Éléments sur la connaissance de la diversité intraspécifique du nématode *Radopholus similis*

JL Sarah
Cirad-Flhor
BP 5035
34 032 Montpellier cedex 01
France

Knowledge of the intraspecific diversity of the nematode *Radopholus similis*.

ABSTRACT

INTRODUCTION. Recently, the analysis of biochemical and molecular diversity has advanced the knowledge of the biological diversity of the *Radopholus similis* species, the banana nematode. **BIOLOGICAL DIVERSITY.** Damage to banana roots has proven to be strongly related to the reproductive capacity of the isolates studied. The pathogenic potential of these isolates could thus be related to their ability to multiply. The differences observed in the isolates' capacity to multiply are not connected with different thermal preferendums. **GENOMIC DIVERSITY.** Electrophoresis of PGI enzymes, along with an analysis of the total DNA conducted through the RADP technique, revealed two groups. The RFLP analysis of the gene 5.8S of the ribosomal DNA, on the other hand, revealed very little polymorphism between the diverse isolates, which could be interpreted to mean good specific unity of the populations examined. **CONCLUSIONS AND PERSPECTIVES.** There is no simple relation between the two genomic groups, the biological diversity, and the geographic origin. If the correlation of the reproductive capacity between in vitro breeding and banana roots is confirmed, the in vitro research could allow rapid estimates of the potential pathogenic ability of a given population. Besides, the polymorphism revealed in the species gives hope to the establishment of a technique of biochemical or molecular diagnosis of the pathogenic faculty. The evaluation of the local diversity within given geographic units, offering a large diversity of agro-ecological environments, is in progress.

KEYWORDS
Musa (bananas), plant nematodes, genetic variation.

Éléments sur la connaissance de la diversité intraspécifique du nématode *Radopholus similis*.

RÉSUMÉ

INTRODUCTION. Les connaissances sur la diversité biologique de l'espèce *Radopholus similis*, nématode du bananier, ont récemment été approfondies et complétées par l'analyse de la diversité biochimique et moléculaire. **DIVERSITÉ BIOLOGIQUE.** Les dommages induits aux racines des bananiers se sont avérés très liés à la capacité reproductive des isolats étudiés, ainsi le pouvoir pathogène de ces isolats serait surtout dû à leur vitesse de multiplication. Les différences de capacité multiplicative observées ne sont pas liés à des preferendums thermiques différents. **DIVERSITÉ GÉNOMIQUE.** Deux groupes ont été mis en évidence par électrophorèse d'enzymes (PGI) et par l'analyse de l'ADN total au moyen de la technique des RADP. En revanche, l'analyse par RFLP du gène 5.8S de l'ADN ribosomique a révélé très peu de polymorphisme entre les divers isolats, ce qui traduirait une bonne unité spécifique des populations étudiées. **CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.** Aucune relation simple ne peut être établie entre les deux groupes génomiques, la diversité biologique et l'origine géographique. Si la corrélation de capacité multiplicative entre élevage in vitro et racines de bananiers est confirmée, les études in vitro pourraient alors permettre d'évaluer rapidement le pouvoir pathogène potentiel d'une population donnée. Par ailleurs, le polymorphisme mis en évidence au sein de l'espèce laisse espérer pouvoir trouver une technique de diagnostic biochimique ou moléculaire du pouvoir pathogène. L'évaluation de la diversité régionale au sein d'unités géographiques bien définies, offrant une grande diversité de situations agroécologiques, est en cours.

MOTS CLÉS
Musa (banane), nématode des plantes, diversité génétique.

Reçu le 10 octobre 1997
Accepté le 27 juin 1997

Fruits, 1997, vol 52, p 261-266
® Elsevier, Paris

Resumen Español, *p 266*

introduction

Les études sur la diversité biologique au sein de l'espèce *Radopholus similis*, nématode parasite majeur des racines du bananier, ont débuté en Amérique centrale et dans la région caraïbe au cours des années soixante-dix à quatre-vingt (EDWARDS et WEHUNT, 1971 ; PINOCHET, 1979 et 1988 ; TARTÉ et al, 1981 ; RIVAS et ROMÁN, 1985). Elles ont été développées, depuis, dans d'autres zones ; dernièrement, elles ont été complétées par des approches sur la diversité biochimique et moléculaire. Ces travaux associent des équipes du Cirad-Flhor et de l'Orstom en France, et du groupe de l'AFRC-Cabi au Royaume-Uni.

