

VARIABILITÉ DES CARACTÈRES BIOMETRIQUES CHEZ LA
LARVE DU DEUXIEME STADE DU NEMATODE DES CITRUS:
TYLENCHULUS SEMIPENETRANS COBB, 1913⁽¹⁾

par

J. MACARON

Certaines mensurations et quelques rapports constants selon l'espèce, sont habituellement utilisés par les nématologistes pour les besoins de la Taxonomie de détail. Toutefois en 1952, J. B. Goodey montrait que la plante hôte pouvait modifier considérablement ces caractères chez le nématode phytophage: *Ditylenchus destructor* Thorne.

Gysels et Van Der Haegen (1962) et Gysels et Brake en 1964 observaient que les dimensions du nématode saprophage, *Panagrellus silusiae* (De Man 1913) Goodey, 1945, varient selon les températures d'élevage et Cayrol et Legay (1967) signalaient que l'espèce mycophage *Ditylenchus myceliophagus* Goodey 1958 présente des modifications importantes des trois coefficients a, b et c, de De Man et de la longueur selon les températures d'élevage.

Au cours d'une étude consacrée au nématode des citrus: *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913, nous avons envisagé le problème de la variabilité des caractères biométriques, en fonction de la température de l'hôte et de l'âge (larves néonates ou s'étant nourries sur les larves femelles du 2ème stade). En effet, il s'agit d'une espèce très déformée par le parasitisme, ou seule la femelle se nourrit et se fixe en s'hypertrophiant. Elle pond alors ses oeufs à la surface de la racine dans des « nids » entourés d'une sécrétion protectrice. On trouve dans ces nids des larves femelles du 2ème stade et des mâles à tous les stades. La larve du 2ème stade est le seul stade femelle libre.

(1) Variability of biometric characters in second stage larvae of the Citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913.

La connaissance d'une éventuelle variabilité était importante, car ces caractères pouvaient être retenus pour tenter de caractériser des races biologiques.

Materiel et methode

Pour étudier l'influence de chaque facteur nous avons effectué les mensurations dans l'eau sur des séries de 20 larves. Les mensurations ont porté sur la longueur L, le rapport $a = L/1$ (1 = diamètre), le rapport $b = L/oe$ (oe = longueur de l'oesophage) et le rapport $c = L/q$ (q = longueur de la queue du mâle).

Les nématodes sont groupés dans une goutte d'eau, sur une larve recouverte d'une lamelle dont on lute le pourtour avec une mince couche d'huile de parafine, afin d'éviter l'évaporation. Les larves sont ensuite tuées par chauffage progressif jusqu'à 60°C, sur une platine de Malassez. Les organes ne sont pas lésés et les mensurations doivent être effectuées rapidement car l'animal s'altère en quelques heures. Mise à part la longueur du corps qui a été dessinée à faible grossissement par projection (grossissement objectif + tube à dessin = x 325), toutes les autres grandeurs ont été mesurées directement à l'aide d'un micromètre oculaire avec un objectif à immersion x 100.

Une étude statistique portant sur toutes les données biométriques acquises sur 40 observations successives d'un même nématode (mesures avec dessin) (tableau I) nous a permis de faire une estimation des erreurs au moment des mesures.

Tableau I - *Erreur relative sur les données biométriques d'une larve de Tylenchulus semipenetrans.*

	Moyenne X	Variance S ²	Ecart-type S	Coefficient de variation % CV	Erreur type de la moyenne SM	Intervalle de confiance de la moyenne
Longueurs	335,98	47,13	6,86	0,0204	1,08	335,98 ± 1,09
Rapport a $\frac{L}{1}$	21,47	0,28	0,53	0,020	0,084	21,47 ± 0,09
Rapport b $\frac{L}{1}$	4,067	0,00057	0,024	0,0314	0,004	4,067 ± 0,004
Rapport c $\frac{L}{1}$	6,15	0,00026	0,016	0,0109	0,0025	6,15 ± 0,003

Ainsi dans l'ensemble, les coefficients de variation demeurent assez réduits. Le rapport entre le demi intervalle de confiance de la moyenne à la moyenne, varie aussi très peu. Pour l'exploitation des chiffres, nous avons utilisé le test « t » de Student.

