

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR L'ÉCLOSION DES POPULATIONS TUNISIENNES D'*HETERODERA AVENAE*

N. Namouchi-Kachouri¹ et M.M. B'Chir²

¹Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, 2049 Ariana, Tunisie

²INAT, 1082 cité Mabrajène, Tunisia

Résumé. Six populations tunisiennes d'*Heterodera avenae* provenant de différents étages climatiques ont été soumises à différents régimes thermiques en vue d'évaluer l'effet de la température sur l'éclosion des juvéniles. Les six populations ont éclos à des températures allant de 5 à 25 °C mais avec un optimum d'éclosion compris entre 10 et 20 °C et des différences dans les délais d'éclosion. Une simulation des variations saisonnières de température (de l'été vers l'automne-hiver et inversement de l'hiver vers le printemps-été) a démontré chez au moins deux de ces populations (Béja et Zaghouan) la présence d'une diapause qui est induite par un relèvement de la température (5 °C suivi de 25 °C) et levée par un abaissement de la température (25 °C à 5 °C). Les six populations tunisiennes d'*H. avenae* semblent correspondre à l'écotype méditerranéen avec des variations vraisemblablement dues à une adaptation régionale à des conditions climatiques plus ou moins sévères.

Mots clés: Biologie, nématode à kystes des céréales, variations saisonnières de température.

Summary. Influence of temperature on hatching of eggs of Tunisian populations of *Heterodera avenae*. Six Tunisian populations of *Heterodera avenae*, originating from different bioclimatic regions, were submitted to different thermal treatments to assess the effect of the temperature on juvenile emergence. The six populations hatched over a range of temperatures between 5 °C and 25 °C with optima between 10 °C and 20 °C, but differed in the patterns of emergence of the juveniles from cysts. Simulation of seasonal temperature variations (from summer to autumn-winter and from winter to spring-summer) demonstrated diapause in at least two populations (Béja and Zaghouan) induced by high temperature treatment (5 °C followed by 25 °C) and broken by subsequent lowering of the temperature (25 °C to 5 °C). The behaviour of the six Tunisian populations of *Heterodera avenae* corresponded to that of the Mediterranean ecotype, with minor variations that probably result from regional adaptation to more or less severe climatic conditions.

Key words: Biology, cereal cyst nematode, effect of temperature regimes.

L'action de la température sur l'éclosion d'*Heterodera avenae* Woll. a été étudiée par plusieurs auteurs. *Heterodera avenae* présente deux écotypes avec des périodes d'éclosion différentes selon l'origine géographique des populations (Evans et Perry, 1976; Rivoal, 1982). L'écotype provenant des régions septentrionales à climat océanique plus ou moins tempéré du nord de l'Europe, en Grande Bretagne (Kerry et Jenkinson, 1976) ou dans le nord de la France (Rivoal, 1978), a une diapause facultative et une période d'éclosion printanière. L'écotype provenant des régions à climat méditerranéen en Australie (Meagher, 1970), dans le sud de la France (Rivoal 1978), en Italie (Greco 1981) ou en Israël (Mor *et al.*, 1992) a une diapause estivale obligatoire et une activité hivernale. En France, une étude détaillée des processus d'éclosion en conditions contrôlées a montré que les deux écotypes d'*H. avenae* ont des exigences thermiques différentes et que la température est le facteur déterminant de la levée de la diapause obligatoire ou facultative (Rivoal, 1979).

Cette publication est consacrée à l'étude de l'effet de la température sur l'éclosion de six populations tunisiennes d'*H. avenae* provenant de différentes régions bioclimatiques.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les kystes d'*H. avenae* ont été collectés dans les différentes régions céréalières de Béja (B), Séliana (S), Kairouan (K), Zaghouan (Z), Mateur (M) et le Kef (Kf) (Fig. 1). Pour chaque population, les kystes ont été extraits en automne à partir de sols ayant porté une culture de blé. L'extraction a été effectuée selon la méthode de la double centrifugation (Jenkins, 1964) pour ne récupérer que les kystes pleins. L'identification des six populations collectées a été confirmée par l'analyse PCR/RFLP de l'ADN ribosomal selon la technique décrite par Subbotin *et al.* (1999). Ces kystes ont été stockés au laboratoire à la température ambiante (≈ 20 °C) durant 2 mois. Pour chaque population, dix kystes sont individuellement placés dans des éclosiers contenant de l'eau distillée. Ces éclosiers, constitués de petits tubes en matière plastique, sont placés dans des portoirs, puis

* Corresponding author e-mail: n_majoua@yahoo.fr

portés aux températures constantes suivantes: 5, 10, 15, 20 et 25 °C. Pour chaque traitement dix répétitions ont été réalisées. Après 8 mois d'incubation, l'action des chocs thermiques a été évaluée pour les six populations étudiées, en transférant cinq kystes pour une durée de 2 mois, soit à 5 °C pour ceux déjà soumis à 25 °C, soit à 25 °C pour ceux soumis initialement à 5 °C, puis réincubés aux températures initiales. Cette deuxième partie de l'expérimentation a aussi duré 8 mois.

