

# Survie des nématodes dans les sols secs et saturés d'eau : Œufs et larves de *Meloidogyne incognita*

Georges de GUIRAN

INRA, Station de Recherches sur les Nématodes, B.P. 78, 06602 Antibes, France

## RÉSUMÉ

Les œufs et les larves libres de *Meloidogyne incognita* montrent une quiescence qui leur permet de survivre dans les sols secs ou saturés d'eau.

Dans les sols secs (pF 4,2), les larves peuvent supporter une dessiccation pendant plus de six semaines grâce à une quiescence anhydrobiotique (Fig. 2). Plus cette quiescence a duré longtemps, plus le temps de réactivation est ensuite allongé (Fig. 3). Œufs et larves supportent mieux la dessiccation lorsqu'ils se sont naturellement développés dans le sol que lorsqu'ils ont été artificiellement inoculés. Cette quiescence anhydrobiotique permet aux larves de supporter de courtes périodes de dessiccation se produisant fréquemment dans les zones superficielles où elles ont été attirées par les racines des jeunes plantes. Le temps requis pour la réactivation après une longue quiescence évite l'épuisement des réserves pendant les courtes réhumidifications du sol.

L'éclosion des masses d'œufs est retardée et diminuée proportionnellement à leur séjour préalable dans un sol saturé d'eau (Fig. 5), mais les œufs ne sont pas tués (Fig. 6). Après un court séjour, le développement de nombreux œufs est bloqué au stade L<sub>1</sub> précoce. Un séjour plus long accroît la proportion de diapause embryonnaire. Ces embryons en diapause sont plus lentement éliminés que les stades L<sub>1</sub>.

Dans les sols saturés d'eau, les larves montrent une quiescence due à l'anoxie, mais l'établissement de cette quiescence dépend de la présence de compétiteurs pour l'oxygène et apparaît plus vite dans les sols argileux que dans les sols sableux (Fig. 7). La survie des larves, ainsi prolongée, est contrecarrée par une élimination due à des antagonistes (Fig. 8). Dans des conditions aérobies, ces antagonistes agissent comme des saprophytes envers les larves épuisées. Dans des conditions anaérobies, l'élimination est plus rapide et probablement due à la présence d'ions toxiques S<sup>2-</sup>. Les embryons en diapause semblent résister à la toxicité de ces ions, sans doute grâce au chorion agissant comme barrière chimique.

Compétiteurs et antagonistes sont d'importants facteurs qui peuvent fausser les résultats de travaux expérimentaux dans les sols naturels et, pour cette raison, un sol artificiel est un meilleur modèle de sol abiotique qu'un sol naturel stérilisé, rapidement recontaminé (Fig. 9).

## SUMMARY

### *Survival of nematodes in dry and water saturated soils : Meloidogyne incognita eggs and larvae*

Both eggs and larvae of *Meloidogyne incognita* show a quiescence allowing them to survive in dry and water saturated soils.

In dry soils (pF 4,2) larvae can support desiccation during more than six weeks, due to an anhydrobiotic quiescence (Fig. 2). Longer was this quiescence supported, longer is the time required for reactivation (Fig. 3). Both eggs and larvae support better desiccation in a naturally infested soil than in artificially inoculated one (Fig. 4). This anhydrobiotic quiescence allows the larvae to support short desiccations frequently occurring in upper layers of soil where they have been attracted by young plants roots. The time required for reactivation after long quiescence avoid loss of food reserve during short rehumidification of the soil.

Hatching of egg masses is delayed and diminished proportionally to the time of their previous stay in a water saturated soil (Fig. 5). But the eggs are not killed (Fig. 6). After a short stay in this soil (one or two weeks), the development of many eggs is arrested at an early L<sub>1</sub> stage. A longer stay increases the proportion of embryonic diapause. These embryos in diapause are more slowly eliminated than the L<sub>1</sub> stages.

In water saturated soils larvae show a quiescence due to anoxia but the onset of this quiescence is dependant upon the presence of competitors for oxygen and appears more quickly in clay soils than in sandy soils (Fig. 7). The survival of larvae, thus promoted, is limited by an elimination due to antagonists (Fig. 8). In aerobic conditions, these antagonists act as saprophytic organisms against exhausted larvae. In anaerobic conditions, the elimination is quicker and probably due to presence of toxic ions  $S^{--}$ . Embryons in diapause seems to resist to the toxicity of these ions, probably by the chorion acting as a chemical barrier.

Competitors and antagonists are important factors that can shift the results of experimental works in natural soils and, for this reason, artificial soil is a better abiotic model than sterilised soil, quickly recontaminated (Fig. 9).

Les nématodes, comme tous les organismes vivants, présentent une activité biologique maximale pour une certaine valeur des paramètres physiques de leur milieu. En-deçà et au-delà, leur activité décroît pour s'arrêter à des valeurs extrêmes plus ou moins éloignées de ces optimums. Mais l'arrêt de leur activité n'implique pas pour autant qu'ils cessent de vivre et ce groupe zoologique compte un grand nombre d'espèces parmi les plus spectaculairement douées de cryptobiose, c'est-à-dire de vie ralentie et prolongée dans des conditions très défavorables (dessiccation, anoxie, froid, etc.). Ce phénomène est particulièrement fréquent chez les formes vivant aux dépens des champignons ou des parties aériennes des plantes (Evans & Perry, 1976). Les nématodes s'attaquant aux racines des plantes, dont le cycle se déroule entièrement dans le sol, vivent dans un milieu aux facteurs physiques mieux tamponnés mais non exempts de fluctuations. Parmi ces facteurs, l'humidité du sol est un des plus importants et des sujets à variations dans le temps, en fonction des précipitations, voire de la submersion, naturelles ou artificielles.

Pour que l'infestation du sol par les *Meloidogyne* persiste en l'absence d'hôte, comme on le constate couramment, les œufs et/ou les larves de ces nématodes doivent pouvoir survivre, entre autres, à des valeurs extrêmes de l'humidité du sol, soit par excès (submersion), soit par défaut (dessiccation). On sait que l'éclosion des œufs, suspendue au « point de flétrissement » (pF 4,2), peut reprendre après réhumidification (Linford, 1941).

Wallace (1968) ayant soumis des œufs à une anoxie *in vitro* constate que l'éclosion est retardée et diminuée et conclut que les embryons sont tués par le manque d'oxygène. De Guiran et Demeure (1978) observent le même retard et la

même diminution d'éclosion après une semaine dans des sols très humides mais constatent que les œufs restent vivants.

Van Gundy, Bird et Wallace (1967) ont d'autre part mis en évidence, en réaction au manque d'oxygène, une quiescence des larves qui préserve leurs réserves énergétiques et prolonge leur durée de vie. Dans des conditions optimales, ces réserves sont consommées, ce qui diminue d'autant l'espérance de vie des larves. Si ces dernières restent théoriquement infectantes jusqu'à l'épuisement complet, le pouvoir infectieux global d'une population de larves n'en diminue pas moins avec son vieillissement physiologique favorisé par ces conditions optimales.

On a donc pu mettre en évidence une quiescence des œufs dans les sols secs et un phénomène identique chez les larves dans des conditions anoxiques qui sont celles des sols saturés d'eau. De Guiran et Demeure (1978) ont d'autre part observé une meilleure conservation des larves dans un sol sableux sec (pF 4,2) que dans le même sol humide (pF 2,7). Cependant, on connaît imparfaitement les conditions de survie de ces stades lorsque l'excès ou le défaut d'humidité du sol se prolonge. Cette survie est évidemment d'une portée pratique importante et son degré, dans les conditions de culture, est controversé : si l'on observe, dans les plantations de tabac de l'Ouest de Madagascar, que l'inondation annuelle supprime l'infestation (de Guiran, 1970), Brown (1933) constate que des œufs survivent 22 mois dans un sol inondé.

