

T H È S E

présentée

DEVANT L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD (LYON I)

pour obtenir

LE DIPLOME DE DOCTEUR DE SPÉCIALITÉ (3e Cycle)
DE SCIENCES BIOLOGIQUES (BIOLOGIE APPLIQUÉE)

par

Yves DEMEURE

LES CAUSES DE LA SURVIE DE CERTAINS NÉMATODES PHYTOPARASITES
(SCUTELLONEMA CAVENESSI ET MELOIDOGYNE SPP.)
PENDANT LA SAISON SÈCHE DANS LE SAHEL SÉNÉGALAIS

Soutenu le 27 octobre 1978 devant la Commission d'Examen :

MM. J. BRUN

Président

R. GINET

M. LUC

Examineurs

M. RITTER

A tous ceux qui m'ont conseillé durant l'élaboration de la présente thèse, j'exprime ma profonde reconnaissance.

Je prie Monsieur le Professeur CAMUS, Directeur Général de l' O.R.S.T.O.M., qui a largement favorisé mes travaux de vouloir bien agréer l'hommage de ma gratitude.

J'exprime ma reconnaissance la plus vive à Monsieur LUC, Nématologiste d'une infinie compétence et à Messieurs de GUIRAN, MERNY, NETSCHER, TAYLOR, pour m'avoir éclairé de leurs enseignements avertis et profondément imprégné d'une science qui a pour nom : la Nématologie.

Je dois à Monsieur le Professeur NIGON, qu'il en soit remercié, mon engagement scientifique en direction de l' O.R.S.T.O.M.

Je remercie les membres du laboratoire de Nématologie de DAKAR, du concours qu'ils m'ont apporté dans la réalisation de mes travaux.

J'adresse à Monsieur le Docteur S.D. VAN GUNDY et à Madame le Docteur D.W. FRECKMAN mes vifs remerciements pour le chaleureux accueil qu'ils m'ont réservé dans leur laboratoire de RIVERSIDE aux ETATS-UNIS et pour l'aide qu'ils ont ajoutée à leurs si précieux conseils.

Mes remerciements vont à Monsieur le Professeur BRUN, Président du Jury, qui n'a cessé de s'intéresser à mes travaux et m'a conseillé judicieusement pour leur présentation sous une forme claire et ordonnée.

Que soient également remerciés Monsieur le Professeur GINET et Monsieur RITTER, Directeur du Laboratoire de Nématologie de l'I.N.R.A. d'ANTIBES, pour m'avoir fait l'honneur d'être aujourd'hui membres du Jury de soutenance.

Enfin, je ne saurais oublier d'exprimer ma reconnaissance à Madame BOCH pour le soin méticuleux qu'elle a apporté à réaliser les illustrations de ce mémoire.

S O M M A I R E

LES CAUSES DE LA SURVIE DE CERTAINS NEMATODES PHYTOPARASITES
(*SCUTELLONEMA CAVENESSI* et *MELOIDOGYNE* spp.) PENDANT LA SAISON
SECHE, DANS LE SAHEL SENEGALAIS.

	Pages
<u>INTRODUCTION GENERALE</u>	1
1 - <u>EFFET D'UNE SAISON SECHE SUR DES POPULATIONS DE</u> <u><i>SCUTELLONEMA CAVENESSI</i> et <i>MELOIDOGYNE</i> spp.</u>	5
1-1 INTRODUCTION	5
1-2 MATERIEL ET METHODES	5
a- Lieux de prélèvement et précédents culturaux	5
b- Le sol	9
c- Les conditions climatiques et les tempé- ratures minimales et maximales enregistrées entre 10h et 16h en saison humide et sai- son sèche sur la parcelle ISRA	9
d- Echantillonnage	11
e- Extraction des nématodes du sol	12
f- Test biologique	13
g- Teneur en eau du sol	13
1-3 RESULTATS	13
a- Evolution des populations de <i>S.cavenessi</i> et de <i>Meloidogyne</i> en fonction du temps de sécheresse, aux niveaux 0-20 cm et 20-40 cm du sol	13
α niveau 0-20 cm	13
β niveau 20 - 40 cm	17
b- Evolution de la teneur en eau du sol aux niveaux 0-20cm et 20-40cm pour chacu- ne des deux parcelles d'observation, au cours de la saison sèche.	18
1-4 DISCUSSION	21

2 - <u>ESSAIS DE MISE EN EVIDENCE DE L'HABITUS DES FORMES DE RESISTANCE A LA DESSICCATION CHEZ SCUTELLONEMA CAVENESSI ET MELOIDOGYNE spp.</u>	25
2-1 INTRODUCTION	25
2-2 MATERIEL ET METHODES	27
a- Choix des échantillons de sol	27
b- Adaptation de la technique de Goodey 1937 à la coloration des stades à l'état anhydrobiotique dans les échantillons de sol prélevés en saison sèche	27
c- Utilisation des solutions salines	27
2-3 RESULTATS	28
a- Observation de l'habitus des individus libres et de l'aspect des masses d'oeufs après fixation des échantillons de sol sec au lactophenol et coloration à la fuchsine acide.	28
b- Observation de l'habitus des nématodes extrait du sol avec une solution saline	30
α choix de la concentration de la solution saline	30
β Observation de l'habitus	30
c- Cinétique des différentes phases de la reviviscence	30
α Larve de <i>Scutellonema cavenessi</i>	30
β Larve de 2ème stade de <i>Meloidogyne</i>	34
2-4 DISCUSSION	34
3 - <u>PHYSIOLOGIE DES NEMATODES ANHYDROBIOTIQUES</u>	35
3-1 SPIRALISATION ANHYDROBIOTIQUE DE <i>SCUTELLONEMA BRACHYURUM</i> DANS LE SOL	36
3.1.1. INTRODUCTION	36
3.1.2. MATERIEL ET METHODES	36
a- Matériel animal	36
b- Caractéristiques physiques des sols utilisés	36
c- Traitement	39
d- Extraction et observations des nématodes	39
3.1.3. RESULTATS	40
3.1.4. DISCUSSION	42

3-2	<u>ETUDE EXPERIMENTALE DE LA RESISTANCE A LA DESHYDRATATION DES NEMATODES EN ANHYDROBIOSE.</u>	45
3.2.1.	INTRODUCTION	45
3.2.2.	MATERIEL ET METHODES	46
a-	Matériel animal	46
b-	Description de l'enceinte close et méthodologie de son emploi pour tester la résistance à la dessiccation	47
α	Schéma et principe	47
β	Introduction des nématodes dans l'enceinte close	47
γ	Modalité de deshydratation de l'atmosphère de l'enceinte close	47
δ	Méthode d'évaluation de la résistance des nématodes à la dessiccation	51
3.2.3.	RESULTATS	51
a-	Effets de deshydratations rapides et progressives dans le processus d'installation de la résistance à la deshydratation chez <i>S. cavenessi</i>	51
b-	Pourcentage de reviviscence des individus libres de <i>Meloidogyne javanica</i> et <i>Scutellonema cavenessi</i> à la suite d'une deshydratation progressive	53
c-	Pourcentage d'éclosion des masses d'oeufs de <i>Meloidogyne javanica</i> à la suite d'une deshydratation progressive	53
d-	Effet de temps d'exposition (1, 7 ou 14 jours) des individus libres de <i>Scutellonema cavenessi</i> et des masses d'oeufs de <i>Meloidogyne javanica</i> respectivement à 97,7% ou 50% d'humidité relative et à 97,7% ou 93% d'humidité relative	56
α	<i>Scutellonema cavenessi</i>	56
β	<i>Meloidogyne javanica</i>	56
e-	Exposition de <i>Scutellonema cavenessi</i> à 97,7% ou 50% d'humidité relative pendant 4, 8, 12, 16 ou 20 semaines	59

f-	Influence d'un traitement deshydratant sur le temps nécessaire à la reviviscence des individus de <i>Scutellonema cavenessi</i> et à l'éclosion des masses d'oeufs de <i>Meloidogyne javanica</i>	59
α	<i>Scutellonema cavenessi</i>	59
α ₁	Effet de l'humidité relative	59
α ₂	Effet du temps d'exposition	59
β	<i>Meloidogyne javanica</i>	62
β ₁	Effet de l'humidité relative	62
β ₂	Effet du temps d'exposition	62
3.2.4.	DISCUSSION	62
3.3.	<u>IMPORTANCE DES RESERVES LIPIDIQUES ET GLUCIDIQUES DANS LA RESISTANCE A LA DESSICCATION PARMIS DES FEMELLES DE SCUTELLONEMA CAVENESSI ET LES LARVES DE 2^{ème} STADE DE MELOIDOGYNE JAVANICA</u>	67
3.3.1.	INTRODUCTION	67
3.3.2.	MATERIEL ET METHODES	68
a-	Matériel animal	68
b-	Dosage des réserves	71
c-	Traitement deshydratant	71
3.3.3.	RESULTATS	72
a-	Etat des réserves des femelles transparentes et opaques de <i>Scutellonema cavenessi</i>	72
b-	Effet d'un traitement deshydratant sur les individus opaques et transparents de <i>Scutellonema cavenessi</i> et <i>Meloidogyne javanica</i>	72
3.3.4.	DISCUSSION	75

3.4. <u>RESISTANCE AUX TEMPERATURES ELEVEES DES INDIVIDUS</u> <u>ACTIFS ET ANHYDROBIOTIQUES DE</u> <i>SCUTELLONEMA CAVENESSI</i> <u>ET</u> <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i>	77
3.4.1. INTRODUCTION	77
3.4.2. MATERIEL ET METHODES	78
a- Matériel animal	78
b- Traitement thermique	79
c- Extraction des nématodes	81
d- Evaluation de la pénétration des larves de <i>M. javanica</i> à la suite d'un traitement thermique	81
3.4.3. RESULTATS	81
a- Activité des stades éclos de <i>Scutellonema cavenessi</i> et de <i>Meloidogyne javanica</i> contenus dans les échantillons de sol humide après un traitement thermique de 3h respectivement à 50°C et 45°C	81
b- Aptitude à la pénétration dans un plant de tomate cv. Roma, des larves de 2ème stade de <i>Meloidogyne javanica</i> après une exposition de 3 heures à 45°C	82
c- Résistance à une exposition de 3 heures à différentes températures des individus actifs et anhydrobiotiques de <i>Scutellonema cavenessi</i> (larves de 3ème et 4ème stades, mâles, femelles) et de <i>Meloidogyne javanica</i> (larves de 2ème stade, masses d'oeufs)	82
α Individus actifs et anhydrobiotiques de <i>Scutellonema cavenessi</i>	82

VI

β	Individus actifs et anhydrobiotiques de <i>Meloidogyne javanica</i>	86
3.4.4.	DISCUSSION	88
	CONCLUSIONS GENERALES	91
	BIBLIOGRAPHIE	97

INTRODUCTION GENERALE

Les cultures de la zone sahélienne, souvent pratiquées dans des conditions climatiques limitées, n'en sont pas pour autant à l'abri des maladies et des parasites.

Parmi ceux-ci, les nématodes reçoivent, depuis quelques années, une attention croissante, notamment au Sénégal, où est établi l'un des laboratoires de nématologie de l'O.R.S.T.O.M.

Les résultats d'enquête ont montré que les nématodes les plus dangereux et les plus répandus appartenaient d'une part au genre *Meloidogyne*, d'autre part à l'espèce *Scutellonema cavenessi* Sher, 1964. Les représentants du genre *Meloidogyne* constituent un groupe caractéristique des régions chaudes où leur virulence et l'étendue de leur gamme d'hôtes en font un déprédateur redoutable (Netscher, 1970; de Guiran & Netscher, 1970). *S. cavenessi* est un nématode apparemment savanicole associé à de nombreuses cultures, dont en premier lieu l'arachide, le sorgho et le mil, bases de l'agriculture sénégalaise. Bien que son action parasitaire n'ait pu encore être parfaitement démontrée, l'association de cette espèce à des baisses de rendement et le succès des traitements nématicides, notamment sur arachide (Germani & Gautreau, 1977), laissent penser que cette espèce mérite une attention particulière.

Priorité a donc été donnée à l'étude des *Meloidogyne* et de *S. cavenessi*.

Les conditions très dures de la saison sèche dans le Sahel

(près de neuf mois sans aucune pluie) posaient le problème du mode de survie de ces nématodes.

Les zones sahéliennes cultivées au Sénégal n'étant pas entièrement dépourvues de végétation spontanée, on pouvait imaginer que les nématodes trouveraient "refuge" sur les racines des plantes pérennes. Cette recherche est en cours et a déjà donné des résultats positifs.

Mais on pouvait aussi imaginer que les nématodes résistaient à la saison sèche, *in situ*, dans le sol, et qu'en ce cas des processus particuliers devaient entrer en jeu.

C'est la recherche de ce processus de résistance à la sécheresse et à la chaleur des nématodes phytoparasites de la zone sahélienne qui fait l'objet de ce mémoire, les animaux choisis étant précisément *Meloidogyne* et *S. cavenessi*.

En ce qui concerne *Meloidogyne*, de Guiran (1966 b) a confirmé que ce phytoparasite se trouve dans le sol sous deux stades : des larves de 2^{ème} stade et des oeufs inclus dans une masse gélatineuse (= masse d'oeufs).

Quant à *Scutellonema cavenessi*, l'on extrait généralement du sol des larves de 3^{ème} et 4^{ème} stades - qu'aucun critère ne permet de séparer - et des adultes mâles et femelles. Jamais nous n'avons extrait du sol des oeufs et les connaissances actuelles du cycle de ce nématode ne permettent d'en produire qu'occasionnellement.

Par conséquent, nous nous sommes intéressé dans ce travail au mode de survie dans le sol, lors d'une période sèche, des individus libres de *Meloidogyne* (larves de 2^{ème} stade) et de *Scutellonema cavenessi* (larves du 3^{ème} et 4^{ème} stades, mâles et femelles) ainsi que des stades non éclos de *Meloidogyne* c'est-à-dire les masses d'oeufs.

Les effets d'une saison sèche sur une population de *Scutellonema cavenessi* et une autre de *Meloidogyne* spp. ont tout d'abord été observés au champ à partir d'échantillons de sol prélevés en deux zones géographiquement éloignées à intervalles de temps réguliers et à différentes profondeurs. Les questions que l'on pouvait en effet se

poser étaient de savoir si, en même temps que s'installe la saison sèche, il se développe soit une migration verticale des nématodes vers des niveaux du sol où la teneur en eau est plus élevée et la température plus basse, soit une anhydrobiose (1), soit les deux processus combinés.

Nous avons ensuite recherché, dans des échantillons de sol, l'habitus des formes de résistance à la sécheresse car, qu'il y ait ou non migration, le problème se pose avec les stades non éclos qui sont exposés à la saison sèche. Dans ce but, nous avons mis au point une technique permettant d'extraire les formes de résistance des sols secs sans altérer leur habitus.

Puis nous avons desséché, dans les conditions du laboratoire, des échantillons de sol afin d'étudier l'induction de l'habitus qu'adoptent les nématodes en sol sec, en relation avec les caractéristiques physiques du milieu.

Cependant, les seules observations au champ ne permettent pas de comparer la résistance à la dessiccation de chacun des stades des deux nématodes anhydrobiotiques examinés. Aussi, au laboratoire, après avoir défini les conditions du traitement déshydratant qui, chez ces nématodes, conduisent à un état anhydrobiotique et non à la mort, avons-nous comparé, dans des conditions identiques, la résistance de chacun des stades récoltés de *Meloidogyne javanica* (larves de 2ème stade, masses d'oeufs) et de *Scutellonema cavenessi* (larves de 3ème et 4ème stades, adultes mâles et femelles).

(1) Pour définir un état de vie ralenti en relation avec des conditions hydriques déficitaires, la littérature propose une multitude de termes. Keilin (1959) considère un état d'inactivité associé à un métabolisme ralenti (= hypométabolisme) comme une dormance et de ce fait, regroupe sous cette définition quiescence et diapause. Il lui oppose la cryptobiose (= abiose, Schmidt 1948 ; = anabiose, Preyer 1891) où toute activité métabolique est suspendue (= métabolisme). Selon Cooper et Van Gundy (1971) l'anhydrobiose serait une quiescence qui, prolongée, deviendrait une cryptobiose; cette définition dynamique de l'anhydrobiose ne permet pas de faire la distinction avec la cryptobiose. De ce fait, nous avons conservé uniquement le terme anhydrobiose.

Aussi bien chez *Scutellonema* que chez *Meloidogyne*, des différences ont été observées dans l'aspect de l'intestin chez les individus extraits du sol. Chez certains l'intestin était opaque en lumière transmise, chez d'autres translucide, ceci en relation apparente avec la teneur en produits de réserve des cellules intestinales. Nous avons donc recherché si une relation existait entre le niveau de ces réserves et la résistance à la dessiccation chez les larves de 2ème stade de *Meloidogyne* et les femelles de *Scutellonema*.

Enfin, étant donné qu'au champ, lors de la période sèche, la température du sol peut être élevée, nous avons essayé de préciser au laboratoire les effets d'une exposition de *Meloidogyne javanica* (larves de 2ème stade et masses d'oeufs) et de *Scutellonema cavenessi* (larves de 3ème et 4ème stades, adultes mâles et femelles) actifs et anhydrobiotiques à diverses températures.

1. EFFETS D'UNE SAISON SECHE SUR DES POPULATIONS
DE *SCUTELLONEMA CAVENESSI* ET *MELOIDOGYNE* spp .

1.1. INTRODUCTION

Le Sahel du Sénégal connaît une période pluvieuse de juin-juillet à fin septembre (précipitations :400-600 mm) pendant laquelle ont lieu les cultures. Puis les pluies cessent, si bien que le sol subit pendant les neuf mois qui suivent un assèchement de plus en plus rigoureux.

De façon à connaître si *Scutellonema cavenessi* et *Meloidogyne* spp. réagissent par des migrations verticales ou des processus anhydrobiotiques à cet assèchement progressif du sol, nous avons observé l'évolution d'une population de chacun des deux nématodes au cours de la saison sèche.

Des prélèvements de sol furent donc effectués, au champ, à intervalles de temps réguliers pendant toute la période sèche aux niveaux 0-20 cm et 20-40 cm, afin de dénombrer dans chacun d'entre eux, les larves (3ème et 4ème stades) et les adultes (mâles et femelles) de *Scutellonema cavenessi*, ainsi que les larves de 2ème stade et les masses d'oeufs de *Meloidogyne* spp.

1.2. MATERIEL ET METHODES.

a - Lieux de prélèvement et précédents culturaux.

Les échantillons de sol infestés par *S. cavenessi* ont été

nature des particules	diamètre des particules	Pourcentage de chacun des constitutants du sol de la parcelle d'échantillonnage du C.D.H.	Constitution physique du sol de la parcelle expérimentale du Centre ISRA de Bambey.
Argile	$\lt 0,002\text{mn}$	2,54%	7,96%
Limon fin Limon grossier	$\gt 0,002$ et $\lt 0,02\text{mn}$	3,05% 7,87%	6,98%
Sable fin	$\gt 0,02$ et $\lt 0,2\text{mn}$	37,21%	57,91%
Sable grossier	$\gt 0,2$ et $\lt 2\text{mn}$	49,33%	27,15%

Tableau 1 : Constitution des sols des parcelles d'échantillonnage du C.D.H. de Cambérène et de l'ISRA de Bambey (Sénégal).

précipitations	hauteur (mm)	octobre	novembre	décembre	JANVIER	FEVRIER	MARS	AVRIL	MAI	JUIN	JUILLET									
	écart à la normale (mm)	0,1	0	0	0	0	0	0	trace	trace	51									
température de l'air (°C)	min	max	min	max	min	max	min	max	min	max	min	max								
	24°	31°	21°	31°	18°	26°	16°	26°	16°	23°	16°	21°	17°	23°	19°	25°	22°	27°	25°	29°
humidité relative de l'air (%)	min	max	min	max	min	max	min	max	min	max	min	max	min	max	min	max	min	max	min	max
	60%	93%	50%	91%	43%	88%	38%	87%	53%	93%	59%	94%	69%	94%	69%	95%	71%	91%	68%	89%

Tableau 2 : Données climatologiques pour la période octobre 1973-juillet 1974 de la station météorologique de Dakar-Yoff (Sénégal).

	1975						1976					
	Oct.	Nov.	Déc.	JANV.	FEV.	MARS	AVRIL	MAI	JUIN	JUIL.		
haut. (mm)	7	0	0	0,8	0	0,3	tr	0	1,8	101		
Préci- pitations écart à la normale(mm)	-48	- 4,5		+ 0,7	-1,3	+0,2	-0,2	-6,3	-38,4	-39		
températu- re de l' air(°C)	min max	min max	min max	min max	min max	min max	min max	min max	min max	min max		
	23,3 37	17,5 35,5	16 35,2	15,3 31,5	17,1 34,5	19 36,1	19,7 38,9	19,2 38,5	22,8 38,6	24,1 35,7		
Hum.rela- tive de l'air(%)	min max	min max	min max	min max	min max	min max	min max	min max	min max	min max		
	36,2 95,2	14,5 67,1	17 70,5	17,8 58,9	15,4 59,7	17,9 66,1	17,1 69,5	20,8 76,7	29,6 85,4	41 88,1		

Tableau 3: Données climatologiques pour la période octobre 1975-juillet 1976 de la station météorologique de Diourbel (Sénégal).

prélevés dans une parcelle expérimentale de l'I.S.R.A. (Institut Sénégalais de Recherches Agronomiques) à précédent cultural arachide à Bambeï, dans le département de Diourbel.

Les échantillons de sol infestés par *Meloidogyne* proviennent quant à eux d'une parcelle expérimentale du C.D.H. (Centre pour le Développement de l'Horticulture) située à Cambérène près de Dakar, et à précédent cultural soja. Dans ce dernier cas, les observations au champ n'ont pu concerner une seule espèce de *Meloidogyne* car les déterminations spécifiques ont toujours mis en évidence, dans chacun des échantillons prélevés, le peuplement composite (*M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*) habituel dans cette zone (Netscher, 1978).

b - Le sol.

La constitution physique des sols des deux parcelles d'échantillonnage est donnée dans le tableau 1. Ces sols sont de type sableux mais celui de la parcelle expérimentale I.S.R.A. a la particularité de se prendre en masse en se desséchant (sol "battant").

c - Les conditions climatiques et les températures minimales et maximales enregistrées entre 10 h et 16 h en saison humide et saison sèche sur une parcelle d'essai du centre I.S.R.A. de Bambeï.

Les conditions climatiques des deux zones de prélèvement pour les années 1973-1974 et 1975-1976, périodes pendant lesquelles nous avons effectué respectivement nos observations quant à *Meloidogyne* et *Scutellonema*, sont données dans les tableaux 2 et 3.

Les températures minimales et maximales enregistrées, avec des thermomètres à sonde, sur la parcelle I.S.R.A. sont données dans le tableau 4. Les maxima aux niveaux 0, -5 et -10 cm sont d'autant plus élevés que le sol est sec : respectivement 56°C, 47°C et 40°C. Ces valeurs maximales sont atteintes aux environs de 14 h et la température avoisine ces valeurs au maximum pendant 3 h.

Quant aux écarts maximum de températures, ils sont très importants à proximité de la surface : d'une part 15°C et 23°C au

Profondeur	Saison humide (octobre 1975)		Saison sèche (6ème mois)	
	minima	maxima	minima	maxima
Surface	30°C	45°C	33°C	56°C
- 5 cm	31°C	41°C	34°C	47°C
- 10 cm	32°C	39°C	27°C	40°C
- 15 cm	30°C	37°C	28°C	36°C
- 30 cm	31°C	32°C	30°C	31°C

Tableau 4 : Températures minimales et maximales enregistrées entre 10 h et 16 h en saison humide et saison sèche sur une parcelle d'essai du centre ISRA de Bambey. (Sénégal)

niveau 0 cm et d'autre part 10°C et 13°C au niveau -5 cm, respectivement en saison humide (octobre 1975) et au 6^{ème} mois de la saison sèche.

d - Echantillonnage.

