



**HAL**  
open science

# Survie et dissémination du nématode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne dans les sols bruns-rouilles à halloysites (nitisols) : effets de l'état hydrique et des flux hydriques

Christian Chabrier

## ► To cite this version:

Christian Chabrier. Survie et dissémination du nématode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne dans les sols bruns-rouilles à halloysites (nitisols) : effets de l'état hydrique et des flux hydriques. *Phytopathologie et phytopharmacie*. Université des Antilles-Guyane, 2008. Français. NNT : . tel-00697213

**HAL Id: tel-00697213**

**<https://theses.hal.science/tel-00697213>**

Submitted on 16 May 2012

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**Thèse**

**pour obtenir le grade de**

**Docteur de l'Université des Antilles et de la Guyane**

**Discipline : Sciences de la vie**

**Ecole Doctorale Pluridisciplinaire de l'Université des Antilles et de la Guyane**

**Survie et dissémination du nématode  
*Radopholus similis* (Cobb) Thorne  
dans les sols bruns-rouilles à halloysites (nitisols) :  
effets de l'état hydrique et des flux hydriques**

**Présentée et soutenue publiquement le 17 juin 2008**

**Par Christian Chabrier**

**Devant le jury composé de :**

Amadou Ba, président du jury  
Patrick Quénéhervé, directeur de thèse

Robin Duponnois, rapporteur  
Patrice Cadet, rapporteur

Yves-Marie Cabidoche, encadrant  
François Côte, examinateur  
Olivier Gros, examinateur

## Remerciements

Au préalable, je dois remercier l'ensemble des membres du jury qui ont accepté de juger ce travail. Merci donc à Amadou Ba qui préside ce jury, Robin Duponnois et Patrice Cadet qui me font l'honneur de venir de si loin après avoir accepté d'être rapporteur, à Olivier Gros.

Et surtout, merci à Patrick Quénéhervé et Yves-Marie Cabidoche, maîtres et compagnons qui m'ont toujours soutenu ; sans eux, ce travail n'aurait pu voir le jour. Merci aussi à François, le chef et ami qui m'a toujours fait confiance, prends enfin soin de toi ; sans oublier André Lassoudière, le vieux sage de l'équipe, Jean-Michel qui a toujours été là quand j'avais besoin d'aide, y compris le jour de la soutenance, Claude et son humour décalé...

La Direction du CIRAD m'a également toujours soutenue ; merci en particulier à Jean-Pierre Gaillard, Jacky Ganry, Jean-Jacques Baraër, Thierry Goguy, Philippe Gaudon ; un merci spécial à Philippe Melin qui m'a beaucoup appris et dont le dévouement et la générosité n'ont jamais fait défaut. Merci aussi à Michel Arnaud, à Evelyne Kilota et à tout le service formation qui ont toujours répondu présent.

Il est certes trop tard pour les remercier, mais je ne peux oublier mes vieux maîtres et amis qui ont rejoint un monde que nous espérons meilleurs : Pierre Beaujard, François Leclant, Daniel Barreteau... Heureusement, d'autres sont encore là : merci ainsi à Robert Vogel, Etienne Laville et à tous ceux qui m'ont aidé à développer le meilleur de moi-même.

Au PRAM, nous avons la chance au PRAM d'avoir des collègues compétents et dévoués ; c'est particulièrement le cas au laboratoire de nématologie. Un immense merci donc à Patrick Toppart, le maître incontesté de l'élutriation, Christiane Bastol et Jules Hubervic, qui ont tant compté, dans tous les sens du terme ; à Serge Marie-Luce, aux astuces si précieuses ; sans oublier Robert Jules-Rosette et Camille Hubervic, les rois de la bêche-fourche et du coutelas réunis. Sans leur dévouement et leur sérieux, je ne serais jamais arrivé au bout du chemin. Et surtout, merci aux stagiaires et VCAT qui ont souffert avec moi : Céline Carles, Catherine Desrosiers, Magalie Julien ; par leur enthousiasme et leur travail acharné, elles m'ont énormément aidé. Ces résultats sont aussi les leurs.

Notre travail n'aurait guère de sens si nous ne prenions en compte nos utilisateurs finaux. J'ai eu la chance de rencontrer en Martinique de nombreux agriculteurs formidables. Je ne peux les citer tous ... néanmoins, je dois remercier spécialement Edouard Galva, Frédéric de Reynal, Laurent de Meillac et Robert Surcouf pour leur accueil et leur aide.

Il me faut aussi remercier tous ceux qui m'ont soutenu et aidé tout au long de ces années. Ils sont trop nombreux pour que je puisse les citer tous, mais je n'en oublie aucun. Néanmoins, des mercis spéciaux à Raphaël Achard le sauveur dégazeur, Philippe Tixier et Pierre-François Duick qui se sont particulièrement mis en quatre pour m'aider à finir ce travail, Thierry Woigner, Jean-Louis Sarah et à tous ceux qui par leurs idées, ou simplement leur amitié, m'ont permis de progresser. Une pensée aussi pour Jacques (courage, on en sort), Philippe (prépare-moi une bourriche), Magalie (désolé pour le bébé chlord...), Jean-Pierre (bonne chance !), Paula (là, pas désolé !), Daniel et David ...

Tous, je vous remercie.

A Nicolas, à Abel, à Flavien, pardon pour tous ce temps que je vous ai volé. A Anne, merci, à toi qui a beaucoup supporté et toujours assuré, souvent seule, pour me permettre d'aboutir. A mes parents, à mes beaux-parents, à tous ceux qui m'ont supporté.

# Table des matières

|   |    |
|---|----|
| Remerciements .....   | 2  |
| Table des matières .....  | 3  |
| Liste des figures .....   | 6  |
| Liste des tableaux .....  | 8  |
| Partie 1 : Introduction, données bibliographiques et problématique.....           | 10 |
| 1. Présentation de <i>Radopholus similis</i> : classification, morphologie .....  | 11 |
| 1.1 Généralités.....  | 11 |
| 1.2 Cuticule et glycocalix.....   | 12 |
| 1.3 Système locomoteur ; mouvements à l'échelle du nématode .....                 | 12 |
| 1.4 Conséquences .....  | 14 |
| 2. Origine et répartition de <i>R. similis</i> .....                              | 14 |
| 3. Biologie .....   | 14 |
| 4. Gamme de plantes hôtes.....  | 15 |
| 5. Répartition.....   | 16 |
| 5.1 Dans les sols .....   | 16 |
| 5.2 Dans les plantes hôtes : cas des bananiers.....                               | 16 |
| 5.2.1 Dans l'espace.....  | 16 |
| 5.2.2 Dans le temps .....   | 17 |
| 6. Interaction avec la plante hôte : cas des bananiers.....                       | 17 |
| 7. Survie de <i>R. similis</i> hors de sa plantes hôtes.....                      | 18 |
| 8. Dissémination des nématodes – cas de <i>R. similis</i> .....                   | 20 |
| 8.1 Anthropique, via le matériel de plantation .....                              | 20 |
| 8.2 Anthropique, via le sol transporté par les outils.....                        | 20 |
| 8.3 Par le vent.....  | 20 |
| 8.4 Par les eaux.....   | 20 |
| 8.5 Active, dans le sol .....   | 23 |
| 8.5.1 Echelle macroscopique.....  | 23 |
| 8.5.2 Echelle du nématode .....   | 24 |
| 8.5.3 cas de <i>R. similis</i> .....  | 26 |
| 8.6 Active, dans les racines .....  | 27 |
| 9. Populations de <i>R. similis</i> dans les racines .....                        | 27 |
| 10. Population de <i>R. similis</i> dans les sols ; proportion sol / racines..... | 28 |
| 11. Conclusion partielle.....   | 30 |
| Partie 2 : contexte pédologique, méthodes d'extraction de <i>R. similis</i> ..... | 32 |
| 1. Contexte pédologique.....  | 32 |
| 1.1 Choix des type de sol .....   | 32 |
| 1.2 Granulométries .....  | 32 |
| 1.2.1 Cas d'un nitisol : parcelle Ponterre, .....                                 | 32 |
| 1.2.2 Cas d'un andosol : parcelle Espérance Haut .....                            | 33 |
| 1.3 Porosité naturelle.....   | 34 |
| 2. Méthodes d'extraction de <i>R. similis</i> .....                               | 36 |
| 2.1 Des sols : par Baermann modifié .....   | 36 |
| 2.1.1 Principe – mode opératoire .....  | 36 |

|  |   |    |
|--|---|----|
| 2.1.2  | Qualité des extractions obtenues .....                                    | 37 |
| 2.1.3  | Efficacité des extractions de <i>R. similis</i> à partir du sol.....      | 37 |
| 2.1.4  | Intérêt de la méthode .....   | 39 |
| 2.2  | Des sols : par élutriation.....   | 39 |
| 2.2.1  | Principe – mode opératoire .....  | 39 |
| 2.2.2  | Qualité des extractions obtenues .....                                    | 41 |
| 2.2.3  | Efficacité des extractions de <i>R. similis</i> à partir du sol.....      | 42 |
| 2.2.4  | Avantages et inconvénients de la méthode .....                            | 44 |
| 2.3  | Des sols et racines : par centrifugation flottaison.....                  | 45 |
| 2.3.1  | Principe – mode opératoire .....  | 45 |
| 2.3.2  | Qualité des extractions obtenues .....                                    | 46 |
| 2.3.3  | Efficacité des extractions de <i>R. similis</i> à partir du sol.....      | 46 |
| 2.3.4  | Efficacité des extractions de <i>R. similis</i> à partir des racines..... | 48 |
| 2.3.5  | Avantages et inconvénients de la méthode .....                            | 50 |
| 2.4  | Des racines : par aspersion (chambre à brouillard de Seinhorst) .....     | 50 |
| 2.4.1  | Principe – mode opératoire .....  | 50 |
| 2.4.2  | Avantages et inconvénients de la méthode .....                            | 52 |
| 2.5  | Des racines : par macération dans de l'eau oxygénée .....                 | 52 |
| 2.5.1  | Principe – mode opératoire .....  | 52 |
| 2.5.2  | Avantages et inconvénients de la méthode .....                            | 53 |
| 3.   | Coloration vitale de <i>R. similis</i> .....                              | 54 |
| 3.1  | Choix du colorant .....   | 54 |
| 3.2  | Mode opératoire .....   | 54 |
| 3.3  | Fiabilité de la coloration.....   | 55 |
| 3.4  | Avantages et inconvénients de la méthode .....                            | 56 |
| Partie 3 : Survie de <i>R. similis</i> ..... |   | 57 |
| 1  | Dans le sol .....   | 57 |
| 1.1  | Objectifs ; principes généraux .....                                      | 57 |
| 1.2  | Essai préliminaire .....  | 58 |
| 1.2.1  | Matériel et méthode.....  | 58 |
| 1.2.2  | Résultats .....   | 58 |
| 1.2.3  | Conclusion partielle.....   | 60 |
| 1.3  | Matériel et méthode.....  | 61 |
| 1.3.1  | Essai 1 : sols tamisés et stérilisés par congélation .....                | 61 |
| 1.3.2  | Essai 2 : sols non perturbés .....  | 62 |
| 1.4  | Résultats .....   | 64 |
| 1.4.1  | Essai 1 : survie dans les sols tamisés et stérilisés.....                 | 64 |
| 1.4.2  | Essai 2 : sols non perturbés .....  | 65 |
| 1.3.3  | Comparaison entre les résultats obtenus lors de ces deux essais .....     | 68 |
| 1.5  | Rapprochement avec des modèles de décroissance .....                      | 68 |
| 1.6  | Discussion .....  | 72 |
| 2  | Survie dans les eaux de <i>R. similis</i> .....                           | 75 |
| 2.1  | Matériel et méthode.....  | 75 |
| 2.1.1  | Principe.....   | 75 |
| 2.1.2  | Obtention des solutions de sol.....                                       | 75 |
| 2.1.3  | Solutions testées .....   | 76 |
| 2.1.4  | Analyses statistiques .....   | 77 |
| 2.2  | Résultats .....   | 77 |
| 2.2  | Discussion .....  | 79 |

|   |         |
|---|---------|
| Partie 4 : Dissémination par les eaux .....   | 81      |
| 1 Observations préliminaires.....   | 81      |
| 2 Dissémination à la surface du sol sous simulateur de pluie .....                                      | 82      |
| Description du simulateur de pluie.....   | 82      |
| Publication pour Applied Soil Ecology n°1 .....   | 84      |
| 3 En profondeur sur cylindres de sol.....   | 101     |
| Publication dans Applied Soil Ecology n°2 (n°40, p. 299-308) .....                                      | 102     |
| 4 Étude à l'échelle de la parcelle.....   | 120     |
| Publication dans Crop Protection n°1 (n°27, p. 1237-1243).....  | 121     |
| <br>Discussion générale.....  | <br>135 |
| Conclusion.....   | 137     |
| <br>Références bibliographiques .....   | <br>139 |
| <br>Annexes .....   | <br>157 |
| Annexe 1 : Méthodes de lutte (cas des bananiers) .....  | 158     |
| 1- Lutte chimique .....   | 158     |
| 2- Systèmes couplant destruction des populations en place et replantation avec du matériel "sain" ..... | 158     |
| 3- Utilisation de variétés résistantes.....   | 159     |
| 4- Lutte biologique .....   | 159     |
| 5- Autres méthodes de protections des bananiers .....   | 160     |
| <br>Annexe 2 : Protocoles normalisés .....  | <br>161 |
| Extraction de nématodes par Elutriation .....   | 162     |
| Extraction de nématodes d'un échantillon de racines par centrifugation-flottaison .....                 | 168     |
| Extraction de nématodes par aspersion (Chambre à brouillard) .....                                      | 175     |
| <br>Annexe 3 : Localisation des parcelles d'étude .....   | <br>180 |
| <br>Annexe 4 : Publications.....  | <br>181 |
| <br>Résumé.....   | <br>182 |
| Summary: .....  | 184     |

## Liste des figures

|   |     |
|---|-----|
| Figure 1 : <i>Radopholus similis</i> : femelle (A) et mâle (B) d'après Cobb (1915) .....  | 111 |
| Figure 2 : "Mouvement par ondulation" d'un nématode ; le nématode avance dans le sens de la flèche en modifiant la forme de son corps par des successions de contractions – relâchements de ses muscles dorsaux et ventraux. Schéma de Wallace (1968) .....   | 12  |
| Figure 3 : Reptation d'un nématode au milieu de particules de sol. (a) en grisé : section du corps où les muscles exercent une pression sur le milieu ; (b) vecteurs $N_i$ : réaction du milieu et $F_i$ : frottements ; (c) projection de ces vecteurs sur l'axe de progression ( $\theta$ désigne l'angle entre le nématode et cet axe). D'après Wallace (1968) ..... | 13  |
| Figure 4 : Mouvement ondulatoire de nématode phytoparasite aérien de feuilles (à gauche) et d'un parasite tellurique (à droite) dans des films d'eau épais et fins. Noter la différence de fréquence entre les mouvements d' <i>A. ritzema-bosi</i> (qui peut nager) et ceux d' <i>H. schachtii</i> (qui ne le peut pas). D'après Wallace (1959). .....                 | 13  |
| Figure 5 : Carte de répartition de <i>Radopholus similis</i> (Cobb) Thorne d'après Bridge (1993) .....  | 17  |
| Figure 6 : Cycle de vie de <i>Radopholus similis</i> (Cobb) Thorne d'après Marin et al. (1998).....   | 15  |
| Figure 7: Relations entre les mouvements d'un nématode et l'épaisseur du film d'eau sur gel d'agar où il évolue. En haut, amplitude et période des ondulations ; au milieu, coupe transversale schématique ; en bas, vitesse d'avancement en mm/h. D'après Wallace (1958a) .....  | 24  |
| Figure 8 : Relations entre le diamètre d'un nématode, la taille des pores et l'humidité dans un sol sableux. L'échelle varie en fonction de la taille des pores (de 110 à 19 $\mu\text{m}$ ). En noir : le nématode ( $\emptyset$ : 18 $\mu\text{m}$ ), en grisé : eau, disque blanc : air. D'après Wallace (1960).....   | 26  |
| Figure 9 : Schéma de prélèvement de l'étude des populations relatives de <i>R. similis</i> dans le sol (Nitisol) et la plante.....  | 29  |
| Figure 10 : Répartition des parcelles en Martinique selon le type de sol. Cette carte a été obtenue en superposant les parcellaires déclarés par les groupements de producteurs de bananes en 2005 et la carte des sols de Colmet-Daage <i>et al.</i> (1969).....   | 32  |
| Figure 11 : Granulométries cumulées de la terre fine d'un nitisol, obtenues avec (cercles) ou sans (carrés) sonification + dispersion à l'hexamétaphosphate de sodium. (sol de la parcelle Ponterre Haut, Domaine CIRAD de Rivière Lézarde).....  | 33  |
| Figure 12 : Granulométries cumulées de la terre fine d'un andosol, obtenues avec (cercles) ou sans (carrés) sonification + dispersion à l'hexamétaphosphate de sodium (source : Dorel <i>et al.</i> , 2000 et Heuzé, 2005). .....   | 33  |
| Figure 13 : Dispositif d'ultrafiltration pour la fixation du potentiel de l'eau par pression pneumatique (d'après Teissier, 1984).....  | 34  |
| Figure 14 : Indices volumiques en fonction des potentiels matriciels (à gauche) et fréquence des diamètres poreux (à droite) obtenues après ultrafiltration sous pression pneumatique contrôlée avec le nitisol de Rivière Lézarde.....   | 35  |
| Figure 15 : Abaque reliant le potentiel matriciel (en kPa) et l'humidité pondérale. ....  | 35  |
| Figure 16 : Dispositif Baermann : en haut : tamis vide (à gauche) et recouvert de son filtre (à droite) ; à gauche : dispositif en cours d'extraction .....   | 36  |
| Figure 17 : Elutriateur de Seinhorst (1956) ; en noir : schéma tiré de la publication d'origine ; en rouge : nos aménagements au laboratoire de Nématologie Tropicale, PRAM Martinique. $\emptyset$ : diamètre intérieur ; H : hauteur ; croix rouges : le bouchon (a) et la sortie (e) ont été supprimés.....  | 40  |
| Figure 18 : Calibrage de la méthode d'extraction de <i>R. similis</i> dans le sol par élutriation : ajout de la suspension de nématodes entre les différentes étapes du processus (en bleu pour l'extraction dans l'eau, en rouille pour le sol) .....  | 42  |
| Figure 19 : Calibrage de la méthode d'extraction de <i>R. similis</i> dans le sol par centrifugation-flottaison : ajout de la suspension de nématodes entre les différentes étapes (en rouille) du processus. ....  | 47  |
| Figure 20 : Calibrage de la méthode d'extraction de <i>R. similis</i> dans les racines par centrifugation-flottaison : ajout de la suspension de nématodes entre les différentes étapes du processus. ....  | 49  |

|  |    |
|--|----|
| Figure 21: Dispositif utilisé pour l'extraction par aspersion. En noir : schéma type de Hooper <i>et al.</i> (2005) ; en rouge : nos aménagements au laboratoire de Nématologie Tropicale, PRAM Martinique. ....   | 51 |
| Figure 22 : Dispositif pour extraction par macération dans l'eau oxygénée. A gauche : matériel utilisé ; au milieu ; dispositif en cours de macération ; à droite : suspension prête à être observée .....   | 53 |
| Figure 23: Evolution de la proportion de survivants dans les sols tamisés et stérilisés ; les courbes de régression ont été calculées à partir d'un modèle logistique GLM adapté aux dispersions binomiales. ....  | 65 |
| Figure 24 : Evolution de la proportion de survivants dans les sols non perturbés ; les courbes de régression ont été calculées à partir d'un modèle logistique GLM adapté aux dispersions binomiales. ....   | 67 |
| Figure 25 : Ajustement de deux modèles de décroissance (Teissier et exponentiel) aux évolutions de populations mesurées dans les sols non remaniés. Figure 25-1 : femelles dans le nitisol humide ; 25-2 : femelles dans l'andosol bien drainé, (cas où les modèles décrivent le moins bien l'évolution des populations de femelles) ; 25-3 mâles et 25-4 juvéniles dans l'andosol bien drainé (cas où les modèles décrivent le moins bien l'évolution des populations). Abscisses : temps en jours. Ordonnées : $S_t$ (nombre d'individus dénombrés à l'instant $t$ / nombre d'individus dénombrés le premier jour) ..... | 70 |
| Figure 26 : Ajustement du modèle de décroissance exponentielle aux évolutions de populations mesurées dans les sols non remaniés. Cas de <i>Radopholus similis</i> dans le nitisol. En bleu marine : modèle ajusté pour le sol saturé, en bleu clair : sol à -5 kPa, en rouge sol à - 250 kPa.....   | 71 |
| Figure 27 : Ajustement du modèle de décroissance exponentielle aux évolutions de populations mesurées dans les sols non remaniés. Cas de <i>Pratylenchus coffeae</i> dans le nitisol. En bleu marine : modèle ajusté pour le sol saturé, bleu clair : sol à -5 kPa, en rouge sol à - 250 kPa. ....   | 72 |
| Figure 28: Evolution de la proportion de <i>R. similis</i> survivants dans les solutions de sols et dans les eaux ; les courbes de régression ont été calculées à partir d'un modèle logistique GLM adapté aux dispersions binomiales. ....  | 79 |
| Figure 29 : Courbes : évolution des populations de <i>Radopholus similis</i> dénombrées dans les eaux des rivières Lézarde et du Lorrain (en nématodes pour 20 litres d'eau). Histogramme : pluviométrie de Rivière Lézarde.....   | 82 |

## Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| Tableau 1 : Taille en $\mu\text{m}$ des différents stades de <i>R. similis</i> selon Van Weerd (1958 et 1960). Note : le premier et le début du second stade larvaire se déroulent à l'intérieur de l'œuf. ....  | 12 |
| Tableau 2 : Résultats des dénombrements de nématodes dans les sols et racines de l'essai BPE n°273 en enceinte climatique. Cet essai était destiné à évaluer l'efficacité d'un produit biologique à base de champignon nématophage (BioAct WG).....  | 28 |
| Tableau 3 : Résultats du test "Abricot 1" (comparaison des populations de <i>R. similis</i> dans le sol et les racines) CV : coefficient de variation. Les poids mesurés dans ce tableau sont tous des poids frais. ....   | 30 |
| Tableau 4 : Taux de récupération de <i>R. similis</i> après Baermann modifiés (en % des populations apportées). ....   | 37 |
| Tableau 5 : Pertes en <i>R. similis</i> lors d'extractions par Baermann modifiés (en %). ....  | 38 |
| Tableau 6 : Essais pour diminuer les pertes en <i>R. similis</i> lors des différentes étapes de la méthode d'extraction par Baermann modifié. Les populations déposées dans les Baermanns sont exprimées en individus / Baermann. ....   | 38 |
| Tableau 7 : Taux de récupération, en fonction du sexe, de <i>R. similis</i> après élutriation (en % des populations apportées).....  | 43 |
| Tableau 8 : Taux de récupération, en fonction de l'activité, de <i>R. similis</i> après élutriation (en % des populations apportées).....  | 43 |
| Tableau 9 : Pertes en <i>R. similis</i> lors des différentes étapes de la méthode d'extraction par élutriation (en % des populations apportées). ....  | 43 |
| Tableau 10 : Pertes de <i>R. similis</i> lors de l'élutriation : populations retrouvées à la base de l'élutriateur, dans l'ampoule de récupération des particules grossières .....   | 44 |
| Tableau 11 : Intérêt de l'ajout d'un tamis de 25 $\mu\text{m}$ aux colonnes de tamisage pour extraire <i>R. similis</i> . ....   | 44 |
| Tableau 12 : Population de <i>R. similis</i> inoculés lors de l'évaluation du rendement de la méthode d'extraction par centrifugation-flottaison. Ligne du haut : dénombrement moyen (3 comptages / lames de 1 mL) ; ligne du bas : populations apportées (en nombre de nématodes).....              | 46 |
| Tableau 13 : Taux de récupération de <i>R. similis</i> après centrifugation flottaison (en % des populations apportées) .....  | 47 |
| Tableau 14 : Pertes en <i>R. similis</i> lors des différentes étapes de la méthode d'extraction par centrifugation flottaison. ....  | 47 |
| Tableau 15 : Population de <i>R. similis</i> inoculés par échantillon lors des évaluations du rendement de la méthode d'extraction par centrifugation-flottaison (en nombre de nématodes). ....  | 48 |
| Tableau 16 : Taux de récupération de <i>R. similis</i> après centrifugation flottaison (en % des populations apportées) .....  | 49 |
| Tableau 17 : Pertes en <i>R. similis</i> lors des différentes étapes de la méthode d'extraction par centrifugation flottaison. ....  | 50 |
| Tableau 18 : Résultats de l'essai "fiabilité des colorations au bleu de Meldola" .....   | 56 |
| Tableau 19 : Niveaux d'humectation des sols lors de l'essai "effets de la nature du pilulier sur la survie de <i>Radopholus similis</i> ". ....  | 58 |
| Tableau 20 : Evolution des taux de décroissance des populations de <i>Radopholus similis</i> femelles lors de l'essai "effets de la nature du pilulier sur la survie de <i>R. similis</i> ". Chaque chiffre est calculé à partir de la moyenne des trois niveaux d'humectation x 3 répétitions. .... | 59 |
| Tableau 21 : Evolution des taux de décroissance des populations de <i>Radopholus similis</i> femelles lors de l'essai "effets de la nature du pilulier sur la survie de <i>R. similis</i> ". Chaque chiffre est calculé à partir de la moyenne des trois types de piluliers x 3 répétitions.....     | 59 |
| Tableau 22 : Juvéniles dénombrés lors de l'essai "effets de la nature du pilulier sur la survie de <i>Radopholus similis</i> ". Chaque chiffre est calculé à partir de la moyenne des trois niveaux d'humectation x 3 répétitions. ....  | 60 |

|   |    |
|---|----|
| Tableau 23 : Evolution du nombre de juvéniles dénombrés lors de l’essai préliminaire en fonction du niveau d’humectation. Chaque chiffre est calculé à partir de la moyenne des trois types de piluliers x 3 répétitions.....   | 60 |
| Tableau 24 : Teneurs en eau pondérales et états hydriques correspondant étudiés lors de l’essai “survie de <i>R. similis</i> dans les sols tamisés et stérilisés par congélation” ; teneur en eau pondérale = (poids humide- poids sec) / poids sec, exprimé en g / 100 g ; potentiel matriciel : en kilo Pascal (kPa). .....           | 61 |
| Tableau 25 : Humidités pondérales et états hydriques correspondant étudiés lors de l’essai “survie de <i>R. similis</i> dans les sols non perturbés” ; W : humidité pondérale = (poids humide- poids sec) / poids sec, exprimé en g / 100 g ; potentiel matriciel : en kilo Pascal (kPa).....   | 63 |
| Tableau 26 : Proportion de survivants mesurée au bout de 70 jours, à la fin de l’essai “survie dans les sols tamisés et stérilisés par congélation”. .....  | 64 |
| Tableau 27 : Analyse de déviance de l’essai “survie dans les sols tamisés et stérilisés par congélation”. HHS : significatif pour P = 0.0001 ; NS : non significatif pour P = 0.05.....   | 64 |
| Tableau 28 : Durées calculées (en jours) avec le modèle logistique au bout desquelles il ne reste plus que la moitié et le dixième des populations initiales dans les sols tamisés et stérilisés. ....  | 65 |
| Tableau 29 : Analyse de déviance de l’essai “survie dans les sols non perturbés”. HHS : significatif pour P = 0.0001.....   | 66 |
| Tableau 30 : Durées calculées (en jours) avec le modèle logistique au bout desquelles il ne reste plus que la moitié et le dixième des populations initiales de mâles et femelles de <i>R. similis</i> dans les sols non perturbés. ....  | 66 |
| Tableau 31 : Nombre de piluliers dans lesquels les populations de juvéniles sont supérieures au 7 <sup>e</sup> , 14 <sup>e</sup> , 21 <sup>e</sup> et 28 <sup>e</sup> jours après le début de l’étude qu’au premier jour. Pour chaque date et chaque type de sol, nous avons 5 états hydriques x 6 répétitions, soit 30 piluliers. .... | 67 |
| Tableau 32 : Comparaison entre les taux mesurés de survie de <i>Radopholus similis</i> dans les sols tamisés + congelés et dans les sols non remaniés.....  | 68 |
| Tableau 33 : Ajustement de deux modèles de décroissance (Teissier et exponentiels) aux taux de survie mesurés dans les sols non remaniés. ....  | 69 |
| Tableau 34 : Essai survie dans les eaux de <i>R. similis</i> : nombre de jours entre mise en suspension et prélèvement d’un aliquote pour coloration au bleu de Meldola et dénombrement des survivants. ....  | 75 |
| Tableau 35 : Calculs des paramètres de réglage de la centrifugeuse pour obtenir des solutions de sol provenant des capillaires.....   | 76 |
| Tableau 36 : Analyse minérale des solutions de sol extraites par centrifugation. Les numéros de solution correspondent au pF calculé de l’échantillon de sol après centrifugation. ....   | 77 |
| Tableau 37 : Analyse de déviance de l’essai “survie dans les eaux et solutions de sol”. HHS : significatif pour P = 0.0001. ....  | 78 |
| Tableau 38 : Durée (en jours) calculées avec le modèle logistique au bout de laquelle il ne reste plus que la moitié et le dixième des populations initiales de mâles et femelles de <i>R. similis</i> dans les solutions étudiées.....   | 78 |
| Tableau 39 : Populations de nématodes collectées dans les eaux de 2 rivières (en nématodes / m <sup>3</sup> ).....  | 81 |

## Partie 1 : Introduction, données bibliographiques et problématique

Le nématode endoparasite *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne (1949) est considéré comme l'un des principaux parasites des bananiers (Gowen *et al.*, 2005 ; Sarah, 1990). De nombreux travaux ont permis d'acquérir des connaissances sur la dynamique des populations présentes dans les racines, les relations hôte-parasite, et particulièrement l'évaluation de la tolérance de nombreux cultivars à ce nématode, la variabilité et la diversité génétique des souches de *R. similis* ; des recherches ont permis de préciser l'éventail des plantes adventices ou cultivées, hôtes de *R. similis* dans une région donnée. Encore plus nombreuses sont les études sur l'efficacité des nématicides, longtemps très largement utilisés dans les plantations de bananiers aux Antilles (voire en annexe 1).



**Photo 1** : *Radopholus similis* (Cobb) Thorne : mâle (en haut) et femelle (en bas). Microscopie optique, x 100

Ces recherches ont servi de base à l'établissement de différentes stratégies de lutte : chimique, grâce aux pesticides ; génétique, en vue d'obtenir des cultivars tolérants ; agronomique, grâce aux rotations culturales et aux jachères. Mais presque toutes n'ont porté que sur les phases intra-racinaires de *Radopholus similis*. En effet, dans les rares études qui publient des comptages de *R. similis* dans le sol (Sarah *et al.*, 1983 ; Fargette et Quénéhervé, 1988 ; Quénéhervé, 1989a, Namaganda *et al.*, 2002), les niveaux de populations paraissent suffisamment faibles pour que les auteurs concluent que la phase sol du cycle de ce parasite soit marginale.

Des travaux ont été réalisés sur les phases libres d'autres nématodes, notamment les nématodes à galles ou à kystes des genres *Meloidogyne*, *Heterodera* et *Globodera*. Les modes de transfert de ces animaux par les eaux, le vent ou de manière active ont ainsi été étudiés (voire partie 2). Cependant, ces nématodes ont un cycle de vie fort différent des **endoparasites migrateurs** tels que les *Radopholus* ou *Pratylenchus*.

En conséquence, la capacité de survie de *R. similis* dans le sol, ses modes de dissémination tant actifs que passifs sont mal connus. Ils ont longtemps été négligés car la majorité des bananeraies étaient contaminées dès la plantation. Le bananier était en effet multiplié par des rejets ou fragments de souches qui étaient généralement contaminés, et de plus, cette culture a longtemps été conduite en monoculture dans les plantations industrielles, en Martinique et Guadeloupe comme en Afrique et Amérique Latine (Champion, 1968).

Cependant, le CIRAD et l'IRD ont mené depuis plus de 20 ans des recherches, tant fondamentales qu'appliquées, afin d'améliorer les techniques de lutte contre les nématodes. Ces travaux ont permis la mise au point d'un système de culture basé sur la plantation de matériel sain (issu de vitro-plants) sur des sols plus ou moins assainis par jachère (Sarah *et al.*, 1983 ; Mateille *et al.*, 1992 ; Quénéhervé, 1993). Au cours de ces dernières années, nous avons cherché à améliorer ce système en perfectionnant la destruction des plantations contaminées lors de la mise en place de la jachère (Chabrier et Quénéhervé, 2003), et en

recherchant les adventices susceptibles d'héberger et de permettre la survie de *Radopholus similis* ; cela, afin d'augmenter l'efficacité de la phase d'assainissement (Quénéhervé *et al.*, 2006a).

En l'état actuel de nos connaissances, il est possible de cultiver les bananiers sans nématicide pendant deux années environ, avant d'observer à nouveau des racines contaminées ; pour augmenter ce laps de temps et limiter, voire supprimer, l'utilisation des nématicides sans hypothéquer la rentabilité économique des exploitations, il est nécessaire de comprendre la dynamique de recontamination des bananeraies par *R. similis*. Ceci implique l'acquisition de connaissances sur la biologie de ce nématode dans le sol.

## 1. Présentation de *Radopholus similis* : classification, morphologie

### 1.1 Généralités

*Radopholus similis* appartient à la super classe des nématodes, ordre des Tylenchida, famille des *Pratylenchidae* Thorne, 1949 (Siddiqi, 1963). Les membres de cette famille sont tous parasites obligatoires de plantes ; le genre *Pratylenchus* Filipjev, 1936, type de la famille, comporte des espèces dont le mode de vie est très proche de celui de *R. similis* (Siddiqi, 2000).

L'espèce *R. similis* a été décrite par Cobb en 1893, sous deux noms : *Tylenchulus similis* pour les mâles et de *Tylenchulus granulosus* pour les femelles. Le dimorphisme sexuel est en effet très marqué (figure 1) : le mâle présente un capuchon céphalique très développé, des anneaux labiaux fins, un stylet avorté, un œsophage réduit ; il est probablement incapable de se nourrir (Van Weerdt, 1960 ; Siddiqi, 2000). La femelle et les juvéniles ont à l'inverse un gros stylet muni de forts boutons basaux, des anneaux labiaux épais. Le spécimen type mesure 580  $\mu\text{m}$  de long par 21  $\mu\text{m}$  de diamètre ; son volume est de 160 000  $\mu\text{m}^3$  (Yeates et Boag, 2006). Siddiqi (2000) indique des tailles comprises entre 0,4 et 0,9 mm de long et un ratio longueur / épaisseur maximal compris entre 20 et 30 (soit 20 à 30  $\mu\text{m}$  pour le plus grand diamètre).

La taille et surtout le diamètre des adultes peuvent en effet varier d'un individu à l'autre ; en général, les mâles sont un peu plus fins que les femelles, les femelles gravides sont plus épaisses que les jeunes femelles adultes. En examinant la progéniture d'une femelle isolée, Van Weerdt (1958) a obtenu des adultes dont la taille variait entre 580 et 785  $\mu\text{m}$  pour 22 à 26  $\mu\text{m}$  de diamètre.

La taille des œufs et juvéniles est indiquée dans le Tableau 1. Il est pratiquement impossible de distinguer les juvéniles mâles de stade 4 des juvéniles femelles de stade 4.

*R. similis* se reproduit normalement par voie sexuée (Kaplan et Opperman, 2000). Toutefois, en l'absence de mâle, les femelles non fécondées peuvent se reproduire par parthénogénèse



**Figure 1** : *Radopholus similis* : femelle (A) et mâle (B) d'après Cobb (1915)

(Brooks et Perry, 1962) après s'être transformées en hermaphrodites syngoniques (qui s'autofécondent) 50 à 60 jours après leur dernière mue (Kaplan et Opperman, 2000).

**Tableau 1** : Taille en  $\mu\text{m}$  des différents stades de *R. similis* selon Van Weerd (1958 et 1960). Note : le premier et le début du second stade larvaire se déroulent à l'intérieur de l'œuf.

|          | œuf   | juvénile stade 2<br>après éclosion | juvénile<br>stade 3 | juvénile<br>stade 4 | mâle    | femelle |
|----------|-------|------------------------------------|---------------------|---------------------|---------|---------|
| Longueur | 58-70 | 244-347                            | 360-550             | 445-595             | 447-653 | 458-785 |
| Largeur  | 23-28 | 12-14                              | 14-18               | 16-24               | 14-21   | 17-27   |

## 1.2 Cuticule et glycocalix

Le corps est entièrement recouvert d'une cuticule de  $0,55 \mu\text{m}$  d'épaisseur pour les femelles, et de  $0,40 \mu\text{m}$  pour les mâles (Valette *et al.*, 1997). Celle-ci est constituée essentiellement de cuticulines et de collagène, protéines hydrophobes riches en proline et lysine (Baldwin et Perry, 2004). Les cuticulines, principaux composants de la cuticule externe, sont très fortement liées entre elles par de nombreux ponts disulfures (Edgar *et al.*, 1982). Certains composants secondaires de la cuticule, glycoprotéines et lipoprotéines sont hydrosolubles ; il s'agirait surtout d'enzymes, par exemple des peroxydases qui permettraient aux phytoparasites de détruire des composés émis par la plante hôte pour se défendre contre les nématodes (Baldwin et Perry, 2004).

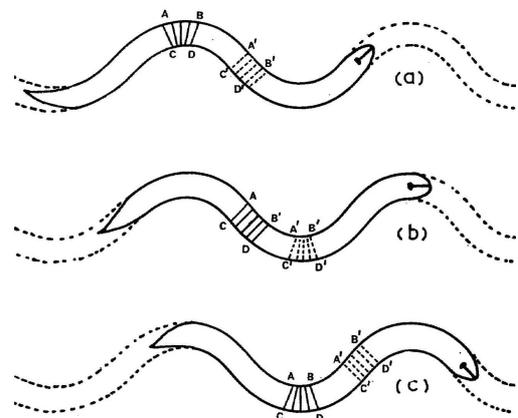
De plus, les Tylenchida, comme la plupart des nématodes, secrètent un "glycocalix", couche de glycoprotéines (mucines) qui entourent leur cuticule. Cette couche de mucine est continuellement secrétée et perdue lors des mouvements du nématode (Bird, 2004). Cette couche a été surtout étudiée dans le cadre des interactions entre champignons ou bactéries nématophages d'une part, nématodes (*Meloidogyne* en particulier) d'autre part car c'est elle qui permet aux microorganismes d'adhérer au nématode (Bird, 2004).

La cuticule entoure un volume à peu près constant de fluide et de tissus mous sous pression ; ces derniers forment un "hydrosquelette" (Chapman, 1958) incompressible et dont le volume ne peut varier qu'avec l'ingestion de nourriture, l'excrétion et la défécation (Baldwin et Perry, 2004).

## 1.3 Système locomoteur ; mouvements à l'échelle du nématode

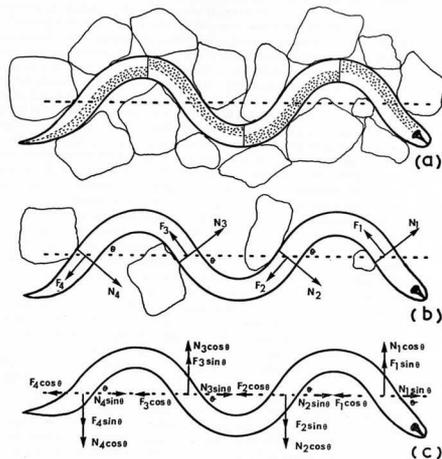
Le système locomoteur repose sur des muscles qui sont pratiquement tous longitudinaux et qui sont attachés à la cuticule et entourent l'endosquelette (Baldwin et Perry, 2004). Chez les Pratylenchidae, comme chez la plupart des Tylenchida, il n'y a pas de muscles qui permettent à l'animal de comprimer le corps transversalement (Burr et Robinson, 2004). Ils ne peuvent ainsi avancer grâce à des contractions péristaltiques comme le font les lombrics (Quillin, 1999) ou certains *Criconematidae* (Robinson, 2004). Ces nématodes rampent comme les serpents, en ondulant le corps par rapport à son axe pour se propulser.

Ce type de mouvement a été étudié par Wallace (1958b et 1958c, 1959, 1968) en filmant onze



**Figure 2** : "Mouvement par ondulation" d'un nématode ; le nématode avance dans le sens de la flèche en modifiant la forme de son corps par des successions de contractions – relâchements de ses muscles dorsaux et ventraux. Schéma de Wallace (1968)

espèces de Tylenchida, de taille et de mode de vie varié, dans des films d'eau d'épaisseur variable sur divers supports. Sur la figure 2, au niveau de la zone ABCD, le nématode a contracté en (a) ses muscles droits CD et ses gauches AB sont relâchés ; en (b), il commence à contracter ses muscles droits A'B' et relâcher ses gauches C'D' ; en (c), ses muscles gauches AB sont contractés et ses droits CD relâchés. L'exosquelette étant incompressible, les forces de torsion s'exercent sur le milieu qui par réaction pousse le nématode dans l'axe (figure 3). En adaptant l'amplitude des "vagues", leur fréquence et la pression exercée sur le milieu, le nématode provoque une poussée (résultante des vecteurs  $N_i$  de la figure 3), qui, si elle est supérieure aux frottements, lui permet d'avancer. En principe, ce mouvement par ondulation

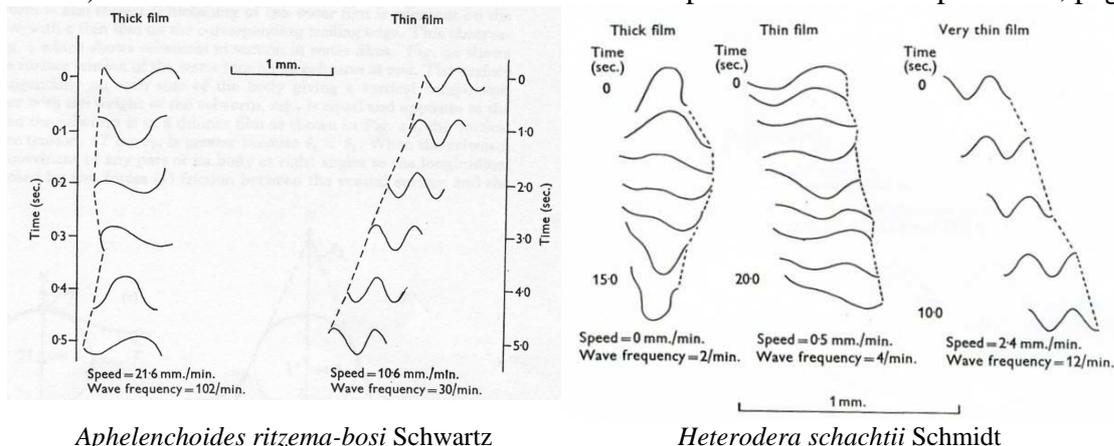


**Figure 3** : Reptation d'un nématode au milieu de particules de sol. (a) en gris : section du corps où les muscles exercent une pression sur le milieu ; (b) vecteurs  $N_i$  : réaction du milieu et  $F_i$  : frottements ; (c) projection de ces vecteurs sur l'axe de progression ( $\theta$  désigne l'angle entre le nématode et cet axe). D'après Wallace (1968)

devrait permettre aussi bien la nage que la reptation. Toutefois, pour nager, il faut non seulement que le nématode bouge de façon à s'appuyer sur l'eau, mais aussi qu'il compense la gravité. La nage nécessite ainsi une amplitude de mouvement et une fréquence élevée que beaucoup de nématodes telluriques ne peuvent fournir (Wallace, 1968 ; figure 4) ; de plus, il faut que la réaction de l'eau au mouvement puisse porter le nématode, ce qui implique qu'il ne soit pas trop dense.

Comme la majorité des Pratylenchidae, il semble que *R. similis* soit incapable de nager. La densité des nématodes, comprise entre 1,08 et 1,13 (Viglierchio et Yamashita, 1983) est même trop élevée pour qu'ils puissent rester en suspension dans l'eau (Seinhorst, 1962). Par contre, dans le sol, *R. similis* peut s'appuyer efficacement sur les agrégats solides. Il a cependant besoin d'un film liquide pour

avancer dans les interstices du sol (Wallace, 1958a). En outre, il ne peut pas pénétrer dans les agrégats et ne peut emprunter que les pores dont le diamètre est supérieur au sien (Wallace, 1958b). Nous détaillerons les conditions liées aux déplacements dans la partie 8.5, page 23



**Figure 4** : Mouvement ondulatoire de nématode phytoparasite aérien de feuilles (à gauche) et d'un parasite tellurique (à droite) dans des films d'eau épais et fins. Noter la différence de fréquence entre les mouvements d'*A. ritzema-bosi* (qui peut nager) et ceux d'*H. schachtii* (qui ne le peut pas). D'après Wallace (1959).

## 1.4 Conséquences

*R. similis* peut se déplacer dans le sol entre les agrégats mais pas à travers les agrégats et particules solides. Dans le sol, il ne peut être disséminé que par l'intermédiaire des réseaux de capillaires interstitiels. Ceux-ci doivent toutefois

1- présenter des diamètres d'ouverture supérieurs à la largeur du nématode pour permettre son passage ; soit au moins 12  $\mu\text{m}$  pour les juvéniles les plus petits, 25-30  $\mu\text{m}$  pour les femelles gravides

2- au-delà de 500  $\mu\text{m}$  de large, *R. similis* ne peut plus se mouvoir dans ou à travers une fissure ; par contre, il peut être entraîné de manière passive

3- les conditions de déplacement seraient optimales dans des capillaires de 80 à 200  $\mu\text{m}$

Enfin, de par la nature de son épiderme, il est très improbable qu'il puisse être absorbé ou adsorbé par la matrice du sol.

## 2. Origine et répartition de *R. similis*

Le genre *Radopholus* est probablement originaire de la zone australasiatique (Australie, Nouvelle Zélande et Sud-Est Asiatique) (Sher, 1968). Seule l'espèce *R. similis* a été largement disséminée hors de sa région d'origine.



**Figure 5** : Carte de répartition de *Radopholus similis* (Cobb) Thorne d'après Bridge (1993)

*R. similis* est présent dans la majorité des régions de production de bananes (O'Bannon, 1977, Bridge, 1993) comme l'indique la figure 5 ; seuls les hauts plateaux d'Afrique de l'Est et certains archipels (Canaries, Crète, Iles du Cap Vert) ne sont pas infestées.

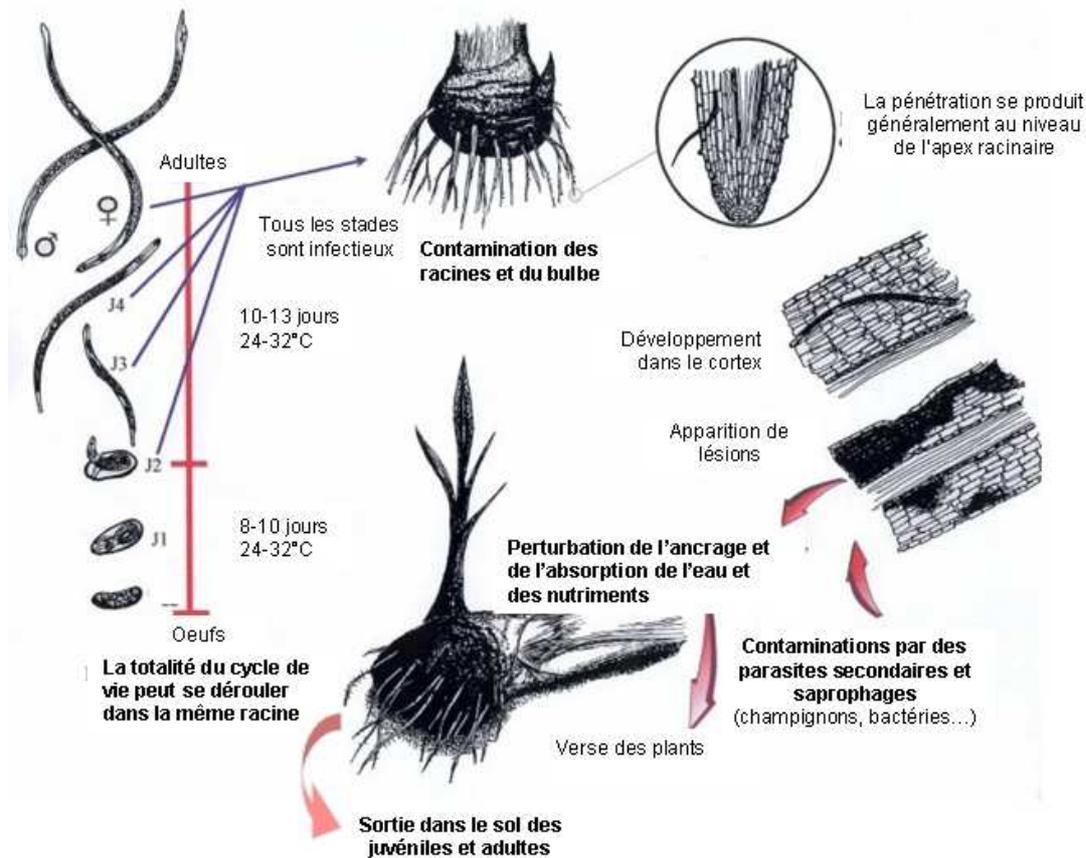
*R. similis* peut être rencontré en dehors des zones de productions bananières : Chitambar (1997) signale la présence de *R. similis* en Arizona et Texas, où il aurait été

introduit via des cultures ornementales contaminées.