Une série d'expériences a donc été mise en place pour étudier la survie des œufs et des larves dans les sols desséchés ou saturés d'eau en fonction des facteurs directement liés (rétention d'eau ou asphyxie) et compte tenu des autres organismes vivants qui peuvent modifier cette survie, soit par antagonisme, soit par compétition.

## Matériel et méthode

Une souche de *Meloidogyne incognita* multipliée à partir d'une seule femelle originaire d'Adiopodoumé (Côte d'Ivoire) est maintenue en élevage par inoculation périodique de suspension de larves de 2<sup>e</sup> stade ( $L_2$ ) âgées de 24 heures à des pieds de tomate cv. Montfavet H 63-5 (INRA) cultivés en serre à environ 28 °C. Pour les expériences portant sur les masses d'œufs, ces dernières sont prélevées à la main sur les racines de tomate inoculées depuis huit semaines. Lorsque les expériences portent sur les larves, celles-ci sont obtenues en mettant à éclore les masses d'œufs sur un tamis de nylon de façon qu'elles soient juste recouvertes d'une pellicule d'eau déminéralisée à 28 °C. Seules les larves écloses depuis 24 heures sont utilisées. Le sol est maintenu à un potentiel hydrique constant par la méthode osmotique exposée par de Guiran (1975 a) et détaillée par de Guiran et Demeure (1978), sauf en ce qui concerne les fortes humidités où l'entonnoir à verre fritté (Wallace, 1954) est utilisé. L'extraction des  $L_2$  du sol est faite par une méthode combinée d'élutriation, tamisage et centrifugation (Demeure & Netscher, 1973). Lorsque le volume de sol est faible (< 100 g), la double centrifugation est directement utilisée. Cette méthode, avec les sols utilisés, donne un rendement, remarquablement constant, d'environ 50% de larves extraites. Toutes les expériences sont effectuées à 28 °C, à humidité atmosphérique d'environ 70%, et comprennent quatre répétitions par traitement. Sauf indication contraire, le sol utilisé est le sol sableux décrit par de Guiran et Demeure (1978, tab. 2).

## Résultats

### SOLS SECS

#### *Masses d'œufs*

Des lots de cinq masses d'œufs sont introduits pendant une semaine dans du sol maintenu à pF 4,2 (point de flétrissement), 4,5 et 4,7, ce dernier correspondant au point où seule demeure dans le sol l'eau hygroscopique, adsorbée sur

les particules de sol. Après ce séjour dans le sol, les masses d'œufs sont récupérées et mises à éclore dans des conditions optimales (pellicule d'eau déminéralisée à 28 °C). Les larves écloses sont comptées tous les trois jours. Lorsque l'éclosion s'arrête, les masses d'œufs sont déposées pendant une nuit dans le New Blue R à 0,5% (Shepherd, 1962) afin de permettre le comptage des œufs, morts ou vivants, n'ayant pas éclos.

*Conservation du pouvoir d'éclosion.* Il est donné par la figure 1 qui exprime, en pourcentage d'un témoin ayant éclos depuis le début de l'expérience dans des conditions optimales, les éclosions cumulées des masses d'œufs après un séjour d'une semaine aux trois différents pF. On voit qu'à pF 4,2 (« point de flétrissement ») l'éclosion est rapide puisqu'en six jours elle est presque terminée; mais, tout en restant importante, elle est notablement diminuée. Cette tendance se confirme pour les pF supérieurs en même temps que l'éclosion se fait moins rapidement et, à pF 4,7, le nombre de larves écloses est très faible, mais non nul.

*Pourcentage de mortalité.* La partie droite de la figure 1 présente, vis-à-vis des pF et des humidités relatives correspondantes dans le sol, les taux de mortalité des masses d'œufs après une semaine dans le sol et éclosion totale. On voit qu'à pF 4,2 et 4,5 il reste des œufs vivants mais qu'à pF 4,7 on n'en retrouve qu'un pour cent tandis que le pourcentage d'œufs morts croît avec les pF pour atteindre presque la totalité des œufs soumis au pF 4,7.

### *Larves*

Des lots de 2 000  $L_2$  sont introduits chacun dans 100 g de sol maintenu à pF 4,2 par la méthode osmotique désignée plus haut. Après des temps variant de zéro (témoin) à huit semaines, des lots de quatre fois 100 g de sol sont traités par élutriation et centrifugation pour en extraire les  $L_2$ .

*Survie et quiescence des larves.* La figure 2 donne le nombre de  $L_2$  extraites après un séjour croissant dans un sol à pF 4,2, exprimé en pourcentage d'une extraction faite immédia-

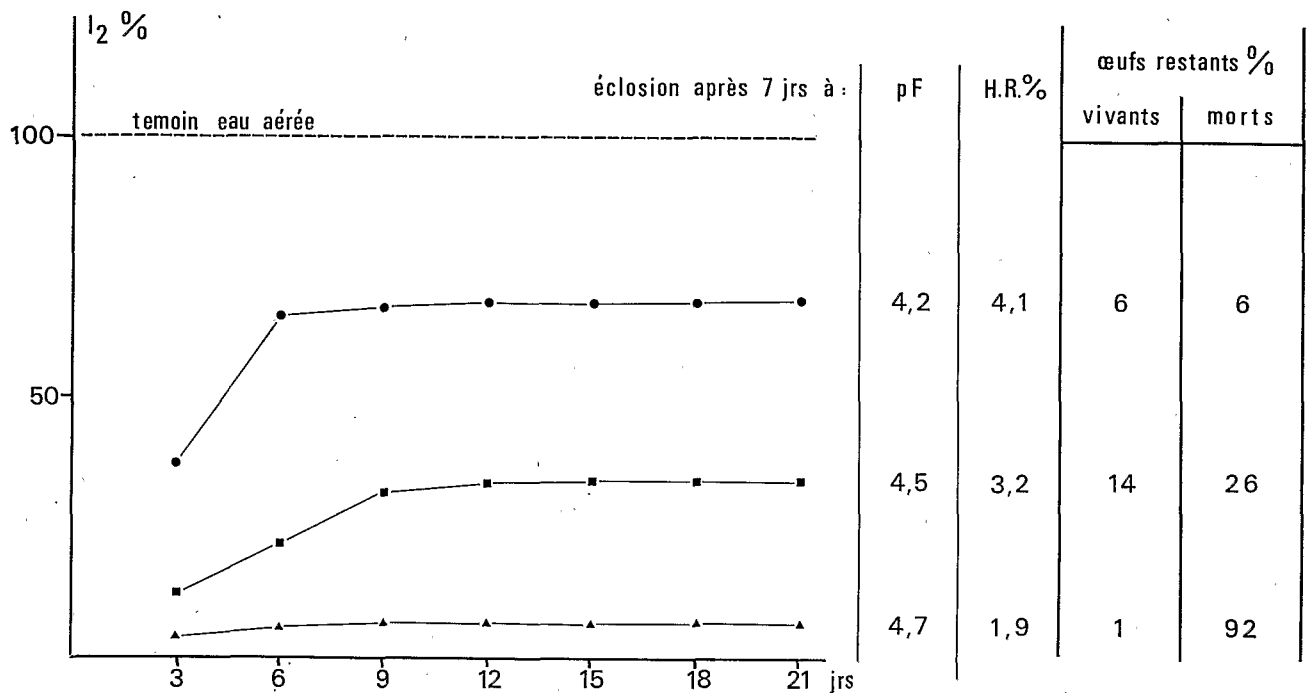


Fig. 1 : Éclosion cumulée de masses d'œufs de *M. incognita* ayant séjourné une semaine dans un sol à trois pF égaux ou supérieurs au point de flétrissement, et œufs restant dans les masses d'œufs. (H.R. = humidité relative du sol).