Les premiers résultats ont confirmé que la diversité observée lors des études pionnières menées dans la région caraïbe, sensu lato, n'était qu'une partie d'une diversité très large à l'échelle mondiale (SARAH et al, 1990, 1992 et 1993). Les travaux conduits par FALLAS (1995) à Montpellier (France) ont permis de grandes avancées dans la connaissance de cette diversité globale. Ces études ont été conduites sur des isolats prélevés sur un ou plusieurs bananiers localisé(s) dans un lieu précis.

Tableau I
Origine géographique des populations de *Radopholus similis* ayant servi de base à l'analyse de la diversité de l'espèce.

Origine des échantillons	*Code abrégé*
Cameroun	CAM
Costa Rica	COR
Côte-d'Ivoire	CIV
Guadeloupe	GUA
Guinée	GUI
Martinique	MAR
Nigéria	NIG
Queensland (Australie)	QUE
Sri Lanka	SRL
Ouganda	UGA
Témoin non inoculé	TEM

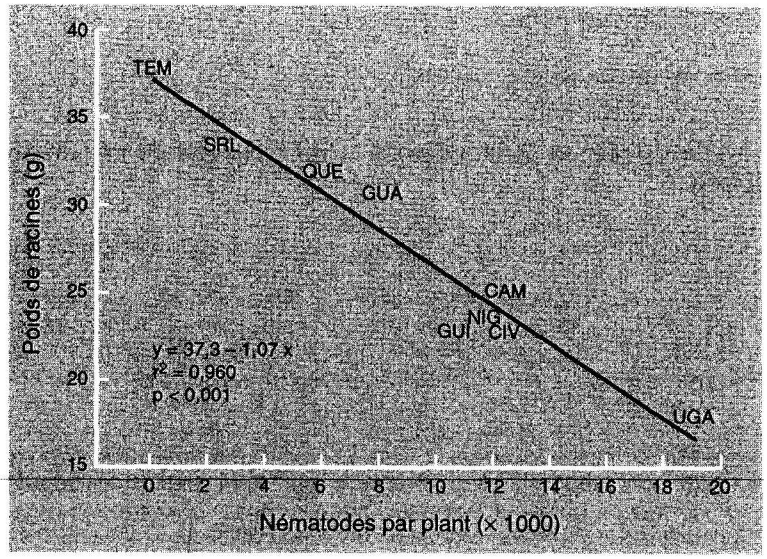

Figure 1
Relation entre la capacité multiplicative de huit isolats de Radopholus similis *et le poids des racines de plants de bananiers (cv Poyo, AAA) (FALLAS et al, 1995). La capacité multiplicative est exprimée par la moyenne géométrique des niveaux de population observés 6 et 8 semaines après inoculation des plants avec une dose de 100 nématodes par pot. Le poids des racines est mesuré 12 semaines après inoculation. Les origines géographiques des populations sont présentées dans le tableau I (TEM = témoin non inoculé).*

diversité biologique

Une large gamme de variation de la capacité reproductive de *R similis* a été mise en évidence dans les racines de bananiers et sur rondelles de carottes in vitro ; ces deux paramètres sont bien corrélés : les isolats qui se développent le plus rapidement sur carottes in vitro se multiplient également le plus activement dans les racines de bananiers, et inversement. De plus, la capacité reproductive des divers isolats est fortement liée aux dommages induits aux racines des bananiers (FALLAS et al, 1995 ; HAHN et al, 1996) (tableau I ; figure 1). En conséquence, le pouvoir pathogène de ces isolats serait essentiellement dû à leur vitesse de multiplication. En corollaire, leur degré de virulence, qui correspond à l'aptitude intrinsèque du nématode à induire des dommages, n'apparaît pas significativement différent d'une population à l'autre. Les isolats provenant d'Afrique tropicale et du Costa Rica présentent la plus forte capacité reproductive et, donc, le plus fort pouvoir pathogène, alors que les isolats du Sri Lanka, du Queensland et de Martinique se multiplient beaucoup plus lentement et présentent, en corollaire, un pouvoir pathogène plus faible.

Par ailleurs, les divers isolats présentent une certaine unité biologique vis-à-vis de la température (PINOCHET et al, 1995 ; FALLAS et SARAH, 1995) (figure 2). Bien que leurs capacités reproductives soient, dans l'absolu, différentes, elles présentent toutes une valeur optimale qui se situe aux alentours de 30 °C, alors que la température maximale est voisine de 33 °C et la minimale proche de 16 °C. Les différences de capacité multiplicative observées ne sont donc pas liées à des préférences thermiques différentes, mais bien à des capacités biologiques intrinsèques diverses, liées probablement à des évolutions séparées dans des conditions agro-écologiques variées.

