beaucaire et de Lyon.

Sur légumineuses (trèfles, luzernes, coronille, melilot, féverole, pois nain, lupin, lentille) les résultats sont également variables, sans aucune corrélation avec les caractères pris en considération précédemment, tels que les caryotypes ou les figures périnéales. Toutes sont attaquées à des degrés divers selon les populations, toutefois des difficultés d'interprétation apparaissent en raison des imprécisions génétiques variétales des semences.

Néanmoins *Vigna sinensis* reflète bien des différences de comportement parmi les populations testées.

Ci-dessous le nombre moyen de femelles obtenues avec un inoculum de départ de 500 larves par tube.

ATTAQUE SUR *VIGNA SINENSIS*

Origine	Saulcy	Saint-Emilion	Juan-les-Pins	Lyon *	Beaucaire	Manziat	Angers	Rennes	Milly
Nombre de femelles	3	63	17	0	32	55	8	0	1

* 12 répétitions, sauf pour Lyon 36 répétitions.

Des résultats analogues et plus faciles à interpréter ont été obtenus avec les clones de porte-greffe de

rosiers. Presque chaque population a un comportement propre.

		La Môle	Milly	Saint-Emilion	Manziat	Lyon	Saulcy	Angers	Rennes	Beaucaire	Juan-les-Pins
<i>Indica</i>	Stades divers	3	50	0	0	57	294	0	18	0	360
	L ₂	11	127	163	10	474	11 690	4	287	37	22 440
	Œufs	91	738	158	142	3 789	65 101	55	2 343	3 583	200 240
	Total	105	915	321	152	4 320	77 085	59	2 648	3 620	223 040
<i>Froebelli</i>	Stades divers	891	54	0	0	312	51	3	6	8	30
	Œufs	8 205	45	0	15	9 024	2 312	5	0	85	313
	L ₂	88 474	242	10	651	99 600	12 780	8	204	4 613	4 511
	Total	97 570	341	10	666	108 936	14 143	16	210	4 706	4 854
<i>Canina</i>	Stades divers	1 350	96	0	0	381		263	234	45	0
	Œufs	10 490	1 255	0	35	4 581	4 112	474	7 027	17	0
	L ₂	94 450	12 796	83	1 244	48 093	50 351	5 674	90 174	3 775	10
	Total	106 290	14 147	83	1 279	53 055	54 463	6 411	97 435	3 837	10

Processus expérimental : les rosiers sont cultivés en pots contenant du sol stérile ; l'inoculum leur est apporté par deux plants de tomates qui ont été préalablement cultivés pendant deux mois en conditions standard : c'est-à-dire en tubes à essai contenant du sol contaminé par 500 larves.

Les observations ont eu lieu cinq mois après l'infestation des porte-greffes de rosiers.

Les chiffres expriment le nombre moyen pour 10 g de racines et 10 répétitions.

LA VARIABILITÉ BIOCHIMIQUE

L'électrophorèse des protéines tant totales qu'associées à différentes enzymes sur les populations précitées, a permis une mesure encore plus claire du degré de l'hétérogénéité naturelle qui règne à l'échelle des systèmes enzymatiques réglant les diverses fonctions biologiques. Il s'agit ici du reflet presque direct de la variabilité génétique puisque la synthèse de toutes ces protéines est dirigée par l'ADN.

Les diverses données publiées par ailleurs (BERGE & DALMASSO, 1975) font apparaître cette diversité qu'il n'est pas possible de mettre en corrélation avec les observations précédentes. Ceci s'explique par les niveaux génétiquement différents de la variabilité qui s'exprime dans ce dernier cas de la façon la plus directe et la plus élémentaire.

DISCUSSION

On peut essayer d'expliquer les diversités phénotypiques et génétiques qui caractérisent *M. hapla* et qui sont certainement plus communes qu'on ne le pensait parmi les nématodes. L'appréciation des phénomènes est gênée par la parthénogenèse qui, même lorsqu'elle n'est pas obligatoire, empêche les manipulations classiques en la matière.