## 3. Biologie

*Radopholus similis* est un nématode phytophage qui s'attaque aux racines des plantes hôtes. Qu'il éclore sur place ou qu'il pénètre son hôte, ce nématode rejoint la zone corticale où il se nourrit (Blake, 1961 ; Loos, 1962) et dans laquelle il peut se déplacer (Blake, 1966). Son cycle biologique est présenté en figure 6. *R. similis* est capable de réaliser l'intégralité de son cycle de vie dans une même racine. Toutefois, à chaque stade de développement, les juvéniles de stade 2 à 4 (J2 à J4) et les adultes des deux sexes sont capables de se déplacer (par opposition aux juvéniles âgées et aux adultes femelles de nématodes fixés tels que *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood). Il est ainsi qualifié d'endoparasite migrateur.

Selon Sarah *et al.* (1996), la durée du cycle d'œuf à œuf varie, suivant la température, entre 20 et 25 jours ; selon Duncan et Moens (2006), les œufs éclosent au bout de 2 à 6 jours, les stades juvéniles se succèdent en 10-15 jours.



**Figure 6** : Cycle de vie de *Radopholus similis* (Cobb) Thorne d'après Marin et al. (1998)  
(Les durées de cycles indiquées dans cette figure sont mentionnées par Kaplan, 1994)

*R. similis* est, comme la plupart des nématodes de sa famille, les Pratylenchidae, un parasite obligatoire. Il ne peut donc se nourrir qu'au détriment d'une racine vivante, ce qui explique que : i) il se rencontre essentiellement dans les racines et rhizomes, et peu dans le sol ; le rapport entre densité de populations dans le sol et dans les racines (exprimé en nombre de nématodes par gramme) est généralement inférieur à 1/100 ; ii) dans les racines, les densités maximales sont observées en bordures des zones nécrotiques ou entre les zones nécrotiques, et non dans les sections de racines nécrosées (Araya et Centeno, 1995 ; Hugon et Picard, 1988).

#### 4. Gamme de plantes hôtes

L'espèce *R. similis* a longtemps été considérée comme étant inféodée au bananier. Pourtant, Steiner et Buhner (1933) avaient montré que le théier pouvait être un excellent hôte de ce nématode. Mais surtout, en tant qu'agent causal du "Pepper Yellow", *R. similis* avait détruit vingt millions de poivriers sur l'île de Banka en Indonésie dans les années 1930 (Ferraz et Brown, 2002). De même, Nguyen *et al.* (2002) ont montré que *R. similis* était un parasite majeur du durian, provoquant à terme la mort des arbres.

Enfin, dès 1953, Suit et Du Charme avaient montré que *R. similis* était l'agent causal du "spreading decline" des agrumes en Floride ; à ce titre, il entraîne 50 à 80 % de pertes de rendement dans les vergers de pomelo contaminés (O'Bannon, 1977). Mais, sur la base de différences morphologiques mineures et surtout, sur la base des spectres d'hôtes bien distincts

(Du Charme et Birchfield, 1956), la “race citrus” a longtemps été considérée comme étant une espèce distincte, *Radopholus citrophilus* Huettel, Dickson et Kaplan (1984). Depuis, Kaplan *et al.* (1996) ont montré, sur la base d’analyses génomiques (RAPD), que *R. citrophilus* était trop proche du type *R. similis* pour constituer une espèce à part.

En fait, *R. similis* est capable d’attaquer plus de 1200 espèces appartenant à de nombreux groupes botaniques (Duncan, 2005). Selon les origines géographiques, les gammes d’adventices hôtes sont très variables. Au Costa Rica, les graminées sont peu ou pas attaquées par *R. similis*, contrairement aux fabacées (Edwards et Wehunt, 1971). En Martinique, plusieurs graminées (*Eleusine indica* (L.), *Echinochloa colona* (L.) Link), solanacées (*Solanum americanum* Mill. et *S. torvum* SW.) et surtout une urticacée (*Phenax sonneratii* (Poir.) Wedd.) constituent de bons hôtes (Quénéhervé *et al.* 2006a).

## 5. Répartition

### 5.1 Dans les sols

Peu de travaux sur la répartition dans le sol des Pratylenchidae ont été publiés. Comme Wallace (1963), Pudasaini *et al.* (2006) ont montré que la répartition dans le sol de *Pratylenchus penetrans* (Cobb) dépendait étroitement de la distribution des racines.

Ce facteur n’est toutefois pas le seul : Brodie (1976) a de son côté observé que la répartition de *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev et Schuurmans dépend de la température, de l’humidité, de la granulométrie, ainsi que de la répartition des autres nématodes phytoparasites avec lesquels il entre en compétition. Ces mesures ont toutefois été réalisées en Géorgie, région où les températures du sol peuvent constituer un facteur limitant, ce qui n’est pas toujours le cas en zone tropicale humide.

### 5.2 Dans les plantes hôtes : cas des bananiers

#### 5.2.1 Dans l’espace

Dans les racines et les rhizomes de bananiers, la distribution de *R. similis* est agrégée (Quénéhervé et Cadet, 1985 ; Hugon et Picard, 1988 ; Stanton *et al.*, 2001). La répartition dans les racines dépend de la qualité des racines et de l’activité rhizogénique ; il semble que *R. similis* se développe bien dans des racines actives et quitte les zones nécrosées soit en remontant dans la racine, soit en rejoignant le sol. La répartition dépend aussi des autres organismes compétiteurs, tel que le nématode *Helicotylenchus multicinctus* Golden (Quénéhervé, 1990)

Ce qui est vrai à l’échelle centimétrique l’est aussi au niveau de la plante. Pinochet (1977), Quénéhervé (1990), ainsi qu’Araya *et al.* (1999) ont montré que *R. similis* est concentré dans un rayon de 30 cm autour de la souche et dans les 30 (Côte d’Ivoire) à 60 (Honduras et Costa Rica) premiers centimètres de profondeur. Ces résultats ont ainsi conduit à la définition de protocoles adaptés pour évaluer les infestations de *R. similis* (en mesurant les populations dans les racines) et pour aider les agriculteurs à les gérer dans le cadre de l’agriculture raisonnée (Vilardebo, 1981 ; Quénéhervé et Cadet, 1986 ; Sarah et Perrier ; 1988 ; Araya, 2002).

Enfin, au niveau de la parcelle, les distributions des Pratylenchidae sont agrégées lorsque la population a pu se développer sur une culture hôte (Goodel et Ferris, 1980 ; Morgan *et al.*, 2002), et aléatoires lorsque les populations sont très faibles (Morgan *et al.*, 2002). De telles distributions obligent à échantillonner un grand nombre de plants pour mesurer l'infestation d'une parcelle (Sarah *et al.*, 1996).

### 5.2.2 Dans le temps

Les populations de nématodes évoluent selon le rythme d'émission des racines (Melin et Vilardebo, 1973a, Jaramillo et Figueroa, 1974 ; Quénéhervé, 1989a ; Quénéhervé *et al.*, 1991). Les populations maximales sont observées à la floraison, (Melin et Vilardebo, 1973a ; Hugon *et al.*, 1984). Cette observation est probablement liée à la physiologie du bananier.

En effet, le bananier émet des racines de façon continue jusqu'à la floraison (Beugnon et Champion, 1966) ; par la suite, les racines nouvellement émises sont surtout reliées aux rejets successeurs (Lavigne, 1987). Le plant fleuri n'est donc supporté que par un pool de racines peu ou pas renouvelées. Ces dernières vieillissent d'autant plus vite qu'elles sont fortement parasitées. Lorsque les racines sont trop abîmées, les populations de *R. similis* diminuent. Elles pourront de nouveau s'accroître à la faveur du développement des racines du rejet successeur (Gowen *et al.*, 2005).

## 6. Interaction avec la plante hôte : cas des bananiers

Bien que Cobb ait décrit *R. similis* dès 1893, ce n'est qu'en 1939 que Mallamaire a montré que ce nématode était responsable des graves pourritures racinaires qui hypothéquaient le développement des bananiers du groupe Cavendish. Depuis les travaux de Loos et Loos (1960) et de Black (1961), ce nématode est considéré comme étant l'un des principaux parasites des bananiers aux Antilles, puis dans le monde (Gowen *et al.*, 2005).

En pénétrant et se déplaçant à l'intérieur des racines puis en se nourrissant dans le parenchyme cortical, *R. similis* i) détruit des cellules directement ; ii) facilite l'entrée de saprophages et de parasites secondaires, puis leur développement (Black, 1966 ; Loricat, 1989 ; Sarah, 1990). À l'échelle macroscopique, ces dégâts se traduisent par l'apparition de nécroses brun-rouges puis noires (Loos et Loos, 1960).

Ces nécroses (Photo 2) peuvent se développer et entraîner :

- une diminution de la capacité des racines à alimenter le bananier ; sa croissance peut alors être retardée, et ses régimes sont plus petits. En Côte d'Ivoire, dans le cadre des essais nématicides, des réductions de rendements de l'ordre de 30 % ont ainsi été observées (Sarah et Vilardebo, 1979) ; cette réduction peut même dépasser 50 % (Sarah *et al.*, 1988)

- une altération de la résistance mécanique des racines. Leur capacité à maintenir l'ancrage du plant est alors réduite, le risque



**Photo 2** : Dégât de *Radopholus similis* sur bananier "Grande Naine" : nécroses des racines et du bulbe, ayant entraîné la chute du plant

de verse est sérieusement augmenté. C'est ce dégât qui est le plus important en Amérique Centrale (Pinochet, 1986), en Australie (Blake, 1972) ou aux Antilles : pour Stover (1972), *R. similis* est avant tout un agent de verse. De même, en Martinique, la proportion de plants récoltés, dépendante de la proportion de plants non chutés, est de loin le principal facteur de rendement affecté par *R. similis*. (Chabrier et Quénéhervé, 2003 ; Chabrier *et al.*, 2002 et 2005a).

Les dégâts les plus importants de *R. similis* sont observés près des bulbes (Pinochet 1977). Lorsque ceux-ci sont l'atteints, des nécroses se développent le long du cortex et à la base des souches provoquant le "Black Head Disease" (Loos et Loos, 1960). Ces nécroses entraînent souvent la chute des plants, généralement peu après la floraison (Blake, 1972) ; Stover, 1972 ; Pinochet, 1986).



Photo 3 et 4 : Nécroses sur bulbes de vitro-plants de bananier ("Black Head Disease"). A gauche : noter les nécroses qui partent de la périphérie du bulbe. A droite : même plant, après excision des zones nécrosées ; noter que les nécroses sont développées à partir des racines (cercle noirs qui deviennent coalescents).

## 7. Survie de *R. similis* hors de sa plantes hôtes

Les capacités de survie dans le sol ont été étudiées dès la mise en évidence du rôle de *R. similis* dans le "quick decline" des agrumes en Floride. Dès 1955, Du Charme estime que les femelles pourraient survivre deux à trois mois dans le sol humide. En 1957, Birchfield a publié une synthèse de ses travaux en conditions contrôlées et au champ. Il a disposé des individus de *R. similis* à tous les stades sur gel d'agar dans des boîtes de Pétri ; il a noté que tous ces nématodes consommaient leurs réserves lipidiques en 4 semaines et qu'ils sont tous morts avant le 66<sup>ème</sup> jour. Il avait de plus inoculé des pots de terre puis planté, après un laps de temps variable, des plantules de citronnier ; il a ainsi observé que *R. similis* ne pouvait pas recontaminer les plants dès que l'intervalle inoculation-plantation atteignait deux mois. Enfin, il a enterré des échantillons de sols contenant des racines contaminées dans un champ ; à un individu près (qui n'avait plus de réserves), Birchfield (1957) n'a pas plus retrouvé de *R. similis* dès le 3<sup>ème</sup> mois.

Egalement sur la base de test biologique, mais en utilisant le gombo comme plante indicatrice, Feldmesser *et al.* (1960) avaient eux aussi estimé à 3 mois la durée de survie de *R. similis* dans des sols en jachère.

Toujours en sols de Floride, Tarjan (1961) a enterré des populations de *R. similis* dans des sachets à des profondeurs diverses. Il n'a retrouvé des individus vivants au-delà du 3<sup>ème</sup> mois que dans les échantillons disposés en profondeur (122 cm) ; au-delà de 6 mois, aucun *R. similis* n'a pu être récupéré.

Pour la "souche bananier", Loos (1961) a observé que la durée maximale de survie dans l'eau distillée était de 9 semaines pour les femelles et 7 pour les mâles. Les jeunes juvéniles, mourraient en moins de 12 jours, alors que les juvéniles âgés, qui disposent de plus de réserves, pouvaient survivre jusqu'à 5 semaines.

Par ailleurs, Loos (1961) avait observé au Panama qu'après 5 mois de submersion, *R. similis* avait disparu du sol. Sarah *et al.* (1983) ont quant à eux observé une réduction de plus de 90 % des populations dans les racines des bananiers après 5 semaines de submersion. Même si ces derniers auteurs pensent que les sulfures émis par la microflore lors de la submersion ont tué une large proportion de *R. similis*, ces résultats suggèrent surtout que *R. similis* serait particulièrement sensible à l'anoxie (Thomason et Caswell, 1987).

D'une façon plus générale, en l'absence de ressources alimentaires, la température, l'humidité et l'oxygénation du sol sont considérées comme les principaux facteurs limitants de la survie des nématodes (Mc Sorley, 2003 ; Croll et Mathews, 1977). *R. similis* survit sans se reproduire à 16°C, se développe modérément à 20 °C et très bien au-delà de 25°C (Pinochet *et al.* 1995) ; son optimum thermique pour la reproduction est compris entre 27 et 33°C (Fallas et Sarah, 1995). Au cours d'essais de thérapie, Arcinas *et al.* (2005) ont noté que *R. similis* supporte très bien des températures inférieures à 35°C ; entre 40 et 45 °C, la mortalité est importante, voire totale si l'exposition dépasse les 30 minutes à 40°C, 8 minutes à 45°C. En Martinique, où les températures du sol varient peu et restent toujours comprises entre 22 et 30°C (donc non défavorables), l'état hydrique du sol devrait être prépondérant.

A contrario, avec des espèces capables d'entrer en vie ralentie, la sécheresse influe beaucoup moins sur les capacités de survie. Ainsi, Simon (1973) a montré que les capacités de survie de 3 nématodes ectoparasites : *Tylenchorhynchus dubius* (Bütschli), *Rotylenchus robustus* (de Man), *Helicotylenchus pseudorobustus* (Steiner) ne variaient guère dans des sols ressuyés, avec des potentiels de succion compris entre -0,32 et -1600 kPa<sup>1</sup>. De plus, les capacités de survie n'étaient pas ou peu affectées par des apports de fertilisants ou de matière organique. Par contre, à saturation, elles diminuent considérablement par anoxie et/ou sous l'action de micro-organismes antagonistes. De même, Townshend et Webber (1971) ont observé que *Pratylenchus penetrans* survivait beaucoup mieux dans des sols secs que dans des sols saturés en eau ; ils pensent que l'anoxie provoquerait ce phénomène. Enfin, Towson et Apt (1983) ont observé que la survie de *Meloidogyne javanica* est optimale à - 110 kPa ; à ce potentiel de succion, près de la moitié des J2 étaient encore vivants au bout de 200 jours, alors qu'à - 16 kPa, moins de 25 % de la population survivait au 28<sup>e</sup> jour.

Dans des sols secs, la survie est affectée en fonction de la sécheresse, de façon très variable d'une espèce à l'autre, et au sein d'une même espèce, d'un stade à l'autre. Les mécanismes de résistance sont eux-mêmes variés : ainsi, chez les *Meloidogyne*, le mucilage entourant les œufs améliore leur tolérance à la sécheresse ; les juvéniles de *Ditylenchus dipsaci* Filipjev se regroupent pour former des agrégats qui leur permettraient de limiter les pertes en eau ; mais surtout, à certains stades de leur développement, les juvéniles et adultes peuvent entrer en anhydrobiose lorsque la dessiccation est assez lente (Cooper et Van Gundy, 1971, McSorley, 2003 ; Wharton, 2004). Selon les espèces, seul un stade précis (par exemple, juvéniles J3 pour *Caenorhabditis elegans* (Maupas) ou plusieurs stades (J3 et J4 pour *Tylenchorenchus dubius*), peuvent entrer en anhydrobiose et survivre ainsi en quiescence ou diapause.

---

<sup>1</sup> Soit  $pF = 0,5 \text{ à } 4,2$  (les données publiées étaient exprimées en pF ; ce dernier est défini par la formule :  $pF = \log_{10}(\text{valeur absolue du potentiel matriciel, en cm d'eau})$ )

## **8. Dissémination des nématodes – cas de *R. similis***

### **8.1 Anthropique, via le matériel de plantation**

Les principaux cultivars de bananiers étant pratiquement stériles, cette culture est multipliée de façon végétative, par rejets et fragments de bulbe (Champion, 1968). L'un et l'autre peuvent être contaminés par *R. similis* ; en le transportant d'une bananeraie à l'autre, l'homme dissémine à son insu ce nématode.

Le transport de souches et rejets de bananiers contaminés est considéré comme étant le principal mode de dissémination de *R. similis* d'une région à l'autre (Black, 1961 ; Sarah, 1989 ; Gowen *et al.*, 2005 ; Duncan et Moens, 2006). Marin *et al.* (1998) ont ainsi relié l'apparition de *R. similis* dans différents pays avec les introductions successives des principaux cultivars de bananiers cultivés : "Gros Michel" (depuis la Martinique vers la Jamaïque en 1835, et de là, vers le Nicaragua, le Panama, la Colombie et le Surinam), "Coco", "Abaca" puis "Cavendish" à partir de 1835. De même, la "race Citrus" a été disséminée via des plants contaminés dans les pépinières de différents états des USA (Chitambar, 1997) ; seule une stricte surveillance sanitaire des pépiniéristes a pu cantonner le "spreading decline" à la Floride.

### **8.2 Anthropique, via le sol transporté par les outils**

Les nématodes peuvent être transportés par les engins aratoires. L'étude, sur trois années successives, de la répartition de *Pratylenchus penetrans* suggère que ce Pratylenchidae serait disséminé à l'intérieur d'une même parcelle par les outils de labours, mais pas par les outils de récolte (Morgan *et al.*, 2002). De même, Tarjan (1956) a observé un cas de transport accidentel de *R. similis* par bulldozer. Ce mode de transport semble cependant marginal.

### **8.3 Par le vent**

La dissémination des nématodes par le vent a été mise en évidence pour plusieurs espèces de Tylenchida (Meagher, 1977). Elle nécessite non seulement des conditions climatiques particulières (vents violents sur sols découverts) mais surtout la capacité pour le nématode de supporter des conditions de sécheresse très défavorables (Carroll et Vigliercho, 1981). En pratique, ces conditions requièrent la capacité d'entrer en vie ralentie (quiescence ou diapause) et de se dessécher (Baujard et Martiny, 1994). Certains *Pratylenchus* sont ainsi susceptibles d'être disséminés par le vent (Duncan et Moens, 2006). Mais étant incapable d'entrer en anhydrobiose, *R. similis* ne le peut pas.

### **8.4 Par les eaux**

De nombreux auteurs (Croll et Mathews, 1977 ; Ferraz et Brown, 2002 ; Burr et Robinson, 2004) considèrent que la dissémination des nématodes par les eaux est un phénomène acquis. Peu d'études ont cependant été publiées sur ce sujet. En 1949, Thomson *et al.* avaient présenté une étude à l'échelle multirégionale : deux ans plus tôt, des chutes de neige avaient provoqué des inondations exceptionnelles au printemps ; ces auteurs en ont profité pour étudier la dispersion de deux nématodes à kystes, *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) et d'*Heterodera major* Schmidt dans des terres nouvellement mises en culture et situées à plusieurs kilomètres de terres infestées. Ils ont bien trouvé des kystes dans les alluvions issues de l'inondation, mais des kystes peu viables ; les niveaux d'attaques dans les nouvelles

parcelles étaient faibles et sporadiques. Selon ces auteurs, les kystes récemment formés ont une faible flottabilité et ne se dissémineraient sur de longues distances qu'en faible quantité. A l'opposé, Rostobekova (1957) a mis en évidence le transport d'œufs de nématodes viables (en particulier ceux d'*Ascaris spp.*) dans les eaux de canaux d'irrigation en Géorgie.

A l'échelle régionale (en l'occurrence, un bassin irrigué de 5300 km<sup>2</sup>), la dissémination dans les eaux a été étudiée par Faulkner et Bolander (1966). Ceux-ci ont prélevé de l'eau dans des canaux d'irrigation pour y dénombrer les nématodes présents. Ils ont ainsi montré que les flux de nématodes étaient proportionnels au débit du canal. 10 à 20 % des nématodes collectés étaient des phytoparasites appartenant à au moins 8 genres différents (dont *Pratylenchus spp.*). Par la suite, Faulkner et Bolander (1970a) ont analysé chaque semaine pendant 3 ans des échantillons en différents points d'un réseau d'irrigation. Ils ont ainsi montré que les eaux à l'exutoire des fossés de drainage étaient contaminées par des phytoparasites (avec des populations moyennes de 3 000 à 7 000 phytoparasites / m<sup>3</sup> selon le site) et que les concentrations en phytoparasites en un point donné du canal collecteur principal dépendait de sa position par rapport aux fossés de drainage (ils accroissent les concentrations en nématodes) d'une part, des autres sources d'eau (qui les diminuent) d'autre part. Ils ont conclu que les eaux issues des parcelles cultivées constituaient la principale source de contamination des eaux.

Enfin, Faulkner et Bolander (1970b) ont irrigué des parcelles expérimentales de différentes cultures (luzerne, haricot, aubergine, betterave et blé) avec des eaux tirées d'un puits pour les unes, du canal collecteur pour les autres. Sur ces dernières, environ 600 nématodes /m<sup>2</sup> /an ont été apportés ; les premiers nématodes phytoparasites y ont été observés dès le 5<sup>ème</sup> mois ; leur nombre a augmenté puis atteint un plateau vers le 19<sup>ème</sup> mois. A l'opposé, les populations de nématodes sur les parcelles arrosées avec l'eau de puits ne sont apparues qu'au 13<sup>ème</sup> mois et sont restées très basses au 30<sup>ème</sup> mois.

A cette même échelle, Loos (1961) signale que 3 *R. similis* / 100 gallons d'eau (soit 1 *R. similis* / 100 l) ont été trouvés dans les eaux d'une rivière qui drainait une bananeraie de deux acres (environ 1 ha). Waliullah (1989) a observé que des eaux de canaux d'irrigation charriaient de 40 à 200 nématodes phytoparasites pour 100 l.

Enfin Du Charme (1955) a trouvé une femelle vivante de *R. similis* dans 20 litres d'eau pompées à 8-9 pieds (environ 2,5 m) de profondeur en bordure d'un verger contaminé par le "spreading decline" des agrumes. Il a ainsi montré que *R. similis* pouvait se disséminer à l'aide du ruissellement de sub-surface.

Au Sénégal, à l'échelle d'un petit bassin versant (58 ha), Cadet et Albergel (1999) ont évalué les flux de nématodes et de matériaux d'érosion dans un piège à sédiment et croisé ces données avec les mesures de flux d'eaux ruisselées. Ils ont ainsi mesuré des flux de nématodes entraînés dans les eaux de ruissellement qui ont atteint un maximum de 665 nématodes par litres soit plus 5 800 nématodes par secondes au cours d'un épisode de début de saison des pluies. 279,5 millions de nématodes auraient été entraînés à l'exutoire au cours d'un hivernage qui comportait 14 pluies ruisselantes. La population totale de nématodes ainsi disséminée est trois fois plus élevée que ce qu'elle aurait été si ces nématodes étaient assimilables à des particules inertes de volume équivalent. Cependant, ces auteurs n'ont pas pris en compte la masse volumique des particules inertes considérées : au moins 2,6 kg/dm<sup>3</sup> pour des grains de sables (sables quartzeux), contre environ 1,1 pour un nématode ; cette

différence de densité aurait pu expliquer, au moins en partie, l'entraînement préférentiel des nématodes.

Cependant, Cadet et Albergel (1999) expose que des espèces de nématodes présentes dans le sol n'ont jamais été retrouvées dans les eaux de ruissellement. Certaines espèces ont été surtout entraînées en début de saison des pluies, d'autres, comme *Pratylenchus pseudopratensis* Seinhorst n'ont été fortement disséminées qu'au cœur de la saison pluvieuse. Enfin, il n'y a pas de corrélations entre l'évolution des populations de nématodes entraînées et les volumes de particules de sols en suspension dans les eaux (mais cette argument est affaibli par la non prise en compte des différentiels de masses volumiques entre sables et nématodes). **Pour Cadet et Albergel (1999), ces observations suggèrent que ces transferts ne sont pas exclusivement passifs : les nématodes pourraient influencer leur entraînement par les eaux, notamment par leurs mouvements.**

A l'échelle métrique, l'équipe IRD de Dakar (Sénégal) a réalisé des études sous simulateur de pluie. Pour ces études, Planchon et al. (1999) ont utilisé un simulateur de grande taille (5 m x 10 m) et mesuré le micro-relief sur trois parcelles, l'une précédemment en jachère, les autres précédemment cultivées avec du mil et de l'arachide. Ils ont inoculé les sols avec 2500 juvéniles de *Meloidogyne spp.* et appliqué 3 pluies successives. Les nématodes apportés n'ont été retrouvés qu'à l'issue des 2<sup>èmes</sup> ou 3<sup>èmes</sup> pluies, lorsque les chemins d'eau de ruissellement communiquent entre eux et qu'il n'y a plus de biefs. Ils ont montré que la dissémination peut être rapide mais nécessite un courant d'eau suffisamment important pour maintenir les nématodes en suspension.

Sur un dispositif similaire, Cadet *et al.* (2002) ont noté que *Scutellonema cavenessi* Sher était significativement plus présent dans les moitiés basses des parcelles. A partir des analyses de sol préliminaires, il avait calculé les quantités de nématodes qui auraient dû être entraînés dans les eaux s'ils se comportaient comme des particules de sable (ce qui devrait être le cas d'un nématode en diapause ... sauf que la masse volumique d'un nématode est 2 à 3 fois plus faible, et que ce paramètre ne semble pas avoir été pris en compte dans ce calcul où le nématode est totalement assimilé à un grain de sable de 40 µm de diamètre). Les populations de *S. cavenessi* transportées étaient comprises entre 12 et 23 % de ce qu'elles auraient été si ce nématode s'était comporté comme un matériau inerte. A l'opposé, les saprophages ont été retrouvés en quantité 4 à 17 fois plus élevée dans les eaux de ruissellement que ce qui avait été modélisé. De plus, il a observé des *S. cavenessi* dans des filets d'eau dont les débits étaient trop faibles pour transporter des particules de sol.

Ces essais ont été réalisés en fin de saison sèche, à une période où de nombreux nématodes sont en anhydrobiose. L'autre espèce de nématode phytoparasite dominant dans ces sols, *Tylenchorynchus gladiolatus* Fortuner, sort plus tardivement d'anhydrobiose que *S. cavenesi*. *T. gladiolatus* n'a été retrouvé qu'en quantité très faible. La comparaison des captures des deux espèces suggère que ces nématodes doivent être mobiles pour être transportés efficacement par les eaux de ruissellement.

Sur ce même dispositif, Villenave *et al.* (2003) ont analysé les populations de nématodes non phytoparasites. Ils ont noté que les nématodes possédant des queues fines ou en ogive étaient les plus abondants dans les eaux ; or, cette forme de queue pourrait favoriser les mouvements de ces animaux lorsqu'ils sont en suspension.

En conclusion, les eaux de ruissellement peuvent efficacement disséminer les nématodes phytoparasites. Ce phénomène n'est cependant pas seulement passif : le comportement et les mouvements des nématodes permettent d'amplifier ou de limiter considérablement la dissémination par les eaux.

## 8.5 Active, dans le sol

### 8.5.1 Echelle macroscopique

Bien que considérés comme secondaires (Norton, 1978), les déplacements actifs de nématodes phytoparasites dans le sol sont connus depuis longtemps. Luc (1961) a ainsi montré que le nématode *Hemicyclophora paradoxa* Luc se déplaçait dans des colonnes de sol pour rejoindre les zones où l'humidité lui était plus favorable, et surtout, vers des zones où des substances émises par les racines de plantes hôtes étaient présents. De nombreux composants des exsudats racinaires sont en effet susceptibles d'attirer les nématodes (Spiegel *et al.*, 2003).

Cette propriété a été utilisée pour étudier les déplacements actifs des nématodes dans le sol ; Lavalee et Rohde (1962) ont ainsi montré que *Pratylenchus penetrans* se déplace dans du sable à une vitesse de 4 à 5 mm/h et qu'il est attiré par les plantules hôtes mais uniquement sur de très courtes distances (moins de 45 mm). Par contre, Prot (1975) a montré que les juvéniles J2 de *Meloidogyne incognita* Chitwood pouvaient migrer sur des distances de l'ordre du mètre.

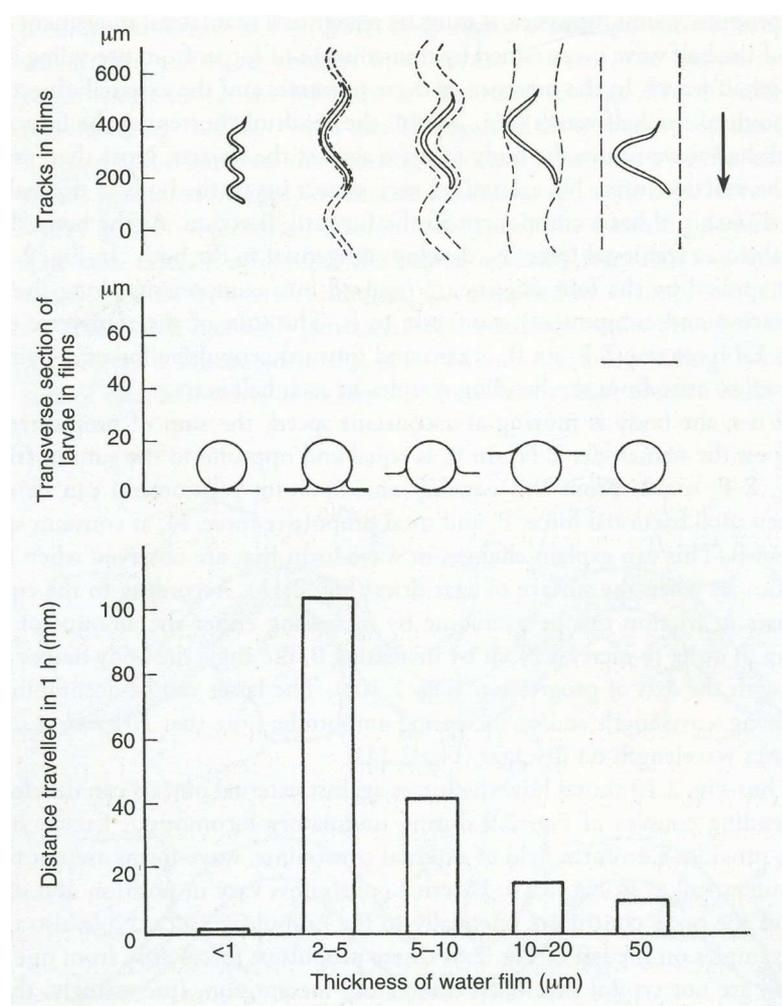
Ces derniers résultats sont en accord avec les observations de Johnson et McKeen (1973) qui ont montré que, à partir de racines infestées enterrées entre 1,2 à 1,5 m de profondeur, *M. incognita* était capable de remonter en moins de 5 mois le profil pour envahir des racines de tomate cultivées à la surface du sol.

De nombreuses études de dissémination ont aussi été réalisées avec des dispositifs constitués d'une colonne de sol au sommet duquel on dispose une plante hôte, le nématode étudié étant inoculé à la base du dispositif. Prot (1978) a ainsi montré que 60% des juvéniles de stade J2 de *M. incognita* pouvaient atteindre des racines de tomate placées 50 cm plus haut en moins de 9 jours ; dans la même publication, il montre que les vitesses de migration peuvent varier du simple au double d'une population de *Meloidogyne* à l'autre. Prot et Van Gundy (1981) ont ensuite montré que *M. incognita* ne migrerait bien que dans des sols sableux : au-delà de 32 % d'argiles et de limon, ce nématode n'est plus capable d'atteindre le plant de tomate situé 20 cm plus haut.

En utilisant des dispositifs similaires (colonnes de sol au bas de laquelle on inocule une population de nématodes et en haut de laquelle est planté un plant de tomate hôte) Pinkerton *et al.* (1987), ont montré que ces migrations n'étaient possibles que si un niveau d'humidité proche de la capacité au champ était atteint ; de plus, en humectant régulièrement leur colonne de sol, ils augmentaient sérieusement les hauteurs de colonnes parcourues. Ce n'est qu'avec un apport d'eau quotidien permettant d'atteindre la capacité au champ, qu'ils ont pu observer des juvéniles de *M. chitwoodi* au niveau des racines de tomate, 45 cm au dessus du point d'inoculation.

### 8.5.2 Echelle du nématode

A l'échelle du nématode, ces observations peuvent s'expliquer par les travaux de Wallace (1968). Celui-ci avait 1- observé au microscope les déplacements de nématodes dans des films d'eau d'épaisseur variable (Wallace, 1958a et 1959) ; 2- rempli des tubes avec de la terre à différents potentiels hydriques et injecté des populations de *Heterodera schachtii* à une extrémité (Wallace, 1958a) ; 3- étalé de fines couches de sable calibré dans des boîtes de Pétri, déposé des populations de *H. schachtii* et de *Ditylenchus dipsaci* (qui est approximativement deux fois plus grand) puis observé leur comportement (Wallace, 1958b et 1958c). Enfin, Wallace (1960) a mesuré les mouvements de *Globodera rostochiensis* dans des cubes de sols et autres matériaux (tourbe, graphite) soumis à un gradient d'humidité. Outre la description des mécanismes impliqués dans la reptation (voir page 12), il a observé que la mobilité des nématodes était maximale lorsque le sol est proche de la capacité au champ (Figure 7). Lorsque le potentiel capillaire est inférieur à - 50 kPa, la reptation s'arrête.



**Figure 7:** Relations entre les mouvements d'un nématode et l'épaisseur du film d'eau sur gel d'agar où il évolue. En haut, amplitude et période des ondulations ; au milieu, coupe transversale schématique ; en bas, vitesse d'avancement en mm/h. D'après Wallace (1958a)

Soumis à un gradient d'humidité, *G. rostochiensis* était attiré par le pôle humide. Wallace (1960) a utilisé cette particularité pour étudier les mouvements de *G. rostochiensis* dans des tubes de plastique remplis de matériaux de taille variable. Ces nématodes peuvent bouger dès que le diamètre des pores dépasse celui de leur corps. Leur mobilité est optimale dans des

pores de 31  $\mu\text{m}$  (leur diamètre est d'environ 18  $\mu\text{m}$ ). Elle baisse ensuite rapidement lorsque la taille des pores augmente.

Ces résultats sont cohérents avec les observations directes de Wallace (1958b et 1958c) qui a observé que la mobilité des nématodes était optimale lorsque la taille des particules était comprise entre le tiers et la moitié de la longueur de leur corps (soit 150 à 200  $\mu\text{m}$  pour *H. schachtii* dont la taille, 450-500  $\mu\text{m}$ , est similaire à celle de *G. rostochiensis*).

Ces mesures sont également en accord avec les résultats d'Otobe *et al.* (2004). Dans un dispositif artificiel (circuit imprimé en silicium) comportant des pores calibrés, ceux-ci ont observé que *Meloidogyne incognita* se déplaçait beaucoup mieux dans un milieu où le diamètre des pores correspond à environ la moitié de leur longueur, que dans des pores cinq fois plus larges.

Toutefois, dans la tourbe, les mouvements augmentent avec le dessèchement ; Wallace (1960) attribue ce phénomène à la consommation d'oxygène par la tourbe. De plus, les frottements sur ce matériau sont plus faibles, si bien que les nématodes pourraient mieux glisser sur ces surfaces. A contrario, sur le graphite qui présente des faces déchiquetées, les mouvements observés sont réduits (Wallace, 1960). La forme des particules et la disponibilité en oxygène peuvent donc aussi influencer la mobilité des nématodes dans le sol.

Dans les sols ressuyés, le film d'eau disponible devient plus fin lorsque la succion augmente. Lorsque le film d'eau est trop faible, le mouvement s'arrête (Figure 7).

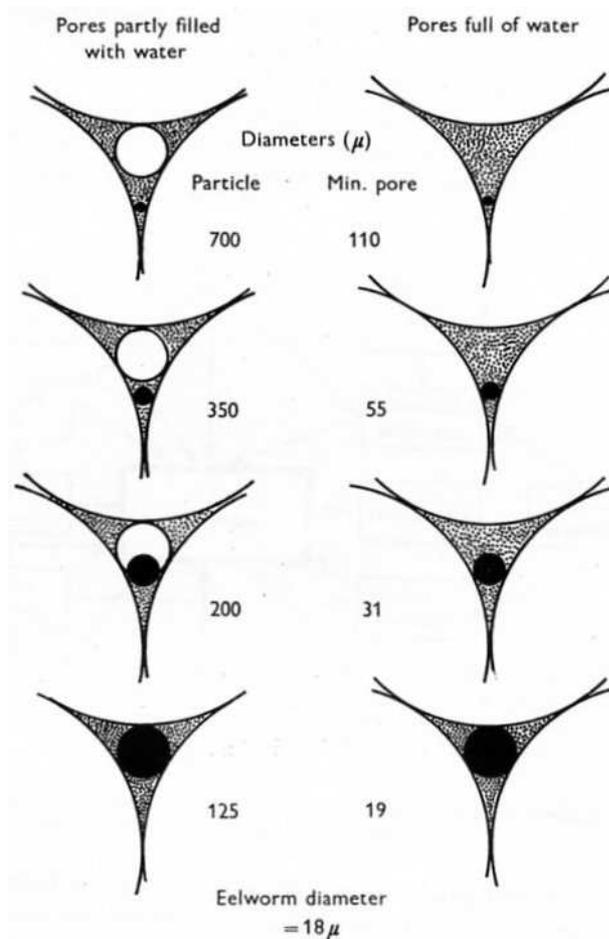
Ces interprétations ont été confirmées par Townshend et Webber (1971) qui ont étudié la dissémination de *Pratylenchus penetrans* dans des cylindres de sols de 5 cm de long. Ces derniers ont noté que la dissémination de ce nématode était nulle à saturation, optimale entre -1 et -3,2  $\text{kPa}^2$  dans un sol sablo-limoneux, et 3,2 à 10  $\text{kPa}^3$  dans des sols limoneux. Le volume occupé par l'air dans le sol représentait alors 8 à 12 % du volume total. Ces auteurs ont de plus observé que la dissémination de *P. penetrans* était réduite lorsque le sol est compacté. Cet effet était particulièrement marqué sur des sols limoneux. Outre l'effet sur la taille des pores, il est possible que la compaction inhibe aussi les mouvements en limitant les ressources en oxygène.

**En conclusion, les nématodes se déplacent dans les interstices de sols. De nombreux facteurs influencent leur mouvement, comme la température ou la disponibilité en oxygène, mais la mobilité est principalement reliée au potentiel matriciel du sol et à la taille des pores (Figure 8). La vitesse maximale est atteinte quand les pores de grande taille (> 100  $\mu\text{m}$ ) sont partiellement vides et les pores de petite taille (< 20  $\mu\text{m}$ ) remplis.**

---

<sup>2</sup> pF = 1,0 à 1,5

<sup>3</sup> pF = 1,5 à 2,0



**Figure 8** : Relations entre le diamètre d'un nématode, la taille des pores et l'humidité dans un sol sableux. L'échelle varie en fonction de la taille des pores (de 110 à 19 μm). En noir : le nématode (Ø : 18 μm), en grisé : eau, disque blanc : air. D'après Wallace (1960)

### 8.5.3 cas de *R. similis*

Les déplacements dans le sol de *R. similis* ont été surtout étudiés en Floride, où Tarjan (1971) a observé que *R. similis* se disséminait rapidement dans le sol. Dans des bacs de 122 cm de long, il avait planté des agrumes contaminés à une extrémité ; il coupait régulièrement les racines de ces plants à partir d'un repère situé à 36 cm du bord contaminé ; des plantules de *Citrus aurantium* et *C. jambhiri* avaient été plantées à 12,7 cm de l'extrémité opposée du bac. En prélevant régulièrement des carottes de sol (incluant éventuellement des racines) il a suivi le front de progression de *R. similis* dans la zone initialement saine. La dissémination avait été rapide dans un sol composé de 97,5 % de sable (ainsi que 2,5 % d'argile) : 86 cm, la longueur "non inoculée" du bac, en 7 mois. Par contre, dans un sol certes sableux (85,6 % de sable) mais qui contient aussi des argiles (5,4 % de limon et 9,0 % d'argiles) et de la matière organique (3,5 %), la dissémination mesurée ne s'élevait plus qu'à 58,4 cm en deux ans. Il est probable que, dans cette étude, la dissémination s'est largement faite dans les plantes ; mais, pour passer d'une plante à l'autre, *R. similis* a dû se déplacer, ne serait ce que de quelques centimètres, dans le sol et les caractéristiques de ce dernier ont influencé significativement la vitesse de colonisation du milieu.

Toujours en Floride, pour lutter contre la propagation du "spreading decline", des zones tampons (bandes de terrains maintenues nues) ont été installées autour des zones contaminées. Duncan *et al.* (1990) ont montré, dans un sol contenant 92 % de sable et 6 % d'argile, que

*R. similis* était incapable de rejoindre activement une plante hôte plantée à 1,6 m du point d'inoculation, alors que les racines de ce plant s'étaient étalées à moins d'1 m du point d'inoculation. En discutant les résultats d'une étude au champ, les mêmes auteurs observent que la colonisation d'un milieu sans couvert végétal suit étroitement la colonisation par les racines des plantes hôtes initiales ; en l'absence de plante hôte, *R. similis* ne s'est pas disséminé.

### **8.6 Active, dans les racines**

Les Pratylenchidae endoparasites se déplacent entre les cellules de leurs hôtes ; après avoir ingéré le cytoplasme d'un groupe de cellules hôtes, ils peuvent avancer dans le volume ainsi libéré et s'attaquer aux cellules situées plus loin (Ferraz et Brown, 2002).

A l'échelle macroscopique, Duncan *et al.* (1990) ont montré que *R. similis* peut se déplacer à l'intérieur des racines d'agrumes (*Citrus jambhiri* Lush.) et "passer" d'un arbre hôte à l'autre lorsque deux plants ont leurs racines imbriquées. Au cours de ces expériences, la population étudiée de *R. similis* avait parcouru des distances d'environ 1,5 m en 280 jours (soit 1,96 m/an).

Ces résultats sont cohérents avec ceux d'O'Bannon et Tomerlin (1969). Ceux-ci ont étudié la propagation de *R. similis* sur un semis de *Solanum nigrum* (adventice "bon hôte" de *R. similis*) et mesuré une dissémination de 2,16 m en 44 semaines (soit 2,55 m/an).

Poucher *et al.* (1967) ont cependant indiqué que le "spreading decline" pouvait progresser de 15 m par an. Si les déplacements à l'intérieur des racines sur de longues distances, entrecoupés de déplacements dans le sol entre racines voisines sur courtes distances, constituent une voie efficace de dissémination, celle-ci n'est pas la seule ni même la plus rapide.

Prot (1980) a rédigé une revue bibliographique extensive sur les déplacements actifs de nématodes phytoparasites. Les distances mesurées par les divers auteurs oscillent entre quelques centimètres pour des études de laboratoire qui ne durent que quelques heures, à quelques mètres pour des études de plein champ durant un an. A l'échelle du bassin versant (l'échelle pertinente quand l'objectif final est la prévention des contaminations de parcelles), ce mode de contamination peut sembler négligeable. Il est néanmoins nécessaire de connaître les modalités du déplacement actif, car c'est ce dernier qui permettra au nématode transporté par les eaux de ruissellement ou par le vent d'aller d'un point d'arrivée dans le sol d'une parcelle à la racine de la plante cultivée, lui permettant ainsi de constituer un inoculum primaire.

## **9. Populations de *R. similis* dans les racines**

Les Populations de *R. similis* dans les racines varient en fonction : i) de l'état physiologique de la plante, de l'état des racines et surtout du rythme d'émission racinaire (Quénéhervé, 1989a) ; ii) du pédo-climat : température et surtout état hydrique du sol (Hugon *et al.*, 1984) ; iii) des interactions avec les autres organismes endophytes : nématodes (Quénéhervé, 1989b) et champignons (Black, 1966 ; Sikorah et Pocasangre, 2004) ; et bien sûr, iv) des populations initiales (Vilardebo, 1984).

En Martinique, les populations de nématodes tolérables dépendent du type de sol ; d’abord, parce que leurs caractéristiques physiques influent sur la capacité du système racinaire à se développer dans le sol (Delvaux et Guyot, 1989), ensuite parce que leur portance et leurs caractéristiques hydrologiques influencent le risque de verse ; enfin, parce que tous les sols ne sont pas également favorables à *R. similis*. Les seuils d’intervention pour appliquer un nématicide en bananeraie varient entre 1 000 *R. similis* pour 100 g de racines (dans le cas d’une bananeraie implantée sur un sol andique récent sur ponces, tassée par des travaux aratoires inadaptés, et non protégée des vents dominants) à 5 000 *R. similis* pour 100 g de racines dans des bananeraies plantées sur des sols bruns à halloysite (nitisols), parfaitement drainés et correctement fumés, et protégés par des brise-vents.

## 10. Population de *R. similis* dans les sols ; proportion sol / racines

Compte tenu du cycle de vie de *R. similis*, on observe des populations bien plus importantes dans les racines que dans le sol. Aux champs, les rapports entre “populations<sup>4</sup>” mesurées dans le sol et dans les racines sont généralement compris entre 1:100 et 1:500 (Sarah *et al.*, 1983 ; Fargette et Quénéhervé, 1988 ; Quénéhervé, 1989a). Les populations dans le sol paraissent ainsi très faibles (quelques dizaines d’individus par litres de sol) et sont généralement négligées ; Quénéhervé (1988) a ainsi montré que, dans des plantations infestées, *R. similis* était le seul nématode dont la prévalence n’était corrélée ni avec la granulométrie, ni avec le pH, ni avec la teneur en matière organique. C’est pourquoi peu de publications mentionnent les résultats des dénombrements de *R. similis* dans le sol, lorsque ceux-ci ont été réalisés.

Dans nos essais en laboratoire, où nous inoculons avec des populations d’environ 1 000 *R. similis* des jeunes vitro-plants cultivés en pot de 1 ou 2 litres, nous retrouvons au bout de 45 jours des populations 100 à 500 fois plus élevées dans la terre des pots. A titre d’exemple, nous avons obtenu, lors d’un essai d’efficacité d’une préparation nématicide, les résultats exposés dans le tableau 2<sup>5</sup>.

**Tableau 2** : Résultats des dénombrements de nématodes dans les sols et racines de l’essai BPE n°273 en enceinte climatique. Cet essai était destiné à évaluer l’efficacité d’un produit biologique à base de champignon nématophage (BioAct WG).

|  | 1-témoin  | 2-référence<br>Némathorin | 3-BioAct 0,5<br>g | 4- BioAct 1,0<br>g | 5- BioAct 3,0<br>g | Test F / CV |
|--|-----------|---------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| <i>R. similis</i> / kg de sol frais        | 317 a     | 0,7 c                     | 159 a             | 109 ab             | 33 b               | HS / 25,3   |
| <i>R. similis</i> / kg de racines fraîches | 193 866 a | 10 b                      | 175 352 a         | 137 623 a          | 50 326 a           | HS / 15,1   |
| Ratios populations racines/sol             | 613       | 14                        | 1 101             | 1 268              | 1 508              |             |

Cependant, Ambrose (1984) a dénombré 500 à 1500 *R. similis*/litre de sol dans des bananeraies où il avait trouvé entre 4 000 à 5 000 *R. similis* /100 g de racines fraîches de

<sup>4</sup> Par “population de nématode”, les nématologistes désignent souvent non pas la population dans sa globalité mais les concentrations observées dans le milieu. Ainsi, dans la plupart des publications, “population de nématodes”, “nématode population” désigne un nombre d’individus extraits dans un poids ou un volume donné de racines ou de sol.