La variabilité des mensurations

1) Influence de l'âge

Les mensurations sont faites sur des larves femelles de trois types:

- Larves très jeunes, 2 à 3 jours après éclosion
- Larves qui se sont nourries pendant trois semaines sur des racines à 20°C.
- Larves vivant dans le sol à proximité des racines, d'âge indéterminé et qui vraisemblablement ne se sont jamais alimentées.

Les analyses statistiques des résultats obtenus après les mensurations sont résumées dans le tableau II.

Tableau II - Comparaison statistique des paramètres L, « a » et « b » sur trois types de larves femelles du deuxième stade.

	Après éclosion (1)	Après nutrition (2)	Dans le sol (3)
Longueur			
moyenne	366,9	416,6	385,6
écart-type	11,5	28,3	19,2
Test « t » (au risque de 5%)	entre (1) et (2) « t » = 2,08 tc = 66,5 très significative	entre (2) et (3) « t » = 2,08 tc = 23,6 très significative	entre (1) et (3) « t » = 2,08 tc = 18,0 très significative
Rapport « a »			
moyenne	26,83	23,81	27,40
écart-type	1,50	8,90	2,32
Test « t » (au risque de 5%)	entre (1) et (2) « t » = 2,08 tc = 6,53 très significative	entre (2) et (3) « t » = 2,08 tc = 7,66 très significative	entre (1) et (3) « t » = 2,08 tc = 5,30 très significative
Rapport « b »			
moyenne	3,93	4,17	4,0
écart-type	0,27	0,30	0,27
Test « t » (au risque de 5%)	entre (1) et (2) « t » = 2,08 tc = 0,11 non significative	entre (2) et (3) « t » = 2,08 tc = 0,53 non significative	entre (1) et (3) « t » = 2,08 tc = 0,01 non significative

D'après ces chiffres on voit que les larves qui se sont nourries ont la plus grande taille, celles qui n'ont pris aucune alimentation mais qui ont un certain âge, augmentent de longueur par rapport aux larves les plus jeunes. Dans tous les cas, la différence de longueur entre elles est très significative.

On constate aussi que la différence des moyennes du rapport « a », prises deux à deux est toujours significative. Nous en concluons qu'au second stade larvaire, la largeur des larves qui se sont nourries est supérieure à celle des larves venant d'éclore et à celle des larves plus âgées, elle est aussi plus grande chez les jeunes larves que chez celles vivant dans le sol.

Tableau III - Comparaison statistique des paramètres *L*, *a*, *b* et *c* des larves élevées à 20° C et à 27° C.

	Larves Mâles		Larves femelles	
	20° C (1)	27° C (2)	20° C (1)	27° C (2)
Longueur				
moyenne	335	336	377	365
écart-type	15,3	18,9	17,7	13,8
	entre (1) et (2)		entre (1) et (2)	
Test « t »	« t » = 2,08	non	« t » = 2,08	
(au risque de 5%)	tc = 0,15	significative	tc = 2,39	significative
Rapport « a »				
moyenne	22,1	22,0	13,7	14,2
écart-type	3,07	1,60	3,40	3,07
	entre (1) et (2)		entre (1) et (2)	
Test « t »	« t » = 2,06	non	« t » = 2,08	
(au risque de 5%)	tc = 0,17	significative	tc = 3,16	significative
Rapport « b »				
moyenne	4,3	4,2	3,9	3,8
écart-type	0,36	0,30	0,20	0,25
	entre (1) et (2)		entre (1) et (2)	
Test « t »	« t » = 2,08	non	« t » = 2,08	non
(au risque de 5%)	tc = 0,79	significative	tc = 1,44	significative
Rapport « c »				
moyenne	5,9	6,1	—	—
écart-type	0,46	0,43	—	—
	entre (1) et (2)		—	
Test « t »	« t » = 2,08	non	—	—
(au risque de 5%)	tc = 1,33	significative	—	—

Les résultats concernant le rapport « b », montrent que la différence des moyennes pour ces trois types de larves n'est pas significative: l'allongement de l'oesophage observé chez les larves qui se nourrissent et chez celles d'un certain âge est donc proportionnel à celui du corps.

