

# Détermination du biotype du nématode des agrumes (*Tylenchulus semipenetrans*) dans cinq régions agrumicoles du Maroc

F. MOKRINI<sup>1</sup>, A. ESSARIOU<sup>2</sup>

(Reçu le 13/12/2018; Accepté le 05/03/2019)

## Résumé

Un essai a été mené sous tunnel plastique à l'INRA de Kénitra (El Menzeh) en vue de caractériser les différents biotypes du nématode des agrumes (*Tylenchulus semipenetrans*) existants dans les vergers marocains. Les plantes hôtes différentielles utilisées dans ce test sont le citronnier épineux (*Poncirus trifoliata*), le bigaradier (*Citrus aurantium*), la vigne (*Vitis vinifera*) et l'olivier (*Olea europaea*). Les différentes plantes hôtes ont été inoculées par une suspension de 10.000 d'œufs et juvéniles de deuxième stade de *T. semipenetrans* des régions du Gharb, Loukkos, Haouz, Moulouya et Souss-Massa. Les différentes populations de *T. semipenetrans* ont montré une forte capacité à se multiplier sur le bigaradier et aussi sur la vigne, contrairement à l'olivier et le *P. trifoliata*. Le taux de reproduction (TR) des différentes populations de *T. semipenetrans* sur le porte-greffe *P. trifoliata* et l'olivier est inférieur à 1, contrairement au bigaradier et la vigne où ce taux de reproduction est supérieur à 1. Ces résultats indiquent que les cinq populations de *T. semipenetrans* des régions du Gharb, Loukkos, Haouz, Moulouya et Souss-Massa appartenant au biotype Méditerranéen.

**Mots-clés:** Nématode des agrumes, régions, Plantes hôtes, Biotype Méditerranéen.

## Determination of *Tylenchulus semipenetrans* biotype in five citrus growing areas in Morocco

### Abstract

The biotype of citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) from Morocco was determined using differential plant hosts, namely trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*), bitter orange (*Citrus aurantium*), grape (*Vitis vinifera*) and olive (*Olea europaea*). The study was conducted under greenhouse conditions with 5 replicates. Nematodes from regions of Gharb, Souss-Massa, Haouz, Loukkos and Moulouya were extracted from roots and inoculated to hosts with 10.000 eggs and juveniles per plant. Reproductive factors were less than one for *Poncirus trifoliata* and olive for all populations. Result of differential-host experiment showed that all five *T. semipenetrans* populations belong to the Mediterranean biotype.

**Keywords:** Citrus nematode, regions, Differential host test, Mediterranean biotype.

## INTRODUCTION

*Tylenchulus semipenetrans* Cobb, est un nématode semi-endoparasite sédentaire inféodé aux racines des agrumes (O'Bannon et Reynolds, 1967). Le dépérissement lent des agrumes (slow decline) causé par ce genre de nématode a été observé dans plusieurs régions du monde. La lutte contre ce nématode repose sur l'utilisation des porte-greffes résistants, mais l'existence de plus d'un biotype de *T. semipenetrans* réduit le degré de résistance de ces porte-greffes (Kwaye et al., 2008). Trois biotypes ont été identifiés jusqu'à présent; le 'Biotype des agrumes', le 'Biotype *Poncirus*' (Inserra et al., 1980a; Gottlieb et al., 1986; Verdejo-Lucas, 1992) et le 'Biotype Méditerranéen'. Ces biotypes diffèrent par leurs capacités d'infester et de se reproduire sur le bigaradier (*Citrus aurantium* L.), le citronnier épineux (*Poncirus Trifoliata*), l'olivier (*Olea europaea*) et la vigne (*Vitis vinifera*). Le biotype 'agrumes' est identifié en Californie et en Italie (Baines et al., 1974; Inserra et al., 1980). Ce biotype peut se reproduire sur les agrumes, la vigne et également sur l'olivier. Le biotype *Poncirus* a été identifié en Californie, en Floride, à Valence en Espagne, en Afrique du sud, en Israël et au

Japon (Baines et al., 1974; Duncan et al., 1994; Murguia et al., 2005; Kwaye et al., 2008). Ce biotype est capable de se multiplier sur le bigaradier, le citronnier épineux et la vigne, mais incapable de se multiplier sur l'olivier. Le biotype Méditerranéen peut seulement se reproduire sur les agrumes et la vigne. Ce biotype a été identifié dans les pays du bassin méditerranéen, en Afrique du Sud et en Inde (Inserra et al., 1980b; Verdejo-Lucas, 1992).