En ce qui concerne *Scutellonema cavenessi*, les prélèvements ont été effectués mensuellement, après la dernière pluie, du 15 octobre 1975 au 15 juillet 1976, c'est-à-dire durant les dix mois qui ont suivi la récolte des arachides de 1975. La technique classique de prélèvement d'échantillons de sol à l'aide de tarières est difficilement utilisable avec un sol qui se prend en masse en se desséchant. Nous avons par conséquent creusé des fosses d'une longueur de 1 m et de 0,50 m de largeur. Les échantillons de sol d'environ 500cm³ ont été prélevés le long de chacune des quatre parois de la fosse, aux niveaux 0-20 cm et 20-40 cm, après avoir dégagé le long de la paroi la pellicule de sol qui aurait pu se dessécher pendant le temps de réalisation de la fosse. Nous disposions donc pour chaque fosse, et pour chacun des deux niveaux, de quatre échantillons de sol. Chaque mois, deux fosses ont été creusées, dans la parcelle d'échantillonnage de 100 m², sur un emplacement désigné au hasard. Les prélèvements effectués, les deux fosses étaient rebouchées et leur emplacement signalé de façon à ne pas prélever à nouveau au même endroit.

Pour *Meloidogyne*, le procédé employé a été différent : une fois les plants de soja arrachés, la parcelle a été divisée en quatre sous-parcelles dans chacune desquelles toutes les deux semaines, pendant les cinq premiers mois (octobre 1973 - février 1974) puis tous les mois jusqu'à la fin de la saison sèche (mars 1974 - juillet 1974), cinq échantillons primaires de sol (environ 100 cc) ont été prélevés au hasard à la tarière. Deux niveaux ont été explorés : 0-20 cm et 20-40 cm. Les échantillons du niveau 20-40 cm ont été prélevés de la manière suivante : on descend tout d'abord progressivement dans le sol un cylindre d'une hauteur de 20 cm. Lorsque la terre contenue dans ce cylindre est ôtée, c'est-à-dire celle du niveau 0-20 cm, il est possible, avec une autre tarière, de prélever un échantillon de sol au niveau 20-40 cm.

e - Extraction des nématodes du sol.

Pour extraire *Scutellonema avenense* (larves et adultes) du sol récolté, nous avons modifié (Demeure, 1975) la technique de Seinhorst (1956 ; 1962). Rappelons que cette technique utilise, dans sa dernière phase, la mobilité propre des nématodes qui, passant à travers un filtre de cellulose, se séparent de la fraction la plus fine du sol (< 50 µm). Lorsqu'il s'agit de sol prélevé sous des cultures et par conséquent humide, la quasi totalité des nématodes est ainsi extraite en 24 h. Mais, lorsque les échantillons de sol sont secs, c'est-à-dire prélevés en dehors des périmètres irrigués et en saison sèche, le temps nécessaire aux nématodes pour traverser ce même filtre est beaucoup plus long. Et c'est à ce niveau que nous avons modifié la technique de Seinhorst : ne sont pas seulement récoltés les nématodes qui ont traversé le filtre en 24 h, mais aussi ceux qui le traversent au bout de 48 et 72 h.

Pour chacun des niveaux 0-20 cm et 20-40 cm, 250 cm³ de chacun des quatre échantillons de sol prélevés par fosse sont ainsi traités afin d'en extraire les *Scutellonema*.

En ce qui concerne *Meloidogyne*, l'effectif de la population a été évalué suivant une technique d'extraction originale (Demeure & Netscher, 1973). Les masses d'oeufs sont tout d'abord recueillies sur un tamis à ouverture de 200 µm qui arrête aussi la fraction sable de l'échantillon. Cet ensemble est placé quatorze jours dans un extracteur à brouillard (Seinhorst, 1950); dans ces conditions, les oeufs éclosent et leur nombre est identifié au nombre de larves de 2^{ème} stade récupérées. Quant aux larves de 2^{ème} stade présentes dans l'échantillon de sol au moment du prélèvement, elles traversent le précédent tamis de 200 µm en même temps que les fractions limoneuses, argileuses et organiques. Cet ensemble est traité selon le procédé d'élutriation de Seinhorst (1962) de façon à éliminer limons et argiles, puis les larves traversant un filtre de cellulose se séparent de la fraction la plus fine du sol.

Les cinq échantillons de sol prélevés sur chacune des quatre sous-parcelles expérimentales (= échantillons primaires) sont regrou-

pés en un seul et homogénéisés; une portion (250cm³) de celui-ci est traitée selon le procédé Demeure et Netscher (1973) de façon à en extraire les larves de 2^{ème} stade et les masses d'oeufs.

f - Test biologique.

Dans le cas de *Meloidogyne*, un test biologique a été appliqué. Il consiste à repiquer un plant de tomate cv. Roma, sensible à ces nématodes et à examiner les racines au bout de cinq semaines afin de noter l'existence ou l'absence d'une infestation par *Meloidogyne*.

En ce qui concerne *Scutellonema cavenessi*, compte tenu de la méconnaissance de son cycle biologique, un semblable test n'a pu être mis au point.

g - Teneur en eau du sol.

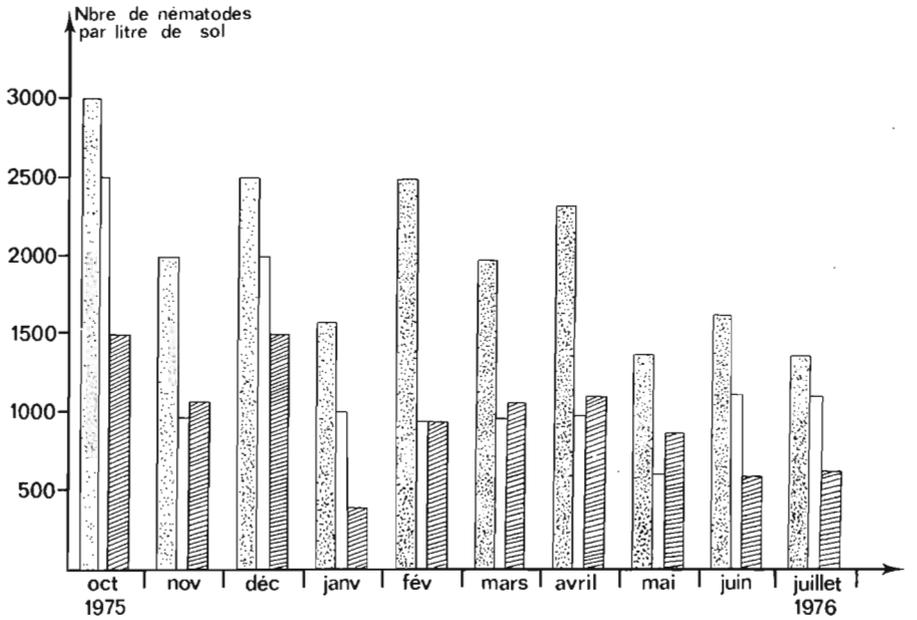
La teneur en eau de chacun des niveaux explorés a été déterminée classiquement par pesée de l'échantillon de sol avant et après passage à l'étuve pendant 2 h à 105°C. Elle est exprimée en pourcentage du poids de terre sèche.

1.3. RESULTATS.

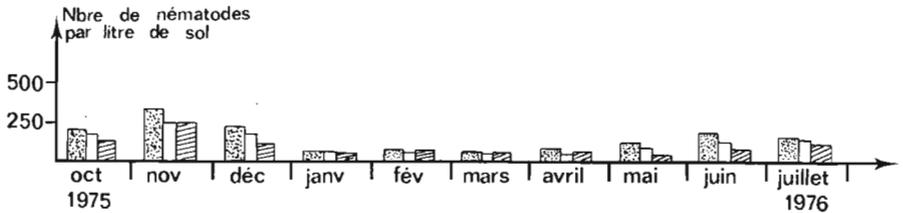
a - Evolution des populations de *Scutellonema cavenessi* et de *Meloidogyne*, en fonction du temps de sécheresse, aux niveaux 0-20 cm et 20-40 cm du sol.

α - Niveau 0-20 cm (fig. 1a et 2a)

En ce qui concerne *Scutellonema cavenessi*, à la fin de la période sèche (juillet 1976), les échantillons de sol renferment respectivement 50%, 48% et 46% du nombre de larves, de mâles et de femelles récoltés au début de la saison sèche (octobre 1975). Comme l'indique la figure 1a, le nombre de chacun des stades de ce nématode diminue progressivement entre les mois d'octobre et de juillet de l'année suivante.



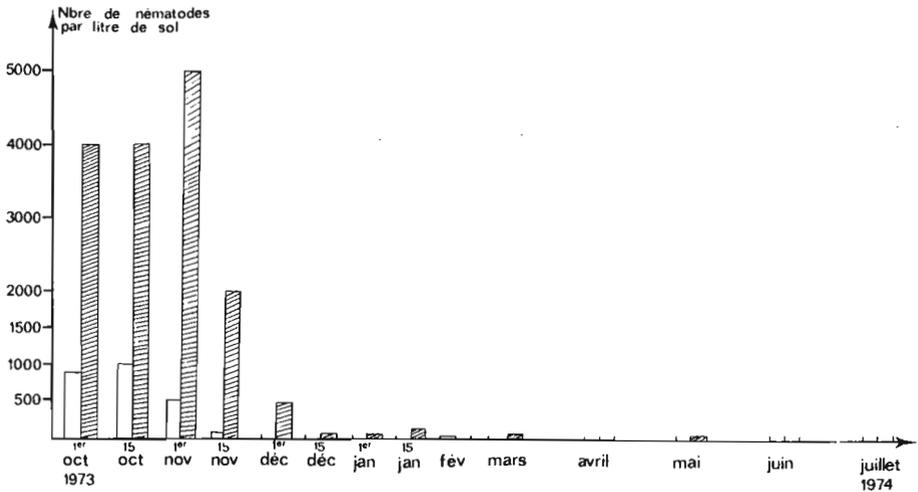
NIVEAU



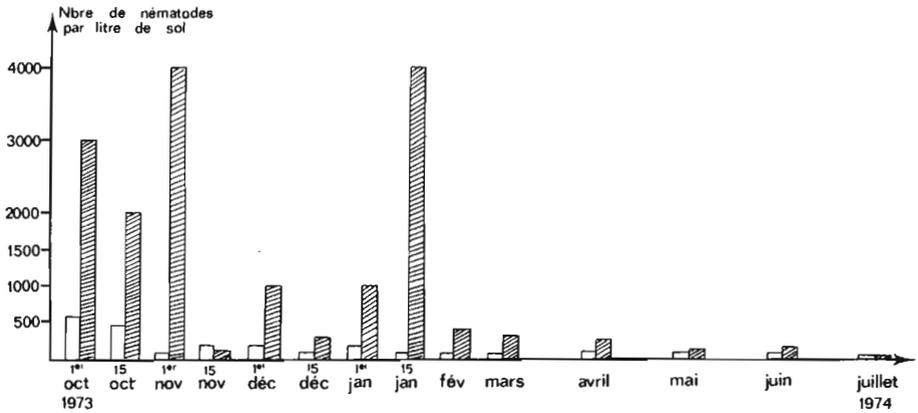
NIVEAU

-  Femelles de *Scutellonema cavenessi*
-  Mâles de *S. cavenessi*
-  Larves (l_3 , l_4) de *S. cavenessi*

FIGURE 1a : EVOLUTION D'UNE POPULATION DE *S. cavenessi* (larves de 3ème et 4ème stades, mâles, femelles) AU COURS DE LA SAISON SECHE 1975-1976 DANS LE SOL AUX NIVEAUX 0-20 ET 20-40 cm.



NIVEAU



NIVEAU

- Larves de 2ème stade de *Meloidogyne* spp. extraites du sol.
- Larves de 2ème stade de *Meloidogyne* spp. issues des masses d'oeufs extraites du sol.

FIGURE 2a : EVOLUTION D'UNE POPULATION DE *Meloidogyne* spp. (larves de 2ème stade et masses d'oeufs) AU COURS DE LA SAISON SECHE 1973-1974 DANS LE SOL AUX NIVEAUX 0-20cm et 20-40cm.

		répétitions	Dates de prélèvement des échantillons de sol					
			15 octobre	30 mars	30 avril	30 mai	30 juin	15 juillet
SOL	niveau 0 - 20 cm	1	+	-	-	-	-	-
		2	+	-	-	-	-	-
		3	+	-	-	-	-	-
		4	+	-	-	-	-	-
	niveau 20 - 40 cm	1	+	-	+	+	-	-
		2	+	+	+	-	-	-
		3	+	+	+	+	-	-
		4	+	+	+	+	+	+

Tableau 5 : Résultats d'un repiquage de plants de tomate (cv: Roma) sur échantillons de sol du C.O.H., prélevés à deux profondeurs - 0-20 cm et 20-40 cm - en cours de saison sèche. + présence sur les racines de galles de Meloidogyne
 - absence de galles

En ce qui concerne *Meloidogyne*, la quasi totalité des larves de 2ème stade ne s'est pas maintenue au-delà du 15 novembre 1973, c'est-à-dire six semaines après le début de la sécheresse. Quelques larves (une dizaine) ont été extraites du sol en février 1974. Aucun oeuf enrobé dans une masse gélatineuse n'a survécu dans le niveau 0-20cm à une saison sèche complète. Le nombre d'oeufs viables se maintient au niveau initial lors du premier mois de sécheresse puis décroît brutalement de telle sorte qu'au 1er janvier 1974, il n'était plus que de 1% de ce qu'il était au début de la saison sèche. Ce très faible pourcentage se maintient jusqu'en mai puis devient nul au cours des deux derniers mois de la période sèche. L'absence de *Meloidogyne* (larves de 2ème stade et oeufs viables) à la fin de la période sèche octobre 1973-Juillet 1974, a été confirmée par le test biologique sur tomate : aucune galle n'a été observée sur des chevelus racinaires de tomate repiqués sur des échantillons de sol prélevés au niveau 0-20cm (tableau 5).

β - Niveau 20-40 cm (fig. 1a et 2a)

Pour *S. cavenessi*, à la fin de la période sèche (juillet 1976), le pourcentage de larves, de mâles et de femelles a été respectivement de 45, 50 et 55,5% de l'effectif évalué en octobre 1975, ce qui est très comparable aux chiffres du niveau 0-20cm. Mais le nombre total de *S. cavenessi* extraits des échantillons de sol prélevés chaque mois (fig. 1a) dans ce niveau est de dix à vingt fois moins important que ce qui est récupéré dans le niveau supérieur (0-20cm). En outre, à aucun moment de la période sèche (octobre 1975 à juillet 1976), à l'exception du mois de novembre, nous n'avons pu enregistrer au niveau 20-40 cm une élévation du nombre de nématodes.

En ce qui concerne *Meloidogyne* (fig. 2a), le nombre de larves de 2ème stade décroît progressivement entre les mois d'octobre 1973 et juillet 1974. Au 1er janvier 1974, il est encore égal à 36,4% du nombre de larves de 2ème stade extrait en octobre 1973, mais en fin de période sèche (juillet 1974) il n'est plus que de 0,5% du niveau

initial. Quant au nombre d'oeufs viables inclus dans des masses gélatineuses, trois mois et demi après le début de la saison sèche (15 janvier 1974), il est identique à celui des échantillons de sol d'octobre 1973. Ce nombre décroît ensuite progressivement jusqu'en juillet 1974 où il a été évalué à 0,4% du nombre initial. En définitive, 0,9% du nombre de *Meloidogyne* (larves de 2^{ème} stade, masses d'oeufs) présents dans le sol en début de saison sèche ont pu être récupérés en juillet 1974 dans les échantillons de sol prélevés au niveau 20-40 cm de notre parcelle expérimentale. Ceci est confirmé par le test biologique sur tomate (tableau 5) : trois galles ont été observées sur un chevelu racinaire de tomate repiqué sur un échantillon de sol prélevé au niveau 20-40 cm en juillet 1974.

b - Evolution de la teneur en eau du sol aux niveaux 0-20 cm et 20-40 cm pour chacune des deux parcelles d'observations au cours du déroulement de la saison sèche (fig. 1b et 2b).

En ce qui concerne la parcelle d'expérimentation ISRA où ont été prélevés les *Scutellonema*, la teneur en eau du niveau 0-20 cm décroît rapidement (fig. 1b) pour se stabiliser au voisinage de 0,3% pendant toute la durée de la saison sèche. Le niveau 20-40 cm se deshydrate par contre lentement jusqu'en juin où la teneur en eau enregistrée à cette époque est de 0,6%.

Quant à la parcelle du C.D.H. où ont été prélevés les *Meloidogyne*, la teneur en eau du sol dans les deux niveaux examinés décroît très rapidement entre octobre et novembre 1973 (fig. 2b). Puis, au niveau 0-20 cm, elle se stabilise au voisinage de 1% alors qu'au niveau 20-40 cm, elle se maintient toute la saison sèche à 1,8-2%.

Ces valeurs de la teneur en eau peuvent être situées par rapport à celle correspondant au point de flétrissement permanent des plantes, prise très souvent comme référence dans la littérature. (La teneur en eau du sol correspondant à ce point critique est la quantité d'eau, exprimée en pourcentage de terre sèche, retenue par un échantillon de ce sol placé dans une presse à membrane et en équilibre avec une pression équivalant à 15 bars). Dans ces conditions,

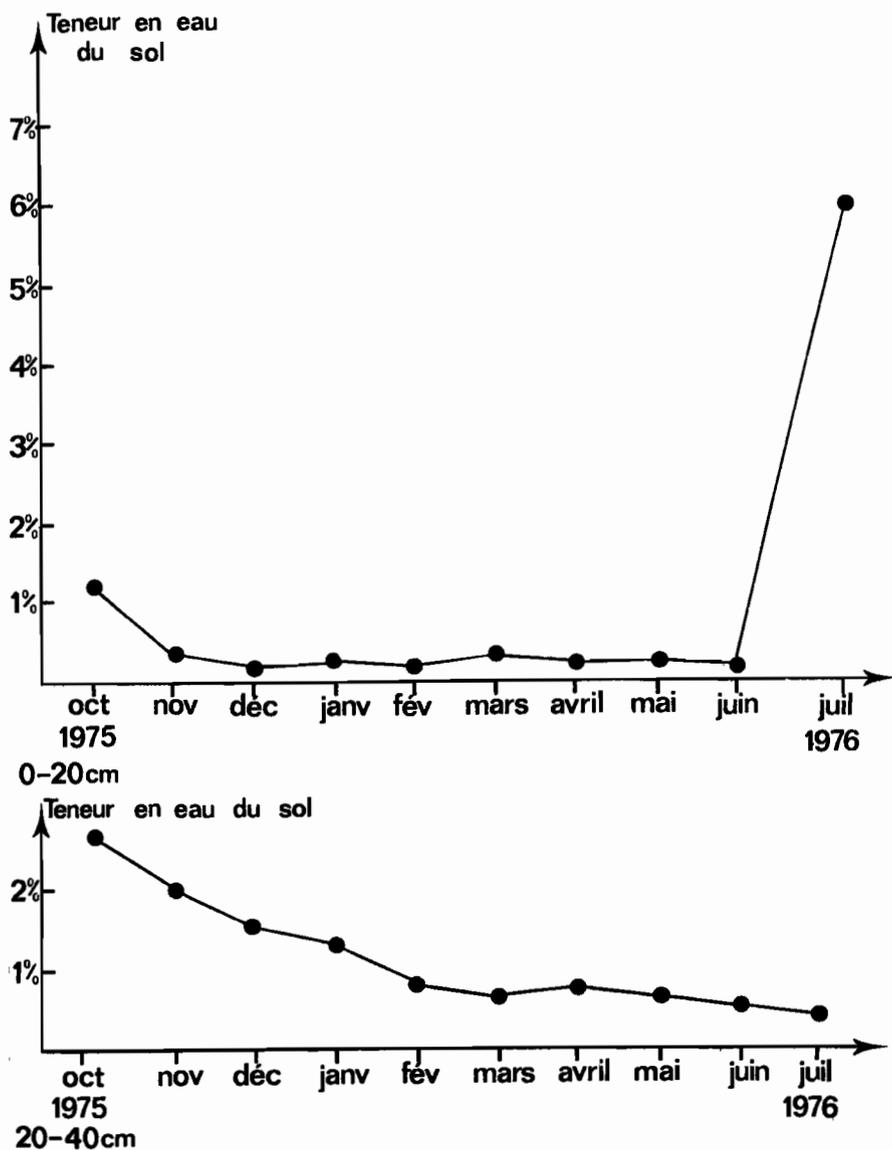
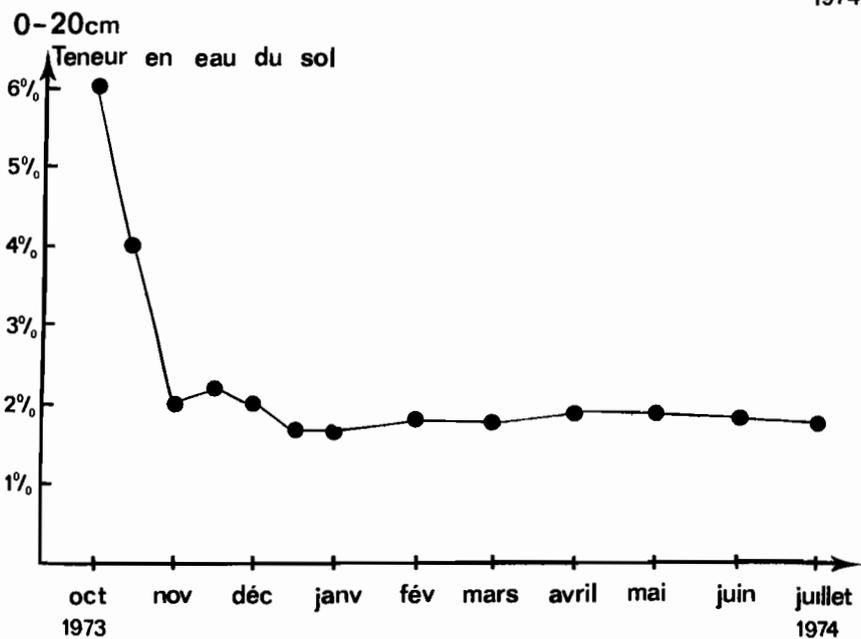
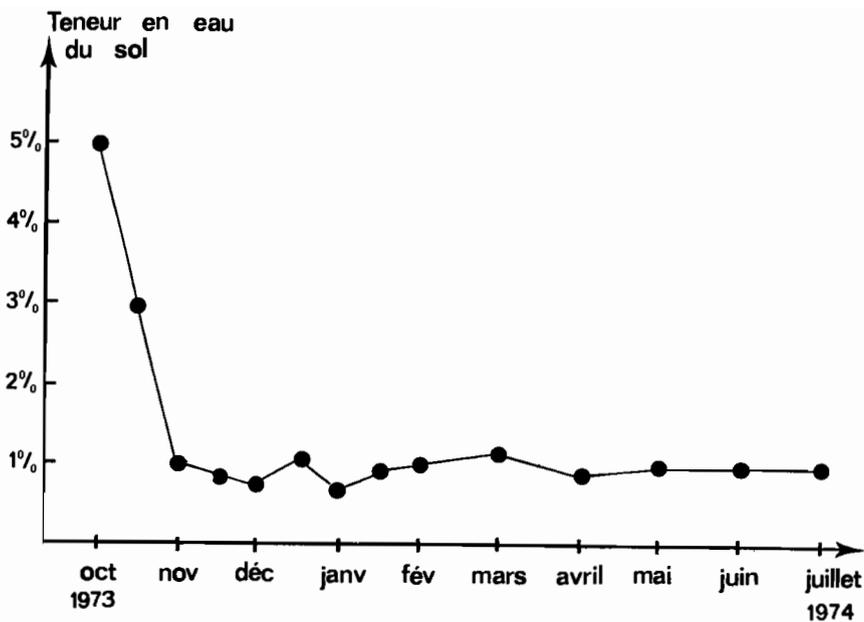


FIGURE 1b : TENEUR EN EAU DU SOL AUX NIVEAUX 0-20 cm et 20-40 cm DE LA PARCELLE D'ECHANTILLONNAGE DE L'I.S.R.A. AU COURS DE LA SAISON SECHE 1975-1976.



20-40cm

FIGURE 2b : TENEUR EN EAU DU SOL AUX NIVEAUX 0-20 cm et 20-40 cm, DE LA PARCELLE D'ECHANTILLONNAGE DU CDH AU COURS DE LA SAISON SECHE 1973-1974.

le point de flétrissement du sol de la parcelle ISRA est estimé correspondre à une teneur en eau de 2,28% ; celui de la parcelle du C.D.H. à 2,59%. Ainsi les valeurs enregistrées de la teneur en eau sont, dès novembre, nettement inférieures au point de flétrissement permanent. Ceci n'est d'ailleurs pas exceptionnel pour des régions désertiques (Pierre, 1958).