Les larves écloses sont dénombrées et éliminées toutes les semaines. Au bout de 8 mois d'incubation tous les kystes, appartenant aux différents traitements, sont écrasés individuellement pour estimer le nombre de larves viables non écloses. Celles-ci sont libérées du chorion de l'œuf par écrasement à l'aide de l'extrémité d'une tige en verre. Selon Rivoal (1983), les larves sont supposées viables si elles apparaissent fortement contrastées et prennent une forme droite; elles sont considérées non viables lorsqu'elles prennent une forme en zigzag et sont fortement vacuolées.

Les résultats sont présentés en pourcentages d'éclosion cumulée calculés après comptages des larves viables non écloses. Une analyse statistique de la variance ANOVA de Kruskal-Wallis a été réalisée sur le nombre cumulé de larves écloses après classification des données par

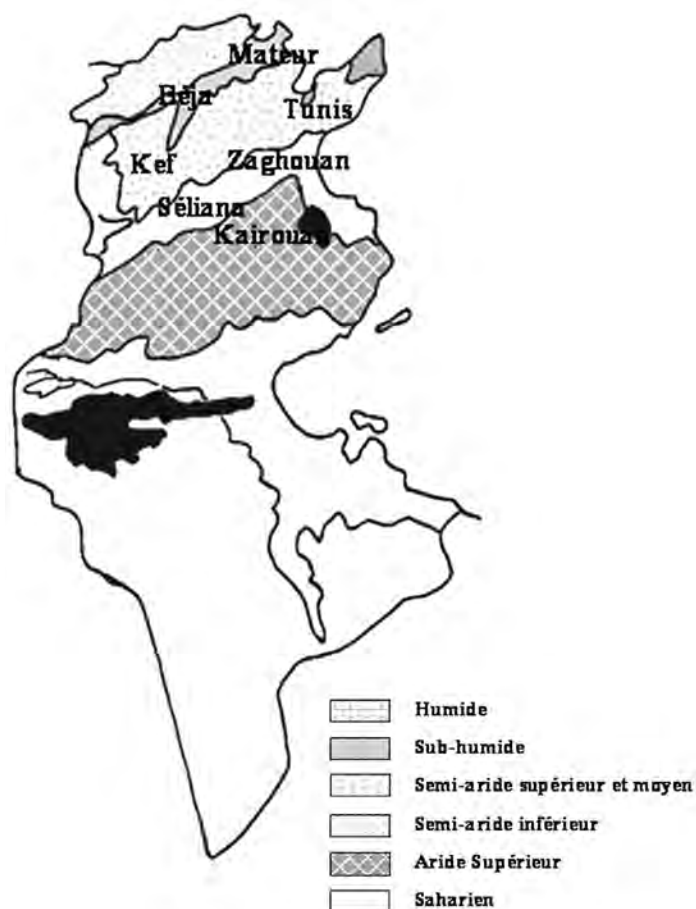


Fig. 1. Localisation des régions de culture selon les étages climatiques: Béja (B), Mateur (M), Kef (Kf), Zaghouan (Z), Séliana (S), Kairouan (K).

rangs (STATISTICA 5.1). Les différences statistiques sont fournies à la probabilité $P \leq 0.05$. Les analyses de régression ont été aussi réalisées en fin d'expérimentation afin de décrire la relation entre le pourcentage d'éclosion total (y) et la température d'incubation (T) qui répond au modèle quadratique de la forme $y = aT^2 + bT + c$ où y représente le pourcentage d'éclosion total et T la température d'incubation (STATISTICA 5.1).

RESULTATS

Éclosion à température constante

Température de 5 °C. A 5 °C, le démarrage de l'éclosion des six populations testées est échelonné, de 106 jours pour Zaghouan à 160 jours pour Béja (Fig. 2A). Néanmoins un léger pic du taux d'éclosion est enregistré au bout de 60 jours pour la population de Kairouan. L'augmentation des sorties larvaires pour cette population se produit durant le quatrième et cinquième mois et concerne également la plupart des autres populations testées. L'analyse statistique des données a permis de distinguer trois groupes de populations formés pour le premier par la seule population de Kairouan avec le taux d'éclosion le plus élevé (35%), suivi par celui des populations de Zaghouan (12%) de Séliana (8%) et de Mateur (7%). Pour le troisième groupe de populations (Béja et Kef) ce taux est demeuré inférieur à 2%. Néanmoins, le taux d'éclosion par kyste a été très faible et n'a pas dépassé 15 larves. Pour la population de Kairouan, 60% des larves écloses ont été obtenues sur une courte période durant le quatrième mois.