Au Maroc, le nématode du dépérissement lent, *T. semipenetrans*, a été trouvé en association avec les différents porte-greffes dans la totalité des vergers prospectés (Mokrini, 2010; Mokrini et al., 2018). Cependant, la détermination du biotype de ce nématode n'a jamais été réalisée. L'objectif de ce travail est d'identifier le(s) biotype(s) de *T. semipenetrans* existant(s) dans les vergers d'agrumes marocains.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les plantes hôtes différentielles utilisées dans l'essai sont: le citronnier épineux, le bigaradier, la vigne et l'olivier. L'essai a été réalisé dans un tunnel à la station de la Recherche Agronomique d'El Menzeh, région du

<sup>1</sup> Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), UR-Production intégrée des cultures, CRRA-Agadir-Maroc. Correspondance: ...

<sup>2</sup> Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), CRRA-Errachidia-Maroc

Gharb. Les différentes plantes hôtes ont été plantées dans des pots en plastique de 3L de volume. Cinq populations de *T. semipenetrans* ont été prélevées dans les régions du Souss Massa, Loukkos, Gharb, Moulouya et Haouz. L'expérimentation a été conduite selon un dispositif factoriel à deux facteurs; le facteur hôte avec trois niveaux, et le facteur population ayant 5 niveaux. Cinq répétitions ont été utilisées pour chaque combinaison factorielle. Au total nous avons 2 (niveaux facteurs hôte) x 5 (niveaux facteur population) x 5 répétitions = 50 plantes. Les différentes plantes hôtes ont été infestées par une suspension de 10.000 œufs et juvéniles du deuxième stade de *T. semipenetrans* de chaque région selon la méthode suivante: le sol recouvrant les racines a été enlevé en veillant à ne pas

déplacer les racines, puis la suspension de nématodes a été introduite directement au voisinage des racines. Enfin, les racines ont été recouvertes du même sol et les plants ont été arrosés afin de prévenir la dessiccation.

A Sept mois après inoculation, 100 cc de sol et 10 g de racines ont été prélevés de chaque pot pour analyse nématologique. L'extraction des nématodes à partir du sol a été faite selon la technique de Baermann (1917) et selon la technique de la double centrifugation (Macaron, 1972) à partir des racines. Le nombre de nématodes a été rapporté au total du système racinaire de chaque plante hôte. Le taux de reproduction (TR) a été calculé en divisant la population finale des nématodes par la population initiale.

**Tableau 1: Taux de reproduction (TR) des populations de *T. semipenetrans* sur les hôtes différentiels**

Populations	Plantes hôtes	Bigaradier	Vigne	Olivier	Citronnier épineux	LSD <sub>0,05</sub>
<b>Souss-Massa</b>						
Sol		14160a	12180a	6540b	5940b	3592,7
Racine		7,2a	6,2a	0b	0,4b	4,13
Population finale		14166a	12187a	6540b	5940b	
Taux de reproduction		1,42a	1,22a	0,65b	0,59b	4,22
<b>Gharb</b>						
Sol		21120a	13020ab	6660b	8220b	9772
Racine		9,4a	7,2a	0b	0,2b	6,8
Population finale		21129a	13027ab	6660b	8222b	
Taux de reproduction		2,11a	1,3ab	0,66b	0,82b	0,98
<b>Haouz</b>						
Sol		13380a	10740b	6240c	7800c	1590,4
Racine		4,6a	3,8a	0b	0b	2,94
Population finale		13384a	10744b	6240c	7800c	
Taux de reproduction		1,39a	1,07b	0,62c	0,78c	0,16
<b>Moulouya</b>						
Sol		13420a	12420a	7380b	8220b	2840,7
Racine		9,8a	4,4b	0c	0c	4,17
Population finale		13424a	12430a	7380b	8220b	28
Taux de reproduction		1,34a	1,24a	0,73b	0,82b	0,28
<b>Loukkos</b>						
Sol		13980a	12160a	6000b	6840b	3593
Racine		4,2ab	7,2a	0bc	0,2c	4,13
Population finale		13984a	12167a	6000b	6840b	
Taux de reproduction		1,39a	1,21a	0,6b	0,68b	4,22