Par le jeu de la polyploïdie et de la polysomie certains gènes se trouvent multipliés. De là des possibilités d'équilibre ou même de suppléance. Ces mécanismes et leurs expressions au niveau phénotypique restent à préciser. Mais on perçoit leur influence dans le déterminisme du sexe ou lors d'expériences préliminaires de mutagenèse qui nécessitent des doses élevées de rayonnement.

Les diverses populations que nous utilisons sont toujours issues d'une seule larve sélectionnée pour son caryotype ou une caractéristique importante, mais leur valeur n'est pas la même, en effet les populations méiotiques où l'imbreding n'est pas impossible doivent être dissociées des mitotiques. On peut noter au passage que la parthénogenèse mitotique paraît être un apanage des nématodes endoradiculaires.

Il est certain aussi que l'hôte accentue l'isolement protecteur des mutations qui apparaissent spontanément. Mais chez les *Meloidogyne* l'essentiel de la spéciation biologique observée est dû à la parthéno-

genèse avec laquelle les allèles dominants ou favorables ont davantage de difficultés à s'implanter dans les populations naturelles que pour les espèces amphimictiques. Ceci expliquerait bien la mosaïque de types mis en évidence. Beaucoup de mutations sont ainsi préservées. La population tend à « utiliser » le pool génique le plus propice compte tenu des conditions externes entraînant la dominance d'un type. Cependant les gènes moins « adaptés » sont conservés en réserve et pourront se manifester à l'occasion d'un changement cultural ou de milieu par exemple.

La notion de race ou de pathotype, voire dans une certaine limite d'espèce (cas du complexe *M. arenaria-incognita*), n'a plus guère de sens : la diversité est telle que chaque peuplement est composé très souvent de multiples entités. Les observations biochimiques aggravent cette impression. En définitive, chaque catégorie, établie sur un critère, est discutable du fait de la diversité régnant au sein de ces groupes ou des espèces au niveau de l'ensemble des caractères envisageables. Celle-ci peut être supérieure à celle sur laquelle on se base pour le critère initialement choisi. En bref on peut se demander si les *Meloidogyne* et tout particulièrement *M. hapla* ne sont pas en train de nous fournir un nouvel et original exemple de polymorphisme génétique (avec en plus le cas particulier des types à parthénogenèse mitotique). Que devient en outre le concept de « race », lorsqu'un individu est ici potentiellement une population originale ?

Manuscrit reçu au S.C.D. de l'ORSTOM le 29 juillet 1975.

BIBLIOGRAPHIE

- BERGE (J. B.), DALMASSO (A.), RITTER (M.) - 1974 - Influence de la nature de l'hôte sur le développement et le déterminisme du sexe du nématode phytoparasite *Meloidogyne hapla*. *C.r. Acad. Agric. octobre*, 66-71.
- BERGE (J. B.), DALMASSO (A.) - 1975 - Caractéristiques biochimiques chez quelques populations de *Meloidogyne hapla* et de *M. spp.* *Cah. ORSTOM, sér. Biol.* vol. X, n° 3, 263-271.
- FASSULIOTIS (G.), RAU (G. J.) - 1966 - Observations on the embryogeny and histopathology of *Hypoperine spartinae* on smooth cordgrass coots *Spartina alterniflora*. *Nematologica* 12, 20.
- NETSCHER (C.) - 1971 - Reflexion sur la variabilité de quelques espèces de *Meloidogyne*. *O.E.P.P. Conférence sur les nématodes du genre Meloidogyne*.
- SASSER (J. N.) - 1954 - Identification and host parasite relationships of certain root knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Univers. Maryland. Bull.*, A 77 (technical), 1-30.
- TRIANTAPHYLLOU (A. C.) - 1966 - Polyploidy and reproductive patterns in the root-knot nematode *Meloidogyne hapla*. *J. Morph.* 118, 403-414.