Température de 10 °C. A 10 °C, l'éclosion a commencé après 50 jours pour toutes les populations sauf pour celle de Mateur qui n'a débuté qu'au bout de deux mois (Fig. 2B). Le taux d'éclosion est très variable et atteint son maximum au bout de quatre mois pour toutes les populations.

Les populations sont statistiquement regroupées en trois groupes avec le taux d'éclosion maximum pour la population de Kairouan (88%). Le deuxième groupe est constitué des populations de Zaghouan (60%), Béja (55%) et Séliana (40%). Les populations de Mateur et du Kef, du troisième groupe, présentent les taux d'éclosion les plus bas respectivement 20% et 10%.

Température de 15 °C. A 15 °C les populations éclosent comme celles soumises à 10 °C (Fig. 2C). En effet, l'éclosion a débuté après 30 jours pour les populations de Kairouan et Zaghouan, après 60 jours pour celles de Béja, Séliana et Mateur. Pour celle du Kef, elle commence au bout de 75 jours. La période d'éclosion est étalée sur trois mois pour atteindre son maximum après 150 jours pour toutes les populations.

La population de Kairouan présente toujours le taux d'éclosion le plus élevé (70%) et celle du Kef le taux

d'éclosion le plus faible (3%). A cette température, l'éclosion des populations de Zaghouan et de Séliana sont comparables, respectivement 55% et 45% alors que l'éclosion des populations de Béja et de Mateur sont plus faibles, de l'ordre de 30% et 20% respectivement.

Température de 20 °C. A 20 °C, toutes les populations ont éclo sauf celle du Kef. L'éclosion commence quasiment immédiatement, après 30 jours pour les populations

de Kairouan et Zaghouan, après 50 jours pour celles de Mateur, Séliana et Béja (Fig. 2D). L'éclosion est étalée sur une période de 4 mois pour toutes les populations.

La population de Kairouan a présenté le maximum d'éclosion (77%) significativement différent des autres populations. Elle est suivie par le groupe formé par les populations de Séliana (58%) et Zaghouan (45%), et le groupe formé par les populations de Béja et Mateur avec des taux d'éclosions respectifs de 35% et 20%.

