

# Influence du potentiel hydrique des sols sur les masses d'œufs de *Meloidogyne incognita* (Nematoda : Meloidogynidae)

Georges de GUIRAN\* et Yves DEMEURE

INRA, Faune du Sol, B.P. 1540, Dijon, France et  
ORSTOM, Nématologie, B.P. 1386, Dakar, Sénégal.

## RÉSUMÉ

Une technique utilisant la pression osmotique de solutions de polyéthylène-glycol 20 000 a été utilisée pour étudier l'effet du potentiel hydrique des sols (pF) sur les masses d'œufs de *Meloidogyne incognita*. Cette technique est décrite et analysée de façon critique : elle s'est montrée efficace, précise et fidèle et permet seule d'expérimenter à des pF très élevés (faibles humidités relatives) sans contraintes indésirables.

Soumises, grâce à elle, à des pF variant de 2,7 à 4,2 dans un sol sableux et dans un sol argileux, les masses d'œufs ont montré un optimum d'éclosion supérieur à la « capacité au champ » (pF 3) et plus élevé dans le sol argileux (pF 3,6) que dans le sol sableux (pF 3,3). Au-delà de cet optimum, lié au degré d'aération du sol, l'éclosion diminue lorsqu'on s'approche du point de flétrissement (pF 4,2) mais se maintient davantage dans le sol argileux. Il en est conclu que plus la texture d'un sol est fine, plus le pF optimum pour l'éclosion est élevé et plus cette éclosion se maintient au voisinage du point de flétrissement où elle est rare ou absente.

Les larves écloses disparaissent en partie dans le sol sableux à pF 2,7 probablement sous l'action d'organismes antagonistes.

Retirées du sol, les masses d'œufs éclosent rapidement dans les conditions optimales lorsqu'elles ont séjourné dans un sol sec, mais montrent un retard à l'éclosion après avoir subi les conditions les plus asphyxiantes (sol argileux à pF 2,7).

Dans une deuxième série d'expériences, les masses d'œufs ont été soumises pendant une semaine à des humidités saturantes et subsaturantes (pF faibles) dans les deux types de sol. Dans l'un et l'autre sol, l'éclosion est faible et les larves écloses montrent une quiescence due à l'anoxie. Si cette anoxie est peu prononcée, l'éclosion reprend rapidement après le retour à des conditions optimales, comme cela se produit après un séjour dans le sol au point de flétrissement. Si cette anoxie est plus forte, l'éclosion est à la fois retardée et diminuée. Cette diminution correspond à un blocage du développement à un stade L<sub>1</sub> précoce sans qu'il y ait pour autant mort des œufs. Tous ces phénomènes sont d'autant plus prononcés que le sol est proche de la saturation et ils se produisent à des humidités plus éloignées de la saturation dans le sol argileux en raison du caractère plus asphyxiant de ce type de sol.

Les masses d'œufs n'ayant subi aucune contrainte conservent des œufs vivants ayant leur développement bloqué à un stade peu différencié et donc probablement en diapause.

## SUMMARY

### *Influence of soil water potentials on Meloidogyne incognita egg masses*

A technique using osmotic pressure of polyethylene-glycol (M.W.=20,000) was used to study effect of soil water potentials (pF) on egg masses of *Meloidogyne incognita*. This technique is described in detail. It appeared to be effective, accurate and reliable. Very low relative humidities (high values of pF) were achieved without undesirable stress.

With this technique, egg masses were subjected to pF values varying from 2.7 to 4.2 in a sandy soil and in a clay soil (Fig. 4). In both soils, the optimum pF for the emergence of larvae was reached above the « field capacity » (pF 3) and was higher for clay soil (pF 3,6) than for sandy soil (pF 3,3). Above this optimum, correlated with the aeration of the soil, emergence decreased when approaching the « wilting point » (pF 4,2) but remained higher in the clay soil. Comparing these results with those given by the literature led to the conclusion that the finer the soil

\* Adresse actuelle : INRA, Station de recherches sur les nématodes, B.P. 78, 06602 Antibes, France.

texture the higher the optimum pF for emergence of larvae. At pF values higher than the optimum, a higher percentage of hatching was consistently observed in finer textured soils even when the wilting point was approached.

A part of the population of emerged larvae disappeared from the sandy soil at low pF (high relative humidity) probably due to effect of antagonists (Tab. 5).

When returned to optimal conditions (aerated water at 28 °C) eggs hatched quickly after a one-week-stay in a dry soil but showed a delayed hatch after the same time in less oxygenated conditions (clay soil at pF 2,7) (Fig. 7).

In another experiment, egg masses were placed in water-saturated or subsaturated soils. In both sandy or clay soil, emergence was very low (Tab. 6). Hatched larvae were quiescent due to lack of oxygen (Tab. 7). When returned to optimal conditions, eggs hatched quickly if the oxygen deficiency was not pronounced (Fig. 9) as in the case when eggs were subjected to wilting point. If the oxygen deficiency was more pronounced, hatch was delayed (Fig. 9) and reduced (Fig. 8). This reduction was due to an arrested development at an early L<sub>1</sub> stage without death of the egg (Fig. 10). The closer the point of saturation approached the more pronounced were all these reactions. However, at a given moisture, they are more pronounced in the clay soil owing to its lower degree of aeration.

In egg masses which were not subjected to any stress, those viable eggs which had not hatched had their development arrested at an undifferentiated stage, probably in diapause (Fig. 10 : T).

L'importance des dommages infligés aux cultures saisonnières par les nématodes est fonction des populations que ces cultures trouvent dans le sol au moment de leur installation (Seinhorst, 1965). La résistance des nématodes aux conditions défavorables qui règnent entre deux campagnes, outre qu'elle est nécessaire à leur pérennité, est donc un facteur primordial de leur nocivité puisqu'elle conditionne le niveau de ces infestations au départ. Des phénomènes de cryptobiose chez *Ditylenchus dipsaci* et de diapause chez les *Heterodera* sont connus. On a également mis en évidence une quiescence chez les nématodes ectoparasites (Simons, 1973 ; Demeure, 1975) en réponse à la sécheresse du sol. Chez les *Meloidogyne*, la résistance aux contraintes climatiques est un fait d'évidence : de nombreux observateurs ont pu vérifier que l'infestation pouvait persister de longs mois dans le sol en l'absence de toute racine vivante. Le parasite possède donc un mécanisme lui permettant de survivre aux facteurs climatiques limitants. Parmi ceux-ci, l'humidité du sol est un des plus importants, soit par excès (zones inondables), soit, beaucoup plus fréquemment, par défaut : des zones méditerranéennes aux régions tropicales, les *Meloidogyne* doivent surmonter une saison sèche plus ou moins longue et rigoureuse pour se maintenir dans le sol.

Godfrey, Oliveira et Gittel (1933) ont constaté les premiers qu'un sol sec gardait plus longtemps son pouvoir infectieux en *Meloidogyne* qu'un sol humide. Linford (1941) a observé ensuite que dans un sol ayant une teneur en eau légèrement supérieure au point

de flétrissement, l'éclosion est très faible mais reprend ensuite rapidement dans des conditions normales, ce qui implique que le développement des œufs n'a pas été interrompu. Dropkin, Martin et Johnson (1958) ont confirmé ces observations en plaçant les œufs dans des solutions à pression osmotique élevée (16 atm = pF 4,2 : potentiel hydrique du sol au point de flétrissement) <sup>(1)</sup>.

Wallace (1966) a montré qu'il fallait arriver à des pressions osmotiques beaucoup plus fortes (voisines de 20 atm) pour arrêter le développement embryonnaire qui serait alors définitivement enrayé tandis que la sortie des larves déjà formées peut reprendre après le retour à des conditions normales. Dans un milieu poreux simulant le sol (perlite), l'éclosion des masses d'œufs n'est vraiment importante qu'au voisinage du point d'inflexion de la courbe de rétention d'eau. A saturation et au point de flétrissement, l'éclosion est pratiquement nulle ; elle est très diminuée dès que les macropores se vident d'eau. La différence que l'on observe avec les solutions à pression osmotique variable où la libération reste élevée au-delà du pF 3 est due d'après Wallace à la disparition du film d'eau à la surface des particules dès que ce pF est franchi et à l'impossibilité pour les larves de quitter la masse d'œufs. Il

<sup>(1)</sup> Le potentiel hydrique d'un sol est la somme des différents potentiels de l'eau dans le sol (matriciel, osmotique, hydrostatique et de gravité). On tend maintenant à l'exprimer en bar par rapport au potentiel de l'eau libre et donc par un chiffre négatif. On a préféré ici continuer à employer la notation logarithmique  $pF = \log(-h)$  où h est le potentiel hydrique exprimé en cm d'eau (Berger, 1971).

est évident que la perlite est un milieu de porosité discontinue qui, comme le sable et d'autres milieux artificiels utilisés dans ce genre d'expériences, ne reflète pas fidèlement les conditions régnant dans le sol. Leur rapide drainage peut par exemple modifier fortement l'humidité atmosphérique dont l'influence sur les nématodes a été démontrée (Daulton & Nusbaum, 1962).