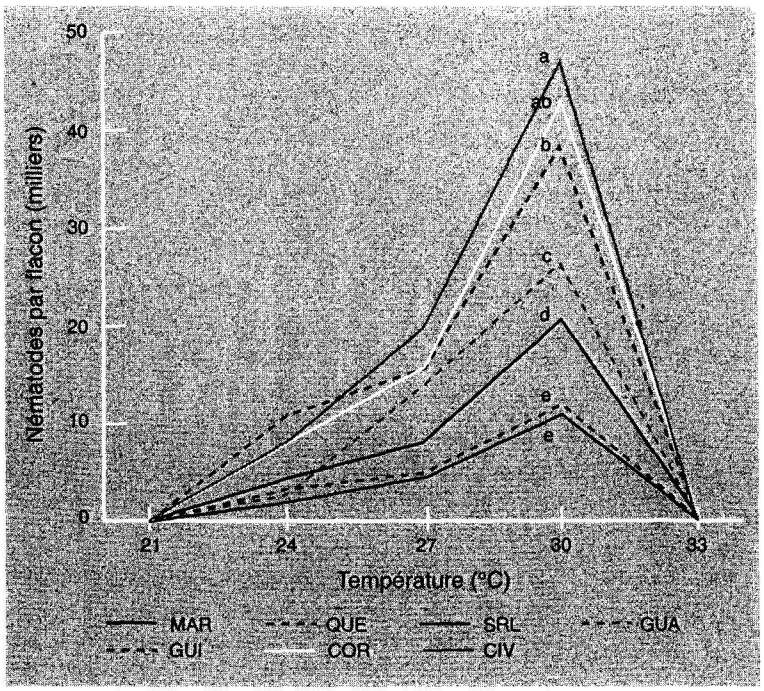

Figure 2
Capacité multiplicative de sept isolats de Radopholus similis *sur rondelles de carottes in vitro, en fonction de la température (FALLAS et SARAH, 1995). Les nématodes sont dénombrés 40 j après inoculation des carottes avec une dose de 70 individus par flacon. Les effectifs observés pour la température de 30 °C et référencés par la même lettre ne sont pas séparés par le test de Newman et Keuls ($p \leq 0,05$). Les origines géographiques des populations sont présentées dans le tableau I.*

diversité génomique

Parallèlement, l'étude de la diversité biochimique par électrophorèse d'enzymes (FALLAS et al, 1996), conduite avec la collaboration de FARGETTE (Orstom, France), montre l'existence de deux groupes ayant des phénotypes très différents pour la phosphoglucose isomérase (PGI) : le premier groupe d'isolats présente deux bandes de migration situées près de l'anode et le second trois bandes groupées à proximité de la cathode (figure 3). Cette division en deux groupes biochimiques distincts coïncide avec celle obtenue par analyse de l'ADN total à l'aide de la technique RAPD – ou *random amplification of polymorphic DNA* – au moyen de dix amorces aléatoires (FALLAS et al, 1996). Cette étude, conduite à Rothamsted au Royaume-Uni avec la collaboration de HAHN et BURROWS, a permis de mettre en évidence 104 bandes pouvant être prises en compte pour l'élaboration de l'arbre de similarité (figure 4).

Le premier groupe génomique comprend les isolats de Nigéria, Cameroun, Queensland en Australie, Costa Rica et Martinique. Le second inclut les isolats de Guinée, Côte-d'Ivoire, Ouganda, Kenya, Sri Lanka et Guadeloupe.

En revanche, l'analyse par RFLP – ou *restriction fragment length polymorphism* – du gène 5.8S de l'ADN ribosomique révèle très peu de polymorphisme entre les divers isolats. Cela est interprété comme traduisant