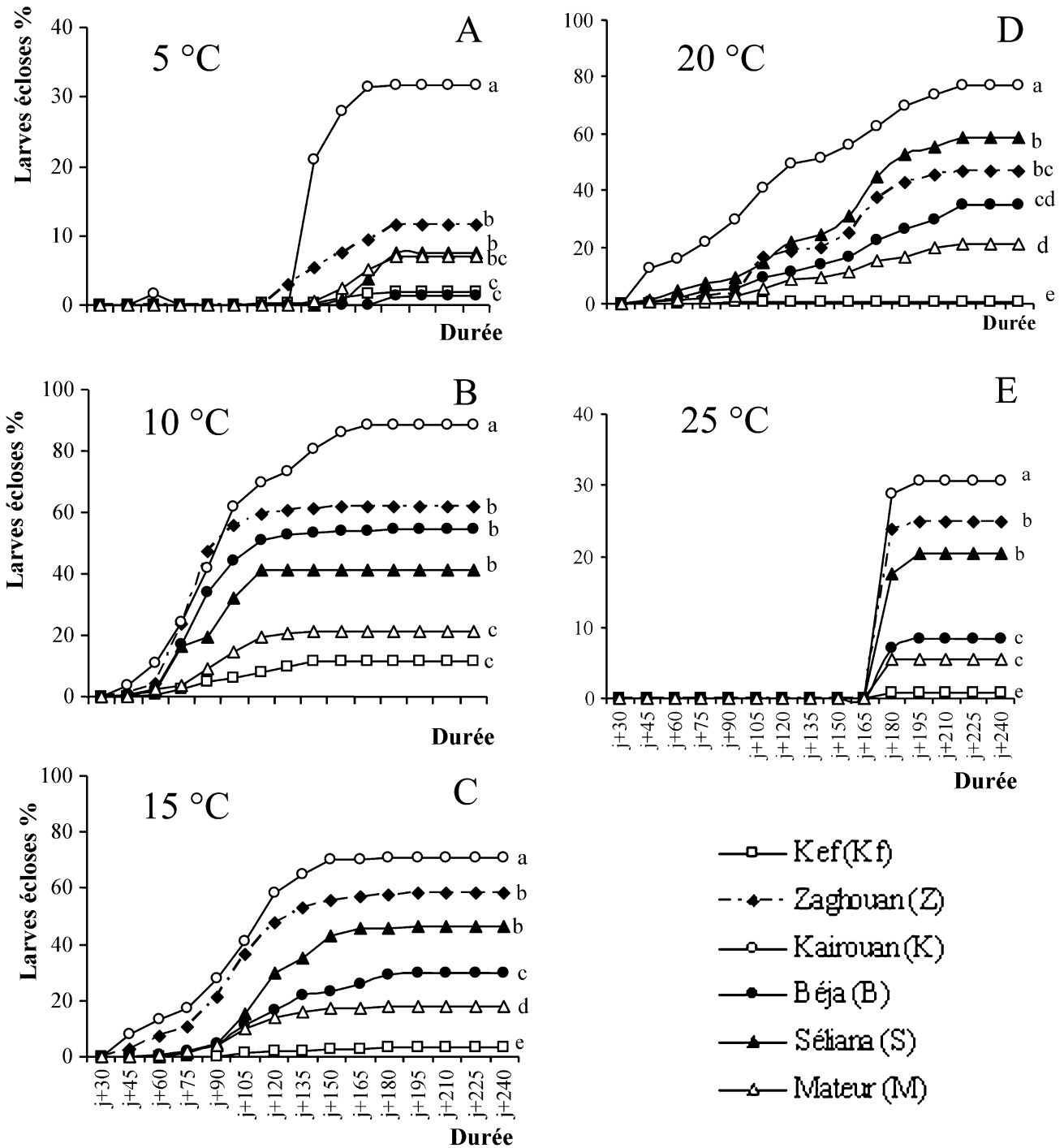


Fig. 2. Pourcentages d'éclosion cumulée des six populations tunisiennes d'*Heterodera avenae* obtenus à température constante de A: 5 °C; B: 10 °C; C: 15 °C; D: 20 °C; E: 25 °C. Les éclosions cumulées au jour J + 240 suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P \leq 0.05$).

Température de 25 °C. A 25 °C, l'éclosion commence tardivement pour toutes les populations avec un délai de 150 jours environ (Fig. 2E). Cette éclosion est cependant très rapide, puisqu'en un seul mois 20% à 30% des larves sont sorties pour les populations de Kairouan, Zaghouan et Séliana, 5% à 8% pour les populations de Mateur et Béja et 1% pour celle du Kef. L'éclosion cumulée des populations de Kairouan, Zaghouan, Séliana se distingue statistiquement de celle des populations de Béja et Mateur.

Températures optimales et taux d'éclosion des différentes populations

Le processus de l'éclosion des larves d'*H. avenae* peut être modélisé par le calcul de l'équation du type quadra-

tique $y = aT^2 + bT + c$ où y représente le pourcentage d'éclosion total et T la température d'incubation.

En comparant le pourcentage d'éclosion total d'une population donnée, au cours des huit mois d'incubation et aux cinq températures testées, on constate que l'éclosion est significativement la plus élevée à 10 °C mais reste comparable à celle des incubations de 15 °C et 20 °C. A l'opposé, les éclosions sont les plus faibles aux traitements extrêmes de 5 °C et 25 °C (Fig. 3).

Cependant, même si l'optimum thermique est sensiblement le même pour les six populations, on constate une grande variation dans le taux d'éclosion total d'une région à l'autre. La population de Kairouan présente le taux d'éclosion le plus élevé suivie respectivement de celles de Zaghouan, Séliana et Béja. Les populations de Mateur et du Kef ont les taux d'éclosion les plus faibles (Fig. 3).