1.4. DISCUSSION

Aucun phénomène migratoire ne peut être déduit de nos observations. En effet, à aucun moment de la saison sèche, nous n'avons pu noter une élévation significative du nombre d'individus dans le niveau inférieur (20-40 cm) du sol en relation avec une diminution du nombre de nématodes dans le niveau supérieur (0-20 cm) et ce pour chacun des individus libres observés, c'est-à-dire : en ce qui concerne *Scutellonema cavenessi*, les larves de 3^{ème} et 4^{ème} stades, les adultes (mâles et femelles) et en ce qui concerne *Meloidogyne*, uniquement les larves de 2^{ème} stade. Cette absence de migration de *Meloidogyne* est en contradiction avec les données de Koen (1966) qui a constaté un processus migratoire des larves de 2^{ème} stade de *M. javanica* lors de la période sèche hivernale en Afrique du Sud. En fait, les données contradictoires quant à l'existence de ce processus de migration ne sont pas rares dans la littérature consacrée aux nématodes. Zuckerman, Khera et Pierre (1974) l'envisagent pour *Hemicycliophora similis*. Par contre, Yuen (1966), sur *Rotylenchus pumilus* et *Helicotylenchus vulgaris*, ne le confirme pas.

La migration ne semble donc jouer aucun rôle dans la survie de *S. cavenessi* et *Meloidogyne* pendant la saison sèche et cependant chacun de ces deux nématodes se maintient dans les sols pendant la durée d'une saison sèche.

Les différents stades de *S. cavenessi* persistent dans des proportions élevées et semblables (de l'ordre de 50%) dans les deux niveaux explorés, à la fin de la saison sèche octobre 1975- juillet 1976.

Meloidogyne, par contre, n'a survécu qu'en très faible proportion (0,9%) et uniquement dans le niveau 20-40 cm, à la saison sèche octobre 1973 - juillet 1974 (Demeure, 1977). Cette persistance préférentielle dans le niveau 20-40 cm s'explique de la façon suivante: en profondeur (20-40 cm), la teneur en eau du sol se maintient pendant toute la durée de la saison sèche au voisinage de 2%, tandis qu'en surface elle est inférieure à 1%. De plus, la vitesse de déshydratation du sol entre octobre et novembre y est nettement moindre : en effet, alors qu'au niveau 0-20 cm, la teneur en eau du sol passe de 5% à 1%, au niveau 20-40 cm, pendant le même intervalle de temps, elle passe de 6% à 2% seulement. Le niveau 20-40 cm illustre donc la notion de refuge écologique.

Il faut noter que ce ne sont pas les mêmes stades, chez *Scutellonema cavenessi* et *Meloidogyne*, qui survivent au dessèchement du sol.

En ce qui concerne *S. cavenessi*, tous les individus libres récoltés ont la capacité de survivre à la totalité de la période sèche et dans des proportions semblables, de l'ordre de 50%, aussi bien au niveau 0-20 cm qu'au niveau 20-40 cm. A aucun moment de la période sèche nous n'avons extrait des échantillons de sol prélevés aux niveaux 0-20 et 20-40 cm des oeufs et des larves de 2^{ème} stade.

Quant à *Meloidogyne*, les masses d'oeufs sont plus résistantes à la sécheresse que les larves de 2^{ème} stade. En effet :

- au niveau 0-20 cm, les larves de 2^{ème} stade ne survivent pas au-delà de six semaines alors que les masses d'oeufs ne disparaissent totalement qu'après sept mois de sécheresse;
- au niveau 20-40 cm, nous avons retrouvé en fin de saison sèche et dans les mêmes proportions, des larves de 2^{ème} stade (0,5%) et des oeufs (0,4%).

Etant donné que la teneur en eau au niveau 20-40 cm se stabilise à 2% durant toute la durée de la saison sèche, la survie des larves n'est pas biologiquement parlant impossible. Le seul problème est donc de savoir si à ce niveau les conditions permettent l'éclosion des larves. On peut supposer que l'éclosion n'est pas

bloquée ; peut-être n'est-elle que ralentie, et c'est cette éclosion échelonnée dans le temps qui entretiendrait dans le sol un taux faible mais constant de larves de *Meloidogyne*.

L'hypothèse d'une migration de *S. cavenessi* et *Meloidogyne* vers des niveaux inférieurs du sol où la teneur en eau est plus élevée devant être abandonnée, se pose en particulier le problème de savoir sous quel habitus survivent les individus libres de ces nématodes et l'on doit envisager l'existence d'un "état anhydrobiotique". En outre, nous avons vu que les masses d'oeufs participaient pour une grande part au maintien des *Meloidogyne* en sol sec, et là encore, nous ignorons sous quel aspect se trouvent ces masses d'oeufs "anhydrobiotiques". Par conséquent, nous avons essayé de mettre en évidence l'habitus exact qu'adopte chacun de ces stades de nématodes (individus libres et masses d'oeufs) pour survivre aux conditions climatiques du Sahel sénégalais.



2. ESSAI DE MISE EN EVIDENCE DE L'HABITUS DES
FORMES DE RESISTANCE A LA DESSICCATION CHEZ
SCUTELLONEMA CAVENESSI et *MELOIDOGYNE* SPP.

2.1. INTRODUCTION

Chez les Invertébrés inférieurs, de nombreux auteurs se sont attachés à mettre en évidence des modifications de l'aspect des organismes en relation avec l'anhydrobiose : contraction antéro-postérieure chez les larves et adultes de Rotifères et Tardigrades (Crowe, 1971), habitus spiralé chez les larves et adultes du nématode *Aphelenchus avenae* (Crowe & Madin, 1974) et chez la larve de 2^{ème} stade du nématode *Anguina tritici* (Bird & Buttrose, 1974).

Chez les nématodes, ces études ont généralement eu comme support non des individus extraits du sol mais des individus issus de végétaux desséchés (Bird & Buttrose, 1974) ou mis en anhydrobiose *in vitro*, sans utilisation de sol (Crowe & Madin, 1975).

Aucun travail n'a mis clairement en évidence l'habitus exact qu'adoptent dans le sol les nématodes qui résistent à la dessiccation. Cela est dû aux difficultés rencontrées lorsqu'il s'agit d'observer ou d'extraire les nématodes sans utiliser l'eau. Nous avons essayé d'y parvenir par un examen direct, sous la loupe binoculaire, de fractions d'échantillons de sol: malgré de nombreux essais, cette technique ne nous a pas permis d'observer des nématodes *in situ*. Coomans et De Grisse (1963), en fixant directement des échantillons de sol au formol à 4%, ont observé des larves et un mâle de *Trichotylenchus falciiformis*, enroulés en spirale dans un cocon (fig.3).

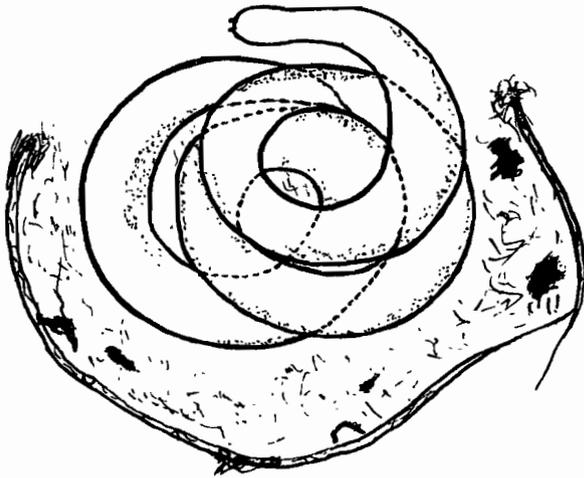


FIGURE 3 : LARVES SPIRALEE DE *Trichotylenchus falcoiformis* APRES
ECRASEMENT DU COCON.

Aussi avons-nous mis au point une technique permettant d'extraire d'un sol desséché, sans artefact, des larves de 3^{ème} et 4^{ème} stades et des adultes (mâles et femelles) de *Scutellonema cavinessi* ainsi que des larves de 2^{ème} stade et des masses d'oeufs de *Meloidogyne* spp.

2.2. MATERIEL ET METHODES.

a - Choix des échantillons de sol.

Les échantillons de sol ont été prélevés dans les deux parcelles décrites dans la première partie de ce mémoire, selon les mêmes modalités, un mois après le début de la saison sèche. Le plus rapidement possible après les prélèvements (5 à 6 h au maximum), ces échantillons ont été traités selon différentes techniques afin d'essayer d'observer l'habitus des nématodes.

b - Adaptation de la technique de Godey (1937) à la coloration des stades à l'état anhydrobiotiques dans les échantillons de sol prélevés en saison sèche.

Des échantillons de sol, d'un volume de 10cm³ ont été plongées pendant 3 minutes dans du lactophénol bouillant contenant 0,1% de fuchsine acide. Le sol est ensuite versé sur un tamis à ouvertures de 40 µm de façon à éliminer l'excès de colorant. La portion retenue par le tamis, c'est-à-dire une partie du sol et les nématodes, est récupérée dans une boîte de Petri recouverte de lactophénol et observée sous la loupe binoculaire.

c - Utilisation de solutions salines.

Des lots de 50 *S. cavinessi* (larves et adultes) actifs et d'autres desséchés préalablement à l'air libre sur une lame de verre ont été immergés, sous la loupe, dans des solutions de NaCl à 17, 25, 35, 70 et 80‰. La solution de NaCl recherchée est celle qui ne provoquera pas dans un laps de temps de 2 h (= temps nécessaire à l'extrac-

tion des nématodes du sol et à leur observation sous la loupe) une déshydratation importante des larves et adultes actifs de *S. cavenessi* ni une réhydratation de ces mêmes nématodes desséchés.

Cette solution adéquate de NaCl peut alors être utilisée pour extraire les nématodes des échantillons de sol. Ceux-ci sont traités selon le procédé dit 'des deux Erlenmeyer' (Seinhorst, 1955) en utilisant, comme agent d'extraction, non pas l'eau, mais la solution de NaCl: 200 g de sol, en suspension dans 750 cm³ de la solution saline, sont passés sur un tamis à ouvertures de 2 mm; la suspension qui a traversé ce tamis est placée dans un Erlenmeyer type A (fig. 4) ; celui-ci est ensuite renversé sur un second Erlenmeyer type B, rempli de la même solution NaCl, pendant 10 minutes. Les particules de sable passent de A dans B en même temps que s'établit un courant inverse de la solution de NaCl : en fin d'expérience, l'Erlenmeyer A contient les nématodes en suspension dans une solution de NaCl plus ou moins argileuse selon le type de sol. Le contenu de l'Erlenmeyer A est versé sur un tamis à ouverture de 40 µm. La fraction retenue par ce tamis et contenant les nématodes est observée sous la loupe binoculaire.

2.3. RESULTATS.

a - Observation de l'habitus des individus libres et de l'aspect des masses d'oeufs après fixation des échantillons de sol sec au lactophénol et coloration à la fuchsine acide.

Les individus libres de *S. cavenessi* et *Meloidogyne* présentent un habitus semblable à ceux des nématodes extraits des sols humides.

Les masses d'oeufs de *Meloidogyne* sont, soient encore accrochées à des fragments de racines, soient agrégées à des particules minérales du sol.

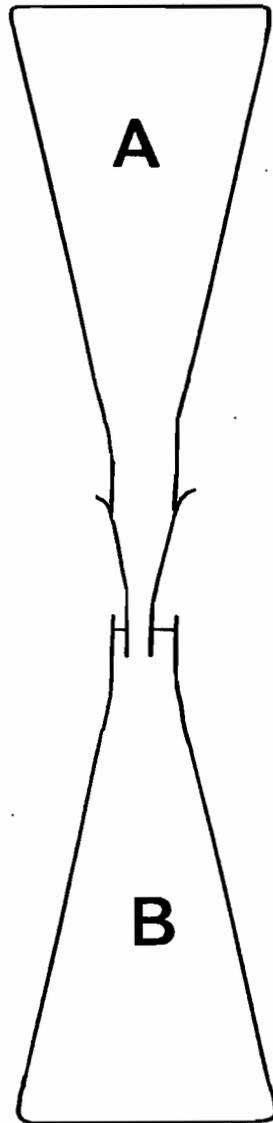


FIGURE 4 : SCHEMATISATION DE LA TECHNIQUE DES DEUX ERLLENMEYER QUI, COMBINEE AVEC UNE SOLUTION DE NaCl à 70°/oo, PERMET D'EXTRAIRE LES NEMATODES (stades libres), TELS QU'ILS SE PRESENTENT DANS DES ECHANTILLONS DE SOLS PRELEVES EN SAISON SECHE.

b - Observation de l'habitus des nématodes extraits de sol sec avec une solution saline.

α - Choix de la concentration de la solution saline.

Le tableau 6 résume les tests effectués pour définir la concentration de NaCl susceptible de ne pas déshydrater les stades actifs et de ne pas réhydrater les stades desséchés de *Scutellonema cavenessi*. On constate que la concentration de NaCl recherchée est de 70 %.

β - Observation de l'habitus.

Une telle solution a permis d'extraire des échantillons de sol traités, des larves et adultes (mâles et femelles) de *S. cavenessi* et des larves de 2^{ème} stade de *Meloidogyne* ayant un habitus spiralé (fig. 5a et 6a). Cet habitus est celui des formes de résistance à la sécheresse, c'est-à-dire celui des nématodes à l'état anhydrobiotique.

Immergés dans une goutte d'eau, ces nématodes quittent leur habitus spiralé et redeviennent actifs (= processus de reviviscence).

c - Cinétique des différentes phases de la reviviscence.

Elle a été examinée seulement dans le cas d'une larve de *Scutellonema cavenessi* et d'une larve de 2^{ème} stade de *Meloidogyne*.

α - Larve de *Scutellonema cavenessi* (fig. 5).

Nous avons pu distinguer une première phase où le nématode quitte son habitus spiralé représenté par les clichés a, b, c, d pris respectivement 4, 14, 37 et 57 minutes après immersion de la larve dans une goutte d'eau, et une phase de réactivation de plus longue durée (24 heures) qui aboutit à l'état actif (cliché e).

<p>Etat initial du nématode <u>Scutellonema cavenessi</u> :</p>	<p>Etat de <u>S.cavenessi</u> après passage dans différentes Solutions de NaCl :</p> <p>17%_o 25%_o 35%_o 70%_o 80%_o</p>			
<p>Etat actif (50)</p>	<p><u>S.cavenessi</u> actifs</p>	<p><u>S.cavenessi</u> inactifs hydratés</p>	<p><u>S.cavenessi</u> inactifs déshydratés partiel- lement.</p>	
<p>Etat déshydraté (50)</p>	<p><u>S.cavenessi</u> réhydratés</p>		<p><u>S.cavenessi</u> non réhydratés</p>	

Tableau 6 : Etat de Scutellonema cavenessi : larves et adultes actifs et déshydratés après 2 heures de séjour dans différentes solutions de NaCl.

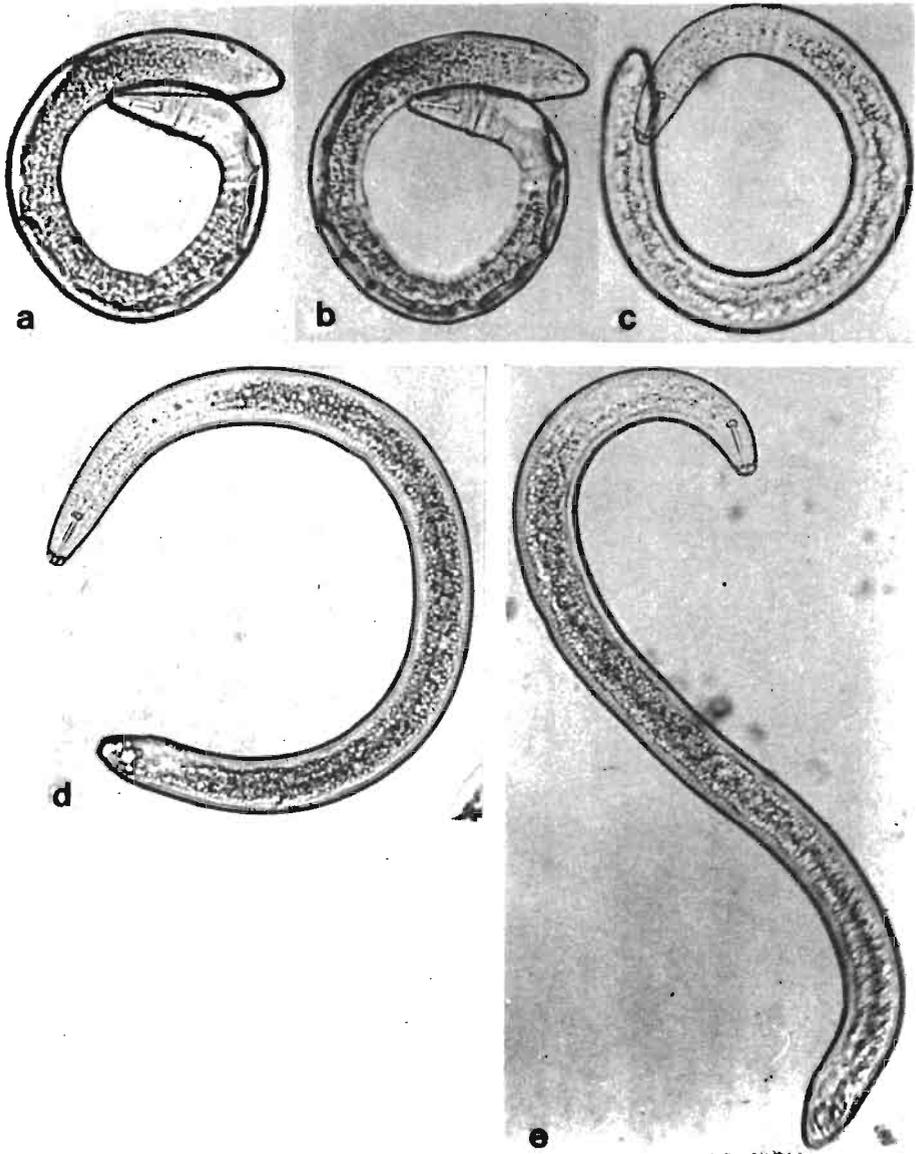


FIGURE 5 : DIFFERENTES PHASES DE LA REVIVISCENCE D'UNE LARVE DE *Scutellonema cavenessi*.

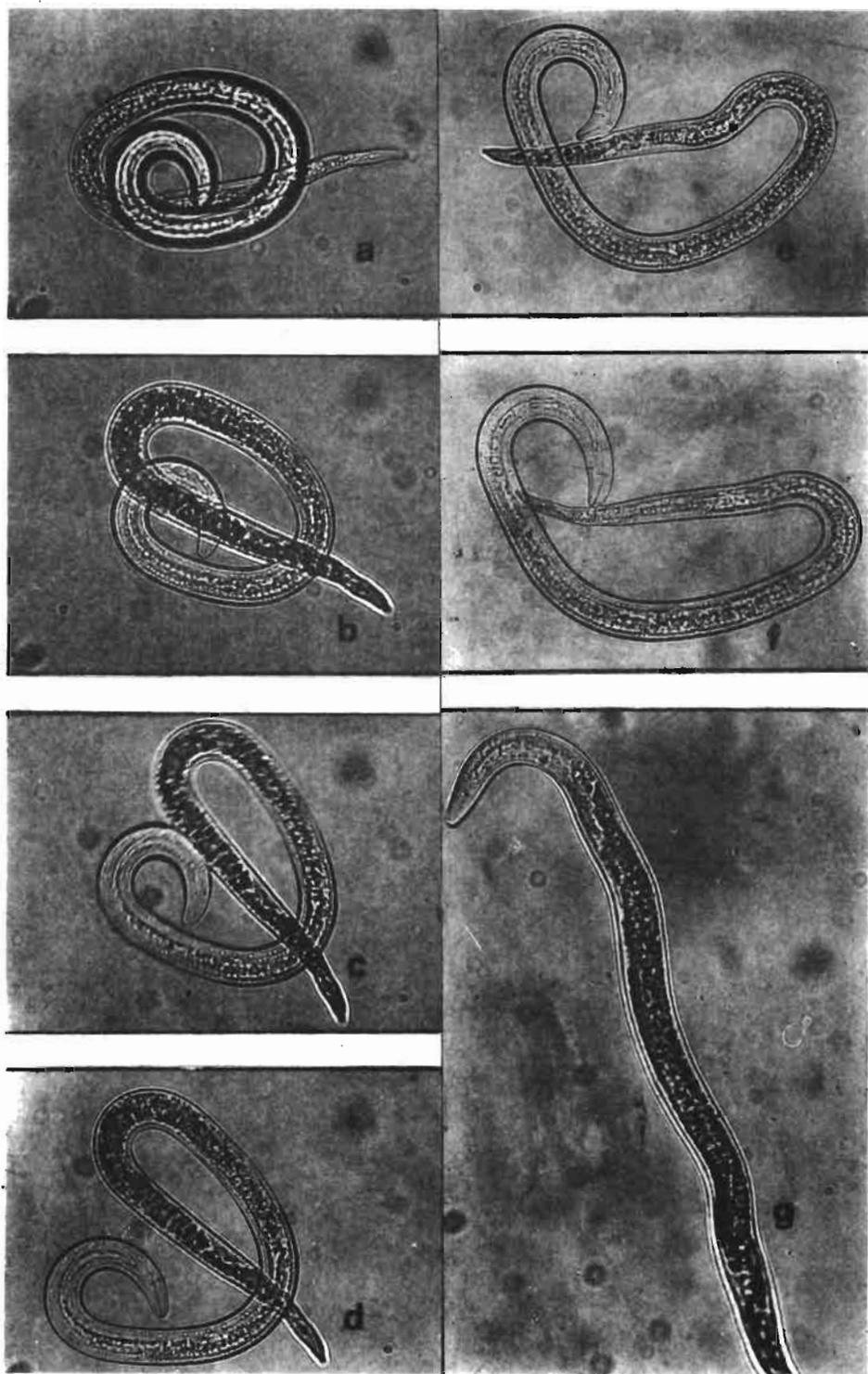


FIGURE 6 : DIFFERENTES PHASES DE LA REVIVISCENCE D'UNE LARVE DE 2^{ème} STADE DE *Meloidogyne*.

β - Larve de 2ème stade de *Meloidogyne* (fig.6).

Les deux phases décrites dans le cas de la larve de *S.cavenessi* se retrouvent ici, mais sont nettement plus brèves : la phase où la larve quitte l'habitus spiralé (clichés a, b, c, d, e, f) est d'une durée totale de 15 minutes suivie d'une phase de réactivation qui dure 4 heures.

2.4. DISCUSSION.

Les larves de 3ème et 4ème stades et les adultes (mâles et femelles) de *Scutellonema cavenessi*, ainsi que les larves de 2ème stade de *Meloidogyne*, ont été extraits des échantillons de sol prélevés en saison sèche sous un habitus spiralé par la méthode d'extraction saline.

Dans aucun des échantillons traités, soit par la méthode d'extraction saline, soit par la fixation au lactophénol, nous n'avons pu observer de nématodes spiralés dans un cocon du type de ceux décrits par Coomans et De Grisse (1963) chez *Trichotylenchus falciiformis*.

Nos résultats relatifs à la spiralisation anhydrobiotique de *Scutellonema cavenessi* et *Meloidogyne* peuvent être comparés à ceux de Freckman, Kaplan et Van Gundy (1977) qui ont extrait par centrifugation d'échantillons de sol du désert de Mojave (Californie) en suspension dans une solution de sucre 1,25 M des nématodes des genres *Acrobeles*, *Stegelleta*, *Chiloplacus*, *Aphelenchoides*, *Aphelenchus*, *Paraphelenchus* et *Tylenchorhynchus*, sous un habitus spiralé. Cette similitude des résultats nous a conduit à entreprendre, en collaboration avec les Drs Freckman et Van Gundy, l'étude de l'habitus qu'adoptent les nématodes dans des échantillons de sol que l'on dessèche progressivement.