*Cumulative hatch of M. incognita egg masses having staid one week in a soil at three pF equal to, or above wilting point, and eggs remaining in egg masses.*

tement après l'inoculation. On peut constater que le nombre de larves extraites ne diminue pas pendant six semaines et que ce n'est qu'au bout de huit semaines que ce nombre est sensiblement plus faible. Par contre, si au bout d'une et deux semaines les larves sont réactivées par l'extraction (dans le sol à pF 4,2 les forces de tension superficielles rendent les nématodes inactifs ; cf. Wallace, 1958), après des temps de séjour plus longs au point de flétrissement, cette extraction ne réactive que peu de larves, voire aucune après six et huit semaines.

*Réactivation des larves.* La figure 3 montre le temps qui est nécessaire pour réactiver les larves. On voit que ce temps augmente avec la durée de séjour dans un sol sec.

#### *Sol naturellement infesté*

Dans les deux cas précédents, le sol a été artificiellement inoculé avec des masses d'œufs

ou des larves. Dans cette expérience, du sol a été prélevé dans un champ après une culture de tabac fortement infestée par *M. incognita*, homogénéisé et séparé en portions de 2 dm<sup>3</sup>, puis laissé en libre dessiccation de façon qu'il ne contienne plus que l'eau hygroscopique (pF 4,7). Toutes les deux semaines, une portion de 2 dm<sup>3</sup> a été divisée en huit échantillons de 250 cm<sup>3</sup>. Quatre ont été passés à l'éluatriateur, sans centrifugation mais avec passage sur kleenex, ce qui permet d'extraire les larves actives et de mesurer l'*Infestation Actuelle* (I.A.). Les quatre autres échantillons ont été laissés deux semaines à l'aspersion, ce qui active les larves quiescentes et fait éclore les œufs ayant résisté à la sécheresse, et permet de mesurer l'*Infestation Potentielle* (I.P.) (de Guiran, 1966).

La figure 4 montre qu'à l'origine le sol présentait une infestation actuelle de 1 000 L<sub>2</sub> par dm<sup>3</sup> et une infestation potentielle dix fois plus élevée. Ce sol étant conservé en libre dessiccation, l'I.A. décroît régulièrement pour s'annuler après douze semaines ; l'I.P. ne s'annule qu'après

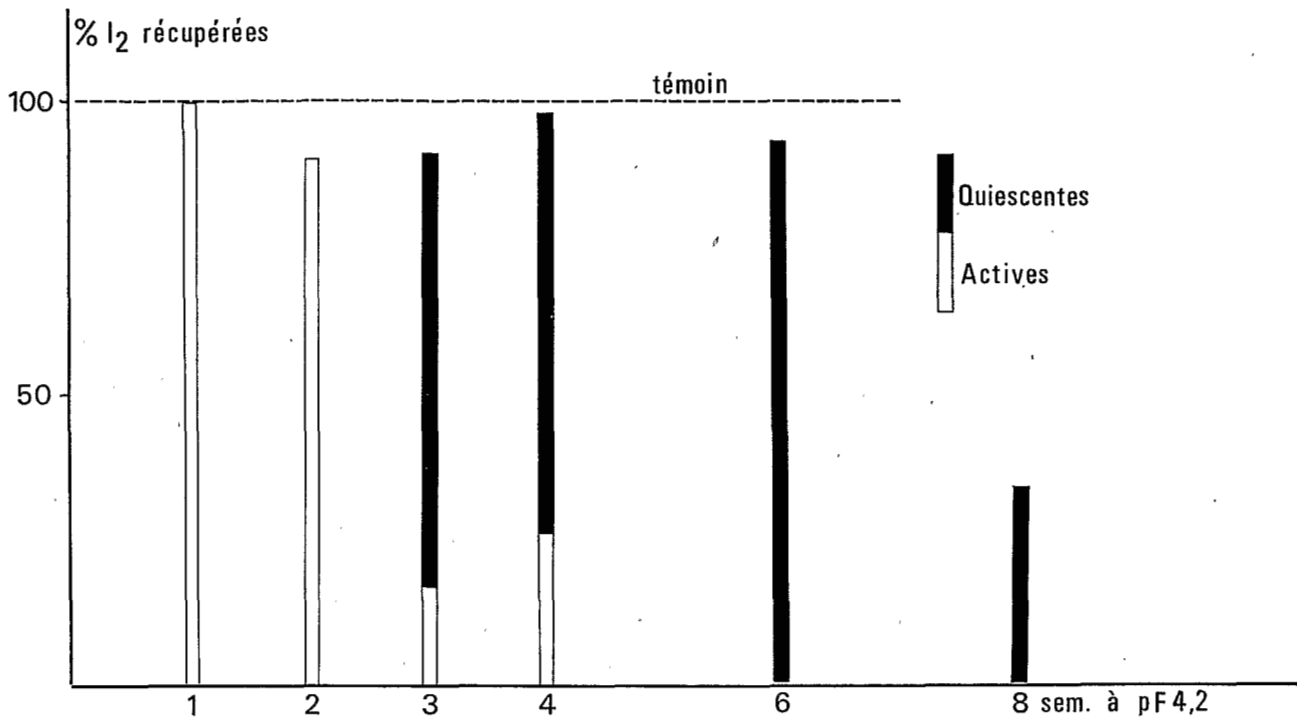


Fig. 2 : Survie et quiescence des larves de *M. incognita* dans le sol à pF 4,2 (point de flétrissement).  
*Survival and quiescence of larvae of M. incognita in soil at pF 4,2 (wilting point).*