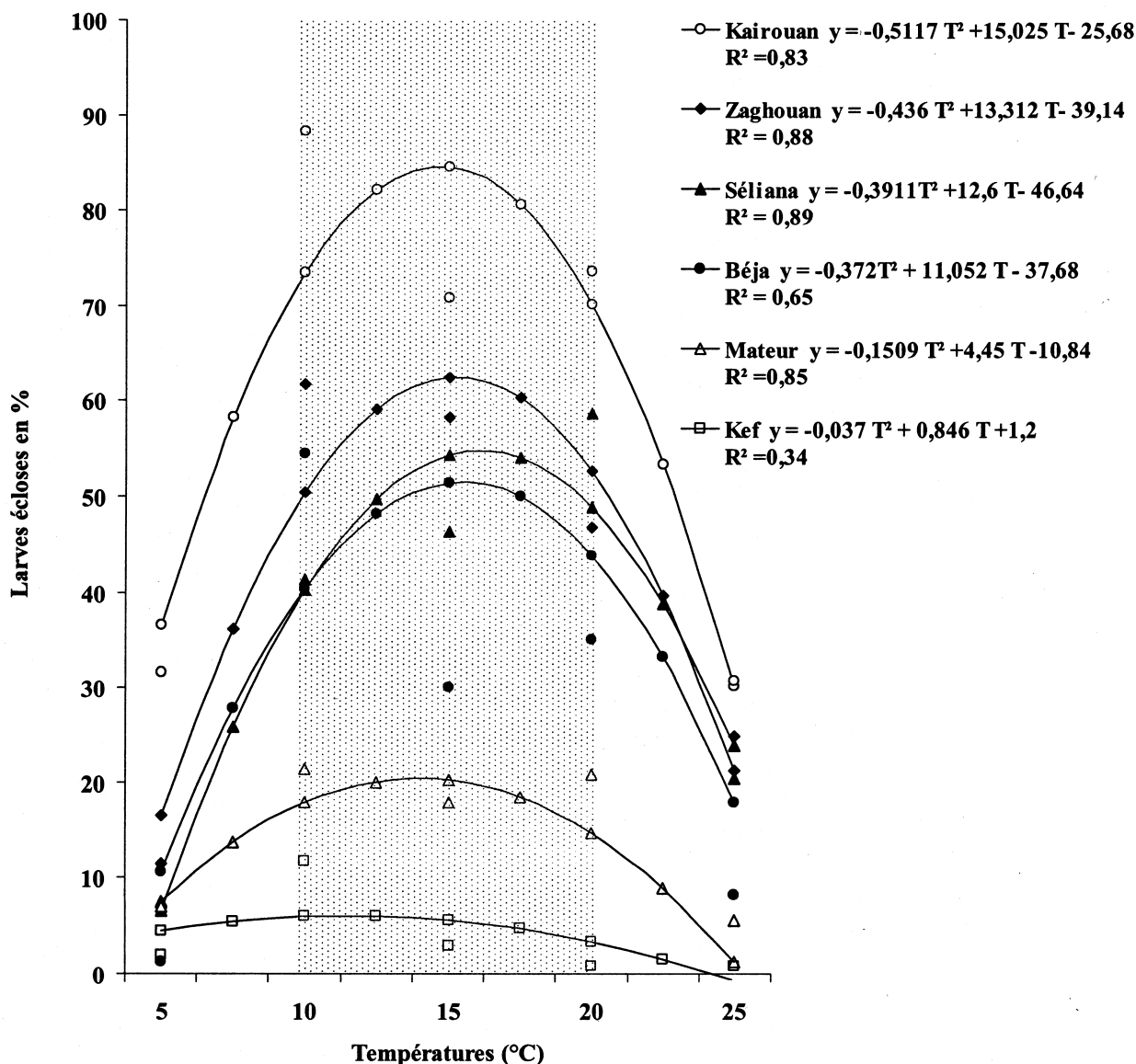


Fig. 3. Modélisation des pourcentages d'éclosion cumulée des six populations tunisiennes d'*Heterodera avenae* en fonction de la température d'incubation. La partie ombrée indique la plage de température à laquelle l'éclosion des œufs était similaire, mais significativement plus élevée qu'à toutes les autres températures testées.

Effet des chocs thermiques

L'effet des chocs thermiques était comparable pour les six populations testées. De ce fait, seuls les résultats relatifs à deux populations provenant chacune d'un étage climatique différent et qui donnent des pourcentages d'éclosion proches ont été comparés: (Béja issue du sub-humide et Zaghouan du semi-aride).

Éclosion à 5 °C après un séjour à 25 °C. Ce traitement a eu le même effet sur les deux populations testées: Béja et Zaghouan. Le séjour des kystes à la température de 25 °C pendant 2 mois retarde le début de l'éclosion de 120 à 150 jours (Fig. 4). Pour les deux populations, l'éclosion cumulée au bout de 240 jours n'est pas significativement différente entre les deux traitements thermiques.

Éclosion à 25 °C après un séjour à 5 °C. Le séjour de 2 mois des kystes à 5 °C suivi d'un passage à 25 °C occasionne une stimulation de l'éclosion des larves qui est cependant comparable pour les deux populations (Fig. 4F). Cette stimulation de l'éclosion se produit exclusivement durant les deux mois qui suivent le changement de température.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les expérimentations menées à température constante de 5, 10, 15, 20 et 25 °C et après changement de température (25 °C suivi de 5 °C ou 5 °C suivi de 25 °C) nous renseignent d'une part sur les conditions optimales d'éclosion des six populations d'*H. avenae*, d'autre part sur les conditions d'entrée ou de suppression de diapause pour deux d'entre elles: Béja et Zaghouan.