Il était donc souhaitable d'expérimenter de façon précise dans le sol lui-même, mais une telle expérimentation se heurtait à un obstacle majeur : le manque de technique satisfaisante pour maintenir ce sol à une humidité constante tout en le conservant dans les conditions les plus naturelles possibles de compaction, d'aération, etc. ; la seule technique acceptable, l'entonnoir à dépression d'eau employé par Wallace (1954), n'étant utilisable que pour des pF très faibles.

Une technique utilisant la pression osmotique de solutions de polyéthylène glycol (P.E.G.) a permis de satisfaire ces exigences et d'étudier l'influence des potentiels hydriques sur les masses d'œufs de *M. incognita*. Une description critique de cette méthode est d'abord donnée. Sont ensuite exposés et discutés les résultats d'expériences au cours desquelles les masses d'œufs de *M. incognita* ont été introduites dans deux types de sol, sableux et argileux, maintenus dans un premier temps à des humidités faibles et moyennes (pF 2,7 à 4,2) et dans un deuxième temps à des humidités plus fortes, proches de la saturation.

## Matériel et Méthode

### TECHNIQUE DE TAMPONNEMENT DE L'HUMIDITÉ DU SOL

Cette technique a été brièvement décrite dans une note antérieure (de Guiran, 1975). Nous rappellerons qu'elle consiste à placer le sol saturé d'eau dans des sachets de matière hémiperméable et à plonger ces sachets dans une solution de polyéthylène-glycol de poids moléculaire 20 000. La pression osmotique de la solution provoque une sortie d'eau du sol tandis que les molécules volumineuses du

P.E.G. ne peuvent traverser la membrane hémiperméable. Lorsque le potentiel hydrique du sol (pF) devient équivalent à la pression osmotique de la solution, le système est en équilibre. Il suffit donc de fixer la concentration en P.E.G. pour obtenir et maintenir dans le sol un pF donné. Cette méthode a fait l'objet d'un certain nombre de tests préalables portant sur son efficacité, sa précision et sa fidélité. Nous rappellerons que Zur (1966) l'a jugée au moins aussi satisfaisante, pour l'établissement des courbes de rétention d'eau (moisture characteristics), que la presse à membrane.

Selon les données de Lagerwerff, Ogata et Eagle (1961), une gamme de concentrations en P.E.G. a été choisie afin d'obtenir des pressions osmotiques croissant géométriquement et donnant des pF régulièrement espacés de 0,3 unités. Pour faciliter les manipulations, la densité des différentes solutions a été déterminée sur quatre échantillons et ces solutions ont été par la suite ajustées à la densité moyenne ainsi obtenue. Le tableau 1 donne les correspondances entre les caractéristiques des solutions utilisées.

Tableau 1  
Caractéristiques des solutions de polyéthylène-glycol 20 000 (P.E.G.) utilisées au cours des expériences

Table 1  
Characteristics of the solutions of P.E.G. used during the experiments

P.E.G. (*) %	Densité	Pression osmotique (atm)	pF
4	1,005	0,5	2,7
8	1,012	1	3
12	1,018	2	3,3
16	1,025	4	3,6
20	1,030	8	3,9
30	1,049	16	4,2

(\*) Concentration en g de P.E.G. pour 100 cc de solution.

Avec les solutions ainsi définies, la méthode a été testée sur les deux types de sol utilisés au cours des expériences sur les masses d'œufs et dont les caractéristiques physiques sont données au tableau 2. La porosité d'un sol, donc sa teneur en eau, dépendant étroitement de sa structure et de sa compaction, un processus standard de manipulation a été établi et utilisé pour tous les tests et expériences relatés ci-après, à savoir : le sol est séché à l'air en couches minces, broyé et tamisé à 1,5 mm. Une quantité fixe de ce sol est introduite dans les sachets de matière hémiperméable ( $\varnothing = 43$  mm) partiellement fermés à la base puis humidifiée *per ascensum*. Les sachets sont ensuite hermétiquement clos à la base et plongés dans un récipient contenant un volume constant de solution de P.E.G. calculé pour égaliser les niveaux du sol et de la solution dans les récipients qui contiennent toujours cinq sachets.

Tableau 2

Caractéristiques physiques des sols employés pour les expériences. Pourcentages des différents constituants

Table 2

Physical characteristics of the soils used during the experiments. Percentage of components

	Sol sableux	Sol argileux
Sables grossiers (200 à 2 000 $\mu\text{m}$ )	67	2,5
Sables fins (50 à 200 $\mu\text{m}$ )	18,5	12
Limons grossiers (20 à 50 $\mu\text{m}$ )	4,5	21,5
Limons (2 à 20 $\mu\text{m}$ )	5	34
Argiles ( $< 2$ $\mu\text{m}$ )	5	30

La mise au point de la méthode a tout d'abord consisté à mesurer la vitesse de dessi-

cation sur sol sableux et argileux pour les différentes solutions utilisées. On a pu constater que dans la solution à pF 4,2 l'équilibre était facilement atteint en vingt-quatre heures et que les courbes étaient à peu près parallèles pour les deux types de sol. Cependant, on a pu également constater que la valeur d'équilibre était d'autant plus longue à atteindre que le pF de la solution était plus faible. Afin de soumettre les masses d'œufs aux différents pF dans des délais aussi courts et homogènes que possible, il a été procédé de la façon suivante : la courbe de rétention d'eau des deux sols a tout d'abord été établie pour les différents pF après équilibre (Fig. 1). Lors des expériences, tous les sachets ont été plongés dans la solution à pF 4,2 afin d'accélérer la dessiccation. Chaque lot est ensuite retiré au bout du temps requis pour obtenir l'humidité désirée et plongé dans la solution définitive. Pratiquement, cela a consisté à laisser les sachets destinés aux pF 2,7 et 3 pendant six heures dans la solution à pF 4,2 et ceux destinés au pF 3,3, 3,6 et 3,9 pendant douze heures. Les solutions de P.E.G. ont été changées après vingt-quatre heures, puis tous les trois jours pour éviter leur détitration éventuelle.

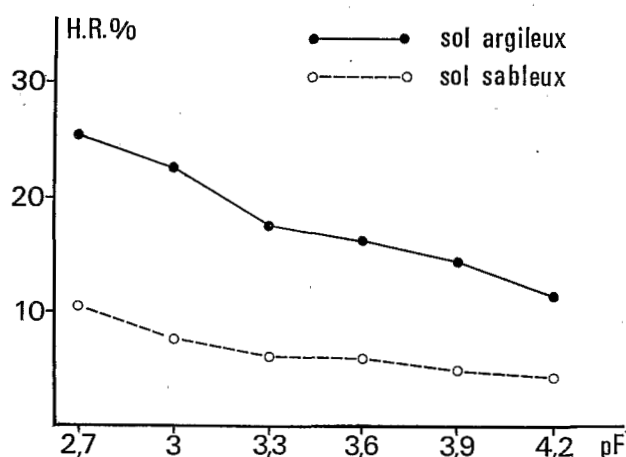


Fig. 1 : Humidité relative (% poids du sol sec) de deux sols en fonction du potentiel hydrique (pF) déterminé par la méthode osmotique au polyéthylène-glycol.

Relative humidity (% weight of dry soil) of two soils, related to water potential (pF) controlled by an osmotic method using polyethylene-glycol.

Tableau 3  
Fidélité de la méthode osmotique de tamponnement de l'humidité du sol.