<sup>5</sup> Ces résultats, obtenus dans le cadre d’un contrat d’expérimentation, n’ont pu être publiés faute d’accord de la société donneuse d’ordre.

bananier ; soit un rapport qui peut atteindre 1 pour 20 entre concentration dans le sol et concentration dans les racines.

Enfin, les racines n'occupent qu'une faible part (quelques %) du volume de sol qu'elles explorent ; ainsi, sur les parois des fosses d'observation, Delvaux et Guyot (1989) n'ont observé que 4 à 6 racines/dm<sup>2</sup> en conditions optimales, 3 au maximum dans les nitisols.

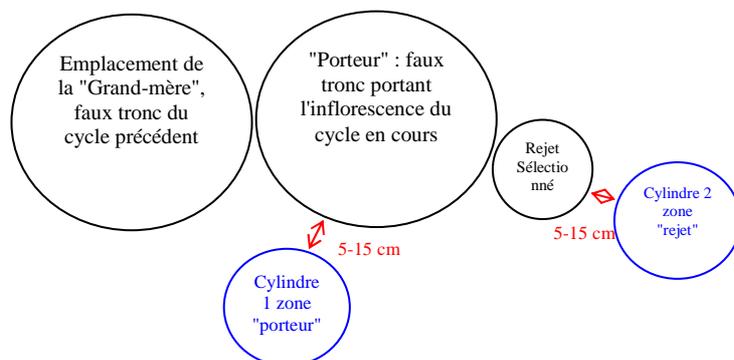
De même, Lecompte (2002) a mesuré à 1200°jours la biomasse des différents organes des bananiers ; il estimait à 136 g/pied la matière sèche de la biomasse souterraine, soit un volume de 1,24 dm<sup>3</sup>, 240 fois moins que le volume de sol exploré par la plante.

Dans un volume donné, il n'est donc pas sûr que les populations présentes dans le sol soient toujours négligeables par rapport aux populations présentes dans les racines.

### ☞ Etudes préliminaires

Nous avons ainsi réalisé une étude sur une bananeraie établie de 4 ans (parcelle "Abricot 1" de l'habitation Rivière Lézarde ; voir carte page 180). Cette parcelle a été sélectionnée au vue des populations importantes (16 600 *R. similis* pour 100 g de racine fraîche) que nous y avons détectées lors d'analyses de routine. Huit bananiers ont été sélectionnés d'après leur mauvais état apparent (pied des cycles précédents chutés, plant chétif, engorgé présentant des gaines foliaires sèches à la base) et leur stade (pied du cycle en cours au stade "floraison").

A l'aide d'emporte pièces (cylindres en acier, diamètre intérieur : 15 cm ; hauteur : 25 cm, enfoncés avec une masse et retirés à l'aide d'une bêche), nous avons prélevé deux volumes de sol au pied de chaque bananier, conformément au schéma (Figure 9). Le premier est situé dans la zone de prospection des racines du "pied porteur", le second dans la zone où sont émises les racines du rejet sélectionné pour le cycle suivant.



**Figure 9 :** Schéma de prélèvement de l'étude des populations relatives de *R. similis* dans le sol (Nitisol) et la plante.

Les cylindres ont été emballés dans des sacs plastiques et emmenés au laboratoire où nous les avons démoulés. La terre et les racines ont été soigneusement séparées et pesées.

Les racines ont été lavées au-dessus d'une colonne de tamis (de 250 µm pour le tamis haut, à 32 µm pour le tamis bas). Les nématodes présents dans la gaine de terre qui entoure les racines ont ainsi été récupérés.

Les nématodes présents dans les racines d'une part, dans les gaines de terre d'autre part, ont été extraits par centrifugation-flottation (Jenkins, 1964 modifié par Coolen et d'Herde, 1972 ; voir partie 2.3 page 45) 2 à 5 jours après prélèvement. Les populations de nématodes du sol ont été évaluées après élutriation d'un aliquote de 150 g de terre (cette méthode d'extraction, mise au point par Seinhorst, 1962, est développée partie 2.4, page 50).

**Tableau 3** : Résultats du test "Abricot 1" (comparaison des populations de *R. similis* dans le sol et les racines)  
CV : coefficient de variation. Les poids mesurés dans ce tableau sont tous des poids frais.  
Proportions : rapport entre le nombre total de *R. similis* présents dans la fraction considérée (terre, racine ou gaine de terre) et le nombre total de *R. similis* présent dans le cylindre.

| Emplacement             | Milieu         | Poids total (g/cylindre) | Comptages ( <i>R. similis</i> par échantillons) | Concentrations ( <i>R. similis</i> / 100 g de milieu) | Populations totales ( <i>R. similis</i> / cylindres) | Proportion (%) |
|-------------------------|----------------|--------------------------|---|---|--|----------------|
| Faux tronc du "porteur" | Terre          | 4 251,2                  | 28  | 19 a  | 804 +/- 534  | 8,9            |
|                         | gaine de terre | 20,4                     | 1 467   | 6 594 ab  | 1 467 +/- 792  | 16,2           |
|                         | Racine         | 37,8                     | 6 781   | 22 511 b  | 6 781 +/- 8124                                       | 74,9           |
| rejet                   | Terre          | 4 419,9                  | 39  | 25 a  | 1 129 +/- 791  | 10,1           |
|                         | gaine de terre | 13,0                     | 7 488   | 48 202 b  | 7 488 +/- 6 775                                      | 66,8           |
|                         | Racine         | 25,8                     | 2 587   | 18 654 b  | 2 587 +/- 2 825                                      | 23,1           |
| CV (%)                  |                | 142 %                    | 238 %   | 218 %   | 206 %  |                |

Compte tenu des variations très importantes observées entre les 8 répétitions, seuls les ordres de grandeur doivent être pris en compte (Tableau 3).

Si les concentrations trouvées dans les échantillons de sol sont très faibles (de l'ordre de 1 000<sup>e</sup> des concentrations observées dans les racines), le poids du sol frais représentant 90 fois celui des racines non lavées, environ 10 % de la population totale se trouve libre dans le sol (Tableau 3). De plus, les populations présentes dans les gaines de terre peuvent atteindre voire dépasser les populations présentes dans les racines.

## 11. Conclusion partielle

De nombreux travaux ont été publiés sur la dissémination et la survie des nématodes à kystes (*Heterodera spp.*, *Globodera spp.*) et à galles (*Meloidogyne spp.*). Ils sont cohérents avec les informations publiées sur les endoparasites migrateurs (*Radopholus spp.* et *Pratylenchus spp.*). Cependant, les données sur la dissémination des Pratylenchidae ont été acquises dans des conditions pédoclimatiques très différentes de celles des zones tropicales humides (Floride et côte nord pacifique des Etats-Unis et du Canada), avec des races (pour les *Radopholus*) ou des espèces (pour les *Pratylenchus*) différentes.

Néanmoins :

- à grande échelle (continent, grande région) la dissémination de *R. similis* a été assurée par l'homme
- mais à petite échelle (du mètre au bassin versant) la dissémination par les eaux paraît essentielle ; cette hypothèse forte mérite d'être vérifiée.

Bien que *R. similis* soit rencontré essentiellement dans les racines, les populations à la surface et dans le sol peuvent s'avérer importantes. Nous nous sommes donc attachés à étudier les conditions de transport par les eaux de ruissellement.

En l'état actuel des connaissances, une population de *R. similis* quittera les racines dans lesquelles elle s'est développée :

- a. lorsque des portions de racines sont nécrosées et ne peuvent plus la nourrir (Hugon et Picard, 1988). Une fraction de la population se déplacera à l'intérieur de la racine pour rejoindre des tissus aptes à la nourrir, une autre sortira dans le sol.
- b. lorsque le bananier chute. Les racines primaires et la majeure partie du bulbe sont alors à l'air libre ; ils vont alors se dessécher (majorité des racines) ou pourrir, devenant un milieu impropre au développement de *R. similis*. Les chutes se produisent généralement lors des coups de vents (souvent accompagnés d'averses, les "grains") et des grosses pluies ("ondes tropicales"). A ces occasions, il est probable que des populations de *R. similis* soient à la surface des racines ou du sol et puissent être soumises soit à entraînement direct par les eaux de ruissellement, soit indirectement avec les tronçons de racines et particules de sol emportées par érosion.

De plus, pour que la dissémination soit efficace, il faut

- a. que les individus puissent se déplacer dans le milieu ; il nous faut donc vérifier que les sols aient les caractéristiques physiques propres à permettre un déplacement des nématodes
- b. que les individus disséminés atteignent leur but en bon état. L'étude de la dissémination doit s'accompagner de l'acquisition de connaissances sur les conditions de survie des nématodes dans le sol et dans les eaux.

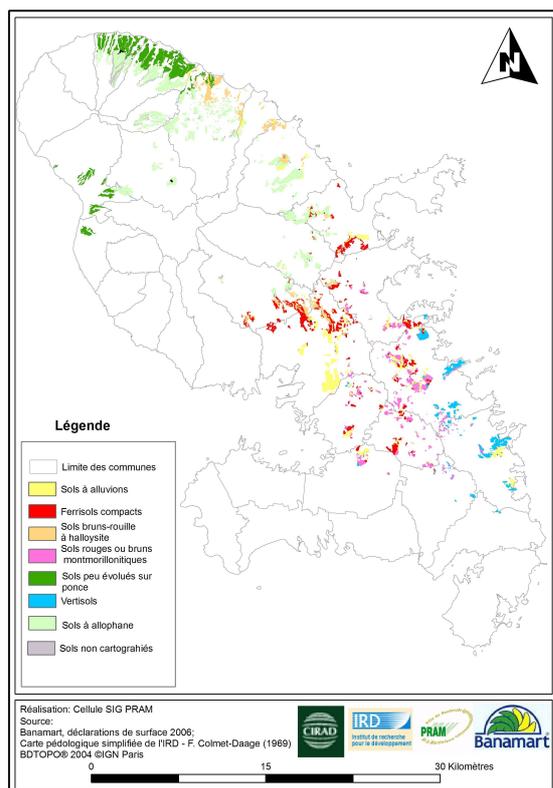
Tels sont les deux points que nous développerons respectivement dans la troisième et quatrième partie. Mais avant cela, nous allons évaluer les méthodes d'extraction utilisables pour ces études.

## Partie 2 : contexte pédologique, méthodes d'extraction de *R. similis*

### 1. Contexte pédologique

#### 1.1 Choix des type de sol

En Martinique, comme sur la Basse terre de Guadeloupe, les bananeraies sont installées essentiellement sur andosols, sols bruns andiques et nitisols (Figure 10).



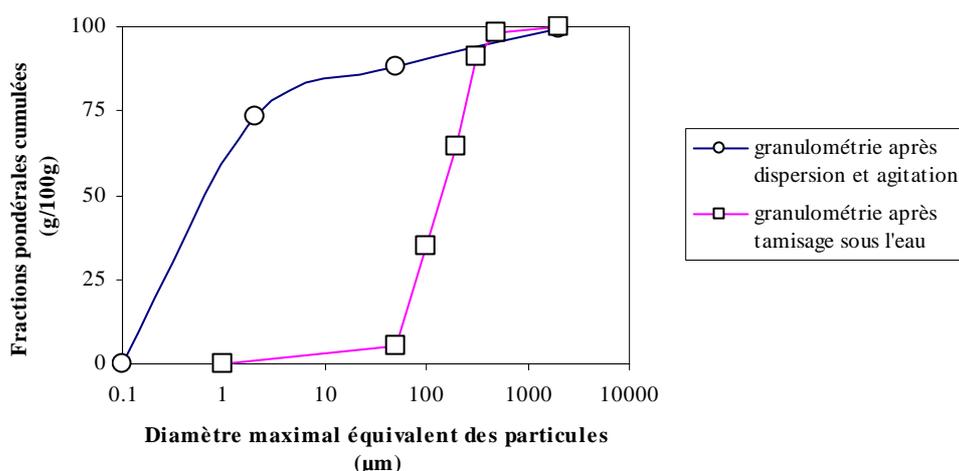
**Figure 10** : Répartition des parcelles en Martinique selon le type de sol. Cette carte a été obtenue en superposant les parcellaires déclarés par les groupements de producteurs de bananes en 2005 et la carte des sols de Colmet-Daage *et al.* (1969)

Les nitisols (sols brun-rouille à halloysite) et les ferrisols compacts représentent ainsi environ 21,8 % de la sole bananière, auxquels il faut ajouter les sols à alluvions (près de 14,8 % de la sole bananière) dérivés de ces mêmes sols. Les andosols et les sols peu évolués sur ponces (dont les horizons de surface contiennent aussi des allophanes) représentent eux respectivement 29,7 et 17,5 % de la sole bananière. Les vertisols ne couvrent que 5,5 % de la sole bananière.

Une étude portant à la fois sur nitisols et sur andosols peut ainsi être considérée comme représentative de l'essentiel de la bananeraie martiniquaise.

#### 1.2 Granulométries

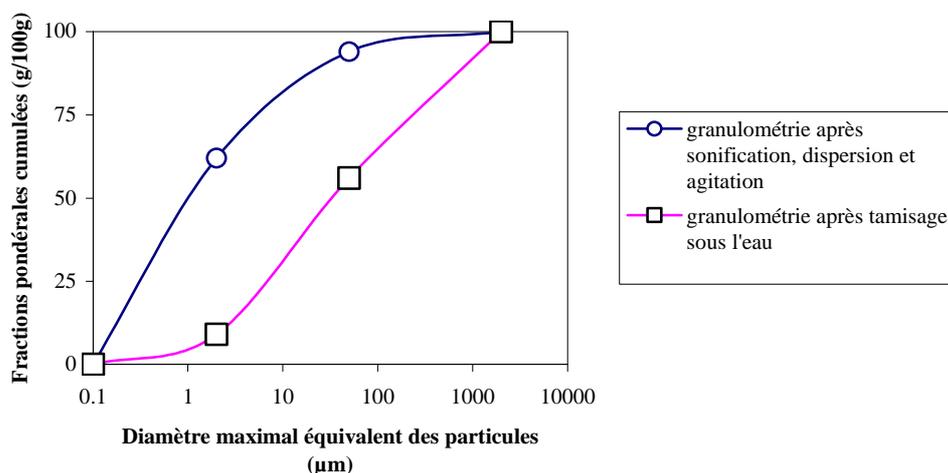
- 1.2.1 Cas d'un nitisol : parcelle Ponterre,  
(Domaine CIRAD de Rivière Lézarde, Martinique).



**Figure 11** : Granulométries cumulées de la terre fine d'un nitisol, obtenues avec (cercles) ou sans (carrés) sonification + dispersion à l'hexamétaphosphate de sodium. (sol de la parcelle Ponterre Haut, Domaine CIRAD de Rivière Lézarde)

Le diamètre médian obtenu avec dispersion + agitation est de 0.6 μm. Il exprime bien la richesse en halloysites du sol, dérivant de cendres volcaniques dont tous les minéraux étaient altérables. Par simple tamisage sous l'eau, on obtient un diamètre de médian de 130 μm, qui correspond à la texture pseudo-sableuse du sol : en effet, les argiles sont ici agglomérées en micro-agrégats par les oxyhydroxydes de fer. Ces micro-agrégats sont responsables de la friabilité de ces sols.

### 1.2.2 Cas d'un andosol : parcelle Espérance Haut (domaine CIRAD de Neufchâteau, Guadeloupe)



**Figure 12** : Granulométries cumulées de la terre fine d'un andosol, obtenues avec (cercles) ou sans (carrés) sonification + dispersion à l'hexamétaphosphate de sodium (source : Dorel *et al.*, 2000 et Heuzé, 2005).

Le diamètre médian obtenu après dispersion et agitation est ici de 1 μm. Il exprime ici la richesse en allophanes, petites particules issues de l'altération des cendres volcaniques. Ces allophanes sont elles aussi agglomérées en micro-agrégats par les oxyhydroxydes de fer. Par simple tamisage sous l'eau, on obtient un diamètre médian de 27 μm, qui correspond à la texture pseudo-limoneuse du sol.

Ces sols, dérivés de matériaux volcaniques (cendres ou ponces basaltiques à andésitiques), développent ainsi des structures particulières : ils sont essentiellement constitués d'argiles, mais ces argiles forment des pseudo-limons et des pseudo-sables (figure 12). La porosité naturelle de ces sols n'est donc pas reliée à la granulométrie mesurée par les méthodes classiques. Or c'est dans cette porosité naturelle qu'évoluent les nématodes.

### 1.3 Porosité naturelle

La porosité naturelle peut être déduite des mesures classiquement utilisées pour évaluer l'état hydrique des sols. En effet, selon la loi de Jurin, la force de succion capillaire est reliée au diamètre des pores par la formule :

$$F = h \cdot \rho \cdot g = 2 \cdot \gamma / r \cdot \cos \alpha$$

où "h" désigne l'ascension de l'eau dans un capillaire de rayon "r", et "ρ", "g", "γ" et "α" respectivement la masse volumique de l'eau, l'accélération de la pesanteur, la tension superficielle de l'eau et l'angle de raccordement du ménisque. On en déduit que :

$$F = K / r$$

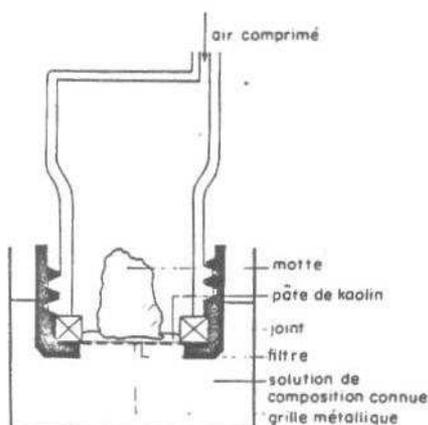
avec  $K = 1,47$  à  $20^\circ\text{C}$

$$\text{et que } h = 2 \cdot \gamma / \rho \cdot g \cdot \cos \alpha / r = K' / r^6$$

avec  $K' = 0,15$  à  $20^\circ\text{C}$

A un potentiel matriciel donné correspondra ainsi un diamètre poral susceptible de se vider ou de se remplir préférentiellement.

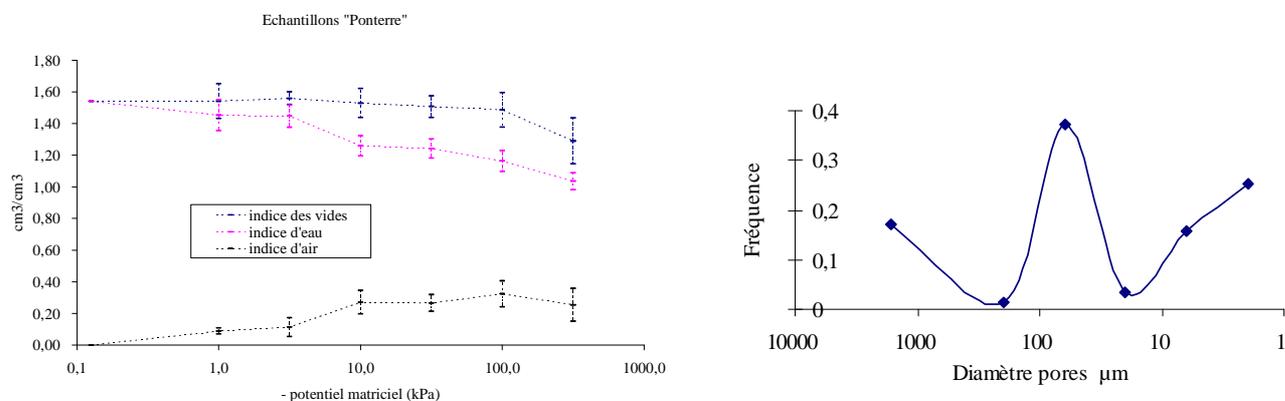
Ce principe est utilisé pour appliquer le potentiel matriciel par pression pneumatique dans un dispositif d'ultrafiltration de Tessier (2004). Dans une chambre à pression, un aliquote humide du sol étudié est déposé sur une fine couche de kaolin, reliée à un béccher contenant de l'eau permutée (Figure 13). Une pression P est appliquée dans la chambre ; les pores de diamètres égaux (et supérieurs) au diamètre correspondants  $r = K/P$  se vident. Au bout d'une semaine, le système est à l'équilibre. L'échantillon est alors pesé puis trempé dans du pétrole ; la poussée d'Archimède exercée est mesurée avec une balance. Connaissant la densité du pétrole ( $d = 0,78$ ), on en déduit le volume occupé par les pores de diamètres supérieurs ou égaux à r. Enfin, après 3 jours d'étuve à  $105^\circ\text{C}$ , l'échantillon sec est pesé pour calculer l'humidité pondérale qu'il avait à la sortie du dispositif d'ultrafiltration.



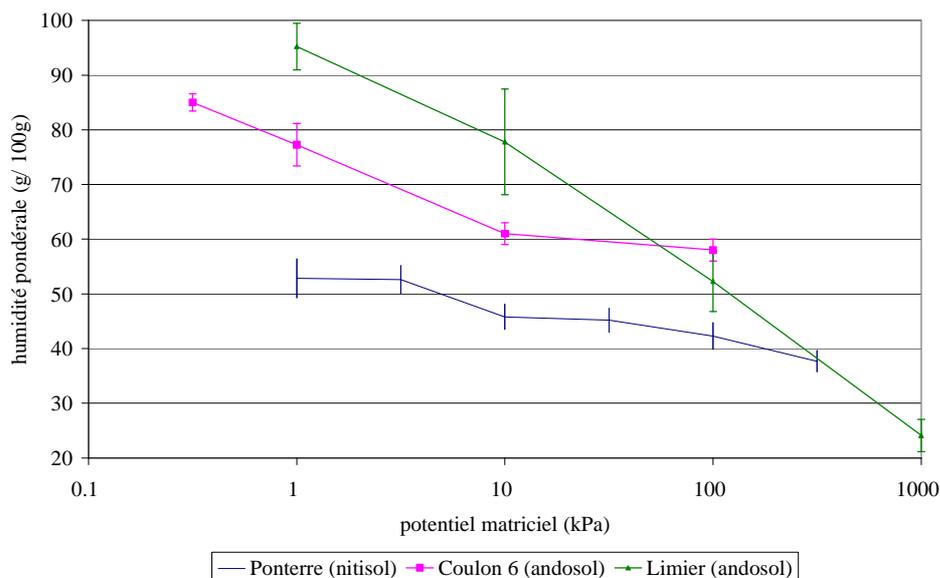
**Figure 13** : Dispositif d'ultrafiltration pour la fixation du potentiel de l'eau par pression pneumatique (d'après Teissier, 1984)

<sup>6</sup> Cette hauteur h permet de finir le pF :  $pF = \log_{10}(h)$  h étant exprimé en cm d'eau

En réalisant cette mesure à différentes pressions, on peut déduire les volumes occupés par les différentes classes de pores (Figure 14) et établir des abaques permettant de relier les humidités pondérales aux potentiels hydriques (Figure 15).



**Figure 14** : Indices volumiques en fonction des potentiels matriciels (à gauche) et fréquence des diamètres poraux (à droite) obtenues après ultrafiltration sous pression pneumatique contrôlée avec le nitisol de Rivière Lézarde.



**Figure 15** : Abaque reliant le potentiel matriciel (en kPa) et l'humidité pondérale. Cas du nitisol de Rivière Lézarde (en bleu) et de deux sols à allophanes (parcelle Coulon 6 du Gros Morne en cyan et "Limier" à Ajoupa-Bouillon en vert)

A l'issue de ces mesures, il apparaît que le sol brun-rouille comprend une majorité de pores compris entre 30 et 300 μm de diamètre (Figure 14), avec un pic aux environs de 80 μm ; soit 3 à 4 fois le diamètre des femelles adultes de *R. similis* ou 6 à 8 fois le diamètre des jeunes larves. D'après les travaux publiés (voir page 14) et particulièrement ceux de Wallace (1958a et 1963), tous les stades de *R. similis* peuvent efficacement circuler dans de tels pores.

De même, dans les andosols, les pores de 30 à 300 μm sont très nombreux. La structure de ces sols permet donc à des nématodes de la taille de *R. similis* de s'y déplacer activement ou passivement.

## 2. Méthodes d'extraction de *R. similis*

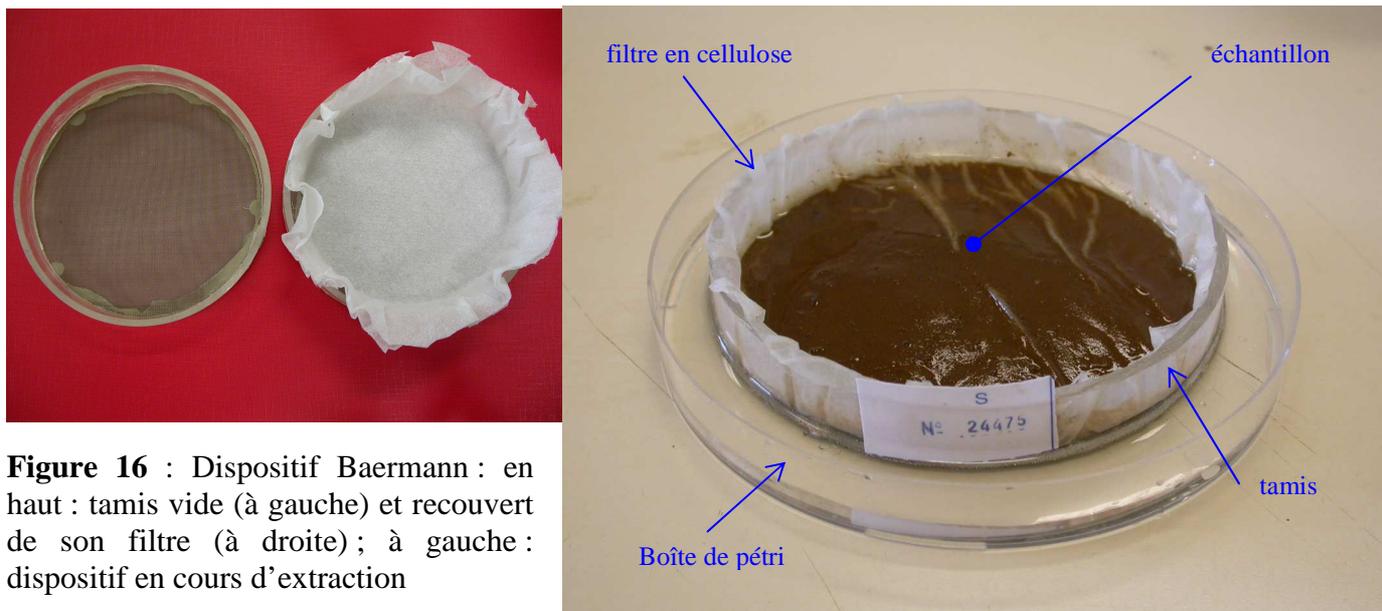
Dans le cadre de la démarche "Qualité, Sécurité Environnement", des modes opératoires détaillés ont été rédigés pour trois des quatre méthodes utilisées (élutriation, centrifugation – flottaison, aspersion). Nous les avons joints en annexes, et nous nous limiterons ici à exposer le principe, les aménagements réalisés et les limites des différentes techniques mises en œuvre.

### 2.1 Des sols : par Baermann modifié

#### 2.1.1 Principe – mode opératoire

Cette technique d'extraction est basée sur la méthode décrite par Whitehead et Hemming (1965). Nos "Baermann" sont constitués :

- d'un fond de boîte de Petri Ø = 135 mm
- d'un tamis (tronçon de tuyau PVC sur lequel est tendue une toile moustiquaire) Ø = 105 mm munis d'un socle de 3 mm
- d'un filtre en cellulose découpé dans un mouchoir en papier (type "kleenex®" double épaisseur) qui est déposé dans le tamis (Figure 16)



L'échantillon (ou la préparation) contenant les nématodes à extraire est versé délicatement sur le filtre. L'ensemble est déposé sur le fond d'une boîte de Pétri préalablement remplie d'eau (l'eau doit effleurer la base du filtre). Ce dispositif est mis à incuber à la température du laboratoire (25 – 26 °C). Les nématodes actifs vont traverser le filtre en papier puis tomber dans l'eau sur le fond de la boîte de Pétri.

Au bout de 2 jours, le filtre en cellulose et son contenu sont jetés ; la suspension est transvasée dans un tube à décantier. Deux heures après, le surnageant (eau en excès) est pompé avec une trompe à vide. Le fond du tube est versé sur une plaque de comptage de 5 mL et les nématodes sont identifiés et dénombrés avec un microscope optique à fond inversé.

## 2.1.2 Qualité des extractions obtenues

Les suspensions obtenues contiennent généralement très peu d'impuretés. Les rares cas de suspensions "sales" correspondent à des filtres défectueux (troués ...). Dans ce cas, il est à craindre que des nématodes aient été perdus lors du dépôt de l'échantillon ; les résultats risquant de souffrir d'un biais, nous préférons refaire l'extraction lorsque cela est possible. Les déterminations et comptages des suspensions concentrées obtenues ne posent pas de problèmes.

Les nématodes extraits devant traverser le filtre, ils étaient nécessairement vivants lors du dépôt de la préparation et actifs dans les 24 h suivantes. Ils sont en excellent état.

## 2.1.3 Efficacité des extractions de *R. similis* à partir du sol

Avec un mode opératoire associant un tamisage à 32 µm et un dispositif type Baermann, Mc Sorley et Frederick (1991) ont pu récupérer entre 60 % (pour les jeunes juvéniles) et 72 % (pour les femelles adultes) des populations de *Belonolaimus longicaudatus* qu'ils avaient ajoutés à des échantillons de sol ; les rendements étaient nettement supérieurs à ceux obtenus par centrifugation-flottaison (45%). De même, Vigliercho et Schmitt (1983) avaient extraits à partir des mêmes échantillons 1,8 fois plus de *Pratylenchus vulnus* et 1,9 fois plus de *Meloidogyne incognita* avec des Baermann que par centrifugation-flottaison. Avec un procédé similaire, Rodríguez-Kábana et Pope (1981) obtenaient des rendements à l'extraction compris entre 82 % pour *Helicotylenchus dihystrae* et 99 % pour *Meloidogyne arenaria*. Avec les *Meloidogyne* et les *Pratylenchus*, les rendements étaient nettement plus élevés qu'avec des extractions par centrifugation-flottaison, alors qu'avec *Helicotylenchus* et *Hoplolaimus*, les rendements étaient plus faibles. Il paraît ainsi nécessaire d'adapter la méthode d'extraction à l'espèce de nématode considérée.

Pour évaluer les rendements à l'extraction de *R. similis* par élutriation, nous avons apporté des suspensions de nématodes calibrées dans des Baermann, soit seules, soit dans des échantillons de sol. De plus, au début de nos études pour évaluer la survie de *R. similis* dans les sols, nous avons déposé des suspensions calibrées de *R. similis* sur des échantillons de sol et extrait, après un délai de 24 h, les nématodes par tamisage et passage en Baermann. Nous avons ainsi obtenu les résultats exposés dans le Tableau 4. Ces rendements sont nettement inférieurs à ceux obtenus par McSorley et Frederick (1991), Rodríguez-Kábana et Pope (1981) ou par Robinson et Heald (1989) avec d'autres espèces de nématodes.

**Tableau 4** : Taux de récupération de *R. similis* après Baermann modifiés (en % des populations apportées).

Total : somme des femelles, mâles et juvéniles ;

- : mâles, femelles et juvéniles non discriminés lors de l'essai considéré.

| Injection de <i>R. similis</i> dans : | Essai                 | Femelle | Mâle    | Juvéniles | Total   |
|---------------------------------------|-----------------------|---------|---------|-----------|---------|
| L'eau                                 | Calibrage élutriation | 59 ± 12 | 43 ± 21 | 58 ± 19   | 57 ± 12 |
| L'extrait de sol                      | Survie 1 nitisol      | -       | -       | -         | 38      |
|                                       | survie 1 andosol      | -       | -       | -         | 46      |
|                                       | Survie 2 nitisols     | 53 ± 10 | 31 ± 6  | 18 ± 4    | 35 ± 6  |
|                                       | survie 2 andosol      | 56 ± 10 | 31      | 40        | 43      |
|                                       | Calibrage élutriation | 44 ± 12 | 32 ± 19 | 19 ± 8    | 35 ± 10 |

**Tableau 5** : Pertes en *R. similis* lors d'extractions par Baermann modifiées (en %).

Total : somme des femelles, mâles et juvéniles ;

- : mâles, femelles et juvéniles non discriminés lors de l'essai considéré.

Mobiles :  $100 \times (1 - \text{nombre d'individus mobiles dénombrés après extraction} / \text{nombre d'individus mobiles apportés})$  ; Immobiles : même mode de calcul en considérant les effectifs d'immobiles avant et après extraction.

| Milieu | Essai                 | Femelle | Mâle | Juvéniles | Total | Mobiles | Immobiles |
|--------|-----------------------|---------|------|-----------|-------|---------|-----------|
| Eau    | Calibrage élutriation | 41      | 57   | 42        | 43    | 14      | 65        |
| Sol    | Calibrage élutriation | 56      | 68   | 81        | 65    | 38      | 91        |
|        | Survie 1 nitisol      | -       | -    | -         | 62    |         |           |
|        | survie 1 andosol      | -       | -    | -         | 54    |         |           |
|        | Survie 2 nitisol      | 47      | 69   | 82        | 65    |         |           |
|        | survie 2 andosol      | 44      | 69   | 60        | 57    |         |           |

Pour améliorer ces rendements, nous avons cherché à améliorer la motilité des *R. similis* dans les Baermanns ; d'une part, les conditions de température du laboratoire (23 à 25 °C) sont inférieures à l'optimum thermique de cette espèce, compris entre 27 et 33 °C (Fallas et Sarah, 1995). De plus, la température peut être le facteur clef pour l'extraction par Baermann (Kerr et Vythilingam, 1966). D'autre part, pour augmenter l'activité et la motilité des nématodes, certaines substances comme l'eau oxygénée peuvent être utilisées (Gowen et Edmunds, 1973). Nous avons ainsi mis en Baermann 30 aliquotes d'une suspension de *R. similis* pendant 24 h dans 3 milieux différents (eau du robinet, eau oxygénée à 0,05 et 0,1 % g/g) et dans des locaux maintenus à deux températures différentes. L'essai a été mené avec 5 répétitions.

**Tableau 6** : Essais pour diminuer les pertes en *R. similis* lors des différentes étapes de la méthode d'extraction par Baermann modifié. Les populations déposées dans les Baermanns sont exprimées en individus / Baermann. Les populations récupérées en % des populations déposées. Les lettres correspondent aux groupes homogènes (test de Duncan avec un risque  $\alpha$  de 5 %)

| Température Milieu   |   | Femelles  | Mâles      | Juvéniles | Total     |
|----------------------|---|-----------|------------|-----------|-----------|
| Population déposée   |   | 497       | 79         | 405       | 981       |
| population récupérée | 23 - 24 °C<br>Eau                                   | 50 ± 3 d  | 44 ± 17 ab | 47 ± 16   | 48 ± 7 b  |
|                      | 27 - 29 °C<br>Eau                                   | 40 ± 8 c  | 73 ± 13 c  | 50 ± 16   | 47 ± 10 b |
|                      | 23 - 24 °C<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 0,5 g/l | 37 ± 6 bc | 71 ± 19 c  | 46 ± 5    | 43 ± 3 b  |
|                      | 27 - 29 °C<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 0,5 g/l | 34 ± 6 bc | 49 ± 10 bc | 50 ± 21   | 42 ± 7 b  |
|                      | 23 - 24 °C<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 1,0 g/l | 30 ± 1 bc | 54 ± 18 bc | 44 ± 13   | 38 ± 6 b  |
|                      | 27 - 29 °C<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 1,0 g/l | 19 ± 7 a  | 24 ± 12 a  | 31 ± 13   | 25 ± 6 a  |
|                      | Moyenne   | 35 HS     | 53 HS      | 45 NS     | 40 HS     |

Globalement, la température a peu influé sur les rendements à l'extraction. Robinson et Heald (1989) avaient déjà noté que le comportement des nématodes (thermotropisme) observé dans des Baermann et dans des échantillons de sol n'étaient pas les mêmes avec *Rotylenchulus reniformis*. De plus, l'optimum thermique pour la multiplication d'une population, sa survie et ses déplacements ne sont pas nécessairement identiques. La température du laboratoire, constante à 1 °C près, se prêtait un peu mieux à l'extraction des femelles. Nos extractions Baermann ultérieures ont ainsi été réalisées dans ces conditions.

L'eau oxygénée, pourtant utilisée à la dose adéquate pour extraire les nématodes (voir page 52), comme à ½ dose, n'a pas permis d'extraire plus efficacement *R. similis*. Par la suite, sauf mention contraire, nos extractions en Baermann ont été réalisées dans de l'eau à la température du laboratoire (entre 23 et 25°C).

#### 2.1.4 Intérêt de la méthode

La méthode se prête ainsi bien à la recherche de nématodes vivants et présents même en faible concentration dans le sol. Facile à mettre en œuvre, elle serait, selon ses concepteurs, plus efficace pour extraire les nématodes de petite taille que les méthodes de centrifugation-flottaison (Whitehead et Hemming, 1965). D'ailleurs, Rodriguez-Kábana et Pope (1981) ont montré que l'efficacité des extractions par ce type de méthode diminue sensiblement lorsque les volumes des échantillons augmentent.

Elle présente en outre l'avantage d'être peu exigeante en main d'œuvre pour l'extraction et de fournir des suspensions comprenant peu d'impuretés et des nématodes en très bon état, aisés à déterminer comme à compter.

## 2.2 Des sols : par élutriation

Cette méthode a été conçue par Seinhorst (1956 et 1962) pour extraire les nématodes dans le sol en utilisant successivement un élutriateur de Seinhorst (1956) qui sépare les particules en fonction de leur densité, une colonne de tamis et un dispositif de filtration Baermann.

#### 2.2.1 Principe – mode opératoire

L'élutriateur de Seinhorst est une colonne en verre dans laquelle un courant d'eau ascendant permet de trier les particules en suspension. En effet, selon la loi de Stokes, la vitesse de sédimentation  $v$  est proportionnelle à la masse volumique  $\rho$  et au carré du rayon  $r$  des particules :

$$v = 2 g r^2 (\rho - \sigma) / 9 \eta$$

(“ $\sigma$ ” et “ $\eta$ ” désigne la densité et la viscosité du fluide, ici de l'eau) ; si la vitesse de sédimentation est inférieure à la vitesse d'écoulement de l'eau, la particule surnage.

Dans un élutriateur de Seinhorst, la vitesse d'écoulement de l'eau est réglée pour que les nématodes surnagent ou restent en suspension ; ils sont ainsi séparés des particules plus denses qu'eux, en particulier des sables et agrégats de sols.

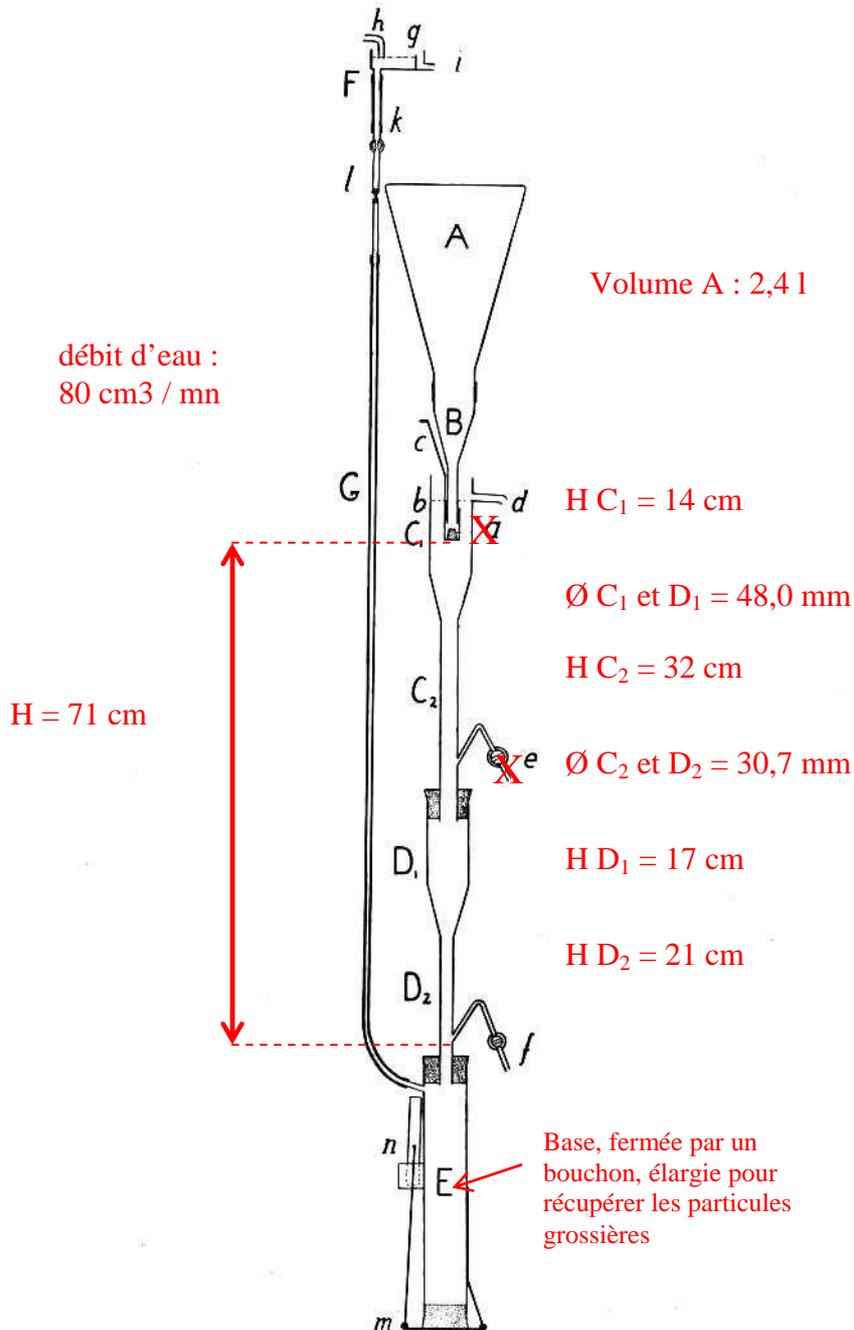


Fig. 4. Apparatus 2 for separating eelworms from soil. Scale 1:10. (A) erlenmeyer flask; (B) funnel with (a) stopper, (b) guiding ring and (c) handle to move guiding ring and stopper; (C<sub>1</sub>) and (D<sub>1</sub>) funnels with (C<sub>2</sub>) and (D<sub>2</sub>) cylindrical tubes and (d) outlet for water flowing through apparatus during separation process; (e), (f) glass cocks or pinch cocks on rubber tubes; (E) container for collecting coarse particles, (n) handle to move stopper (m); (F) apparatus to provide constant current of water. Rubber tube (k) here provided with glass cock. See fig. 2 for further explanation; (G) tube to conduct water into apparatus.

**Figure 17** : Elutriateur de Seinhorst (1956) ; en noir : schéma tiré de la publication d'origine ; en rouge : nos aménagements au laboratoire de Nématologie Tropicale, PRAM Martinique. Ø : diamètre intérieur ; H : hauteur ; croix rouges : le bouchon (a) et la sortie (e) ont été supprimés

L'échantillon de sol est d'abord mis en suspension dans de l'eau, puis versé dans un erlenmeyer de 2,4 L d'eau, et enfin, placé au sommet de l'élutriateur. Les particules descendent, flottent ou sont mises en suspension dans la colonne. L'eau en excès qui s'écoule par le trop-plein (sortie "d" sur la Figure 17) est récupérée dans un seau : elle est susceptible de contenir des nématodes en suspension. Le contenu de l'erlenmeyer est versé au bout de 20 mn dans le seau ; au bout de 30 mn, le robinet "f" est ouvert pour que le contenu de la colonne s'écoule dans le seau. Les particules de sable qui ont sédimenté au bas de l'appareil sont alors éliminées.

Le contenu du seau est ensuite tamisé à travers une colonne de 4 tamis de 50 µm. Les refus sont récupérés et transférés dans un dispositif Baermann modifié (voir méthode ci-dessus).

Au bout de 2 jours, l'eau contenue dans la boîte de Pétri est transférée dans un tube à décanter. Après 2 heures de décantation, le surnageant (eau en excès) est éliminé. Le fond du tube est versé sur une plaque de comptage de 5 mL pour identification et dénombrement des nématodes avec un microscope inversé.



**Photo 5 :** Batterie d'élutriateurs de Seinhorst

### 2.2.2 Qualité des extractions obtenues



**Photo 6 :** Femelle de *R. similis* (en bas) et de *Rotylenchulus reniformis* (en haut à gauche) dans le culot obtenu par élutriation dans un échantillon de sol (essai Cylindre de sol, décrit p. 101 (Grossissement : x100)

La méthode se terminant par l'utilisation d'un dispositif type Baermann, les suspensions obtenues contiennent très peu d'impuretés et les nématodes extraits sont en très bon état (photo 6). Les identifications et dénombrement ne posent ainsi pas de problème particulier, même lorsque la suspension obtenue contient de nombreux nématodes.

### 2.2.3 Efficacité des extractions de *R. similis* à partir du sol

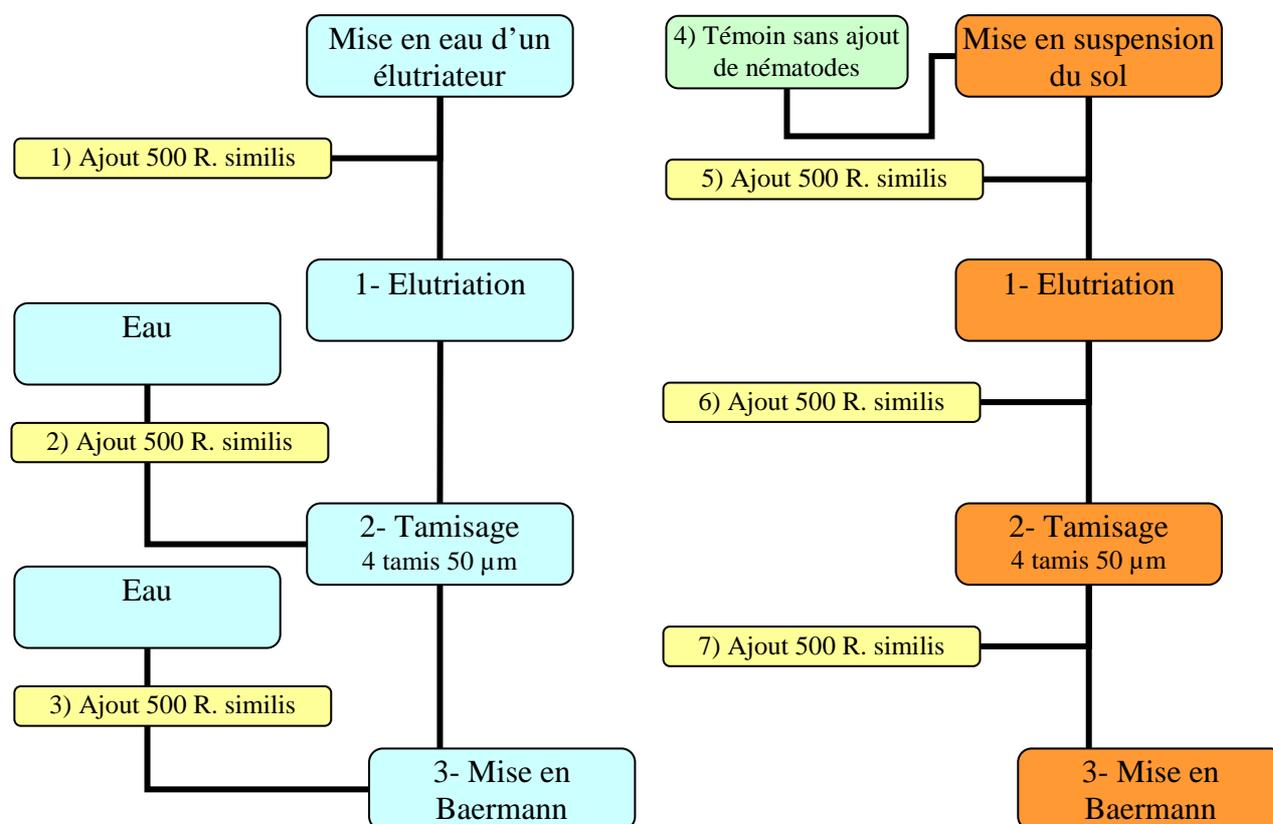
Pour évaluer les rendements à l'extraction et identifier les phases critiques, nous avons préparé des échantillons de 98 cm<sup>3</sup> (124,6 ± 10,9 g) de nitisols indemnes de *R. similis*. Ces échantillons avaient été prélevés entre 5 et 10 cm de profondeur dans un verger de limettier (parcelle "Pomme") du domaine CIRAD de Rivière Lézarde (carte en annexe 3 page 180) ; le sol n'avait pas été travaillé depuis 2000. Ces échantillons ont été saturés en humidité 24 h avant l'essai.

