

# Éléments de caractérisation de deux formes de résistance des céréales face au nématode à galle *Meloidogyne naasi* Franklin

T Loos, F Person-Dedryver

avec le concours technique de D Pannetier

INRA de Rennes, Laboratoire de recherche, chaire de zoologie,  
Domaine de la Motte-au-Vicomte, BP 29, 35650 Le Rheu, France

(Reçu le 10 novembre 1989; accepté le 16 mai 1990)

**Résumé** — La qualité d'hôte de cultivars d'orge vis-à-vis du nématode à galle *Meloidogyne naasi* a été étudiée. La résistance partielle d'un cultivar s'exprime par un ralentissement du développement des nématodes dans ses racines, par rapport à un cultivar multiplicateur. Elle limite également les populations femelles du parasite ainsi que leurs fécondités. La résistance totale de la lignée 1 d'*Aegilops variabilis* Eig n'est contournée par aucune des 3 populations du nématode utilisées. Celles-ci présentent cependant une variabilité dans leur agressivité face à la gamme d'hôtes testée, et l'une d'entre elles contourne la résistance partielle du cultivar cv Morocco.

**nématode / *Meloidogyne naasi* / résistance / céréale**

**Summary** — Characteristics of two kinds of resistance in cereals to the root-knot nematode *Meloidogyne naasi* Franklin. The host status of barley cultivars as regards the root-knot nematode *Meloidogyne naasi* was studied. Partial resistance of cv Morocco was expressed through a slower nematode development in its roots detected from the first month of growth than in a multiplying cultivar (table I). This partial resistance reduced the number of female parasite populations and their fecundity in the roots of cv Morocco more than in those of cv Cérés (table II). The early expression of partial resistance might allow a screening test to be established after 20 days' growth at 20 °C. The total resistance of line 1 *Aegilops variabilis* Eig was not overcome by any of the 3 geographic nematode populations used. However, these 3 populations exhibited some variability in aggressiveness against the host range tested, and one of them overcame the partial resistance of cv Morocco (fig 1).

**nematode / *Meloidogyne naasi* / resistance / cereal**

## INTRODUCTION

*Meloidogyne naasi* Franklin 1965 est un nématode à galle des graminées rencontré dans les régions tempérées. Il est un facteur limitant du rendement de l'orge dans l'Europe de l'Ouest (Caubel *et al*, 1972; Gooris et d'Herde, 1977; York, 1980) et aux États-Unis (Allen *et al*, 1970).

En France, le seul nématicide homologué est l'aldicarbe pour les cultures céréalières. Il n'est, en outre, autorisé que par épandage dans la raie de semis. Or cette molécule n'a en réalité qu'un effet nématostatique (Cavelier, 1987), pendant 50 j au maximum. Il est donc

aisément concevable que ce traitement n'est efficace que pour les cultures de printemps, semées à l'époque de l'éclosion des œufs lors de la remontée des températures (Ogunfowora et Evans, 1977). Dans le cas des cultures d'hiver, la seule méthode de contrôle des populations du nématode est basée sur l'introduction de plantes non-hôtes dans les rotations culturales (Gooris et d'Herde, 1977). Ces plantes sont, hélas, peu rentables économiquement dans les grandes zones céréalières, donc peu utilisées.

L'utilisation de cultivars résistants est une manière très efficace de limiter la multiplication du parasite sans modifier la rotation culturale de l'agriculteur. Aucun cultivar d'orge ou de blé

connu à ce jour n'est totalement résistant à *M naasi*. Cependant, des résistances totales ont été observées chez *Hordeum chilense* (Cook et York, 1981), une orge sauvage, et chez *Aegilops variabilis* (Person-Dedryver et Jahier, 1985), une espèce voisine du blé. Une seule de ces résistances est en voie d'utilisation pratique, grâce à un travail de cytogénétique effectué à l'INRA de Rennes (Yu *et al*, 1990). Il s'agit de celle trouvée dans la lignée 1 d'*Aegilops variabilis*. Ce résultat amènera à l'utilisation fréquente des futurs cultivars possédant cette résistance qui risquerait de se voir contournée trop vite.

Il sera donc nécessaire d'utiliser des résistances partielles (ou incomplètes) trouvées chez certains cultivars de céréales. Le cultivar Morocco de l'orge d'origine marocaine, par exemple, ne permet la formation que d'un nombre réduit de femelles adultes dans ses racines (Person-Dedryver, 1985).