On a montré que les populations éclosent préférentiellement aux régimes thermiques de 10, 15 et 20 °C même si les populations de Kef et Mateur ont toujours montré une éclosion faible. Cette gamme de températures optimales d'éclosion est très proche de celle observée pour les populations australiennes (Banyer et Fisher, 1971) et israéliennes (Mor *et al.*, 1992), localisées en climat de type méditerranéen. On a constaté aussi une grande variabilité entre les populations pour leurs pourcentages d'éclosion cumulée. Les larves éclosent plus rapidement et en nombre plus important pour les populations de Kairouan, Zaghouan et Séliana comparées à celles de Béja, Mateur et Kef. Ces résultats sont identiques à ceux obtenus par Mokabli *et al.* (2001) pour la

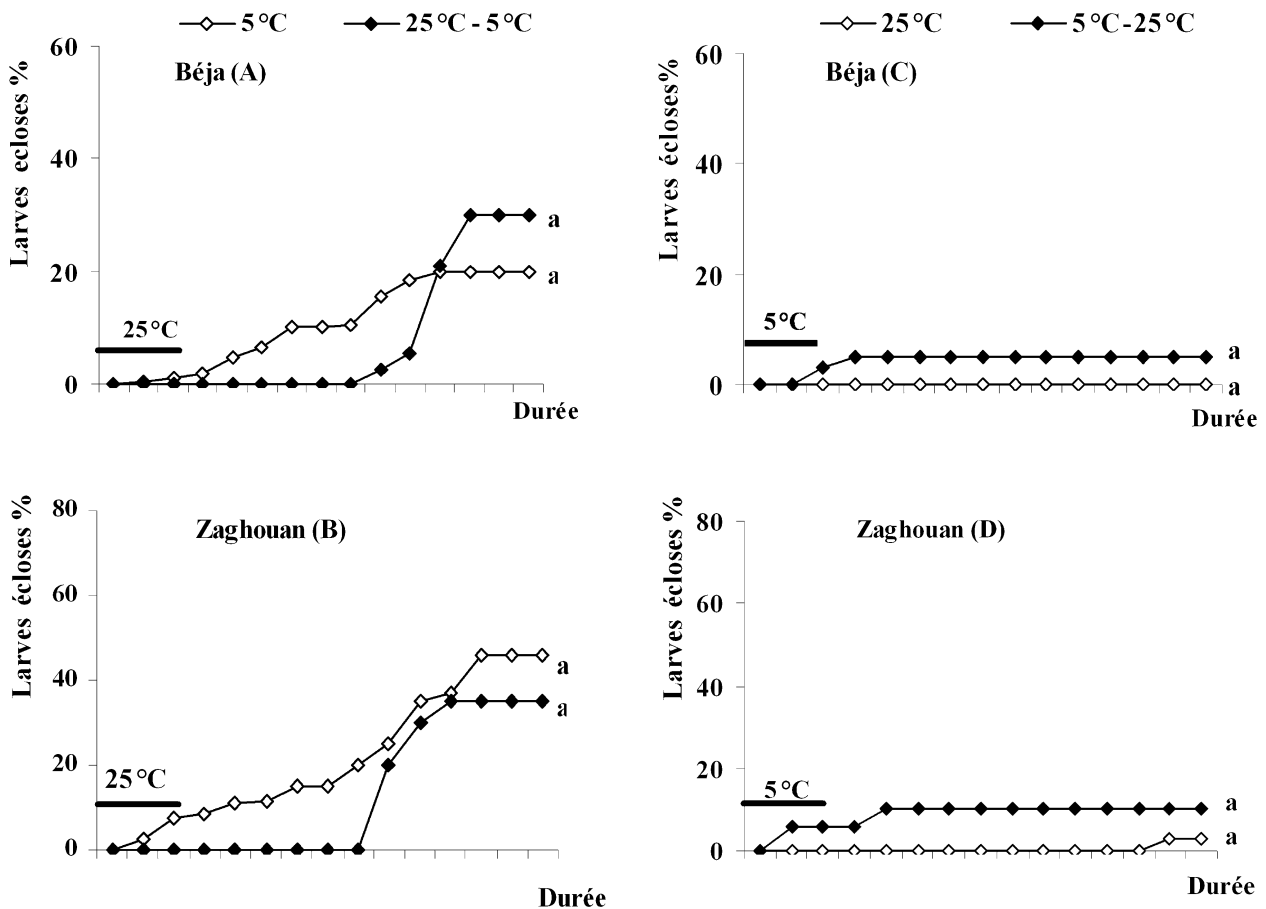


Fig. 4. Pourcentages d'éclosion cumulée des deux populations tunisiennes d'*Heterodera avenae* obtenus à la suite de traitements thermiques et issues de deux étages climatiques différents (Béja du sub humide, Zaghouan du semi-aride). A, B: incubation à 5 °C avec ou sans séjour de 2 mois préalable à 25 °C; C, D: incubation à 25 °C avec ou sans séjour préalable de 2 mois à 5 °C. Les éclosions cumulées à J+240 suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes (P ≤0.05). Sur chaque graphique, la barre indique les deux mois d'exposition des œufs à la première température.

population algérienne E129 (Tiaret) située en zone semi-aride, comme celles de Kairouan, Séliana ou Zaghouan, et caractérisée par un hiver rigoureux et froid et un été chaud et sec. A l'inverse, les trois autres populations (Béja, Mateur et Kef) issues de l'étage climatique subhumide inférieur, caractérisé par un hiver pluvieux et doux et un été relativement moins chaud, nécessitent une période de maturation plus longue avant de pouvoir éclore comme c'est le cas pour la population algérienne E131 (Oued Smar), située également en zone subhumide (Mokabli *et al.*, 2001).

Ces populations d'*H. avenae* démontrent des capacités intrinsèques à réagir aux conditions spécifiques de températures régnant dans les régions dont elles sont issues. En plus, le taux de remplissage des kystes est variable selon les régions climatiques d'origine. Pour les populations de Kef, Béja et Mateur, on a dénombré en moyenne 190 œufs par kyste, 221 à 294 œufs/kyste respectivement pour les populations de Zaghouan et Séliana et 483 œufs/kyste pour celle de Kairouan.