Table 3  
*Fidelity of the osmotic method for the control of soil moisture stress.*

pF		Sol sableux	Sol argileux	F théorique	
				.05	.01
3,3	$\bar{x}$ HR (*)	5,84	16,45		
		6,01	16,41		
		5,59	16,60		
		5,80	16,78		
	F	1,33	4,10	3,49	5,95
4,2	$\bar{x}$ HR (*)	3,94	11,31		
		4,04	11,45		
		3,81	11,44		
		3,79	11,50		
	F	0,37	1,33		

(\*) Humidité relative (% sol sec), moyennes des 5 sachets de 4 récipients de solution de P.E.G.

(\*) *Relative humidity (% dry soil), means of the 5 bags of 4 P.E.G. solution containers.*

### Variabilité

Deux aspects de la variabilité de la méthode ont été testés : la variabilité entre les répétitions d'une même expérience (précision) et celle qui se produit d'une expérience à l'autre (fidélité). La précision a été estimée en mesurant le coefficient de variation (C.V.) de la teneur en eau pour les cinq sachets de chaque série. On voit sur la figure 2 que ce C.V. est d'autant plus faible que le pF est plus élevé. La précision est donc déjà satisfaisante pour les pF les plus faibles (C.V. < 10%). Elle atteint un degré élevé pour les pF les plus forts où le C.V. est inférieur à 2%. On remarquera également que la précision est encore plus grande pour le sol argileux que pour le sol sableux.

En ce qui concerne la fidélité, elle a été évaluée en effectuant les mesures d'humidité relative sur chacun des cinq sachets de quatre récipients différents et ceci pour les pF 3,3 et 4,2 et pour les deux types de sol. Le tableau 3 donne les moyennes des chiffres obtenus. Une analyse de variance a montré qu'aucune différence n'existait entre les différents lots d'un même pF mis en place simultanément sauf pour un traitement : pF 3,3 en sol argileux. Mais cette différence n'est significative que pour  $\alpha=0,05$  et ne correspond qu'à un écart d'humidité relative de moins de 1%. Pour les trois autres combinaisons, la différence n'est pas significative et la puissance calculée, proportionnelle à l'homogénéité des données, varie de 75 à plus de 90%.

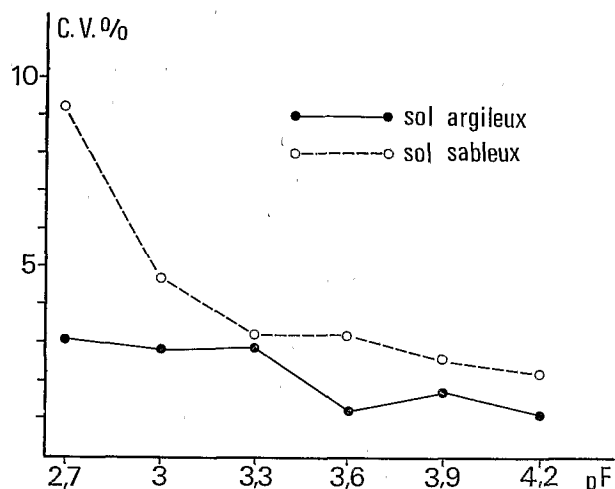


Fig. 2 : Précision de la méthode osmotique de tamponnement de l'humidité du sol : coefficient de variation de l'humidité relative en fonction du potentiel hydrique.

*Precision of the osmotic method for controlling the soil moisture stress : variation coefficient of the relative humidity related to water potential.*

#### Homogénéité

Une tranche verticale de sol amené à pF 4,2 par cette méthode a été découpée en quinze échantillons (soit cinq rangées verticales et trois rangées horizontales) dont la teneur en eau a été mesurée (Tabl. 4). Une analyse de variance a montré qu'aucune différence n'existait entre les valeurs obtenues, ni horizontalement, ni verticalement ( $F < 1$ ; C.V.=9%; puissance > 90%).

#### Durabilité

Comme l'a déjà signalé de Guiran (1975) des boyaux de fibres animales reconstitués à partir de déchets de cuir (Fibran<sup>®</sup>) ont été employés pour diminuer la destruction des membranes hémiperméables par les micro-organismes du sol. Ces boyaux de fibres animales ont permis d'expérimenter sans problème, à tous les pF choisis, sur les masses d'œufs qui séjournèrent une semaine dans le sol. Pour des durées plus longues, une destruction de ces boyaux finit néanmoins par se produire mais d'autant plus lentement que le sol est moins

argileux et que le pF est plus élevé. Seule une membrane hémiperméable non biodégradable permettrait d'expérimenter longtemps avec des sols très humides.

Tableau 4

Homogénéité de la méthode osmotique de tamponnement de l'humidité du sol (24 heures à pF 4,2) : humidités relatives des 15 parties d'une tranche de sol découpée verticalement dans un sachet et séparée selon 5 rangées verticales et 3 rangées horizontales (expérience réalisée sur un sol légèrement moins sableux que celui employé pour les autres)

Table 4

*Homogeneity of the osmotic method for the control of soil moisture stress (24 hours at pF 4.2) : relative humidity of the 15 parts of a slice cut vertically in a bag of soil and separated in 5 vertical and 3 horizontal rows (experiment conducted with a slightly less sandy soil than for all others)*

7,02	6,20	6,76	8,56	7,93
7,07	7,30	7,96	7,81	7,35
7,29	7,51	7,18	7,04	6,24

#### HUMIDITÉS SUBSATURANTES

Les résultats des premières expériences ayant montré une réaction particulière des masses d'œufs aux fortes humidités, ces dernières ont été étudiées plus en détail en s'approchant graduellement de la saturation. Dans ce but, la méthode osmotique a été remplacée par l'entonnoir à verre fritté (Wallace, 1954) relié à un tube souple en U dont l'abaissement détermine une teneur en eau inversement proportionnelle à la succion exercée. Cinq succions ont été testées : 0 - 20 - 40 - 80 - 160 cm. Ces succions déterminent des pF théoriques de  $\approx 0 - 1,3 - 1,6 - 1,9$  et 2,2. Cependant, pour bien différencier cette méthode de la précédente, les résultats seront également exprimés en cm de succion. La figure 3 donne les teneurs en eau correspondantes pour les deux types de sols.

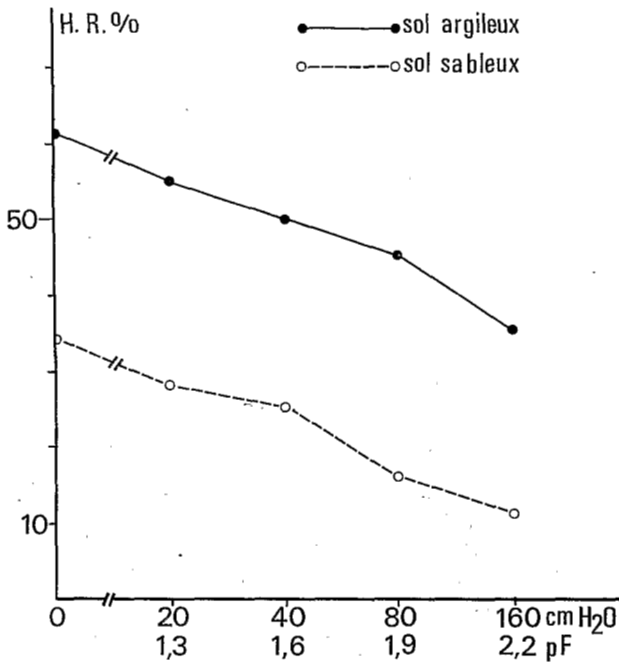


Fig. 3 : Humidité relative de deux sols en fonction de la succion exercée à travers un verre fritté, en cm d'eau, et pF correspondants.

*Relative humidity of two soils, related to suction applied through a sintered glass plate, in cm of water, and corresponding pF.*

#### EXPÉRIENCES SUR LES MASSES D'ŒUFS

La souche de *Meloidogyne incognita* utilisée a été multipliée à partir d'une seule femelle prélevée dans une population d'Adiopodoumé (Côte d'Ivoire) et élevée en serre sur tomate (cv. Montfavet 63-5) inoculée par des larves âgées de vingt-quatre heures. Les masses d'œufs servant aux expériences sont prélevées sur les racines de plantes inoculées huit semaines auparavant. Un lot homogène du nombre de masses d'œufs nécessaires à chaque expérience est trié. Les masses d'œufs sont ensuite prélevées au hasard et placées par groupe de cinq sur des microtamis de plexiglas et de toile de nylon de 100 µm d'ouverture. Les sachets hémiperméables sont remplis de 50 g de sol et humidifiés *per ascensum*. Le microtamis contenant les masses d'œufs est placé sur la surface du sol, 50 autres grammes de sol sont introduits

dans le sachet et humidifiés de la même manière. Les sachets sont alors clos à la base et placés, à raison de quatre par récipient, dans les solutions de P.E.G. à différents pF (Tabl. 1). Chaque récipient comprend un cinquième sachet ne contenant pas de masse d'œufs et servant de témoin pour mesurer la teneur en eau du sol.