2) *Variation avec la température*

De jeunes plantules de bigaradier sont infestées avec des populations identiques et gardées pendant 6 mois à 20° et à 27°C. Les racines sont ensuite découpées puis passées à l'ultra-broyeur pendant 10 secondes. Vingt larves mâles et femelles ainsi obtenues sont mesurées selon la technique décrite précédemment. L'étude statistique des résultats est exposée dans le tableau III.

Les larves en élevage à 20°C ont des longueurs et des rapports « a » significativement plus grands que celles élevées à 27°C. La différence entre les rapports « b » n'est pas significative, ce qui prouve que l'augmentation de la taille à 20°C s'accompagne d'un allongement de l'oesophage. Les larves mâles ne semblent pas être influencées par ce facteur.

3) *Variation avec l'hôte d'origine*

Des plantules de trois porte-greffe connus par leur sensibilité (*Citrus aurantium*), leur tolérance (Citrange troyer) et leur résistance (*Poncirus trifoliata*), sont infestées de la même manière et conservées à la température ambiante pendant six mois. Des nids remplis d'oeufs sont ensuite prélevés sur les racines de différents hôtes et mis à éclore dans de l'eau. Comme il nous a été impossible de trouver des nids sur le porte-greffe résistant, nos comparaisons n'ont pu être faites que sur des larves obtenues à partir des deux premiers hôtes. Les mensurations sont effectuées sur des larves mâles et femelles âgées de 2 à 3 jours. Les résultats sont donnés dans le tableau IV.

Tableau IV - *Comparaison statistique des paramètres L, « a », « b » et « c » des larves issues d'hôtes nuisibles et tolérants.*

	Larves mâles		Larves femelles.	
	bigaradier (1)	citrange troyer (2)	bigaradier (1)	citrange troyer (2)
Longueur moyenne	337,4	336,5	366,9	385,4
écart-type	14,4	18,0	11,5	20,9
	entre (1) et (2)		entre (1) et (2)	
Test « t » (au risque de 5%)	« t » = 2,08 tc = 0,17	non significative	« t » = 2,08 tc = 15,3	très significative
Rapport « a » moyenne	21,71	20,96	26,83	26,17
écart-type	2,89	2,94	1,50	1,82
	entre (1) et (2)		entre (1) et (2)	
Test « t » (au risque de 5%)	« t » = 2,08 tc = 1,20	non significative	« t » = 2,08 tc = 5,41	très significative
Rapport « b » moyenne	4,41	4,12	3,93	3,87
écart-type	0,29	1,02	0,28	0,17
	entre (1) et (2)		entre (1) et (2)	
Test « t » (au risque de 5%)	« t » = 2,08 tc = 1,27	non significative	« t » = 2,08 tc = 0,09	non significative
Rapport « c » moyenne	6,33	5,99	—	—
écart-type	0,52	0,64	—	—
	entre (1) et (2)		entre (1) et (2)	
Test « t » (au risque de 5%)	« t » = 2,08 tc = 1,85	non significative	—	—

Les longueurs et les rapports « a » des larves femelles issues d'hôtes tolérants, sont significativement plus grands que celles des larves provenant d'un hôte sensible. Le rapport « a » étant égal à L/l, nous en avons conclu qu'à l'augmentation de la taille observée chez les larves de Citrange troyer, ne correspond pas un accroissement de la largeur. Pour le rapport « b » des larves femelles, le test « t » montre qu'il n'existe pas une différence significative entre les moyennes des larves des deux hôtes. On peut donc dire qu'à l'augmentation de la taille notée chez les larves de l'hôte tolérant, correspond comme précédemment, un allongement proportionnel de l'oesophage.