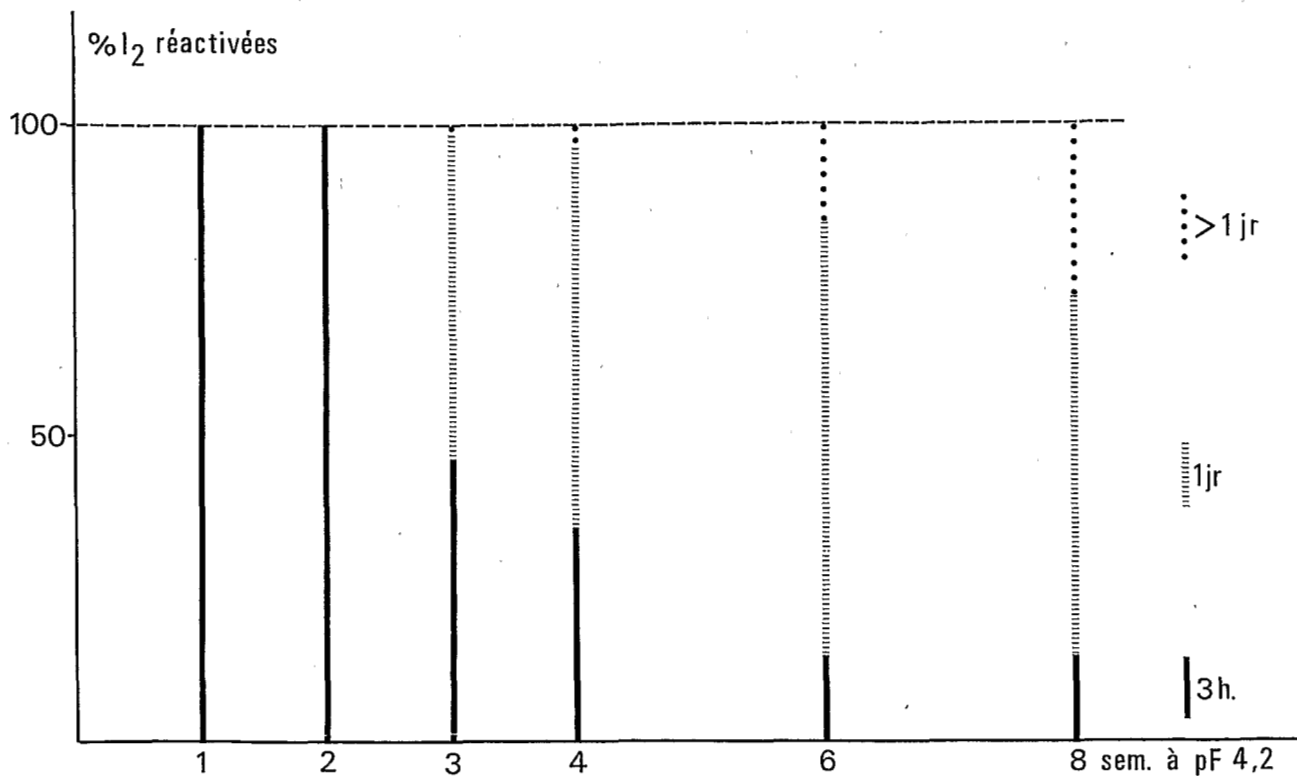


Fig. 3 : Temps de réactivation des larves de *M. incognita* en fonction du temps de séjour préalable dans le sol à pF 4,2 (point de flétrissement).  
*Reactivation time of larvae of M. incognita related to the time of previous stay in a soil at pF 4.2 (wilting point).*

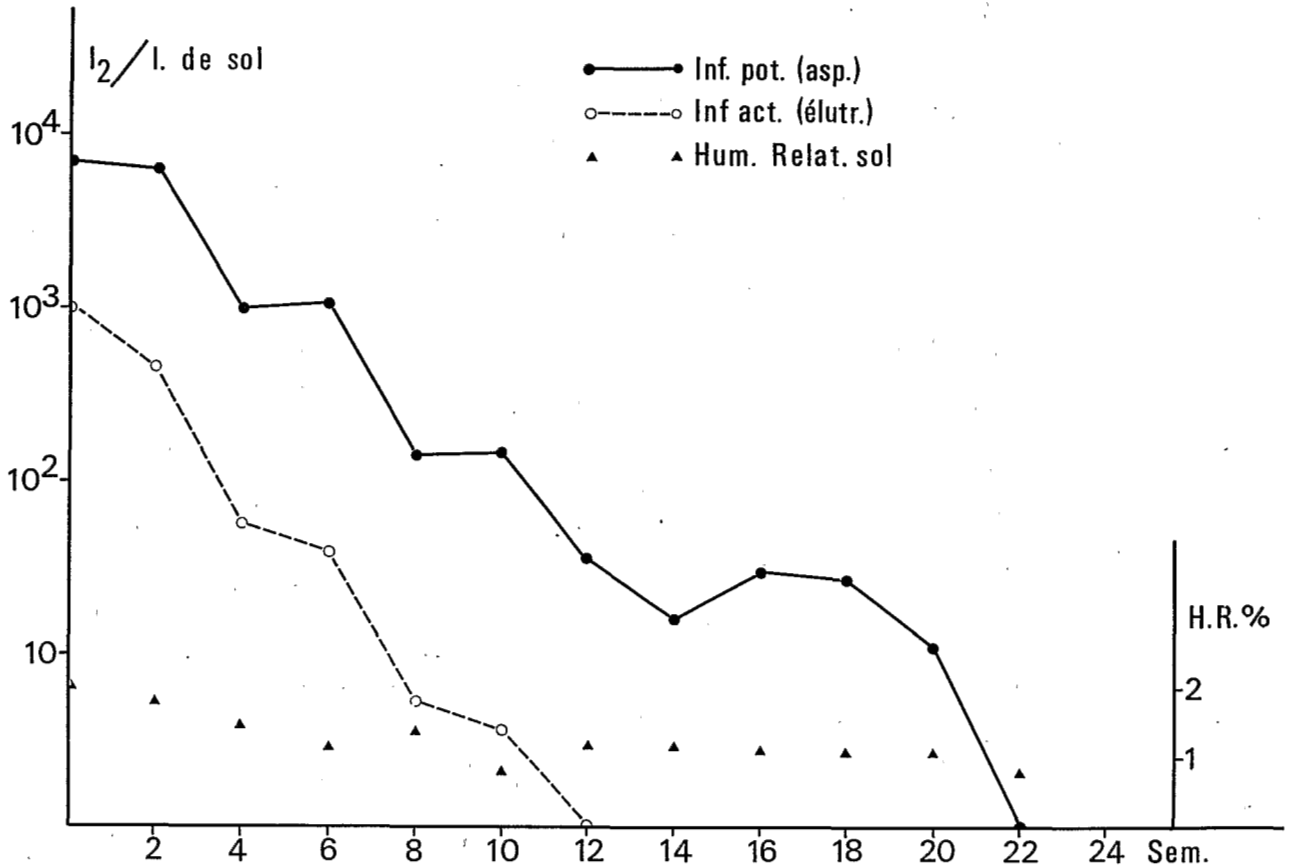


Fig. 4 : Décroissance de l'Infestation Potentielle (I.P.) et de l'Infestation Actuelle (I.A.) par *M. incognita* d'un sol conservé « sec à l'air ».

*Decrease of Potential Infestation (I.P.) and Actual Infestation (I.P.) by M. incognita of an air dried soil.*

22 semaines. La différence entre les ordonnées des deux courbes en une même abscisse représente le nombre de  $L_2$  en quiescence profonde, soit libres, soit non encore écloses.

#### SOLS HUMIDES

##### Masses d'œufs

Les masses d'œufs introduites pendant une semaine dans un sol très humide (0 à 160 cm de succion) présentent ensuite une éclosion diminuée et différée mais contiennent encore des œufs vivants après la fin de l'éclosion. On retrouve ces œufs vivants, probablement en diapause, dans les masses d'œufs n'ayant pas subi ces conditions asphyxiques (de Guiran &

Demeure, 1978). L'expérience suivante a consisté à prolonger le séjour en sol saturé d'eau et examiner l'effet produit sur le pouvoir d'éclosion et le nombre d'œufs restant en diapause dans les masses d'œufs. Ces dernières sont introduites par groupe de cinq sur des microtamis de nylon dans du sol saturé d'eau contenu dans des piluliers. Le sol est recouvert de 1 cm d'eau pour empêcher la diffusion de l'oxygène et les piluliers sont bouchés. Après des temps croissants, des lots de quatre piluliers sont prélevés au hasard et les cinq masses d'œufs contenues dans chacun d'eux sont récupérées et mises à éclore ensemble en conditions optimales. Lorsque l'éclosion s'arrête, les masses d'œufs sont mises pendant une nuit dans le New Blue R pour comptage des œufs, morts ou vivants, n'ayant pas éclos.