Nous avons d'autre part préparé une suspension de 36 000 *R. similis* dans 288 cm<sup>3</sup>. Après 7 jours en chambre à brouillard (voir page 50), les nématodes avaient été extraits de racines de bananiers prélevées sur la parcelle "Pavé 1" du domaine CIRAD de Rivière Lézarde.

Pour tester les différentes phases de la méthode, nous avons :

1. déposé un aliquote d'environ 4 mL (soit 500 *R. similis*) de suspension en haut d'un élutriateur rempli d'eau, puis avons poursuivi le processus selon le protocole normalisé
2. déposé un 2<sup>nd</sup> aliquote en haut de la colonne de tamis
3. déposé un 3<sup>ème</sup> aliquote dans un Baermann

En parallèle, nous avons extrait les nématodes des échantillons de sol selon le mode opératoire normalisé, mais en ajoutant soit rien (témoin, traitement 4) soit un aliquote de 500 *R. similis* en haut de l'élutriateur (traitement 5), soit en haut de la colonne de tamis (6), soit dans un Baermann (7).



**Figure 18** : Calibrage de la méthode d'extraction de *R. similis* dans le sol par élutriation : ajout de la suspension de nématodes entre les différentes étapes du processus (en bleu pour l'extraction dans l'eau, en orange pour le sol)

L'essai a été réalisé avec 2 x 6 répétitions.

Après dénombrement au culot, nous avons calculé le taux de récupération :

$$t = \text{population observée} / \text{population apportée} \times 100$$

Nous avons ainsi obtenu :

**Tableau 7** : Taux de récupération, en fonction du sexe, de *R. similis* après élutriation (en % des populations apportées).

Total : taux de récupération calculé sur tous les *R. similis* observés (femelles, mâles ou juvéniles)

| Injection de <i>R. similis</i> dans : | avant étape    | Femelles | Mâles   | Juvéniles | Total   |
|---------------------------------------|----------------|----------|---------|-----------|---------|
| L'eau                                 | 1- Elutriation | 39 ± 12  | 25 ± 12 | 24 ± 11   | 33 ± 9  |
|                                       | 2- Tamisage    | 40 ± 13  | 28 ± 17 | 23 ± 09   | 33 ± 11 |
|                                       | 3- Baermann    | 59 ± 12  | 43 ± 21 | 58 ± 19   | 57 ± 13 |
| L'extrait de sol                      | 1- Elutriation | 41 ± 6   | 31 ± 11 | 17 ± 8    | 33 ± 5  |
|                                       | 2- Tamisage    | 42 ± 10  | 33 ± 19 | 20 ± 8    | 34 ± 7  |
|                                       | 3- Baermann    | 44 ± 12  | 32 ± 19 | 19 ± 8    | 35 ± 9  |

**Tableau 8** : Taux de récupération, en fonction de l'activité, de *R. similis* après élutriation (en % des populations apportées).

| Injection de <i>R. similis</i> dans : | avant étape    | Mobiles | Immobiles |
|---------------------------------------|----------------|---------|-----------|
| L'eau                                 | 1- Elutriation | 51 ± 17 | 20 ± 9    |
|                                       | 2- Tamisage    | 59 ± 27 | 15 ± 6    |
|                                       | 3- Baermann    | 86 ± 26 | 35 ± 17   |
| L'extrait de sol                      | 1- Elutriation | 58 ± 15 | 11 ± 4    |
|                                       | 2- Tamisage    | 60 ± 20 | 12 ± 5    |
|                                       | 3- Baermann    | 62 ± 23 | 9 ± 4     |

La perte liée à l'étape n est calculée selon la formule :

$$\text{Perte étape } n = (t_{n+1} - t_n) / t_{n+1}$$

(lorsque  $t_{n+1} \geq t_n$  ; 0 sinon)

Ce qui donne en moyenne (Tableau 9) :

**Tableau 9** : Pertes en *R. similis* lors des différentes étapes de la méthode d'extraction par élutriation (en % des populations apportées).

| Milieu | Pertes                       | Femelles | Mâles | Juvéniles | Total | Mobiles | Immobiles |
|--------|------------------------------|----------|-------|-----------|-------|---------|-----------|
| eau    | 1- lors élutriation          | 2,1      | 9,1   | 0         | 0,9   | 13,6    | 0         |
|        | 2- lors tamisage sur colonne | 33,1     | 36,7  | 60,0      | 42,5  | 31,9    | 56,4      |
|        | 3- lors Baermann             | 40,9     | 56,6  | 42,0      | 42,6  | 13,7    | 65,2      |
| sol    | 1- lors élutriation          | 2,6      | 6,9   | 15,8      | 1,6   | 2,3     | 6,4       |
|        | 2- lors tamisage sur colonne | 5,0      | 0     | 0         | 3,1   | 3,5     | 0         |
|        | 3- lors Baermann             | 56,1     | 68,4  | 80,7      | 65,0  | 38,1    | 90,7      |

Lorsque nous avons versé la suspension de nématodes dans l'eau, après 30 mn d'élutriation, nous avons récupéré les bases des élutriateurs ; après 2h de décantation et élimination de l'eau en excès en surface, nous avons dénombré les nématodes présents. Nous avons ainsi retrouvé (Tableau 10).

**Tableau 10** : Pertes de *R. similis* lors de l'élutriation : populations retrouvées à la base de l'élutriateur, dans l'ampoule de récupération des particules grossières.

|  | Femelles | Mâles | Juvéniles | Total | Mobiles | Immobiles |
|--|----------|-------|-----------|-------|---------|-----------|
| Nombre (cumul des nématodes observés sur 12 comptages) | 15       | 0     | 3         | 18    | 15      | 3         |
| En % des <i>R. similis</i> apportés                    | 0,37     | 0     | 0,17      | 0,30  | 0,34    | 0,13      |

Pour les adultes, les pertes lors des phases d'élutriation proprement dite sont faibles ; il n'y a donc pas lieu de modifier les réglages des appareils. De même, lors du tamisage des échantillons qui mêlaient sols et nématodes, les pertes ont été étonnement restreintes. Nous pensions en effet que cette phase occasionnerait plus de pertes, vue les difficultés rencontrées lors de la mise au point de ce type de méthode (Seinhorst, 1962 ; McSorley et Parrado, 1981 ; Verschor et De Goede, 2000).

En revanche, lors du tamisage des suspensions dans l'eau (échantillons "propres"), nous avons perdu près du tiers des adultes et surtout près des 2/3 des juvéniles. Ces derniers, plus petits, ont une probabilité plus forte de ne pas être retenus par les tamis de 32 à 80 µm que les adultes. Pour ce type d'échantillon, il est nécessaire d'améliorer le taux de nématodes extraits. Pour cela, nous avons ajouté en bas de colonne un tamis de 25 µm.

A 5 reprises, nous avons ainsi tamisé une suspension de *R. similis* obtenue par aspersion (voir partie 2.4, page 50). Nous avons préparé deux suspensions, la 1<sup>ère</sup> à partir des refus des tamis de 80 à 32 µm, la 2<sup>nde</sup> à partir des refus du tamis de 25 µm. Nous avons obtenu les résultats suivants (Tableau 11) :

**Tableau 11** : Intérêt de l'ajout d'un tamis de 25 µm aux colonnes de tamisage pour extraire *R. similis*.  
A : Individus récupérés dans les tamis de 80, 50 et 32 µm ; B : Individus récupérés dans le tamis de 25 µm ;  
B / A : proportion de nématodes supplémentaires. Tableau établi à partir de 5 extractions différentes.

|           | A : dans les tamis de 80 à<br>32 µm | B : dans le tamis de 25<br>µm | B / A : nématodes<br>supplémentaires |
|-----------|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| Femelles  | 1 012                               | 9 300                         | 0,11 ± 0,03                          |
| Mâles     | 352                                 | 1 600                         | 0,22 ± 0,12                          |
| Juvéniles | 628                                 | 1 450                         | 0,43 ± 0,32                          |

L'inconvénient de ce tamis est qu'il se colmate rapidement lorsque les échantillons contiennent de la terre ou de nombreux débris. On risque alors de perdre des nématodes par les eaux qui s'écoulent entre les tamis, et ce, de façon très aléatoire. Vu les résultats présentés sur les tableaux 8 et 9, nous n'avons utilisé par la suite ce tamis supplémentaire que pour les échantillons d'eaux "claires", contenant peu de terre en suspension.

#### 2.2.4 Avantages et inconvénients de la méthode

En éliminant les sables grâce à l'élutriateur et les particules d'argiles par tamisage, nous ne déposons dans les Baermann qu'une petite partie (moins de 5 %) des particules contenues dans l'échantillon de départ. Il est ainsi possible de traiter des échantillons bien plus importants (50 à 300 cm<sup>3</sup>) avec une meilleure efficacité pour de nombreux nématodes (Seinhorst, 1962). De plus, Verscoor et De Goede (2000) ont montré que, lorsqu'un élutriateur est utilisé, les taux de récupération des nématodes étaient indépendants de la taille des échantillons, ce qui n'est pas le cas pour les dispositifs Baermanns modifiés utilisés seuls (Ostenbrink, 1960 ; Rodriguez-Kábana et Pope, 1981 ; Verscoor et De Goede, 2000).

Cependant, cette méthode nécessite beaucoup plus de main d'œuvre : un technicien ne peut extraire qu'une quinzaine d'échantillons par jour. Cette méthode est ainsi bien indiquée pour comparer les populations dans des échantillons de 100 cm<sup>3</sup> environ (échantillons de 100 à 150 cm<sup>3</sup> des essais dispersions). Pour les échantillons plus petits (échantillons de sol de 30 cm<sup>3</sup> de nos essais "survie"), le simple tamisage suivi d'un passage en Baermann suffit.

Quoi qu'il en soit, l'essentiel des pertes se produit lors du passage dans les dispositifs Baermann. Pour nos études ultérieures, les échantillons pourront être comparés entre eux par élutriation ou tamisage + Baermann. Par contre, pour établir un bilan, d'autres méthodes d'extraction doivent être utilisées.

## **2.3 Des sols et racines : par centrifugation flottaison**

### 2.3.1 Principe – mode opératoire

Cette méthode, mise au point par Jenkins (1964) et modifiée par Coolen et d'Herde (1972), consiste à extraire les nématodes de façon passive, en fonction de leurs caractéristiques physique (taille et densité).

Pour les racines, l'échantillon est d'abord préparé : les racines sont lavées sous un jet d'eau, coupées en tronçons de 1 cm environ, puis broyées avec un mixer. Les échantillons de sol sont versés dans une bassine en plastique, mis en suspension dans de l'eau et versés sur les tamis.

En routine, un aliquote de 50 g est pesé puis déposé au sommet d'une colonne de 4 tamis (de haut en bas : 250, 80, 50 et 32 µm). Dans le cadre de nos essais, sauf mention contraire, la totalité de l'échantillon est tamisée. Les refus des tamis de 32 à 80 µm sont transférés dans des tubes à centrifuger. Pour les échantillons comportant plus d'un litre d'eau (bidons d'eau collectés à l'exutoire d'un simulateur de pluie, seau d'eau récupérant les eaux de percolation sous cylindre de sol ...) nous avons ajouté un cinquième tamis de 25 µm en bas de colonne. Ses refus ont été récupérés dans les tubes à centrifuger.

Les refus sont ensuite mis en suspension dans de l'eau puis centrifugés pour éliminer les particules de densité inférieure à 1 ; celles-ci sont remises en suspension dans une solution de sulfate de magnésie (densité 1,16 à 1,18) et centrifugées. Le surnageant est filtré dans des tamis à 5 µm ; les refus sont transférés dans des tubes à décanter.

Après deux heures de décantation, le surnageant est pompé à l'aide d'une trompe à eau jusqu'à ce que le volume de la suspension soit ramené à 25 mL. Après agitation, un aliquote de 2 mL est transféré sur une lame de comptage et observé au microscope optique.

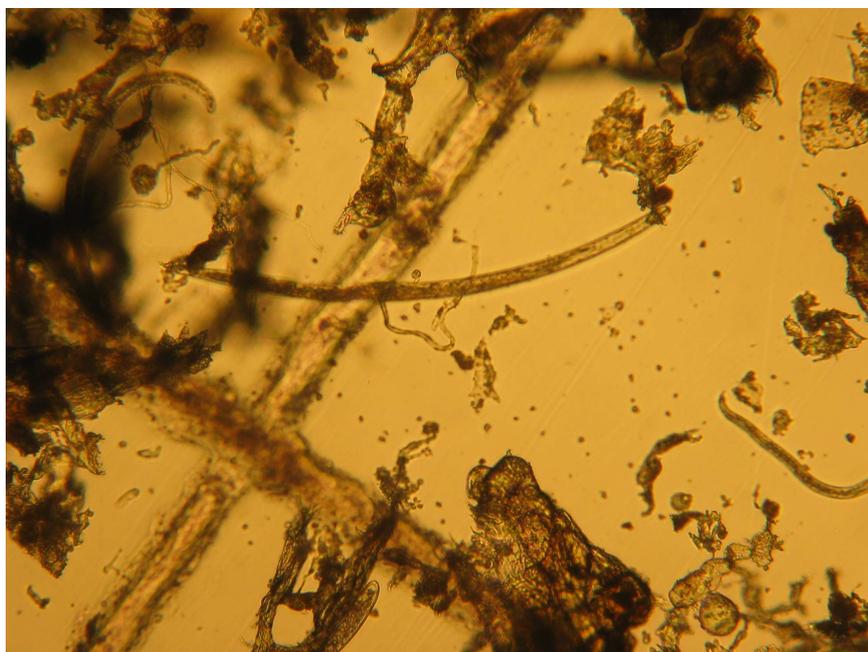
Lorsque les populations de nématodes sont faibles (moins de 300 individus / tubes), les comptages se font "au culot" : après deux heures de décantation, le volume de la suspension est ramené à 5 mL. La totalité de la suspension est versée dans une plaque de comptage ; les nématodes sont dénombrés avec un microscope à fond inversé. La grande majorité des échantillons de sol ont ainsi été traités.

Lorsque les populations de nématodes sont plus importantes, le volume de la suspension est ajusté à 25, 50 ou 100 mL de façon à observer moins de 300 nématodes par mL ; deux aliquotes de 1 mL sont dénombrés sur lame de comptage.

### 2.3.2 Qualité des extractions obtenues

Pour les analyses de routine, les échantillons sont généralement dilués au 25° ou au 50° ; les impuretés ne sont pas très gênantes et l'image est tout à fait acceptable (voir par exemple la photo 1). Par contre, lorsque les concentrations sont faibles et qu'il faut compter au culot, de nombreuses impuretés peuvent gêner la détermination des nématodes et rendre les comptages délicats et fastidieux. (Photo 7).

Ces impuretés sont très nombreuses dans les sols argileux ou riches en matières organiques - ce qui est souvent le cas des horizons de surface des nitisols. Dans le cadre de nos essais "dispersion" et surtout "survie", les populations attendues nous obligeaient à compter au culot ; nous avons cependant évité au maximum de recourir à cette méthode.



**Photo 7 :** Femelle de *R. similis* dans le culot obtenu par centrifugation-flottaison dans un échantillon de sol. (Même essai Cylindre de sol, décrit p. 101 que pour la photo 6). Grossissement : x100

### 2.3.3 Efficacité des extractions de *R. similis* à partir du sol

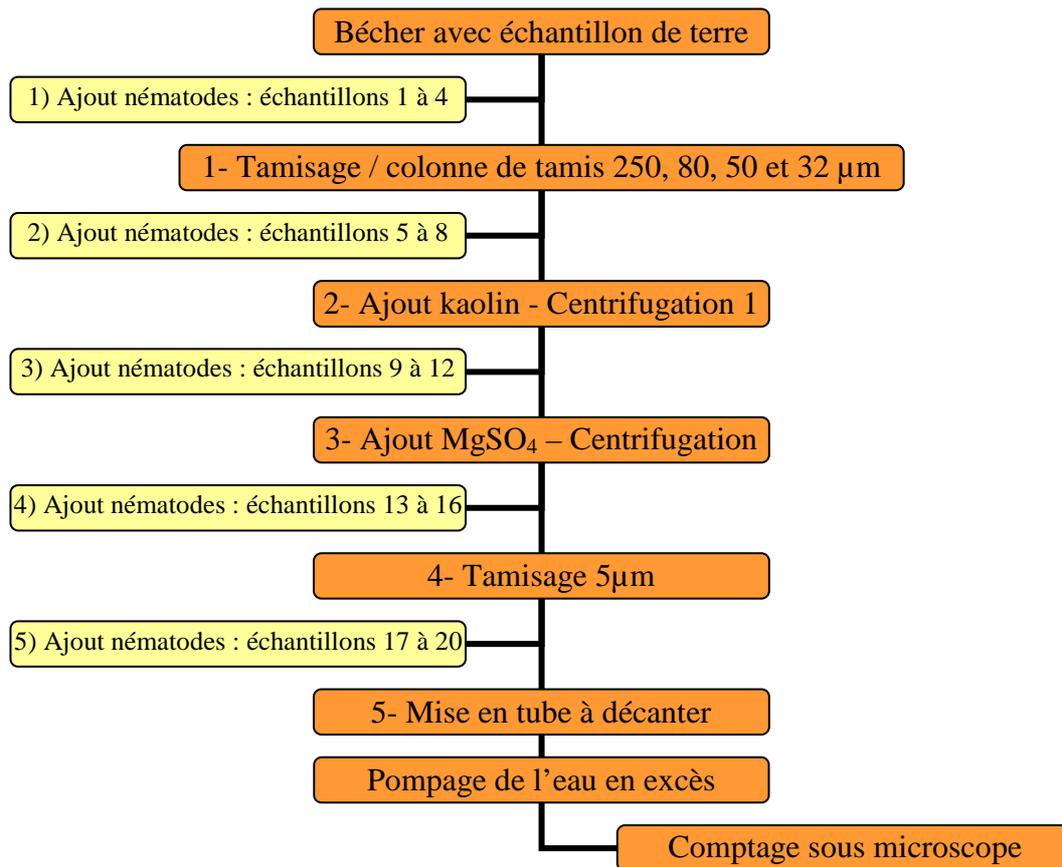
Pour évaluer les rendements à l'extraction et identifier les phases critiques, nous avons préparé 20 échantillons de 98 cm<sup>3</sup> (soit 116,2 ± 3,6 g de nitisols indemnes de *R. similis*). Ces échantillons avaient été prélevés dans le même verger de limettier que pour l'essai destiné à évaluer les pertes par élutriation (parcelle "Pomme" de Rivière Lézarde). Ils ont été portés à saturation en humidité 24 h avant l'essai.

Nous avons d'autre part préparé une suspension de 6 950 *R. similis* dans 50 cm<sup>3</sup> (Tableau 12). La suspension de nématodes avait été obtenue, comme pour l'essai élutriation, à partir de racines de bananiers de la parcelle "Pavé 1" après 9 jours en chambre à brouillard.

**Tableau 12 :** Population de *R. similis* inoculés lors de l'évaluation du rendement de la méthode d'extraction par centrifugation-flottaison. Ligne du haut : dénombrement moyen (3 comptages / lames de 1 mL) ; ligne du bas : populations apportées (en nombre de nématodes).

|                 | Femelles | Mâles | Juveniles | Total |
|-----------------|----------|-------|-----------|-------|
| Par mL          | 82       | 14    | 43        | 139   |
| Par échantillon | 205      | 35    | 107       | 347   |

Nous avons ensuite lancé le processus de centrifugation-flottaison selon le mode opératoire normalisé, mais en ajoutant 2,5 mL de suspension de nématodes à 5 étapes différentes, suivant les échantillons :



**Figure 19** : Calibrage de la méthode d'extraction de *R. similis* dans le sol par centrifugation-flottaison : ajout de la suspension de nématodes entre les différentes étapes (en rouille) du processus.

Après dénombrement au culot, nous avons calculé le taux de récupération :

$$t = \text{population observée} / \text{population apportée} \times 100$$

Nous avons ainsi obtenu (Tableau 13) :

**Tableau 13** : Taux de récupération de *R. similis* après centrifugation flottaison (en % des populations apportées)

| Injection de <i>R. similis</i> avant étape | Femelles | Mâles   | Juvéniles | Total   |
|--|----------|---------|-----------|---------|
| 1  | 60 ± 11  | 59 ± 38 | 21 ± 2    | 48 ± 8  |
| 2  | 60 ± 6   | 24 ± 11 | 13 ± 3    | 42 ± 5  |
| 3  | 67 ± 15  | 29 ± 7  | 9 ± 5     | 45 ± 11 |
| 4  | 66 ± 23  | 42 ± 12 | 22 ± 7    | 50 ± 16 |
| 5  | 80 ± 13  | 69 ± 22 | 34 ± 5    | 64 ± 8  |

La perte liée à l'étape n est calculée selon la formule :

$$\text{Perte étape } n = (t_{n+1} - t_n) / t_{n+1}$$

Ce qui donne (Tableau 14) :

**Tableau 14** : Pertes en *R. similis* lors des différentes étapes de la méthode d'extraction par centrifugation flottaison.

|                           | Femelles | Mâles | Juvéniles | Total |
|---------------------------|----------|-------|-----------|-------|
| lors tamisage sur colonne | 0        | 0     | 0         | 0     |
| lors centrifugation 1     | 9        | 20    | 0         | 7     |
| lors centrifugation 2     | 0        | 31    | 57        | 10    |
| lors tamisage 5 µm        | 17       | 39    | 36        | 22    |
| Mise en tube              | 20       | 31    | 66        | 36    |

Les pertes se produisent ainsi surtout lors des phases finales, et, pour les juvéniles, lors de la mise en suspension dans la solution hypertonique de sulfate de magnésie. Pour ces derniers, il est possible que la mesure soit biaisée : les nématodes, surtout de petite taille, pourraient plus mal supporter la mise en suspension dans une solution pure que ceux mis en suspension en même temps que des particules de sol et de kaolin. Les pertes demeurent cependant acceptables en regard de celles mesurées lors des éluviations et mises en Baermann.

La première opération, le tamisage sur colonne, permet de réduire d'un facteur supérieur à 5 les volumes de particules à mettre en suspension avant centrifugation. Or, Rodríguez-Kábana et King (1975) ont montré que l'efficacité des extractions par centrifugation-flottaison diminuait considérablement lorsqu'on augmente ces volumes au-delà de 50 cm<sup>3</sup>. Le tamisage sur colonne de tamis permet de diminuer les volumes de solides avant centrifugation largement en deçà de cette limite et sans provoquer de pertes mesurables de nématodes.

Ces résultats sont en accord avec les résultats de McSorley et Parrado (1987) qui estimaient que les pertes lors de l'extraction atteignaient 41,4 % pour *Rotylenchulus reniformis* et 50,9 % pour *Helicotylenchus dihystra*.

#### 2.3.4 Efficacité des extractions de *R. similis* à partir des racines

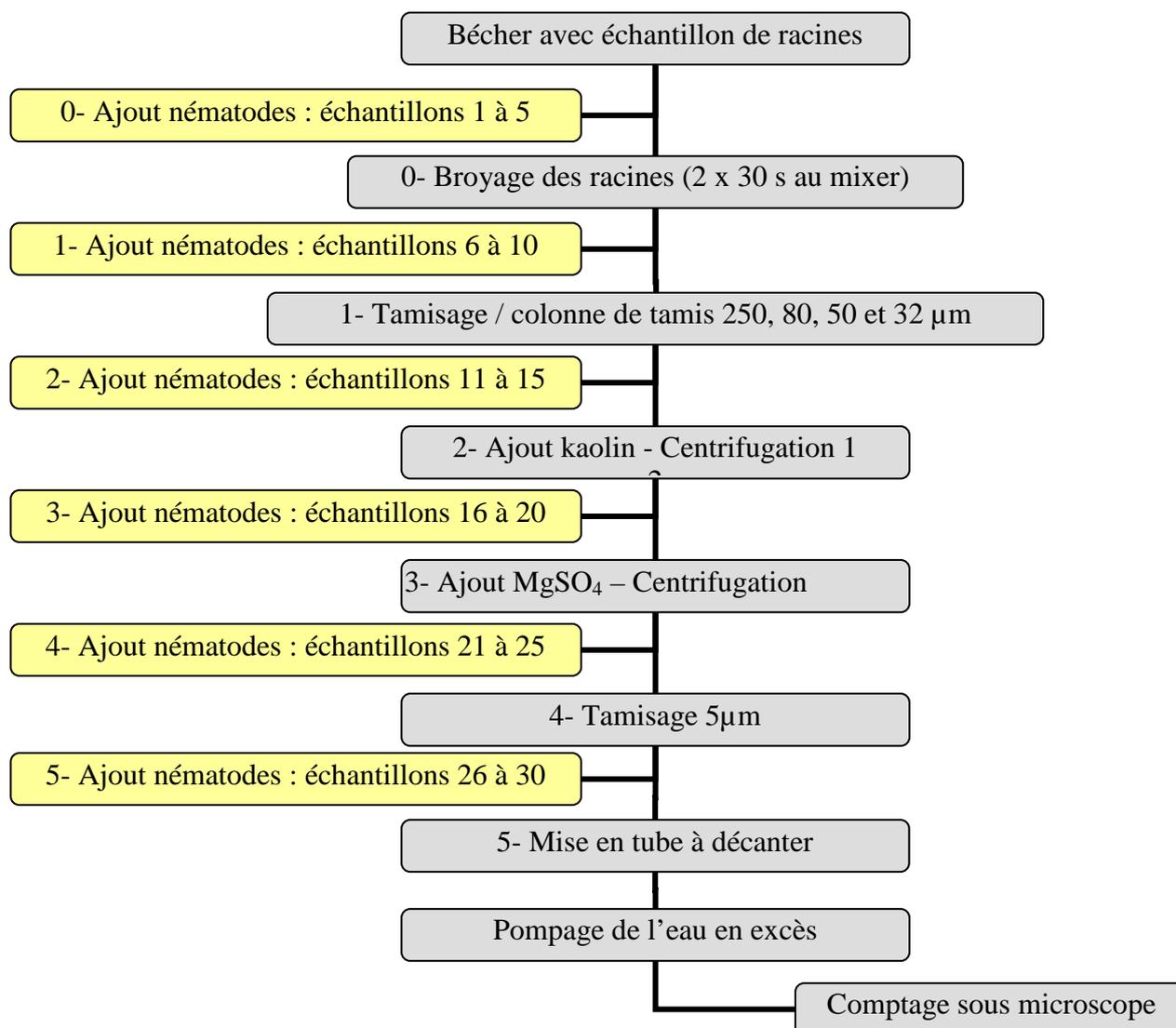
Deux études similaires ont été réalisées pour calibrer l'efficacité de la méthode avec des racines. Nous avons à chaque fois préparé 30 échantillons de 50 g de racines indemnes de *R. similis*. Ces racines provenaient de vitro-plants cultivés sous serre et prêts à être plantés.

Nous avons d'autre part préparé des suspensions de 200 mL comptant 39300 *R. similis* pour la première, 21800 pour la seconde (Tableau 15). La suspension de nématodes avait été obtenue, à partir de racines de bananiers de la parcelle "Coulon 6" au gros Morne après 7 jours en chambre à brouillard.

**Tableau 15** : Population de *R. similis* inoculés par échantillon lors des évaluations du rendement de la méthode d'extraction par centrifugation-flottaison (en nombre de nématodes).

|         | Femelles | Mâles | Juvéniles | Total |
|---------|----------|-------|-----------|-------|
| Etude 1 | 826      | 140   | 33        | 998   |
| Etude 2 | 552      | 96    | 51        | 699   |

Nous avons ensuite lancé le processus de centrifugation-flottaison selon le mode opératoire normalisé, mais en ajoutant environ 1 000 *R. similis* (soit 5,08 mL de suspension) à 6 stades différents, suivant les échantillons (Figure 20). Le chiffre de 2 000 *R. similis* / 100 g de racines correspond en effet à un niveau de population fréquemment rencontré dans les bananeraies infestées mais bien entretenues et plantées sur ce type de sol.



**Figure 20** : Calibrage de la méthode d'extraction de *R. similis* dans les racines par centrifugation-flottaison : ajout de la suspension de nématodes entre les différentes étapes du processus.

Nous avons obtenu des résultats concordants lors de ces deux études ; nous avons donc aggloméré les résultats dans le Tableau 16 :

**Tableau 16** : Taux de récupération de *R. similis* après centrifugation flottaison (en % des populations apportées).

| Injection de <i>R. similis</i> avant étape | Femelles | Mâles   | Juveniles | Total   |
|--|----------|---------|-----------|---------|
| 0  | 44 ± 11  | 26 ± 8  | 148 ± 83  | 45 ± 9  |
| 1  | 72 ± 14  | 48 ± 21 | 20 ± 21   | 66 ± 11 |
| 2  | 50 ± 13  | 41 ± 13 | 123 ± 92  | 51 ± 12 |
| 3  | 42 ± 8   | 40 ± 20 | 98 ± 76   | 43 ± 8  |
| 4  | 49 ± 12  | 55 ± 16 | 15 ± 20   | 48 ± 10 |
| 5  | 54 ± 8   | 39 ± 18 | 104 ± 46  | 54 ± 5  |

La perte liée à l'étape n est calculée selon la formule :

$$\text{Perte étape } n = (t_{n+1} - t_n) / t_{n+1}$$

Ce qui donne :

**Tableau 17** : Pertes en *R. similis* lors des différentes étapes de la méthode d'extraction par centrifugation flottaison.

| Etape                     | Femelles | Mâles   | Juvéniles | Total   |
|---------------------------|----------|---------|-----------|---------|
| broyage                   | 39       | 46      | 0         | 33      |
| lors tamisage sur colonne | 0 (-44)  | 0 (-20) | 84        | 0 (-30) |
| lors centrifugation 1     | 0 (-19)  | 0 (-1)  | 0         | 0 (-18) |
| lors centrifugation 2     | 14       | 27      | 0         | 10      |
| lors tamisage 5 µm        | 9        | -41     | 86        | 11      |
| Mise en tube              | 46       | 61      | 0         | 46      |

De nombreux adultes (mâles comme femelles) sont ainsi perdus lors du broyage.

Pour les femelles, dans le sol comme dans les racines, les pertes ultérieures se produisent essentiellement en fin de processus d'extraction, lors du pompage de l'eau en excès. Pour les mâles, la mise en suspension dans la solution hypertonique semble aussi avoir entraîné des pertes, sans doute en raison d'une moindre densité des mâles.

Les résultats obtenus pour les juvéniles sont peu consistants, sans doute en raison de la faiblesse des effectifs apportés.

### 2.3.5 Avantages et inconvénients de la méthode

Pour les racines comme pour le sol, cette méthode permet d'extraire efficacement *R. similis* et de dénombrer les populations. Elle est assez simple à mettre en œuvre et permet d'obtenir des résultats en moins de 48 h, sous réserve que la main d'œuvre soit disponible. Pour cette raison, elle est utilisée pour les comptages en routine.

De plus, l'efficacité des extractions est indépendante du comportement des nématodes, ce qui peut constituer un avantage lorsque celui-ci est mal connu. Ainsi, Robinson et Healds (1989) ont montré que l'efficacité des extractions par Baermann est dépendante de petites variations de température et probablement du thigmotactisme de l'espèce recherchée à une température donnée. Avec une méthode d'extraction passive comme la centrifugation-flottaison, ce genre de problème ne se pose pas.

Cependant, le passage dans le sulfate de magnésie peut être fatal aux nématodes recherchés. La proportion de nématodes tués voire détruits variant sensiblement d'une série à l'autre, il n'est pas possible d'estimer la proportion de nématodes vivants sans faire appel à d'autres techniques (coloration au bleu Nile ou au bleu de Meldola). Mais surtout, les échantillons obtenus sont assez "sales". Lorsque de surcroît les populations sont faibles (dénombrements "au culot"), ce travail ne peut être réalisé que par des agents expérimentés pour que la fiabilité des comptages ne soit pas remise en cause. Cette méthode devient ainsi très exigeante en main d'œuvre.

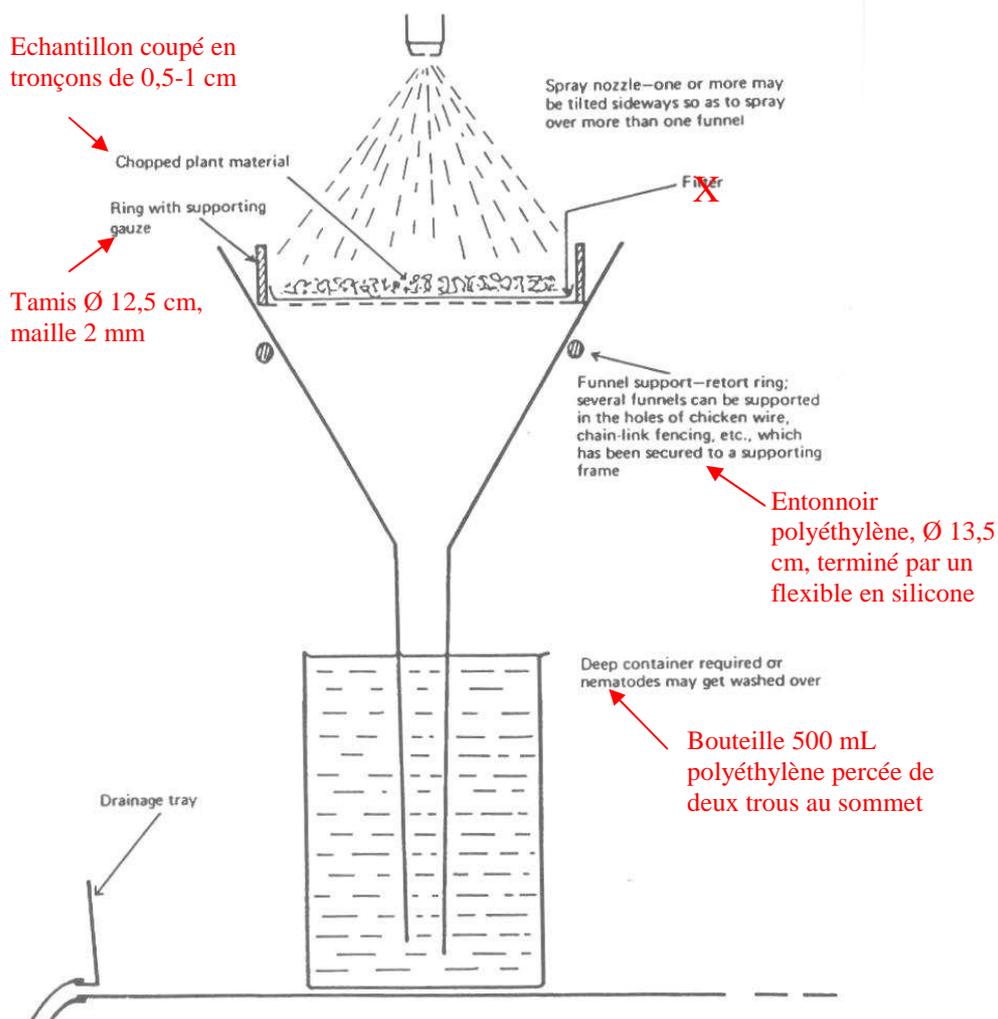
## 2.4 Des racines : par aspersion (chambre à brouillard de Seinhorst)

### 2.4.1 Principe – mode opératoire

Mise au point par Seinhorst (1950), cette méthode n'a été utilisée que pour extraire les nématodes des racines. L'échantillon est placé en haut d'un dispositif de récupération décrit ci-après. Lorsqu'ils sortent des tronçons de racines, les nématodes sont entraînés par un flux d'eau au fond d'un récipient. Cette méthode permet donc une extraction active des nématodes.

En pratique, des échantillons de végétaux, préalablement lavés et découpés en tronçons de 0,5 à 1 cm de long sont déposés dans des tamis. L'ensemble est posé sur un entonnoir équipé à son extrémité d'un flexible en silicone qui plonge au fond d'un flacon de 500 mL. Deux trous, percés en haut des flacons, servent de trop-plein. L'ensemble est placé dans une chambre à brouillard, pièce aveugle dont le plafond est équipé d'asperseurs qui délivrent une pluie fine 1 mn toutes les 3 mn.

Les nématodes éventuellement présents dans l'échantillon sortent au bout de quelques jours et sont entraînés par le flux d'eau au fond des flacons. Il suffit alors de sortir la bouteille, et, après 2 heures de décantation, de pomper l'eau en excès pour obtenir une suspension de nématodes à analyser.



**Figure 21:** Dispositif utilisé pour l'extraction par aspersion. En noir : schéma type de Hooper *et al.* (2005) ; en rouge : nos aménagements au laboratoire de Nématologie Tropicale, PRAM Martinique.



**Photo 8 et 9** : Vues des dispositifs utilisés pour l'extraction des nématodes par aspersion

En routine, nous collectons et dénombrons les nématodes extraits au bout de 7 et 15 jours. Cet intervalle peut être réduit pour obtenir des nématodes "frais", c'est-à-dire ayant séjourné le moins longtemps possible dans l'eau au fond des flacons collecteurs.

#### 2.4.2 Avantages et inconvénients de la méthode

Cette méthode permet d'obtenir des individus en très bon état (sous réserve de ne pas les laisser trop longtemps dans l'eau) et fournit habituellement des suspensions qui contiennent peu d'impuretés. Elles se prêtent bien à la production de suspensions calibrées de nématodes dont on veut étudier le comportement. En outre, elle est peu exigeante en main d'œuvre et ne requiert pas d'équipements coûteux.

Cependant, elle demande du temps (15 jours pour les évaluations de routine) ; mais surtout, i) seules les formes mobiles sont extraites et ii) nous pouvons extraire des individus issus d'œufs pondus et éclos après dépôt de l'échantillon en chambre à brouillard. Elle permet ainsi plus d'évaluer un potentiel inoculum qu'une population à un instant donné.

Il est ainsi difficile de comparer cette méthode d'extraction avec les autres. Ainsi, Viglierchio et Schmitt (1983) avaient extrait dans les mêmes échantillons 5,5 fois plus de *Xiphinema index* par aspersion que par centrifugation-flottaison, mais 4,7 fois moins de *Criconemella xenoplax*. Nous avons à plusieurs reprises réalisé simultanément des extractions par aspersion et par centrifugation-flottaison ; avec *R. similis*, les résultats sont très variables et semblent dépendre de l'état des nématodes dans les racines.

### 2.5 Des racines : par macération dans de l'eau oxygénée

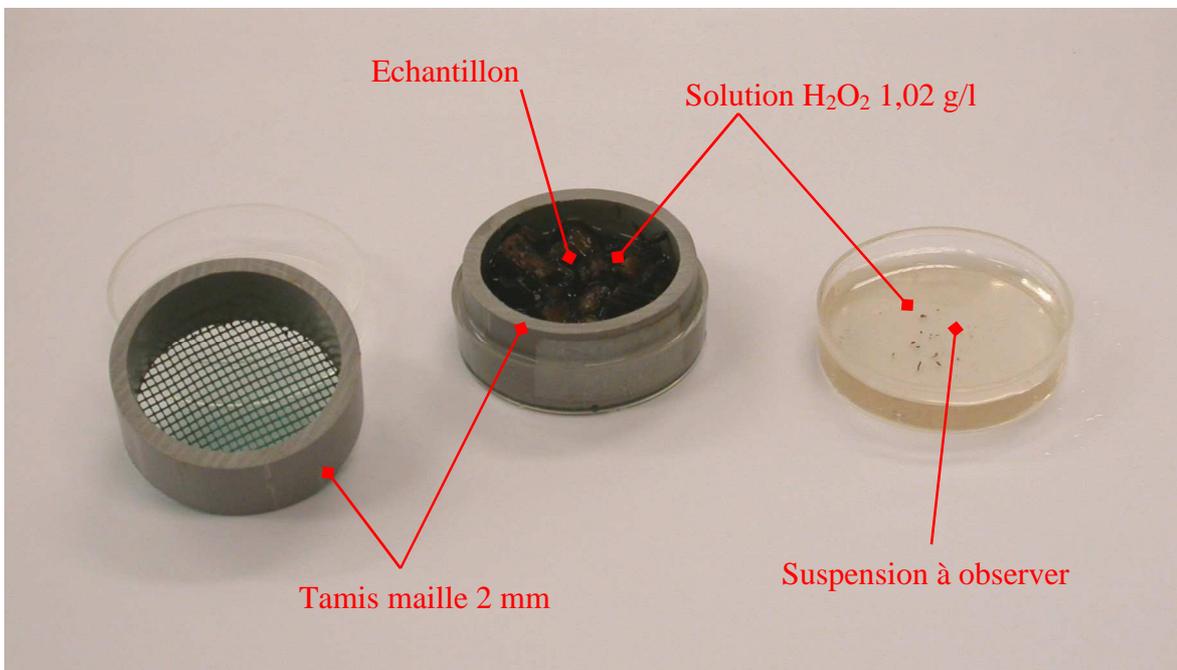
#### 2.5.1 Principe – mode opératoire

Mise au point par Gowen et Edmunds (1973), cette méthode a été utilisée pour extraire les nématodes des racines.

L'eau oxygénée augmente l'activité des nématodes, et les incite à sortir plus rapidement des racines. Etant plus denses que la solution d'eau oxygénée, ils sont ensuite entraînés au fond du dispositif où ils pourront être observés.

Le mode opératoire est le suivant :

- Les racines sont d'abord soigneusement lavées à l'eau courante,
- puis coupées en tronçons de 5 mm environ.
- Un aliquote de 10 à 12 g est déposé dans un tamis à maille grossière (toile moustiquaire de 2 mm) de 50 mm de Ø ;
- le tamis est placé dans une boîte de Pétrie de 54 mm de Ø.
- Une solution d'eau oxygénée (1,02 g/l d' $H_2O_2$ ) est versée sur l'échantillon
- L'échantillon est mis à incuber 4 h à 25-29°C. Pendant ce temps, les nématodes éventuels qui sortent des racines vont tomber au fond de la boîte de Pétri.
- Le tamis avec ses morceaux de racines est ensuite retiré
- Les nématodes éventuellement présents dans la suspension au fond de la boîte de Pétri sont recherchés avec une loupe binoculaire (grossissement x40) et si nécessaire, déterminés à l'aide d'un microscope à fond inversé (x100 et x200)



**Figure 22** : Dispositif pour extraction par macération dans l'eau oxygénée. A gauche : matériel utilisé ; au milieu ; dispositif en cours de macération ; à droite : suspension prête à être observée

### 2.5.2 Avantages et inconvénients de la méthode

Cette méthode permet de traiter un grand nombre d'échantillons (une personne peut traiter 40 échantillons par jour). Elle fournit une suspension raisonnablement propre (photo 10). Elle peut être mise en œuvre rapidement (réponse du test en 6 h) avec très peu de matériel.



**Photo 10** : *Pratylenchus coffeae* juvénile extrait de racines de bananier par macération dans l'eau oxygénée. Grossissement x 200

Cependant, elle ne permet que la mise en évidence de la présence d'un nématode donné dans un échantillon ; pour quantifier les populations de nématodes extraits, il faut faire appel à d'autres méthodes. Nous ne l'avons ainsi utilisée que pour le suivi de la recontamination de parcelles (page 120).

### 3. Coloration vitale de *R. similis*

#### 3.1 Choix du colorant

Dans le cadre de nos travaux, nous avons besoin d'évaluer les populations de nématodes vivants à un instant donné. Les extractions qui utilisent un passage en Baermann permettent de n'extraire que les nématodes actifs, donc vivants. Les méthodes actives sont ainsi bien indiquées, sous réserve qu'elles soient répétables et que les taux d'extraction ne soient pas trop bas.

Les méthodes actives risquent de tuer une partie de la population. Par centrifugation-flottaison, ces pertes sont très variables ; lorsque nous voulions y recourir, nous devions coupler cette méthode avec une technique permettant de différencier les nématodes vivants des morts.

Deux méthodes sont classiquement utilisées pour mesurer la proportion de nématodes vivants :

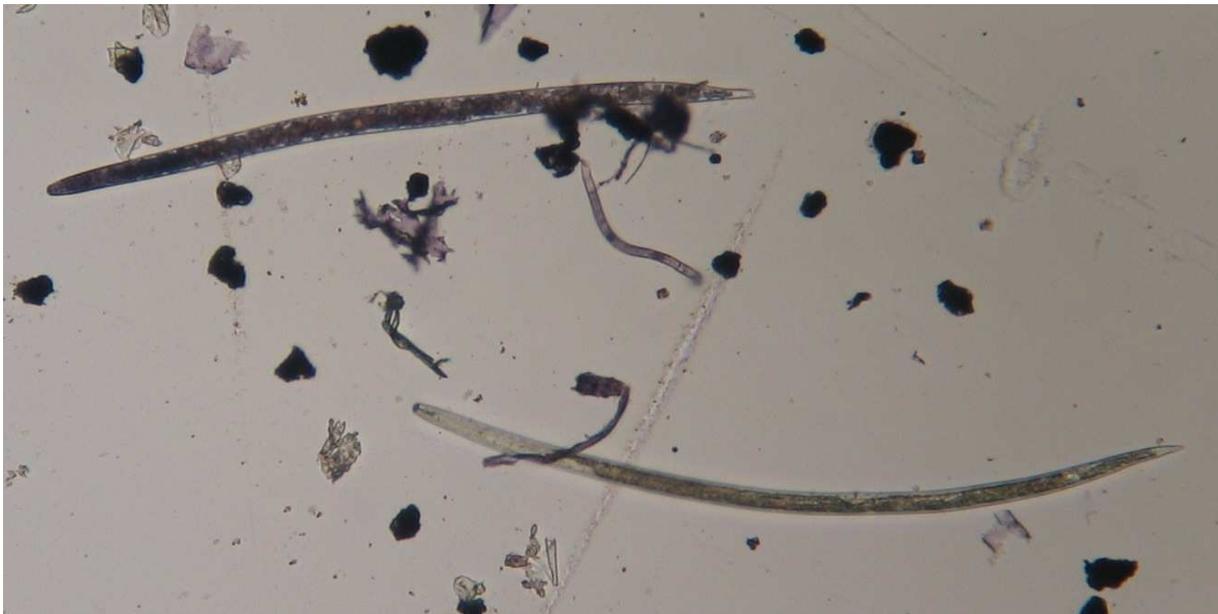
- La motilité : un nématode qui bouge est évidemment vivant. Mais un nématode qui ne bouge pas, même lorsqu'il est soumis à un stimulus (par exemple, une stimulation par une aiguille), n'est pas nécessairement mort. On risque ainsi de confondre les individus en vie ralentie avec des morts.
- L'utilisation de colorants vitaux, visible soit directement au microscope optique, soit en autofluorescence. Le plus fiable est la lipofuscine, qui est accumulée dans les lèvres et la région intestinale par les nématodes vivants ; mais quand le nématode meurt, le colorant se répand en quelques minutes dans le corps (Forge et MacGuidwin, 1989). Ce colorant n'est donc pas utilisable pour différencier les nématodes qui étaient vivants de ceux qui étaient morts **avant** extraction par centrifugation-flottaison.

Trois colorants ne se répandent pas dans le corps après décès et sont adaptés à nos besoins : le permanganate de potassium, le bleue Nil et le bleue de Meldola. Le dernier est à la fois plus fiable (Ogiga et Estey, 1974), moins dangereux à utiliser et ne génère pas de déchets toxiques. C'est donc lui que nous avons choisi.

#### 3.2 Mode opératoire

- a. Préparation d'une solution mère concentrée 10 fois : 250 mg pour 100 mL, à réaliser sous sorbonne :
  - Peser 250 mg (balance de précision du labo pédologie)
  - Transférer dans une éprouvette de 100mL
  - Compléter à 100 mL
  - Agiter
  - Transférer dans un flacon étiqueté "Meldola X10"
- b. utilisation
  - Concentrer la suspension de nématodes à colorer

- Laisser décanter 2 heures
  - Pomper avec une trompe à eau jusqu'à ce qu'il ne reste plus que 20 mL de suspension
  - Ajouter 2 mL de la solution mère de bleu de Meldola à 0.25 %
  - Agiter
  - Laisser macérer 24h à 20 °C
  - Verser le contenu dans un tamis à 5 µm
  - Transférer le refus (nématodes) dans des tubes à décanter
- c. Lecture : lors du comptage sous microscope :
- Les nématodes morts sont colorés en pourpre de façon +/- uniforme (Photo 11)
  - Les vivants ne sont généralement pas colorés ; seuls des granules bruns-rouges peuvent éventuellement être observés dans l'intestin.