**Tableau 2: Capacité de multiplication des différentes populations de *T. semipenetrans* sur les différentes plantes hôtes**

Plantes hôtes	Population				
	Loukkos	Sous Massa	Moulouya	Haouz	Gharb
Bigaradier	++	++	++	++	+++
Vigne	++	++	++	++	++
Olivier	-	-	-	-	-
<i>Poncirus trifoliata</i>	-	-	-	-	-

+ : Multiplication de *T. semipenetrans*

- : Pas de multiplication

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Il n'y avait pas d'effet d'interaction hôte-population sur le taux de reproduction des nématodes. En outre, les populations des différentes régions ont montré des TR similaires, indépendamment de l'hôte, suggérant l'absence d'effet population sur le TR du parasite. Cependant, pour chaque population, les plantes hôtes ont affecté significativement le TR du *T. semipenetrans* (Tableau 1). Aussi bien au niveau des racines que dans le sol, il y avait un effet très hautement significatif de la plante hôte sur le TR (F value: 27,6; Pr > F: 0,0001) de la population de 'Souss-Massa' avec la présence de deux groupes homogènes. Le premier est formé par le bigaradier et la vigne, le deuxième par l'olivier et le *Poncirus trifoliata*.

De la même manière, pour le cas de la population du 'Gharb', l'analyse statistique a classé l'ensemble des plantes hôtes en deux groupes significativement différents (F value : 4,2; Pr > F: 0,03). Le taux de reproduction le plus élevé a été enregistré sur bigaradier (2,11). Concernant la population de 'Haouz', l'analyse statistique a montré l'existence d'une différence très hautement significative dans le TR des différentes espèces hôtes (F value: 37,7; Pr > F: 0,0001), avec la présence de trois groupes homogènes. Le premier est formé uniquement par le bigaradier, le deuxième par la vigne et le troisième groupe par l'olivier et le citronnier épineux. Les mêmes résultats ont été obtenus pour les populations de Moulouya et Loukkos, avec des différences significatives observées dans le TR.

Les différentes populations de *T. semipenetrans* ont montré une forte capacité à se reproduire sur le bigaradier et aussi sur la vigne, contrairement à l'olivier et le citronnier épineux (Tableau 2). Généralement, le TR en relation avec les différentes plantes hôtes donne une idée sur le type du biotype (Kwaye et al., 2008). Notre étude a montré que le TR des différentes populations du *T. semipenetrans* sur le porte-greffes citronnier épineux et l'olivier est inférieur à 1. Kwaye et al. (2008) ont montré que le TR de la population de champagne en Afrique du sud sur l'olivier et le citronnier épineux est inférieur à 1. Donc, le *T. semipenetrans* des cinq régions se comporte d'une façon similaire au biotype Méditerranéen défini dans des études précédentes (Inserra et al., 1980; verdejo-Lucas, 1992). Ce biotype a été découvert dans la région méditerranéenne, en Afrique du sud et en Inde (Inserra et al., 1980; Lo Guidice et Inserra, 1980; Verdejo-Lucas, 1992; Verdejo-lucas et al., 1997). En Espagne, la capacité de reproduction de quatorze populations du nématode des agrumes (*T. semipenetrans*), collectées dans la principale zone agrumicole, ont été comparées sur oranger amer et citrange Carrizo. Toutes ces populations ont été identifiées comme appartenant au biotype méditerranéen avec une capacité de reproduction qui varie considérablement en fonction des populations (Verdejo-Lucas et al., 1997). Le pouvoir infestant et le taux de reproduction des populations collectées dans la rhizosphère des porte-greffes citrange troyer ou carrizo sont plus élevés (Verdejo-Lucas et al., 1997).