Pour les expériences en entonnoirs à verre fritté, la même procédure est adoptée, chaque entonnoir recevant en tout 50 g de sol. Chaque succion comprend également quatre répétitions portant chacune sur cinq masses d'œufs et un cinquième entonnoir servant de témoin pour la mesure de la teneur en eau du sol.

Au bout d'une semaine, les microtamis sont retirés et la totalité du sol de chaque répétition est traitée par élutriation, tamisage et centrifugation selon la procédure décrite par Demeure et Netscher (1973) pour en extraire les larves libérées. Les masses d'œufs sont facilement récupérées sur les microtamis. Lorsqu'on cherche à connaître leur composition dès que s'arrête l'effet de l'humidité du sol, elles sont dissociées dans du NaClO à 0,5% pendant cinq minutes à l'aide d'un mixeur à rotation suffisamment ralentie pour n'obtenir qu'un simple brassage du liquide. Si l'on veut mesurer la persistance de leur pouvoir d'éclosion, les masses d'œufs sont déposées sur des tamis de 100 µm d'ouverture placés sur des verres de montre dits « de Syracuse » et recouverts d'un film d'eau déminéralisée. Chaque jour l'eau est renouvelée dans ces verres de montre pour comptage des larves écloses. Lorsque l'éclosion est terminée, les mêmes masses d'œufs sont placées pendant une nuit dans le New-Blue R à 0,05% (Shepherd, 1962), puis légèrement pressées entre deux lames porte-objet pour comptage des œufs vivants et morts qu'elles contiennent encore. Au démarrage de chaque expérience, quatre lots témoins de cinq masses d'œufs sont dissociés pour connaître leur composition de départ et quatre autres mis à éclore dans un film d'eau déminéralisée pour connaître l'éclosion dans les conditions optimales. Tous les essais et expériences sont conduits en chambre climatisée ou en étuve à 28 °C. La teneur en eau du sol est mesurée par pesée avant et après passage à l'étuve à 110 °C pendant une nuit et toujours exprimée en pourcentage du sol sec.

## Résultats et interprétations

### HUMIDITÉS FAIBLES ET MOYENNES

Une première série d'expériences a été mise en route pour étudier l'influence de l'humidité du sol, contrôlée par la méthode osmotique, sur les masses d'œufs de *M. incognita*, entre pF 2,7 et pF 4,2.

#### Larves extraites du sol (Fig. 4)

L'humidité du sol étant à l'équilibre après vingt-quatre heures, deux mesures sont faites du nombre de larves dans le sol : une après vingt-quatre heures qui donne à peu près le même nombre pour toutes les valeurs et une après une semaine. Sur la figure 4, la différence entre ces deux mesures est exprimée en pourcentage du nombre moyen d'œufs introduits dans le sol, évalué d'après l'échantillon témoin mis à éclore dans les conditions optimales au début de l'expérience ; on obtient ainsi une valeur réellement liée au pF considéré. On constate que le nombre de larves retrouvées dans le sol croît jusqu'à un maximum situé au-delà de pF 3. Ce maximum est situé plus

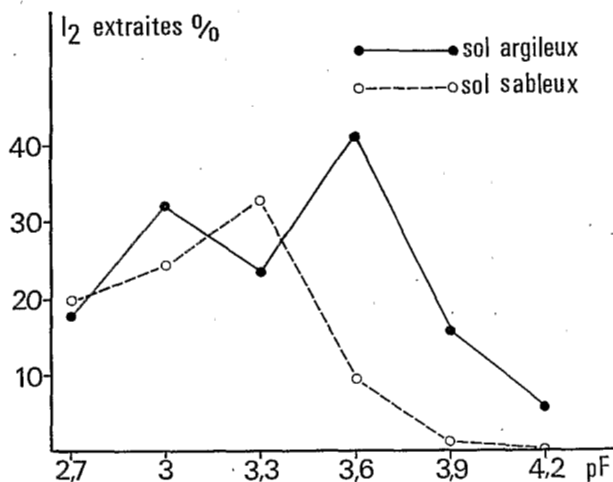


Fig. 4 : Larves extraites de deux sols inoculés une semaine plus tôt avec cinq masses d'œufs et conservées à six potentiels hydriques différents (nombre de larves en pourcentage du contenu initial des masses d'œufs).

*Larvae extracted from two soils inoculated one week before with five egg masses and maintained at six water potentials (larvae in percentage of the initial content of egg masses).*

haut pour le sol argileux (pF 3,6) que pour le sol sableux (pF 3,3). Le nombre de larves baisse ensuite assez rapidement pour devenir faible à nul à pF 4,2 (point de flétrissement). Mais on peut constater que les larves sont toujours plus nombreuses dans le sol argileux pour les pF élevés.

Le pF optimum plus élevé pour les sols argileux est certainement dû à une différence d'aération. On sait (Wallace, 1968) que le manque d'aération diminue l'éclosion des œufs. Or un sol argileux, ayant une porosité plus fine, s'aère moins vite qu'un sol sableux quand ses pores se vident d'eau. L'aération la plus favorable à l'éclosion n'est donc atteinte qu'à un pF plus élevé dans un sol argileux.

#### Composition des masses d'œufs

La figure 5 montre ce qui reste dans les masses d'œufs après une semaine à différents pF, comparé à un témoin (T) donnant leur composition moyenne au départ de l'expérience. On voit qu'à tous les pF et dans les deux sols le développement embryonnaire s'est poursuivi normalement, le nombre d'embryons restant relativement constant. En ce qui concerne le devenir des larves ainsi formées, on peut remarquer que cette figure 5 complète la figure 4 et qu'à un faible nombre d'œufs restant dans les masses d'œufs correspond un nombre élevé de larves dans le sol et réciproquement. Cela confirme donc l'éclosion plus forte dans le sol argileux pour les pF élevés, (sauf à pF 4,2 où elle est très faible dans les deux sols) et l'éclosion plus faible dans le même sol à pF 2,7. Cependant, à ce même pF 2,7 le sol sableux fait exception : on retrouve peu d'œufs dans les masses d'œufs mais également peu de larves dans le sol. Il faut donc admettre que dans le sol sableux humide des larves ont été libérées mais n'ont pas survécu.

Cette éventualité a été vérifiée en introduisant 2 000 l<sub>2</sub> dans la même quantité de sol sableux ou argileux, en conservant ce sol à trois pF : 2,7 - 3,3 et 4,2 et en extrayant les larves après une semaine. Le tableau 5 donne les résultats obtenus en pourcentage d'une extraction témoin effectuée immédiatement après l'introduction des larves, tous les traitements ayant fait l'objet de quatre répétitions.