3. PHYSIOLOGIE DES NEMATODES ANHYDROBIOTIQUES

Dans ce chapitre, nous rapportons premièrement des travaux dont le but était d'induire la spiralisation des nématodes (habitus observé parmi les nématodes extraits d'échantillons de sol sec, cf chapitre 2) dans un sol en voie de dessèchement et d'étudier sa mise en place en relation avec les caractéristiques physiques du sol. Cette étude a été faite en Californie, où il n'y a pas de *Scutellonema cavenessi*, mais une espèce voisine *S. brachyurum*.

Puis, après avoir défini les conditions de la dessiccation qui, dans une enceinte close à humidité relative contrôlée, conduisent les individus libres de *S. cavenessi* à un état anhydrobiotique et non à la mort, nous avons comparé parmi les larves de 3^{ème} et 4^{ème} stade, les mâles et les femelles de *S. cavenessi*, les larves de 2^{ème} stade et les masses d'oeufs de *Meloidogyne javanica* anhydrobiotiques, leur résistance à divers traitements déshydratants. A ce dernier sujet, nous nous sommes appliqué à préciser l'importance des réserves lipidiques et glucidiques dans la résistance à la dessiccation des femelles de *S. cavenessi* et des larves de 2^{ème} stade de *Meloidogyne javanica*.

Enfin, nous avons comparé parmi les larves de 3^{ème} et 4^{ème} stade, les mâles, les femelles de *S. cavenessi*, les larves de 2^{ème} stade, les masses d'oeufs de *M. javanica* actifs et anhydrobiotiques, les effets d'une exposition à des températures élevées.

3.1. SPIRALISATION ANHYDROBIOTIQUE DE SCUTELLONEMA BRACHYURUM DANS LE SOL.

3.1.1. INTRODUCTION.

Chez les nématodes, l'association de la spiralisation et de l'anhydrobiose a été observée chez *Anguina tritici* (larves de 2^{ème} stade) par Bird et Buttrose (1974) et chez *Aphelenchus avenae* (larves et adultes) par Crowe et Madin (1974). Des nématodes spiralés, isolés d'échantillons de sol de zones désertiques, ont été observés par Demeure (1975), Freckman, Kaplan et Van Gundy (1977), Freckman (sous presse). Bien qu'aucun nématode spiralé n'ait pu être directement observé dans des échantillons de sol sec, il a été supposé que c'est sous cet habitus qu'ils sont capables de survivre à la sécheresse.

Aussi, les objectifs de ce travail ont été d'induire la spiralisation de *Scutellonema brachyurum* dans un sol en voie de dessèchement, d'étudier la mise en place de cette spiralisation en relation avec les caractéristiques physiques du sol lorsqu'il se dessèche et d'essayer d'observer des individus anhydrobiotiques de *S. brachyurum* directement dans des échantillons de sol.

3.1.2. MATERIEL ET METHODES.

a - Matériel animal.

Cette étude a porté sur un mélange des stades libres de *Scutellonema brachyurum*. Ceux-ci ont été extraits d'échantillons de sol collectés au voisinage de racines de bananiers, sur le campus de l'Université de Riverside (Californie), selon la technique de l'entonnoir de Baermann (1917), 24 h avant le début de l'expérimentation.

b - Caractéristiques physiques des sols étudiés.

La teneur en eau des deux types de sol choisis, car très fréquents en Californie, un sable argileux (sable 92,4%, limon 3,9%, argile 3,7%) et une argile sablonneuse (sable 72,8%, limon 21,2%,

argile 6%) était contrôlée, à 20°C par une presse à membrane. Une représentation schématique de l'appareillage utilisé est illustrée sur la figure 7. Nous disposions de deux types de presse, l'une utilisable entre 0 et 3 bars, l'autre entre 0 et 15 bars. Pour chacune des pressions testées (cf infra) la teneur en eau des échantillons de chacun des deux sols était déterminée par pesée, avec cinq répétitions, avant et après passage à l'étuve pendant 24 h à 105°C.

L'aire de la surface des particules minérales de chacun des deux types de sol était déterminée par adsorption d'éthylène glycol monoéthyl ether (EGME) selon la technique de Carter, Heilman et Gonzales (1965) et de Heilman, Carter et Gonzales (1965) : le sol est desséché à 105°C pendant 24 h, puis 1,1 g de ce sol sec est recouvert avec 1 ml de EGME et placé dans un dessiccateur rempli de CaCl₂, pendant 72 h. Le sol est pesé à nouveau pour déterminer la quantité d'EGME adsorbé à la surface des particules de sol. L'aire de la surface des particules de sol (S) est calculée d'après la formule :

$$S \text{ (m}^2\text{/g sol sec)} = \frac{\text{quantité de EGME adsorbé (g)}}{\text{quantité de sol sec (g)} \times K}$$

à 20-25°C, $K = 0.000\ 286 \text{ g/m}^2$

L'épaisseur du film d'eau recouvrant chacune des particules de sol est évaluée après avoir calculé l'aire de la surface des particules de sol du sable argileux (11,2 m²/g) et de l'argile sablonneuse (15,2 m²/g) et après avoir estimé la teneur en eau de chacun de ces deux types de sol quand chacune des particules est couverte d'une couche monomoléculaire d'eau (CME), suivant la formule :

Aire de la surface du sol (m²/g sol sec) X Poids d'une molécule d'eau (g)

$$\text{Surface d'une molécule d'eau (Å)} \times 6.023.10^{23}$$

Poids d'une molécule d'eau = 18.10^{-20}

Surface d'une molécule d'eau = 10.8 Å

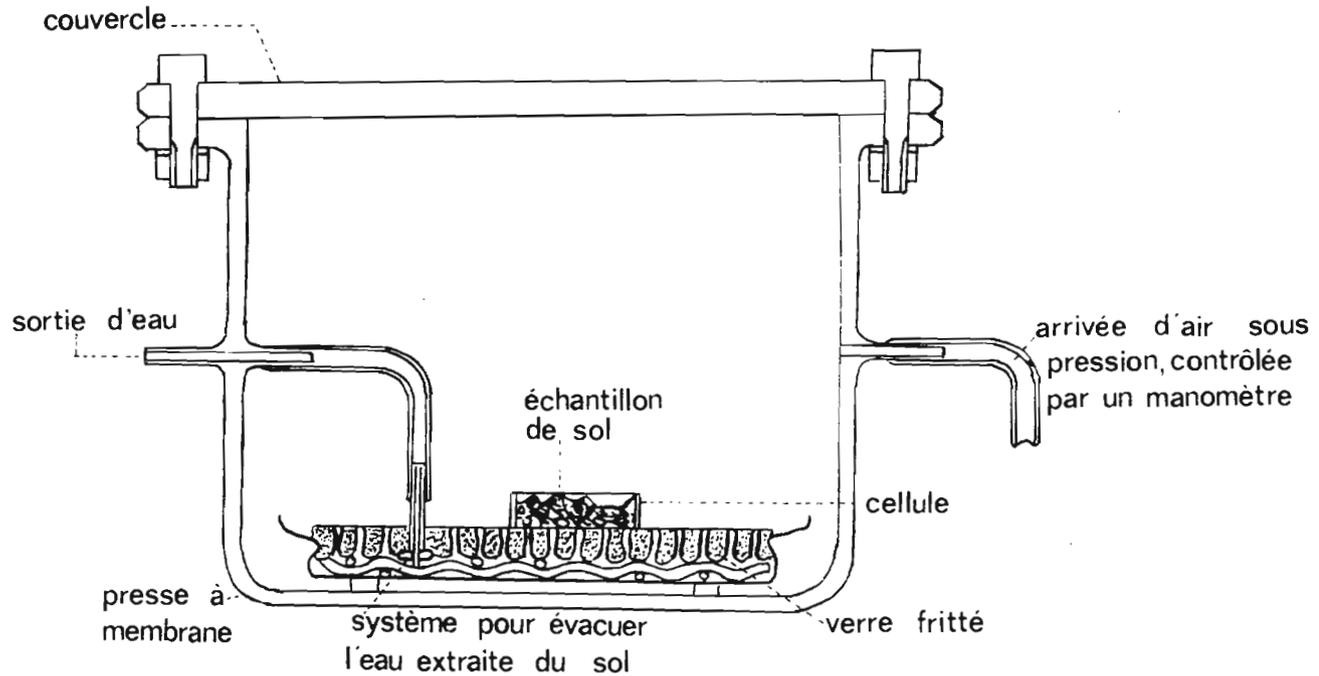


FIGURE 7 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE EN COUPE DE L'APPAREILLAGE EXPERIMENTAL UTILISE POUR LE CONTROLE DE LA TENEUR EN EAU D'ECHANTILLONS DE SOL

Dans ces conditions la teneur en eau du sable argileux et de l'argile sablonneuse est respectivement de $3,099 \times 10^{-3}$ g d'eau/g de sol sec et $4,255 \times 10^{-3}$ g d'eau/g de sol sec.

L'évaluation de l'épaisseur du film d'eau, en nombre de couches monomoléculaires, recouvrant chacune des particules de sol est faite selon la relation suivante :

Teneur en eau du sol (g d'eau/g sol sec)

Nombre de CME = $\frac{\text{-----}}{\text{-----}}$

Teneur en eau du sol lorsque chaque particule
minérale est recouverte d'une CME (g d'eau/g sol)

c - Traitement

Chaque dispositif expérimental consiste en 30 cellules de polyéthylène (2,5 cm de diamètre et 1 cm de haut), placées sur une presse à membrane, représentant six traitements avec cinq répétitions par traitement. Approximativement, 5cm³ de sol sec stérile de nématodes sont disposés dans chacune des cellules ; puis les échantillons de sol sont humidifiés avec de l'eau par capillarité jusqu'à saturation. Les 200 *Scutellonema* sont ensuite déposés par pipetage dans chacun des échantillons de sol.

Les traitements consistent à appliquer des pressions de 0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 et 3 bars sur la presse à membrane 0-3 bars et 0, 0.5, 1, 3, 6 et 9 bars sur la presse 0-15 bars. Débutant à saturation, la pression à l'intérieur de la presse est augmentée jusqu'au traitement suivant pendant 24 h, puis le container est ouvert, 5 des cellules contenant sol et nématodes sont retirées et placées dans un sac plastique jusqu'à la fin de l'expérience, ceci afin que les nématodes de chacun des traitements soient maintenus dans le sol pendant le même laps de temps. Puis, le container est clos à nouveau et la pression augmentée jusqu'au traitement suivant 24 h plus tard.

d - Extraction et observation des nématodes.

Les nématodes sont extraits des échantillons de sol contenus dans les cellules selon le procédé Freckman, Kaplan et Van Gundy

(1977). Ensuite, est évalué, parmi les nématodes en suspension dans la solution de saccharose 1.25 M (cf chapitre 2), le pourcentage d'individus spiralés; ces nématodes spiralés sont ensuite transférés dans de l'eau distillée afin de dénombrer après 24 h le pourcentage d'individus reviviscents.

Par ailleurs, des échantillons de sol provenant du traitement "9 bars" sont collés, sur des microplots de microscope à balayage, avec une suspension conductive d'argent puis fixés à l'or sous vide et observés sous un microscope à balayage type Joelco (Model n° HSM-U3).

3.1.3. RESULTATS.

Le tableau 7 résume les résultats relatifs aux effets de la pression, de la teneur en eau et de l'épaisseur du film d'eau sur le pourcentage de spiralisation des nématodes dans les cas des sols de type sable argileux et argile sablonneuse. Avec le sable argileux, le pourcentage de spiralisation de *Scutellonema brachyurum* augmente fortement pour atteindre 67% lorsque la teneur en eau du sol atteint 2.8% ou lorsque l'épaisseur du film d'eau enveloppant chacune des particules minérales du sol est de 9 CME. Dans le cas de l'argile sablonneuse, le pourcentage de spiralisation de *S. brachyurum* est élevé (80%) lorsque la teneur en eau de l'échantillon de sol atteint 3,39% ou lorsque l'épaisseur du film d'eau est de 8 CME.

Il y a une relation inverse entre la teneur en eau du sol et le pourcentage de spiralisation de *S. brachyurum* : lorsque les pores du sol se vident d'eau, il y a spiralisation des nématodes.

Le pourcentage de spiralisation est maximum dès que la teneur en eau du sol atteint 2,52% et 3,02% ou que l'épaisseur du film d'eau est de 8 ou 7 CME, respectivement, dans le cas du sable argileux ou de l'argile sablonneuse.

Le pourcentage de survivance, après chacun des traitements, est situé entre 93 et 99,3%.

L'examen d'échantillons de sol sec sous le microscope à balayage a permis l'observation *in situ* dans les pores du sol de

Pression (bars)	Sol de type sable argileux				Sol de type argile sablonneuse			
	Teneur en eau du sol (%)	Epaisseur du film d'eau *	% <u>S.brachyurum</u> spiralés	% <u>S.brachyurum</u> actifs après traitement	Teneur en eau du sol (%)	Epaisseur du film d'eau	% <u>S.brachyurum</u> spiralés	% <u>S.brachyurum</u> actifs après traitement
0.0	28,60	92	9,9	96,6	37,75	89	0	98,5
0.1	5,80	19	17,8	95,5	16,03	38	10,8	97,8
0.3	4,53	15	21,4	98	8,96	21	18	99,3
0.5	2,78	9	67	98	5,70	13	24,4	93
1.0	2,52	8	85	98	4,80	11	27,7	94,5
3.0	2,12	7	82,1	96,7	3,71	9	34,9	96,3
6.0	2,02	6			3,39	8	80	94,5
9.0	1,82	6			3,02	7	89,7	97,5

* L'épaisseur du film d'eau est exprimée en nombre de couches monomoléculaires d'eau.

Tableau 7 : Pourcentage de Scutellonema brachyurum spiralé en fonction de la teneur en eau du sol et de l'épaisseur du film d'eau recouvrant chacune des particules de ce sol.

S. brachyurum spiralés. La figure 8 illustre la conformation typique qu'adopte *S. brachyurum* dans un sol traité à une pression de 9 bars.

3.1.4. DISCUSSION.

Ces résultats indiquent très clairement que la spiralisation de *Scutellonema brachyurum* dans un sol en voie de dessèchement se produit bien avant que la teneur en eau des sols étudiés n'égale celle correspondant au point de flétrissement permanent des plantes (15 bars). Quel est le facteur susceptible d'induire la spiralisation ? L'humidité relative de l'atmosphère des pores du sol se maintient à saturation jusqu'au point de flétrissement des plantes (Brady, 1974). L'humidité relative des pores du sol n'est donc pas le facteur qui, dans les conditions de notre expérimentation, a induit la spiralisation de *Scutellonema brachyurum*.

Par contre, nos données font apparaître qu'il y a une plus proche relation entre l'épaisseur du film d'eau sur les particules du sol et la spiralisation de *S. brachyurum* qu'entre la teneur en eau du sol et la spiralisation. En extension à la théorie de Wallace (1959) qui suggère que le déplacement des nématodes dans le sol est optimal lorsque l'épaisseur du film d'eau égale 2-5 μm nous proposons l'hypothèse qu'un film d'eau plus petit que 0,01 μm induit la spiralisation de *S. brachyurum*. La force développée par un film d'eau de 8-9 CME d'épaisseur contribue très certainement à développer le phénomène de la spiralisation.

De très récents travaux (Demeure, Freckman & Van Gundy, 1978; Demeure, Freckman & Van Gundy, 1979 a) ont mis en évidence que le pourcentage de spiralisation d'*Aphelenchus avenae* et d'*Acrobeloides* sp est maximal dans un sable argileux ou dans une argile sablonneuse lorsque l'épaisseur du film d'eau se situe entre 6 et 9 CME.

Nous remarquerons qu'un faible pourcentage de *S. brachyurum* apparaît spiralé même aux faibles pressions (tableau 7), c'est-à-dire lorsque la teneur en eau du sol est élevée ; cela pourrait provenir du fait que la spiralisation est parfois une réponse de *S. brachyurum* à leur extraction du sol.

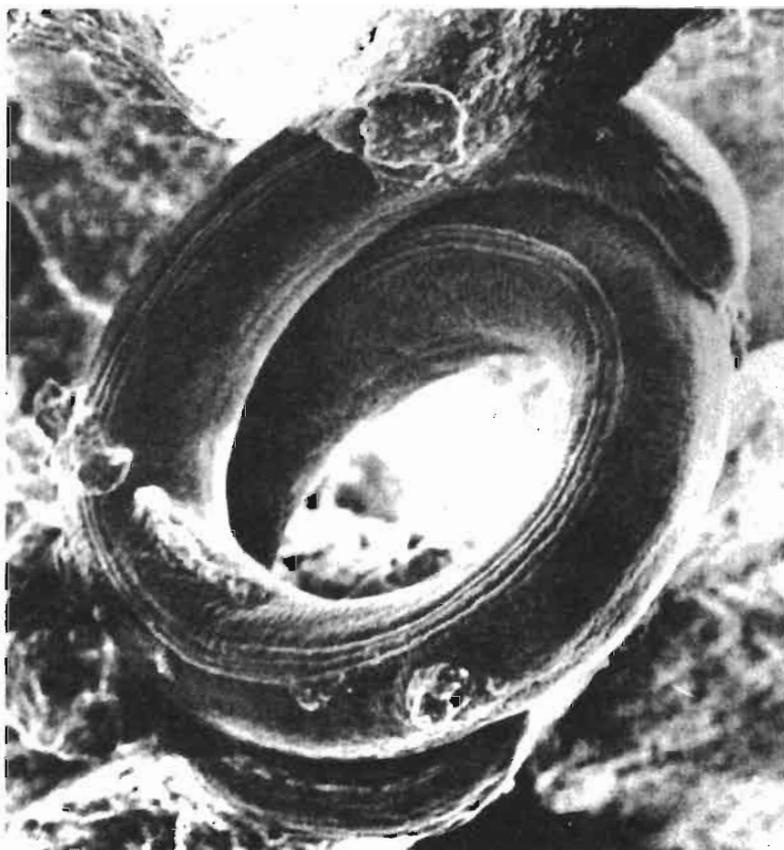


FIGURE 8 : HABITUS D'UNE FEMELLE DE *Scutellonema brachyurum*,
OBSERVEE *in situ* DANS UN ECHANTILLON DE SOL SEC SOUS
LE MICROSCOPE A BALAYAGE.

Ces travaux sur *Scutellonema brachyurum* rejoignent les conclusions rapportées dans le chapitre 2 quant à l'habitus adopté par les individus libres de *Scutellonema cavenessi* et des larves de 2^{ème} stade de *Meloidogyne* sp. en sol sec. Ce processus de spiralisation du nématode, selon Bird et Buttrose (1974), aurait pour conséquence la réduction de la surface des téguments qui sont en contact avec l'environnement déficitaire en eau.

Cet habitus spiralé est une visualisation de l'état anhydrobiotique avec tout de même une nuance qui nous a récemment été suggérée suite à de très récents travaux sur *Aphelenchus avenae*, *Helicotylenchus dihystra* et *Acrobeloides* sp. et *Scutellonema brachyurum*: la spiralisation des nématodes apparaît être une première réaction à la deshydratation tandis que l'anhydrobiose serait une réponse physiologique plus tardive (Freckman, Demeure & Van Gundy, 1978 ; Demeure, Freckman & Van Gundy, 1979b).

Les observations au champ, rapportées dans le premier chapitre, ont très clairement mis en évidence différents degrés quant à la résistance, dans le sol, des différents stades de *S. cavenessi* et *Meloidogyne* aux conditions climatiques de la saison sèche.

Afin de préciser, en les amplifiant, l'action des principaux facteurs abiotiques reconnus sur le terrain (humidité, température), nous avons entrepris une série d'observation au laboratoire.

3.2. ETUDE EXPERIMENTALE DE LA RESISTANCE A LA DESHYDRATATION DES NEMATODES EN ANHYDROBIOSE

3.2.1. INTRODUCTION.

L'importance d'une progressivité dans la deshydratation par l'établissement d'une résistance de la part des nématodes a été signalée chez plusieurs espèces : *Heterodera schachtii* (Franklin, 1937), *Heterodera glycines* (Endo, 1962), *Globodera rostochiensis* (Ellenby, 1968 a et b), *Aphelenchus avenae* (Crowe, 1971), *Tylenchorhynchus dubius* et *Rotylenchus robustus* (Simons, 1973). Nous nous sommes efforcé de préciser ce qu'il en était pour les larves, les mâles et les femelles de *Scutellonema cavenessi*.

Quant à la durée de vie des nématodes en état anhydrobiotique, elle varie très largement selon les espèces (Van Gundy, 1965). Le record semble être détenu par *Tylenchus polyhynchus* qui, selon Steiner et Albin (1946), a survécu 39 ans en anhydrobiose. Mais tous les stades de développement ne semblent pas également aptes à résister à la sécheresse, les stades non éclos semblant les plus résistants. C'est en particulier le cas chez *Meloidogyne* : Godfrey et Morita (1929), Godfrey et Hoshino (1933), de Guiran (1966 b) ont en effet observé que les oeufs de *Meloidogyne* inclus dans la masse gélatineuse sont plus résistants à la dessiccation que les oeufs libres, eux-mêmes plus résistants que les larves de 2ème stade, libres dans le sol. En ce qui concerne les stades libres, Cairns (1953), Cayrol (1970 a et b), Evans et Perry (1976) observent que les 3ème et 4ème stades larvaires de *Ditylenchus myceliophagus* sont plus résistants à la dessiccation que les autres stades larvaires et les adultes. Mais cette observation n'est pas généralisable à l'ensemble des nématodes puisque Huang et Huang (1974) ne trouvent aucune différence quant à la résistance entre les larves et les adultes d'*Aphelenchoides besseyi*.

Nous avons voulu tester différents stades à l'état anhydrobiotique de *Scutellonema cavenessi* et de *Meloidogyne javanica* à divers traitements déshydratant afin de comparer leur résistance.

3.2.2. MATERIEL ET METHODES.

a- Matériel animal.

Etant donné que nous ne maîtrisons pas l'élevage de *Scutellonema cavenessi*, les larves de 3ème et 4ème stades et les adultes (mâles et femelles) utilisés pour l'expérimentation ont été extraits, 24 h avant le début de chacune des expériences, selon la technique de Seinhorst (1956, 1962) à partir d'échantillons de sol récoltés sur une parcelle d'essai de l'ORSTOM, à Dakar, cultivée en arachide depuis 1974.

En ce qui concerne *Meloidogyne*, nous avons expérimenté sur des masses d'oeufs et des larves de 2ème stade provenant d'un élevage de *M. javanica*, c'est-à-dire sur l'une des trois espèces présentes au champ, entretenue en serre à 28°C sur aubergine (*Solanum melongena* L.). Cet élevage est issu d'une masse d'oeufs provenant d'une population récoltée en février 1974 sur une parcelle d'essai du Centre ORSTOM de Dakar, cultivée en aubergines. Les masses d'oeufs utilisées sont celles recueillies sur les racines six semaines après l'inoculation sur aubergines de larves de 2ème stade, et 24 h avant le début de chaque expérimentation. De façon à obtenir des larves de 2ème stade fraîchement écloses et homogènes du point de vue âge, ces masses d'oeufs sont mises à éclore pendant 24 h dans un extracteur à brouillard, type Seinhorst (1950).

b - Description de l'enceinte close et méthodologie de son emploi pour tester la résistance à la dessiccation.

α Schéma et principe.

Des enceintes closes à humidité contrôlée ont déjà été utilisées pour tester la résistance à la dessiccation des nématodes (Steward & Douglas, 1938; Wallace, 1962; Simons, 1973). Le type d'enceinte utilisé, semblable à celui décrit par Simons (1973) (fig.9) est représenté schématiquement sur la fig. 10 : l'humidité relative à l'intérieur y est contrôlée, entre 50 et 100%, par des solutions de glycérine (tableau 8). Il existe une relation inverse, pour une température donnée, 20°C dans le cadre de notre expérience, entre l'humidité relative de l'enceinte et la richesse de la solution en glycérine (Stakman, 1968 ; Simons, 1973 ; Demeure, 1975).

β Introduction des nématodes dans l'enceinte close

Les nématodes à étudier sont déposés dans un verre de montre, type BPI, contenant de l'eau distillée évacuée à l'aide d'une micro-pipette jusqu'à ce que seule subsiste une pellicule aqueuse autour de chacun des nématodes. Les verres de montres sont alors introduits dans les enceintes par l'intermédiaire d'un tiroir coulissant (fig. 10, n°4). Dans l'enceinte, l'humidité relative a été équilibrée à 100%, 24 h avant l'introduction des nématodes.