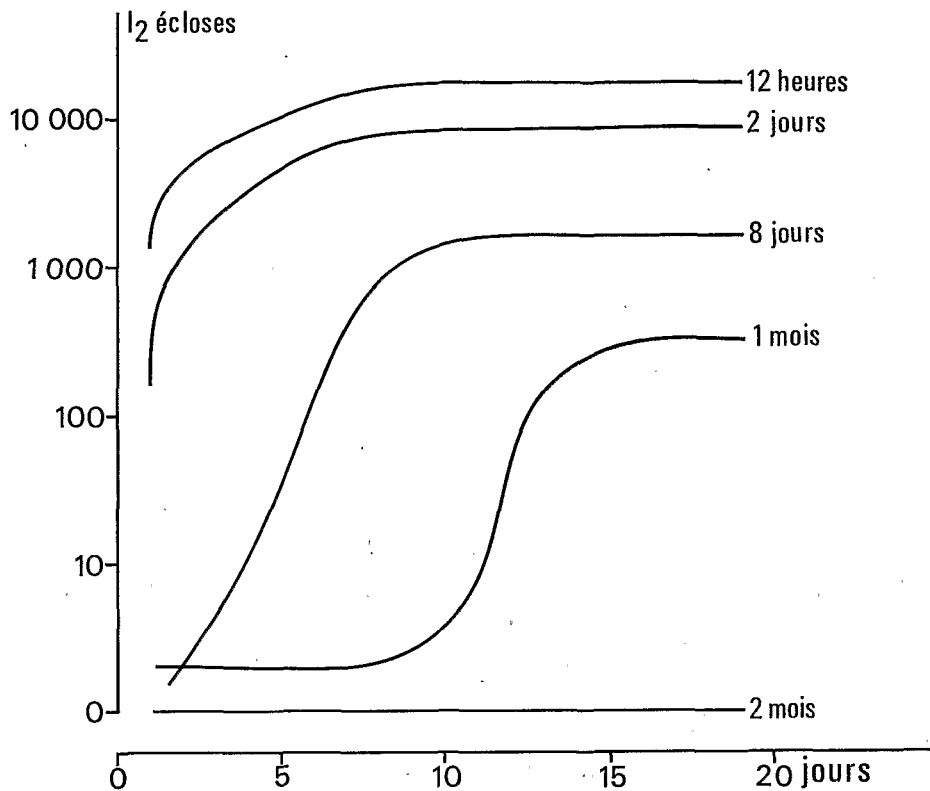


Fig. 5 : Éclosions quotidiennes cumulées de 20 masses d'œufs de *M. incognita* ayant séjourné de 12 heures à 2 mois dans un sol saturé d'eau.

*Cumulative daily hatch of 20 egg masses of M. incognita having staid from 12 h to 2 months in a water saturated soil.*

**Conservation du pouvoir d'éclosion.** La figure 5 représente l'éclosion cumulée de vingt masses d'œufs (quatre lots de cinq) ayant préalablement séjourné de douze heures à deux mois dans du sol saturé d'eau. On peut voir que la diminution et le retard de l'éclosion constatés par de Guiran et Demeure (1978) sont d'autant plus accentués que le séjour dans le sol saturé s'est prolongé. Il faut cependant que ce séjour atteigne deux mois pour que l'éclosion soit nulle.

**Diapause des œufs.** La figure 6 montre le nombre d'embryons et de larves non écloses, vivants, retrouvés dans les masses d'œufs après arrêt de l'éclosion et en fonction du temps de séjour préalable dans le sol saturé d'eau. On voit que le nombre total d'œufs en diapause croît jusqu'à quatre semaines et décroît ensuite.

Jusqu'à deux semaines en sol saturé, cette augmentation est due à la présence, en fin d'éclosion, de larves bloquées au stade L<sub>1</sub>. A partir de quatre semaines, le nombre d'embryons est quadruplé, mais on rencontre toujours le même nombre d'œufs bloqués au stade L<sub>1</sub>. Au-delà de quatre semaines on ne rencontre plus, après éclosion totale, que des embryons peu différenciés, dont le nombre diminue progressivement.

#### Larves

**Rôle des compétiteurs dans l'entrée en quiescence anoxique.** Une quiescence des larves a été mise en évidence *in vitro* par Van Gundy, Bird et Wallace (1967) en réaction au manque d'oxygène. De

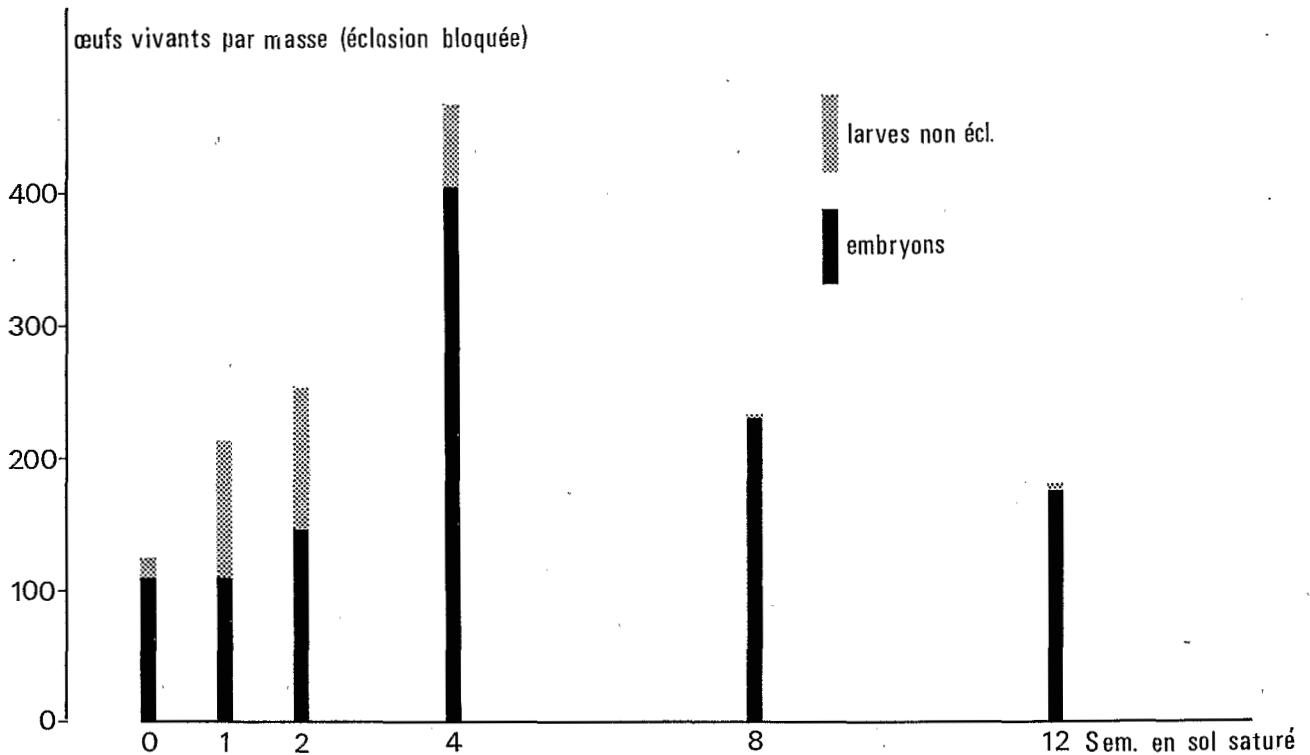


Fig. 6 : Œufs vivants restant dans les masses d'œufs de *M. incognita* après des séjours de 0 à 12 semaines en sol saturé d'eau et éclosion totale dans une pellicule d'eau déminéralisée.

*Living eggs remaining in egg masses of M. incognita after 0 to 12 weeks previous stay in water saturated soil and total hatch in a film of deionised water.*

Guiran et Demeure (1978) ont observé de leur côté la même quiescence dans du sol saturé d'eau. Mais les nématodes ne sont pas les seuls consommateurs d'oxygène dans le sol et une compétition joue certainement à cet égard, qui doit influencer sur l'établissement plus ou moins rapide de cette quiescence. Pour mettre cette influence en évidence et la relier à la nature du sol, l'expérience suivante a été réalisée : 2000 L<sub>2</sub> sont introduites dans des entonnoirs à verre fritté remplis, selon les cas, de sol sableux, argileux ou artificiel. Les deux premiers sont décrits par de Guiran et Demeure (1978) ; le sol artificiel contient, en poids : 45 % de sable < 0,5 mm, 45 % de sable de 0,5 à 1 mm et 10 % de kaolin lavé. Le sable est préalablement traité à l'acide nitrique et lavé à l'eau courante. Après l'introduction des larves, une succion variant de 0 à 160 cm d'eau est appliquée à la base de ces entonnoirs. Au bout

d'une semaine, les larves sont extraites du sol et le pourcentage de larves quiescentes est compté par rapport au total. La figure 7 montre les résultats obtenus pour 0 (saturation), 20 et 160 cm de succion, et pour les trois types de sol. L'effet de compétition est remarquablement mis en évidence à saturation où, dans les deux sols naturels, les larves montrent une quiescence très importante, alors qu'elle est très faible dans le sol artificiel. L'entrée en quiescence dépend donc de la présence de compétiteurs. Le rôle de la texture (granulométrie) du sol est révélé par le fait que la quiescence est déjà levée à 20 cm de succion dans un sol sableux alors qu'il faut atteindre 160 cm pour qu'elle soit sensiblement diminuée dans un sol argileux, beaucoup plus asphyxiant. On voit donc, par cette compétition pour l'oxygène, un facteur biotique qui limite l'activité des larves dans les sols humides.