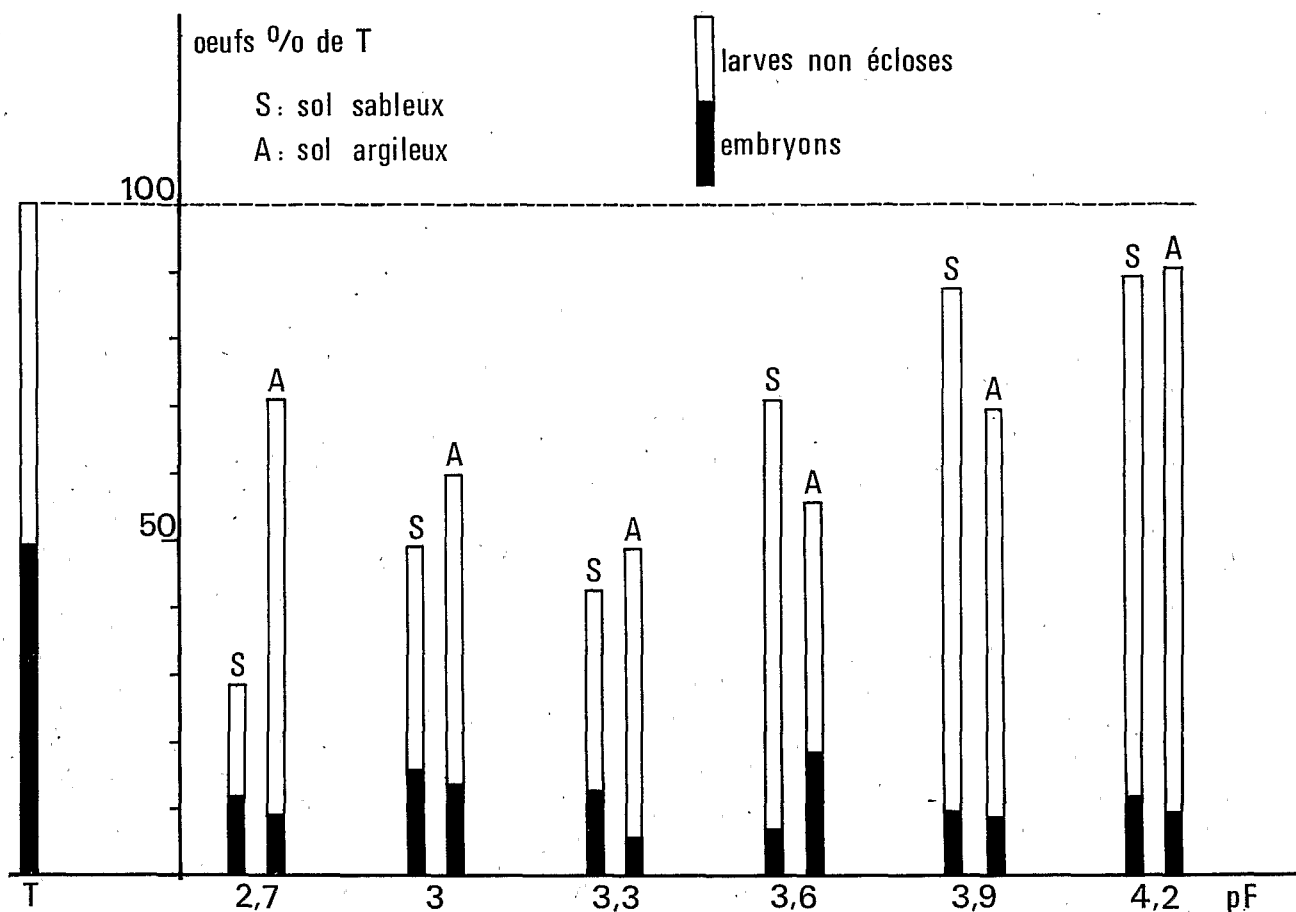


Fig. 5 : Contenu des masses d'œufs après une semaine dans deux sols maintenus à six potentiels hydriques, en pourcentage du contenu initial d'un témoin (T).

*Content of M. incognita egg masses after one week in two soils maintained at six water potentials, in percentage of initial content of a control (T).*

Tableau 5

Conservation des larves dans le sol après une semaine à différents pF, en pourcentage du nombre récupéré en extrayant immédiatement

Table 5

*Survival of larvae in soil after one week at different pF, in percentage of the number recovered by extracting immediately*

pF	Sol sableux	Sol argileux
2,7	63	88
3,3	85	76
4,2	91	84

On voit qu'effectivement les larves se sont mieux maintenues dans le sol argileux que dans le sol sableux aux faibles pF.

*Conservation du pouvoir d'éclosion*

Dans une expérience similaire, les masses d'œufs récupérées dans le sol, au lieu d'être dissociées pour dénombrer les œufs qu'elles contiennent, sont mises à éclore dans un film d'eau déminéralisée avec comptage journalier des larves tant que l'éclosion se maintient. La figure 6 donne le total des larves écloses pour les deux types de sol. On retrouve, à pF 2,7, une différence entre les sols argileux

et sableux qui reflète celle constatée sur la figure 5, les larves non écloses dans le sol argileux ayant ensuite éclos dans l'eau. Les comptages journaliers d'éclosion ont permis d'étudier la cinétique de l'éclosion des œufs après leur séjour dans le sol. Dans le cas du sol sableux, l'éclosion dans l'eau est rapide quel que soit le pF. Pour le sol argileux, les résultats ont montré, à pF 2,7, une allure sigmoïde de la courbe d'éclosion cumulée visible sur la figure 7. Pour les autres pF, les masses d'œufs montrent une éclosion plus rapide, dont celle à pF 3,9, visible sur la figure 7, donne une idée générale. On constate donc, dans le sol argileux, un effet retardateur sur l'éclosion qui est très probablement lié à l'asphyxie plus prononcée dans ce type de sol aux fortes humidités et qui rappelle un effet similaire des faibles tensions en oxygène démontré *in vitro* par Wallace (1968) sur *Meloidogyne javanica*.

Il a donc paru intéressant d'étudier l'effet sur les masses d'œufs des fortes humidités du sol et du manque d'aération qui en est la conséquence.

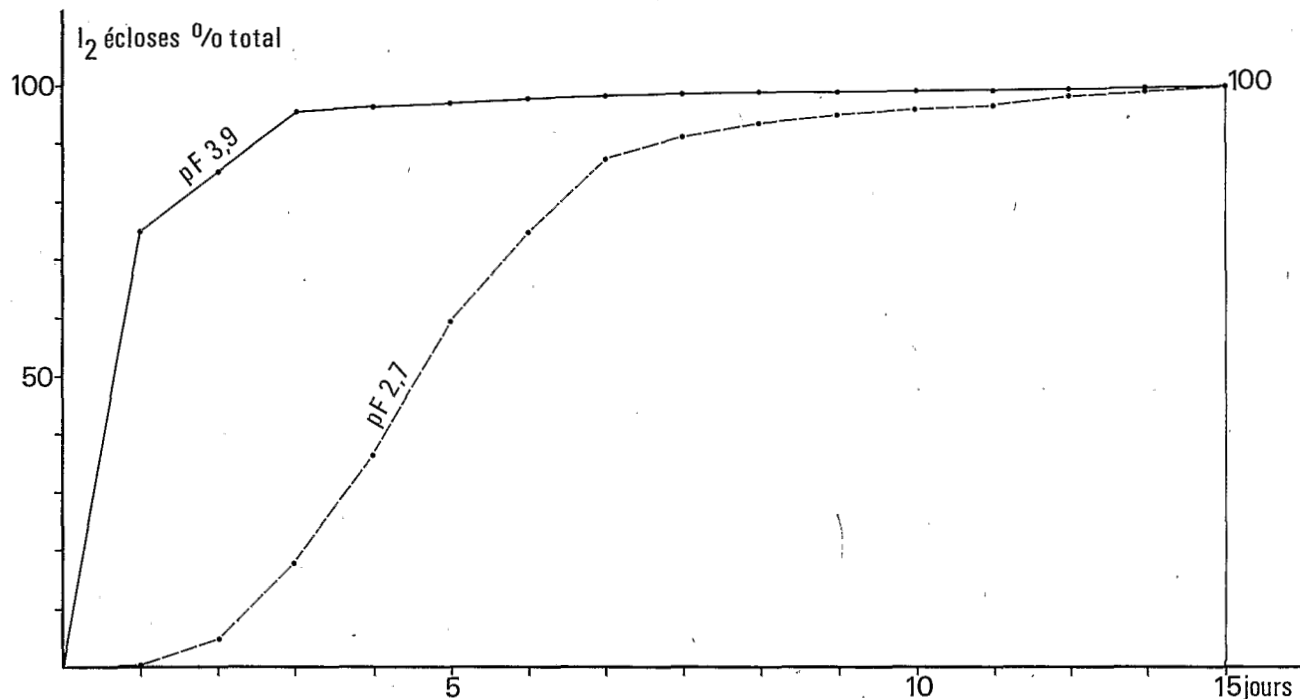


Fig. 7 : Éclosion cumulée des masses d'œufs de *M. incognita* après une semaine à pF 2,7 et 3,9 dans le sol argileux en pourcentage du total des larves écloses.