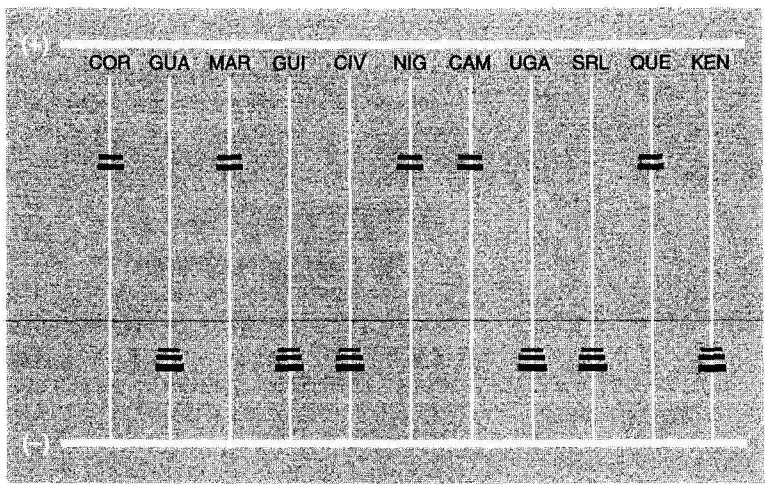

Figure 3
Bandes de migration électrophorétique des enzymes à activité phophoglucose isomérase (PGI) de 11 isolats de Radopholus similis *(FALLAS et al, 1996). Les origines géographiques des populations sont présentées dans le tableau I.*

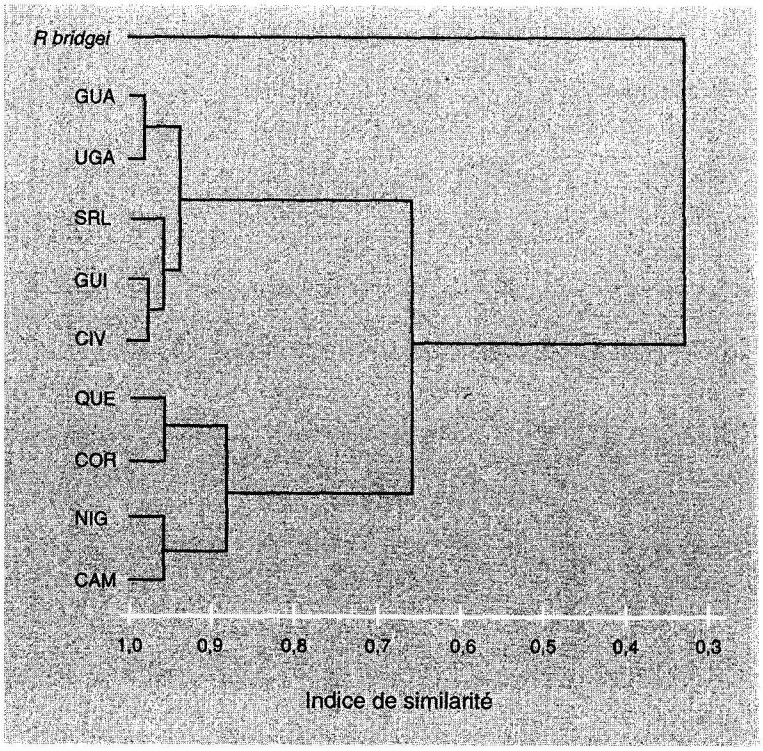

Figure 4
Dendogramme représentant les relations de similarité génomique entre neuf isolats de Radopholus similis *et un isolat de* R bridgei *(FALLAS et al, 1996). Dendogramme obtenu à la suite de l'étude de l'ADN total des isolats par la technique des RAPD à l'aide de dix amorces aléatoires de dix bases (Operon Instruments Alameda, CA, États-Unis). La séparation en deux groupes rejoint celles observées avec les isoenzymes PGI (figure 3). Les origines géographiques des populations sont présentées dans le tableau I.*

une faible évolution divergente et donc une bonne unité spécifique des populations étudiées.

conclusions et perspectives

Les résultats qui ont été rapportés montrent à la fois une unité certaine au sein de l'espèce – préférences thermiques pour la multiplication et DNA ribosomique – et une forte diversité intraspécifique portant sur la capacité multiplicative et appuyée par la mise en évidence de deux groupes génomiques. Aucune relation simple ne peut être établie entre les deux groupes génomiques, la diversité biologique et l'origine géographique (figure 5). Chaque groupe comprend des isolats d'origines variées et de pouvoirs pathogènes très différents. Tout se passe comme si les deux groupes génomiques avaient été dispersés indépendamment à travers le monde par le truchement des souches et rejets de bananiers infestés, d'où une contingence historique, et que le pouvoir pathogène des populations, leur capacité multiplicative en l'occurrence, avait évolué de façon analogue au sein des deux groupes sous la pression de sélection générée par les conditions agroécologiques locales.