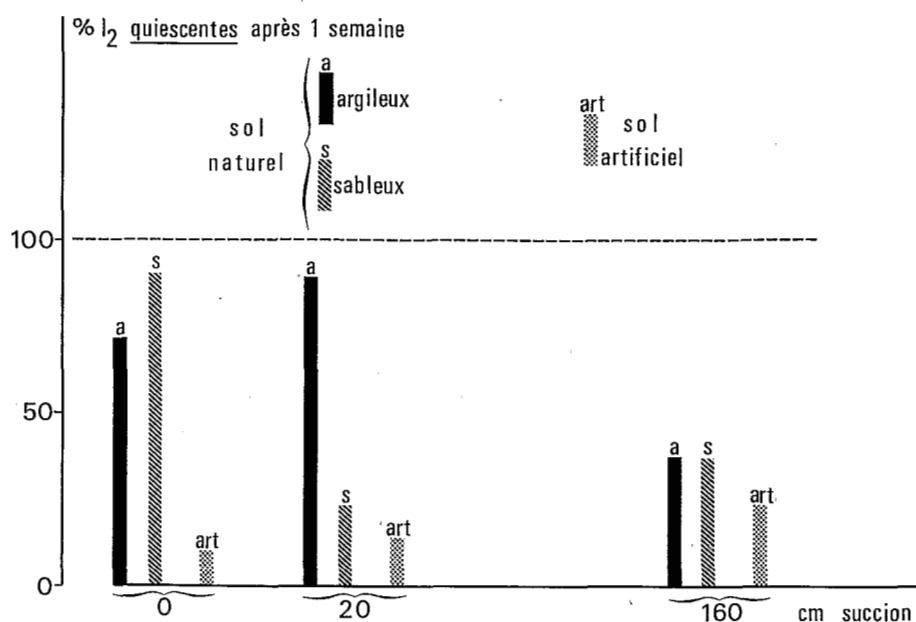


Fig. 7 : Pourcentage de quiescence des larves de *M. incognita* retirées de sols naturels (sableux et argileux) et artificiel soumis à différentes succions.

Percent quiescent larvae of *M. incognita* among those extracted from natural (clay and sandy) soils and artificial soil submitted to different succions.

**Elimination des larves.** De Guiran et Demeure (1978) ont en outre supposé que, dans certains sols, tel le sol sableux utilisé ici, des organismes antagonistes favorisés par l'humidité pouvaient éliminer des larves et diminuer l'infestation du sol. Pour vérifier l'action éventuelle de ces antagonistes et les dissocier de l'effet du manque d'oxygène toujours associé *in situ* à la saturation en eau du sol, l'expérience suivante a été réalisée : des lots de 2 000 L<sub>2</sub> ont été introduits dans des portions de sol naturel (sableux) ou de sol artificiel, saturés d'eau. Dans la moitié des cas, le sol était contenu dans des piluliers et recouvert de 1 cm d'eau ; dans l'autre moitié, le sol était réparti au fond de boîtes de Petri de 9 cm de diamètre, en une couche la plus fine possible, toujours saturée d'eau mais sans excès de façon que l'oxygène puisse diffuser dans tout le sol. L'ensemble des récipients se répartit donc en quatre lots de sols saturés d'eau :

- 3 — sol artificiel
  - 4 — sol naturel
- } non aéré (piluliers)

Après des temps variant de zéro à huit semaines, par intervalle d'une semaine, les larves ont été extraites du sol. La figure 8 donne les résultats obtenus. Dans les trois premiers cas, les larves restent actives et épuisent leurs réserves énergétiques en trois semaines. Seul le sol naturel non aéré conserve les larves quiescentes avec un intestin rempli de granules lipidiques, ceci, comme dans l'expérience précédente, en raison de la présence de compétiteurs pour l'oxygène. Dans le sol artificiel, aéré ou non, les larves demeurent longtemps présentes même après épuisement. Dans le sol naturel aéré, les larves sont rapidement éliminées après épuisement par l'action probable d'organismes saprophytes. On constate enfin que dans le sol naturel non aéré un facteur biotique élimine très tôt une partie des larves puisque leur nombre est sensiblement diminué dès la deuxième semaine.

La survie des larves favorisée par les compétiteurs en oxygène qui accélèrent l'entrée en quiescence est d'un autre côté diminuée par la

- 1 — sol artificiel
  - 2 — sol naturel
- } aéré (boîtes de Petri)