*Cumulative hatch of M. incognita egg masses after one week at pF 2,7 and 3,9 in clay soil in percentage of total hatched larvae.*

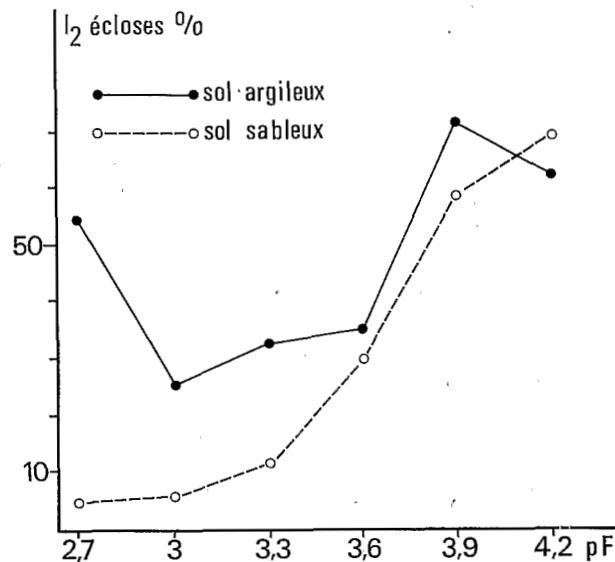


Fig. 6 : Conservation du pouvoir d'éclosion des masses d'œufs de *M. incognita* après une semaine dans deux sols à six potentiels hydriques, en pourcentage du contenu des masses d'œufs au départ.

*Conservation of the hatching power of M. incognita egg masses after one week in two soils at six water potentials, in percentage of initial content of egg masses.*

HUMIDITÉS FORTES

Pour étudier l'effet des taux d'humidité proches de la saturation sur les masses d'œufs de *M. incognita*, la technique de l'entonnoir à verre fritté a été employée en raison des faibles variations qu'elle permet d'obtenir à ce niveau. Les masses d'œufs ont donc été conservées dans les deux types de sol pendant une semaine avec des succions de 0, 20, 40, 80 et 160 cm (pF :  $\approx 0 - 1,3 - 1,6 - 1,9$  et  $2,2$ ).

*Larves extraites du sol*

Le tableau 6 indique le pourcentage des larves retrouvées dans le sol. Par comparaison avec la figure 4, on constate que ce pourcentage est très faible pour toutes les succions et pour les deux sols. Il se produit cependant un relèvement progressif qui démarre plus tôt pour le sol sableux (40 cm) que pour le sol argileux (160 cm). En outre, alors qu'à humidité moyenne et faible (pF 2,7 à 4,4) toutes les larves extraites étaient actives, un pourcentage variable de larves étaient ici quiescentes, c'est-à-dire vivantes mais immobiles. Le tableau 7 indique quels sont ces pourcentages

Tableau 6

Larves retirées du sol après une semaine à différentes succions en pourcentage du contenu des masses d'œufs inoculées

Table 6

*Larvae recovered from soil after one week at different succions, in percentage of the content of egg masses introduced*

Succion cm d'eau	Sol sableux	Sol argileux
0	0,42	0,54
20	0,26	0,57
40	2,40	0,60
80	2,60	0,48
160	3,98	7,04

pour les deux types de sol. On voit que dans le sol sableux le pourcentage de quiescence baisse à partir de 40 cm pour devenir très faible à partir de 80 cm, alors que dans le sol argileux les larves quiescentes restent nombreuses à toutes les succions. Cette quiescence est due au manque d'oxygène, Van Gundy, Bird et Wallace (1967) ayant observé, *in vitro*, la même réaction dans des conditions asphyxiantes.

Tableau 7

Pourcentage de quiescence parmi les larves retirées de sols à forte humidité

Table 7

*Percentage of quiescence among larvae recovered from soils at high moisture content*

Succion cm d'eau	Sol sableux	Sol argileux
0	94	98
20	100	79
40	38	71
80	6	68
160	4	30

*Conservation du pouvoir d'éclosion*

Les masses d'œufs incluses dans le sol soumis aux différentes succions ci-dessus ont été récupérées et mises à éclore dans un film d'eau déminéralisée avec comptage journalier des larves. La figure 8 indique la quantité de larves récupérées pour chaque traitement et pour les deux types de sol en pourcentage d'un lot équivalent ayant éclos dans les conditions optimales. On constate qu'après avoir séjourné dans le sol argileux entre 0 et 160 cm de succion, les œufs ne conservaient qu'un pouvoir d'éclosion moyen se situant autour de 55%, avec un léger accroissement en fonction de la succion exercée sur le sol. Par contre, dans le sol sableux, le pouvoir d'éclosion est fortement

conservé pour 40 et 80 cm de succion, tandis qu'il est plus faible pour les autres valeurs. Il est intéressant de vérifier dans quelles conditions s'est produite cette éclosion et la figure 9 en montre la cinétique : on peut voir qu'elle est tout à fait différente selon les traitements et que le même phénomène se retrouve dans les deux types de sol mais avec un décalage dans les valeurs. Dans le sol sableux, l'éclosion est tout de suite abondante sauf pour 0 et 20 cm où il se produit un retard à l'émergence des larves se traduisant par une courbe sinusoïdale. Dans le sol argileux, ce retard se produit pour toutes les valeurs sauf la plus forte succion (160 cm).

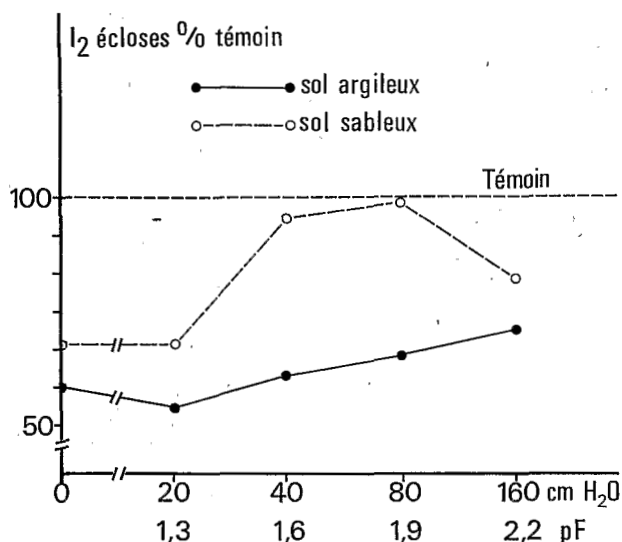


Fig. 8 : Conservation du pouvoir d'éclosion des masses d'œufs de *M. incognita* ayant séjourné une semaine dans deux sols ayant subi une force de succion entre 0 et 160 cm d'eau, en pourcentage d'un lot équivalent ayant éclos dans les conditions optimales.

*Conservation of the hatching power of M. incognita egg masses after one week in two soils subjected to suction from 0 to 160 cm of water, in percentage of a control hatched in optimal conditions.*

#### Etat des œufs non éclos

Dans l'ensemble, la libération des larves dans le sol a donc été faible (Tabl. 6) et l'éclosion qui a suivi ne l'a pas toujours compensée (Fig. 8). Il reste donc à savoir ce que sont devenus les œufs non éclos. Dans ce but, l'éclosion terminée, les masses d'œufs ont été

soumises à la coloration au New-Blue R et leur contenu observé et dénombré sous le microscope. La figure 10 montre le nombre d'embryons et de larves non écloses qui restent dans les masses d'œufs. On voit que les œufs restants compensent le déficit d'éclosion précédent et qu'un certain nombre d'œufs se trouvent bloqués dans leur évolution. Ce blocage ne se produit pas au stade embryonnaire puisque tous les traitements conservent environ le même nombre d'embryons que le témoin non inclus dans le sol. Par contre, on peut constater que de nombreuses larves sont restées bloquées dans les œufs sans pouvoir éclore et ce, précisément, lorsque l'asphyxie a empêché l'éclosion. A l'examen microscopique ces larves se sont révélées être des larves de premier stade n'ayant pas terminé leur différenciation. Comme pour le retard et la diminution de l'éclosion constatés plus haut, on peut voir que la présence des larves bloquées se produit pour des succions plus élevées dans le sol argileux, traduisant le caractère asphyxiant plus prononcé de ce sol aux fortes humidités.

#### Discussion et conclusion

L'emploi d'une méthode permettant de contrôler de manière efficace, précise et fidèle l'humidité du sol dans des faibles valeurs, entre la capacité au champ et le point de flétrissement, a donc permis de mettre en évidence des différences de réaction des masses d'œufs de *M. incognita* selon la texture du sol où elles séjournent et son taux d'humidité. En particulier, on a pu montrer que, dans les sols argileux, le pF optimum de libération des larves était plus élevé que dans les sols sableux et que, dans les deux cas, cet optimum se situait au-delà de la capacité au champ.