γ Modalités de déshydratation de l'atmosphère de l'enceinte close.

Dans le cas d'une déshydratation rapide menée jusqu'à 50%, les nématodes, après avoir été exposés 24 h à 100% d'humidité relative, sont exposés directement à une humidité relative de 50% en substituant, grâce aux orifices 1 et 2 (fig.10) aménagés dans l'enceinte close, une solution de glycérine de densité 1,20 à la solution de densité 0,998.

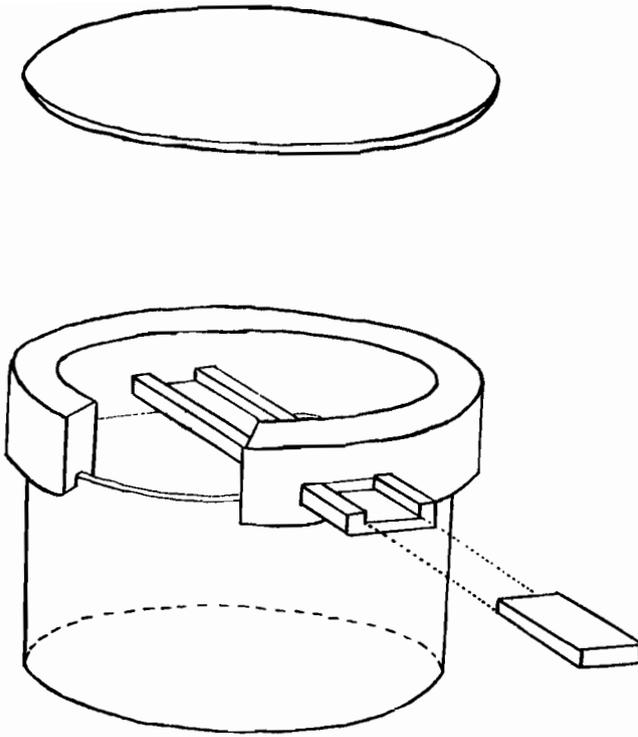


FIGURE 9 : REPRODUCTION DE L'ENCEINTE CLOSE A HUMIDITE
RELATIVE CONTROLEE, DECRITE PAR SIMONS, 1973.

- 1 Orifice utilisé pour l'introduction de la solution de glycérine.
- 2 Orifice utilisé pour l'évacuation de la solution de glycérine.
- 3 Solution de glycérine.
- 4 Tiroir coulissant sur lequel sont placés les verres de montre.
- 5 Verre de montre type BPI dans lequel sont déposés les nématodes.

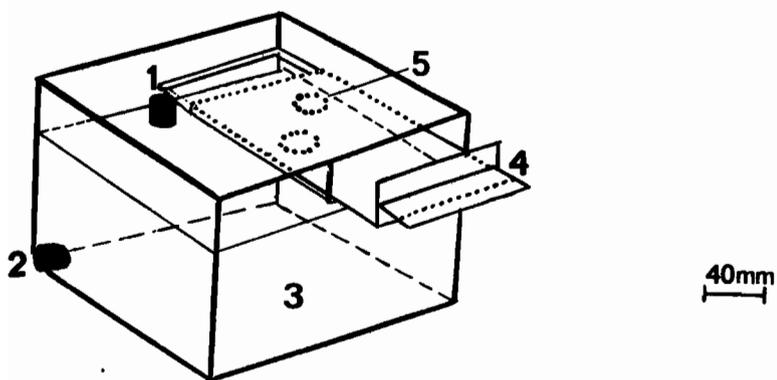


FIGURE 10 : ENCEINTE CLOSE UTILISEE POUR LES EXPERIENCES DE DESSICCATION *in vitro* SUR *Scutellonema cavenessi* ET *Meloidogyne javanica*.

Densité des solutions de glycérine	Humidité relative (%)
0.998	99-100
1.030	97,7
1.046	96
1.066	93
1.099	87,9
1.132	79,5
1.186	66,5
1.20	50

Tableau 8 : Humidité relative correspondant à chacun des mélanges eau et glycérine utilisés pour la deshydratation des nématodes in vitro.

Dans le cas d'une déshydratation progressive menée jusqu'à 50%, l'abaissement de l'humidité relative de l'enceinte est effectué en huit jours par changement, toutes les 24 h, de la solution de glycérine conformément au tableau 8, c'est-à-dire en sept étapes : 97,7%, 96%, 93%, 87,9%, 79,5%, 66,5% et 50%.

δ - Méthode d'évaluation de la résistance des nématodes à la dessiccation.

De façon à évaluer le nombre d'individus libres qui survivent au traitement déshydratant, les nématodes sont retirés des enceintes closes et déposés sur un filtre de cellulose humide lui-même placé sur un support métallique, type tamis à larges ouvertures (1 mm). Seuls sont considérés comme reviviscents ceux qui, placés à 28°C et dans des conditions optimales d'oxygénation (mince film d'eau distillée les recouvrant), traversent ce filtre, les comptages étant effectués à 24 h d'intervalle.

Un procédé semblable est utilisé pour ceux des oeufs qui, non détruits par le traitement déshydratant, éclosent sur le filtre de cellulose humide : les larves libérées traversent le filtre, sont récupérées dans une boîte de Petri et dénombrées chaque 24 h.

3.2.3. RESULTATS.

a - Effets de déshydratations rapides ou progressives dans le processus d'installation de la résistance à la déshydratation chez *Scutellonema cavenessi* (tableau 9).

Sur un nombre moyen de 50 larves de 3^{ème} et 4^{ème} stades et de 50 mâles et 50 femelles (4 répétitions), aucun ne s'est montré reviviscents à la suite d'une déshydratation rapide menée jusqu'à 50% d'humidité relative. Par contre, un nombre moyen de 25,75 larves, 25,50 mâles et 24,25 femelles se sont montrés reviviscents à la suite d'une déshydratation progressive (huit jours), jusqu'à 50% d'humidité relative. Cependant, dans ces conditions, une analyse de variance F (2-9) = 0.282 ne donne aucune différence significative entre les nombres moyens

<u>Scutellonema cavenessi</u> nombre initial			<u>Scutellonema cavenessi</u> nombre d'individus reviviscents après une deshydratation rapide			<u>Scutellonema cavenessi</u> nombre d'individus reviviscents après une deshydratation progressive		
larves 3 ^{ème} & 4 ^{ème} stade	mâles	femelles	larves	mâles	femelles	larves	mâles	femelles
50	50	50	0	0	0	25	23	22
50	50	50	0	0	0	23	28	29
50	50	50	0	0	0	28	26	21
50	50	50	0	0	0	27	21	25
X = 50	50	50	0	0	0	25.75	24.50	24.25

Tableau 9 : Nombre de Scutellonema cavenessi (larves de 3^{ème} et 4^{ème} stade, mâles et femelles) reviviscents suite à une deshydratation rapide (diminution de l'humidité relative de l'enceinte de 100% à 50% en 1 jour) ou une deshydratation progressive (diminution de l'humidité relative de l'enceinte de 100% à 50% en 8 jours).

correspondant aux différents stades.

b- Pourcentage de reviviscence des individus libres de *Meloidogyne javanica* et *Scutellonema cavenessi* à la suite d'une déshydratation progressive (tableau 10).

Aussi bien chez *M.javanica* que chez *S.cavenessi*, on observe une diminution du pourcentage de reviviscence des lots exposés à des humidités relatives de plus en plus faibles : 43,2% et 0,1% des larves de 2ème stade de *Meloidogyne javanica* sont reviviscentes après des déshydratations progressives menées respectivement jusqu'à 96 et 87,9% d'humidité relative ; 89,8% et 52% des individus libres de *Scutellonema cavenessi* sont reviviscents après des déshydratations progressives conduites respectivement jusqu'à 97,7 % et 50% d'humidité relative.

On note aussi la plus faible résistance à la dessiccation des larves de 2ème stade de *M.javanica* comparée aux individus libres de *S.cavenessi* : à la suite d'une déshydratation progressive conduite jusqu'à 50% d'humidité relative, respectivement 0 et 52% des larves de *M.javanica* et des individus libres de *S.cavenessi* survivent.

D'autre part, une analyse de variance à trois facteurs contrôlés, $F(2-63) = 0.156$, ne révèle aucune différence significative quant à la résistance à une déshydratation progressive entre les nombres moyens de larves, mâles et femelles de *S.cavenessi*. Par contre, cette analyse statistique, $F(12-63) = 5.130$, met en évidence une interaction significative, pour l'intervalle de confiance 99%, entre l'humidité relative de l'enceinte et le pourcentage de reviviscence des larves, mâles et femelles de ce même nématode.

c- Pourcentage d'éclosion des masses d'oeufs de *Meloidogyne javanica* à la suite d'une déshydratation progressive.

Les pourcentages d'éclosion après chacun des traitements déshydratants sont mentionnés dans le tableau 11. On note une diminution du pourcentage d'éclosion parmi les masses d'oeufs exposées à une humidité relative de plus en plus basse : 47,9% et 1,7% des oeufs

Deshydratation progressive menée à partir de 100% d'humidité relative jusqu'à:	1,2 de <u>Meloidogyne javanica</u> nombre moyen de larves traitées : 76 ¹		1,2,1,3 de <u>Scutellonema cavenessi</u> nombre moyen de larves traitées : 50 ²		mâle de <u>S.cavenessi</u> nombre moyen de ♂ traités : 50 ²		femelle de <u>S.cavenessi</u> nombre moyen de ♀ traités : 50 ²	
	X	%	X	%	X	%	X	%
97,7%			46,50	93	44,50	89	43,75	87,5
96%	32,8	43,2	45	90	41,75	83,5	45,75	91,5
93%	4,4	5,8	46,25	92,5	43,25	86,5	45,50	91
87,9%	0,1	0,1	29,75	60,5	44,50	89	35,25	70,5
79,5%	0	0	39,50	79	35,50	71	34	68
66,5%	0	0	32,50	65	34	68	34,25	68,5
50%	0	0	25,50	51	24,75	49,5	27,75	55,5

1 = 4 répétitions; expérience répétée 2 fois

2 = expérience répétée 4 fois

Tableau 10: Nombre moyen et pourcentage de reviviscence des stades libres de Meloidogyne javanica et Scutellonema cavenessi suite à une deshydratation conduite progressivement jusqu'à différentes valeurs d'humidité relative.

Deshydratation progressive menée à partir de 100% d'humidité relative jusqu'à:	Nombre et pourcentage d'éclosion de dix masses d'oeufs ⁽¹⁾⁽²⁾ de <u>M. javanica</u> .	
	- X	%
96%	3351,50	47,9
93%	2883,75	41,2
87,9%	305	4,4
79,5%	122,75	1,7
66,5%	3,25	⋪ (0,1)
50%	4	⋪ (0,1)

(1) Placées dans des conditions optimales de température (28°C) et d'oxygénation (film d'eau) en l'absence de traitement deshydratant ces 10 masses d'oeufs libèrent un nombre moyen de 6994 larves de 2^{ème} stade.

(2) 4 répétitions.

Tableau 11 : Nombre moyen et pourcentage d'éclosion des masses d'oeufs de Meloidogyne javanica suite à une deshydratation conduite progressivement jusqu'à différentes valeurs d'humidité relative.

inclus dans la masse gélatineuse conservent leur pouvoir d'éclosion après des déshydratations progressives conduites respectivement jusqu'à 96% et 79,5% d'humidité relative.

d- Effet du temps d'exposition (1, 7 ou 14 jours) des individus libres de *Scutellonema cavenessi* et des masses d'oeufs de *Meloidogyne javanica*, respectivement à 97,7% ou 50% d'humidité et 97,7% ou 93%, d'humidité relative sur la reviviscence.

Des lots de 150 individus de *S. cavenessi* (quatre répétitions) et des lots de dix masses d'oeufs de *M. javanica* (quatre répétitions) sont exposés progressivement aux humidités relatives voulues. Les pourcentages de reviviscence sont mentionnés dans les tableaux 12 et 13.

α - En ce qui concerne *S. cavenessi*, il n'y a aucune différence significative entre les nombres moyens de nématodes reviviscents après une exposition à 97,7% d'humidité relative pendant 1, 7 ou 14 jours. Par contre, pour les traitements 1, 7 ou 14 jours à 50% d'humidité relative, il y a une différence significative à 99% entre les nombres moyens de nématodes reviviscents: la différence, significative à 99%, se situe entre les nombre de reviviscence des lots exposés 1 jour et ceux exposés 7 ou 14 jours.

β - En ce qui concerne les masses d'oeufs de *Meloidogyne javanica*, nous avons relevé une différence significative à 99% entre les éclosions après traitement 1, 7 ou 14 jours, respectivement à 97,7% d'humidité relative et 93% d'humidité relative.

Pour les traitements à 97,7% d'humidité relative, la différence significative à 99% se situe entre les nombre d'éclosion des masses d'oeufs exposées 14 jours et de celles exposées 1 ou 7 jours. Quant aux traitements à 93% d'humidité relative, une différence, significative elle-aussi à 99%, apparaît entre les nombre d'éclosion des masses d'oeufs exposées 1 jour et de celles exposées 7 ou 14 jours.

Nombre et pourcentage de reviviscence de 150 <u>Scutellonema cavenessi</u> après avoir été exposés à 97,7% d'humidité relative pendant :						Nombre et pourcentage de reviviscence de 150 <u>Scutellonema cavenessi</u> après avoir été exposés à 50% d'humidité relative pendant :						
1 jour		7 jours		14 jours		1 jour		7 jours		14 jours		
X	%	X	%	X	%	X	%	X	%	X	%	
138	92	135	90	133	88,7	79	52,7	67	44,7	65	43,3	
146	97,3	145	96,7	145	96,7	70	46,7	64	42,7	68	45,3	
143	95,3	143	95,3	141	94	75	50	60	40	59	39,3	
145	96,7	140	93,3	139	92,7	74	49,3	57	38	53	35,3	
<u>Moyenne</u>	143	95,3%	140,75	94,2%	139,5	93%	74,5	49,7%	62	41,3%	61,25	40,8%
<u>Statistique</u>	F (2,9) = 0,667					F (2,9) = 8,605					LSD 0,5 = 8,116	
											LSD 0,1 = 11,661	

Tableau 12 : Effet du temps d'exposition (1,7 ou 14 jours) des stades libres de S.cavenessi à 97,7% et 50% d'humidité relative sur le pourcentage de reviviscence.

Nombre et pourcentage d'éclosion de dix masses d'œufs* de <u>M.javanica</u> après avoir été exposées à 97,7% d'humidité relative pendant :						Nombre et pourcentage d'éclosion de dix masses d'œufs de <u>M.javanica</u> après avoir été exposés à 93% d'humidité relative pendant :					
1 jour		7 jours		14 jours		1 jour		7 jours		14 jours	
X	%	X	%	X	%	X	%	X	%	X	%
7484	87,2	6791	79,2	3172	37	2310	26,9	591	6,9	240	2,8
5683	66,2	7253	84,5	3098	36,1	2477	28,9	352	4,1	139	1,6
7311	85,2	7267	84,7	2473	28,8	2829	33	385	4,5	192	2,2
6859	79,5	7090	82,6	3800	44,3	1341	15,7	409	4,8	154	1,8
Moyenne : 6834,25 79,7% 7100,25 82,7% 3135,75 36,5%						2239,25 26,1% 434,25 5,1% 181,25 2,1%					
Statistique: F (2,9) = 58,225						F (2,9) = 36,083					
LSD (0,5) = 924,309						LSD (0,5) = 597,680					
LSD (0,1) = 1430,187						LSD (0,1) = 858,736					

* Placées dans des conditions optimales de température (28°C) et d'oxygénation (film d'eau) en l'absence de traitement deshydratant ces 10 masses d'œufs libèrent un nombre moyen de 8579,5 larves de 2e stade.

Tableau 13: Effet du temps d'exposition (1,7 ou 14 jours) des masses d'œufs de Meloidogyne javanica à 97,7% et 93% d'humidité relative sur le pourcentage d'éclosion.

e - Exposition de *Scutellonema cavenessi* à 97,7% ou à 50% d'humidité relative pendant 4, 8, 12, 16 ou 20 semaines.

Des lots de 100 individus de *S. cavenessi* ont été déposés dans des enceintes closes ajustées progressivement à 97,7% ou 50% d'humidité relative (quatre répétitions). Les pourcentages de reviviscence après 4, 8, 12, 16 ou 20 semaines sont mentionnés dans le tableau 14. On constate qu'ils sont plus élevés lorsque les individus sont conservés en atmosphère sèche. En particulier, après une période de 12 semaines, 34,7% et 5,2% des *S. cavenessi* exposés respectivement à 50 et 97,7% d'humidité relative, conservent leur capacité de reviviscence.

f - Influence d'un traitement déshydratant sur le temps nécessaire à la reviviscence des individus libres de *Scutellonema cavenessi* et à l'éclosion des masses d'œufs de *Meloidogyne javanica*.

α - *Scutellonema cavenessi*

Le temps nécessaire à la reviviscence a été évalué chez des larves, des mâles et des femelles (150 nématodes pour chacune des quatre répétitions) qui avaient été exposés d'une part pendant 14 jours à 97,7% ou 50% d'humidité relative et d'autre part à 97,7% d'humidité relative pendant 1 ou 14 jours.

α₁ - Effet de l'humidité relative (fig. 11)

Les lots exposés 14 jours à 97,7% ou à 50% d'humidité relative exigent respectivement 3 ou 7 jours afin d'obtenir le nombre maximal d'animaux reviviscents.

α₂ - Effet du temps d'exposition (fig. 12)

Les lots exposés à 97,7% d'humidité relative pendant 1 ou 14 jours exigent respectivement 1 ou 3 jours pour obtenir le nombre maximal d'animaux reviviscents.

Humidité relative	97,7%	50%
Durée du traitement deshydratant (semaines)	Pourcentage de reviviscence	Pourcentage de reviviscence
4	21,75%	51,25%
8	4,25%	18,5%
12	5,25%	34,75%
16	3,25%	12%
20	3,5%	6,5%

Tableau 14: Pourcentage de reviviscence de Scutellonema cavenessi suite à une exposition de 4, 8, 12, 16 ou 20 semaines soit à 97,7% soit à 50% d'humidité relative.

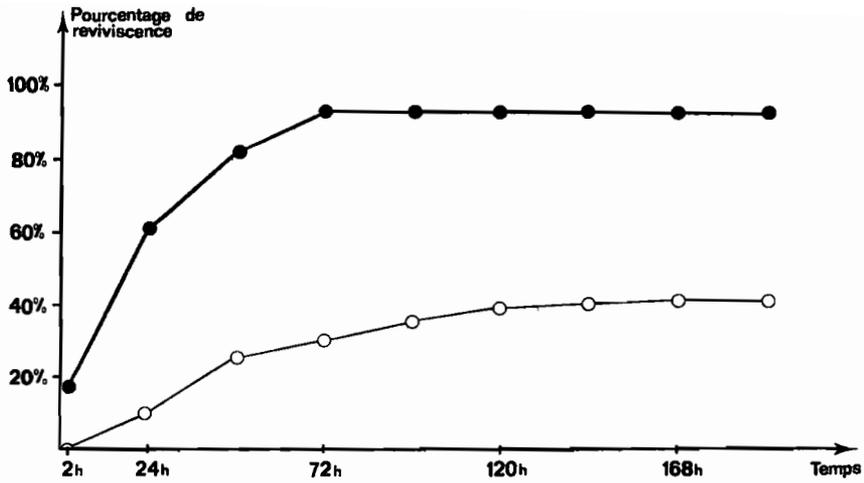


FIGURE 11 : POURCENTAGE DE REVIVISCENCE DE 2 LOTS DE *Scutellonema cavenessi* EXPOSES PENDANT 14 JOURS

à : 97,7 % ● ● ● D'HUMIDITE RELATIVE.
 ou 50 % ○ ○ ○

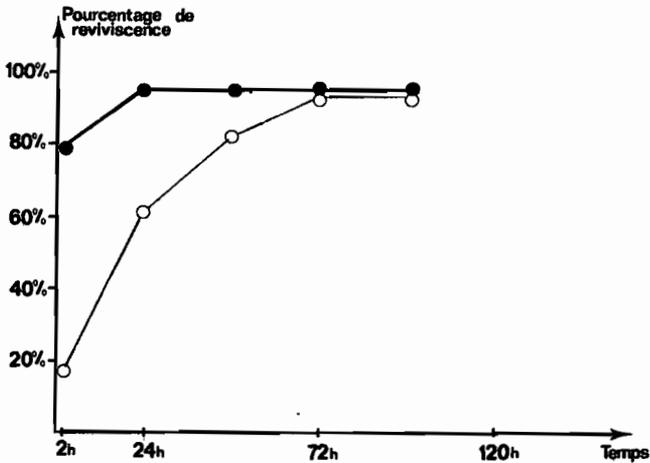


FIGURE 12 : POURCENTAGE DE REVIVISCENCE DE 2 LOTS DE *Scutellonema cavenessi* EXPOSES A 97,7 % D'HUMIDITE RELATIVE PENDANT :

1 jour ● ● ●
 ou 14 jours ○ ○ ○

β - Mcloidogyne javanica

Le temps nécessaire à l'éclosion a été évalué sur des lots de dix masses d'oeufs (quatre répétitions) exposés d'une part 1 jour à 97,7% ou 93% d'humidité relative et d'autre part à 97,7% d'humidité relative durant 1 ou 7 jours.

β_1 - Effet de l'humidité relative (fig. 13)

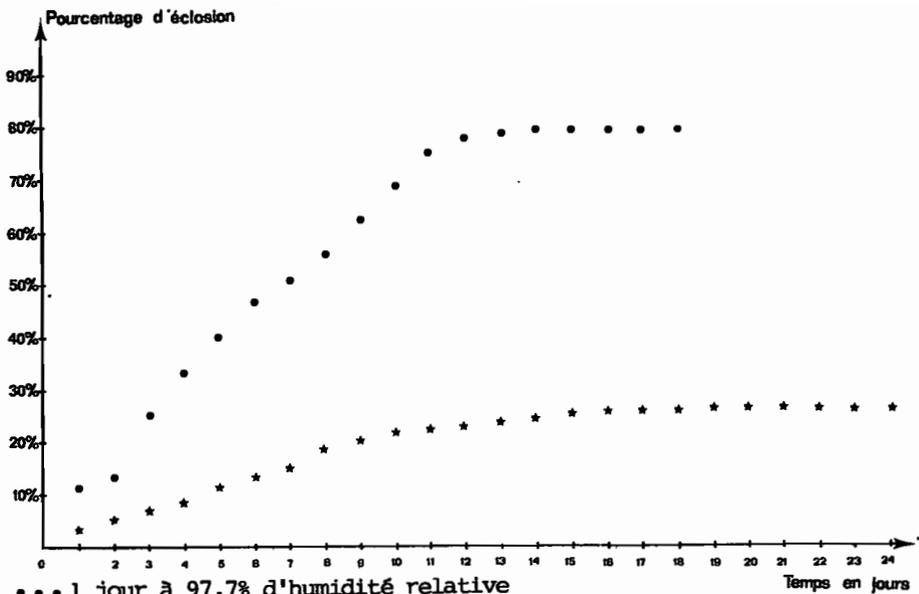
Pour des lots exposés 1 jour à 97,7% ou à 93% d'humidité relative, il faut respectivement 15 et 20 jours pour obtenir le nombre maximal de larves.

β_2 - Effet du temps d'exposition (fig.14)

Pour des lots de masses d'oeufs exposés à 97,7% d'humidité relative pendant 1 ou 7 jours, il faut respectivement 15 et 28 jours pour obtenir le nombre maximal de larves.