**Photo 11** : *Radopholus similis* femelles, une morte et colorée au bleu de Meldola (en haut), une vivante et non colorée (en bas)

### 3.3 Fiabilité de la coloration

A partir d'une suspension de 78 *R. similis* par mL, (32 femelles, 14 mâles et 32 juvéniles) 3 séries de 3 aliquotes de 3 mL ont été préparées. La première série de tube a été plongée 30 secondes dans un bain-marie à 45 °C ("Chaleur"); dans la seconde, nous avons ajouté 0,3 mL de Vydate® (un nématocide homologué contre *R. similis* contenant 240 mg d'oxamyl / mL et du méthanol) ; le dernier a servi de témoin.

Les résultats sont exposés dans le Tableau 18. L'oxamyl est un carbamate qui inhibe les acétylcholine-estérases. Il perturbe ainsi les synapses cholinergiques et entraîne à court terme des paralysies partielles ou totales. En cas de paralysie totale, les vertébrés et la plupart des arthropodes sont tués lorsque le cœur ou les muscles respiratoires se paralysent. Les nématodes n'ayant ni système respiratoire ni système circulatoire, ils peuvent survivre à une paralysie générale momentanée. Ainsi, Reversat (communication personnelle) a observé que des populations d'*Hirschmanniella oryzae* exposées à des doses élevées de carbofuran (un autre carbamate, au mode d'action similaire) étaient paralysées mais pouvaient redevenir actives quelques heures après lavage dans des bains d'eau distillée.

**Tableau 18** : Résultats de l'essai "fiabilité des colorations au bleu de Meldola".

|           | Mode de destruction | colorés | non colorés |           |
|-----------|---------------------|---------|-------------|-----------|
|           |                     |         | mobiles     | immobiles |
| Femelles  | Chaleur             | 86 ± 7  | 12 ± 6      | 2 ± 3     |
|           | Vydate              | 74 ± 1  | 3 ± 6       | 23 ± 7    |
|           | témoin              | 1       |             | 99        |
| Mâles     | Chaleur             | 87 ± 11 | 7 ± 7       | 6 ± 7     |
|           | Vydate              | 89 ± 17 | 0           | 11 ± 22   |
|           | témoin              | 0       |             | 100       |
| Juvéniles | Chaleur             | 81 ± 4  | 6 ± 6       | 13 ± 9    |
|           | Vydate              | 87 ± 9  | 0           | 13 ± 9    |
|           | témoin              | 4       |             | 96        |

Il est donc tout à fait possible que les individus totalement immobiles et non colorés que nous avons observés après exposition à l'oxamyl aient été encore vivants lors de la coloration. Cela est particulièrement vrai pour les femelles. Toutes les femelles immobiles et non colorées observées étaient en parfait état de conservation, ce qui n'était pas le cas de nombreux individus colorés.

Les individus mobiles étant évidemment vivants, la proportion d'individu morts et non colorés (faux négatifs) est au plus de 2 % pour les femelles, 6 % pour les mâles et 15 % pour les juvéniles. La coloration au bleu de Meldola permet donc de détecter les individus morts dans plus de 80 % des cas et permet ainsi une estimation de la proportion d'individus vivants au sein de la population, avec une marge d'erreur inférieure à 20 %.

### 3.4 Avantages et inconvénients de la méthode

La méthode procure les avantages suivants :

- Les taux de "faux-morts" paraissent acceptables ; il n'existe que peu de "faux-vivants"
- La proportion de nématodes colorés avant et après centrifugation-flottaison n'est pas modifiée ; la coloration permet alors d'extraire les nématodes par centrifugation-flottaison tout en permettant d'évaluer la proportion de nématodes qui étaient vivants avant extraction

Elle apporte bien l'information requise, pour un surcoût modeste. Ses principaux inconvénients sont des contraintes logistiques :

- Elle retarde les extractions de 24 h, temps nécessaire à la fixation du colorant
- Le colorant est difficile à obtenir aux Antilles
- Enfin, elle implique des manipulations supplémentaires (un tamisage à 5 µm suivi de la mise en suspension du refus).

Toutefois, lorsque cette méthode de coloration est couplée avec une extraction par centrifugation-flottaison, on n'a pas besoin du tamisage supplémentaire : en colorant les nématodes immédiatement après passage sur colonne de tamis (250 à 32 ou 250 à 25 µm), le bleu en excès sera éliminé avec le surnageant de la première centrifugation.

## Partie 3 : Survie de *R. similis*

### 1 Dans le sol

Si de nombreux travaux ont été publiés sur la survie des nématodes, peu ont concerné les Pratylenchidae en général. Depuis les travaux de Feldmesser *et al.* (1960) et de Tarjan (1961) dans les vergers d'agrumes, aucune étude n'a été publiée sur *Radopholus similis*.

Or, ces auteurs cherchaient surtout à estimer la décroissance des populations in situ pour évaluer la durée minimale d'une jachère. Les facteurs influant les conditions de survie étaient peu abordés.

#### 1.1 Objectifs ; principes généraux

En Guadeloupe et à en Martinique, les températures ne sont pratiquement jamais défavorables : la température du sol est toujours comprise entre 18 et 30°C dans les 5 premiers centimètres ; la borne inférieure n'est pas limitante pour la conservation de *R. similis* (Fallas et Sarah, 1994) ; la borne supérieure est en deçà de la température maximale supportée par ce nématode (Fallas et Sarah, 1995 ; Arcinas *et al.*, 2005). Nous avons donc concentré nos travaux sur l'étude de la survie des nématodes dans les sols à différents potentiels hydriques. Notre objectif était de modéliser la mortalité de ce nématode en :

- établissant la loi suivie par la mortalité dans le temps
- évaluant l'effet du statut hydrique du sol.

Pour cela :

- Des échantillons de sols ont été prélevés ; une série d'aliquote a été utilisée pour établir un abaque permettant de convertir les humidités pondérales en potentiel matriciel (selon la méthode décrite page 34).
- Nous avons mis dans des séries de piluliers de 50 mL en polystyrène des aliquotes d'environ 40 g de sols saturés en eau.
- Une série a été mise dans une étuve à 105°C pour calculer la teneur en eau à saturation et calculer les poids frais requis pour atteindre la gamme de potentiels recherchés
- Nous les avons ensuite laissés sécher dans une salle à 27 – 29°C jusqu'à ce que le poids frais requis soit atteint.
- Nous avons alors déposé une suspension calibrée de *R. similis* sur le sol et fermé hermétiquement le pilulier.
- Au bout d'un temps t, un pilulier de chaque série a été ouvert, son contenu mis en suspension dans 200 mL d'eau puis versé au sommet d'une colonne de tamis (250, 80, 50 et 32 µm).
- Les refus des tamis ont été déposés dans un Baermann.

Pendant toute la durée de l'expérience, les piluliers ont été stockés à l'abri de la lumière dans une salle dédiée à cette étude, où la température oscillait entre 25 et 29°C.

Nous avons choisi d'extraire par tamisage suivi de Baermann car :

- la méthode d'extraction permet de discriminer les nématodes actifs,
- la qualité des suspensions extraites permet des comptages fiables,
- les volumes de sol utilisés (environ 40 mL) ne justifient pas le recours à l'élutriateur.

## 1.2 Essai préliminaire

La nature du pilulier est susceptible de modifier les capacités de survie des populations étudiées. Ainsi, Miller (1978) avait déjà mis en évidence l'existence de substances volatiles toxiques pour les *Tylenchorenchus* et *Hoplolaimus* qu'il étudiait dans le polyéthylène utilisé pour emballer des boîtes de Pétri. Ces substances (peut-être des PCB) disparaissaient au bout d'une dizaine de jours.

### 1.2.1 Matériel et méthode

Nous avons donc réalisé un essai complémentaire pour comparer l'évolution des populations dans les piluliers constitués de différents matériaux :

- piluliers neufs en polystyrène;
- piluliers "usagés" en polystyrène: il s'agit de piluliers préalablement remplis d'andosol humide (ce type de sol ayant des capacités de sorption très élevées), vidés au bout d'une semaine, puis lavés à l'eau distillée. Le sol préalablement utilisé était un andosol d'altitude (parcelle "Christophines" à Savane Pascal, voir localisation page 180) ;
- piluliers en verre.

Les andosols et nitisols n'étant pas de même nature, leur capacité d'absorption d'un éventuel contaminant nématotoxique peut être différente. Nous avons donc mené cette étude préliminaire avec deux sols :

. andosol : parcelle "Christophines" à Savane Pascal, voir localisation page 180 ;

. nitisol : parcelle "Ponterre" à Rivière Lézarde, voir localisation page 180.

Les échantillons de sols mis dans les piluliers étaient issus de sols frais non remaniés.

De plus, l'humectation du sol influence la diffusion d'un contaminant éventuel dans le milieu. Pour chaque sol, trois niveaux d'humectation différents ont ainsi été testés (Tableau 19).

**Tableau 19** : Niveaux d'humectation des sols lors de l'essai "effets de la nature du pilulier sur la survie de *Radopholus similis*".

| Sol     |             | Humidité pondérale (%) | Potentiel matriciel (kPa) |
|---------|-------------|------------------------|---------------------------|
| nitisol | Saturé      | 74                     | 0                         |
|         | Ressuyé     | 50                     | -5                        |
|         | Bien drainé | 35                     | -630                      |
| andosol | Saturé      | 1                      | -0                        |
|         | Ressuyé     | 90                     | -2.1                      |
|         | Bien drainé | 50                     | -104                      |

L'essai a duré 4 semaines ; les populations présentes ont été mesurées à 0, 7, 14, 21 et 28 jours. Enfin, cet essai a été réalisé avec trois répétitions.

### 1.2.2 Résultats

#### Femelles :

Pour les femelles, les effectifs étaient ici suffisants et nous pouvions calculer des taux de populations restantes à chaque date selon la formule :

$$P_{\text{femelles}}(t) = (\text{nombre de femelles à } t \text{ jours}) / (\text{nombre de femelles à } J=0 \text{ jours}).$$

Et de même, pour le nombre total d'individus (femelles, mâles et juvéniles) :

$$P_{\text{total}}(t) = (\text{nombre total d'individus à } t \text{ jours}) / (\text{nombre total à } J=0 \text{ jours}).$$

Les résultats sont rassemblés dans les Tableau 20 et 21.

En toute rigueur, les hypothèses de normalité de résidus n'étant pas toujours respectées, nous n'avons pas le droit d'utiliser les tests de comparaison de moyenne. A titre indicatif, nous avons néanmoins indiqué les résultats obtenus avec le test de Duncan dans les tableaux 20 et 21 lorsque ce test donnait des résultats significatifs avec un risque de première espèce de 5 %.

**Tableau 20 :** Evolution des taux de décroissance des populations de *Radopholus similis* femelles lors de l'essai "effets de la nature du pilulier sur la survie de *R. similis*". Chaque chiffre est calculé à partir de la moyenne des trois niveaux d'humectation x 3 répétitions.

| Type de sol | Type de piluliers    | Jours après dépôt / |      |    |      |    |      |      |    |
|-------------|----------------------|---------------------|------|----|------|----|------|------|----|
|             |                      | 0                   | 7    | 14 | 21   | 28 |      |      |    |
| nitisol     | polystyrène "neufs"  | 1,00                | 2,07 | a  | 3,11 | a  | 1,73 | 1,35 |    |
|             | polystyrène "usagés" | 1,00                | 0,87 | b  | 1,00 | b  | 0,90 | 0,86 |    |
|             | verre                | 1,00                | 1,57 | ab | 1,28 | b  | 1,05 | 1,22 |    |
|             |                      |                     | S    |    | S    |    | ns   | ns   |    |
| andosol     | polystyrène "neufs"  | 1,00                | 1,09 |    | 1,09 |    | 0,62 | 0,48 | b  |
|             | polystyrène "usagés" | 1,00                | 1,33 |    | 1,00 |    | 0,89 | 0,71 | ab |
|             | verre                | 1,00                | 1,10 |    | 1,49 |    | 1,58 | 0,85 | a  |
|             |                      |                     | ns   |    | ns   |    | ns   |      | S  |

**Tableau 21 :** Evolution des taux de décroissance des populations de *Radopholus similis* femelles lors de l'essai "effets de la nature du pilulier sur la survie de *R. similis*". Chaque chiffre est calculé à partir de la moyenne des trois types de piluliers x 3 répétitions.

| Type de sol | Potentiel matriciel (kPa) | Jours après dépôt |      |    |      |    |      |    |      |    |
|-------------|---------------------------|-------------------|------|----|------|----|------|----|------|----|
|             |                           | 0                 | 7    | 14 | 21   | 28 |      |    |      |    |
| nitisol     | 0                         | 1,00              | 1,44 |    | 1,25 |    | 0,67 | b  | 0,49 | b  |
|             | -5                        | 1,00              | 1,62 |    | 2,04 |    | 1,02 | ab | 1,53 | a  |
|             | -630                      | 1,00              | 1,45 |    | 2,09 |    | 1,98 | a  | 1,42 | a  |
|             |                           |                   | ns   |    | ns   |    | S    |    |      | S  |
| andosol     | -0                        | 1,00              | 0,73 |    | 0,57 | b  | 0,29 | b  | 0,20 | b  |
|             | -2.1                      | 1,00              | 1,68 |    | 1,77 | a  | 1,80 | a  | 0,78 | a  |
|             | -104                      | 1,00              | 1,10 |    | 1,24 | ab | 1,00 | ab | 1,06 | a  |
|             |                           |                   | ns   |    | S    |    | S    |    |      | HS |

Il semble ainsi exister un effet "nature du pilulier" ; ce dernier paraît cependant faible au regard des effets "nature du sol" et "niveaux d'humectation".

### Mâles :

Au cours de cet essai, les effectifs de mâles étaient très faibles : 1133 individus observés sur 268 comptages, soit 8 fois moins que le nombre de femelles dénombrées (8190 femelles observées au total). La valeur "nombre de mâles par échantillons" était pratiquement une valeur discrète, donc statistiquement difficilement utilisable. Nous avons seulement noté que, dans les piluliers contenant des nitisols, il n'y avait pratiquement pas de diminution des populations de mâles. Dans les piluliers en polystyrène neufs contenant des andosols, nous avons retrouvé au bout de 28 jours 53 % des populations initiales, contre 64 % dans les piluliers en polystyrène usagés et 62 % dans les piluliers en verre. Soit un écart bien plus faible que celui observé pour les femelles.

## Juvéniles :

2710 juvéniles (soit environ 22 % des effectifs totaux) ont été observés ; mais dans les nitisols, leur nombre avait tendance à augmenter en début d'expérience (Tableau 22 et Tableau 23). En fin d'expérience, les juvéniles étaient majoritairement des individus de petite taille, J2 et jeunes J3, donc éclos après le début de l'expérience (selon Kaplan, 1994, le délai entre fécondation des œufs et éclosion des J2 est de 8 à 10 jours à 24-32°C, tandis que les stades juvéniles libres durent entre 10 et 13 jours). Dans ces conditions, il est difficile d'évaluer un taux de survie pour les juvéniles.

**Tableau 22 :** Juvéniles dénombrés lors de l'essai "effets de la nature du pilulier sur la survie de *Radopholus similis*". Chaque chiffre est calculé à partir de la moyenne des trois niveaux d'humectation x 3 répétitions.

| Type de sol | Type de piluliers    | Jours après dépôt |    |    |    |    |
|-------------|----------------------|-------------------|----|----|----|----|
|             |                      | 0                 | 7  | 14 | 21 | 28 |
| nitisol     | polystyrène "neufs"  | 10                | 12 | 16 | 4  | 3  |
|             | polystyrène "usagés" | 15                | 11 | 11 | 9  | 3  |
|             | verre                | 10                | 21 | 10 | 6  | 6  |
| andosol     | polystyrène "neufs"  | 23                | 15 | 6  | 4  | 6  |
|             | polystyrène "usagés" | 15                | 18 | 10 | 4  | 6  |
|             | verre                | 14                | 12 | 12 | 7  | 2  |

**Tableau 23 :** Evolution du nombre de juvéniles dénombrés lors de l'essai préliminaire en fonction du niveau d'humectation. Chaque chiffre est calculé à partir de la moyenne des trois types de piluliers x 3 répétitions.

| Type de sol | Potentiel matriciel (kPa) | Jours après dépôt |    |    |    |    |
|-------------|---------------------------|-------------------|----|----|----|----|
|             |                           | 0                 | 7  | 14 | 21 | 28 |
| nitisol     | 0                         | 13                | 21 | 12 | 4  | 3  |
|             | -5                        | 12                | 14 | 7  | 6  | 4  |
|             | -630                      | 9                 | 9  | 18 | 10 | 6  |
| andosol     | -0                        | 17                | 10 | 5  | 2  | 2  |
|             | -2.1                      | 18                | 18 | 13 | 9  | 4  |
|             | -104                      | 17                | 18 | 11 | 4  | 7  |

Aucune analyse de variance n'est possible sur ces jeux de données, la dispersion des résidus ne suivant absolument pas une loi normale (ni même binomiale). Les différences entre types de piluliers ne sont pas claires (Tableau 22). On note cependant une baisse des effectifs plus importante dans les sols saturés en eau (Tableau 23).

### 1.2.3 Conclusion partielle

Ces résultats n'ont pas mis en évidence d'effet important du plastique sur la survie de *Radopholus similis* dans les nitisols. En revanche, dans les andosols, dès la troisième semaine, les populations semblent diminuer plus rapidement dans les échantillons conditionnés dans les piluliers en polystyrène neuf. Cet effet est cependant faible comparé aux effets de l'humectation du sol et bien sûr du type de sol.

Par la suite, nous avons donc travaillé avec des piluliers en polystyrène. Il faut toutefois les nettoyer au préalable et les laisser ouverts quelques jours à l'avance pour éviter un éventuel artéfact.

### 1.3 Matériel et méthode

L'essai préliminaire indiquait déjà des différences de capacité de survie en fonction de l'état hydrique et de la nature du sol. Compte tenu de la forte dispersion des résultats, nous avons dans un premier temps étudié l'évolution des populations de *R. similis* dans des milieux préalablement homogénéisés et stérilisés. Puis, nous avons refait l'étude dans des échantillons de sol non remaniés.

#### 1.3.1 Essai 1 : sols tamisés et stérilisés par congélation

##### Facteurs étudiés

Nous avons dans un premier temps mesuré l'évolution de populations de *R. similis* dans deux types de sol : un andosol (horizon de surface d'un andosol sur ponce, prélevé à 400 m d'altitude dans un champ de christophines à Ajoupa–Bouillon, sur la face ouest de la Montagne Pelée) et un sol brun-rouille à halloysites, prélevé au Gros-Morne à 109 m d'altitude dans une ancienne bananeraie en jachère (carte en annexe 3 page 180).

La survie de *R. similis* a été testée à trois teneurs en eau différentes correspondant à des sols saturés en eau, des sols humides mais ressuyés et des sols plus secs (Tableau 24).

**Tableau 24** : Teneurs en eau pondérales et états hydriques correspondant étudiés lors de l'essai "survie de *R. similis* dans les sols tamisés et stérilisés par congélation" ; teneur en eau pondérale = (poids humide- poids sec) / poids sec, exprimé en g / 100 g ; potentiel matriciel : en kilo Pascal (kPa).

| Type de sol | Teneur en eau pondérale | potentiel matriciel | Teneur en eau pondérale | potentiel matriciel | Teneur en eau pondérale | potentiel matriciel |
|-------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|
| nitisol     | 72                      | 0                   | 50                      | - 5                 | 39                      | - 250               |
| andosol     | 152                     | 0                   | 71                      | - 4                 | 53                      | -80                 |

Enfin, *R. similis* n'ayant pas de forme de survie connue, nous avons comparé l'évolution des populations de ce nématode extraites par Baermann avec celles de *Pratylenchus coffeae*. Ce dernier a la même taille (longueur et diamètre du même ordre de grandeur) et un mode de vie similaire à celui de *R. similis* ; cependant, il peut entrer en anhydrobiose, comme la plupart des *Pratylenchus* (Glazer et Orion, 1983 ; Townshend, 1984). L'évolution comparée des populations des deux nématodes devait nous aider à vérifier l'hypothèse d'absence d'anhydrobiose ; nous voulions en effet être sûrs de pouvoir détecter d'éventuels individus en vie ralentie.

##### Mode opératoire

Les sols ont d'abord été séchés à l'air pendant une semaine puis tamisés à travers un tamis de 2 mm pour éliminer graviers, cailloux et débris végétaux. Ils ont ensuite été saturés en eau, puis congelés pendant 24 h à -15°C à trois reprises successives afin de tuer les *Pratylenchidae* éventuellement présents.

5 aliquotes de sol ont été saturés en eau, pesés, déposés une semaine dans une étuve à 105°C, et de nouveau pesés pour évaluer la teneur en eau pondérale à saturation. Cette dernière a servi de base au calcul des poids requis pour atteindre une teneur en eau pondérale donnée. La

dessiccation des andosols et des sols à halloysites entraîne en effet des modifications irréversibles qui rendent discutables les études à partir d'échantillons desséchés.

A l'issue de la troisième décongélation, le sol a été saturé en eau. Pour chaque sol, 180 piluliers ont été remplis avec des aliquotes de 40 g. Les piluliers sont ensuite restés ouverts pour que le sol puisse se dessécher dans une salle maintenue à 27°C. Ils ont été pesés quotidiennement jusqu'à ce que le poids correspondant à l'humidité pondérale recherchée ait été atteint.

Pendant ce temps, nous avons extrait, après 4 jours en chambre d'aspersion :

- une suspension de *R. similis* provenant d'une bananeraie contaminée du Marigot (parcelle "Jean 2" de l'Habitation Bellevue, carte en annexe 3 page 180).
- une suspension de *P. coffeae* provenant de plants de sorgho cultivés dans notre enceinte climatique

Le volume des suspensions a été ajusté de façon à ce que leur concentration soit d'environ 2 500 nématodes par mL. 200 µL de suspension (environ 500 *R. similis*) ont ensuite été déposés dans chaque pilulier.

Ces derniers sont alors refermés. Ils ont été ouverts pendant quelques minutes chaque semaine pour i) renouveler la lame d'air (de 2 à 3 cm, entre 30 et 40 % de la hauteur du pilulier) au dessus de l'échantillon de sol et pour ii) vérifier par pesée l'humectation des échantillons de sol et compenser avec de l'eau distillée les pertes éventuelles par évaporation.

Les piluliers ont été conservés à l'abri de la lumière et à une température comprise entre 27 et 29°C. Chaque semaine, nous avons retiré un pilulier de chaque série pour extraire les nématodes qu'il contenait.

Chaque série comprenait en effet 11 piluliers ; le premier pour extraction dans la journée du dépôt de la suspension de nématodes, les suivants pour les extractions à 7, 14 ... 70 jours.

### 1.3.2 Essai 2 : sols non perturbés

En tamisant le sol, nous avons fortement perturbé la porosité naturelle et donc le milieu de vie des nématodes. Il est en effet probable que dans les sols naturels, les nématodes puissent se glisser dans une gamme plus vaste de pores présentant des diamètres plus variés que les matériaux que nous venons d'étudier. De plus, les phases de congélation ont pu modifier sensiblement la structure du sol, l'augmentation de volume lors de la transition eau – glace provoquant l'éclatement des agrégats. Il convient donc de vérifier ces résultats dans un "vrai" sol, matériau naturel dont la structure n'aura pas, ou peu, été perturbée.

#### **Facteurs étudiés**

Nous avons ainsi recommencé l'essai mais cette fois en perturbant le moins possible les sols. Deux types de sols ont été prélevés :

- un sol brun rouille à halloysites, prélevé à Rivière Lézarde dans un verger de limettier ;
- un andosol sur ponce : même localisation que pour l'essai précédant.

La survie de *R. similis* a été testée à cinq niveaux différents d'humectation (Tableau 25).

**Tableau 25** : Humidités pondérales et états hydriques correspondant étudiés lors de l’essai “survie de *R. similis* dans les sols non perturbés” ; W : humidité pondérale = (poids humide- poids sec) / poids sec, exprimé en g / 100 g ; potentiel matriciel : en kilo Pascal (kPa).

| Type de sol | W                 | potentiel matriciel | W  | potentiel matriciel | W  | potentiel matriciel | W  | potentiel matriciel | W  | potentiel matriciel |
|-------------|-------------------|---------------------|----|---------------------|----|---------------------|----|---------------------|----|---------------------|
| nitisol     | Saturation<br>74  | 0                   | 60 | - 0,1               | 50 | - 5                 | 40 | - 165               | 35 | - 630               |
| andosol     | Saturation<br>100 | 0                   | 60 | - 40                | 50 | - 104               | 40 | - 273               | 35 | - 440               |

### Mode opératoire

Des mottes ont été prélevées entre 5 et 20 cm de profondeur et déposées dans des caisses. Elles ont été emmenées au laboratoire et saturées en eau. 5 aliquotes de sol ont été mis pendant 5 jours dans une étuve à 105°C pour évaluer l’humidité pondérale à saturation. Cette série de mesures a servi de base au calcul des poids requis pour atteindre une humidité pondérale donnée.

Pour chaque type de sol, nous avons rempli à l’aide d’une spatule 30 séries de 15 piluliers des aliquotes de 40 g de terre (soit 1 “T0” et 14 dates de prélèvement). Comme pour l’étude précédente, les piluliers sont ensuite restés ouverts pour que le sol puisse se dessécher à 27°C jusqu’à ce que le poids correspondant à l’humidité pondérale recherchée ait été atteint.

Entre-temps, nous avons extrait, après 4 jours en chambre d’aspersion une suspension de *R. similis* provenant d’une bananeraie contaminée de Rivière Lézarde (parcelle “Pavé I”). Le volume des suspensions a été ajusté de façon à ce que leur concentration soit d’environ 1250 *R. similis* par mL. 200 µL de suspension (soit environ 250 *R. similis*) ont ensuite été déposés dans chaque pilulier.

Pour la suite, nous avons procédé comme pour l’essai précédent : les piluliers ont été refermés et conservés à l’abri de la lumière dans une salle à 27-29 °C ; nous avons vérifié leur poids et renouvelé leur lame d’air chaque semaine. Enfin, nous avons retiré un pilulier de chaque série pour extraire les nématodes qu’il contenait dans les 24 heures suivant le dépôt de l’échantillon (“T0”), puis chaque semaine du 8<sup>e</sup> au 71<sup>e</sup> jour. Toutefois, comme nous avons observé 16 % de *R. similis* survivants dans les nitisols humides, nous avons ajouté des dates d’observations pour évaluer la survie à la fin de chaque mois, du 3<sup>e</sup> au 6<sup>e</sup> mois (soit respectivement 92, 120, 148 et 177 jours).

Comme précédemment, les nématodes ont été extraits par Baermann : après tamisage à 250, 80, 50 et 32 µm ; la totalité des nématodes a été dénombrée au culot.

### Analyses statistiques

Nous avons d’abord calculé la proportion de survivants pour chaque date t selon la formule :

$$S_t = N_t / N_0$$

Où “N<sub>0</sub>” et “N<sub>t</sub>” désignent les nombres d’individus observés au bout de 0 et t jours dans les piluliers de la même série. Par la suite, nous avons cherché à comparer l’évolution au cours du temps de cette proportion de survivants “S” (facteur analysé) en fonction des autres paramètres : nature du sol, état hydrique, espèce (pour l’Essai 1), sexe (pour l’Essai 2).

Nous avons dans un premier temps essayé d’analyser les données par régression en utilisant différents modèles : régression linéaire après transformation logarithmes, Log-Log et circulaire (ArcSin) de S, régression selon modèle de Teissier ... Malheureusement, pour la

plupart des dates, même après transformations circulaires, les résidus étaient distribués non pas selon une loi normale mais selon une loi binomiale ; ce qui est assez souvent le cas dans ce type d'étude. Nous avons donc utilisé avec le logiciel R un modèle linéaire généralisé (GLM) adapté aux dispersions binomiales (Crawley, 2005). Avec ce modèle, si un facteur n'a pas d'effet significatif, la déviance suit une distribution de Chi<sup>2</sup>. Il permet ainsi de calculer un degré de significativité des paramètres explicatifs.

## 1.4 Résultats

### 1.4.1 Essai 1 : survie dans les sols tamisés et stérilisés

Pour cet essai, les hypothèses de dispersion binomiale des résidus sont bien respectées et nous pouvons appliquer notre modèle GLM.

Cet essai a permis de mettre en évidence que, dans les matériaux stérilisés issus de sols tamisés (Tableau 26 et Tableau 27, Figure 23) :

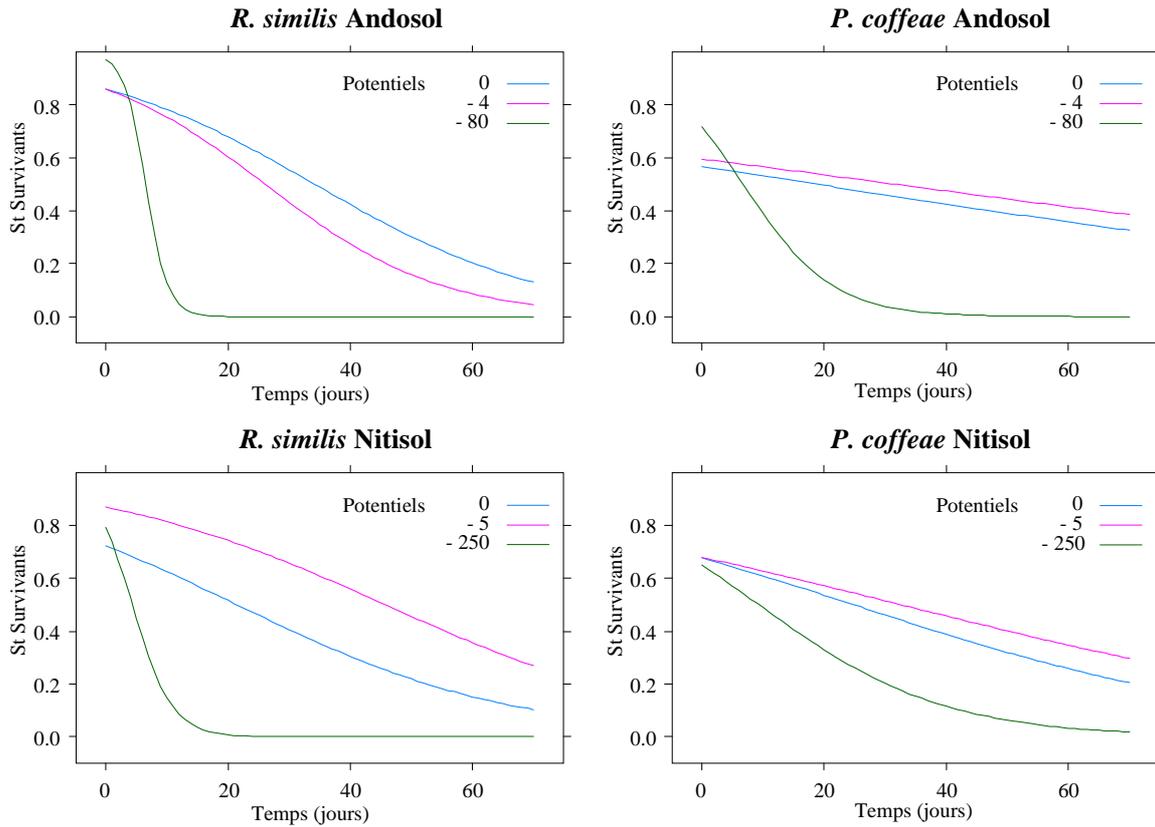
- 1- Pour les deux espèces, la survie est optimale à la capacité au champ ; elle est significativement meilleure dans les sols humides que dans les sols secs.
- 2- La capacité de survie de *Radopholus similis* est meilleure dans le sol brun rouille que dans l'andosol ; ce qui n'est pas le cas pour *Pratylenchus coffeae* dans les sols humides.
- 3- Les capacités de survie de *Pratylenchus coffeae* sont supérieures à celles de *Radopholus similis* dans les deux types de sol.

**Tableau 26** : Proportion de survivants mesurée au bout de 70 jours, à la fin de l'essai "survie dans les sols tamisés et stérilisés par congélation".

| Espèce        | Sol        | <i>Radopholus similis</i> |         | <i>Pratylenchus coffeae</i> |         |
|---------------|------------|---------------------------|---------|-----------------------------|---------|
|               |            | nitisol                   | andosol | nitisol                     | andosol |
| Etat hydrique | sol saturé | 0,117                     | 0,051   | 0,245                       | 0,468   |
|               | sol humide | 0,308                     | 0,063   | 0,315                       | 0,511   |
|               | sol sec    | 0,012                     | 0,000   | 0,031                       | 0,009   |

**Tableau 27** : Analyse de déviance de l'essai "survie dans les sols tamisés et stérilisés par congélation". HHS : significatif pour P = 0.0001 ; NS : non significatif pour P = 0.05.

| Facteur      | Intitulé                                       | ddl | Déviance résiduelle | P > Chi <sup>2</sup>  |      |
|--------------|--|-----|---------------------|-----------------------|------|
| Etudiés      | Espèce   | 1   | 24,8                | < 10 <sup>-5</sup>    |      |
|              | Sol  | 1   | 16,3                | 5.4. 10 <sup>-5</sup> | tous |
|              | Nombre de jours                                | 1   | 5428,4              | < 10 <sup>-5</sup>    | HHS  |
|              | Etat hydrique                                  | 2   | 4682,4              | < 10 <sup>-5</sup>    |      |
| interactions | Espèce x sol                                   | 1   | 0,1                 | 0,8                   | NS   |
|              | Espèce x nombre de jours                       | 1   | 431,6               | < 10 <sup>-5</sup>    | HHS  |
|              | Sol x nombre de jours                          | 1   | 3,6                 | 0,1                   | NS   |
|              | Espèce x état hydrique                         | 2   | 289,8               | < 10 <sup>-5</sup>    | HHS  |
|              | Sol x état hydrique                            | 2   | 209,7               | < 10 <sup>-5</sup>    | HHS  |
|              | Nombre de jours x état hydrique                | 2   | 1735,7              | < 10 <sup>-5</sup>    | HHS  |
|              | Espèce x sol x nombre de jours                 | 1   | 186,0               | < 10 <sup>-5</sup>    | HHS  |
|              | Espèce x sol x état hydrique                   | 2   | 239,4               | < 10 <sup>-5</sup>    | HHS  |
|              | Espèce x nombre de jours x état hydrique       | 2   | 560,3               | < 10 <sup>-5</sup>    | HHS  |
|              | Sol x nombre de jours x état hydrique          | 2   | 218,7               | < 10 <sup>-5</sup>    | HHS  |
|              | Espèce x sol x nombre de jours x état hydrique | 2   | 19,7                | 5.2.10 <sup>-5</sup>  | HHS  |
|              | Déviance résiduelle                            |     | 372                 | 9723,3                |      |



**Figure 23:** Evolution de la proportion de survivants dans les sols tamisés et stérilisés ; les courbes de régression ont été calculées à partir d'un modèle logistique GLM adapté aux dispersions binomiales. Potentiels : (Potentiels matriciels en kPa)

Enfin, le modèle permet de calculer les demi-vies dans les différents milieux (Tableau 28)

**Tableau 28 :** Durées calculées (en jours) avec le modèle logistique au bout desquelles il ne reste plus que la moitié et le dixième des populations initiales dans les sols tamisés et stérilisés.

| Espèce<br>Etat hydrique (kPa) | <i>Radopholus similis</i> |             | <i>Pratylenchus coffeae</i> |             |
|-------------------------------|---------------------------|-------------|-----------------------------|-------------|
|                               | $S_t = 0,5$               | $S_t = 0,1$ | $S_t = 0,5$                 | $S_t = 0,1$ |
|                               | <b>nitisol</b>            |             |                             |             |
| 0                             | 21                        | 70          | 25                          | >70         |
| - 5                           | 46                        | >70         | 33                          | >70         |
| - 250                         | 4                         | 5           | 9                           | 42          |
|                               | <b>andosol</b>            |             |                             |             |
| 0                             | 34                        | >70         | 19                          | >70         |
| - 4                           | 26                        | 58          | 32                          | >70         |
| - 80                          | 6                         | 11          | 7                           | 23          |

#### 1.4.2 Essai 2 : sols non perturbés

A l'issue de cet essai, les hypothèses de dispersion binomiale des résidus sont bien respectées pour les mâles comme pour les femelles dans l'andosol. Dans le nitisol, les résidus étant surdispersés, nous avons dû adapter le modèle à une dispersion quasi-binomiale (Tableau 29). Nous pouvons donc bien appliquer notre modèle GLM pour les adultes des deux sexes à l'évolution de la proportion d'individus survivants.

Ce modèle de régression montre que (Tableau 29 et Figure 24) :

- 1- contrairement à ce qui avait été observé au cours de l'essai précédent, la survie est optimale dans les sols secs. Ce phénomène est vérifié dans les deux types de sol, même si il est plus marqué dans le nitisol. Nous notons surtout une opposition entre sols saturés et non saturés, les premiers étant défavorables
- 2- Les mâles survivent significativement plus longtemps
- 3 Contrairement à ce qui avait été observé dans les sols tamisés et stérilisés, les andosols non perturbés sont plus défavorables à la survie des *R. similis* que les nitisols. Et ce, quel que soit le sexe.

**Tableau 29** : Analyse de déviance de l'essai "survie dans les sols non perturbés". HHS : significatif pour  $P = 0.0001$ .

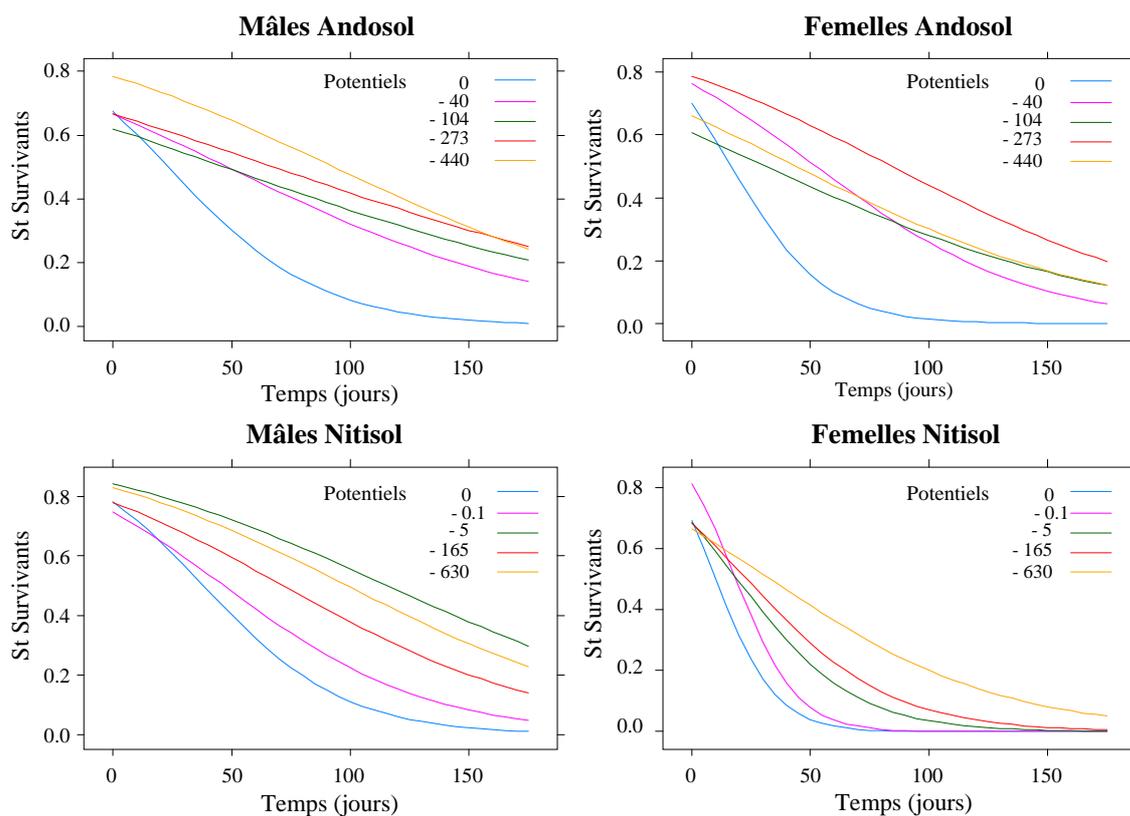
| Type de sol                     | Sexe        | Facteur                         | ddl         | Déviance résiduelle | $P > \text{Chi}^2$  |             |
|---------------------------------|-------------|---------------------------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------|
| nitisols                        | mâles       | Etat hydrique                   | 4           | 1905                | $< 10^{-5}$         | tous<br>HHS |
|                                 |             | nombre de jours                 | 1           | 7384                | $< 10^{-5}$         |             |
|                                 |             | Etat hydrique x nombre de jours | 4           | 476                 | $< 10^{-5}$         |             |
|                                 | femelles(*) | Déviance résiduelle             | 425         | 23643               |                     |             |
|                                 |             | Etat hydrique                   | 4           | 1905                | $9.9 \cdot 10^{-5}$ | HHS         |
|                                 |             | nombre de jours                 | 1           | 7384                | $< 10^{-5}$         | HHS         |
|                                 |             | Déviance résiduelle             | 444         | 12089               |                     |             |
| andosols                        | mâles       | Etat hydrique                   | 4           | 1614                | $< 10^{-5}$         | tous<br>HHS |
|                                 |             | nombre de jours                 | 1           | 4518                | $< 10^{-5}$         |             |
|                                 |             | Etat hydrique x nombre de jours | 4           | 622                 | $< 10^{-5}$         |             |
|                                 | femelles    | Déviance résiduelle             | 440         | 30790               |                     |             |
|                                 |             | Etat hydrique                   | 4           | 2414,4              | $< 10^{-5}$         | tous<br>HHS |
|                                 |             | nombre de jours                 | 1           | 6658,2              | $< 10^{-5}$         |             |
| Etat hydrique x nombre de jours | 4           | 978,7                           | $< 10^{-5}$ |                     |                     |             |
|                                 |             | Déviance résiduelle             | 440         | 14984,3             |                     |             |

(\*) Pour prendre en compte la surdispersion des résidus, nous avons dû réaliser ce test avec un modèle quasi-binomial.

En outre, le modèle permet de calculer les demi-vies des mâles et femelles de *R. similis* dans les différents milieux (Tableau 30).

**Tableau 30** : Durées calculées (en jours) avec le modèle logistique au bout desquelles il ne reste plus que la moitié et le dixième des populations initiales de mâles et femelles de *R. similis* dans les sols non perturbés.

| Sexe                     | Mâles       |                | Femelles    |             |
|--------------------------|-------------|----------------|-------------|-------------|
|                          | $S_t = 0,5$ | $S_t = 0,1$    | $S_t = 0,5$ | $S_t = 0,1$ |
| Potentiel hydrique (kPa) |             |                |             |             |
|                          |             | <b>nitisol</b> |             |             |
| 0                        | 38          | 103            | 1           | 54          |
| - 0,1                    | 46          | 141            | 9           | 68          |
| - 5                      | 115         | >175           | 18          | 76          |
| - 165                    | 71          | >175           | 25          | 83          |
| - 630                    | 98          | >175           | 38          | 96          |
|                          |             | <b>andosol</b> |             |             |
| 0                        | 23          | 93             | 16          | 60          |
| - 40                     | 28          | >175           | 52          | 151         |
| - 104                    | 46          | >175           | 31          | >175        |
| - 273                    | 68          | >175           | 84          | >175        |
| - 440                    | 93          | >175           | 43          | >175        |



**Figure 24** : Evolution de la proportion de survivants dans les sols non perturbés ; les courbes de régression ont été calculées à partir d'un modèle logistique GLM adapté aux dispersions binomiales.

$S_t$  : proportion de survivants calculée selon la formule  $S_t = N_t / N_0$  où  $N_0$  et  $N_t$  désignent les nombres d'individus observés au bout de 0 et t jours. Potentiels : (Potentiels matriciels en kPa)

Pour les juvéniles, l'hypothèse de dispersion binomiale n'est pas vérifiée. En effet, les populations de juvéniles sont parfois plus élevées au bout de 7 à 28 jours qu'au premier jour de l'étude (Tableau 31). Dans ces cas, la valeur de  $S_t$  est supérieure à 1 et cette variable ne peut pas suivre une loi binomiale. Dans les nitisols, les populations de juvéniles observées sont pratiquement nulles au-delà de 90 jours : seuls deux jeunes individus ont été observés dans les 90 piluliers correspondants. Dans les andosols, des populations résiduelles (13 individus répartis dans 30 piluliers à 150 jours, 11 à 180 jours) ont été observées en fin d'étude. Ces populations sont constituées de quelques individus de petite taille, juvéniles au stade J2 ou jeunes J3, qui ne peuvent provenir que des pontes des femelles gravides qui subsistent dans les jours précédant l'extraction. Pour les juvéniles, la courbe  $S_t$  ne correspond donc pas à une courbe de survie mais à une évolution de population qui tend vers 0 du fait de la diminution du nombre de femelles gravides survivantes, susceptibles de générer de nouveaux jeunes dans le milieu.

**Tableau 31** : Nombre de piluliers dans lesquels les populations de juvéniles sont supérieures au 7<sup>e</sup>, 14<sup>e</sup>, 21<sup>e</sup> et 28<sup>e</sup> jours après le début de l'étude qu'au premier jour. Pour chaque date et chaque type de sol, nous avons 5 états hydriques x 6 répétitions, soit 30 piluliers.

| Nombre de jours après dépôt des nématodes | 7 | 14 | 21 | 28 |
|---|---|----|----|----|
| Nitisol                                   | 8 | 6  | 3  | 1  |
| andosol                                   | 3 | 0  | 1  | 1  |

### 1.3.3 Comparaison entre les résultats obtenus lors de ces deux essais

Pour comparer l'évolution des taux de survie, nous avons utilisé l'indicateur suivant :

$$P_t = 1 - S_{1t} / S_{2t}$$

où "S<sub>1t</sub>" désigne le taux de survie moyen à t jours dans le sol tamisé et congelé, "S<sub>2t</sub>" le taux de survie moyen dans le sol non remanié. Ces taux ont été calculés pour un sol donné et un potentiel comparable. Plus S<sub>2t</sub> est élevé par rapport à S<sub>1t</sub>, plus cet indicateur augmente.

**Tableau 32** : Comparaison entre les taux mesurés de survie de *Radopholus similis* dans les sols tamisés + congelés et dans les sols non remaniés.

| Sols    | Potentiels matriciel | Durée (jours) |      |      |      |      |       |      |      |      |      | Moyenne |
|---------|----------------------|---------------|------|------|------|------|-------|------|------|------|------|---------|
|         |                      | 7             | 14   | 21   | 28   | 35   | 42    | 49   | 56   | 63   | 70   |         |
| nitisol | 0                    | 1,02          | 2,78 | 0,74 | 7,24 | 4,18 | 13,58 | 7,24 | 6,21 | 8,19 | 3,88 | 5,51    |
|         | -5                   | 1,06          | 2,10 | 1,19 | 1,10 | 1,66 | 2,82  | 1,16 | 3,00 | 4,98 | 2,41 | 2,15    |
|         | -250/-165            | 0,21          | 0,03 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00  | 0,04 | 0,01 | 0,04 | 0,10 | 0,04    |
| andosol | 0                    | 1,15          | 1,38 | 1,80 | 5,04 | 1,24 | 0,97  | 1,71 | 1,42 | 1,21 | 0,78 | 1,7     |
|         | -80/-104             | 1,18          | 0,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,01  | 0,11 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,1     |

Dans les deux types de sols, P<sub>t</sub> a évolué en fonction de l'état d'humectation du sol (Tableau 32). Il diminue lorsque le potentiel matriciel augmente ; il est particulièrement élevé sur nitisol saturé (S<sub>2t</sub> étant jusqu'à 13 fois plus élevé que S<sub>1t</sub>), il est toujours proche de 0 sur sols bien drainés, lorsque les pores susceptibles de contenir des *R. similis* sont totalement secs. Cette évolution de P<sub>t</sub> avec l'humectation est beaucoup plus marquée sur nitisol que sur andosol.

Les valeurs calculées de P<sub>t</sub> ont été maximales au bout de 42 jours sur nitisol et de 28 jours sur andosol ; ce laps de temps est proche de l'ordre de grandeur de la demi-vie sur sol ressuyé.

### 1.5 Rapprochement avec des modèles de décroissance

Le modèle logistique avec dispersion binomiale est bien adapté au problème utilisé mais ne permet pas de décrire la courbe de régression obtenue. Nous avons ainsi cherché à ajuster aux séries de données des modèles de courbe de survie reposant sur des paramètres dont la fonction biologique est simple.