On a vu (Wallace, 1966) que dans des supports à texture grossière (perlite ou sable), l'optimum d'éclosion se situait à la capacité au champ (point d'inflexion de la courbe de rétention d'eau), très vite atteinte pour ces supports et qu'au-delà l'éclosion diminuait très fortement. En comparant ces résultats à ceux obtenus ici on peut conclure que plus la texture d'un sol est fine, plus le pF optimum pour l'éclosion est élevé.

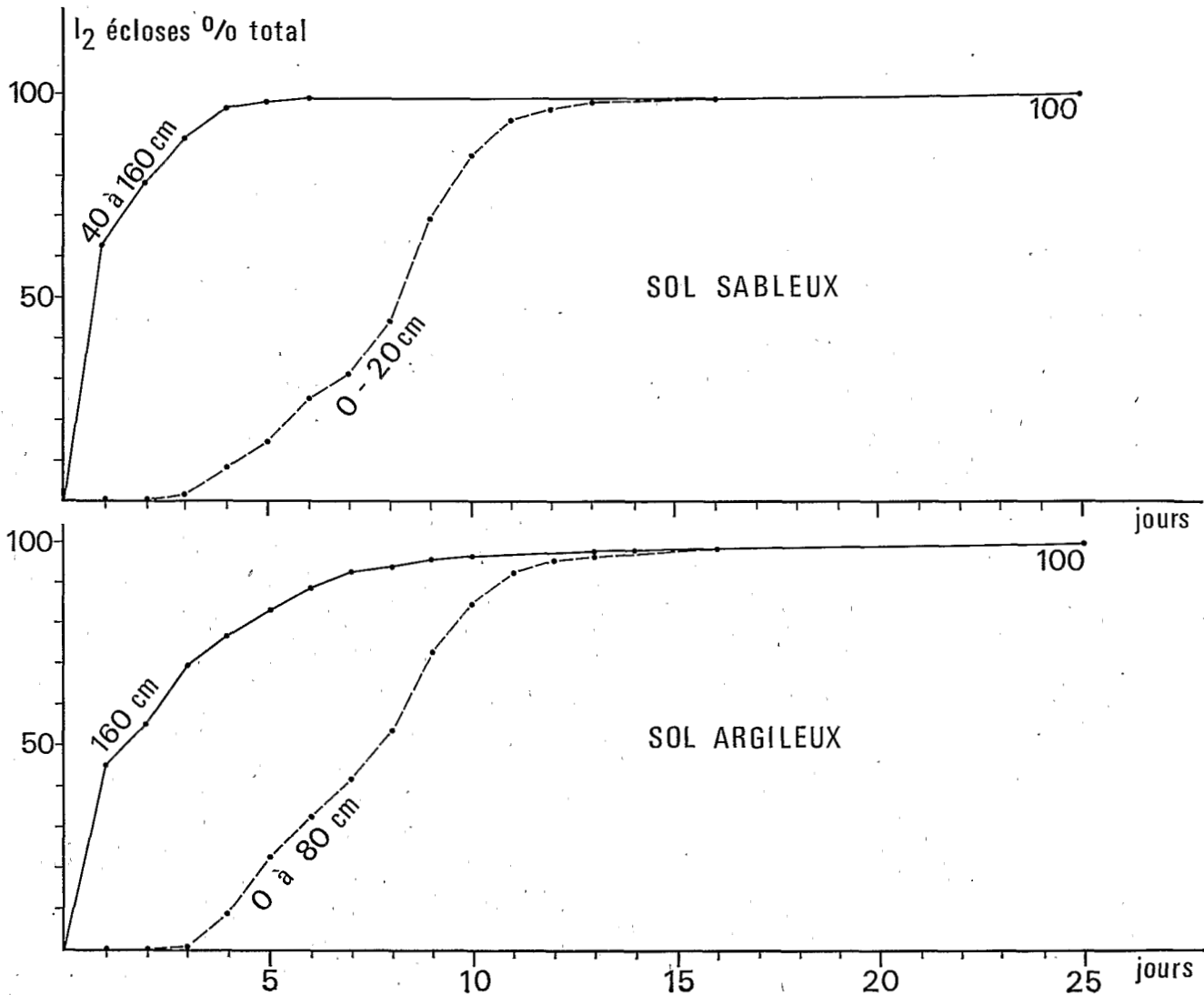


Fig. 9 : Éclosions quotidiennes cumulées dans l'eau aérée des masses d'œufs de *M. incognita*, en pourcentage du total éclos, après une semaine dans le sol à différentes succions.

*Cumulative daily hatch of M. incognita egg masses, in aerated water, in percentage of total hatch, after one week in soil at different succions.*

On a vu d'autre part qu'entre cet optimum et le point de flétrissement la libération des larves est plus élevée dans le sol argileux. Tout se passe comme si, pour les pF élevés, le nombre de larves retrouvées dans le sol était lié à la quantité d'eau encore contenue dans ce sol et qui est plus grande pour un sol argileux, indépendamment de la force avec laquelle cette eau est retenue, force qui est la même dans les deux sols pour un même pF. Il se pourrait que dans le sol argileux l'humidité atmosphérique,

dont l'effet a été démontré (Daulton & Nusbaum, 1962), reste plus élevée dans les espaces interparticulaires et favorise davantage l'éclosion.

Dans le sol sableux utilisé, les larves libérées ne se sont pas maintenues de façon égale à toutes les humidités. Il semble que dans ce sol une élimination des larves se produise en proportion du taux d'humidité. Merny (1970) a montré que 80% des larves d'*Heterodera oryzae* meurent en une semaine dans un sol inondé.

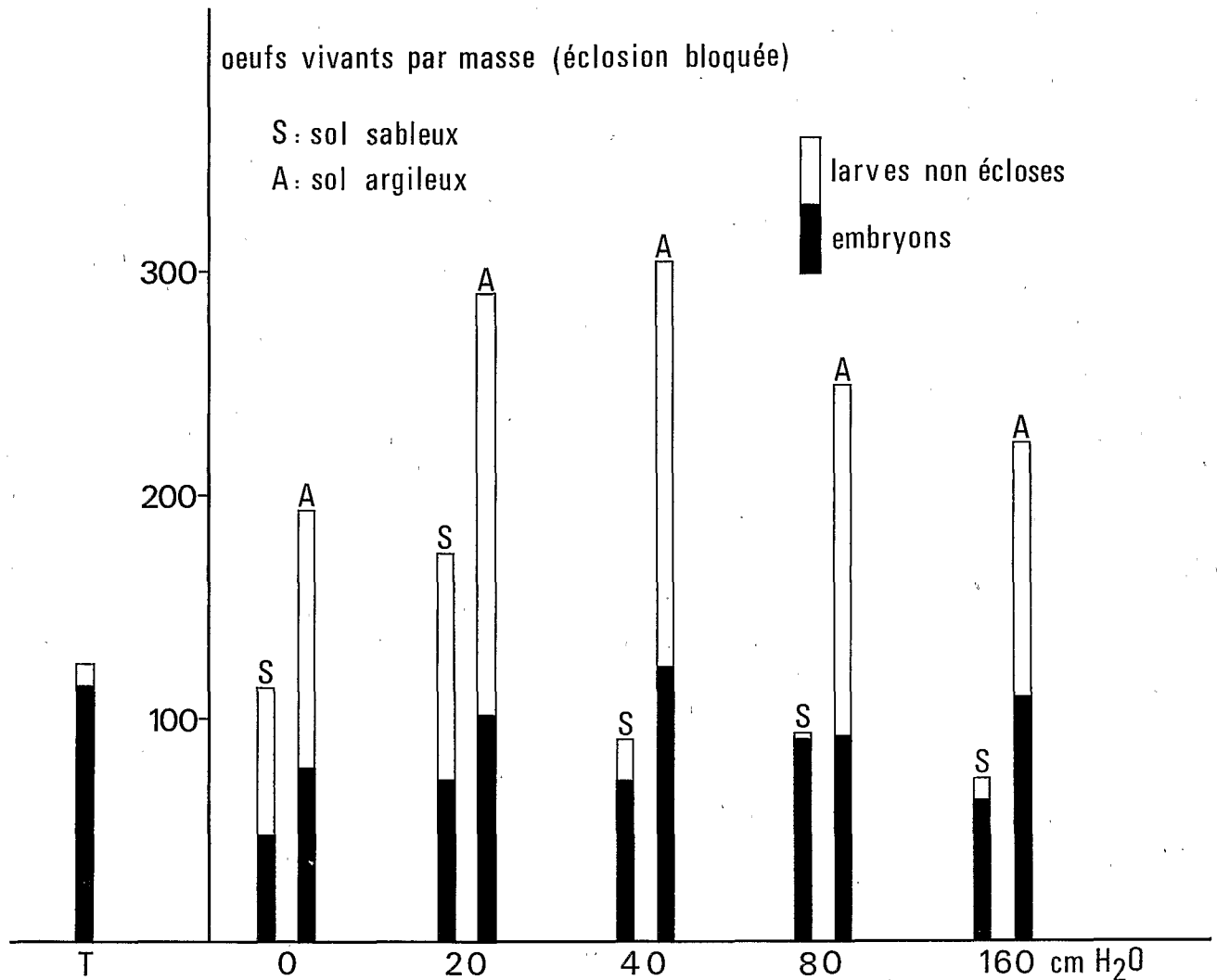


Fig. 10 : Œufs vivants dans les masses d'œufs de *M. incognita* après une semaine dans le sol à différentes succions et éclosion totale dans l'eau aérée (T : témoin éclos dans les conditions optimales).