Ces différences entre les populations pour leurs pourcentages d'éclosion cumulée pourraient être dues à la présence d'agents antagonistes tels que les champignons parasites. En effet le dénombrement du solde des œufs non éclos en fin d'expérimentation a montré la présence d'un nombre variable d'œufs au contenu détruit. Ainsi le taux de parasitisme (non identifié) le plus élevé a été enregistré pour la population de Kef et le taux le plus faible pour la population de Kairouan ce qui expliquerait la variabilité du taux d'éclosion cumulé entre ces deux populations.

Les variations de température simulant des changements de saison par exemple de l'été – automne à l'hiver (25 °C pendant 2 mois suivi de 5 °C) ou le contraire de l'hiver au printemps – été (5 °C pendant 2 mois suivi de 25 °C) ont provoqué des réactions similaires chez ces deux populations de Béja et Zaghouan. La période d'incubation à 25 °C a causé un retard de déclenchement de l'éclosion correspondant à l'induction d'une période de dormance (diapause) de 2 à 4 mois comme celle observée par Rivoal (1979) en France pour la population méridionale (Fr1) et par Banyer et Fisher (1971) pour la population australienne. L'incubation de ces mêmes populations à basse température a fait lever cette diapause avec une éclosion similaire à celle observée à température constante (5 °C). En outre, pour ces deux populations, la simulation du passage des conditions hivernales au printemps-été a occasionné une sortie brève des larves qui se produit normalement en fin de cycle d'éclosion.

Plusieurs expérimentations ont été réalisées dans le monde afin d'étudier l'effet de la température sur les populations de *H. avenae* issues aussi bien de zones géographiques contrastées (Europe, Australie, Amérique du nord) qu'au sein d'un même pays comme la France, l'Espagne et l'Algérie (Banyer et Fisher, 1971; Rivoal, 1979, 1986; Zancada et Sanchez, 1988; Rivoal et Ireholm, 1990; Mokabli *et al.*, 2001). Elles ont toutes montré des différences dans le comportement de l'éclosion des popula-

tions d'*H. avenae*, correspondant à la présence des deux principaux écotypes caractérisés par une activité soit hivernale (cas de l'écotype méditerranéen), soit printanier (cas de l'écotype des régions de l'hémisphère nord à climat océanique ou plus ou moins tempéré). Ces écotypes traduisent une adaptation au climat qui assure une synchronisation de l'éclosion du parasite avec les conditions les plus favorables pour l'infestation de l'hôte et la survie du nématode (Rivoal, 1982). En Tunisie, dans les différentes régions céréalières étudiées, les céréales (blé dur, blé tendre et orge) sont généralement semées en automne fournissant ainsi immédiatement l'hôte nécessaire pour les larves fraîchement écloses dans le sol.