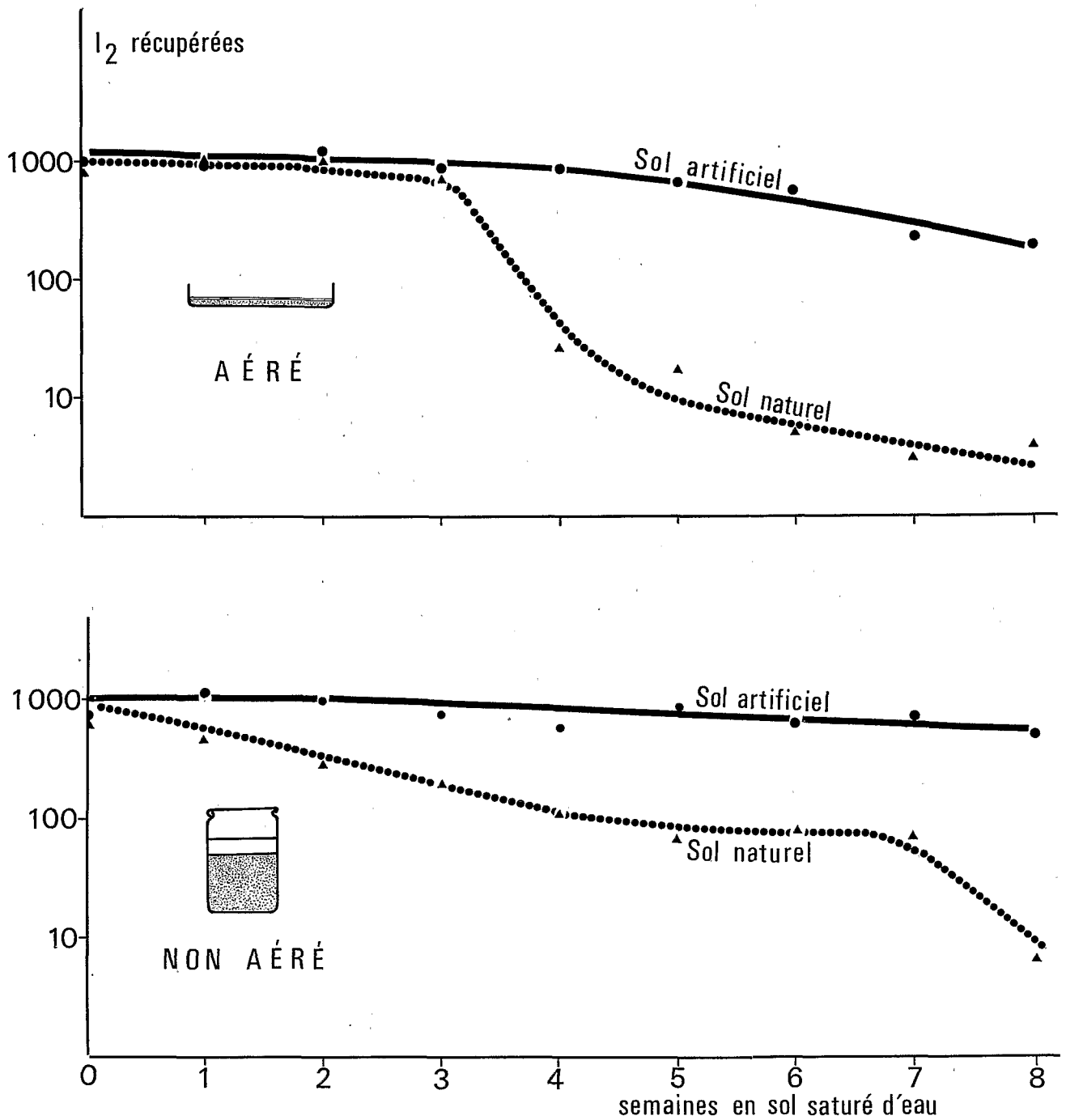


Fig. 8 : Larves de *M. incognita* retirées de sols naturel et artificiel saturés d'eau avec et sans aération.  
*Larvae of M. incognita extracted from natural and artificial water saturated soils, with and without aeration.*

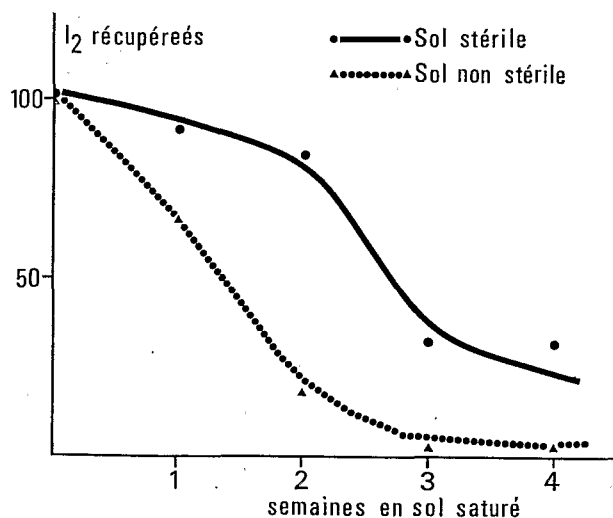


Fig. 9 : Décroissance d'une population de larves de *M. incognita* dans du sol naturel saturé d'eau non aéré, stérile et non stérile.

*Decrease of a M. incognita larvae population in a natural water saturated soil, non aerated, sterile or not sterile.*

présence d'organismes antagonistes agissant en milieu anaérobie. La même expérience a été répétée en remplaçant le sol artificiel par du sol naturel stérilisé pendant 1 heure à 100 °C à l'autoclave et ceci trois fois à 24 heures d'intervalle. Les larves ont été stérilisées sur filtres de 3 µm de porosité par du NaClO à 0,5% et rincées à l'eau stérile. Les résultats obtenus sont identiques, confirmant le rôle des facteurs biotiques dans la survie des larves. Ces résultats sont donnés à la figure 9 en ce qui concerne le sol saturé non aéré, et exprimés en pourcentage du témoin (zéro semaine). On constate encore mieux ici la rapide diminution de population dans le sol saturé non stérile. La difficulté d'établir et de conserver un sol naturel stérile est illustrée par la courbe du nombre de larves en sol « stérile » que l'on voit très diminué à partir de la 3<sup>e</sup> semaine. Ce moment a correspondu à une recontamination explosive en microorganismes, traduite dans le même sol aéré par une apparition en grand nombre de Rhabditidae bactériophages.

## Discussion

Les deux stades sous lesquels les *Meloidogyne* sont présents dans le sol, œufs et larves, présentent donc des formes de quiescence qui leur permettent de survivre aussi bien dans les sols secs que dans les sols saturés d'eau. Toutefois, les masses d'œufs introduites dans du sol brusquement desséché au-delà du point de flétrissement ( $pF > 4,2$ ) perdent rapidement leur pouvoir d'éclosion et voient s'accroître leur taux de mortalité (fig. 1). Par contre, leur développement naturel dans le sol et le dessèchement progressif de ce dernier leur assurent une conservation beaucoup plus longue (fig. 4). Ceci est à mettre en parallèle avec les résultats de Simons (1973) et de Demeure (1975) sur la survie des nématodes phytophages en anhydrobiose. De même, dans des conditions expérimentales, les larves sont capables de survivre pendant plus de six semaines dans un sol au point de flétrissement et Demeure et de Guiran (1978) ont montré que les larves de *M. javanica* ayant résisté huit semaines à de telles conditions étaient encore capables de pénétrer dans les racines d'une plante hôte et de s'y reproduire. L'aspect de ces larves au sortir du sol sec est typique : au lieu d'être allongées et raides comme celles issues d'un sol saturé d'eau (fig. 10 b), elles présentent un habitus en zigzag (fig. 10 a) qui leur est donné par la nécessité d'épouser le profil des microcavités en raison de la réduction du film d'eau qui tapisse ces dernières. Comme les masses d'œufs, les larves résistent beaucoup plus longtemps à une très forte dessiccation du sol ( $pF$  4,7) lorsque la population s'est naturellement développée dans le sol et que celui-ci s'est desséché progressivement (fig. 4). Cette capacité d'anhydrobiose des larves de *Meloidogyne*, méconnue jusqu'à présent, est très importante sur le plan étiologique. Elle permet à ces larves, attirées près de la surface du sol par les racines des jeunes plantules (Prot, 1977), de supporter des dessiccations de courte durée, fréquentes dans ces horizons superficiels, et de reprendre leur migration après le retour de conditions plus favorables. D'autre part, la réactivation plus lente des larves ayant subi une longue quiescence est un facteur de survie de l'espèce en ce qu'elle évite à ces larves d'épuiser leurs réserves éner-

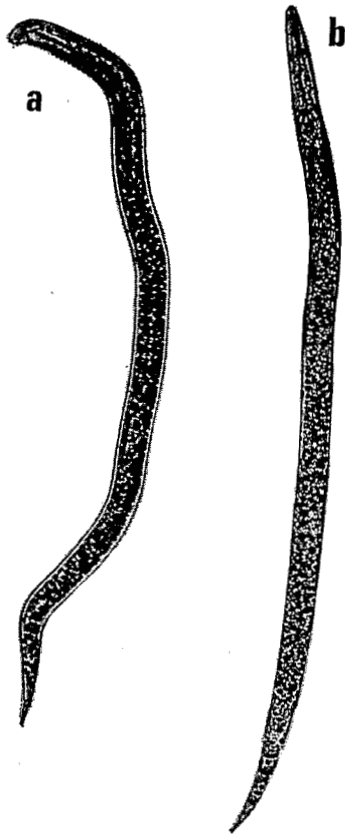


Fig. 10 : Allure des larves quiescentes de *M. incognita* ayant séjourné quatre semaines : a : dans un sol au point de flétrissement (pF 4,2) ; b : dans un sol saturé d'eau. Noter, en « a », la région céphalique rétractée et en « a » et « b » les réserves lipidiques intégralement conservées.

Aspect of quiescent larvae of *M. incognita* having staid four weeks : a : in a soil at wilting point (pF 4.2) ; b : in a water saturated soil. Note, in "a", the retracted head and, in "a" and "b", the fully preserved food reserves.

gétiques lors de réhumidifications passagères qui se produisent fréquemment, par exemple en début de saison des pluies sous les tropiques.