Le travail relaté ici consiste à étudier l'expression de la résistance partielle du cultivar Morocco de l'orge, en conditions naturelles et dès la formation des premiers stades de développement du nématode, afin d'en tirer un test de dépistage rapide des cultivars résistants. Un deuxième volet de ce travail a trait à l'étude des possibilités de contournement des résistances (totale et partielle), par l'utilisation de 3 populations géographiques de *M naasi*. Il sera réalisé en conditions contrôlées de boîtes de Petri.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel

#### Les nématodes

L'expérimentation permettant d'étudier l'expression de la résistance partielle de l'orge est réalisée dans du sol naturellement infesté provenant d'une parcelle expérimentale de la station INRA du Rheu (Ille-et-Vilaine), cultivée en ray-grass anglais cv Vigor.

Pour l'estimation des possibilités du contournement des résistances, les larves L2 utilisées sont issues de 3 populations géographiques différentes :

- une population du Rheu, provenant de monoculture de blé d'hiver de la station INRA et servant de référence,
- une population belge, provenant de monoculture de blé de printemps à la station de nématologie de Merelbeke,
- une population de Tours, provenant d'une culture de blé d'hiver.

### Les plantes

L'expression de la résistance partielle du cv Morocco d'*Hordeum vulgare* L est étudiée par comparaison avec le cv Cérés, très multiplicateur de *M naasi* (Person-Dedryver, 1985).

La gamme d'hôtes testée pour les 3 populations du nématode est composée des cv Morocco et Cérés de *Hordeum vulgare* des cv Top et Lutin de *Triticum aestivum* L et du témoin résistant à la population du Rheu : *Aegilops variabilis* Eig lignée 1 (Var 1).

### Méthodes

#### Expression de la résistance partielle

Cette expérimentation a été placée en conditions extérieures. Pour des raisons de commodité de transport, le sol infesté a été prélevé en 9 lots d'environ 35 dm<sup>3</sup> juste avant l'expérimentation, au début du printemps 1988. Après homogénéisation, il a été réparti dans 180 pots de 1,5 dm<sup>3</sup> à raison de 90 par cultivar étudié.

L'estimation du potentiel infectieux du sol se réalise sur un échantillon de 200 g de sol, pris dans chaque lot de sol après homogénéisation. Une moitié sert à déterminer le poids sec après dessiccation au laboratoire, tandis qu'une extraction des L2 est réalisée sur l'autre moitié par la méthode de centrifugation-flottation (Gooris et d'Herde, 1972). Les larves sont comptées sous la loupe binoculaire et le résultat est exprimé par gramme de sol sec. Les taux d'infestations utilisés sont moyens et varient de 2 à 42 L2/g de sol sec.

Les caryopses prégermés ont tous été plantés le 13 avril 1988. Chaque pot ne contient qu'une seule plante. Cette technique permet la pénétration des larves infestantes (L2) dès leur sortie de l'œuf, au même moment pour toutes les plantes testées. Le suivi de l'évolution des nématodes, tant en vitesse de développement qu'en nombre, a été réalisé simultanément pour les 2 cultivars étudiés. Un apport d'engrais liquide complet (N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O) est réalisé tous les mois, et l'arrosage a été assuré journalièrement en dehors des périodes pluvieuses.

Des prélèvements de plantes sont nécessaires pour étudier les populations endoradiculaires du nématode. Le temps nécessaire à la formation des premières larves du stade L3 a été mesuré pour chacun des cultivars utilisés. L'analyse d'un seul pot par cultivar a permis d'apprécier qualitativement le stade de développement du nématode dans les galles. Des prélèvements de 20 pots par cultivar ont alors été effectués, à date propice, permettant une analyse statistique convenable :

- 1<sup>er</sup> prélèvement : le 9 mai 1988 (26 jours),
- 2<sup>e</sup> prélèvement : le 17 mai 1988 (34 jours),
- dernier prélèvement : le 25 juillet 1988 (fin de culture, 103 jours).

Les 2 premiers prélèvements permettent un suivi de l'évolution des larves dans les racines, tandis que le dernier a pour but de compter, en fin de culture, le nombre de femelles adultes formées, ainsi que le nombre d'œufs pondus, constituant le potentiel infectieux pour la culture suivante.