Les résultats obtenus concernant les larves mâles indiquent là aussi que ces dernières ne subissent aucune modification morphométrique.

Discussion et conclusion

L'étude de l'influence des facteurs alimentation, hôte et température a permis de constater qu'ils peuvent provoquer chez les larves de *Tylenchulus semipenetrans*, des modifications morphologiques non négligeables.

Les larves qui se nourrissent, augmentent de taille et de diamètre et leur oesophage s'allonge proportionnellement, celles qui passent dans le sol sans se nourrir, grandissent en s'amincissant et âgées au plus de 3 jours, sont les plus petites.

La température la moins convenable à la multiplication du nématode des citrus, provoque un accroissement des dimensions des larves. Ainsi, celles issues d'un élevage à 20°C ont une taille et un oesophage plus grands que celles issues d'un élevage à 27°C. On n'a pas fait de constatations similaires chez les larves mâles.

Nos résultats confirment ceux de Cayrol et Legay (1967), ceux de Gysels et Van Der Haegen (1962) et Gysels et Brake (1964) qui étudiant l'influence de ce facteur respectivement sur *Ditylenchus myceliophagus* (nématode mycophage) et *Panagrellus silusiae* (nématode saprophyte), observent que leur taille est plus grande dans les élevages aseptiques conduits aux températures les plus basses.

Les larves issues de femelles vivant sur un hôte tolérant, sont plus grandes que celles issues de femelles vivant sur un hôte sensible. Cette constatation n'a pu être faite que sur les larves femelles; l'influence de la nature de l'hôte sur le développement, est un phénomène qui se rencontre assez fréquemment chez les nématodes phytophages (Wu, 1960; Goodey, 1952 et Blake, 1962). Les modifications dans le patrimoine génétique de l'hôte, peuvent influencer le développement des nématodes dont les caractères physiologiques et spécifiques apparaissent eux-mêmes souvent mal fixés. Toutefois, les larves de *T. semipenetrans* semblent avoir un comportement différent des autres nématodes: c'est l'hôte le moins favorable qui entraîne une augmentation de taille alors que pour les autres espèces étudiées c'est l'inverse. Cette différence provient peut-être du fait que nos mensurations sont effectuées sur des larves âgées de deux à trois jours, qui ne sont pas encore alimentées et qui sont la descendance du nématode effectivement soumis à son hôte, alors que les autres travaux portent sur des adultes qui se sont nourris directement.

D'après cette étude, il semble que les conditions défavorables provoquent un accroissement des dimensions chez les larves de *T. semipenetrans*.

Cette adaptabilité n'a pu être observée que sur les larves femelles. Les larves mâles paraissent avoir des caractères phénotypiques moins influençables.

Malgré leur insuffisance, les critères morphométriques des nématodes jouent un grand rôle dans toute détermination spécifique. Souvent les caractères anatomiques et morphologiques présentés par les adultes étant trop variables, on doit utiliser ceux des larves considérés comme mieux fixés. Par exemple, Whitehead (1968) pense que la morphologie des larves doit être utilisée pour la détermination des différentes espèces de *Meloidogyne*. Nos résultats montrent donc la nécessité d'utiliser alors des larves issues de femelles ayant vécu dans des conditions parfaitement déterminées.