Comme l'anhydrobiose, la résistance à l'anoxie qui caractérise les sols gorgés d'eau se rencontre aussi bien chez les œufs que chez les larves. Toutefois, elle présente, chez les masses d'œufs, un aspect particulier : celles-ci, qui comprennent toujours une partie de leurs œufs en diapause embryonnaire (de Guiran, 1975), voient ce nombre augmenté par un séjour dans des condi-

tions anoxiques (fig. 6) : un séjour court (une ou deux semaines) se traduit par un blocage du développement ultérieur de certains œufs au stade  $L_1$  précoce. Tout se passe comme si ces œufs ne pouvaient franchir une barrière représentée par l'achèvement de la première mue. Si l'anoxie se prolonge on trouve en outre un grand nombre d'œufs qui restent bloqués à un stade embryonnaire peu différencié. Au-delà de quatre semaines on ne trouve plus de stade  $L_1$  en fin d'éclosion : tous les œufs qui n'éclosent pas restent bloqués à un stade embryonnaire et ne sont que lentement éliminés avec la prolongation du séjour en sol saturé d'eau.

La saturation en eau du sol et l'anoxie plus ou moins prononcée qui en découle ne tuent donc pas les embryons comme l'avait cru Wallace (1968) mais prolongent au contraire leur existence en déclenchant une diapause.

Les piluliers contenant le sol saturé d'eau où étaient introduites les masses d'œufs montraient les signes d'une intense sulfato-réduction : coloration noire du sol et des masses d'œufs elles-mêmes. Cette sulfato-réduction est toxique pour les formes mobiles des nématodes migrateurs (Fortuner & Jacq. 1976) mais les œufs peu différenciés de *Meloidogyne* n'y semblent pas sensibles, ce qu'avait soupçonné Fortuner (1976) pour les œufs des formes migratrices. La sulfato-réduction atteint la matrix elle-même. Il faut donc penser que le chorion de l'œuf constitue une barrière efficace contre les ions toxiques  $S^{--}$ .

Par contre, les larves semblent beaucoup plus sensibles aux antagonistes dans un sol saturé d'eau. En milieu aérobie, il s'agit probablement d'organismes saprophages qui lysent les larves et leurs enveloppes quand elles ont épuisé leurs réserves énergétiques. En milieu anaérobie, la sulfato-réduction est très certainement en cause. Les résultats obtenus ont montré la difficulté d'expérimenter avec un sol stérilisé dont la recontamination explosive en microorganismes est bien connue des microbiologistes. Un sol artificiel constitue donc un meilleur modèle de sol abiotique qu'un sol stérilisé, cette stérilisation étant difficilement complète et encore plus difficilement maintenue. Par contre les mêmes résultats soulignent l'effet de ces facteurs biotiques dans les sols naturels, facteurs antagonistes, comme on vient de le voir, ou compétiteurs pour l'oxygène qui hâtent l'entrée en quiescence dès

larves dès que la diffusion de cet oxygène vient à diminuer. Antagonismes et compétiteurs sont donc des facteurs qui peuvent fausser fortement les résultats expérimentaux et dont on doit tenir soigneusement compte dans les expériences de survie des nématodes, comme des autres organismes vivant dans le sol.

#### REMERCIEMENTS

L'auteur exprime ses remerciements à K. Stawiecki et à L. Bonnel pour l'aide apportée au cours de cette étude, ainsi qu'à M. Luc pour la révision du manuscrit.

#### RÉFÉRENCES

- BROWN, L. N. (1933). Flooding to control root knot nematodes. *J. agric. Res.*, 47 : 883-888.
- DEMEURE, Y. (1975). Résistance à la sécheresse, en zone sahélienne, du nématode phytoparasite *Scutellonema cavenessi* Sher, 1963. *Cah. ORSTOM, Sér. Biol.*, 10 : 282-292.
- DEMEURE, Y. & NETSCHER, C. (1973). Méthode d'estimation des populations de *Meloidogyne* dans le sol. *Cah. ORSTOM, Sér. Biol.*, n° 21 : 85-90.
- DEMEURE, Y. & GUIRAN, G. de (1978). Infectivity of *Meloidogyne javanica* larvae from soil at pF 4,2. *Comm. OTAN'S 10th ann. Meet. Puerto Rico, June 1978*.
- DROPKIN, V. H., MARTIN, G. C. & JOHNSON, R. W. (1958). Effect of osmotic concentration on hatching of some plant parasitic nematodes. *Nematologica*, 3 : 115-126.
- EVANS, A. A. F. & PERRY, R. N. (1976). Survival strategies in nematodes. In : Croll, N. A. (Edit.) *The organization of nematodes*. London, Academic Press : 383-424.
- FORTUNER, R. (1976). *Les nématodes parasites des racines associés au riz au Sénégal*. Thèse Ingén.-Doct. Univ. Lyon. N° 249, Paris, ORSTOM, 53 p.
- FORTUNER, R. & JACQ, V. A. (1976). *In vitro* study of toxicity of soluble sulphides to three nematodes parasitic on rice in Senegal. *Nematologica*, 22 : 343-351.
- GUIRAN, G. de (1966). Infestation actuelle et infestation potentielle du sol par les nématodes phytoparasites du genre *Meloidogyne*. *C.r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 268 : 1754-1756.
- GUIRAN, G. de (1970). Le problème *Meloidogyne* sur tabac à Madagascar. *Cah. ORSTOM, Sér. Biol.*, 11 : 187-208.
- GUIRAN, G. de (1975 a). A simple method for maintaining constant soil moisture stresses during experiment on nematodes. *Nematologica*, 21 : 261-262.
- GUIRAN, G. de (1975 b). Diapause partielle au sein des pontes de *Meloidogyne incognita*. *Annls. Phytopathol.*, 7 : 340-341.
- GUIRAN, G. de & DEMEURE, Y. (1978). Influence du potentiel hydrique des sols sur les masses d'œufs de *Meloidogyne incognita* (Nematoda : Meloidogynidae). *Revue Nématol.*, 1 : 119-134.
- LINFORD, M. B. (1941). Some soil moisture relationships of the root-knot nematode. *Phytopathology*, 31 : 862.
- PROT, J.-C. (1977). Amplitude et cinétique des migrations du nématode *Meloidogyne javanica* sous l'influence d'un plant de tomate. *Cah. ORSTOM, Sér. Biol.*, 11 (1976) : 157-166.
- SHEPHERD, A. M. (1962). New Blue R, a stain that differentiates between living and dead nematodes. *Nematologica*, 8 : 201-208.
- SIMONS, W. R. (1973). Nematode survival in relation to soil moisture. *Meded. Landbouwhogesch. Wageningen*, 73 : 1-85.
- VAN GUNDY, S. D., BIRD, A. F. & WALLACE, H. R. (1967). Aging and starvation in larvae of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchulus semipenetrans*. *Phytopathology*, 57 : 559-571.
- WALLACE, H. R. (1954). Hydrostatic pressure-deficiency and the emergence of larvae from cysts of the beet eelworm. *Nature, Lond.*, 173 : 502-503.
- WALLACE, H. R. (1958). Movement of eelworms. II. A comparative study of the movement in soil of *Heterodera schachtii* Schmidt and *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. *Ann. appl. Biol.*, 46 : 86-94.
- WALLACE, H. R. (1966). The influence of moisture stress on the development, hatch and survival of eggs of *Meloidogyne javanica*. *Nematologica*, 12 : 57-69.
- WALLACE, H. R. (1968). The influence of aeration on survival and hatch of *Meloidogyne javanica*. *Nematologica*, 14 : 223-230.

Accepté pour publication le 7 septembre 1978.