Lors de chaque prélèvement, chaque plante est dépotée et ses racines soigneusement lavées. Les racines sont alors pesées et broyées dans un mixeur Waring pendant 4 fois 15 sec à vitesse rapide (20 000 tours/min) pour les 2 premiers prélèvements, et à vitesse plus lente (15 000 tours/min) pour le dernier. Les nématodes sont extraits par la méthode de centrifugation-flottation (Coolen et d'Herde, 1972), et les individus des différents stades, ainsi que les œufs, sont dénombrés sous la loupe binoculaire. Les résultats concernant les individus sont rapportés au poids de racines, afin d'être comparables d'une plante à une autre et d'un cultivar à l'autre. Le nombre d'œufs est lié, par contre, à celui des femelles. Les poids de racines sont donnés, afin de permettre de juger du bon développement de la plante.

Les températures du sol sont enregistrées en permanence à -10 cm, à la station météorologique de l'INRA du Rheu, proche de l'essai. À partir des températures minimales et maximales journalières, nous pouvons calculer la température moyenne reçue par les racines des plantes.

Les données recueillies sont transformées en  $\log(X + 1)$  et traitées par une analyse de la variance à l'aide du logiciel STAT-ITCF, avec le test de Newmann-Keuls.

### Estimation des possibilités de contournement des résistances

Cette expérimentation a été effectuée en conditions contrôlées, en boîtes de Petri sur milieu eau gélosée (20 g/l) selon la méthode utilisée par Person-Dedryver (1984). Pour chaque cultivar d'orge et de blé utilisé,

ainsi que pour la lignée Var 1, on utilise 20 boîtes contenant chacune 1 plante, et ceci pour chacune des 3 populations du parasite étudiées. Toutes les plantes reçoivent le même inoculum de 48 L2 réparties à raison de 16 sur 3 racines séminales (Person-Dedryver, 1984). Cette technique permet de comparer les réponses des plantes par une étude statistique.

Les boîtes sont placées à 21 °C en photopériode et à 18 °C en période obscure. La durée de la photopériode est de 16 h. La culture dure de 45 à 50 j. Les boîtes sont alors examinées et on compte les galles, les femelles et les masses d'œufs dans chaque boîte, après dissection de chacune des galles à l'aide d'un scalpel.

Les données sont traitées par une analyse de la variance à 2 facteurs : le cultivar et la population de nématodes.

## RÉSULTATS

### Expression de la résistance incomplète

Le 9 mai, il apparaît que le nombre de larves L2 grossies (L2G) est significativement plus élevé chez Cérés que chez Morocco (tableau I). Notons que c'est à cette date que les toutes premières larves de stade L3 sont observées sur Cérés – en très faible proportion – alors qu'aucune n'est repérée sur Morocco.

Le 17 mai, le nombre de larves L2 est significativement plus important chez Morocco que chez Cérés, tandis que l'inverse est observé pour les stades L2 grossies et surtout L3 (tableau I).

En comparant l'évolution des proportions des divers stades lors des 2 premiers prélèvements

**Tableau I.** Étude de l'évolution du développement de *M naasi* sur 2 cultivars d'orge : répartition des différents stades après 26 et 34 j de culture.

m : moyenne par gramme de racines; (p) : valeurs extrêmes; % : pourcentage; S : différence significative au seuil de 5%; NS : différence non significative.

	Cultivars	Poids moyen de racines par plante		L2		L2G		L3			
		m	(p)	%	m	(p)	%	m	(p)	%	
9 mai (26 jours de culture)	Cérés	1,06	227	(102–468)	59	155	(17–355)	41	1	(0–12)	
	Morocco	2,33	181	(55–359)	88	24	(3–55)	12	0		
Test Newmann-Keuls		S	NS			S			NS		
17 mai (34 jours de culture)	Cérés	2,21	32	(0–176)	16	123	(23–748)	60	50	(0–143)	24
	Morocco	2,84	89	(30–185)	67	41	(7–112)	31	3	(0–17)	2
Test Newmann-Keuls		S	S			S			S		

(tableau I), nous pouvons déduire une vitesse de développement plus faible de *M naasi* sur le cultivar Morocco que sur le cultivar Cérés.

Les mesures de températures ont permis de calculer que les toutes premières larves L3 apparaissent chez Cérés après 345 °C j (base 0 °C), ce qui correspond à environ 17 j à 20 °C.

Le 25 juillet on constate que Cérés a permis la formation d'un plus grand nombre de femelles adultes par gramme de racines, et qu'elles sont, en outre, plus fécondes que celles formées sur Morocco (tableau II).