3.2.4. DISCUSSION.

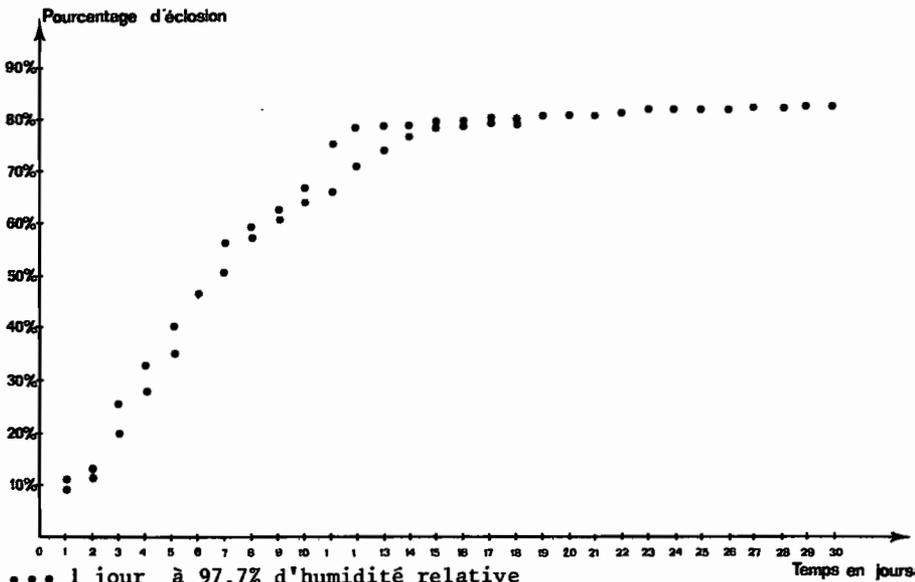
Chez *Scutellonema ovenessi*, le pourcentage de reviviscence après un fort traitement déshydratant (puisque conduit jusqu'à 50% d'humidité relative) est nul lorsque ce traitement est effectué en 24 h ; par contre, il est de 49,6% lorsque ces 50% sont atteints en huit jours. Par conséquent, un traitement déshydratant de type progressif permet la reviviscence des nématodes. Ce résultat est confirmé par de récents travaux sur *Aphelenchus avenae*, *Helicotylenchus dihystrera* et *Acrobeloides* sp. (Freckman, Demeure et Van Gundy, 1978). On n'en comprend pas encore les raisons. Selon Huang et Huang (1974), une déshydratation rapide provoquerait chez les nématodes des dommages irréversibles au niveau cellulaire . Mais il est probable aussi qu'une déshydratation lente permette l'accomplissement de processus métaboliques nécessaires à la mise en place d'un état anhydrobiotique. Nous verrons par la suite comment l'étude de l'évolution des réserves énergétiques durant le processus



••• 1 jour à 97,7% d'humidité relative

*** 7 jours à 97,7% d'humidité relative

FIGURE 13 : POURCENTAGE D'ECLOSION EN FONCTION DU TEMPS DE 2 SERIES DE MASSES D'OEUFS DE *Meloidogyne javanica* EXPOSEES PENDANT 1 ou 7 JOURS A 97,7% D'HUMIDITE RELATIVE.



••• 1 jour à 97,7% d'humidité relative

••• 1 jour à 93% d'humidité relative

FIGURE 14 : POURCENTAGE D'ECLOSION EN FONCTION DU TEMPS DE 2 SERIES DE MASSES D'OEUFS DE *Meloidogyne javanica* EXPOSEES PENDANT 1 JOUR, SOIT A 97,7%, SOIT A 93% D'HUMIDITE RELATIVE.

d'adaptation à l'anhydrobiose peut nous aider à comprendre la nécessité de cette progressivité dans la déshydratation.

Chez *S. cavenessi*, les individus de différents stades libres ont la même capacité de résistance à une déshydratation progressive : 51% des larves, 49,5% des mâles et 55,5% des femelles survivent à une déshydratation conduite progressivement jusqu'à 50% d'humidité relative.

Chez *Meloidogyne javanica*, les masses d'oeufs sont davantage résistantes à la dessiccation que les larves de 2^{ème} stade. En effet, 41,2% des oeufs inclus dans la masse gélatineuse éclosent encore après un traitement déshydratant progressif mené jusqu'à 93% d'humidité relative alors que, dans ces mêmes conditions, 5,8% seulement des larves de 2^{ème} stade retrouvent leur activité. Nos travaux ne permettent cependant pas de savoir si la résistance à la dessiccation des masses d'oeufs de *Meloidogyne* se situe au niveau de la masse gélatineuse (Ellenby, 1968 c) ou au niveau de l'oeuf proprement dit.

Si l'on compare *S. cavenessi* et *M. javanica*, nos résultats expérimentaux montrent que les individus de *Scutellonema cavenessi* sont plus résistants à une déshydratation progressive que les larves de 2^{ème} stade et les masses d'oeufs de *Meloidogyne javanica*.

Nos résultats expérimentaux confirment donc les observations faites sur le terrain.

En ce qui concerne *Meloidogyne*, nous avons observé aussi une résistance plus grande des masses d'oeufs à la sécheresse. En effet, au niveau 0-20 cm du sol, les larves de 2^{ème} stade ont totalement disparu après les six premières semaines de sécheresse alors que quelques oeufs inclus dans la masse gélatineuse conservent leur capacité d'éclosion, celle-ci étant encore possible après sept mois de sécheresse.

En ce qui concerne *S. cavenessi*, nous avons déjà observé que chacun des stades présentait la même capacité de résistance à la sécheresse ; en effet, 50% des larves, 48% des mâles et 46,6% des femelles survivent à neuf mois de sécheresse.

D'un point de vue comparatif, nos observations sur le terrain nous ont déjà laissé supposer que les individus de *S. cavenessi* sont plus résistants à la dessiccation que les masses d'oeufs de *M. javanica*, elles-mêmes plus résistantes que les larves de 2^{ème} stade de ce dernier nématode.

Le pourcentage de reviviscence relativement élevé (34,7%) des *S. cavenessi* exposés douze semaines à 50% d'humidité relative laisse entrevoir la possibilité de leur conservation en atmosphère sèche. Nous rejoignons ici les conceptions de Meagher (1974) suggèrent qu'il est possible de stocker des oeufs d'*Heterodera avenae* dans des enceintes à humidité relative contrôlée.

Notons que le pourcentage de reviviscence des lots de *S. cavenessi* exposés à 97,7% d'humidité relative est très largement inférieur (5,2% pour les lots exposés douze semaines) à celui obtenu avec les lots conservés à 50% d'humidité relative. Sans doute faut-il voir ici l'action défavorable des microorganismes dont l'activité en atmosphère subsaturante (97,7%) ne serait pas suspendue.

Le temps nécessaire à la reviviscence de *S. cavenessi* et à l'éclosion des masses d'oeufs anhydrobiotiques de *M. javanica* est lié à l'humidité relative du milieu environnant le nématode pendant l'anhydrobiose et à la durée pendant laquelle celle-ci se prolonge.

En ce qui concerne les individus de *S. cavenessi*, dans le cas d'une exposition à 97,7% ou 50% d'humidité relative d'une durée de 14 jours, la reviviscence exige respectivement 3 et 7 jours. De même pour les masses d'oeufs de *M. javanica* qui ont été exposées à 97,7% ou 93% d'humidité relative pendant 1 jour, la reprise de l'éclosion exige respectivement 15 et 20 jours.

En ce qui concerne les lots de *S. cavenessi* exposés pendant 1 et 14 jours à 97,7% d'humidité relative, la reviviscence exige respectivement 1 et 3 jours. Avec les masses d'oeufs qui ont été exposées 1 et 7 jours à 97,7% d'humidité relative, la reprise de l'éclosion exige respectivement 15 et 28 jours.

Ce temps nécessaire à la reviviscence ou à l'éclosion, qui augmente en fonction des conditions environnantes déshydratantes,

semble être une caractéristique des états anhydrobiotiques. Ce phénomène est très certainement en rapport avec une réorganisation des systèmes biologiques internes qui se mettent en place parallèlement à la réhydratation.

3.3. IMPORTANCE DES RESERVES LIPIDIQUES ET GLUCIDIQUES DANS
LA RESISTANCE A LA DESSICCATION DES FEMELLES DE *SCUTELLONEMA*
CAVENESSI ET DES LARVES DE 2^{ème} STADE DE *MELOIDOGYNE JAVANICA*.

3.3.1. INTRODUCTION.

Actuellement, il y a deux tendance quant à l'explication de la survie des nématodes à la dessiccation.

Pour certains, à la suite d'Ellenby (1968 a et b), elle consisterait en une limitation des pertes d'eau. Perry (1977) à la suite d'études sur *Ditylenchus dipsaci* suggère que ce phénomène s'expliquerait par une diminution de la perméabilité à l'eau de la cuticule au cours du processus de déshydratation. Cette limitation des pertes d'eau pourrait résulter d'une réduction de la surface évaporante des téguments exposée à un environnement déficitaire en eau. D'après Rössner et Porstendorfer (1973), Rössner et Perry (1975), cette réduction résulterait chez *Rotylenchus robustus* d'un compactage des anneaux entraînant une réduction de la surface évaporante. Elle pourrait résulter aussi dans le passage à l'habitus spiralé, comme le proposent Bird et Buttrose (1974) à la suite de leurs travaux sur *Anguina tritici*.

La deuxième explication de la survie des nématodes à la dessiccation serait la présence de réserves énergétiques (Van Gundy, 1965). Cet auteur estime en effet que le taux élevé des lipides chez *Ditylenchus dipsaci* expliquerait sa grande résistance à la dessiccation. Madin et Crowe (1975) ont mesuré les modifications de l'état des réserves au cours du processus de déshydratation chez *Aphelenchus avenae* : la quantité de lipides totaux et de glycogène décroît respec-

tivement jusqu'à 60% et 10% de la quantité initiale. Willett, Freckman et Van Gundy (1978 a et b) ont mesuré un niveau d'adénosine triphosphate significativement plus élevé chez les nématodes *Aphelenchus avenae* anhydrobiotiques (4,69 µg/mg de poids sec) que chez ceux réactivés (2,23 µg/mg de poids sec).

La présence de réserves énergétiques chez les nématodes peut être appréciée directement par observation vitale de façon très simple. En effet, Van Gundy, Bird et Wallace (1969) ont noté une diminution progressive de l'opacité de l'intestin chez *Meloidogyne javanica* au cours du jeûne qu'ils ont attribuée à une diminution de la quantité de lipides. Il y aurait donc une corrélation entre l'aspect de l'intestin et l'état des réserves énergétiques. Par conséquent, nous nous sommes fixé comme premier objectif de définir, en ce qui concerne les réserves ce qui distingue chez *Meloidogyne* et *Scutellonema* un nématode opaque d'un nématode transparent. Pour ce faire, nous avons d'abord cherché à évaluer les lipides, glucides et protéines de *Scutellonema cavenessi* fraîchement extraits, à intestins opaques. Puis nous avons mis des lots semblables à jeûner dans un tampon phosphate afin d'évaluer après un certain temps les réserves des individus présentant un intestin transparent. Notre second objectif a été d'évaluer par les *Scutellonema cavenessi* (femelles) et les *Meloidogyne javanica* (larves de 2ème stade) opaques et transparents leur résistance à une dessiccation.

3.3.2. MATERIEL ET METHODES.

a - Matériel animal.

Des *Scutellonema cavenessi* (larves de 3^{ème} et 4^{ème} stades, mâles et femelles) actifs et opaques semblables à la femelle de la fig. 15, ainsi que des larves de 2^{ème} stade de *Meloidogyne javanica* fraîchement écloses, actives et opaques (fig.16) ont été soumises au jeûne par immersion à la température de 28°C dans une solution de tampon phosphate pH 7,2 dilué cinq fois.

Après quatre semaines, certainement du fait que les effets du jeûne sont très hétérogènes, les *S. cavenessi* opaques et transpa-

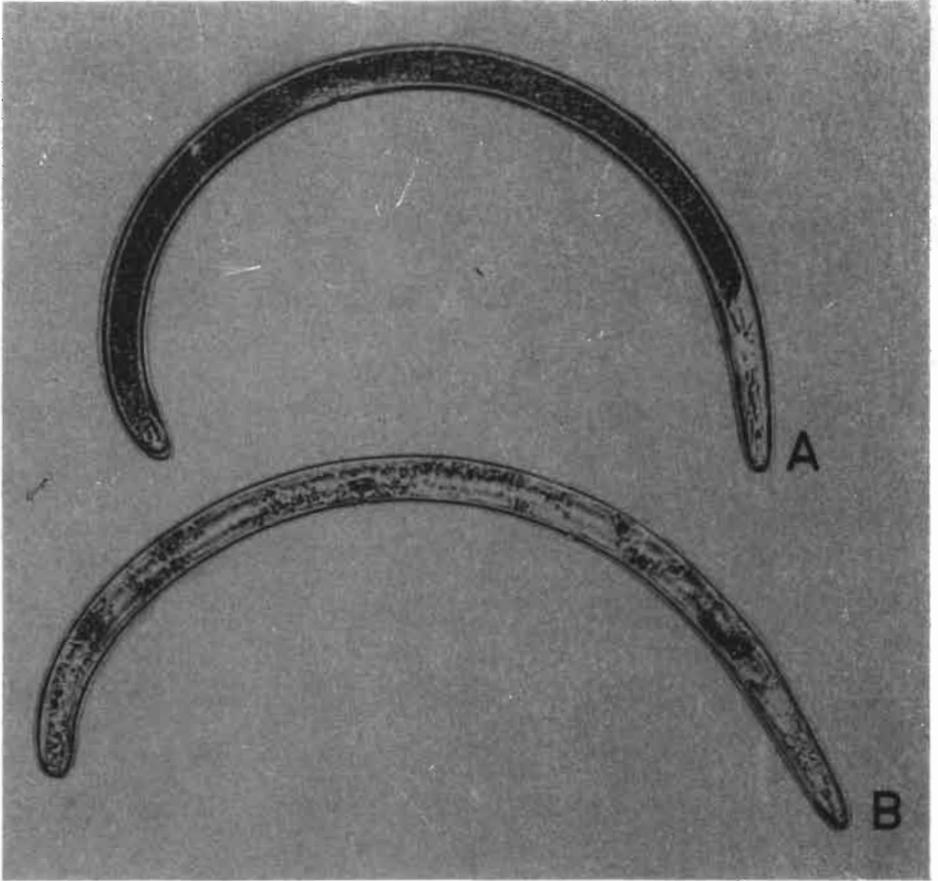


FIGURE 15 : SPECIMEN DE *Scutellonema cavenessi* (femelle) OPAQUE (A)
OU TRANSPARENT (B) A LA LUMIERE TRANSMISE.

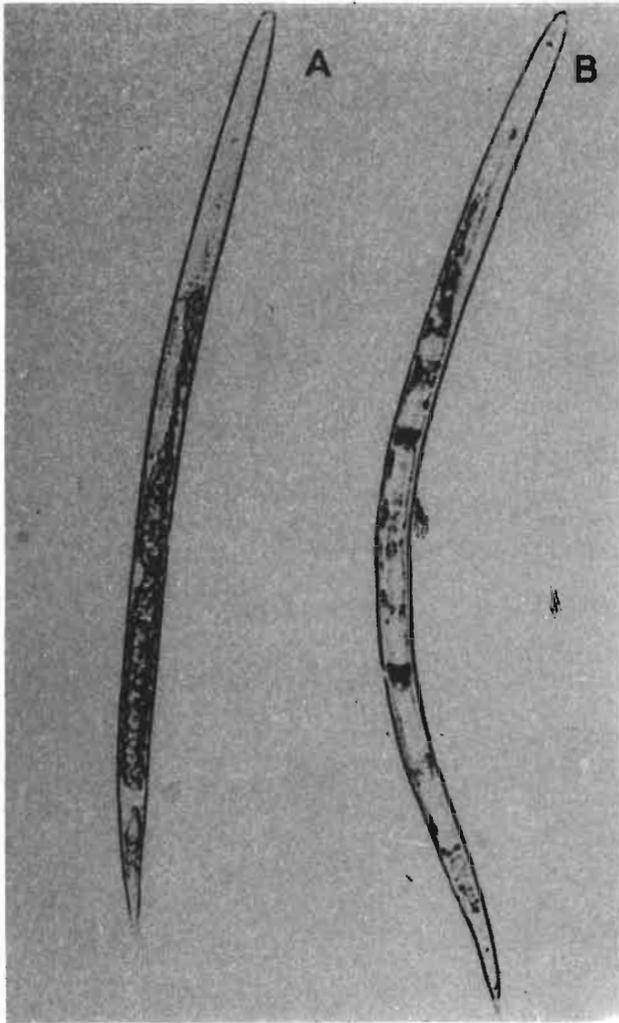


FIGURE 16 : SPECIMEN DE *Meloidogyne javanica* (larve de 2^{ème} stade)
OPAQUE (A) OU TRANSPARENT (B) A LA LUMIERE TRANSMISE.

rents sont séparés manuellement. Pour l'expérimentation, seules les femelles transparentes (fig.15), de taille semblable, sont conservées. Elles sont comparées quant à leur teneur en glucides, lipides et protéines et quant à leur résistance à un traitement déshydratant, à des femelles opaques fraîchement extraites d'échantillons du même sol.

En ce qui concerne les larves de 2ème stade de *Meloidogyne javanica*, on sait que leur vieillissement est rapide et homogène (Cooper & Van Gundy, 1971). Aussi pour l'expérimentation, nous sommes-nous servi de larves conservées seulement 14 jours dans la solution tampon, laps de temps au bout duquel les larves sont devenues transparentes (fig.16).

b - Dosage des réserves.

Les dosages des glucides, lipides et protéines des femelles opaques et transparentes de *S.cavenessi* ont été réalisés en collaboration avec G.Reversat (ORSTOM-DAKAR) selon des techniques classiques (Reversat, 1977) ; pour la détermination des glucides, 500 femelles sont digérées à chaud (100°C pendant 30 minutes) dans une solution de potasse à 30%. La quantité de glucides est ensuite déterminée spectrophotométriquement en solution potassique après réaction avec le réactif à l'antrone.

En ce qui concerne les lipides, 120 femelles sont digérées à chaud (100°C pendant 10 minutes) dans de l'acide sulfurique à 95%. Puis les lipides sont quantitativement déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre dans une solution d'acide sulfurique après réaction avec une solution de vanilline.

En ce qui concerne les protéines, 120 femelles sont digérées dans une solution de soude normale à 100°C pendant 5 minutes. La quantité de protéines est évaluée spectrophotométriquement dans une solution de soude après réaction avec le réactif de Felin.

c - Traitement deshydratant.

On dépose, dans des verres de montres de type BPI, d'une

part, soit un *S. cavenessi* opaque, soit un individu transparent, et, d'autre part, soit un lot de 100 larves de 2^{ème} stade de *M. javanica* âgées d'un jour (opaques), soit un lot de 100 larves âgées de 14 jours (partiellement transparentes). Ces verres de montres sont ensuite placés dans une enceinte close à humidité relative contrôlée, à une température de 20°C, afin d'exposer les nématodes à une déshydratation progressive. Des lots de nématodes sont ensuite prélevés, dans chaque cas, lorsque l'humidité relative de l'enceinte est stabilisée à 100, 96, 87,9, 79,5, 66,5 et 50% de façon à savoir s'ils peuvent être réhydratés et réactivés lorsqu'ils sont replacés dans des conditions optimales de température (28°C) et d'oxygénation (mince film d'eau recouvrant les nématodes). L'expérience a été répétée deux fois avec quatre répétitions pour chacune des humidités relatives testées. Dans tous les cas, une série de verres de montres, emplis de tampon phosphate pH 7.2, contenant des lots semblables aux lots expérimentaux tient lieu de témoin.

3.3.3. RESULTATS.

a - Etat des réserves des femelles opaques et transparentes de *Scutellonema cavenessi* (tableau 15).

La quantité de protéines est la même (44,4 ng/nématode) chez les *S. cavenessi* opaques et transparents. Les quantités de lipides et glucides sont respectivement de 96,5 ng et 117 ng par individu opaque et de 0 ng et 24 ng par individus transparent. Nous remarquerons donc une très nette diminution des réserves énergétiques en relation avec la transparence de l'intestin .

b - Effet d'un traitement déshydratant sur les individus opaques et transparents de *Scutellonema cavenessi* et *Meloidogyne javanica*.

Le tableau 16 mentionne les pourcentages de reviviscence de chacun des deux types de nématodes à la suite d'un traitement déshydratant. Il en découle qu'aussi bien pour les femelles de *S. cavenessi* que pour les larves de 2^{ème} stade de *M. javanica*, les individus dont l'intestin est transparent sont moins résistants à un trai-

Type de réserves	<u>S. cavenessi</u> opaque (Fraîchement extrait)	<u>S. cavenessi</u> transparent (jeune de 4 semaines)
Protéines	44,4 ng	44,4 ng
Lipides	96,9 ng	0 ng
Glucides	117 ng	24 ng

Tableau 15: Etat des réserves chez Scutellonema cavenessi opaque ou transparent.

Deshydratation progressive menée à partir de 100% jusqu'à 50% d'humidité relative	Pourcentage de reviviscence à chacune des étapes de la deshydratation progressive.			
	<u>Scutellonema cavenessi</u> (♀)		<u>Meloidogyne javanica</u> (L ₂)	
	opaque	transparent	opaque	transparent
100%	100%	50%	79%	10%
96%	87,5%	12,5%	46%	0%
87,9%	87,5%	12,5%	1%	0%
79,5%	75%	0%	0%	0%
66,5%	75%	0%	0%	0%
50%	87,5%	0%	0%	0%

Tableau 16: Effet d'un traitement deshydratant sur Scutellonema cavenessi (femelle) et Meloidogyne javanica (larve de 2eme stade) à intestion opaque ou transparent.

tement déshydratant que ceux dont l'intestin est opaque.

3.3.4. DISCUSSION

Nos résultats s'ajoutent à ceux d'autres auteurs pour démontrer qu'il existe chez les nématodes une relation entre l'aspect de l'intestin, opaque ou transparent, et respectivement une teneur élevée ou une faible quantité de réserves énergétiques. En effet, nos dosages au spectrophotomètre détectent chez *S. cavenessi* 96,9 ng de lipides et 117 ng de glucides par femelle opaque, tandis que les quantités de lipides et de glucides sont respectivement de 0 ng et 24 ng par femelle transparente après un jeûne de quatre semaines dans une solution tampon phosphate.

Il existe cependant une difficulté dans l'analyse des expériences que nous avons effectuées sur *S. cavenessi* et *M. javanica*. Elle tient au fait qu'il est très difficile de dissocier les effets du jeûne de ceux du vieillissement.

Nous remarquerons tout de même que les individus opaques sont très largement plus résistants à la dessiccation que les individus transparents.

En effet, 87,5% des femelles opaques de *S. cavenessi* et 46% des larves de 2^{ème} stade opaques de *M. javanica* survivent à un traitement déshydratant conduit respectivement jusqu'à 50% et 96% d'humidité relative. Dans des conditions identiques, aucune femelle ou aucune larve transparente ne conserve la capacité de reviviscence. Notons que des résultats semblables ont été obtenus avec une population de *Helicotylenchus dihystrera* de Californie (Demeure, Freckman & Van Gundy, sous presse).

Des travaux antérieurs nous apportent quelques renseignements sur les modalités d'intervention des réserves dans la résistance à la dessiccation; Rothstein (1972) a montré que *Caenorhabditis briggsae* synthétise du glycérol lorsqu'il est placé dans les conditions d'un traitement déshydratant; Crowe et Madin (1975) ont remarqué que chez *Aphelenchus avenae* le processus de déshydratation s'accompagne d'une diminution de 40% et de 90% respectivement du taux de lipides et de

glucides et parallèlement d'une augmentation de 700% du taux de glycérol et de tréhalose. Dutrieu (1960) et Clegg (1962, 1965) avaient déjà mis en évidence que, chez les embryons enkystés et desséchés du Crustacé *Artemia salina*, le stock d'hydrates de carbone était sous forme de tréhalose. De même Eilers, Ikuma et Sussman (1970) signalaient une très large quantité de tréhalose dans les ascospores dormants de *Neurospora* (25×10^3 nM/100 g de matériel).

On peut donc penser que les réserves favoriseraient la résistance à la dessiccation par leur transformation en glycérol et tréhalose.

3.4. RESISTANCE AUX TEMPERATURES ELEVEES DES
INDIVIDUS ACTIFS ET ANHYDROBIOTIQUES DE
SCUTELLONEMA CAVENESSI ET *MELOIDOGYNE JAVANICA*.

3.4.1. INTRODUCTION.

Les effets des températures élevées sur les nématodes sont étroitement liés à la durée de l'exposition; par exemple, Blake (1961) rapporte que *Radopholus similis* est tué en quelques secondes à 52°C mais en 6 minutes à 50°C.