## CONCLUSION

Nos résultats montrent que le biotype de *T. semipenetrans* existant dans les vergers marocains est du biotype Méditerranéen. D'autres études avec des marqueurs moléculaires sont nécessaires pour valider les résultats obtenus. Cependant, un programme de recherche sur les nouveaux porte-greffes résistants au biotype Méditerranéen de *Tylenchulus semipenetrans* est nécessaire pour le développement d'un porte-greffe performant qui s'adapte aux conditions marocaines.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Baines R.C., Cameron J.W., Soost R.K. (1974). Four biotypes of *Tylenchulus semipenetrans* in California identified and their importance in the development of resistant citrus rootstocks. *J Nematol.*, 6: 63-66.
- Duncan L.W., Insera R.N., O'Bannon J.H., El-morshedy M.M. (1994). Reproduction of a Florida population of *Tylenchulus semipenetrans* on resistant citrus rootstocks. *Plant Dis.*, 78: 1067-1071.
- Gottlieb Y., Cohn E., Spiegel-Roy P. (1986). Biotypes of the Citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb) in Israel. *Phytoparasitica*, 14: 193-198.
- Inserra R.N., Duncan L.W., O'Bannon, J.H. (1980a). Citrus nematode biotypes and resistance of citrus rootstocks in Florida. Florida Department of Agriculture and Consumer Service Division. Nematology Circular 205, 4 pp.
- Inserra R.N., Vovlas N., O'Bannon, J.H. (1980b). A classification of *Tylenchulus semipenetrans* biotypes. *J. Nematol.*, 12: 263-287.
- Kwaye R.G., Mashela P.W., Sfmelos H., Mapope, N. (2008). Determination of *Tylenchulus semipenetrans* Biotype in Zebediela et Champagne, Republic of South Africa.
- Macaron J. (1972). Contribution à l'étude du nématode phytophage *Tylenchulus semipenetrans*. Thèse PhD, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, France, 190 pp.
- Murguia C., Abad P., Jorda C., Bello A. (2005). Short communication. Identification of the *Poncirus* biotype of *Tylenchulus semipenetrans* in Valencia, Spain. *Spanish J. Agric. Res.*, 3: 130-133.
- O'Bannon J.H., Reynold H.W. (1967). The effects of chemical treatment on *Tylenchulus semipenetrans* and citrus tree response during 8 years. *Nematologica*, 13: 131-136.
- Lamberti F., Vovlas N., Tirro M.A. (1976). An Italian biotype of the Citrus nematode. *Nematol. Mediterr.*, 4: 117-120.
- Lo Guidice V., Inserra R.N. (1980). Reaction of citrus and non-citrus rootstocks to *Tylenchulus semipenetrans*. *Nematol. Mediterr.*, 8: 103-105.
- Verdejo-Lucas S. (1992). On the occurrence of the «Mediterranean biotype» of *Tylenchulus semipenetrans* in Spain. *Fundam. Appl. Nematol.*, 15: 475-477.
- Verdejo-Lucas S., Sorribas F.J., Forner J.B., Alcaide A. (2000). Resistance of hybrid citrus rootstocks to a Mediterranean biotype *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. *Hort. Science*, 35: 269-273.
- Verdejo-Lucas S., Sorribas F.J., Pons J., Forner J.B., Alcaide A. (1997). The Mediterranean biotypes of *Tylenchulus semipenetrans* in Spanish citrus orchards. *Fundam. Appl. Nematol.*, 20: 399-404.