La diversité du pouvoir pathogène est très importante à appréhender pour la mise au point de techniques de lutte intégrée faisant appel aux relations plante–parasites – rotations culturales, résistance variétale, etc – ou à l'utilisation d'agents biologiques antagonistes intervenant dans la lutte biologique. Si la corrélation de capacité multiplicative entre élevage in vitro et racines de bananiers est confirmée, ce paramètre pourrait alors être mesuré assez facilement et rapidement pour évaluer le pouvoir pathogène potentiel d'une population donnée. Par ailleurs, si, pour le moment, aucun marqueur spécifique de ce pouvoir pathogène n'a pu être détecté – ce qui n'est pas surprenant à ce stade –, le polymorphisme mis en évidence au sein de l'espèce laisse espérer pouvoir trouver une technique de diagnostic biochimique ou moléculaire du pouvoir pathogène. Enfin, l'étude des relations entre populations pourrait permettre de déterminer la zone d'origine de l'espèce, ce qui serait utile pour la recherche d'agents biologiques antagonistes ou de sources de résistance.

Sur le plan technique, la connaissance de la diversité intraspécifique nous permettra de parvenir à la définition de populations de références pour le criblage variétal vis-à-vis de la résistance.

La prochaine étape de ce travail sera une évaluation, dans le cadre d'une « action thématique programmée » menée par le Cirad[1], de la diversité régionale au sein d'unités géographiques bien définies et offrant une grande diversité de situations agroécologiques (Cameroun, Antilles, Amérique centrale, etc). Jusqu'à présent, un seul isolat par origine géographique a été étudié et rien ne

[1] Il s'agit de l'ATP 30/96, intitulée « Caractérisation et étude de la diversité biologique, biochimique et moléculaire intra- et interspécifique des nématodes phytoparasites ».

dit qu'il soit représentatif des populations de la région. Il est intéressant de noter, par exemple, que les isolats prélevés à Neufchâteau en Guadeloupe et à Morne Rouge en Martinique diffèrent à la fois par leur pouvoir pathogène et par leur groupe génomique. En revanche, les isolats de Guinée et de Côte-d'Ivoire sont très proches pour ces deux paramètres ; cette observation est à rapprocher du fait que la culture du bananier en Côte-d'Ivoire a pris son essor essentiellement après l'indépendance de la Guinée grâce au matériel végétal importé massivement de ce pays. Cela confirme l'importance, probablement cruciale, de la circulation du matériel végétal infesté, pour expliquer la dispersion d'une espèce appartenant à un groupe zoologique à faible capacité intrinsèque de dispersion.

Caractère étudié	Classement des populations
Pouvoir pathogène sur bananiers	***CIV*** COR ***GUA*** MAR
	CIV COR ***GUA*** ***KEN*** MAR ***SRL***
	UGA ***CIV*** NIG CAM ***GUI*** ***GUA*** QUE ***SRL***
Capacité multiplicative sur bananiers	***UGA*** ***CIV*** MAR
	UGA CAM ***CIV*** NIG ***GUI*** ***GUA*** QUE ***SRL***
sur disques de carotte	***CIV*** ***GUI*** COR ***GUA*** MAR ***SRL*** QUE

Figure 5
Classement des 11 isolats étudiés, selon leur pouvoir pathogène ou leur capacité multiplicative dans les diverses études réalisées (SARAH et al, 1993 ; FALLAS et SARAH, 1995 ; FALLAS et al, 1995 ; FALLAS et al, 1996 ; HAHN et al, 1996).
Pour chaque étude, les isolats sont classés de gauche à droite selon leur degré décroissant de pouvoir pathogène ou de capacité multiplicative, sans échelle quantitative. Les isolats en caractères italiques soulignés appartiennent à un groupe génomique (figures 3 et 4) et les isolats en caractères romains non soulignés appartiennent à l'autre groupe. Les origines géographiques des populations sont présentées dans le tableau I.

références

Edwards DI, Wehunt EJ (1971) Host range of *Radopholus similis* from banana areas of Central America with indications of additional races. *Plant Disease Reporter* 55, 415-418

Fallas G (1995) Contribution à l'étude de la diversité intraspécifique du nématode *Radopholus similis*. Tours, France, université François-Rabelais, doctorat, 109 p

Fallas G, Sarah JL (1995) Effect of temperature on the in vitro multiplication of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. *Fundam Applied Nematol* 18 (5), 445-449