R E S U M É

La longueur et les trois rapports biométriques de De Man a, b et c, sont les critères fondamentaux de la systématique des nématodes. Une étude statistique sur l'influence de la nutrition, de la température (27° et 20°C) et la nature de l'hôte (hôte sensible: *Citrus aurantium* et tolérant: Citrange troyer) sur l'allométrie des larves du deuxième stade de *Tylenchulus semipenetrans* a été entreprise. Les larves femelles issues de l'élevage à 20°C et à partir de l'hôte tolérant, ont des dimensions significativement supérieures à celles observées sur des larves élevées à 27°C et sur l'hôte sensible. Il en est de même des larves qui se sont nourries pendant 3 semaines sur les racines par rapport à celles qui passent dans le sol sans se nourrir. Ces accroissements ne sont pas homothétiques et le rapport a varié.

R I A S S U N T O

Variabilità dei caratteri biometrici in larve di seconda età del nematode degli Agrumi, Tylenchulus semipenetrans Cobb, 1913.

L'influenza dello stato di nutrizione, della temperatura e della natura dell'ospite sulla lunghezza corporea e sui rapporti biometrici di De Man « a », « b » e « c » è stata indagata su larve di seconda età di *Tylenchulus semipenetrans*, Cobb. La lunghezza totale del corpo ed il rapporto « a » in larve « femmine » di secondo stadio allevate su Citrangio Troyer e a 20°C hanno subito un incremento significativo rispetto a larve allevate su *Citrus aurantium* ed a 27°C. Le stesse differenze sono state notate tra larve tenute per tre settimane in presenza di radici di arancio e larve tenute in suolo senz'ospite. Le larve « maschio » non hanno mostrato nessuna variazione, come nessuna variazione è stata osservata nei rapporti « b » e « c » di larve « femmine ».

S U M M A R Y

Variability of biometric characters in second stage larvae of the citrus nematode, Tylenchulus semipenetrans Cobb, 1913.

The influence of nutrition, temperature and host type on the biometric variations of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* Cobb has been investigated. A significant increase of the body length and of « a » ratio were observed on female second stage larvae reared on Troyer citrange and at 20°C with respect to those grown on *Citrus aurantium* roots and at 27°C. The same result was obtained on larvae that had been fed three weeks on citrus roots versus those kept in uncropped soil. No variations were observed on male second stage larvae nor on the « b » and « c » ratios of female larvae of the nematode.

O U V R A G E C I T E S

- BLAKE C.D., 1962 - The etiology of tulip-root disease in susceptible and in resistant varieties of oats infested by the stem nematode *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. I. Invasion of the host and reproduction by the nematode. *Ann. Appl. Biol.*, 50: 703-712.
- CAYROL J.C. et LEGAY J.M., 1967 - Etude statistique de l'influence de la température et du stade de développement sur les mensurations du nématode mycophage *Ditylenchus myceliophagus* J.B. Goodey, 1958. *Annls Epiphyt.*, 18: 193-211.
- GOODEY J.B., 1952 - The influence of the host on the dimensions of the plant-parasitic nematode *Ditylenchus destructor*. *Ann. Appl. Biol.*, 39: 468-474.
- GYSSELS H. et BRAKE E., 1964 - Invloed van de temperatuur op de allometrische groei van de vrijlevende nematode *Panagrellus silusiae* (De Man, 1913) Goodey, 1945. *Natuurw. Tijdschr.*, 46: 17-33.
- GYSSELS H. et HAEGEN VAN DER W., 1962 - Post embryonale ontwikkeling en Vervellingen van de vrijlevende nematode *Panagrellus silusiae* (De Man, 1913), Goodey, 1945. *Natuurw. Tijdschr.*, 44: 3-20.
- WITTHEHEAD A.G., 1968 - Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematoda: Heteroderidae) with descriptions of four new species. *Trans. Zool. Soc., London*, 31: 263-401.
- WU L.Y., 1967 - Differences of spermatheca and sperm cells in the genera *Ditylenchus* Filipjev, 1936 and *Tylenchus* Bastian, 1865 (Tylenchidae: Nematoda). *Can. J. Zool.*, 45: 27-30.

Accepté pour la publication le 25 Novembre 1974.