### Estimation des possibilités de contournement des résistances

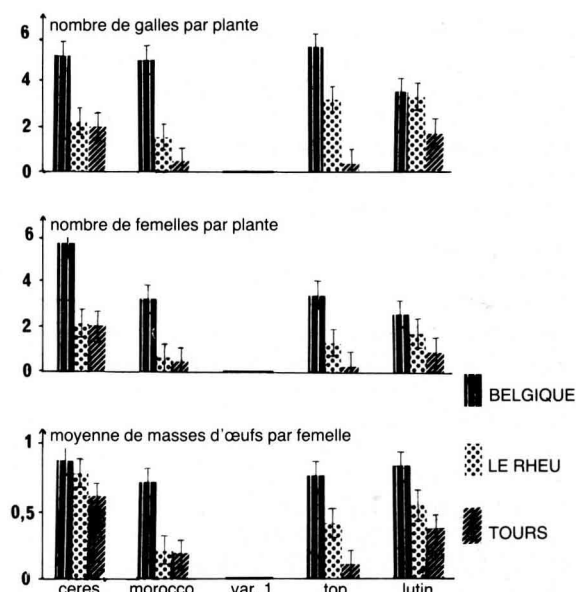
Aucune des 3 populations testées du nématode ne contourne la résistance totale trouvée dans la lignée 1 d'*Aegilops varibilis* (fig 1).

Des interactions significatives entre les cultivars et les populations testées, mises en évidence lors de l'analyse de la variance, démontrent statistiquement que la hiérarchie des cultivars trouvée avec la population du Rheu (Person-Dedryver, 1985) n'est pas respectée avec les deux autres populations (fig 1). Pour chacun des cultivars étudiés, la population belge se démarque significativement des 2 autres par les nombres de galles induites et de femelles formées, bien supérieurs à ceux comptés pour les 2 autres populations. Dans le cas des blés cv Lutin et Top, l'analyse de la formation des galles, des femelles et des œufs ne permet pas d'affirmer que l'un des 2 cultivars favorise plus globalement le développement de l'une ou l'autre des populations étudiées. Par exemple, la population belge forme plus de galles sur Top que sur Lutin, à l'inverse de la population de Tours. Par contre, il est difficile de dissocier ces 2 cultivars en ce qui concerne la formation des femelles et des œufs de la population belge.

**Tableau II.** Niveau de la population de *M naasi* en fin de culture sur 2 cultivars d'orge.

m : moyenne par gramme de racines; (p) : valeurs extrêmes; S : différence significative au seuil de 5%; NS : différence non significative.

	Cultivars	Poids moyen de racines par plante	Femelles		Œufs/femelle	
			m	(p)	m	(p)
25 juillet	Cérés	2,49	232	(5-483)	212	(108-329)
(103 jours de culture)	Morocco	2,05	50	(20-72)	155	(24-343)
Test Newmann-Keuls		NS	S		S	



**Fig 1.** Multiplication des trois populations géographiques de *M naasi* sur 5 cultivars de céréales, en boîtes de Petri.

## DISCUSSION – CONCLUSION

### La résistance incomplète

La résistance incomplète des cultivars d'orge étudiés est caractérisée par 3 paramètres :

- la vitesse de développement des nématodes;
- le nombre de femelles formées par plante;
- la fécondité des femelles.

Le nombre total des nématodes sur Morocco et sur Cérés est significativement différent entre les 2 cultivars et il est plus grand dans les racines de Cérés. Chez le cv Morocco, le développement de *M naasi* est plus lent, et ce, dès la formation des premiers stades larvaires, ce qui limite considérablement la formation des femelles et des œufs. Ce développement lent ne peut pas être imputé à une compétition entre les individus infestants, puisque les poids de racines

du cv Morocco sont, en début de culture et du fait de la précocité de ce cultivar, significativement supérieurs à ceux du cv Cérès (tableau I).

Le ralentissement du développement, visible dès les premiers stades parasitaires de *M naasi*, permet d'envisager un test de dépistage rapide d'un cultivar partiellement résistant. Ce test consisterait à cultiver les plantes à tester sur un substrat infesté artificiellement, à 20 °C pendant 17 à 20 j correspondant aux 345 °C j de nos 26 premiers j de culture. Le comptage des différents stades du nématode dans les racines et la comparaison, notamment des pourcentages de L2G présents, très différents chez les cultivars résistants et multiplicateurs permettrait de conclure.

Lors de l'expérimentation en boîte de Petri (fig 1), il semble que, dans le cas des orges, le cv Morocco ne se conduise plus comme résistant partiel vis-à-vis de la population belge du nématode, en comparaison avec le cv Cérès vis-à-vis des populations du Rheu et de Tours.