*Living eggs remaining in M. incognita egg masses after one week in soil at different succions and total hatch in aerated water (T : control hatch in optimal conditions).*

Cette mort n'est pas due à l'asphyxie puisque Reversat (1975) a, au contraire, montré que le manque d'oxygène accroissait la longévité de ces mêmes larves. En ce qui concerne les *Meloidogyne*, le même phénomène de quiescence en anoxie a été constaté par Van Gundy, Bird et Wallace (1967) sur *M. javanica* et confirmé ici sur *M. incognita*. On est donc amené à penser à l'action d'organismes antagonistes favorisés par l'humidité du sol.

Il est curieux de constater que cet effet « larvicide » ne s'est pas manifesté dans le sol argileux utilisé. Il n'est cependant pas possible d'attribuer cette différence avec le sol sableux à la texture respective des deux sols, trop de facteurs pouvant être responsables de cette élimination. Le phénomène observé pose néanmoins le problème du pouvoir antagoniste de certains sols vis-à-vis des organismes endogés, et peut être rapproché de la « résistance » mon-

trée par d'autres sols vis-à-vis de champignons phytopathogènes (Louvet, Rouxel & Alabouvette, 1976).

La cinétique de l'éclosion après le passage des masses d'œufs dans le sol à différents pF a montré que cette éclosion subissait un retard dans les conditions les plus asphyxiantes (sol argileux à pF 2,7). Des expériences réalisées avec des sols saturés ou subsaturés ont permis d'analyser plus finement ce phénomène. Une légère anoxie suspend l'éclosion qui peut reprendre rapidement dès que cette anoxie cesse (Fig. 9). On retrouve ici le symétrique de ce qui se produit à l'autre bout de l'échelle, c'est-à-dire au point de flétrissement où l'inhibition d'éclosion est très rapidement levée. Lorsque l'anoxie est plus prononcée, c'est-à-dire lorsqu'on s'approche davantage de la saturation, l'éclosion ne peut reprendre qu'après un temps de latence (Fig. 9) et elle n'atteint pas sa valeur normale (Fig. 8), un certain nombre d'œufs se trouvant bloqués à un stade L<sub>1</sub> précoce (Fig. 10). Toutes ces réactions à l'asphyxie se produisent plus facilement dans un sol argileux que dans un sol sableux.

Il faut remarquer que les masses d'œufs mises à éclore dans des conditions optimales dès leur récolte sur la plante hôte conservent un nombre non négligeable d'œufs vivants (Fig. 10 T) ayant leur développement bloqué à un stade peu différencié (« embryon »). Une note antérieure (de Guiran, 1975) a fait état de ce phénomène en l'assimilant à une diapause. Il s'agirait ici d'une diapause spontanée puisque les œufs n'ont subi aucune contrainte. Lorsqu'on soumet les œufs à une anoxie relative, on observe, en plus des embryons, des œufs bloqués au stade L<sub>1</sub> précoce et tout aussi vivants. Des travaux sont en cours pour vérifier s'il s'agit également d'une diapause et dans quelle mesure ces œufs, différenciés ou non, peuvent survivre dans le sol.

#### REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à exprimer leurs vifs remerciements à L. Bonnel et K. Stawiecki pour l'aide apportée au cours de cette étude, ainsi qu'à G. Merny pour la révision du manuscrit.

#### RÉFÉRENCES

- BERGER, A. (1971). *La circulation de l'eau dans le système sol-planète. Étude de quelques résistances en relation avec certains facteurs du milieu*. Thèse. Fac. Sci. Montpellier, 224 p., n° CNRS AO 5232.
- DAULTON, R. A. C. & NUSBAUM, C. J. (1962). The effect of soil moisture and relative humidity on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Nematologica*, 8 : 157-168.
- DEMEURE, Y. & NETSCHER, C. (1973). Méthode d'estimation des populations de *Meloidogyne* dans le sol. *Cah. ORSTOM, Sér. Biol.*, 21 : 85-90.
- DEMEURE, Y. (1975). Résistance à la sécheresse, en zone sahélienne, du nématode phytoparasite *Scutellonema cavenessi* Sher, 1963. *Cah. ORSTOM, Sér. Biol.*, 10 : 282-292.
- DROPKIN, V. H., MARTIN, G. C. & JOHNSON, R. W. (1958). Effect of osmotic concentration on hatching of some plant parasitic nematodes. *Nematologica*, 3 : 115-126.
- GODFREY, G. H., OLIVEIRA, J. M. & GITTEL, E. B. H. (1933). The duration of the root-knot nematode, *Heterodera radiculicola*, in soil subjected to drying. *Soil Sci.*, 35 : 185-195.
- GUIRAN, G. de (1975). Diapause partielle au sein des pontes de *Meloidogyne incognita*. VIII<sup>e</sup> Coll. Soc. Fr. Phytopathol. *Ann. Phytopathol.*, 7 : 340-341.
- GUIRAN, G. de (1975). A simple method for maintaining constant soil moisture stresses during experiment on nematodes. *Nematologica*, 21 : 261-262.
- LAGERWERFF, J. V., OGATA, G. & EAGLE, H. E. (1961). Control of osmotic pressure of culture solutions with polyethylene-glycol. *Science*, 133 : 1486-1487.
- LINFORD, M. B. (1941). Some soil moisture relationship of the root-knot nematode. *Phytopathology*, 31 : 862.
- LOUVET, J., ROUXEL, F. & ALABOUVETTE, C. (1976). Recherches sur la résistance des sols aux maladies. I. Mise en évidence de la nature microbiologique de la résistance d'un sol au développement de la fusariose vasculaire du melon. *Ann. Phytopathol.*, 8 : 425-436.
- MERNY, G. (1970). *Les nématodes phytoparasites des rizières inondées de Côte d'Ivoire*. Thèse Fac. Sci. Abidjan, 167 p.
- REVERSAT, G. (1975). Étude préliminaire de la survie en anaérobiose des juvéniles du nématode *Heterodera oryzae* (Tylenchida : Heteroderidae). *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, 280 : 2865-2868.
- SEINHORST, J. W. (1965). The relation between nematode density and damage to plants. *Nematologica*, 11 : 137-154.
- SHEPHERD, A. M. (1962). New Blue R, a stain that differentiates between living and dead nematodes. *Nematologica*, 8 : 201-208.
- SIMONS, W. R. (1973). Nematode survival in relation to soil moisture. *Meded. Landbhooges. Wageningen*, 73 : 1-85.

- VAN GUNDY, S. D., BIRD, A. F. & WALLACE, H. R. (1967). Aging and starvation in larvae of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchulus semipenetrans*. *Phytopathology*, 57 : 559-571.
- WALLACE, H. R. (1954). Hydrostatic pressure-deficiency and the emergence of larvae from cysts of the beet eelworm. *Nature, Lond.*, 173 : 502-503.
- WALLACE, H. R. (1966). The influence of moisture stress on the development, hatch and survival of eggs of *Meloidogyne javanica*. *Nematologica*, 12 : 57-69.
- WALLACE, H. R. (1968). The influence of aeration on survival and hatch of *Meloidogyne javanica*. *Nematologica*, 14 : 223-230.
- ZUR, B. (1966). Osmotic control of the matric soil water potential. I. Soil water system. *Soil Sci.*, 102 : 394-398.

Accepté pour publication le 13 janvier 1978.