Selon quelques auteurs (Shermann, 1934; Cairns, 1953 a et b) les stades libres des nématodes toléreraient mieux les températures élevées à l'état anhydrobiotique qu'à l'état actif. En ce qui concerne les stades non éclos, Daulton et Nusbaum (1961) arrivent à des conclusions inverses.

Quoiqu'il en soit, la résistance des nématodes aux températures élevées, lorsqu'elle existe, peut être très grande: en effet, Nielsen (1949) signale que des spécimens anhydrobiotiques de *Plectus granulatus* sont capables de survivre à un traitement de 4 h à 66°C et Fassuliotis (1971) montre que 65% des *Hoplolaimus indicus* en anhydrobiose survivent à une exposition de 1 h à 70°C.

En zone tropicale sèche, la température du sol, au niveau 0-20 cm, n'est jamais inférieure à 16°C-18°C. De tels minima ne sont pas un facteur limitatif au développement des nématodes phytoparasites (Dolliver, Hildebrandt & Riker, 1962 ; Chitwood & Buhner, 1945; Cairns, 1954 ; Rhoades & Linford, 1959). Par contre, les maxima atteints peuvent être très élevés comme l'indique le tableau 4. Ces

maxima, atteints aux environs de 14 h, se maintiennent pendant 3 h

Aussi, nous sommes-nous proposé de tester les limites de résistance des individus actifs et anhydrobiotiques de *Scutellonema cavenessi* et de *Meloidogyne javanica* pour 3 h d'exposition à différentes températures élevées de façon à savoir si les maxima enregistrés dans le sol constituent un facteur limitant à la survie de ces nématodes. Pour ce faire, d'une part des individus libres de *S. cavenessi* (actifs et anhydrobiotiques) et d'autre part des larves de 2^{ème} stade et des masses d'oeufs de *M. javanica* (actifs et anhydrobiotiques) ont été exposés 3 h respectivement à des températures, d'une part de 40°C, 50°C, 60°C, 70°C et 80°C et, d'autre part de 40°C, 45°C et 50°C.

3.4.2. MATERIEL ET METHODES.

a - Matériel animal.

En ce qui concerne *Scutellonema cavenessi*, les expériences ont porté sur des individus libres (larves de 3^{ème} et 4^{ème} stades, mâles et femelles) récoltés dans la sole expérimentale de l' ISRA de Bambey (cf première partie). Les échantillons de sol ont été prélevés au niveau 0-20 cm, en octobre, lorsqu'il était humide (teneur en eau : 6%) et au sixième mois de la saison sèche (teneur en eau : 0,2%).

En ce qui concerne *Meloidogyne javanica*, compte tenu du fait que les échantillons de sol, prélevés au champ, sont infestés à la fois par des larves et des oeufs, il est impossible d'observer séparément les effets d'un traitement thermique sur ces différents stades. Aussi, nos tests ont-ils été effectués sur des échantillons de sol infestés artificiellement, soit avec des larves de 2^{ème} stade, soit avec des masses d'oeufs actives ou anhydrobiotiques, quelques minutes avant le traitement thermique. De façon à produire des individus anhydrobiotiques, des larves de 2^{ème} stade fraîchement écloses ou des masses d'oeufs de *M. javanica*, issues de notre élevage, ont été placées dans des échantillons de sol du C.D.H. (granulométrie : tableau 1) saturés d'eau puis desséchés selon la technique décrite par de Guiran (1975)

et de Guiran et Demeure (1978) et schématisée sur la figure 17. En vue d'un traitement thermique sur des larves et des masses d'oeufs anhydrobiotiques, celles-ci sont conservées quatre semaines à 28°C dans les échantillons de sol contenus dans des sachets de membrane semi-perméable plongés dans une solution de polyéthylène glycol (PM 20000) de concentration 300 g/l. La teneur en eau dans ces conditions est 0,5%.

b - Traitement thermique.

Les échantillons de sol infestés naturellement par *S. cavenessi* sont déposés dans des bechers de 25 ml. Dans des bechers semblables, du sol stérile, dont on a ajusté la teneur en eau soit à 6%, soit à 0,5%, est infesté soit par des larves ou des masses d'oeufs de *Meloidogyne javanica* fraîchement récoltées, soit par des larves ou des masses d'oeufs anhydrobiotiques.

Chacun de ces bechers est placé dans une des enceintes closes individuelles en équilibre thermique avec l'étuve dans laquelle elles sont entreposées. L'humidité relative de chacune des enceintes est ajustée à 100% avant l'introduction de l'échantillon. Les bechers emplis de sol desséché sont soumis tels quels au traitement thermique.

Les échantillons de sol infestés d'une part avec *S. cavenessi*, d'autre part avec des larves ou des masses d'oeufs de *M. javanica* ont été exposés 3 h respectivement à 28°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C et 28°C, 40°C, 45°C, 50°C.

La température de l'échantillon de sol a été contrôlée avec un thermomètre à sonde dont la précision est de $\pm 0,5^\circ\text{C}$; l'équilibre thermique entre l'étuve et l'échantillon de sol est réalisé après 15 minutes.

En ce qui concerne *S. cavenessi*, l'expérience a été faite deux fois avec quatre répétitions pour chacun des traitements thermiques.

En ce qui concerne *M. javanica*, l'expérience a été faite une seule fois mais avec dix répétitions de 1000 larves et avec quatre

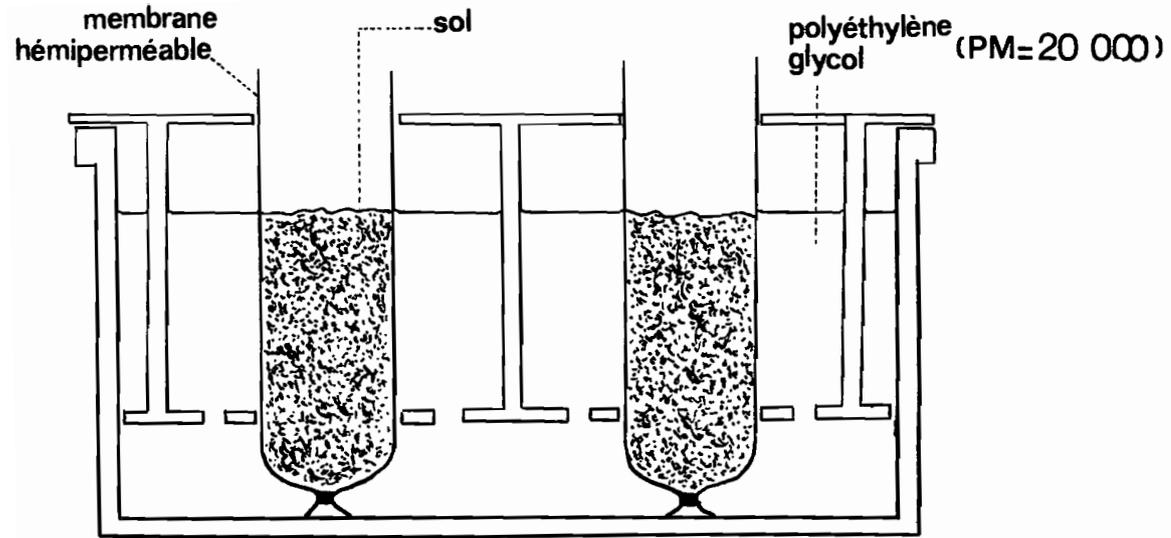


FIGURE 17 : SYSTEME EXPERIMENTAL, UTILISE POUR CONTRÔLER LA TENEUR EN EAU D'UN ECHANTILLON DE SOL, décrit par de GUIRAN, 1975.

répétitions de 10 masses d'oeufs.

c - Extraction des nématodes.

Afin de dénombrer les nématodes qui ont survécu au traitement thermique, les échantillons de sol sont transférés à 28°C sur un filtre de cellulose humide où les nématodes sont extraits selon la technique décrite par Merny et Luc (1969). Les nématodes qui traversent le filtre sont régulièrement dénombrés chaque 24 h, durant 19 jours pour les stades libres et 33 jours pour les masses d'oeufs.

d - Evaluation de la pénétration des larves de *M. javanica* à la suite d'un traitement thermique.

De façon à évaluer les effets d'un traitement thermique sur la pénétration dans une plante-hôte des larves de 2^{ème} stade de *M. javanica*, récoltées au hasard parmi celles qui ont survécu au traitement à 45°C, sont regroupées selon dix lots de 25 et inoculées sur de jeunes plants (15 jours) de tomate cv. Roma, sensible à *M. javanica*. Après cinq jours dans une chambre de culture réglée à 28°C, les racines de chacune des tomates sont colorées au bleu coton selon la technique de Guiran (1966 a) afin d'évaluer, par observation sous la loupe binoculaire, le nombre de larves qui ont pénétré dans chacun des plants. L'évaluation de la pénétration, dans les mêmes conditions, de larves non traitées et écloses depuis moins de 24 h, joue le rôle de témoin.

3.4.3. RESULTATS.

a - Activité des individus libres de *Scutellonema cavenessi* et de *Meloidogyne javanica*, contenus dans les échantillons de sol humide, après un traitement thermique de 3 h respectivement à 50°C et 45°C (figure 18).

Après le traitement thermique, l'activité des nématodes a été évaluée par le biais du temps qui leur est nécessaire pour

traverser dans des conditions optimales un filtre de cellulose.

La figure 18 souligne une inhibition de l'activité des individus libres de *S. cavenessi* et de *M. javanica*. En effet, l'augmentation du temps que mettent les nématodes traités pour traverser un filtre de cellulose, comparativement à un témoin (3h à 28°C), traduit cette inhibition ; celle-ci n'est levée, aussi bien chez *S. cavenessi* que chez *M. javanica*, que trois jours (= temps après lequel les nématodes commencent à traverser le filtre) après la fin du traitement thermique.

b - Aptitude à la pénétration dans un plant de tomate cv. Roma, des larves de 2^{ème} stade de *Meloidogyne javanica* après une exposition de 3 heures à 45°C.

Le tableau 17 donne les nombres de larves de *M. javanica* ayant pénétré. Une analyse de variance $F(1,18) = 0.107$ ne révèle aucune différence significative à 95% entre la valeur de la pénétration des larves témoins et exposées 3 h à 45°C.

c - Résistance à une exposition de 3 heures à différentes températures des individus actifs et anhydrobiotiques de *Scutellonema cavenessi* et de *Meloidogyne javanica*.

α - Individus actifs en anhydrobiotiques de *S. cavenessi*.

Le tableau 18 mentionne pour chacun des états (actif ou anhydrobiotique) le pourcentage des larves, mâles et femelles qui survivent au choc thermique.

Il apparaît qu'en état anhydrobiotique, chacun des stades testés est beaucoup plus résistant à un traitement thermique. En effet, 100% des individus anhydrobiotiques résistent à un choc thermique de 3 h à 60°C alors que tous les individus actifs sont tués.

Il apparaît d'autre part que le pourcentage de survivance à un choc thermique est sensiblement plus faible en ce qui concerne

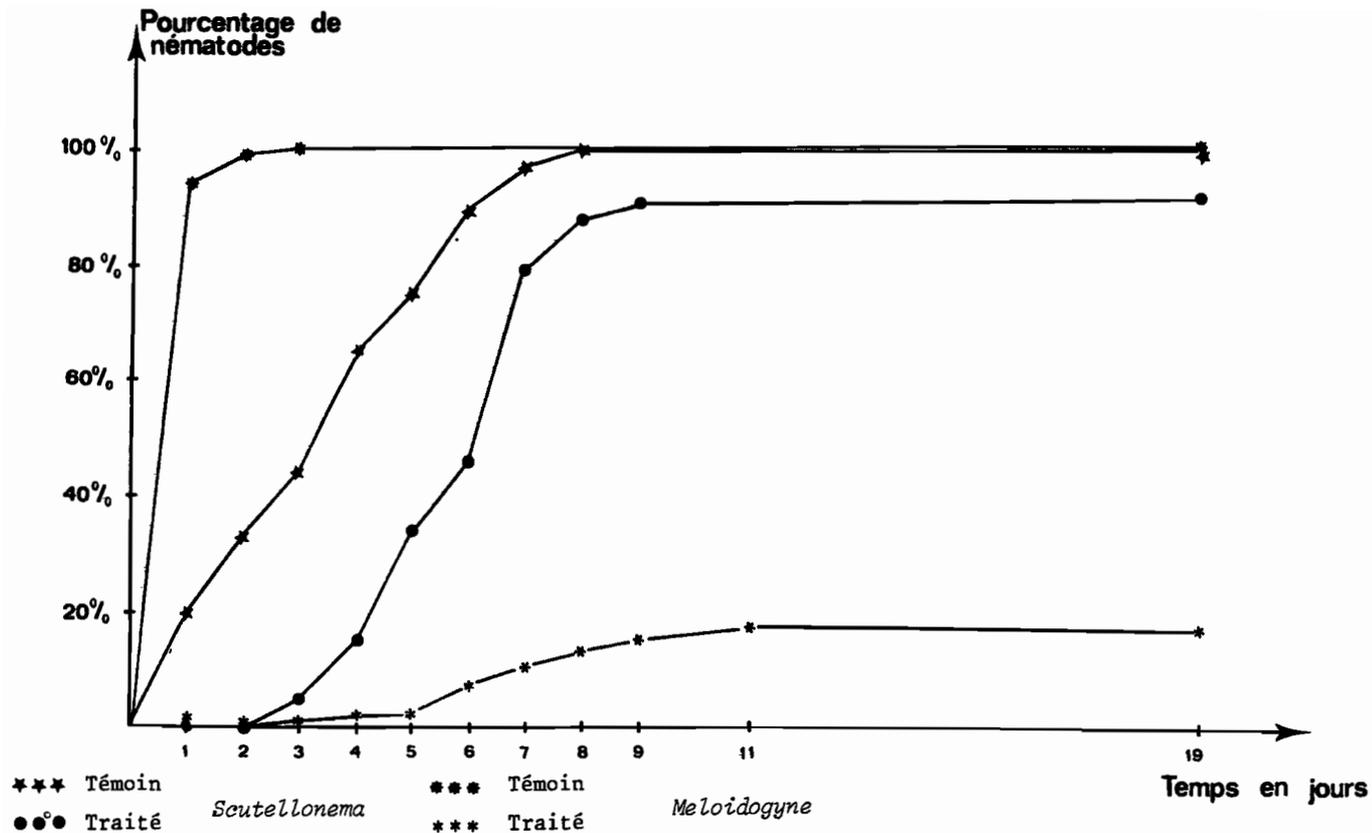


FIGURE 18 : EVOLUTION DANS LE TEMPS DU POURCENTAGE DE NEMATODES (exposés 3h à différentes hautes températures), OBTENUS APRES PASSAGE A TRAVERS UN FILTRE.

Répétitions	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
larves de 2 ^{ème} stade de <u>Meloidogyne</u> (témoin) : nombre de pénétrations	17	14	18	18	24	17	16	15	18	16	69,2% de pénétration
larves de 2 ^{ème} stade de <u>Meloidogyne</u> après traitement thermique (45°-3h)=nombre de pénétrations.	17	14	21	18	21	17	14	18	16	13	67,6% de pénétration

Tableau 17 : Nombre de larves de 2ème stade de Meloidogyne javanica ayant pénétré dans un plant de tomate cv Roma, après une exposition de 3 h à 45°C (lots de 25 larves).

<u>Scutellonema</u> <u>cavenessi</u>	Exposition de 3h A :	Pourcentage de nématodes qui survivent au traitement thermique		
		Larves de 3e et 4e stade	Mâles	Femelles
ACTIFS	40°C	100%	100%	100%
	50°C	96,5%	94,4%	83,5%
	60°C	0%	0%	0%
ANHYDROBIOTIQUES	40°C	100%	100%	100%
	50°C	100%	100%	100%
	60°C	100%	100%	100%
	70°C	60,6%	60%	52,8%
	80°C	5,2%	6%	4,2%

Tableau 18: Effets d'un choc thermique de 3h à des températures élevées sur des larves de 3^{ème} et 4^{ème} stade des mâles et des femelles de Scutellonema cavenessi actifs ou anhydrobiotiques.

les femelles actives ou anhydrobiotiques comparativement aux larves et aux mâles. Après transformation angulaire des pourcentages (angle = $\arcsin \sqrt{\text{pourcentage}}$), une analyse de variance $F(2,21) = 30.017$ souligne une différence significative, pour le coefficient 99%, entre les valeurs correspondant aux larves, mâles et femelles actifs qui ont survécu au traitement thermique (3 h à 50°C). La $LSD\ 0.01 = 5.339$ met en évidence que les femelles actives de *S. cavenessi* sont significativement plus sensibles à un choc thermique que les autres individus libres.

De même pour les individus anhydrobiotiques, une analyse de variance $F(2,21) = 12.506$ et $F(2,21) = 4.265$ souligne, entre les valeurs correspondant aux différents stades qui ont survécu, une différence significative respectivement à 99% pour le choc thermique de 3 h à 70°C et à 95% pour celui de 3 h à 80°C. Dans le premier cas, la $LSD\ 0.01 = 2.83$ et dans le deuxième cas, la $LSD\ 0.05 = 1.645$ mettent en évidence que les femelles anhydrobiotiques sont significativement moins résistantes à un choc thermique que les autres stades.

β - Individus actifs et anhydrobiotiques de *Meloidogyne javanica*.

Le tableau 19 résume pour chacun des états (actif et anhydrobiotique) les pourcentages de larves de 2^{ème} stade et d'oeufs inclus dans la masse gélatineuse qui survivent au choc thermique.

Il apparaît, contrairement à *S. cavenessi*, que les larves anhydrobiotiques sont moins résistantes à un choc thermique que les larves actives. En effet, 100% des larves actives survivent à un choc thermique de 3 h à 40°C alors que seulement 4,9% des larves anhydrobiotiques survivent à un semblable traitement.

De même, les oeufs anhydrobiotiques de *M. javanica* sont moins résistants à un choc thermique que les oeufs à l'état actif. En effet, 100% des oeufs inclus dans la masse gélatineuse, à l'état actif, survivent à un traitement thermique de 2 h à 40°C ; par contre, seulement 3% des oeufs anhydrobiotiques survivent à ce même traitement.

<u>Meloidogyne javanica</u>	Exposition 3h A:	Pourcentage de larves qui survivent au traitement thermique
LARVES (1 ₂)	28°C (Témoïn)	100%
	35°C	100%
	40°C	100%
	45°C	17,5%
	50°C	0%
	28°C (Témoïn)	100%
	35°C	30%
	40°C	4,9%
	45°C	0,4%
	50°C	0%
<u>Meloidogyne javanica</u>	Exposition 3h A:	Pourcentage d'oeufs qui conservent leur pouvoir d'éclosion après le traitement thermique.
MASSES OEUFS	28°C (Témoïn)	100%
	40°C	100%
	45°C	56%
	50°C	0%
	28°C (Témoïn)	100%
ANHYDROBIOTIQUES	40°C	3%
	45°C	0,3%
	50°C	0%
	50°C	0%

Tableau 19 : Effet d'un choc thermique de 3h à différentes hautes températures sur Meloidogyne javanica (larves de 2e stade, masses d'oeufs) actifs ou anhydrobiotiques.

En ce qui concerne les états actifs, 17,5% des larves de 2^{ème} stade survivent à un traitement thermique de 3 h à 45°C ; par contre 56% des oeufs survivent dans de semblables conditions. Donc, sous un état actif, les masses d'oeufs sont plus résistantes que les larves de 2^{ème} stade à un choc thermique.

En ce qui concerne les états anhydrobiotiques, une analyse de variance $F(1,12) = 3.936$ et $F(1,12) = 0.142$, après transformation angulaire des pourcentages, ne donne aucune différence significative entre les nombres de larves et les nombres d'oeufs qui ont survécu à un choc thermique de 3 h et ce, respectivement, à 40°C ou 45°C. Par conséquent, larves et oeufs anhydrobiotiques sont également résistants à un choc thermique.

3.4.4. DISCUSSION.

Nous avons utilisé nos résultats expérimentaux pour essayer de comprendre ce qui se passait sur le terrain en saison sèche.

En ce qui concerne *Scutellonema cavenessi*, les maxima enregistrés et rapportés dans le chapitre 1 (tableau 4), en saison humide et saison sèche, et le temps pendant lequel la température se maintient au voisinage de ces maxima n'égalent à aucun moment des valeurs susceptibles de détruire ces nématodes. En effet, 91,4% des individus actifs de *S. cavenessi* survivent 3 h à 50°C et sur le terrain les maxima enregistrés à la surface du sol ne dépassent pas en saison humide 45°C. D'autre part, 100% des individus anhydrobiotiques de *S. cavenessi* survivent 3 h à 60°C et les maxima de température enregistrés sur les terrains, à la surface du sol, ne s'élèvent pas au-dessus de 56°C. Nous avons vu aussi que les températures ne se maintenaient jamais plus de 3 h au voisinage du maximum, temps inférieur donc à celui d'exposition au traitement thermique. A aucun moment de l'année, la température ne constitue donc un facteur limitant le maintien dans le sol des populations de *S. cavenessi* ; en saison sèche, la température agit essentiellement sur ce nématode de façon indirecte en participant au processus de dessèchement du sol.

En ce qui concerne *Meloidogyne javanica*, il n'en est pas de même. Nous avons vu que lorsqu'on exposait des larves de 2^{ème} stade et des masses d'oeufs actifs et anhydrobiotiques 3 h à 45°C ou 50°C, ceux-ci étaient en partie tués, voire totalement détruits. Or, sur le terrain, au voisinage de la surface, il est fréquent d'enregistrer pendant 3 h consécutives, des températures voisines de 45°C en saison humide et 50°C en saison sèche. Donc, sur le terrain, de telles températures se maintenant aussi longtemps, constituent un facteur limitant la survie des nématodes, tout au moins en ce qui concerne ceux localisés près de la surface (niveau 0-10 cm).

Diverses hypothèses peuvent être avancées pour essayer de comprendre quelques uns des problèmes liés à l'inhibition de l'activité des nématodes et à leur résistance aux températures élevées (Demeure, 1978).

L'inhibition de l'activité des individus de *S. cavenessi* et des larves de 2^{ème} stade de *M. javanica*, contenus dans les échantillons de sol humide, à la suite d'une exposition de 3 h respectivement à 50°C et 45°C, pourrait correspondre à une inactivation de certains systèmes enzymatiques ; la plupart des enzymes animales sont en effet inactivées à ces températures (Precht *et al.*, 1973). L'inhibition de l'activité de ces nématodes ne pourrait alors être levée que s'il y a réactivation, voire resynthèse, des systèmes enzymatiques en cause. En ce qui concerne la résistance des individus anhydrobiotiques de certaines espèces à un traitement thermique, en particulier parmi les individus libres de *S. cavenessi*, on peut imaginer que ce sont des modifications biochimiques semblables à celles décrites par Madin et Crowe (1975) chez *Aphelenchus avenae* (cf chapitre 3.3.) qui, accompagnant le passage de l'état actif à l'état anhydrobiotique, accroissent cette résistance.

Cependant, un pourcentage non négligeable de *S. cavenessi* résiste à une exposition de 3 h à 80°C. Dans de telles conditions, il y a, selon Scheie (1970), stabilisation des protéines par d'autres molécules. Par contre, Wyckoff (1975) étudiant le développement de thiobacilles à 75°C, conclut que les protéines primitives sont davantage résistantes aux températures élevées. Peut-être retrouve-t-on

de semblables protéines chez les nématodes. Quant aux lipides, Belehradik (1935) et Heilbrunn (1950) suggèrent que lorsque la température s'élève, il y a stabilisation des lipides par modification progressive du degré de saturation des acides gras avec pour conséquence, l'élévation de leur point de fusion.

CONCLUSIONS GENERALES

Les études rapportées dans ce mémoire ont permis de résoudre quelques uns des problèmes liés au mode de survie des nématodes *Scutellonema cavenessi* et *Meloidogyne* spp. en saison sèche du Sahel du Sénégal.

Concernant les populations de *Scutellonema cavenessi* et de *Meloidogyne* spp., 50% et 0,9%, respectivement, ont été retrouvés dans le sol en fin de saison sèche, c'est-à-dire après une période de neuf mois quasiment sans pluies.

Aucun phénomène migratoire, entre les niveaux du sol 0-20 et 20-40 cm parmi les individus libres de *Scutellonema cavenessi* et *Meloidogyne* spp., ne peut expliquer cette survie.