Ces modèles considèrent généralement l'espérance de vie à un instant t donné, E<sub>t</sub>. Le modèle le plus simple est celui pour lequel l'espérance de vie E est constante tout au long de l'expérience. Nous avons alors :

$$S_t = S_0 \cdot \exp(-t/E)$$

$$\text{Ou encore : } S_t = S_0 \cdot \exp(at)$$

avec a = 1/E

Chez d'autres nématodes, ce modèle décrivait assez bien l'évolution de la mortalité (Towson et Apt, 1983). Nous avons donc d'abord testé sur nos données ce modèle simple de décroissance exponentielle.

Un autre modèle, le modèle de Teissier (1933) avait permis de décrire de façon satisfaisante les courbes de survie de nématodes phytoparasites (Reversat *et al.*, 1997). Il repose sur l'hypothèse que l'espérance de vie décroît de façon exponentielle au cours du temps :

$$E_t = E_0 \cdot e^{(-at)}$$

Où “E<sub>0</sub>” et “E<sub>t</sub>”, désignent les espérances de vie initiale et à l’instant t, et “a” le coefficient de décroissance. Dans ce cas, les effectifs S<sub>t</sub> évoluent suivant la fonction suivante (Reversat *et al.*, 1997) :  $S_t = S_0 \exp(at - 1/a.E_0 \cdot (\exp(at) - 1))$

L’ajustement des courbes a été réalisé en calculant les valeurs de a et de E<sub>0</sub> pour lesquelles l’écart entre la somme des carrés des écarts entre valeurs observées et valeur calculée est la plus faible. Nous avons réalisé les calculs avec S<sub>0</sub> = 1.

Pour les jeux de données issus de l’expérience sur sols non remaniés on obtient ainsi les ajustements décrits dans le Tableau 33.

**Tableau 33** : Ajustement de deux modèles de décroissance (Teissier et exponentiels) aux taux de survie mesurés dans les sols non remaniés.

| Potentiel matriciel              | indicateur     | Femelles        |                    | Mâles           |                    | Juvéniles       |                    |
|----------------------------------|----------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|
|                                  |                | Modèle Teissier | Modèle exponentiel | Modèle Teissier | Modèle exponentiel | Modèle Teissier | Modèle exponentiel |
| <b>Nitisols</b>                  |                |                 |                    |                 |                    |                 |                    |
| 0                                | R <sup>2</sup> | 0,8912          | 0,8871             | 0,8410          | 0,8257             | 0,7519          | 0,7492             |
|                                  | a              | -0,0726         | -0,0788            | -0,0142         | -0,0211            | -0,0561         | -0,0618            |
| - 0,1                            | R <sup>2</sup> | 0,9864          | 0,9884             | 0,7776          | 0,7554             | 0,9559          | 0,9566             |
|                                  | a              | -0,0418         | -0,0476            | -0,0093         | -0,0167            | -0,0585         | -0,0642            |
| - 5                              | R <sup>2</sup> | 0,8679          | 0,8618             | 0,3581          | 0,4696             | 0,7760          | 0,7817             |
|                                  | a              | -0,0325         | -0,0388            | 0,0042          | -0,0066            | -0,0244         | -0,0309            |
| - 165                            | R <sup>2</sup> | 0,8345          | 0,8144             | 0,6455          | 0,6299             | 0,6888          | 0,6825             |
|                                  | a              | -0,0244         | -0,0309            | -0,0029         | -0,0116            | -0,0257         | -0,0324            |
| - 630                            | R <sup>2</sup> | 0,8535          | 0,8216             | 0,7060          | 0,7431             | 0,6267          | 0,6241             |
|                                  | a              | -0,0154         | -0,0226            | 0,0011          | -0,0084            | -0,0230         | -0,0298            |
| <b>Andosols</b>                  |                |                 |                    |                 |                    |                 |                    |
| 0                                | R <sup>2</sup> | 0,9046          | 0,8975             | 0,6786          | 0,6553             | 0,8267          | 0,8272             |
|                                  | a              | -0,0427         | -0,0495            | -0,0249         | -0,0318            | -0,1197         | -0,1259            |
| - 40                             | R <sup>2</sup> | 0,8401          | 0,8194             | 0,4419          | 0,3690             | 0,3604          | 0,3395             |
|                                  | a              | -0,0081         | -0,0159            | -0,0082         | -0,0158            | -0,0578         | -0,0774            |
| - 104                            | R <sup>2</sup> | 0,3673          | 0,2477             | 0,0188          | -0,1309            | 0,3887          | 0,3863             |
|                                  | a              | -0,0125         | -0,0199            | -0,0075         | -0,0150            | -0,1199         | -0,1298            |
| - 273                            | R <sup>2</sup> | 0,7345          | 0,7353             | 0,1080          | -0,0018            | 0,3218          | 0,3179             |
|                                  | a              | -0,0005         | -0,0096            | -0,0042         | -0,0121            | -0,0986         | -0,1103            |
| - 440                            | R <sup>2</sup> | 0,5699          | 0,4731             | 0,6728          | 0,6940             | 0,6323          | 0,5950             |
|                                  | a              | -0,0096         | -0,0171            | 0,0001          | -0,0090            | -0,0330         | -0,0407            |
| <b>Moyennes des 5 potentiels</b> |                |                 |                    |                 |                    |                 |                    |
| nitisol                          | R <sup>2</sup> | 0,8867          | 0,8747             | 0,6656          | 0,6847             | 0,7599          | 0,7588             |
|                                  | a              | -0,0373         | -0,0437            | -0,0042         | -0,0129            | -0,0375         | -0,0438            |
| andosol                          | R <sup>2</sup> | 0,6833          | 0,6346             | 0,3840          | 0,3171             | 0,5060          | 0,4931             |
|                                  | a              | -0,0147         | -0,0224            | -0,0089         | -0,0168            | -0,0858         | -0,0968            |

Les valeurs du coefficient “a” sont suffisamment faibles pour que les résultats soient généralement assez proches. En effet,

$$\lim_{x \rightarrow 0} (\exp(x) - 1) / x = 1$$

Et donc :

$$\lim_{a \rightarrow 0} (\exp(at) - 1/a \cdot E_0 \cdot (\exp(at) - 1)) = \lim_{a \rightarrow 0} (\exp(at) - E_0)$$

Dans les nitisols, ces modèles décrivent bien la décroissance du taux de survie des adultes (Figure 25-1). Le modèle de Teissier est un peu mieux adapté aux femelles. Mais pour les mâles, le modèle exponentiel est au contraire le plus adapté.

De même dans les andosols humides, ces modèles sont proches des données observées avec les femelles. Par contre, dans les andosols secs, les deux modèles décrivent mal le nuage de points qui semble dessiner un plateau (Figure 25-2). De même, dans ces sols, l'évolution des populations de mâles n'est pas bien décrite par ces modèles (Figure 25-3). En remplaçant dans la formule du modèle :

$$S_t = S_0 \cdot \exp(-t/E)$$

par  $S_t = K \cdot S_0 \cdot \exp(-t/E)$ ,

K étant une constante inférieure à 1, on obtient un modèle qui décrit mieux la courbe de mortalité. Ainsi, pour l'andosol à -273 kPa, le  $R^2 = 0,56$ .

Il faut toutefois considérer avec circonspection ces dernières données car les populations initiales de mâles étaient faibles sur trois répétitions (une trentaine d'individus déposés par pilulier, 4 fois moins que de femelles).

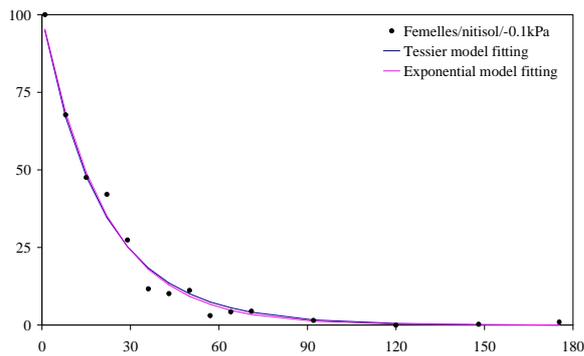


Figure 25-1

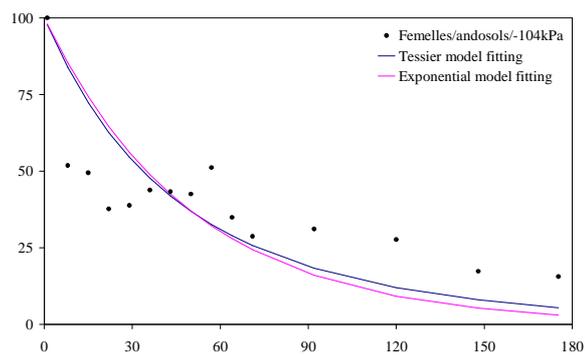


Figure 25-2

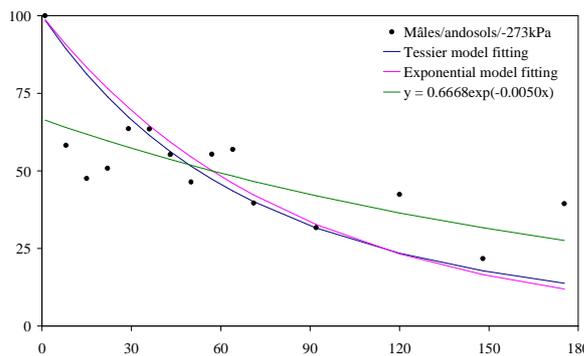


Figure 25-3

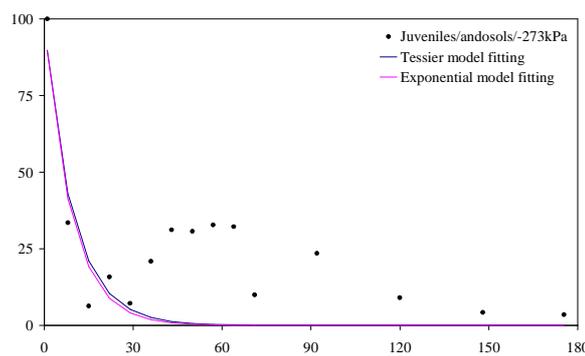
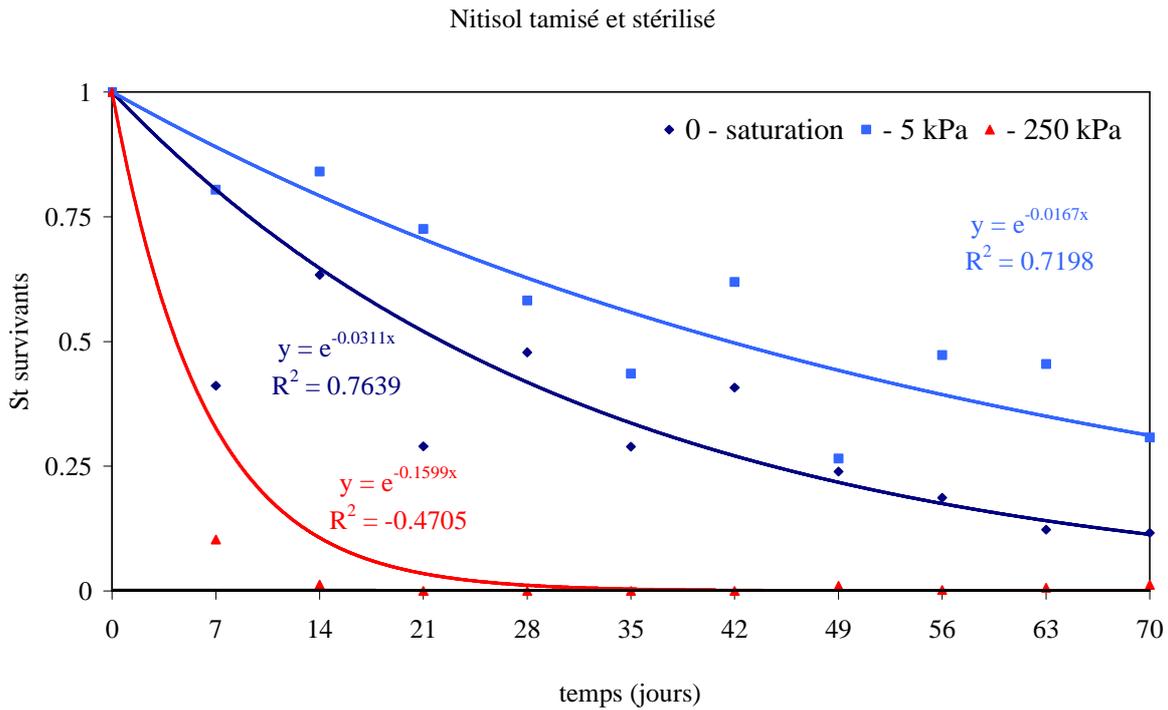


Figure 25-4

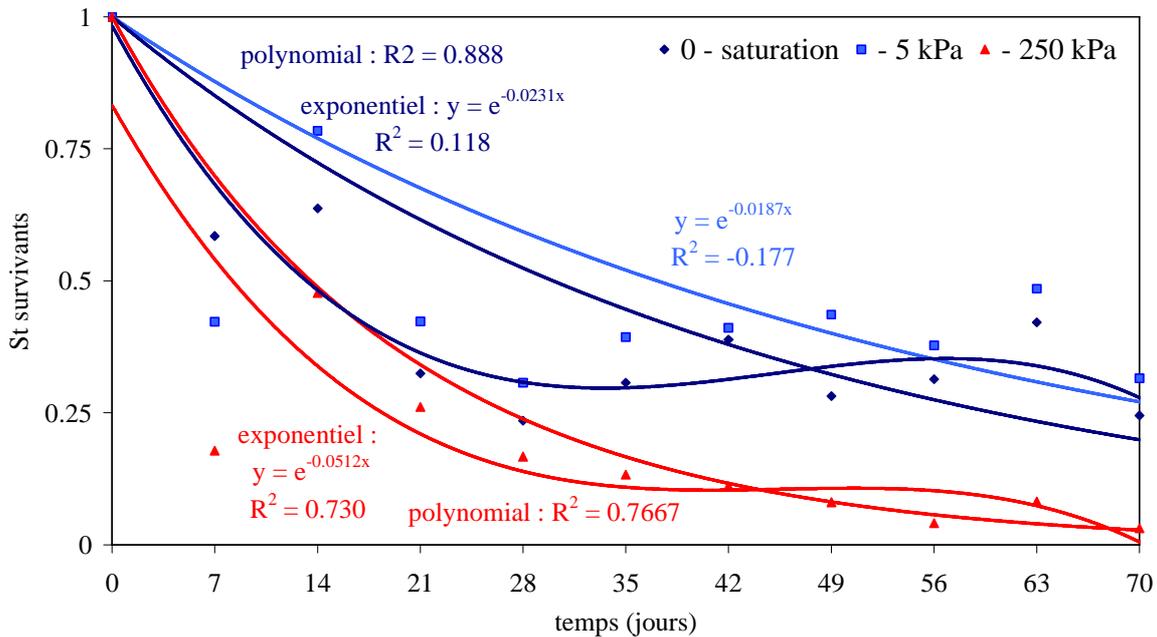
**Figure 25 :** Ajustement de deux modèles de décroissance (Teissier et exponentiel) aux évolutions de populations mesurées dans les sols non remaniés. Figure 25-1 : femelles dans le nitisol humide ; 25-2 : femelles dans l'andosol bien drainé, (cas où les modèles décrivent le moins bien l'évolution des populations de femelles) ; 25-3 mâles et 25-4 juvéniles dans l'andosol bien drainé (cas où les modèles décrivent le moins bien l'évolution des populations). Abscisses : temps en jours. Ordonnées :  $S_t$  (nombre d'individus dénombrés à l'instant t / nombre d'individus dénombrés le premier jour)

Pour les juvéniles, les populations sont grossièrement conformes au modèle dans les nitisols, mais pas dans les andosols. Dans ces derniers cas, les populations augmentent en début d'étude (Tableau 31) ; nous n'observons donc pas la survie mais une évolution de population dans laquelle des individus meurent tandis que des jeunes issus de pontes apparaissent (Figure 25-4)

Lors de l'essai sur sols tamisés et stérilisés, ces modèles décrivaient assez bien l'évolution des populations de *R. similis* (Figure 26). Par contre, pour *P. coffeae*, ces modèles sont complètement inadaptés (Figure 27).



**Figure 26** : Ajustement du modèle de décroissance exponentielle aux évolutions de populations mesurées dans les sols remaniés. Cas de *Radopholus similis* dans le nitisol. En bleu marine : modèle ajusté pour le sol saturé, en bleu clair : sol à -5 kPa, en rouge sol à -250 kPa.



**Figure 27** : Ajustement du modèle de décroissance exponentielle aux évolutions de populations mesurées dans les sols remaniés. Cas de *Pratylenchus coffeae* dans le nitisol. En bleu marine : modèle ajusté pour le sol saturé, bleu clair : sol à -5 kPa, en rouge sol à -250 kPa.

## 1.6 Discussion

Lors de ces études, nous avons montré que *R. similis* est ainsi capable de survivre au-delà de six mois : en excluant les sols saturés en eau, il restait de 1,7 à 9,3 % de la population apportée dans le nitisol, 9,5 à 11,9 % dans l'andosol non perturbé. Les demi-vies mesurées des femelles étaient comprises entre 5 à 13 semaines dans les sols non perturbés.

Ces chiffres sont nettement plus élevés que ceux que la bibliographie laissait prévoir. En effet, lors des essais de Birchfield (1957) et de Feldmesser *et al.*, (1960), les populations de *R. similis* n'étaient plus capables d'infester un plant après avoir passé plus de 4 mois dans un sol à 23°C et sans ressources alimentaires. Tarjan (1961) ne retrouvait plus de *R. similis* dans ces échantillons de sol au-delà du cinquième mois. Ces derniers travaux, qui se rapprochent plus des nôtres (Tarjan recherchant les survivants dans le sol, et non dans des racines de plante-piège), ont été réalisés dans des champs en Floride, à des températures bien plus faibles que celles auxquelles nous avons soumis nos piluliers. Nous avons en effet travaillé à des températures comprises entre 25 et 29 °C, très proches de l'optimum thermique de *R. similis* (Fallas et Sarah, 1995 ; Pinochet *et al.*, 1995). Or, *R. similis* est assez sensible aux températures fraîches, ce qui explique la distribution de ce nématode au Cameroun et à Ceylan ; dans cette dernière île, *R. similis* est fréquemment rencontré en deçà de 200 m d'altitude, et disparaît au-delà de 1 000 m (Gnanapragrasam et Mohotti, 2005).

Le modèle de décroissance de Teissier, et dans une moindre mesure, le modèle exponentiel, décrivent assez bien l'évolution des populations de femelles. Lors de ces essais, il n'a pas été possible de séparer les effets de la mortalité liés au jeûne et au vieillissement ; deux autres

facteurs pourraient perturber ces modèles et les rendre inutilisables : la capacité d'entrer en vie ralentie et la naissance de nouveaux individus.

Ainsi, lors de notre premier essai, les populations de *Pratylenchus coffeae* ne suivaient ni une décroissance exponentielle ni une décroissance selon le modèle de Teissier. Selon Tobar *et al.* (1995), il fallait respectivement 6 et 12 jours pour que 68 % et 95 % d'une population de *Pratylenchus thornei* sorte d'anhydrobiose. Il est ainsi probable que le temps de macération en Baermann soit trop faible pour permettre à la majorité des *Pratylenchus* en vie ralentie et éventuellement présents dans le sol sec de se réhydrater. Pour *Pratylenchus coffeae*, nous ne mesurons donc pas une proportion d'individus vivants mais une proportion d'individus actifs. A contrario, les bons ajustements obtenus avec les femelles de *R. similis* sont probablement liés à l'absence de forme de survie efficace.

L'évolution des populations de juvéniles correspond mal aux prévisions du modèle exponentiel et de celui de Teissier. Ceci est dû au fait que la durée des stades juvéniles de *R. similis* ne représente qu'environ deux fois le pas de temps séparant les observations d'une même série. Nous n'observons pas une courbe de survie, mais l'évolution de cohortes successives d'individus qui naissent puis soit meurent, soit deviennent adultes. Toutefois, le fait que peu de juvéniles âgés soient observés au-delà de la quatrième semaine d'étude semble indiquer que, au-delà du mois, très peu de juvéniles arrivent à l'âge adulte. Il paraît probable que, en l'absence de ressources alimentaires, les juvéniles ne puissent poursuivre leur développement normalement. L'apparition de nouvelles cohortes d'adultes a donc été marginale et n'aurait pas ou peu influencé les courbes de survie (sauf peut être au tout début). Pour les adultes, ces courbes ne sont pas perturbées par l'arrivée de nouveaux individus et nos modèles de décroissance décrivent ainsi assez bien l'évolution des populations d'adultes.

Ainsi, les courbes de survie des mâles dans les nitisols peuvent être bien décrites avec le modèle exponentiel. Les mâles ne se nourrissant pas, les effets du vieillissement et du jeûne sur la mortalité sont confondus. Pour les andosols, le modèle décrit l'évolution des populations de manière moins satisfaisante. Mais les populations de mâles utilisées sur les trois dernières répétitions étaient faibles et l'imprécision des mesures ne nous permet pas de conclure au-delà des conclusions du modèle logistique adapté aux dispersions binomiales.

Le modèle met en évidence un effet très significatif du sexe sur la survie de *R. similis*. La meilleure capacité de survie des populations de mâles est surprenante. La bibliographie ne mentionne pas de tels phénomènes ; mais dans les publications qui traitent de la survie des *Pratylenchidae* les sexes des individus ne sont pas pris en compte. D'après Demeure *et al.* (1978), Reversat (1980) et Hass *et al.* (2002), la survie d'un nématode actif dépend de ses réserves lipidiques. Or, chez *R. similis*, ces réserves sont bien plus abondantes chez les femelles que chez les mâles. Nous nous attendions donc au départ à ce que seules les femelles survivent longtemps.

Plusieurs hypothèses peuvent être posées :

- Les jeunes juvéniles nés des femelles au cours de l'expérience auraient évolué en mâles. Chez certains nématodes, en particulier chez *Meloidogyne spp.*, les mâles sont surtout observés lorsque les conditions de milieu sont défavorables (Siddiqi, 2000). Cependant, cette possibilité n'est pas démontrée chez les *Radopholinae*. Cela nous paraît peu probable : les juvéniles disparaissent rapidement dans les premières semaines de l'essai ; en l'absence de nourriture, les juvéniles ne peuvent pas assurer la totalité de leur développement. De plus, si nous avons effectivement observé sur nitisol une réapparition

des juvéniles au 63<sup>e</sup> et 70<sup>e</sup> jour, (juvéniles provenant probablement de pontes dans les jours précédents) nous n'avons observé que 2 individus au 90<sup>e</sup> jour (sur 60 échantillons de sol !) et aucun ultérieurement.

- Les mâles pourraient être moins sensibles aux éventuelles substances toxiques présentes dans les plastiques des piluliers et boîtes de Pétri ; mais nous n'avons rien observé de tel lors de l'essai préliminaire.
- Les femelles auraient utilisé une partie de leurs réserves pour chercher de la nourriture, développer et pondre des œufs (d'où la réapparition de jeunes juvéniles autour du 70<sup>e</sup> jour et de manière sporadique, autour des 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> mois). Inversement, les mâles, qui ne se nourriraient pas, n'auraient pas utilisé leurs réserves ni pour chercher de la nourriture ni pour pondre ; leur activité métabolique aurait été plus faible. Cette dernière hypothèse paraît la plus vraisemblable.

Au cours de ces deux études successives, l'état hydrique du sol a influencé très significativement les capacités de survie de *R. similis*. Mais les conclusions sont totalement opposées : dans les deux sols non perturbés, l'espérance de vie augmente lorsque le sol est sec. Dans les matériaux issus de sols tamisés et stérilisés, la survie est optimale dans les sols humides et ressuyés, et bien meilleure dans les milieux saturés que dans le milieu le plus sec.

Pour expliquer les différences observées entre ces séries d'essais, nous pouvons émettre plusieurs hypothèses :

- La toxicité d'un élément présent dans le sol. Si la stérilisation du sol par la chaleur peut dégager certaines substances toxiques pour les nématodes, comme par exemple le manganèse, il est douteux que des substances nématotoxiques initialement présentes soient détruites par la congélation : aucun nématocide ou insecticide n'avait été épandu sur ces parcelles au cours des 5 dernières années. De plus, cette hypothèse n'est guère en accord avec la présence de nombreux *Rotylenchulus*.
- la toxicité d'un élément présent dans le matériel, par exemple un plastifiant utilisé dans la fabrication des piluliers. L'essai préliminaire a permis de prévenir en partie cet artéfact.
- La modification de la porosité du sol. En desséchant puis en tamisant le sol, nous avons obtenu un matériau dont la porosité apparente peut être totalement différente de celle du sol de départ. De plus, les phases de congélation ont pu modifier sensiblement la structure du sol, l'augmentation de volume lors de la transition eau – glace provoquant l'éclatement des agrégats. Dans les sols reconstitués, il est possible que le milieu de vie soit moins favorable à la pénétration de *R. similis* dans le sol ; dans les sols secs, à humidité pondérale équivalente, la disponibilité en eau peut être différente, et donc l'humidité optimale pour la survie diffère. Il est cependant peu probable que ces modifications expliquent à elles seules les différences observées.
- La présence d'un antagoniste de *R. similis* dans les sols ; en effet, ceux-ci ont été stérilisés par congélation lors du premier essai et non lors du second. Toutefois, si nous avons observé d'autres bactériophages et phytophages dans les suspensions extraites lors de l'essai 2 (nombreux *Rotylenchulus reniformis*, quelques *Hoplolaimus* et *Helicotylenchus*, rares *Meloidogyne* et *Criconema*), nous n'avons observé que très peu de nématodes prédateurs (rares *Mononchoideae* sur deux échantillons d'Ajoupa-Bouillon) et aucun nématode parasité par des bactéries et/ou des champignons. Cependant, nos méthodes d'extraction ne permettent pas de détecter des champignons, des bactéries ou de nombreux microarthropodes. Certains antagonistes peuvent agir en émettant des substances toxiques dans le milieu (Sikora et Pocasangre, 2004 ; Athman *et al.*, 2006) et n'ont pas pu être détectés.

Cette dernière hypothèse, qui nous paraît ainsi plausible, est intéressante ; elle constitue un argument supplémentaire en faveur des études sur les interactions entre êtres vivants, études susceptibles de déboucher sur la mise au point de méthode de lutte biologique utilisant des organismes antagonistes (Zum Felde *et al.*, 2006b ; Athman *et al.*, 2007).

Quoi qu'il en soit, la survie n'est pas optimale dans les milieux saturés en eau. Ces milieux présentent en effet des conditions d'anoxie qui impliquent, pour les nématodes qui y vivent, des adaptations spécifiques : capacités à assurer le métabolisme de base en anoxie, voir à le ralentir, à excréter les produits de la fermentation et à adapter le comportement (Reversat, 1975). La capacité de survie de *Radopholus similis* dans l'eau risque d'être totalement différente de celle que nous avons observée dans le sol.

## 2 Survie dans les eaux de *R. similis*

Au-delà de la stricte problématique du maintien des populations dans le milieu, la connaissance de la survie de *R. similis* dans l'eau est un élément important pour évaluer ses chances de dispersion par les eaux. Cette voie est considérée comme très probable depuis les travaux de DuCharme (1955). Or, depuis les travaux de Birchfield (1957) et de Loos (1961), peu d'études ont été réalisées sur cette question.

Nous avons cherché à évaluer la capacité de survie dans de l'eau et dans des solutions de sol correspondant aux différents types de capillaires susceptibles d'abriter des nématodes.

### 2.1 Matériel et méthode

#### 2.1.1 Principe

Des populations de nématodes ont été déposées dans des tubes à essais préalablement remplis de 50 mL de diverses solutions aqueuses (Tableau 36). Au bout de 0 à 35 jours (Tableau 34), les suspensions sont homogénéisées par bullage et un aliquote de 5 mL a été prélevé et coloré au bleu de Meldola. L'aliquote a été tamisé le lendemain à 5 µm ; les nématodes retenus par le tamis ont ensuite été récupérés dans de l'eau, mis en suspension et dénombrés à l'aide d'un microscope optique à fond inversé.

**Tableau 34** : Essai survie dans les eaux de *R. similis* : nombre de jours entre mise en suspension et prélèvement d'un aliquote pour coloration au bleu de Meldola et dénombrement des survivants.

| Prélèvement n°    | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6  | 7  | 8  | 9  |
|-------------------|---|---|---|---|---|----|----|----|----|
| Répétitions 1 à 3 | 0 | 1 | 2 | 4 | 7 | 14 | 21 | 28 | 35 |
| Répétitions 4 à 6 | 0 | 1 | 3 | 4 | 8 | 14 | 21 | 28 | 35 |

Nous avons ainsi pu suivre la décroissance des populations dans différents milieux liquides : eau distillée, eau du robinet, solutions de sol. Ces dernières ont été obtenues par centrifugation d'échantillons de sol saturés en eau.

#### 2.1.2 Obtention des solutions de sol

Des échantillons de sols bruns rouille à halloysites (nitisols) ont été prélevés sur la parcelle "Pomme Haut" du domaine CIRAD de Rivière Lézarde. Ce domaine est situé au centre de la Martinique sur la commune de Saint Joseph, à 65 m d'altitude (carte en annexe 3 page 180).

La parcelle est occupée par un verger enherbé de limetier, la couverture herbacée étant constituée d'un mélange d'*Arachis pintoi* et de *Poaceae* diverses (essentiellement *Digitaria*, *Paspalum*, et *Brachiaria*). Une analyse préliminaire a permis de vérifier l'absence de *R. similis* dans ce sol.

Nous avons d'abord retiré la couverture végétale et la surface du sol. Les mottes de terre ont ensuite été prélevées à l'aide d'une bêche plate, entre - 5 et - 20 cm de profondeur et déposées dans une caisse en plastique. Le sol a été humecté jusqu'à saturation avec de l'eau bidistillée. L'ensemble a ensuite été laissé en place pendant 3 jours à l'ombre et à 24-26°C . Ensuite, des aliquotes de sol ont été prélevés et déposés dans 8 tubes à centrifuger de 500 mL chacun.

Pour obtenir la solution de sol, il faut exercer une force contrebalançant les forces de capillarité. Nous avons pour cela utilisé une centrifugeuse. Des centrifugations successives ont permis d'extraire des solutions de sol correspondant à des gammes de capillaires de tailles décroissantes. Dans une centrifugeuse, l'accélération G ("force gravitationnelle relative") est donnée par la formule :

$$G = 1,119 \cdot 10^{-5} \times r \times N^2$$

où "r" est le rayon de rotation du rotor (dans notre cas, 12 cm) et "N" la vitesse de rotation (en tours par minute). Soit encore :  $N = (G / (1,119 \cdot 10^{-5} \times r))^{1/2}$

De plus, selon la loi de Jurin, la force de succion capillaire est reliée au diamètre des pores par la formule :  $F = h \cdot \rho \cdot g$

où "h" désigne l'ascension de l'eau dans un capillaire de rayon "r", "ρ" et "g" respectivement la masse volumique de l'eau et l'accélération de la pesanteur (9.81 m.s<sup>-2</sup>).

Nous en avons déduit le Tableau 35:

**Tableau 35** : Calculs des paramètres de réglage de la centrifugeuse pour obtenir des solutions de sol provenant des capillaires.

| diamètre des capillaires (µm) | pF équivalents | potentiel équivalent (kPa) | G (ms <sup>-2</sup> ) | N (tour.mn <sup>-1</sup> ) |
|-------------------------------|----------------|----------------------------|-----------------------|----------------------------|
| 300                           | 1              | -1                         | 9,81                  | 270                        |
| 30                            | 2              | -10                        | 98,1                  | 855                        |
| 3                             | 3              | -100                       | 981                   | 2 703                      |

Nous avons ainsi obtenues 3 solutions de sol correspondant à 3 gammes de capillaires : solutions 1 (capillaires de grande taille, plus de 300 µm), 2 (30 à 300 µm) et 3 (à l'échelle de *R. similis*, capillaires de petite taille, 3 à 30 µm). Les capillaires de taille inférieure, trop petit pour permettre l'entrée de *R. similis*, n'ont pas été pris en compte.

### 2.1.3 Solutions testées

La composition minérale des solutions de sol a été analysée selon les méthodes utilisées en routine pour les analyses de sol (Tableau 36). Ces solutions sont assez pauvres en éléments minéraux et leur composition diffère peu de celle de l'eau du robinet. Bien que le sol ait été préalablement humecté à l'eau distillée, les teneurs en chlore des solutions extraites sont équivalentes à celle de l'eau du robinet.

Les solutions de sols correspondant aux potentiels de -1 et -10 kPa sont très proches l'une de l'autre. La solution correspondant au potentiel de - 100 kPa est un peu plus riche en sodium, nitrates et fer.

**Tableau 36** : Analyse minérale des solutions de sol extraites par centrifugation. Les numéros de solution correspondent au pF calculé de l'échantillon de sol après centrifugation.

|                          | Eau Distillée | Eau robinet | Sol. 1 | Sol. 2 | Sol. 3 |
|--------------------------|---------------|-------------|--------|--------|--------|
| ph                       | 5,33          | 6,93        | 5,74   | 5,68   | 5,84   |
| Conductivité mS/cm       | 8,6           | 181,1       | 134,9  | 133,6  | 175,4  |
| Potassium g % g          | 0,00          | 0,00        | 0,00   | 0,00   | 0,00   |
| Calcium g % g            | 0,00          | 30,00       | 15,58  | 10,28  | 8,50   |
| Magnésium g % g          | 0,00          | 3,30        | 4,05   | 3,25   | 4,00   |
| Azote Ammoniacal<br>mg/L | 0,00          | 0,00        | 0,00   | 0,00   | 0,00   |
| Nitrate mg/L             | 0,00          | 1,00        | 10,70  | 10,45  | 11,88  |
| Fer mg/L                 | 0,00          | 0,00        | 0,02   | 0,04   | 0,06   |
| Manganèse mg/L           | 0,00          | 0,00        | 0,00   | 0,00   | 0,00   |
| Zinc mg/L                | 0,00          | 0,00        | 0,00   | 0,00   | 0,00   |
| Sodium mg/L              | 0,00          | 7,34        | 4,06   | 4,22   | 6,66   |
| Chlore mg/L              | 0             | 114         | 114    | 90     | 114    |

#### 2.1.4 Analyses statistiques

Nous avons d'abord calculé la proportion de survivants pour chaque date t selon la formule :

$$S_t = N_t / N_0$$

Où "N<sub>0</sub>" et "N<sub>t</sub>" désignent les nombres d'individus observés au bout de 0 et t jours dans le même tube. Par la suite, nous avons cherché à comparer l'évolution au cours du temps de cette proportion de survivants "S" (facteur analysé) en fonction des autres paramètres : nature de la solution et état du nématode (sexe, pour les adultes, ou juvéniles).

Comme pour les études de survie dans les sols, nous ne pouvions utiliser des régressions linéaires après transformations selon un modèle préétabli, car les résidus étaient distribués selon une loi binomiale. Nous avons donc utilisé le même modèle logistique adapté aux dispersions binomiales.

## 2.2 Résultats

Les hypothèses de dispersion binomiale des résidus sont bien respectées et nous pouvons appliquer notre modèle GLM. Ce modèle montre que, pour les mâles et les juvéniles, la survie dans les solutions de sol correspondant au potentiel de - 100 kPa est significativement réduite. En revanche, pour les femelles, cette solution permet les survies les plus longues (Tableau 37 et Figure 28).

Nous n'observons que peu de différences significatives entre les survies dans les solutions correspondant aux potentiels de - 1 ou - 10 kPa (en cyan et magenta sur la Figure 28).

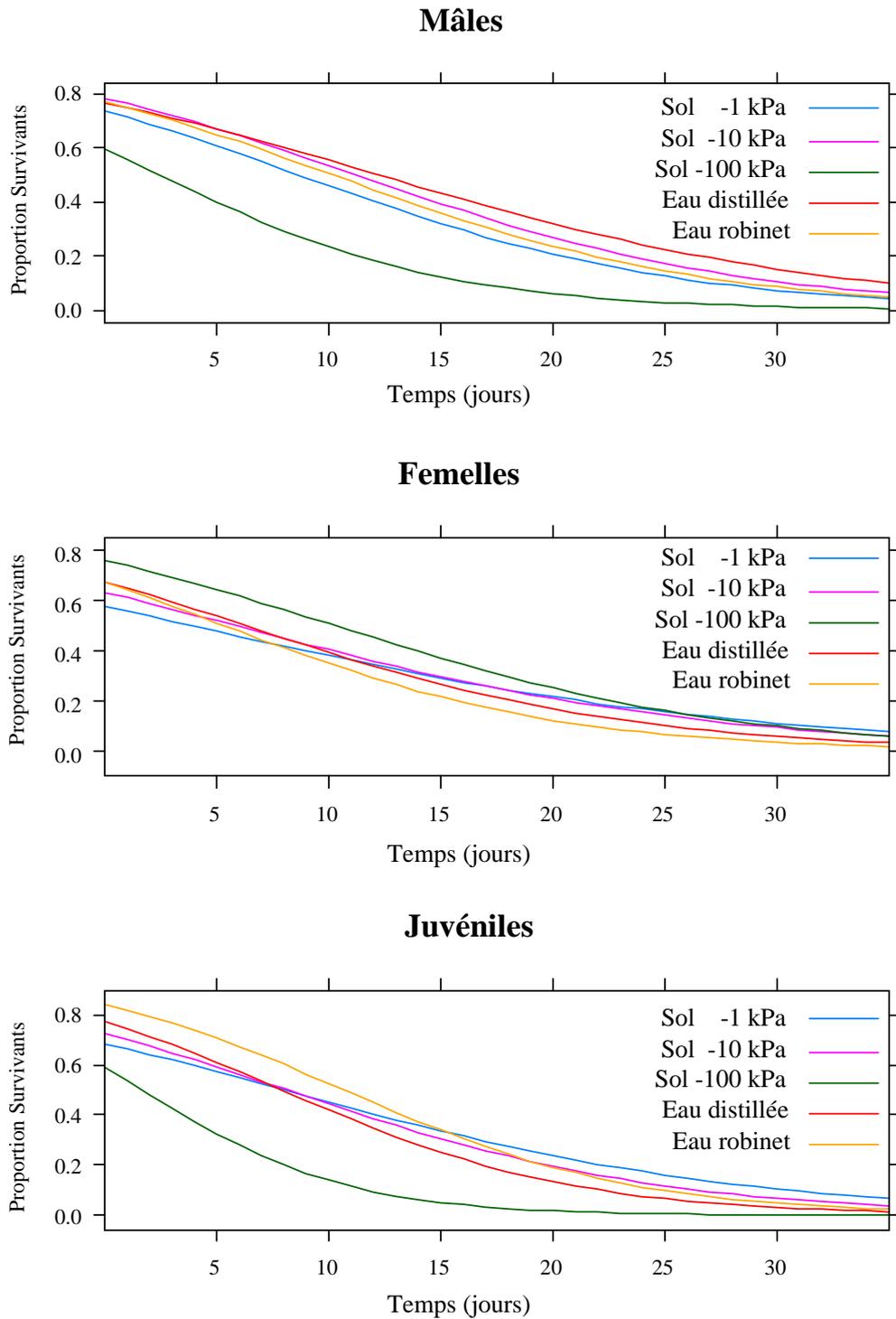
Les populations de mâles diminuent moins vite que celles des femelles (Tableau 38) : la durée moyenne à partir de laquelle il ne reste que la moitié de la population est de 8,8 jours pour les mâles, contre 6,2 jours pour les femelles (soit 40 % de plus pour les mâles). Par contre, en fin d'expérimentation, les taux de survie sont du même ordre de grandeur. Les taux de survie des juvéniles sont toujours légèrement inférieurs à ceux des mâles : le rapport entre le taux de survie des juvéniles et des mâles est d'environ 85 % tout au long de l'expérience.

**Tableau 37** : Analyse de déviance de l'essai "survie dans les eaux et solutions de sol". HHS : significatif pour  $P = 0.0001$ .

| Facteur             | Intitulé                          | ddl | Déviance résiduelle | $P > \text{Chi}^2$ |     |
|---------------------|-----------------------------------|-----|---------------------|--------------------|-----|
| Etudiés             | Solution                          | 4   | 194,6               | $< 10^{-5}$        | HHS |
|                     | Nombre de jours                   | 1   | 12013,5             | $< 10^{-5}$        | HHS |
|                     | Sexe                              | 2   | 175,0               | $< 10^{-5}$        | HHS |
| interactions        | Solution x nombre de jours        | 4   | 99,2                | $< 10^{-5}$        | HHS |
|                     | Solution x sexe                   | 8   | 552,0               | $< 10^{-5}$        | HHS |
|                     | Nombre de jours x sexe            | 2   | 77,4                | $< 10^{-5}$        | HHS |
|                     | Solution x nombre de jours x sexe | 8   | 127,4               | $< 10^{-5}$        | HHS |
| Déviance résiduelle |                                   | 402 | 16276,0             |                    |     |

**Tableau 38** : Durée (en jours) calculées avec le modèle logistique au bout de laquelle il ne reste plus que la moitié et le dixième des populations initiales de mâles et femelles de *R. similis* dans les solutions étudiées.

| Milieu \ $S_t =$ | Mâles |     | Femelles |     | Juvéniles |     |
|------------------|-------|-----|----------|-----|-----------|-----|
|                  | 0,5   | 0,1 | 0,5      | 0,1 | 0,5       | 0,1 |
| Eau Distillée    | 12    | 34  | 6        | 25  | 8         | 22  |
| Eau robinet      | 10    | 28  | 5        | 21  | 11        | 25  |
| Sol. 1           | 8     | 27  | 4        | 31  | 8         | 30  |
| Sol. 2           | 11    | 30  | 6        | 29  | 8         | 26  |
| Sol. 3           | 3     | 16  | 10       | 30  | 2         | 12  |



**Figure 28:** Evolution de la proportion de *R. similis* survivants dans les solutions de sols et dans les eaux ; les courbes de régression ont été calculées à partir d'un modèle logistique GLM adapté aux dispersions binomiales.

## 2.2 Discussion

Les espérances de vie de *R. similis* mesurées au cours de cette étude sont légèrement inférieures à celles mesurées par Loos (1961) qui retrouvait au bout de 35 jours 11 % des

populations initiales de femelles et 10 % des mâles, contre 7,7 % des femelles et 7,3 % des mâles dans notre expérience. Les travaux de Loos (1961) ont toutefois été réalisés sur une cohorte d'individus plus faibles (240 individus), alors que nous avons observé 2 450 individus au total à l'issue du prélèvement numéro 1.

Loos (1961) avait poursuivi ses observations jusqu'à la mort du dernier nématode, ce que nous n'avions pu faire car la coloration au bleu de Meldola est susceptible d'influencer l'espérance de vie des nématodes. Loos (1961) avait mesuré des durées de vie maximales de 9 semaines pour les femelles, 6 semaines pour les femelles gravides et 7 semaines pour les mâles. Ces résultats paraissent cohérents avec les nôtres.

Contrairement à ce que nous avons observé dans les sols, l'espérance de vie des mâles et des femelles est du même ordre de grandeur. Au cours de cette expérience, les nématodes sont recouverts d'une colonne d'eau. D'après Wallace (1958a) ils ne peuvent alors pratiquement plus se déplacer efficacement. Dans les tubes à essais, les femelles non gravides ne peuvent ainsi plus utiliser de l'énergie pour chercher de la nourriture. Enfin, Loos (1961) avait mis dans un tube à part des femelles qui étaient gravides au début de son expérience. Leur plus faible espérance de vie peut s'expliquer par les dépenses énergétiques nécessaires à la ponte des œufs.

Ces résultats ne sont donc pas en désaccord avec l'hypothèse que nous avons retenue à l'issue des études de survie dans le sol : les femelles survivraient moins longtemps dans les sols car elles dépenseraient plus d'énergie en recherchant de la nourriture et en pondant des œufs. Dans les tubes à essais remplis d'eau, les femelles non gravides ne dépenseraient pas nécessairement plus d'énergie que les mâles et survivraient aussi, voir un plus longtemps.

Quoi qu'il en soit, *R. similis* est capable de survivre plusieurs semaines dans les eaux. Il est donc possible qu'il soit disséminé passivement par les eaux de ruissellement. C'est ce que nous allons étudier dans la quatrième partie.

## Partie 4 : Dissémination par les eaux

### 1 Observations préliminaires

Dès 2001, des premiers tests avaient été réalisés pour évaluer les risques de dissémination de *R. similis* par les eaux d'irrigation. Nous avons alors posé cette hypothèse car nous avons observé que des parcelles i) situées en haut de collines ii) plantées avec des vitro-plants et iii) n'ayant pas portées de bananiers au cours de la décennie précédente avaient été contaminées en moins d'un an.

En 2001, nous avons alors prélevé deux échantillons de 20 L d'eau :

- provenant de la Rivière Lézarde au niveau d'un point de captage CIRAD
- reçue au sol dans une parcelle en fin de jachère après irrigation par aspersion. Le réseau et les asperseurs de la parcelle servaient pour la première fois, ainsi que les cuvettes réceptrices en surface.

Nous avons trouvé des populations similaires : 24 *R. similis* pour 20 L dans l'eau de la Rivière, 27 *R. similis* pour 20 L dans l'eau collectée sous les asperseurs. Dans les deux échantillons, tous les individus étaient motiles, donc vivants.

En 2002, nous avons suivi les populations de nématodes transportés par les eaux de deux rivières utilisées pour irriguer les bananeraies. L'étude a été réalisée au niveau de stations de pompage situées en aval de plantations contaminées, sur la Rivière Lézarde (ancienne habitation du CIRAD) et à Assier (Rivière du Lorrain). Au cours de la saison sèche (de mars à début juillet), nous avons prélevé chaque semaine 20 litres d'eau en plongeant un jerrican ; l'ouverture était située entre 5 et 15 cm du fond de la rivière.

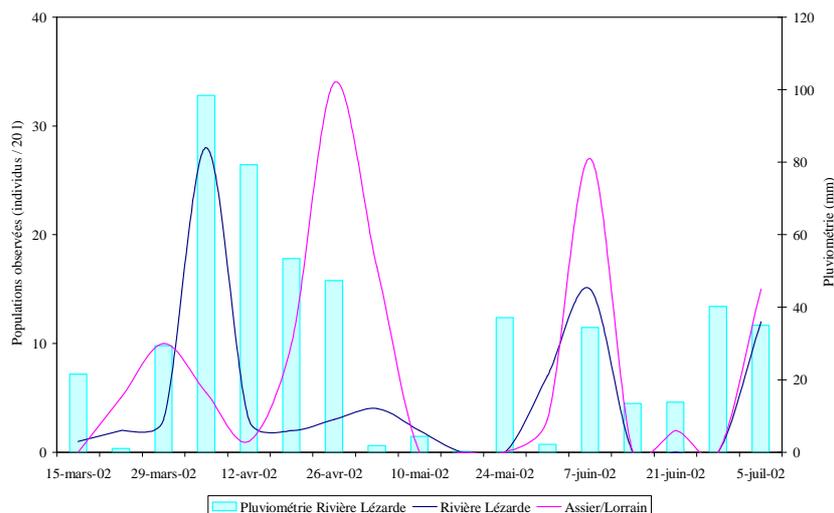
L'échantillon était ensuite mis à décanter au laboratoire pendant deux heures ; la partie supérieure était éliminée à l'aide d'une trompe à eau, les 3 derniers cm au fond du jerrican récupérés et mis à décanter dans une éprouvette de deux litres. L'opération était ensuite répétée deux fois : après 2 heures de décantation, les fonds ont été successivement transférés dans un tube à décanter, puis dans une cellule de comptage de 5 mL. Les nématodes présents ont alors été déterminés et dénombrés à l'aide d'un microscope optique.

En moyenne, nous avons observé 7,6 *R. similis* dans les eaux à Rivière Lézarde et 4,8 au Lorrain (soit respectivement 381 et 241 *R. similis* par m<sup>3</sup> d'eau). La majorité des femelles observées étaient motiles, donc vivantes.

Les échantillons collectés (20 l) ont un volume du même ordre de grandeur que les échantillons de 58 gallons (18,9 l) qu'avaient prélevés Faulkner et Bolander (1970a). Ceux-ci collectaient ainsi 5 à 52 nématodes de toutes espèces / litres. En prenant en compte les autres espèces de Tylenchida observées, nous n'avons retrouvé qu'environ 1 000 individus par m<sup>3</sup> (Tableau 39).

**Tableau 39** : Populations de nématodes collectées dans les eaux de 2 rivières (en nématodes / m<sup>3</sup>)

| Site            | <i>R. similis</i> | <i>Helicotylenchus</i><br><i>spp.</i> | <i>Meloidogyne</i><br><i>spp.</i> | <i>Pratylenchus</i><br><i>coffeae</i> | autres |
|-----------------|-------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|--------|
| Assier          | 364               | 346                                   | 54                                | 92                                    | 4      |
| Rivière Lézarde | 262               | 512                                   | 123                               | 73                                    | 54     |



**Figure 29** : Courbes : évolution des populations de *Radopholus similis* dénombrées dans les eaux des rivières Lézarde et du Lorrain (en nématodes pour 20 litres d'eau). Histogramme : pluviométrie de Rivière Lézarde

Ces résultats suggèrent que i) *R. similis* peut être disséminé par les eaux de façon passive à l'échelle d'un bassin versant ; ii) peut contaminer les plantations situées en aval, via les eaux d'irrigation ; iii) les populations sont très difficiles à évaluer *in situ* car de faibles densités.