Fallas G, Sarah JL, Fargette M, (1995) Reproductive fitness and pathogenicity of eigth *Radopholus similis* isolates on banana plants (*Musa* AAA, cv Poyo). *Nematropica* 25 (2), 135-141

Fallas G, Hahn M, Fargette M, Burrows P, Sarah JL (1996) Molecular and biochemical diversity among isolates of *Radopholus* spp from different areas of the world. *J Nematol* 28 (4), 422-430

Hahn M, Sarah JL, Boisseau M, Vines N, Bridge J, Wright D, Burrows P (1996) Reproductive fitness and pathogenic potential of selected *Radopholus* populations on two banana cultivars. *Plant Pathology* 45, 223-231

Pinochet J (1979) Comparison of four isolates of *Radopholus similis* from Central America Valery Bananas. *Nematropica* 9 (1), 40-43

Pinochet J (1988) Nematode problems in *Musa* sp: pathotypes of *Radopholus similis* and breeding for resistance. In: *Nematodes and the borer weevil in bananas*, proceedings of a Inibap workshop, Bujumbura, Burundi, 1987. Inibap, Montpellier, France, Inibap, 66-70

Pinochet J, Fernandez C, Sarah JL (1995) Influence of temperature on in vitro reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P goodeyi* and *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology* 18 (4), 391-392

Rivas X, Román J (1985) Oogenesis y reproduccion de una poblacion de *Radopholus similis* de Puerto Rico. *Nematropica* 15 (1), 19-25

Sarah JL, Boisseau M, Blavignac F (1990) Mise en évidence sur bananier d'une différence de pathogénie entre deux populations de *Radopholus similis*. In: *2e Congrès SFP*, Montpellier, France, 28–30 novembre 1990. Abstracts

Sarah JL, Boisseau M, Blavignac F, Sabatini C (1992) Differences in pathogenicity on bananas among populations of *Radopholus similis*. Proceedings of XXIV meeting of ONTA. Lanzarote, España, 27 April – 1st May 1992. *Nematropica* 22 (2), 135 (abstract)

Sarah JL, Sabatini C, Boisseau M (1993) Differences of pathogenicity on banana among isolates of *Radopholus similis* from different production areas. *Nematropica* 23 (1), 74-79

Tarté R, Pinochet J, Gabrielli C, Ventura O (1981) Differences in population increase, host preferences and frequency of morphological variants among isolates of the banana race of *Radopholus similis*. *Nematropica* 11 (1), 43-52

Últimos adelantos del conocimiento sobre la diversidad intraespecífica de la especie *Radopholus similis*.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. Los conocimientos sobre la diversidad biológica de la especie *Radopholus similis*, nematodo del banano, se han completado recientemente mediante el análisis de la diversidad bioquímica y molecular. **DIVERSIDAD BIOLÓGICA.** La capacidad reproductora de los materiales aislados estudiados se reveló en estrecha relación con los daños provocados en las raíces de los bananos, de modo que el poder patógeno de estos materiales aislados podría deberse sobre todo a su velocidad de multiplicación. Las diferencias de capacidad multiplicativa observadas pueden depender de diversas capacidades biológicas intrínsecas. **DIVERSIDAD GENÓMICA.** Se pusieron de relieve dos grupos mediante electroforesis de enzimas: uno incluye los materiales aislados de Nigeria, Camerún, Australia, Costa Rica y Martinica y el otro incluye los materiales aislados de Guinea, Costa de Marfil, Uganda, Kenia, Sri Lanka y Guadalupe. En cambio, el análisis por RFLP de un gen del ADN ribosómico reveló muy poco polimorfismo entre los diversos aislados, lo que puede significar una buena unidad específica de las poblaciones estudiadas. **CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.** Los resultados muestran una unidad cierta dentro de la especie y una gran diversidad intraespecífica. No se puede establecer ninguna relación simple entre los dos grupos genómicos, la diversidad biológica y el origen geográfico. Si se confirma la correlación de capacidad mutiplicativa entre cultivo in vitro y raíces de bananos, la medición de este parámetro podría permitir evaluar rápidamente el poder patógeno potencial de una población dada. Por otro lado, el polimorfismo que se puso de relieve en el seno de la especie deja esperar que se pueda encontrar una técnica de diagnóstico bioquímica o molecular del poder patógeno. Se está realizando la evaluación de la diversidad regional dentro de unidades geográficas bien definidas, que pueden ofrecer una gran diversidad de situaciones agroecológicas.

PALABRAS CLAVES

Musa (bananos), nematodos de las plantas, variación genética.