En ce qui concerne *Scutellonema cavenessi*, 48,2% et 50,2% des individus ont été extraits d'échantillons de sol prélevés respectivement aux niveaux 0-20 cm et 20-40 cm. Quant à *Meloidogyne* spp., aucun ne résiste au niveau du sol 0-20 cm, à la période sèche ; le faible pourcentage (0,9%) de la population qui survit est localisé au niveau 20-40 cm. Ce niveau du sol illustre la notion de refuge écologique ; il s'agit d'un biotope où règnent des conditions environnantes moins sévères qu'au niveau 0-20 cm. Rappelons que la teneur en eau est très largement plus élevée au niveau 20-40 cm (de l'ordre de 2%) qu'au niveau 0-20 cm (inférieure à 1%). Les conditions de ce biotope permettent donc à quelques individus du genre *Meloidogyne* de survivre à une saison sèche.

En ce qui concerne *Scutellonema cavenessi*, chacun des stades étudiés a la capacité de survivre à la durée d'une saison sèche ; en effet, respectivement 46,6%, 48% et 50% des femelles, mâles et larves de 3^{ème} et 4^{ème} stades survivent au niveau 0-20 cm. A aucun moment de la saison sèche, nous n'avons extrait du sol des oeufs ou des larves de 2^{ème} stade ; ceux-ci n'ont donc pas participé au maintien dans le sol de la population de *S. cavenessi* pendant la saison sèche.

En ce qui concerne *Meloidogyne*, en fin de saison sèche, 0,5% des larves de 2^{ème} stade et 0,4% des oeufs enrobés dans la masse gélatineuse ont été extraits d'échantillons de sol prélevés au niveau 20-40 cm. Mais, en fait, il est possible qu'à ce niveau l'éclosion des masses d'oeufs ne soit jamais totalement bloquée et qu'en conséquence, il se libère constamment des larves de 2^{ème} stade ; dans ce cas, les larves récoltées en fin de saison sèche ne correspondraient pas à des larves qui ont supporté la totalité de la saison sèche.

Des études, faites au laboratoire ont montré qu'après une déshydratation progressive conduite jusqu'à 93% d'humidité relative, 5,8% des larves de 2^{ème} stade de *Meloidogyne javanica*, 92,5% des larves, 86,6% des mâles et 91% des femelles de *Scutellonema cavenessi* conservent la possibilité d'un retour à un état actif et 41,2% des oeufs inclus dans la masse gélatineuse conservent la capacité d'éclore. Les individus de *Scutellonema cavenessi* sont donc très largement plus résistants à la dessiccation que les masses d'oeufs de *Meloidogyne javanica*, elles-mêmes plus résistantes que les larves de 2^{ème} stade de cette espèce.

Les individus de *Scutellonema cavenessi* (larves de 3^{ème} et 4^{ème} stades, mâles, femelles), de *Meloidogyne* spp. (larves de 2^{ème} stade) et les masses d'oeufs de *Meloidogyne* qui survivent à la sécheresse doivent être en anhydrobiose. Lorsqu'elles sont à l'état anhydrobiotique dans le sol, les masses d'oeufs sont agglomérées à des particules minérales et organiques. Les individus libres anhydrobiotiques sont, eux, extraits du sol sous un habitus spiralé.

Nous avons mis en évidence que c'est la diminution de l'épaisseur du film d'eau recouvrant les particules minérales du sol qui joue un rôle primordial dans l'induction de ce processus de

spiralisation.

L'effet de cette spiralisation, selon Bird et Buttrose (1974), est de réduire la surface des téguments en contact avec l'environnement déficitaire en eau et, par conséquent, de limiter les pertes d'eau pendant l'anhydrobiose.

Mais les réserves énergétiques des nématodes participent aussi aux processus qui permettent la survivance des individus libres à une anhydrobiose. En effet, les individus libres de *Scutellonema cavenessi* et de *Meloidogyne javanica*, opaques et transparents à la lumière transmise, montrent de nettes différences dans leurs degrés de résistance à la dessiccation. En ce qui concerne *Scutellonema cavenessi*, 87,5% des individus opaques et 0% des individus transparents survivent à une déshydratation progressive conduite jusqu'à 50% d'humidité relative. Quant à *Meloidogyne javanica*, 46% et 0% des larves de 2^{ème} stade, respectivement opaques et transparentes, survivent à une déshydratation conduite jusqu'à 96% d'humidité relative. Ces données suggèrent que parmi les individus opaques, que nous avons supposé riches en réserves énergétiques, il se déroule une série de processus métaboliques semblables à ceux décrits chez *Aphelenchus avenae* par Madin et Crowe (1975) (dégradation des lipides en glycérol, transformation du glycogène en tréhalose) et qui doivent accompagner le passage de l'état actif à l'état anhydrobiotique. Ce serait parce que ces transformations ne peuvent s'accomplir chez les individus transparents (pauvres en réserves) que ces derniers ne pourraient survivre à une anhydrobiose.

Dans le cas des masses d'oeufs, la matière gélatineuse enrobant les oeufs, les protège en ralentissant la perte d'eau (Wallacè, 1868). Bird et Soeffky (1972) expliquent cette limitation de la perte d'eau par modification de l'ultrastructure de la masse gélatineuse. Il est probable aussi que la gangue des particules minérales qui englobe les masses d'oeufs, participe également à la limitation de la perte d'eau.

Cet état anhydrobiotique qui apparaît lorsque les conditions environnantes sont déficitaires en eau, permet, en ce qui concerne *Scutellonema cavenessi*, de supporter des traitements thermiques prononcés; en effet, si la totalité des individus

à l'état actif, est détruite à la suite d'une exposition de 3 h à 60°C ; par contre, 60,2% des larves de 3^{ème} et 4^{ème} stades, 60% des mâles et 52,8% des femelles anhydrobiotiques survivent à une exposition de 3 h à 70°C. En conséquence, cette résistance suggère qu'à aucun moment, au champ, les maxima de températures enregistrés et le temps pendant lequel la température se stabilise au voisinage de ces valeurs, n'ont d'action directe sur ce nématode. La température agit seulement indirectement en dessèchant le sol.

En ce qui concerne *Meloidogyne javanica*, les individus anhydrobiotiques sont apparus moins résistants que les individus actifs. En effet, après une exposition de 3 h à 45°C, il survit 17,5% des larves de 2^{ème} stade à l'état actif et seulement 0,4% des larves à l'état anhydrobiotique ; dans les mêmes conditions, il survit 56% et 0,3% des oeufs, respectivement actifs et anhydrobiotiques, inclus dans la masse gélatineuse. Donc, au champ, des maxima de température voisins de 45°C, lorsqu'ils se maintiennent 3 h de temps, seraient un facteur limitant la survie de *Meloidogyne javanica*.

A l'avenir, de nouvelles expériences devraient permettre de répondre à certaines questions qui restent en suspens.

L'élevage de *Scutellonema cavenessi* doit absolument être réalisé pour obtenir des oeufs et des larves de 2^{ème} stade (seul stade non étudié) afin, entre autre, de tester leur résistance à la dessiccation.

Les raisons pour lesquelles les larves de 2^{ème} stade de *Meloidogyne javanica* sont plus sensibles à la dessiccation que les individus de *Scutellonema cavenessi* doivent être recherchées. Cela nous conduira probablement à comprendre la raison pour laquelle les larves anhydrobiotiques de *Meloidogyne javanica* sont peu résistantes aux traitements thermiques à températures élevées.

Cette capacité de résistance de certains nématodes à des traitements thermiques à températures élevées pourrait expliquer l'inefficacité partielle au champ des traitements à la vapeur. C'est une hypothèse à vérifier.

La résistance de certains nématodes anhydrobiotiques aux températures élevées suggère que cet état serait peut-être résistant au nématocides. Il y a ici une nouvelle voie de recherches à explorer.

BIBLIOGRAPHIE

- BAERMANN, G. (1917). Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum(Nematoden) Larven in Erdproben.Geneesk.Tijdschr. Ned.-Indië, 57:131-137.
- BELEHRADEK, J. (1935). Temperature and living matter.Protoplasma Monogr.n°8, Berlin, Borntraeger, 277p.
- BIRD, A.F. & BUTTROSE, M.S. (1974). Ultrastructural changes in the nematode Anguina tritici associated with anhydrobiosis.J. ultrastruct.Res., 48: 177-189.
- BIRD, A.L. & SOEFFKY, A. (1972). Changes in the ultrastructure of the gelatinous matrix of Meloidogyne javanica during dehydration.J.Nematol., 4: 166-169.
- BLAKE, C.D. (1961). Root-knot of bananas caused by Radopholus similis (Cobb) and its control in New South Wales. Nematologica, 6: 295-310.
- BRADY, N.C. (1974). The nature and properties of soil.8th Edition MacMillan Publishing Co. Inc, New York, 639.P.
- CAIRNS, E.J. (1953a). Pathology and biology of Ditylenchus sp. in relation to a disease of Agaricus campestris L.Ph.D.Thesis, University of Maryland, U.S.A.
- CAIRNS, E.J. (1953b). Moisture conditions and control by heat of mushroom spawn nematode Ditylenchus sp. Phytopathology, 43: 404-405.
- CAIRNS, E.J. (1954). Effects of temperature upon pathogenicity of the mushroom spawn nematode, Ditylenchus sp. Proc. Int. Conf.Sci.aspects of mushroom growing. Gembloux, June 16-20 1953, 164-167.
- CARTER, D.L., HEILMAN, M.D. & GONZALES, C.L. (1965).Ethylene glycol monoethyl ether for determining surface area of silicate minerals.Soil Sci., 10D: 356-360.
- CAYROL, J.C. (1970a).Action des autres composants de la biocénose du champignon de couche sur le nématode mycophage, Ditylenchus myceliophagus J.B. Goodey 1958, et étude de son ana-

- biose : forme de survie en conditions défavorables. Rev. Ecol. Biol. Sol., 7: 409-440.
- CAYROL, J.C. (1970b). Contribution à l'étude de la biologie du nématode mycophage Ditylenchus myceliophagus, J.B. Goodey (1958) (Nematoda Tylenchida), 177p. Thèse Faculté des Sciences, Nice.
- CHITWOOD, B.G. & BUHRER, E.M. (1945). The life history of the golden nematode of potatoes, Heterodera rostochiensis Wollenweber, under Long Island, New York, conditions. Phytopathology, 36: 180-189.
- CLEGG, J. (1962). Free glycerol in dormant cysts of the brine shrimp Artemia salina, and its disappearance during development. Biol. Bull. Woods Hole, 123: 295-301.
- CLEGG, J. (1965). The origin of trehalose and its significance during the formation of encysted dormant embryos of Artemia salina. Comp. Biochem. Physiol., 14: 135-143.
- COOMANS, A. & DE GRISSE, A. (1963). Observations on Trichotylenchus falciformis Whitehead 1959. Nematologica, 9: 320-326.
- COOPER, A.F. (JR) & Van GUNDY, S.O. (1971). Senescence, quiescence and cryptobiosis. In: Zuckermann (B.M.), MAI (W.F.) & RHODE (R.A.) Plant Parasitic Nematodes, 2, Academic Press, New York and London, 297-318.
- CROWE, J.H. (1971). Anhydrobiosis : An unsolved problem. Am. Naturalist, 105 : 563-573.
- CROWE, J.H. & MADIN, K.A. (1974). Anhydrobiosis in Tardigrades and nematodes. Trans. Amer. Microsc. Soc., 93: 513-524.
- CROWE, J.H. & MADIN, K.A. (1975). Anhydrobiosis in nematodes: Evaporative water loss and survival. J. Exp. Zool., 193 : 323-333.
- DAULTON, R.A.C. & NUSBAUM, C.J. (1961). The effect of soil temperature on the survival of the root knot nematode Meloidogyne javanica and Meloidogyne hapla. Nematologica, 6: 280-294.

- DEMEURE, Y. (1975). Résistance à la sécheresse, en zone sahélienne du nématode phytoparasite Scutellonema cavenessi : Sher, 1963. Cah. ORSTOM, Sér. Biol., 10 : 283-292.
- DEMEURE, Y. (1977). Persistance de l'infestation d'un sol par Meloidogyne sp. en saison sèche au Sénégal. Cah. ORSTOM, Sér. Biol., 11: 167-172.
- DEMEURE, Y. (1978). Influence des températures élevées sur les états actifs et anhydrobiotiques du nématode Scutellonema cavenessi. Revue Nématol., 1: 13-19.
- DEMEURE, Y., FRECKMAN, D.W. & Van GUNDY, S.D. (1978). The induction of coiled and anhydrobiotic nematodes in soil. Comm., 17th Annual Meeting of the Society of Nematologists Hot Spring, Arkansas, August 7-10, 1978. J.Nematol., 10 (4): 284.
- DEMEURE, Y., FRECKMAN, D.W., & Van GUNDY, S.D. (1979a). Anhydrobiotic coiling of nematodes in soil. J.Nematol., (sous presse).
- DEMEURE, Y., FRECKMAN, D.W. & Van GUNDY (1979b). In vitro response of four species of nematodes to desiccation and discussion of this and related phenomena. Revue Nématol., (sous presse).
- DEMEURE, Y. & NETSCHER, C. (1973). Méthode d'estimation des populations de Meloidogyne dans le sol. Cah. ORSTOM, Sér. Biol., 21 : 85-90.
- DEMEURE, Y., REVERSAT, G., Van GUNDY, S.D. & FRECKMAN, D.W. (1978). The relationship between nematode reserves and their survival to desiccation. Comm., OTAN's tenth annual meeting, Mayaguez, Puerto Rico June 3-10, 1978. Nematologica, 8 (2) :7.
- DOLLIVER, J.S., HILDEBRANDT, A.C. & RIKER, A.J. (1962). Studies of reproduction of Aphelenchoides ritzemabosi (Schwartz) on plant tissues in culture. Nematologica, 7 : 294-300.
- DUTRIEU, J. (1960). Observations biochimiques et physiologiques sur le développement d'Artemia salina Leach. Archs. Zool. exp. gén., 99 : 1-33.
- EILERS, E.I. IKUMA, H. & SUSSMAN, A.S. (1970). Changes in metabolic intermediates during activation of Neurospora. Can. J. Microbiol., 16 : 1351-1356.

- ELLENBY, C. (1968a). Desiccation survival in the plant parasitic nematodes, Heterodera rostochiensis Wollenweber and Ditylenchus dipsaci: (Kühn) Filipjev. Proc.Roy.Soc., B , 169:203-213.
- ELLENBY, C. (1968b). The survival of desiccated larvae of Heterodera rostochiensis and H.schachtii. Nematologica, 14: 544-548.
- ELLENBY, C (1968c). Desiccation survival of the infective larva of Haemonchus contortus. J. Exp.Biol., 49: 469-475.
- ENDO, B.Y. (1962). Survival of Heterodera glycines at controlled relative humidities. Phytopathology, 52: 80-88.
- EVANS, A.A.F. & PERRY, R.N. (1976). Survival strategies in nematodes 1 vol. Acad.press, 383-424.
- FASSULIOTIS, G. (1971). Tolerance of Hoplolaimus columbus to high osmotic pressures, desiccation and high soil temperatures (Abstr.). J. Nematol., 3: 309.
- FRANKLIN, M.T. (1937). The survival of free larvae of Heterodera schachtii in soil. J. Helminth., 15: 69-74.
- FRECKMAN, D.W. (1978). Ecology of anhydrobiotic soil nematodes In: Dried Biological Systems (CROWE and CLEGG, eds) Academic press (In press).
- FRECKMAN, D.W., DEMEURE, Y. & Van GUNDY, S.D. (1978). A technique for inducing individual coiled anhydrobiotic nematode. Comm., Congress Plant Pathology, München, August 16-23, 1978.
- FRECKMAN, D.W., KAPLAN, D.T. & Van GUNDY, S.D. (1977). A comparison of techniques for extraction and study of anhydrobiotic nematodes from dry soils. J.Nematol., 9: 176-181.
- GERMANI, G. & GAUTREAU, J. (1977). Résultats agronomiques obtenus par des traitements nématicides sur arachides au Sénégal. Cah.ORSTOM, Sér.Biol., 11 (1976), 193-202.
- GODFREY, G.H. & HOSHINO, H.M. (1933). Studies on certain environmental relations of the root-knot nematode, Heterodera radicicola. Phytopathology, 23: 41-62.
- GODFREY, G.H. & MORITA, H.T. (1929). Effects of some environmental factors on the root-knot nematode. Phytopathology, 19: 83-84.

- GOODEY, T. (1937). Two methods for staining nematodes in plant tissues. J.Helminth., 15 : 137-144.
- GUIRAN, G.de (1966a). Coloration des nématodes dans les tissus végétaux par le bleu coton à froid. Nematologica, 12 :646.
- GUIRAN, G.de (1966b). Infestation actuelle et infestation potentielle du sol par les nématodes phytoparasites du genre Meloidogyne. C.R. Acad.Sci.Paris, 262: 1754-1756.
- GUIRAN, G.de (1975). A simple method for maintaining constant soil moisture stresses during experiment on nematodes.Nematologica 21: 261-262.
- GUIRAN, G.de & DEMEURE, Y. (1978). Influence du potentiel hydrique des sols sur les masses d'oeufs de Meloidogyne incognita (Nematoda:Meloidogynidae). Revue Nématol., 1: 119-134.
- GUIRAN, G.de & NETSCHER, C. (1970). Les nématodes du genre Meloidogyne parasites de cultures tropicales. Cah.ORSTOM, Sér.Biol., 11: 151-185.
- HEILBRUNN, L.V. (1950). An outline of general physiology. 1 vol. 2nd ed.W.B. Saunders, Philadelphia, 748p.
- HEILMAN, M.D., CARTER, D.L. & GONZALES, C.L. (1965). The ethylene glycol monoethyl ether (EGME) technique for determining soil surface area. Soil Sci., 100: 409-413.
- HUANG, C.S. & HUANG, S.P. (1974). Dehydration and survival of Aphelenchoides besseyi. Nematologica, 20: 9-18.
- KEILIN, D. (1959). The problem of anabiosis or latent life: history and current concept. Proc.Roy.Soc. (London) B,150: 149-191.
- KOEN, H. (1966). The influence of seasonal variations on the vertical distribution of Meloidogyne javanica in sandy soils. Nematologica 12: 297-301.
- MADIN, K.A.C. & CROWE, J.H. (1975). Anhydrobiosis in Nematodes: Carbohydrate and lipid metabolism during dehydration. J.Exp.Zool., 193: 335-342.
- MEAGHER, J.W.(1974). Cryptobiosis of the cereal cyst nematode (Heterodera avenae), and effects of temperature and relative

- humidity on survival of eggs in storage. Nematologica, 20:323-336.
- MERNY, G. & LUC, M. (1969). Les techniques d'échantillonnage des peuplements des nématodes dans le sol. In: Problèmes d'écologie : l'échantillonnage des peuplements animaux des milieux terrestres; M.Lamotte et F.Bourlière ed., Masson et Cie, Paris 303p.
- NETSCHER, C. (1970). Les nématodes parasites des cultures maraichères au Sénégal. Cah. ORSTOM, Sér. Biol., 11:209-229.
- NETSCHER, C. (1978). Morphological and physiological variability of species of Meloidogyne in West Africa and implication for their control. Meded. LandbHogesch., Wageningen, 78:3,47p.
- NIELSEN, C.O. (1949). Studies on the soil microfauna. II. The soil inhabiting nematodes. Natura Jutlandica, 2: 1-131.
- PERRY, R.N. (1977). The water dynamics of stages of Ditylenchus dipsaci and D. myceliophagus during desiccation and rehydration. Parasitology, 75, 45-70.
- PIERRE, F. (1958). Ecologie et peuplement entomologique des sables vifs du Sahara nord-occidental CNRS, Publ. Centre Rech. Sahar., sér. Biol., 1: 333p.
- PRECHT, H., CHRISTOPHERSEN, J., HENSEL, M. & LARCHER, W. (1973). Temperature and life. Springer-Verlag New York, Heidelberg, Berlin. 1973.
- PREYER, W. (1891). Ueber die Anabiose. Physiologie Biol. Zbl., 11 1-5.
- REVERSAT, G. (1977). Etude de la composition biochimique globale des juvéniles des nématodes Meloidogyne javanica et Heterodera oryzae. Cah. DRSTOM, Sér. Biol., 11 (1976), 225-234.
- RHOADES, H.L. & LINFORD, M.B. (1959). Molting of pre-adult nematodes of the genus Paratylenchus stimulated by root diffusates. Science, 130: 1476-1477.

- ROSSNER, J. & PERRY, R.N. (1975). Water loss and associated surface changes after desiccation in Rotylenchus robustus. Nematologica, 21: 438-442.
- ROSSNER, J. & PORSTENDORFER, J. (1973). Raster-elektronenmikroskopische Analyse der Oberflächen normal turgeszenter und infolge von Austrocknung geschrumpfter pflanzenparasitärer Nematoden. Nematologica, 19:468-476.
- ROTHSTEIN, M. (1972). Nematode biochemistry. Excretion of glycerol by Free-living nematodes. In Behme et al., Biology of Nematodes: Current studies, MSS Information Corporation, New York, 37-47.
- SCHEIE, P.O. (1970). Environmental limits of cellular existence. J.Theoret.Biol., 28:315-325.
- SCHMIDT, P. (1948). Anabiosis. U.S.S.R. Acad. Sci., Moscow and Leningrad, 376p.
- SEINHORST, J.W. (1950). De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aantasting door het stengelaaltje (Oitylenchus dipsaci (Kühn) Filipjev). Tijdschs.PlZiekt., 56 : 289-348.
- SEINHORST, J.W.(1955). Een eenvoudige methode voor het afscheiden van aaltjes uit grond. Tijdschr. Plziekt., 61: 188-190.
- SEINHORST, J.W. (1956). The quantitative extraction of nematode from soil. Nematologica, 1: 249-267.
- SEINHORST, J.W. (1962). Modifications of the elutriation method for extracting nematodes from soil. Nematologica, 8: 117-128.
- SHERMAN, G.W. (1934). Survival and revival of Anguillulina dipsaci from narcissus material. Proc.helminth. Soc.Wash., 1, 19.
- SIMONS, W.R. (1973). Nematode survival in relation to soil moisture. Meded. Landb.Hogeschool., 73, 85p.

- STAKMAN, W.P. (1968). Bepaling van vochtspanning en vochtgehalte gronden door middel van dampspanning seven wichten. Meded.Inst.Cult.Tech.Wat. Huish., 111: 44p
- STEINER, G. & ALBIN, F.E. (1946). Resuscitation of the nematode Tylenchus polyhypnus n.sp. after almost 39 years dormancy. J. Wash.Acad.Sci., 36: 97
- STEWART, M.A. & DOUGLAS, J.R. (1938). Studies on the bionomics of Trichostrongylus ascei (Cobbold) and its seasonal incidence an irrigated pastures. Parasitology 30: 477-490.
- Van GUNDY, S.D. (1965). Factors in survival of nematodes. Ann. Rev.Phytopathol., 3: 43-68.
- 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.T. (1959). The movement of eelworms in water films. Ann.appl. Biol., 47: 366-370.
- WALLACE, H.R. (1962). Observations on the behaviour of Ditylenchus dipsaci in soil. Nematologica, 7:91-101.
- WALLACE, H.R. (1968). The influence of soil moisture on survival and hatch of Meloidogyne javanica. Nematologica, 14: 231-242.
- WILLETT, J.D., FRECKMAN, D.W. & Van GUNDY, S.D. (1978^a)
Determination of ATP levels in Aphelenchus avenae in the free living and anhydrobiotic state. 17th annual meeting of the society of nematologists Hot Springs Arkansas August 7-10, 1978.
- WILLETT, J.D., FRECKMAN, D.W. & Van GUNDY, S.D. (1978^b)
Determination of ATP in Aphelenchus avenae in the free living and anhydrobiotic state. Congress Plant Pathology München, August 16-21, 1978.
- WYCKOFF, R.W.G. (1975). Les protéines fossiles et la vie primitive. C.r.hebd.Séanc.Acad.Sci., Paris.^o

280: 147-153.

YUEN, P.H. (1966). The nematode fauna of the regenerated woodland and grassland of Broadbalk Wilderness. Nematologica, 12: 195-214.

ZUCKERMAN, B.M., KHERA, S. & PIERRE, A.R. (1964). Population dynamics of nematodes in cranberry soils. Phytopathology, 54: 654-659.