Curieusement, aucune relation évidente ne liait la pluviométrie aux populations de nématodes observées dans les eaux (Figure 29). Ceci rejoint les observations des différents auteurs ayant étudié le transport des nématodes par les eaux (Faulkner et Bolander, 1970a ; Waliullah, 1989, Tapia *et al.*, 2007) : aucun d'entre eux n'avait pu établir les relations entre conditions climatiques et les populations observées.

Les phénomènes régissant la dispersion par les eaux de pluie sont ainsi mal connus. Des expérimentations en milieu contrôlé réalisées sous d'autres climats avec d'autres types de nématodes ont permis d'acquérir des éléments sur la dispersion des nématodes par les eaux de ruissellement (Cadet et Albergel, 1999, Cadet *et al.*, 2002) et par les eaux qui circulent dans les horizons superficiels du sol (Dennis *et al.*, 1998). Nous avons ainsi étudié successivement la dispersion par les eaux en conditions contrôlées (échelle décimétrique), puis, au champ (échelle décamétrique) à partir de suivi de la contamination d'une parcelle.

## 2 Dissémination à la surface du sol sous simulateur de pluie

Pour évaluer l'aptitude de *R. similis* à la dissémination par les eaux de surface, nous avons versé une suspension calibrée de nématodes sur une micro-parcelle sur laquelle nous avons appliqué une pluie à l'aide d'un simulateur de pluie. Puis, nous avons prélevé des échantillons de sol en aval de la zone d'apport pour en extraire les nématodes éventuellement présents. Ce travail a été réalisé sous simulateur de pluie et a fait l'objet de la publication ci-après.

### Description du simulateur de pluie

Plusieurs simulateurs de pluie sont décrits dans la littérature (Esteves *et al.* 2000). Celui d'Asseline et Valentin (1978) a été initialement conçu pour étudier l'effet des pluies tropicales sur les intensités de ruissellement et d'infiltration dans les sols et pour évaluer les facteurs impliqués dans le déclenchement de l'érosion. Largement testé et validé en Martinique, il

permet de simuler correctement une pluie engendrant du ruissellement (Khamsouk et Roose, 2003). Cet appareil a de plus été utilisé avec succès pour observer la dispersion de ravageurs à l'échelle métrique (Le Rû et Iziquel, 1990).

Il est constitué de 4 parties :

- 1- Un cadre en fer de 1 m x 1 m qui délimite la zone d'étude, ou placette. Les bords sont enfoncés sur 6 cm dans le sol pour isoler de l'extérieur la surface du sol ; le côté aval présente des orifices débouchant sur un canal collecteur puis sur un exutoire qui récupère l'eau de ruissellement.
- 2- Une potence, fixée sur le coté amont du cadre. Elle porte à son sommet un gicleur oscillant qui est placé à la verticale du centre du cadre, à 4 m de hauteur. Le gicleur est mû par un moteur d'essuie-glace qui lui donne un mouvement de balancier. Le réglage de l'angle d'oscillation permet à la pluie de couvrir une surface plus ou moins grande, alors que la quantité d'eau utilisée reste constante à pression donnée. On peut ainsi faire varier l'intensité de pluie entre 30 mm/h à 140 mm/h. Cet angle peut être rapidement modifié depuis une centrale de programmation au sol pour obtenir des pluies d'intensité déterminée. L'eau est apportée par le réseau d'irrigation ; la pression est fixée à 0,4 bars à l'aide d'un régulateur.
- 3- une tente à armature métallique pyramidale de 4 mètres de haut, qui permet d'isoler le dispositif des perturbations extérieures (vent, pluie ...)
- 4- un bac récupérateur d'eau équipé d'un limnigraphe.

L'étude réalisée avec cet appareil sur le site de Rivière Lézarde a fait l'objet de la publication ci-après.

Publication pour *Applied Soil Ecology* n°1<sup>7</sup> (n°41, p. 148-156) :

**Nematode dispersion by runoff water: Case study of *Radopholus similis* (Cobb) on nitisol under humid tropical conditions.**

Christian Chabrier<sup>1\*</sup>, Celine Carles<sup>1</sup>, Catherine Desrosiers<sup>1</sup>, Patrick Quénéhervé<sup>2</sup> and Yves-Marie Cabidoche<sup>3</sup>

<sup>1</sup> CIRAD, UPR Systèmes Bananes et Ananas, PRAM, BP. 214, 97 232 Le Lamentin, Martinique

<sup>2</sup> IRD, UMR 186 IRD-CIRAD-Université Montpellier 2 - Résistance des Plantes aux Bioagresseurs, PRAM, BP. 214, 97 232 Le Lamentin, Martinique

<sup>3</sup> INRA, UR AgroPédoclimatique de la Zone caraïbe, Domaine Duclos, 97170 Petit-Bourg – Guadeloupe

\*Corresponding author: Christian Chabrier

Tel.: +(596) 596-42-30-73; fax: +(596) 596-42-30-01

E-mail address: [christian.chabrier@cirad.fr](mailto:christian.chabrier@cirad.fr)

**Abstract**

To minimize application of nematicides in banana fields, crop systems have been developed in the French West Indies that combine fallow or rotation crops and nematode-free *in vitro* plants. After two to four years, populations of the burrowing nematode *Radopholus similis* have developed enough to cause economic losses, leading banana growers to use nematicides. To understand how banana fields are recontaminated, we studied the dissemination of *R. similis* by water flow. At a 1-m scale, we analyzed the dispersion of *R. similis* under a rainfall simulator: we isolated a 1-m<sup>2</sup> study plot, placed a *R. similis* suspension on the upstream soil surface, and simulated a 60 mm/hr rainfall for 72 minutes. We collected soil samples every 10 cm downstream after 12 min of rainfall, and subsequently at 20-min intervals, and extracted the nematodes using a Seinhorst elutriator and then a Baermann funnel. Our results showed that the nematode dissemination follows an inverse exponential law, and depends more on soil moisture at the beginning of rainfall than on the length of rainfall: in fresh soil, 69-80% of the *R. similis* recovered were found less than 10 cm downstream from the nematode inoculation line, whereas in wetted soil, 76-85% of the recovered individuals were collected in the outlet tub located downstream from the apparatus. This passive dissemination model partially explains the distance covered by individual nematodes but not the low percentage of motile nematodes recovered in the outlet tub (10% and 36 % in fresh and wet soils) compared to the percentage of motile nematodes found in the soil (80% and 84% in fresh and wet soils). Indeed, water runoff is likely to disseminate *R. similis* over long distances only when soil moisture is close to field capacity.

**Keywords:** runoff water, rainfall simulation, nematode dissemination, burrowing nematode, *Radopholus similis*.

---

<sup>7</sup> Soumis le 01/11/2007, corrections majeures envoyées le 03/03/2008, mineures le 18/04/2008 et le 30/09/2008, accepté le 10/10/2008

## Introduction

The burrowing nematode *Radopholus similis* is a major pest of banana worldwide (Gowen *et al.*, 2005). In most commercial banana plantations, nematode control is currently based on two to four nematicide treatments per year; product used, mainly organophosphorous (e.g. cadusafos and terbufos) or carbamates (e. g. oxamyl), are at least harmful, and may even be toxic for field workers and for the environment (Tomlin, 2003). In Martinique (French West Indies), in the last 15 years an alternative cropping system has been developed that is based on the disinfestation of land contaminated by nematodes followed by replanting with nematode-free banana vitroplants. Disinfestation is achieved either through a fallow period or an appropriate crop rotation after obligatory destruction of the banana plants by injecting herbicides (Chabrier and Quénéhervé, 2003). Using this cropping system, growers can cultivate bananas for two to four years without applying a nematicide (Chabrier *et al.*, 2005). However, after four years, banana fields are often reinfested by the burrowing nematode.

Many authors consider that nematodes are mainly disseminated by water (Faulkner and Bolander, 1970a, 1970b; Croll and Mathews, 1977; Bur and Robinson, 2004). As far as the burrowing nematode is concerned, in Florida, DuCharme (1955) reported that *R. similis* was disseminated by water in citrus orchards, and in Jamaica, Loos (1961) reported that *R. similis* was disseminated by surface water flowing from infected banana plantations. Since the phenomenon had been observed only empirically, field experimental studies were designed by Cadet and Albergel (1999) to understand the detailed mechanisms involved in dissemination. A further study (Cadet *et al.*, 2002) showed that nematode dissemination by surface water differed widely among the different nematode species. In our current study, the dissemination of *R. similis* by runoff water was measured at the 1-meter scale using a rainfall simulator. Our aim was to determine the distance *R. similis* individuals can be transported by runoff water, and are thus likely to be disseminated by surface water when upstream fields are contaminated and the water runs down a slope into a downstream plantation.

## Materials and methods

Experiments were in two adjacent fields in the Rivière Lézarde plantation in central Martinique. The soil is a nitisol derived from volcanic (andesitic basalt) ashes. This type of soil is characteristic of the lowlands in central Martinique. The clay portion is predominant, but the main clay mineral is halloysite, which forms sand-size particles with organic compounds (Table 1). The diffusion of water in this type of soil is similar to that in a sandy soil. Khamsouk (2001) showed that, at field capacity, water conductivity varies between 50 and 60 mm/hr. At the experimental site, the median conductivity, measured with a membrane infiltrometer, was 52 mm/hr at the surface of the bare soil. The slopes, which vary from 3% to 13%, are representative of the slopes generally found in commercial plantations in Martinique. In this study, we simulated rainfall of 60 mm/hr, the quantity observed typically for two days a month during the rainy season (Meteo-France, unpublished data), but only one day every three months during the dry season. The study was conducted during the dry season (February-April 2006); we studied two initial soil moisture contents: (i) soil at natural soil potential, i.e. approximately -10 kPa (pF 2); (ii) wetted soil, with nematodes applied after a simulated rain of 105-120 mm; in this case, the soil surface was close to water saturation.

The highest numbers of *R. similis* are normally found close to the banana corm (Quénéhervé, 1990; Araya *et al.*, 1999). In commercial plantations, the soil around the base of the mats is usually bare, which is why we simulated rain on bare soil throughout the study.

Experiments were performed on a bare fallow field (four plots) and on the adjacent weeded citrus orchard (two plots). Before the experiments, we took eight soil samples to check no *R. similis* were present in either field. Nematodes were extracted from the soil using an elutriation method (Seinhorst, 1962) and separated from remaining particles using Baermann funnels (Hooper, 1986). We also checked there were no *R. similis* in citrus roots using a centrifugation-flotation method (Jenkins, 1964).

Rainfall was applied using a rainfall simulator consisting in four parts: a frame, a standpipe, a collecting tub and a pyramidal tent (Asseline and Valentin, 1978).

The frame: an experimental plot of 1 m<sup>2</sup> was isolated from the surrounding area by borders made of vertical iron sheets 18 cm high (8 cm hammered into the soil, 10 cm left protruding above the surface of the soil).

The standpipe: a 4-m high galvanized standpipe with a nozzle to disperse the water was set up in the plot. A wiper motor moved the nozzle so that the water was sent up the plot. The rotation angle and the water pressure (40 kPa) were adjusted to the desired rainfall intensity of 60 mm/hr.

The collecting tub: downstream, a buried outlet tub collected runoff water including the particles in suspension.

The pyramidal tent: this covered the whole facility to avoid interaction with wind or natural rain.

Each rainfall simulation comprised a separate experiment. Before each experiment, a nematode suspension was extracted from banana roots from a commercial plantation to prepare an inoculum. Banana roots were placed in a mist chamber for one week to obtain a nematode suspension according to the method of Seinhorst (1950). Details of the different nematode suspensions are listed in Table 2.

The day before each experiment, a 1-m<sup>2</sup> study plot was isolated with iron sheets (as described above) and its surface was smoothed with a knife and checked with a bubble level. A downpipe 2 mm deep and 1 m long was laid out 40 cm downstream from the upper part of the study area. The nematode suspension was placed carefully on the surface of the soil along the whole length of the downpipe (Figure 1).

For each experiment, rainfall was applied in four successive sequences. The first rainfall, (12 min) corresponded to the time needed for the runoff water to reach the tub on the fresh soil (potential around -10 kPa). The three following rainfalls each lasted 20 minutes. At the end of each rainfall, we traced a grid downstream from the nematode set-down line. The grid consisted of quadrats measuring 10 x 10 cm<sup>2</sup>. Each “column” in the grid, which was laid out along the slope of the stream, corresponded to a runoff trail with six quadrats, each of which corresponded to six distances from the initial lines, 0-10 cm to 50-60 cm (Figure 1). At the end of each simulated rainfall, we collected the soil under every square along the two trails with a spatula. In this way we obtained two series of soil samples (10 cm x 10 cm wide x 1 cm deep). After sampling, we covered the lines that had just been sampled with glass plates (60 cm x 10-cm wide x 1 cm deep) to replace the soil that had been removed, and then applied the following simulated rainfall. After each rainfall, we also collected pairs of soil samples at the edge of the study area; these samples were collected at two depths (0-10 cm and 10-20 cm) and were used to measure water potential by ultrafiltration in a pneumatic pressure chamber (Teissier, 1984), and soil humidity.

Each experiment supplied two sets of 24 samples to evaluate nematode dispersion under four successive simulated rainfalls. Each experiment was repeated three times (Table 3). Nematodes were extracted from all the soil samples by elutriation (Seinhorst, 1962) and

separated from any remaining particles using Baermann funnels (Hooper, 1986). Nematodes were then counted using an inverted light microscope and values were expressed as percentages of numbers inoculated. At the end of each experiment, we also collected the runoff water (including particles in suspension) in the outlet tub. Nematodes were extracted from runoff water by sieving (using a column of 80-25  $\mu\text{m}$  sieves to collect nematode-size particles) followed by centrifugation-flotation (Jenkins, 1964).

Variance analyses were used to compare the results of the different rainfalls for each distance covered. Two variables were tested: the percentage of recovered nematodes and the percentage of motile individuals. When the Fisher test was significant for  $P < 5\%$ , mean values per treatment were classified using Duncan's multi-range test. To compare distribution among different layers, the percentages of recovered *R. similis* were transformed using the formula  $\log(x + 10^{-5})$ ; linear regression was used to establish the relationship between depth and this variable, after checking that the residues were normally distributed using Shapiro-Wilk's test. If  $\log(y) = ax+b$ , then,  $y = e^{ax} \times e^b$ , results of linear regressions were expressed as  $y = c \times e^{dx}$  (exponential regression).

## Results

In fresh soils, the water potential measured in Teissier's chambers was close to -10 kPa at the beginning of the experiment. At this potential, capillaries with a diameter of more than 30  $\mu\text{m}$  are assumed to be filled with air (Wallace, 1958). During the two first simulated rainfalls, water potential increased (from almost -10 kPa to respectively -1.8 and -1.0), meaning that the capillaries were filled up progressively with water. After the second simulated rainfall, the water potential remained greater than -1 kPa at the surface of the soil and close to this value at a depth of -5 to -10 cm (Figure 2). At these water potentials, capillaries with a diameter of less than 300  $\mu\text{m}$  are full of water.

In wetted soils, the water potential was always greater than -0.3 kPa meaning that all the pores with a diameter of less than 1000  $\mu\text{m}$  were completely filled with water throughout the experiments (Wallace, 1958).

In both fields, preliminary soil and citrus root analyses failed to reveal the presence of any *R. similis* individuals. Only a few spiral nematodes *Helicotylenchus dihystera* (Cobb) Sher, and reniform nematodes *Rotylenchulus reniformis* Lindford and Oliveira, were detected. Given the absence of burrowing nematodes in the two fields, we aggregated the results from all the plots for interpretation and discussion.

The distances covered by *R. similis* individuals after each rainfall are illustrated in Figure 3 for fresh soil, showing that the distance covered by the nematodes we added follows an inverse logarithmic law approximately. In fresh soil, all results were statistically analyzed (Anova) and revealed no significant differences (Table 4) in the percentage of *R. similis* individuals recovered among the four simulated rainfalls. From 69% to 80% of the recovered individuals were found in the 10 cm immediately downstream from the set-down line; only from 2.2 to 4.6% were recovered at a distance of between 40 and 60 centimetres. In fresh soil, *R. similis* specimens recovered from the outlet tub increased from the first to the last rainfall from 0.6% to 5.2%.

Fig. 4 shows that on wetted soil, the distance covered by the nematodes we added also followed an inverse logarithmic law approximately. All results were statistically analyzed (Anova) and revealed no significant difference (Table 4) among the four simulated rainfalls.

From 76% to 85% of the recovered individuals were found in the outlet tub (Table 4). Only 7-14% of the recovered individuals were found in the 10 cm immediately downstream from the set-down line. Similarly, only 1.0-1.8% was recovered at a distance of more than 40 cm.

The amount of run-off water collected in the bucket increased exponentially during rainfall simulation on fresh soil (Table 5 and Figure 5b). On wet soil, water flows were relatively constant (Table 5).

The populations of nematodes found in the bucket after each rainfall are presented in Figure 5a (fresh soil) and 5c (wet soil); each scale bar corresponds to the proportion of *R. similis* recovered after 12 minutes (first bar) or 20 min (following bars). In Table 4, figures correspond to populations of *R. similis* found in the bucket after a 12-72 mm rainfall; to calculate them, we thus divided the cumulated number of nematodes recovered after the successive rainfalls by the total population recovered.

From a biological point of view, only a low proportion of motile nematodes reached the outlet tub (Table 6). This phenomenon was particularly apparent in fresh soil, where very limited numbers of nematodes were observed (cumulated total 247 individuals) compared to the number observed in wetted soil (24 812 individuals). Proportion of motile *R. similis* differs significantly between fresh and wet soil only when samples were collected at more than 40 cm from inoculation line (Table 7).

## Discussion

*R. similis* varies in size from 12  $\mu\text{m}$  in width for the smallest juveniles to 27  $\mu\text{m}$  in width for the largest females, and from 240 to 780  $\mu\text{m}$  in length (Van Weerd, 1958). The nematodes thus need capillaries with a diameter ranging from 20 to 300  $\mu\text{m}$  to be able to enter and to move actively through soil (Wallace, 1958 and 1960; Otobe *et al.*, 2004). Pores with diameters ranging from 30  $\mu\text{m}$  to 80  $\mu\text{m}$  are common in the nitisol on which this study was performed, and the pores in our study were thus nearly 1.5-2 times larger than the size of *R. similis* according to Wallace (1958 and 1960). As can be seen in Figure 2, in fresh soils, capillaries of 30-300  $\mu\text{m}$  that enabled *R. similis* to move actively were progressively filled up. Such conditions are especially suitable for movements of nematodes that are of similar sizes to *R. similis* (Wallace, 1968). In fresh soil, at the beginning of rainfall simulation, the water potential was close to -10 kPa. At this potential, conditions were suitable for a nematode the size of *R. similis* to enter or to move about within the soil pores. Furthermore, it took between 11 and 12 min for runoff water to enter the tub; this period may be long enough for motile specimens to enter the soil and escape the soil surface water flow that appeared later. Subsequently, although fresh soils were moistened during successive rainfalls, they were able to leach during soil sampling (which took about 5 minutes). Their water potential was therefore close to -1 kPa from the 12<sup>th</sup> minute of rainfall to the end of the experiment. This potential corresponds to water filling pores with a diameter of 300  $\mu\text{m}$ . Thus, adults and fourth stage juveniles (J4) could still enter and move in "fresh soil" throughout the experiment.

Conversely, wetted soils were close to water saturation, with a water potential greater than -0.3 kPa. Thus, soil pores suitable for *R. similis* movement were filled with water. It is unlikely that nematodes the size of *R. similis* can easily enter wet soils (Wallace, 1959 and 1960).

As can be seen in Figure 4, the distribution of *R. similis* in the first centimetre of wetted soil follows an exponential law approximately, coherent with a passive transportation. Indeed, in the event of purely passive transport, the probability for a nematode of passing from one compartment to another is constant and the distribution of the nematodes as a function of distance thus should follow a geometrical series. This model appears to be less appropriate for fresh soils (Fig. 3): in this case, the model should take into account the active penetration of nematodes in the macro- and mesoporosity of the soil. As a result, nematodes may reach deeper layers of soil, exceeding the 1 cm depth we sampled, and consequently, escape the surface water flow.

Fig. 5a illustrates the erratic arrival of *R. similis* individuals at the outlet tubs in fresh soil. Indeed, no correlation was found between volumes of runoff water and the number of specimens found in the outlet tub (Fig. 5a vs. b). By contrast, in wetted soils, the arrival of *R. similis* individuals appeared to follow an inverse exponential law (Fig. 5c vs. d). A larger number of nematodes were caught by water flow during the first simulated rainfall, after which the number progressively decreased, maybe because of a decrease in the upstream nematode population. The percentages of motile *R. similis* extracted from outlet tubs were very low (Table 5). This is consistent with the hypothesis according to which active individuals were more prone to escape runoff water flows by actively entering the soil pores.

The percentages of motile *R. similis* extracted from outlet tubs were very low (Table 4). This is consistent with the hypothesis according to which active individuals were more prone to escape runoff water flows by actively entering the soil.

In the literature, several authors reported the dispersion of phytoparasitic nematodes by water (reviewed by Burr and Robinson, 2004), particularly in rivers and in irrigation and drainage canals (Waliullah, 1986; Faulkner and Bolander, 1970a, 1970b; Tapia *et al.*, 2007) but very few experimental studies, most conducted in Senegal, dealt with nematode dispersion by runoff water at a scale ranging from the 1 to 100 m<sup>2</sup> plots. Thus, we observed the opposite phenomenon to that observed by Planchon *et al.* (2000), Cadet *et al.* (2002) and Villenave *et al.* (2003) who performed comparable studies but in radically different ecological environments (sandy soils under Sahelian conditions vs. nitisol in the humid tropics). These authors observed that in Senegal, the behaviour of *Scutellonema cavenessi* Sher facilitated its dispersion by runoff water, and that dispersion increased with time. In their studies, nematode behaviour for example during the anhydrobiotic state (Demeure and Freckman, 1985), may have greatly influenced their dissemination by runoff water: according to Villenave *et al.* (2003), the soil depth where the nematodes live probably explains the likelihood of being leached by runoff water. In our tropical humid conditions, the dispersion strategy of *R. similis* is based mainly on its dissemination within perennial plant materials such as the banana corm (Quénéhervé and Cadet, 1985; Marin *et al.*, 1998) and, up to now, no anhydrobiotic state strategy has been observed in this species. In contrast, in Sahelian conditions, the dissemination strategy of *S. cavenessi* appears to be mainly based on wind dispersal (Baujard and Martiny, 1994) of anhydrobiotic forms but may also be facilitated by leaching caused by runoff (Cadet *et al.*, 2002). The strategy of *S. cavenessi* appears to be particularly suited to parasitism of annual plants, which are only present for a few months each year.

In contrast, *R. similis* is mainly known as a major parasite of perennial plants, such as coconut (Griffith *et al.*, 2005), pepper (Koshy *et al.*, 2005), tea (Gnanapragasam and Mohotti, 2005) and especially citrus (Duncan, 2005) and banana (Gowen *et al.*, 2005). It can also parasitise many annual plants such as *Solanum nigrum* or *Phenax soneratii* or *Arachis spp.* (Zem, 1983, Quénéhervé *et al.*, 2006). But even if *R. similis* can infest economically

important annual crops such as maize and groundnut (Milne and Keetch, 1976), this species is not considered as a major pest of these crops. The poor dispersion capacity of *R. similis*, combined with its poor survival ability in soil (Feldmesser *et al.*, 1960, Tarjan, 1961), means this parasite is only likely to cause economic losses in perennial crops.

In the present study, the proportion of motile *R. similis* decreased significantly among nematode disseminated over 60 cm. These results are consistent with those we observed while studying nematode leaching in soil column (Chabrier *et al.*, 2008). In this previous paper, we observed that non-motile nematodes are much more likely to be leached and that active *R. similis* may flee leaching. After the present study, we can also hypothesize that active *R. similis* were partially trapped by the soil porosity but also actively enter soil when pores of 30-300  $\mu\text{m}$  were partially filled-up with water. This hypothesis should explain why the proportion of motile nematode is significantly higher in buckets downstream wetted soil than downstream fresh soil (Table 7). It should also explain why, on fresh soils, quite no significant differences appeared between distributions of recovered nematodes after successive rainfalls (Table 4). This last observation does not fit with a completely passive model. On wetted soil, absence of significant difference between successive rainfalls may be explained by the fact that a too large proportion of *R. similis* have been taken to the bucket by the water flow after the first minutes; thus distributions may be better explained by a passive model.

## Conclusions

Our results show that the dissemination of *R. similis* by runoff water in banana fields is far from significant in fresh soils. To be significant, the soil has to be close to water saturation, nematode individuals have to be present on the surface of the soil, and rain intensity has to be sufficient.

However, the main damage caused by nematodes is when banana plants topple over (Blake, 1972; Chabrier and Quénéhervé, 2003). This occurs mainly during tropical showers, which are usually short but of high intensity and accompanied by wind squalls. Plants are much more likely to topple over when the soil is very wet. In fact, suitable conditions for dissemination of *R. similis* by runoff water can occur several times a month during the rainy season, when *R. similis* individuals leave the unearthed roots of fallen plants. It is thus possible that water runoff disseminates *R. similis* when soil moisture is between field capacity and water saturation. What is more, the proportion of nematodes recovered in the outlet tub on wetted soils suggests that runoff water can disseminate nematodes over long distances within a few minutes.

## Acknowledgements

The authors thank Christiane Bastol, Camille Hubervic, Jules Hubervic, Robert Jules-Rosette and Serge Marie-Luce for their technical assistance.

## References

- Araya, M., Vargas, A., Cheves, A., 1999. Nematode distribution in roots of banana (*Musa* AAA cv. Valery) in relation to plant height, distance from the pseudostem and soil depth. *Nematology* 1, 711-716.
- Asseline, J. Valentin, C., 1978. Construction et mise au point d'un infiltromètre à aspersion (ou mini-simulateur de pluie). *Cah. ORSTOM. Hydrol.* 15, 321-349.
- Baujard, P., Martiny, B., 1994. Transport of nematodes by wind in the peanut cropping area of Senegal, West Africa. *Fund. Appl. Nematol.* 17, 543-550.
- Blake, C.D., 1972. Nematode Diseases of Banana Plantations. In: Webster, J.M. (Ed.), *Economic Nematology*. Academic Press, London, pp. 245-267.
- Burr, A.H.J., Robinson, A.F., 2004. Locomotion behaviour. In Gaugler, R., Bilgrami, A.L. (Eds.), *Nematode Behaviour*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 25-62.
- Cadet, P., Albergel, J., 1999. Passive transport of phytoparasitic nematodes by runoff water in the Sudano-Sahelian climatic area. *J. Hydrol.* 214, 91-102.
- Cadet, P., Planchon, O., Esteves, M., Lapetite, J-M., 2002. Experimental study of the selective transport of nematodes by runoff water in the Sudano-Sahelian area. *Appl. Soil Ecol.* 19, 223-236.
- Chabrier, C., Carles, C., Marie-Luce, S., Cabidoche, Y.M., 2008. Nematode dispersion by water leached in soil: case study of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne on nitisol under simulated rainfall. *Appl. Soil Ecol.*, 40, 299-308.
- Chabrier, C., Mauléon, H., Bertrand, P., Lassoudière, A., Quénéhervé, P., 2005. Banane antillaise, les systèmes de culture évoluent. En Martinique, méthodes alternatives pour réduire l'utilisation des nématicides et insecticides en bananeraies. *Phytoma L.D.V.* 584, 12-16.
- Chabrier, C., Quénéhervé, P., 2003. Control of the burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) on banana: impact of the banana field destruction method on the efficiency of the following fallow. *Crop Prot.* 22, 121-127.
- Croll, N.A., Mathews B.E., 1977. *Biology of Nematodes*. John Wiley & Sons, New York, 201 pp.
- Demeure, Y., Freckman, D. W., 1985. Recent advances in the study of anhydrobiotic nematodes. In: Zuckerman, B.M., Rohde, R.A. (Eds.), *Plant Parasitic Nematodes*, Vol. III. Academic Press, New York, pp. 205-226.
- DuCharme, E.P., 1955. Sub-soil drainage as a factor in the spread of the burrowing nematode. *P. Fl. St. Hortic. Soc.* 68, 29-31.
- Duncan, L.W., 2005. Nematode Parasites of Citrus. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J. (Eds.), *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, 2<sup>nd</sup> ed. CABI Publishing, Wallingford, 437-466

- Faulkner, L.R., Bolander, W.J., 1970a. Acquisition and distribution of nematodes in irrigation waterways of the Columbia basin in Eastern Washington. *J. Nematol.* 2, 362-367.
- Faulkner, L.R., Bolander, W.J., 1970b. Agriculturally polluted irrigation water as a source of plant parasitic nematode infestation. *J. Nematol.* 2, 368-374.
- Feldmesser, J., Feder, W. A., Rebois, R. V., Hutchins, P. C., 1960. Longevity of *Radopholus similis* and *Pratylenchus brachyurus* in fallow soil in the greenhouse. *Anat. Rec.*, 137, 355.
- Gnanapragasam, N.C.C, Mohotti, K.M., 2005. Nematode Parasites of Tea. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J. (Eds.), *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, 2<sup>nd</sup> ed. CABI Publishing, Wallingford, 581-609.
- Gowen, S.R., Quénehervé, P., Fogain, R., 2005. Nematode Parasites of Bananas and Plantains. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J. (Eds.), *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, 2<sup>nd</sup> ed. CABI Publishing, Wallingford, pp. 611-643.
- Griffith, R., Giblin-Davis, R., Koshy, P.K., Sosamma, V.K., 2005. Nematode Parasites of Coconut and other Palms. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J. (Eds.), *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, 2<sup>nd</sup> ed. CABI Publishing, Wallingford, 493-527.
- Hooper, D.J., 1986. Extraction of free-living stages from soil. In: Southey, J.F. (Ed.), *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes*, 6<sup>th</sup> ed. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, pp. 5-30.
- Jenkins, W. R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Pl. Dis. Repr.* 48, 692.
- Khamsouk, B., 2001. Impact de la culture bananière sur l'environnement. Influence des systèmes de cultures bananières sur l'érosion, le bilan hydrique et les pertes en nutriments sur un sol volcanique en Martinique. (Cas du sol brun rouille à halloysite). PhD Thesis, ENSA-M., Montpellier, France, 220 pp.
- Koshy, P.K., Eapen, S.J., Pandey, R., 2005. Nematode Parasites of Spices, Condiments and Medicinal Plants. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J. (Eds.), *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, 2<sup>nd</sup> ed. CABI Publishing, Wallingford, 751-791
- Loos, C.A., 1961. Eradication of the burrowing nematode, *Radopholus similis*, from bananas. *Pl. Dis. Repr.* 45, 457-461.
- Marin, D.H., Sutton, T.B., Barker, K.R. 1998. Dissemination of bananas in Latin America and the Caribbean and its relationship to the occurrence of *Radopholus similis*. *Plant Dis.* 82, 964-974.
- Milne, D.L., Keetch, D.P., 1976. Some observations on the host plant relationships of *Radopholus similis* in Natal. *Nematropica* 6, 13-18.
- Otobe, K., Itou, K., Mizukubo, T., 2004. Micro-moulded substrates for the analysis of structure-dependent behaviour of nematodes. *Nematology* 6, 73-77.

- Planchon, O., Cadet, P., Lapetite, J.-M., Silvera, N., Esteves, M. 2000. Relationship between raindrop erosion and runoff erosion under simulated rainfall in the Sudano-Sahel: consequences for the spread of nematodes by runoff. *Earth Surf. Proc. Land.* 25, 729-741.
- Quénéhervé, P., 1990. Spatial arrangement of nematodes around the banana plant in the Ivory Coast: related comments on the interaction among concomitant phytophagous nematodes. *Acta Oecol.* 11, 775-786.
- Quénéhervé, P., Cadet, P., 1985. Localisation des nématodes dans les rhizomes du bananier cv. Poyo. *Rev. Nématol.* 8, 3-8.
- Quénéhervé, P., Chabrier, C., Auwerkerken, A., Topart, P., Martiny, B., Marie-Luce, S., 2006. Status of weeds as reservoirs of plant parasitic nematodes in banana fields in Martinique. *Crop Prot.*, 25, 860-867.
- Seinhorst, J.W., 1950. De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aantasting door het stengelaatje (*Ditylenchus dipsaci* (Khün) Filipjev). *Tijdschr. PIZiekt.* 5, 291-349.
- Seinhorst, J.W., 1962. Modifications of the elutriation method for extracting nematodes from soil. *Nematologica* 8, 117-128.
- Tapia, S., Zampini, M., Agostini, E., Manero, J.M., Curzel, V., Echenique, G., 2007. Conducción y dispersión de nematodos fitoparásitos por el agua de riego a cultivos de tabaco en la provincia de Jujuy, Argentina. *Nematropica* 37, 189.
- Tarjan, A.C., 1961. Longevity of *Radopholus similis* (Cobb) in host free soil. *Nematologica*, 6, 170-175.
- Teissier, D., 1984. Etude expérimentale de l'organisation des matériaux argileux. Hydratation, gonflement et structuration au cours de la dessiccation et de la réhumectation. PhD Thesis, Univ. Paris VII, Paris, France, 361 pp.
- Tomlin, C. 2003. The Pesticide Manual. Fourteenth edition. Crop Protection Publication. British Crop Protection Council Edit., Alton, UK, 1344 pp.
- Van Weerd, L. G., 1958. Studies on the Biology of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949. Part II, Morphological variation within and between progenies of single females. *Nematologica* 3, 184-196.
- Villeneuve, C., Cadet, P., Planchon, O., Estève, M., Lapetite, J.M., 2003. Transport of free-living nematodes by runoff water in a Sudano-Sahelian area. *Appl. Soil Ecol.*, 23, 85-91.
- Waliullah, M.I.S., 1989. Nematodes in irrigation canals of the Kashmir Valley, India. *Nematol. Medit.* 17, 55-56.
- Wallace, H.R., 1958. The movement of eelworms. I Influence of pore size and moisture content of the soil on the migration of larvae of the beet eelworm, *Heterodera schachtii* Schmidt. *Ann. Appl. Biol.* 46, 74-85.
- Wallace, H.R., 1959. The movement of eelworms in water films. *Ann. Appl. Biol.* 47, 366-370.

Wallace, H.R., 1960. The movement of eelworms. IV The influence of soil type, moisture gradient and host plant roots on the migration of the potato-root eelworm *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. Ann. Appl. Biol. 48, 107-120.

Wallace, H.R., 1968. The dynamic of Nematode movement. Annu. Rev. Phytopathol. 6, 91-114.

Zem, A.M., 1983. Estudos sobre hospedeiros de *Radopholus similis* e *Helicotylenchus multicinctus*. Soc. Brasil. Nemat. 7, 175–187.

Table 1: Granulometry of nitisol in Martinique obtained with (i) standard procedures after sonification and dispersion in sodium hexametaphosphate (standard granulometry) and by (ii) sieving without dispersion (apparent granulometry).

|      | Standard granulometry           |                                  | Apparent granulometry           |                                  |
|------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
|      | Particle size ( $\mu\text{m}$ ) | Weight of soil fraction (g/100g) | Particle size ( $\mu\text{m}$ ) | Weight of soil fraction (g/100g) |
| Sand | 50 – 2 000                      | 11.3                             | 500 – 2 000                     | 1.91                             |
|      |                                 |                                  | 312 - 500                       | 6.71                             |
|      |                                 |                                  | 200 - 312                       | 26.96                            |
|      |                                 |                                  | 100 - 200                       | 29.65                            |
| Loam | 2 - 50                          | 14.6                             | 50 - 100                        | 29.43                            |
|      |                                 |                                  | 0 - 50                          | 5.34                             |
| Clay | 0 - 2                           | 73.4                             |                                 |                                  |

Table 2: Numbers of applied nematodes during rainfall simulations.

| Soil                               | Replicates - field       | Volume Suspension ( $\text{cm}^3$ ) | Number of applied <i>R. similis</i> |                    |                     |
|------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------|---------------------|
|                                    |                          |                                     | Motile                              | Immotile           | Total               |
| Fresh                              | 1 - fallow               | 400                                 | 26 560                              | 19 840             | 46 400              |
| Fresh                              | 2 - fallow               | 500                                 | 29 800                              | 35 800             | 65 600              |
| Fresh                              | 3 - orchard*             | 300                                 | 45 300                              | 30 900             | 76 200              |
| Mean $\pm$ 5 % confidence interval |                          | 400                                 | 33 887 $\pm$ 11 334                 | 28 847 $\pm$ 9 252 | 62 733 $\pm$ 17 093 |
| Wetted                             | 1 - fallow               | 230                                 | 14 145                              | 13 800             | 27 945              |
| Wetted                             | 2 - fallow               | 300                                 | 39 000                              | 17 400             | 56 400              |
| Wetted                             | 3 - orchard <sup>a</sup> | 300                                 | 20 700                              | 5 850              | 26 550              |
| Mean $\pm$ 5 % confidence interval |                          | 277                                 | 24 615 $\pm$ 14 577                 | 12 350 $\pm$ 6 688 | 36 965 $\pm$ 19 062 |
| Fisher's test with P = 5 %         |                          |                                     | ns                                  | ns                 | ns                  |

<sup>a</sup> As no *R. similis* were present either in Citrus roots or in soil, and as the soil surface of the inter-row of the orchard was similar to that of fallow, no differences were taken into account between the fallow and the orchard for statistical calculations.

Table 3: Conditions of rainfall simulations.

| Soil   | Field        | Replicates | Rainfall before nematodes were set down | Water content when nematodes were set down (g/100g) | Water Potential (kPa) | Slope (%) |
|--------|--------------|------------|---|---|-----------------------|-----------|
| Fresh  | Bare fallow  | 1a – 1b    | 0                                       | 46.1  | - 10                  | 10        |
| Fresh  | Bare fallow  | 2a – 2b    | 0                                       | 47.2  | - 8                   | 13        |
| Fresh  | Lime orchard | 3a – 3b    | 0                                       | 46.7  | - 8                   | 5         |
| Wetted | Bare fallow  | 1a – 1b    | 1h45 x 60 mm/h                          | 63.0  | More than -0.3        | 8         |
| Wetted | Bare fallow  | 2a – 2b    | 1h55 x 60 mm/h                          | 66.0  | More than -0.3        | 8         |
| Wetted | Lime orchard | 3a – 3b    | 2h00 x 60 mm/h                          | 64.6  | More than -0.3        | 3         |

Water content in g of water per 100 g of dry soil. Water potential in kPa (kiloPascal), 1 kPa = 1000 Pa = 1000  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-2}$ . Slope in m/100 m.

Table 4: Dissemination of *R. similis* after 4 simulated rainfalls of different lengths at 60 mm/hr on fresh soil (water potential from -8 to -10 kPa) and on wetted soil (close to water saturation): population recovered in the different quadrats and percentage of motile *R. similis*.

| Distance covered (cm) | Rainfall (mm) | Fresh soil  |    |          |    | Wetted soil |    |          |    |
|-----------------------|---------------|-------------|----|----------|----|-------------|----|----------|----|
|                       |               | % Recovered |    | % Motile |    | % Recovered |    | % Motile |    |
| 0 - 10                | 12            | 71.68       |    | 78.9     |    | 13.75       |    | 79.3     |    |
|                       | 32            | 71.82       |    | 81.8     |    | 13.10       |    | 88.5     |    |
|                       | 52            | 68.96       |    | 87.5     |    | 11.85       |    | 85.7     |    |
|                       | 72            | 79.50       |    | 86.4     |    | 6.77        |    | 87.6     |    |
|                       | Mean          | 72.99       | ns | 83.7     | ns | 11.37       | ns | 85.3     | ns |
| 10 - 20               | 12            | 10.88       |    | 79.1     |    | 4.60        |    | 89.2     |    |
|                       | 32            | 18.02       |    | 88.6     |    | 4.21        |    | 87.7     |    |
|                       | 52            | 10.80       |    | 69.5     |    | 4.18        |    | 78.8     |    |
|                       | 72            | 5.46        |    | 79.0     |    | 2.91        |    | 71.7     |    |
|                       | Mean          | 11.29       | ns | 79.0     | ns | 3.98        | ns | 81.8     | ns |
| 20 - 30               | 12            | 5.92        | ab | 77.6     |    | 2.62        |    | 83.4     |    |
|                       | 32            | 2.68        | ab | 82.0     |    | 0.78        |    | 95.5     |    |
|                       | 52            | 7.02        | a  | 86.2     |    | 2.62        |    | 73.6     |    |
|                       | 72            | 2.07        | b  | 83.3     |    | 2.09        |    | 77.6     |    |
|                       | Mean          | 4.42        | S  | 82.3     | ns | 2.03        | ns | 82.5     | ns |
| 30 - 40               | 12            | 6.50        |    | 90.4     | a  | 1.49        |    | 94.5     |    |
|                       | 32            | 3.45        |    | 65.7     | b  | 1.31        |    | 78.6     |    |
|                       | 52            | 4.32        |    | 79.9     | ab | 1.24        |    | 72.2     |    |
|                       | 72            | 2.65        |    | 75.6     | ab | 1.71        |    | 62.8     |    |
|                       | Mean          | 4.23        | ns | 77.9     | S  | 1.44        | ns | 77.0     | ns |
| 40 - 60               | 12            | 4.59        |    | 54.6     |    | 1.79        |    | 90.0     |    |
|                       | 32            | 2.53        |    | 68.4     |    | 1.42        |    | 93.8     |    |
|                       | 52            | 6.84        |    | 87.9     |    | 1.60        |    | 90.4     |    |
|                       | 72            | 2.24        |    | 81.3     |    | 1.05        |    | 89.5     |    |
|                       | Mean          | 4.05        | ns | 73.0     | ns | 1.47        | ns | 90.9     | ns |
| Bucket                | 12            | 0.42        |    | 3.6      |    | 75.75       |    | 38.4     |    |
|                       | 32            | 1.50        |    | 10.0     |    | 79.17       |    | 31.6     |    |
|                       | 52            | 2.07        |    | 7.8      |    | 78.50       |    | 25.2     |    |
|                       | 72            | 8.08        |    | 14.3     |    | 85.47       |    | 23.2     |    |
|                       | Mean          | 3.02        | ns | 8.9      | ns | 79.72       | ns | 29.6     | ns |

ns: not significant, S: significant (P = 0.05), HS: highly significant (P = 0.01). Variances of percentages of *R. similis* recovered were analyzed after log(x) transformation. Means in a row followed by the same letter are not different (P = 0.05) according to Duncan's multi-range test.

Table 5: Volume of runoff water measured in the bucket after simulated rainfalls on fresh and wetted soils and calculation of the water flow during each rainfall.

| Rainfall (mn)  | Fresh soil                |                                   | Wetted soil               |   |
|----------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------------|---|
|                | Volume (dm <sup>3</sup> ) | Water flow (dm <sup>3</sup> /min) | Volume (dm <sup>3</sup> ) | Water flow (dm <sup>3</sup> /min)         |
| 12             | 0.02                      | 0.002                             | 7.11                      | 0.59                                      |
| 32             | 0.10                      | 0.005                             | 11.75                     | 0.59                                      |
| 52             | 0.55                      | 0.027                             | 11.69                     | 0.58                                      |
| 72             | 2.43                      | 0.121                             | 10.91                     | 0.55                                      |
| Regression     | $V = 0.009e^{0.077d}$     | $F = 0.0007e^{0.0696d}$           |                           | No significant differences between values |
| R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> = 0.999    | R <sup>2</sup> = 0.987            | ns                        |   |
|                | HS                        | HS                                |                           |   |

V: volume of the water collected in the bucket after d minutes (water collected after 12 min. for the first collection, and after 20 min. for the following collections); d: total duration of rainfall (from inoculation to collection); F: Water flow (V/12 for the first collection, V/20 for the following collections); HS: highly significant (P = 0.01); ns: not significant (P = 0.05).

Table 6: Percentages of motile nematodes found downstream from the set-down line and in the outlet tub. Mean: mean percentages of 4 rainfalls x (3 x 2) replicates. Anova: analysis of variance within ranges of distance covered.

| Distance covered (cm) | Fresh soil |       | Wetted soil |       |
|-----------------------|------------|-------|-------------|-------|
|                       | Mean       | Anova | Mean        | Anova |
| 0 - 10                | 83.7       | a     | 85.3        | a     |
| 10 - 20               | 79.0       | a     | 81.8        | a     |
| 20 - 30               | 82.3       | a     | 82.5        | a     |
| 30 - 40               | 74.9       | a     | 77.0        | a     |
| 40 - 60               | 73.6       | a     | 90.9        | a     |
| Outlet tub            | 8.9        | b     | 29.6        | b     |

ns: not significant, S: significant (P = 0.05), HS: highly significant (P = 0.01). Means in a row followed by the same letter are not different (P = 0.05) according to Duncan's multi-range test.

Table 7: Comparison of the percentages of motile *R. similis* in fresh and wet soil (mean percentages of 4 rainfalls). Anova: analysis of variance within ranges of distance covered.

| Distance covered (cm) | Fresh soil | Wetted soil | Anova |
|-----------------------|------------|-------------|-------|
| 0 - 10                | 83.7       | 85.3        | ns    |
| 10 - 20               | 79.1       | 81.9        | ns    |
| 20 - 30               | 82.3       | 82.5        | ns    |
| 30 - 40               | 77.9       | 77.0        | ns    |
| 40 - 60               | 73.1       | 90.9        | S     |
| Outlet tub            | 8.9        | 29.6        | HS    |

Variances were analyzed after log(x) transformation. ns = not significant, S = significant (P = 0.05), HS = highly significant (P = 0.01). Means in a row followed by the same letter are not different (P = 0.05) according to Duncan's multi-range test.

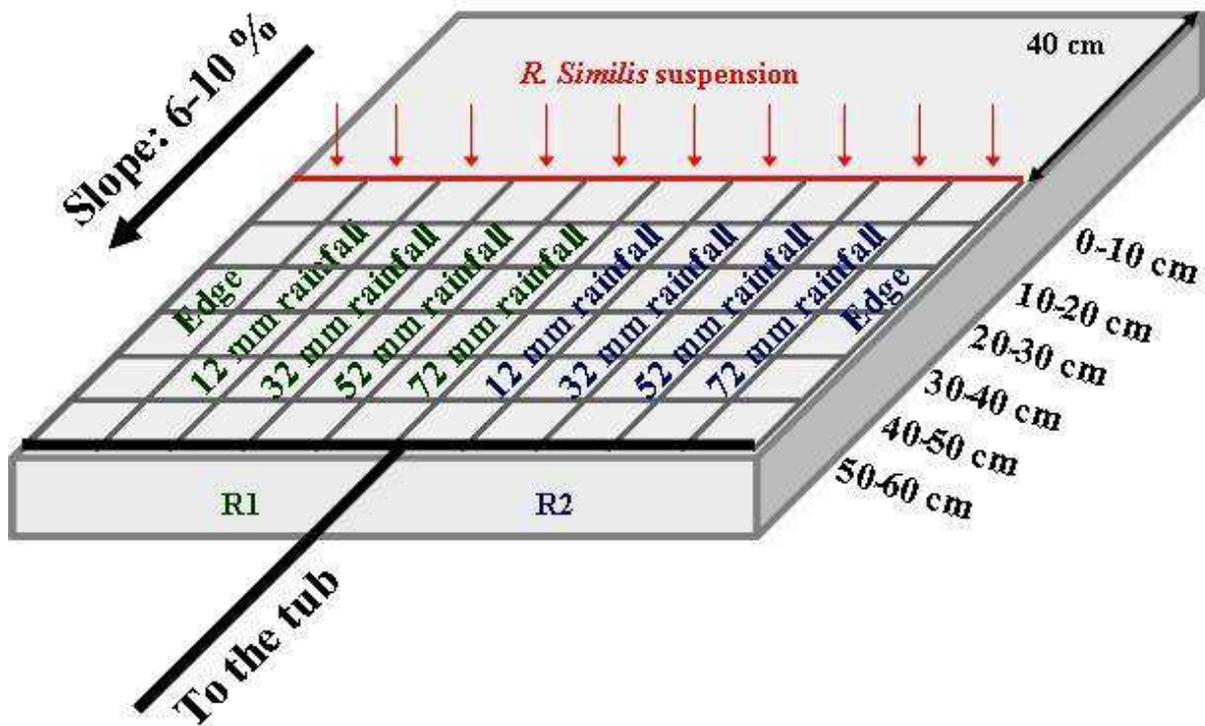


Figure 1: Diagram of a plot that received simulated rainfall.