Les comportements différents des 3 populations du nématode testées laissent supposer qu'il existe dans la nature une variabilité de l'espèce *M naasi* du point de vue de l'agressivité (Johnson, 1981), comme cela avait déjà été observé par Antoniou et Evans (1987). Ces auteurs avaient supposé que cette variabilité provenait d'une pression de sélection due au climat. Il semble donc difficile de préciser clairement une hiérarchie dans la résistance incomplète de cultivars à *M naasi* sans indiquer la population de référence. Cela apparaît très important lors du choix d'un cultivar partiellement résistant par un agriculteur. Il faudrait toutefois que ces résultats soient confirmés en plein champ, surtout en ce qui concerne la population belge et celle de Tours.

### La résistance totale

Il est satisfaisant de constater que la résistance totale du géniteur *A variabilis* n° 1 n'est contournée par aucune des populations du nématode étudiées, alors que ce n'est pas le cas de la résistance incomplète du cultivar Morocco. Cependant, afin de préciser les différences d'agressivité, entre les populations géographiques des parasites et les possibilités de contournement de la résistance totale, il serait souhaitable de tester des populations d'origines plus variées.

Il serait également intéressant de confronter à un maximum de populations de *M naasi*, les 2 seules autres sources de résistance totale connues à ce jour à l'égard de ce nématode : les lignées PI 283374 et PI 283375 de *H chilense* (Cook et York, 1981). Nous pourrions alors savoir si elles constituent également un géniteur intéressant à utiliser dans des programmes de sélection des céréales résistant à *M naasi*.

### RÉFÉRENCES

- Allen MW, Hart WH, Baghott KV (1970) Crop rotation controls barley root-knot nematode at Tulelake. *Calif Agric* 24, 4-5
- Antoniou M, Evans JL (1987) Diapause in *Meloidogyne naasi* eggs. The effect of constant temperature incubation on subsequent hatch. *Nematologica* 33, 186-198
- Caubel G, Ritter M, Rivoal R (1972) Observations relatives à l'attaque du nématode *Meloidogyne naasi* Franklin sur céréales et graminées fourragères dans l'Ouest de la France en 1970. *CR Acad Agric Fr*, 351-356
- Cavelier A (1987) Le mode d'action des nématicides non fumigants. *Agronomie* 7, 747-762
- Cook R, York PA (1981) Genetics of resistance to *Heterodera avenae* and *Meloidogyne naasi*. Proc 4th Intn Barley Genetics Symp Edinburg, 1981, 418-424
- Coolen WA, d'Herde CJ (1972) A methode for quantitative extraction of nematodes from plant tissue, Publications of the Station of Nematology Research, Merelbeke, Belgium, 77 pp
- Gooris J, d'Herde CJ (1972) A method for the quantitative extraction of eggs and second stage juveniles of *Meloidogyne* spp from soil, Publication of the Station of Nematology Research, Merelbeke, Belgium 36 pp
- Gooris J, d'Herde CJ (1977) Study on the biology of *Meloidogyne naasi* Franklin 1965, Publication of the Station of Nematology Research, Merelbeke, Belgium 165 pp
- Johnson R (1981) Genetic background of durable resistance, Durable resistance in crops (F Lamberti, JM Waller, NA Van Der Graaf, eds). Plenum Press, New York and London, 5-26
- Ogunfowora O, Evans JL (1977) Factors affecting the hatch of eggs of *Meloidogyne naasi*, an example of diapause in a second stage larva. *Nematologica* 23, 137-146
- Person-Dedryver F (1984) Les céréales à paille, hôtes de *Meloidogyne naasi* Franklin. I. Mise au point de méthodes et résultats préliminaires d'éva-

- luation de la résistance ou du caractère multiplicateur. *Agronomie* 4, 977-985
- Person-Dedryver F (1985) Les céréales à paille, hôtes de *Meloidogyne naasi* Franklin. II. Variabilité du comportement multiplicateur ou résistant de variétés cultivées en France. *Agronomie* 5, 55-62
- Person-Dedryver F, Jahier J (1985) Les céréales à paille hôtes de *Meloidogyne naasi* Franklin. III. Recherche de sources de résistance parmi les espèces voisines du blé tendre. *Agronomie* 5, 573-578
- York PA (1980) Relationship between cereal root-knot nematode *Meloidogyne naasi* and growth and grain yield of spring barley. *Nematologica* 26, 220-229
- Yu M, Person-Dedryver F, Jahier J (1990) Resistance to root-knot nematode, *Meloidogyne naasi* (Franklin) transferred from *Aegilops variabilis* EIG to bread wheat. *Agronomie* 10, 451-456