Pour ce qui concerne l'écotype méditerranéen, nos résultats ainsi que ceux obtenus par Zancada et Sanchez (1988) et Mokabli *et al.* (2001) montrent en conditions expérimentales de légères variations dans les schémas d'éclosion entre populations d'origine géographique différente. Ces variations peuvent être le résultat d'adaptations locales aux conditions bioclimatiques distinctes caractérisées par des périodes d'hiver ou d'été plus ou moins sévères. De plus la présence supposée d'un parasitisme des œufs qu'il est nécessaire d'approfondir a certainement altéré les potentialités d'éclosion des populations concernées comme celle de Kef.

L'effet de la température sur l'éclosion des œufs d'*H. avenae* nécessite une étude beaucoup plus élargie qui engloberait des populations issues de nouveaux périmètres de cultures céréalières (irrigués) situés plus au Sud dans le gouvernorat de Sidi Bouzid, en conditions climatiques encore plus extrêmes.

LITTÉRATURE CITÉE

- Banyer R.J. et Fisher J.M., 1971. Effect of temperature on hatching of eggs of *Heterodera avenae*. *Nematologica*, 17: 519-534.
- Evans A.A.F. et Perry R.N., 1976. Survival strategies in nematodes. Pp. 383-424. In: The organization of Nematodes. (Croll N.A., ed.). Academic Press, London (UK); New York and San Francisco, USA.
- Greco N., 1981. Hatching of *Heterodera carotae* and *Heterodera avenae*. *Nematologica*, 27: 366-371.
- Jenkins W.R., 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 15: 692.
- Kerry B.R. et Jenkinson S.C., 1976. Observations on emergence, survival and root invasion of second stage larvae of the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*. *Nematologica*, 27: 228-234.
- Meagher J.W., 1970. Seasonal fluctuations in numbers of larvae of the cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) and of *Pratylenchus minyus* and *Tylenchorhynchus brevidens* in soil. *Nematologica*, 16: 333-347.
- Mokabli A., Valette S. et Rivoal R., 1998. Influence of temperature on hatching of the cereal cyst nematodes, *Heterodera avenae* and *Heterodera latipons*, from different geographic origins, in Mediterranean regions. *Nematologica*, 44: 538 (Abstr.)

- Mokabli A., Valette S., Gauthier J.P. et Rivoal R., 2001. Influence of temperature on the hatch of *Heterodera avenae* Woll. populations from Algeria. *Nematology*, 3: 171-178.
- Mor M., Cohn E. et Spiegel Y., 1992. Phenology, pathogenicity and pathotypes of cereal cyst nematodes, *Heterodera avenae* and *Heterodera latipons* (Nematoda: Heteroderidae) in Israel. *Nematologica*, 38: 494-501.
- Rivoal R., 1978. Biologie d' *Heterodera avenae* Woll. en France. I - Différence dans les cycles d'éclosion et de développement des deux races Fr 1 et Fr 4. *Revue de Nématologie*, 1: 171-179.
- Rivoal R., 1979. Biologie d' *Heterodera avenae* Woll. en France. II - Etude des différences dans les conditions thermiques d'éclosion des races Fr1 et Fr 4. *Revue de Nématologie*, 2: 233-248.
- Rivoal R., 1982. Caractérisation de deux écotypes d'*Heterodera avenae* en France par leurs cycles et conditions thermiques d'éclosion. *Bulletin OEPP*, 12: 353-359.
- Rivoal R., 1983. Biologie d'*Heterodera avenae* Woll. en France. III - Evolution des diapauses des races Fr 1 et Fr 4 au cours de plusieurs années consécutives; influence de la température. *Revue de Nématologie*, 6: 157-164.
- Rivoal R., 1986. Biology of *Heterodera avenae* Wollenweber in France. IV. Comparative study of the hatching cycles of two ecotypes after their transfer to different climatic conditions. *Revue de Nématologie*, 9: 405-410.
- Rivoal R. et Ireholm A., 1990. Cycles d'éclosion de trois populations d'*Heterodera avenae* (Nem., Heteroderidae) de France et Suède: Influence de la température sur l'évolution de leur diapause respective. Pp. 171-174. In: Régulation des cycles saisonniers chez les invertébrés (Ferron P., Missionnier J. et Mauchamp B., eds). *Les colloques de l'INRA*, 52.
- Subbotin S.A., Waeyenberge L., Molokanova I.A. et Moens M., 1999. Identification of *Heterodera avenae* group species by morphometrics and rDNA-RFLPs. *Nematology*, 1: 195-207.
- Zancada C. et Sanchez A., 1988. Effect of temperature on juvenile emergence of *Heterodera avenae* Spanish pathotypes *Ha81* and *Ha22*. *Nematologica*, 34: 218-225.