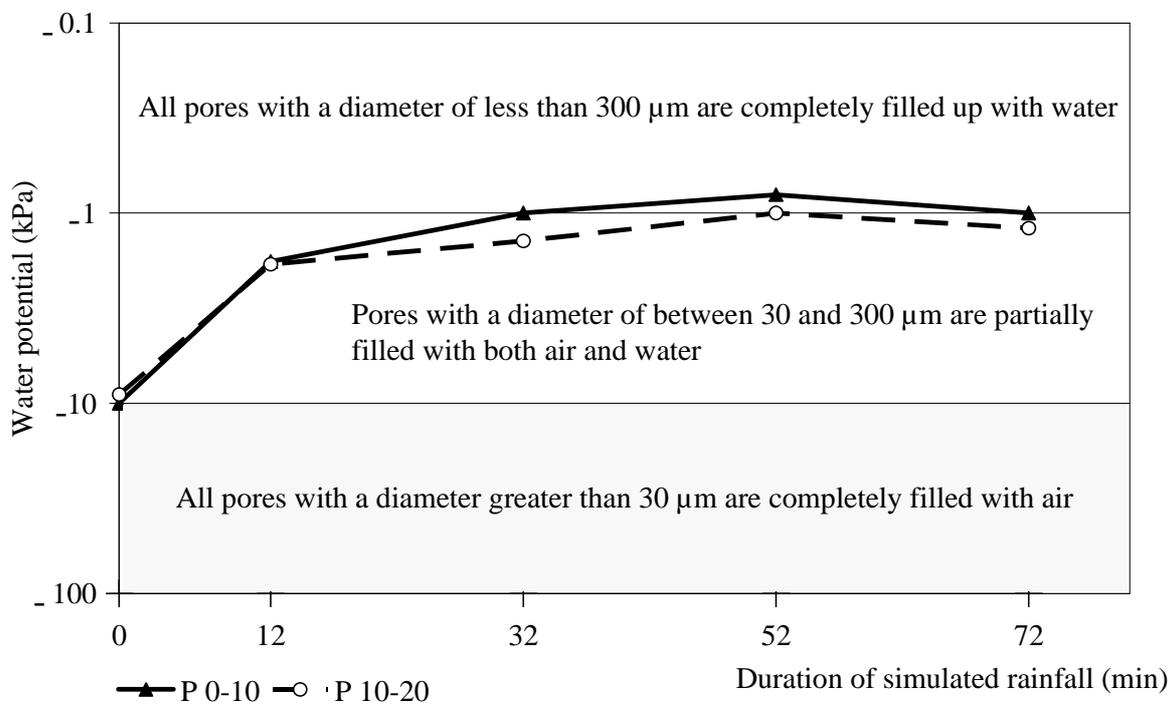


Figure 2: Variations in water potential during successive rainfall simulations. P 0-10 and 10-20: water potential at a depth of 0-10 cm and of 10-20 cm (in kPa). Means of 2 measurements x 3 experiments on dry soils.

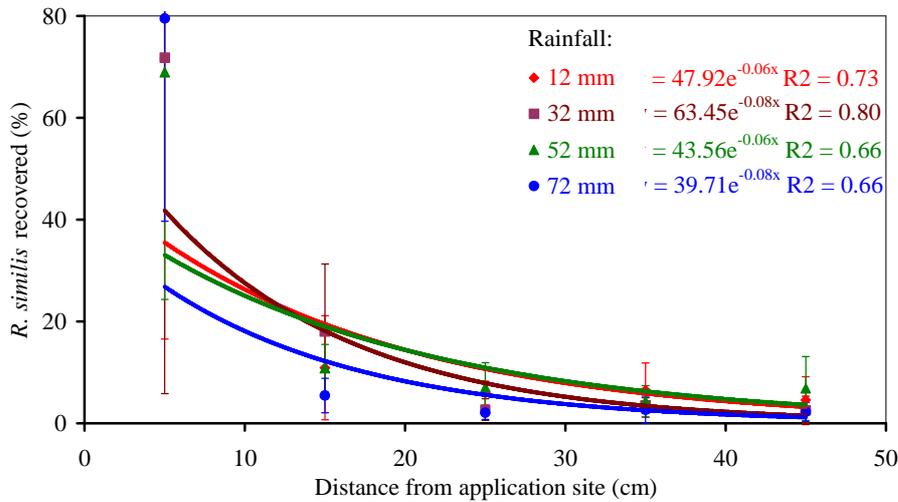


Figure 3: Dissemination of *R. similis* individuals after four simulated rainfalls of different lengths at 60 mm/hr on fresh soil (water potential from  $-8$  to  $-10$  kPa). Abscissa: distance covered by individuals from the set-down line; Ordinate: percentage of nematodes recovered. Scale bar: confidence intervals for  $P = 5\%$ ; red curve corresponds to 12 mm rainfall, brown curve to 32 mm, green curve to 52 mm and blue curve to 72 mm.

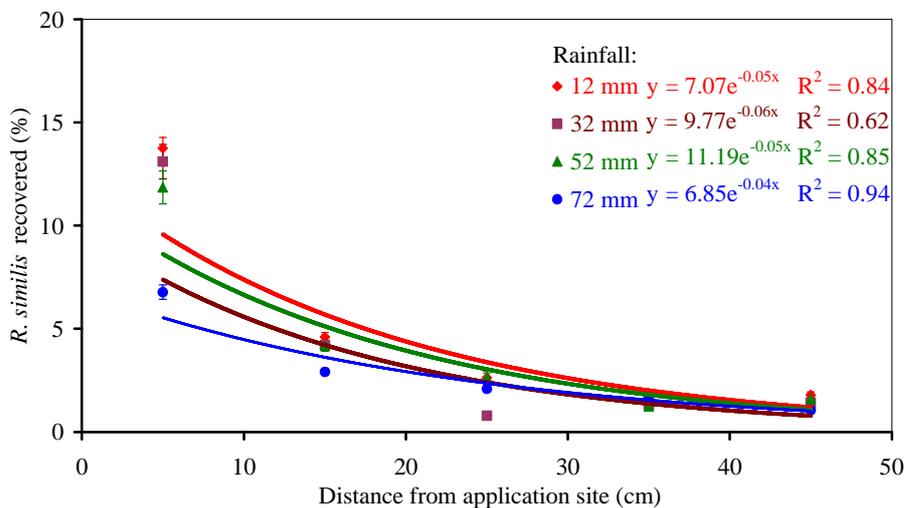
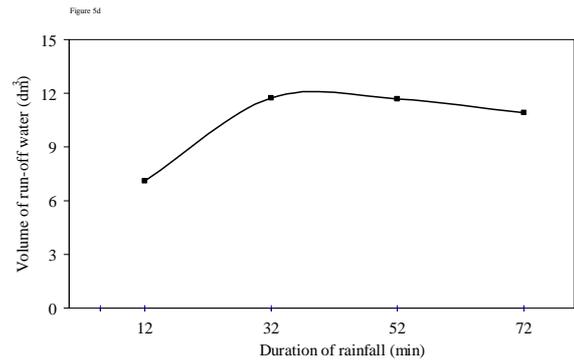
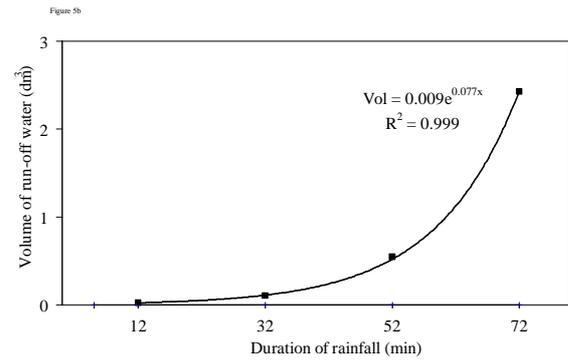
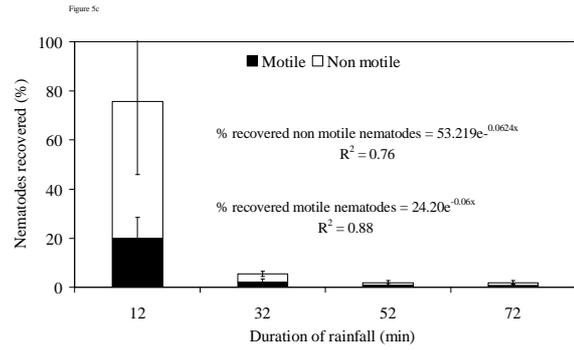
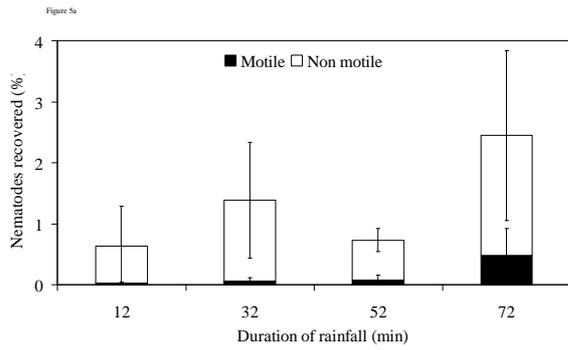


Figure 4: Dissemination of *R. similis* individuals after four simulated rainfalls of different lengths at 60 mm/hr on wetted soil, close to water saturation. Abscissa: distance covered by individuals from the set-down line; Ordinate: percentage of nematodes recovered. Scale bar: confidence intervals for  $P = 5\%$ ; red curve corresponds to 12 mm rainfall, brown to 32 mm, green to 52 mm and blue to 72 mm.



(water potential from -8 to -10 kPa, part a and b) and wetted soil (close to water saturation, part c and d). Scale bar: confidence intervals for P = 5%. Percentages of motile and non-motile nematodes are significantly different (Fisher's test with P = 5 %) whatever the duration of the rainfall.

La dissémination passive en surface est donc possible. Mais elle requiert des conditions particulières : présence de populations de *R. similis* proche de la surface du sol, pluie capable de générer du ruissellement, sol humide en surface, proche de la saturation.

Cependant, dans une bananeraie plantée sur nitisol, les flux d'eaux percolés sont beaucoup plus importants que les flux d'eaux qui ruissèlent en surface (Khamsouk, 2001). Il est donc essentiel de mesurer la dissémination des nématodes par les eaux qui s'infiltrent dans le sol.

### **3 En profondeur sur cylindres de sol**

Si on exclut les expérimentations en milieux artificiels (Luc, 1961, Spiegel *et al.*, 2003 ...), l'essentiel des publications sur la dissémination des nématodes phytoparasites dans le sol concerne des déplacements actifs dans des milieux plus ou moins artificialisés (Prot, 1980). Cependant, il existe des publications sur la dissémination passive dans le sol des nématodes pathogènes d'insectes dont on peut s'inspirer (Dennis *et al.*, 1998).

Compte tenu des pertes attendues (nous ne récupérons qu'environ 35 % des *R. similis* présents par élutriation, voir Tableau 7 page 43), nous ne pouvions pas réaliser d'essai de dispersion *in situ*. Nous avons ainsi étudié la dissémination de *R. similis* dans des cylindres de sol en conditions contrôlées. Nos cylindres devaient avoir un diamètre suffisant pour que la porosité n'y soit pas perturbée ; leur taille ne devait pas être limitante. Comme les racines de bananier ne prospectent guère au-delà de 50 cm de profondeur (Delvaux et Guyot, 1989 ; Lecompte, 2002), nous avons travaillé sur des colonnes d'abord de 50 cm de sol puis de 25 cm et nous avons simulé les mêmes pluies qu'au cours de l'étude de dissémination sous simulateur de pluie.

Ce travail a été réalisé dans une chambre d'aspersion avec des cylindres de sol collectés dans la parcelle où nous avons réalisé l'étude de dissémination sous simulateur de pluie. Il a fait l'objet de la publication ci-après.

Publication dans *Applied Soil Ecology* n°2<sup>8</sup> (n°40, p. 299-308) :

**Nematode dissemination by water leached in soil: Case study of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne on nitisol under simulated rainfall**

Christian Chabrier<sup>1\*</sup>, Celine Carles<sup>1</sup>, Patrick Quénéhervé<sup>2</sup> and Yves-Marie Cabidoche<sup>3</sup>

<sup>1</sup> CIRAD, UPR Systèmes Bananes et Ananas, Pôle de Recherche Agronomique de la Martinique, BP. 214, 97 232 Le Lamentin, Martinique

<sup>2</sup> IRD, UMR 186 IRD-CIRAD- Université Montpellier 2 - Résistance des Plantes aux Bioagresseurs, Pôle de Recherche Agronomique de la Martinique, BP. 214, 97 232 Le Lamentin, Martinique

<sup>2</sup> INRA, UR AgroPédoclimatique de la Zone caraïbe, Domaine Duclos, 97170 Petit-Bourg – Guadeloupe

\*Corresponding author: Christian Chabrier

Tel.: +(596) 596-42-30-73; fax: +(596) 596-42-30-01

E-mail address: [christian.chabrier@cirad.fr](mailto:christian.chabrier@cirad.fr)

**Abstract**

New crop systems have been developed in the French West Indies that combine fallow or rotation crops with nematode-free vitro-plants to avoid the massive application of nematicides in banana fields. In these new banana fields, recontamination by the burrowing nematode *Radopholus similis* can then happen either by run-off or irrigation water. To understand these phenomena, we studied the vertical dissemination of *R. similis* by water leaching using soil cylinders and rainfall simulations. Steel drums were used to collect cylinders of soil (around 14.3 dm<sup>3</sup>) with a backhoe. The soil cylinders were placed in an aspersion chamber, saturated with water, and a *R. similis* suspension was placed on the soil surface. Afterwards, rainfalls ranging from 12 mm to 540 mm were simulated. Nematodes were then extracted from different soil layers (0-5 cm to 20-25 cm depth) using either (i) a Seinhorst elutriator followed by a Baermann funnel or (ii) centrifugation-flotation combined with Meldola blue staining. Results showed that dissemination of *R. similis* at the scale of the decimetre in nitisoil is limited: less than 8% of the applied nematodes reached layers deeper than 10 cm after exceptional rainfalls that represent several times the poral volume of the soil. Dissemination below 25 cm depth seemed to be limited to very few individuals, from 0.1 to 0.2%. Among leached nematodes, the percentage of non-active and dead nematodes increased significantly with depth. It seems that *R. similis* have developed a behaviour to escape leaching. These findings question the generally accepted idea that water dissemination of plant-parasitic nematodes is mainly a passive phenomenon.

**Keywords:** leaching, nematode dissemination, burrowing nematode, banana, nitisoil

---

<sup>8</sup> Soumis le 19/11/2007, corrections majeures envoyées le 15/02/2008, mineures le 18/04/2008, acceptée le 15/05/2008

## Introduction

The burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne is a major pest of banana worldwide (Gowen *et al.*, 2005). In Martinique (French West Indies), a cropping system has been developed based on disinfestation of lands contaminated by plant-parasitic nematodes (Sarah *et al.*, 1983; Mateille *et al.*, 1992). Cleanup is achieved through either a fallow period or an appropriate crop rotation, after which nematode-free, *in vitro* produced banana plants are planted. Growers can then cultivate banana for 2-4 years without a nematicide (Chabrier *et al.*, 2005) before the banana fields are gradually reinfested with the burrowing nematode *R. similis*. As a result, without nematicide applications, the reduction in yield due to toppled plants is usually high enough to lead banana growers to destroy their fields (Blake, 1972).

The rationale for this study was to know if *R. similis* individuals could be passively transported down into deeper soil layers after accidental contaminations (irrigation, run-off and leaching water, contaminated soil particles carried by workers; etc.). Numerous authors propose that water dissemination of nematodes is a major contamination process (Croll and Mathews, 1977; Burr and Robinson, 2004). Several studies have dealt with dissemination in surface water (Faulkner and Bolander, 1970; Cadet *et al.*, 2002). However, active dissemination of plant parasitic nematodes over longer distances has long been considered as a minor phenomenon (Norton, 1978) but DuCharme (1955) reported that, in a hilly Citrus orchard, *R. similis* spread at a rate of 66 m/year downhill while the uphill rate was less than 8 m/year. Although little is known about dissemination in ground water, DuCharme (1955) concluded that “movement of water through the soil facilitates the passage of the nematodes” and that some living *R. similis* may be present in groundwater.

Several studies in soil columns have shown that active dissemination of nematodes may occur at the scale of meters (Prot, 1980). Thus, we studied how rainfall can influence the vertical dissemination of *R. similis* in soil. The answer to this question may influence management techniques such as nematode monitoring. Indeed, Sorribas *et al.* (2000) suggest that rainfall may carry nematodes below sampling depth.

## Materials and methods

Two successive studies were performed. During the first one, “common” rainfalls were simulated. They were strong enough to generate run-off and leaching which happen in nitisol when rainfall exceeds 60 mm/hour. These rainfalls are likely to occur a few times each month in the wet season.

One may consider that, in soil, nematodes inhabit pore spaces filled up by water and air (Quénéhervé and Chotte, 1997). In the second study, simulated rainfalls corresponding to multiples of the pore volumes were applied to evaluate the percentage of nematodes that were likely to be leached through the soil pores. These simulated rainfalls, ranging from 90 to 540 mm, corresponded to exceptional rainfalls that can occur from less than once a year to once every 20 years.

### Study 1

Soil samples were collected in a former banana field. This land was previously contaminated with about 2000 *R. similis* per 100 g of roots before a bare-fallow period which has lasted since December 1999. Since then, this land has been used for erosion studies and was consequently hydraulically isolated from upstream with iron sheet 40 cm wide and hand weeded bimonthly to maintain the bare fallow. Before the present study, in February 2006, the absence of *R. similis* was checked using Seinhorst's (1962) elutriation method.

The soil type was a nitisol, derived from volcanic ashes (andesitic basalt). Such soil is characteristically found in the Caribbean, including in the lowlands in the central part of Martinique and on the Atlantic coast of Guadeloupe. The clay portion is predominant, but the major clay mineral is halloysite, which forms sand-size aggregates with organic compounds (Table 1). In such soil, the diffusion of water is similar to that in sandy soil. Khamsouk (2001) showed that, at field capacity, water conductivity varied between 50 and 60 mm/hr. Median conductivity, measured with a membrane infiltrometer, was 52 mm/hr at the surface of the bare soil. Previous studies showed that this soil contains numerous pores 30-300  $\mu\text{m}$  in diameter. These results were obtained by ultrafiltration under controlled pneumatic pressure (Teissier, 1984). As the body diameter of *R. similis* varies between 12  $\mu\text{m}$  for youngest juveniles to 27  $\mu\text{m}$  for largest females (Van Weerdt, 1958), these pores are suitable for both active and passive displacement of *R. similis* inside the soil.

Soil cylinders were collected using steel drums with an internal diameter of 26 cm and a height of 30 cm. The base of the drums was beveled to facilitate soil penetration; two rings were welded to the upper part, permitting the use of chains to extract the drum from the soil. The drums were first coated with silicone grease to ensure watertightness between the drum and the soil sample. The drums were pushed into the soil with a backhoe. This action was performed uniformly to avoid formation of fissures in the soil that could modify macroporosity and increase the flow of water and nematodes. After reaching the - 25 cm level, the backhoe extracted the drum and the soil sample by pulling gently on a chain; and the soil samples were then brought to the laboratory.

Nematodes were extracted from banana roots removed from a commercial plantation. In this plantation, more than 90% of the nematodes in roots were *R. similis*, although some *Helicotylenchus multicinctus* and *Meloidogyne spp.* were also present. Banana roots were placed in a mist chamber for one week to obtain fresh nematode suspensions following Seinhorst's (1950) method. The suspensions, containing both motile and immotile nematodes, were applied 5 min before the beginning of each rainfall simulation experiment (Table 2).

We simulated a 60 mm/hr rainfall for this study. Such rainfall intensity is consistently observed 2 days per month during the wet season, but only 1 day every 3 months during the dry season (Meteo-France, unpublished data). Four different rainfall durations were tested: 12, 32, 52, and 72 minutes. Under the conditions of these events, we measured the effect of violent showers that occur around 20 times per year. We studied two initial soil moistures: i) well-drained soils, with a water potential varying from -100 to -1 000 kPa (pF 3-4); ii) wetted soils, after a simulated rain, with an initial water potential of -1 kPa.

Simulated rainfalls of 60 mm/hour were performed in an aspersion chamber. The ceiling of this blind room was equipped with sprinklers. The sprinklers received tap water at a pressure of three bars, and thus supplied continuous rain. The cylinder was placed in a 15 L. bucket that collected all the water leaching from the soil sample. Wedges were placed under the bucket so that the upper soil surface was horizontal. Six pluviometers were placed around the soil cylinder to ensure that the intended quantity of rainfall was applied. Each experiment

was replicated three times on three separate soil cylinders. Cylinders of the same replication were tested separately for each rainfall amount, with new soil collected each time.

*R. similis* suspensions (from 22 000 to 59 000 individuals in 200 mL of water, Table 2) were applied uniformly across the soil surface. Simulated rainfall was then applied in one sequence followed by 1 h of leaching. Next, five soil samples were collected with a steel coring probe 5 cm in depth and 5 cm in diameter (Fig. 1). This operation was reiterated five times, to collect five samples per depth, from 5 to 25 cm depth. In addition, we collected pairs of soil samples at each depth to evaluate soil moisture and water potential by ultrafiltration in a pneumatic pressure chamber (Teissier, 1984). We also collected the leached water and the soil particles that fell from the base of the cylinder into the bucket.

For the first experiment, nematodes were extracted from soil by elutriation (Seinhorst, 1962) and separated from remaining particles using Baermann funnels (Hooper, 1986). Nematodes from leached water and soil particles that had fallen into the bucket were extracted by sieving using a column of four sieves (80-25  $\mu\text{m}$ ) to collect nematode-size particles, followed by centrifugation-flotation extraction (Coolen and d'Herde, 1972). Then, nematodes were counted under a light-inversed microscope. At the same time, motility of nematodes was checked by nervous stimulation with a nylon needle.

As the nematodes extracted from 25 coring probes represented about 19.1% of the total volume of the soil cylinder, the percentage of recovered nematodes was calculated using the formula: % recovery = cumulated number of observed nematodes/(number of inoculated nematodes x 0.191).

To ensure the representativeness of the observed population of *R. similis*, the coefficient of variation among the five collected samples at each depth was calculated for each cylinder. Then, only the mean of five samples collected on each layer after each rainfall simulation was retained. Variance analyses were performed to compare the different rainfalls; when the Fisher test was significant for  $P < 5\%$ , mean values per treatment were classified using Duncan's multi-range test. To compare distribution among different layers, percentages of recovered *R. similis* were transformed using the formula  $\log(x + 10^{-5})$ . Linear regression was used to establish the relationship between depth and this variable, after verifying that residues were normally distributed using Shapiro-Wilk's test.

The conclusion of this first study led us to set up a second study to determine whether *R. similis* could be disseminated during exceptional rainfalls.

## Study 2

Soil samples were collected in the same field as for Study 1. Nematode suspensions (Table 3) were obtained following the same procedure described previously, except that we stained an aliquot of each nematode suspension with Meldola blue (Ogiga and Estey, 1974) to discriminate living and dead nematodes among the non-motile nematodes.

We planned rainfalls to correspond to multiples of a calculated pore volume of 8.9  $\text{dm}^3$  within the soil cylinder. This theoretical volume was calculated as follows. If  $V$  is the total volume,  $V_s$  the cumulated volume of soil solid particles,  $V_v$  the volume of pores, and  $M_d$  the dry mass of soil, we have:  $V = V_v + V_s$  and also:

$$V_v/V = V_v/M_s \times M_s/V = (V - V_s)/M_s \times M_s/V = (V/M_s - V_s/M_s) \times M_s/V$$

$$\text{so that: } V_v/V = (1/D_a - 1/D_s) \times D_a = 1 - D_a/D_s = 1 - (1.1/2.68) = 0.59$$

As the soil volume in the cylinders is 15 dm<sup>3</sup>, the pore volume is estimated at 8.9 dm<sup>3</sup>.

We simulated five rainfall types (Table 4), which represented 0.6-3.7 times the pore volume, considering that after such water flushes, all nematodes that were likely to be leached would have been displaced. These rainfalls are quite exceptional. In the past 12 years, Martinique and Guadeloupe islands have both received two rainfalls of more than 400 mm / 24 hours. The highest event, 690 mm in 8 hours, occurred in Guadeloupe during the storm called “Luis” in September 1995.

Rainfalls were applied using the same procedure as in Study 1. But, like during the first study, only 21% of the applied nematodes were recovered, we doubled the number of samples we collected in each soil layer of the first replication. Half the samples were extracted by elutriation, and the other half by centrifugation–flotation (as described by Coolen and d’Herde, 1972). The sampling scheme is presented in Figure 2. For the two other replications, we extracted *R. similis* from the soil by centrifugation-flotation only (Figure 3). Like in Study 1, nematodes in leached water and in the soil in the bucket were extracted by centrifugation-flotation. To discriminate dead and living nematodes, we stained the samples extracted by centrifugation-flotation with Meldola blue between sieving and centrifugation according to the procedure of Ogiga and Estey (1974).

The methods of nematode extraction (elutriation followed by Baermann vs. centrifugation-flotation) were compared on pairs of samples. The results were compared using a bilateral Fisher’s test. Other variables were compared using the statistical methods previously described for Study 1.

## Results

### Study 1

No *R. similis* were found in the soil from the field before extraction of the cylinder. However, these samples comprised only low populations of both the spiral nematode *H. dihystra* and the reniform nematode *Rotylenchulus reniformis* with a few free-living nematodes.

During the first study, only 21% of the applied *R. similis* were recovered. For each depth among the five replicates of each cylinder, the coefficient of variation of the percentage of recovered *R. similis* ranged from 4 to 10%. In addition, after transformation  $\log(x + 10^{-5})$ , residues were distributed according to Normal Law.

On well-drained soils, more than 95% of *R. similis* were recovered in the top 5 cm of the soil, only 21 specimens out of 13 855 counted were extracted between a depth of 15 and 25 cm. Among them, only six individuals were motile after mechanical stimulation. However, in these soils, population displacements increased with an increase in the duration of the rainfall: under 72 mm rainfall, a significantly higher proportion of *R. similis* reached the second layer (Table 5).

Similarly, on wetted soils, 96% of counted *R. similis* were recovered in the top 5 cm. Only 0.27% of recovered *R. similis* were found outside the -10 cm level. Fifteen specimens (among which four were immotile) were observed in the soil column below 15 cm, and 32 cumulated individuals (among which 28 were immotile) were found in buckets (0.015% of the applied *R. similis*).

After each rainfall, distribution of *R. similis* followed an inverse exponential law (Table 6). Indeed, if “y” designates the percentage of recovered nematodes, “x” the depth, and  $\varepsilon$  a constant ( $10^{-5}$ ) that enables calculation when  $y = 0$ , we have:

$$\log(y+\varepsilon) = b - a.x, \text{ then } y+\varepsilon = e^{b-ax} = e^b \cdot e^{-ax}$$

These regressions were significant for both well-drained soils and wetted soils, at field capacity. No significant differences were observed among regression coefficients of both soils. Results of the first study show that there was little passive leaching of *R. similis* (Table 7).

## Study 2

Centrifugation-flotation was a more efficient method to extract females and juveniles of *R. similis* but both methods gave similar results for males (Table 8). In the second and third repetitions, we thus extracted nematodes only by centrifugation-flotation.

Few adult *R. similis* were dragged downward, less than 4% of females were found below 10 cm (Tables 9 and 10). A few more juveniles were found in the 10-25 cm layer (7.7 %). Very few nematodes (fewer than 0.15% of the applied nematodes) were found below the - 25 cm soil level, and collected in the buckets (Table 11).

No significant difference was observed in the recovery percentages of *R. similis* at each depth level among the five different simulated rainfalls (Table 9). Furthermore, at each depth level, no difference was observed between the percentages of *R. similis* not stained with Meldola blue (considered as living individuals).

However, among depth levels, the percentages of *R. similis* not stained with Meldola blue differed significantly; the proportion of “living” individuals increased with depth, following a linear relation (Table 10). This was especially true for juveniles, which presented the highest multiplicative constant ( $a = 2.0$ ).

## Discussion

Several authors (Mc Sorley and Frederick, 1991; Vigliercho and Schmitt, 1983) obtained better results on nematode extraction with elutriation even if only motile nematodes were extracted when elutriation was followed by Baermann filtration (Hooper, 1986). Considering that in our dissemination study, active forms are more pertinent indicators than inactive or dead specimens, we first only extracted *R. similis* using the elutriation-Baermann method. As in Study 1, we retrieved only 21% of the applied specimens of *R. similis*, we tried to extract nematodes from the soil using the centrifugation-flotation method, which extracted more efficiently (49 %). This result is consistent with those of Yen *et al.* (1998) who obtained better extraction outputs with centrifugation-flotation (up to 52%) than with the method of Baermann (never more than 15%) with *Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne incognita*. In addition, Rodriguez-Kabana and King (1975) found good correlations between the two methods; they considered that the differences in extraction efficiency were due to dead nematodes, which were extracted by centrifugation-flotation and not by elutriation. During Study 2, we observed 62% of living *R. similis* (not stained with Meldola blue). Our study suggests that extraction efficiency depends not only on the proportion of dead individuals, but also on the proportion of immotile individuals (dead or alive) during the extraction processes.

Extraction losses depended to a great extent on the developmental stage of *R. similis* and they were three times higher for juveniles than for adult females. This result is consistent

with observations of Verschor and De Goede (2000) who reported that they mostly lost nematodes smaller than 400  $\mu\text{m}$  (the average size of juvenile stages 2 and 3 of *R. similis*). Reversat (1980) showed that motility and infectivity of juveniles (*Heteroder oryzae*) was closely linked with aging and physiological factors such as their lipid content. In our studies, we applied mixtures of *R. similis* differing in sex, age and lipid reserves; these physiological differences may have influenced the motility of individuals. Thus, for one nematode species, extraction efficiency may depend on many different features like the size and the physiological status of individuals.

Few publications have dealt with passive dissemination by rainfall of nematodes below the soil surface. Dennis *et al.* (1999; 2000) studied the “leaching” of *Steinernema carpocapsae* (Weiser) in different soils and tried to explain their results using models designed for pesticide leaching. As we did, they used soil cylinders coupled with a rainfall simulator. They simulated rainfalls of almost 200 cumulated millimetres, close to the lowest amount in our study 2 (180 mm). They observed (i) low dissemination rates: 46-75% of the recovered population remained in the top 5 cm of the soil, (ii) 0.9-3.5% below – 25 cm, and (iii) and paradoxically, an even lower dissemination rate in sandy soil, which is more favourable to nematode movement (Wallace, 1958).

The nematode dissemination rate observed by Dennis *et al.* (1999; 2000) is nevertheless much higher than the one we observed with *R. similis* (Tables 5 and 9). These differences may be due (i) to the characteristics of simulated rainfall applied and (ii) the characteristics of the nematodes. In the studies by Dennis *et al.*, (1999; 2000) nematodes were extracted after 48 hours, and these nematodes thus had three to eighteen times as long to move and disseminate actively than during our study. In addition, in our studies, rainfall intensities were 7 or 15 times higher (30 or 60 mm/hour vs. 4 mm/h) and thus much more likely to generate greater leaching of the nematodes in the soil.

The size of infective juveniles of *S. carpocapsae* is quite similar to *R. similis* size: 438-650  $\mu\text{m}$  in length and 20-30  $\mu\text{m}$  in width for *S. carpocapsae* (Adams and Nguyen, 2002) vs. 458-720  $\mu\text{m}$  in length and 17-27  $\mu\text{m}$  in width for females of *R. similis* (Van Weerd, 1958). As our simulated rainfalls generated water flows that were one to six times greater than those of Dennis *et al.* (1999; 2000), purely passive dissemination should have led to a much wider distribution in our cylinder. This was not the case, as deep displacement of *S. carpocapsae* was much higher in a Tennessee soil whose granulometry is close to the apparent granulometry of the nitisol in Martinique.

Dennis *et al.* (2000) tried to explain their results by sorption, using models designed to study sorption and leaching of pollutants (Banerjee *et al.*, 1995; Baham and Sposito, 1994). But as nematodes can not enter soil aggregates (Wallace, 1968; Quénéhervé and Chotte, 1997; Burr and Robinson, 2004) and as the surface of nematodes is covered by a glycocalix (Bird, 2004) preventing their sorption by soil, this interpretation is not satisfying.

In contrast, the behaviour of nematodes could provide a better explanation: a nematode can escape leaching by entering closed capillaries or by adopting a shape that enables it to stick to a soil particle. After rainfall, nematodes may also try to flee from areas where soil moisture conditions are not optimal. Furthermore, *S. carpocapsae* is an entomopathogenic nematode which is much more active than the plant-parasitic *R. similis*. Thus, in the experiment of Dennis *et al.* (1999; 2000), not only was more time available for nematodes to disseminate actively, but this entomopathogenic nematode also seems to be more likely to explore its close environment. As a result, the behaviour of *S. carpocapsae*

could explain both its wider dissemination in sandy loam soil than in horticultural sand (Dennis *et al.*, 1999) and also its much wider dissemination in their soil cylinder under gentle leaching than the *R. similis* dissemination we observed with severe leaching.

This interpretation may also explain why, in our studies, the proportion of motile or living nematode decreased progressively with depth in the well-drained soil column in Study 1 (Table 7). A similar decrease in the percentage of living individuals was also observed during Study 2 in females and juveniles (Table 10). This effect was statistically significant; non-motile or dead nematodes are more likely to be carried downward than active or living ones. The fact that they could not adapt their behaviour to enable them to flee from leaching could explain these observations.

Few differences appeared among the distribution of *R. similis* after the different simulated rainfalls (Tables 5 and 9). This finding is not consistent with the hypothesis of main passive movement, which should have increased leaching with an increase in rainfall intensity or duration. However, the finding is consistent with the hypothesis of behaviour that leads the nematode to escape leaching: for a nematode which has entered a capillary that is narrow enough to avoid the risk of it being carried away, it does not make any difference whether the rainfall lasts 12 minutes or 12 hours.

Very few nematodes were found in the buckets in the two studies, even after the heavy rainfalls in Study 2. During this study, 2.73% of the total number of *R. similis* collected came from one cylinder (Table 11). We may have measured an artefact (imperfect waterproofness of the silicone joint along the steel drum), but it is also possible that some nematodes fell through natural small fissures that already existed in fields. Anyway, in this case, 1.3% of the applied *R. similis* reached the bottom of the cylinder. Curiously, this cylinder was one of the three that was subjected to the smallest simulated rainfall; this observation, which is in agreement with the hypothesis of active fleeing from leaching, disagrees with that of purely passive leaching.

The hypothesis that a nematode like *R. similis* is able to escape leaching is completely new for a plant parasitic nematode. Such behaviour may result from a general adaptation process that favoured their survival and dissemination. The rooting system of banana plants is usually concentrated near the corm close to the soil surface: in the French West Indies, more than 80% of the root system is in the top 30 cm of the soil, very few roots are found below 50 cm (Delvaux and Guyot, 1989; Lecompte, 2002). Moreover, in recent plantations, newly emitted roots develop in the top soil layer. If individual *R. similis* passively carried down after accidental contamination (irrigation, run-off water) are not leached down into deeper layers of the soil, they will be more likely to infest banana roots. Thus, fleeing behaviour should have given *R. similis* a considerable advantage over other species likely to colonize the same niche.

## **Conclusion**

The generally accepted idea that active dissemination of plant-parasitic nematodes is mainly passive is likely to be true at a large scale (above the scale of 1 km), but not at the scale of a decimetre. At such a small scale, plant-parasitic nematode behaviour may modify their dissemination and, if well adapted to their environment and host characteristics, may increase their foraging ability.

Passive dissemination of *R. similis* in lower layers of soils appears to be a marginal phenomenon, probably limited to “disaster” events at the nematode scale, such as falling down a soil macropore.

In the case of infestation of banana fields, studies should emphasise surface dissemination by run-off water and active dissemination from root to root. Even shallow ditches (30 - 40 cm depth) may be very helpful by channelling run-off water and thus preventing this method of dissemination (Chabrier, 2008). As far as active dissemination is concerned, more knowledge of nematode behaviour is needed to elucidate the various tactisms that could incite *R. similis* to migrate.

### **Acknowledgements**

The authors thank Christiane Bastol, Camille Hubervic, Jules Hubervic, Robert Jules-Rosette, Serge Marie-Luce and Patrick Topart for their technical assistance.

## References

- Adams, B.D., Nguyen, K. B., 2002. Taxonomy and Systematics. In: Gaugler, R. (Ed.), *Entomopathogenic Nematology*, CABI Publishing, Wallingford, pp. 1-33.
- Baham, J., Sposito, G., 1994. Adsorption of dissolved organic carbon extracted from sewage sludge on montmorillonite and kaolinite in the presence of metal ions. *J. Environ. Qual.* 23, 147-153.
- Banerjee, K., Cheremisinoff, P. N., Cheng. S. L., 1995. Sorption of contaminants by fly ash in single solute system. *Environ. Sci. and Technol.* 29, 2243-2251.
- Bird, A.F., 2004. Surface adhesion to nematodes and its Consequences. In: Chen, Z.X., Chen, S.Y., Dickson, D.W. (Eds.), *Nematology – Advances and Perspectives*. Tsinghua University Press and CABI Publishing, Wallingford, pp. 295-329.
- Blake, C.D., 1972. Nematode Diseases of Banana Plantations. In: Webster, J.M. (Ed.), *Economic Nematology*. Academic Press, London, pp. 245-267.
- Burr, A.H.J., Robinson, A.F., 2004. Locomotion behaviour. In: Gaugler R., Bilgrami, A.L. (Eds.), *Nematode Behaviour*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 25-62.
- Cadet, P., Planchon, O., Esteves, M., Lapetite, J-M., 2002. Experimental study of the selective transport of nematodes by runoff water in the Sudano-Sahelian area. *Appl. Soil Ecol.* 19, 223-236.
- Chabrier, C., Mauléon, H., Bertrand, P., Lassoudière, A., Quénéhervé, P., 2005. Banane antillaise : les systèmes de culture évoluent. *Phytoma L.D.V.* 584, 12-16.
- Chabrier, C., Quénéhervé, P., 2008. Preventing nematodes from spreading: A case study with *Radopholus similis* (Cobb) Thorne in a banana field. *Crop Prot.* 27, 1237-1243
- Coolen, W.A., d'Herde, C.J., 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent State Agriculture Research Centre, Ghent, 77 pp.
- Croll, N.A., Mathews B.E., 1977. *Biology of Nematodes*. John Wiley & Sons, New York, 201 pp.
- Delvaux, B., Guyot, Ph., 1989. Caractérisation de l'enracinement du bananier au champ. Incidences sur les relations sol-plantes dans les bananeraies intensives de la Martinique. *Fruits* 44, 633-647.
- Dennis, S. O., Harrison, R. E., Aburime, S. A., Tsegaye, T., 1999. Distribution of water-facilitated entomopathogenic nematodes in soil columns. In: James, B.L. (Ed.), *SNA Research Conference 44*, McMinnville, 258-261.
- Dennis, S. O., Tsegaye, T., Aburime, S.A., Harrison, R.E., 2000. Sorption of a Biocontrol Agent and its Effects on Movement in Nursery Soil. In: James, B.L. (Ed.), *SNA Research Conference 45*, McMinnville, 229-232.
- DuCharme, E.P., 1955. Sub-soil drainage as a factor in the spread of the burrowing nematode. *P. Fl. St. Hortic. Soc.* 68, 29-31.

- Faulkner, L.R., Bolander, W.J., 1970. Acquisition and distribution of nematodes in irrigation waterways of the Columbia basin in Eastern Washington. *J. Nematol.* 2, 362-367.
- Gowen, S.R., Quénéhervé, P., Fogain, R., 2005. Nematode Parasites of Bananas and Plantains. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J. (Eds.), *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, 2<sup>nd</sup> ed. CABI Publishing, Wallingford, pp. 611-643.
- Hooper, D.J., 1986. Extraction of free-living stages from soil. In: Southey, J.F. (Ed.), *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes*, 6<sup>th</sup> ed. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, pp. 5-30.
- Khamsouk, B., 2001. Impact de la culture bananière sur l'environnement. Influence des systèmes de cultures bananières sur l'érosion, le bilan hydrique et les pertes en nutriments sur un sol volcanique en Martinique. (Cas du sol brun rouille à halloysite). PhD Thesis, ENSA-M., Montpellier, France, 220 pp.
- Lecompte, F., 2002. Mise en place de l'architecture racinaire du bananier dans un andosol : effets des contraintes physiques liées au compactage. PhD Thesis, INA-PG, Paris, France, 131 pp.
- Mateille, T., Adjovi, T., Hugon, R., 1992. Techniques culturales pour la lutte contre les nématodes du bananier en Côte d'Ivoire : Assainissement des sols et utilisation de matériel sain. *Fruits* 47, 281-290.
- McSorley, R., Frederick, J.J., 1991. Extraction efficiency of *Belonolaimus longicaudatus* from sandy soil. *J. Nematol.* 23, 511-518.
- Norton, D.C., 1978. *Ecology of plant parasitic nematodes*. John Wiley & Sons, New York, 268 pp.
- Ogiga, I.R., Estey, R.H., 1974. The use of Meldola Blue and Nile Blue A for distinguishing dead from living nematodes. *Nematologica* 20, 271-276.
- Prot, J. C., 1980. Migration of plant-parasitic nematodes toward plant roots. *Rev. Nématol.* 3, 305-318.
- Quénéhervé, P., Chotte, J-L., 1997. Distribution of nematodes in vertisol aggregates under a pangola grass pasture in Martinique. *Appl. Soil Ecol.* 4, 193-200.
- Reversat, G., 1980. Effect of in vitro storage time on the physiology of second stage juveniles of *Heterodera oryzae*. *Rev. Nématol.* 3, 233-241.
- Rodríguez-Kábana, R., King, P.S., 1975. Efficiency of Extraction of Nematodes by Flotation-Sieving Using Molasses and Sugar and by Elutriation. *J. Nematol.* 7, 54-59.
- Sarah, J.L., Lassoudière, A., Guérout, R., 1983. La jachère nue et l'immersion du sol : deux méthodes intéressantes de lutte intégrée contre *Radopholus similis* Cobb. dans les bananeraies des sols tourbeux de Côte d'Ivoire. *Fruits* 38, 35-42.
- Seinhorst, J.W., 1950. De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aantasting door het stengelaatje (*Ditylenchus dipsaci* (Khün) Filipjev). *Tijdschr. PIZiekt.* 5, 291-349.

- Seinhorst, J.W., 1962. Modifications of the elutriation method for extracting nematodes from soil. *Nematologica* 8, 117-128.
- Sorribas, F.J., Verdejo-Lucas, S., Forner, J. B., Alcaide, A., Pons, J., Ornat, C., 2000. Seasonality of *Tylenchulus semipenetrans* Cobb and *Pasteuria* sp. in Citrus Orchards in Spain. *J. Nematol.* 32, 622–632.
- Teissier, D., 1984. Etude expérimentale de l'organisation des matériaux argileux. Hydratation, gonflement et structuration au cours de la dessiccation et de la réhumectation. PhD Thesis, Univ. Paris VII, Paris, France, 361 pp.
- Van Weerd, L. G., 1958. Studies on the Biology of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949. Part II, Morphological variation within and among progenies of single females. *Nematologica* 3, 184-196.
- Verschor, B.C., De Goede, R.G.M., 2000. The nematode extraction efficiency of the Oostenbrink elutriator-cottonwool filter method with special reference to nematode body size and life strategy. *Nematology* 2, 325-342.
- Vigliarcho, D. R., Schmitt, R. V., 1983. On the methodology of nematode extraction from field samples: Comparison of methods for soil extraction. *J. Nematol.* 15, 450-454.
- Wallace, H.R., 1958. The movement of eelworms. II A comparative study of the movement in soil of *Heterodera schachtii* Schmidt and of *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev. *Ann. Appl. Biol.* 46, 86-94.
- Wallace, H.R., 1968. The dynamic of Nematode movement. *Annu. Rev. Phytopathol.* 6, 91-114.
- Yen, J.H., Lee, M.D., Chen, D.Y., Lin, C.Y., Tsay, T.T., 1998. [The comparison of three nematode-extraction methods on four selected nematodes] (in Chinese, with English abstract). *Plant Prot. Bull.* 40, 153-162.

Table 1: Granulometry of nitisol in Martinique obtained (i) according to standard procedures after sonification and dispersion in sodium hexametaphosphate (Standard granulometry) and (ii) by sieving without dispersion (apparent granulometry).

|      | Standard granulometry           |                                  | Apparent granulometry           |                                  |
|------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
|      | Particle size ( $\mu\text{m}$ ) | Weight of soil fraction (g/100g) | Particle size ( $\mu\text{m}$ ) | Weight of soil fraction (g/100g) |
| Sand | 50 – 2 000                      | 11.3                             | 500 – 2 000                     | 1.91                             |
|      |                                 |                                  | 312 - 500                       | 6.71                             |
|      |                                 |                                  | 200 - 312                       | 26.96                            |
|      |                                 |                                  | 100 - 200                       | 29.65                            |
|      |                                 |                                  | 50 - 100                        | 29.43                            |
| Loam | 2 - 50                          | 14.6                             | 0 - 50                          | 5.34                             |
| Clay | 0 - 2                           | 73.4                             |                                 |                                  |

Table 2: Numbers of *R. similis* applied during rainfall simulations in Study 1. Nematodes extracted from infested banana roots by mist extraction.

| Rainfall intensity (mm/hr) | Rainfall Duration (h:mn) | Well-drained soil |          |        | Wetted soil |          |        |
|----------------------------|--------------------------|-------------------|----------|--------|-------------|----------|--------|
|                            |                          | Motile            | Immotile | Total  | Motile      | Immotile | Total  |
| 60                         | 0:12                     | 27 600            | 20 760   | 48 360 | 16 475      | 23 400   | 39 875 |
|                            | 0:32                     | 10 425            | 14 300   | 24 725 | 6 210       | 21 315   | 27 525 |
|                            | 0:52                     | 8 552             | 25 738   | 34 290 | 32 780      | 25 855   | 58 635 |
|                            | 1:12                     | 10 660            | 11 235   | 21 895 | 15 160      | 12 155   | 27 315 |
| Average                    |                          | 14 309            | 18 008   | 32 318 | 17 656      | 20 681   | 38 338 |

Table 3: Numbers of *R. similis* (total and % of dead) applied during rainfall simulations in Study 2 (rainfalls that drained multiples of the pore volume of the soil). Nematodes extracted from infested banana roots by mist extraction.

| Rainfall intensity (mm/hr) | Rainfall duration (h:mn) | Total number of <i>R. similis</i> |       |           | % <i>R. similis</i> colored by Meldola's Blue |       |           |
|----------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-------|-----------|---|-------|-----------|
|                            |                          | Females                           | Males | Juveniles | Females                                       | Males | Juveniles |
| 30                         | 3:00                     | 22 870                            | 4 083 | 13 627    | 4.8   | 9.1   | 8.5       |
|                            | 6:00                     | 7 051                             | 1 296 | 2 841     | 5.1   | 16.0  | 11.9      |
|                            | 12:00                    | 19 044                            | 4 412 | 8 470     | 7.8   | 6.3   | 9.9       |
|                            | 18:00                    | 7 618                             | 1 179 | 3 090     | 13.7  | 4.5   | 5.9       |
| 60                         | 3:00                     | 9 373                             | 1 596 | 5 399     | 10.5  | 7.2   | 7.2       |
| Average                    |                          | 13 191                            | 2 513 | 6 685     | 8.4   | 8.6   | 8.7       |

Table 4: Characteristic rainfalls in Study 2.

| Intensity (mm/hr) | Duration (hr) | Total (mm) | Proportion of pore volume of the soil cylinder |
|-------------------|---------------|------------|--|
| 30                | 3             | 90         | 0.6  |
| 30                | 6             | 180        | 1.2  |
| 30                | 12            | 360        | 2.4  |
| 30                | 18            | 540        | 3.7  |
| 60                | 3             | 180        | 1.2  |

Table 5: Vertical distribution of recovered *R. similis* after simulated rainfalls on well-drained and wetted soils: comparison of the different rainfalls in Study 1.

| Depth (cm) | Rainfall (mm) | Well-drained soil |    |          |    | Wetted soil |    |          |    |
|------------|---------------|-------------------|----|----------|----|-------------|----|----------|----|
|            |               | % Recovered       |    | % Motile |    | % Recovered |    | % Motile |    |
| 2.5        | 12            | 99.82             | a  | 74.92    |    | 95.48       | a  | 79.75    | a  |
|            | 32            | 98.27             | a  | 73.03    |    | 98.15       | a  | 79.38    | a  |
|            | 52            | 95.27             | a  | 75.28    |    | 97.90       | a  | 78.73    | a  |
|            | 72            | 86.10             | b  | 66.82    |    | 87.45       | b  | 55.63    | b  |
| Mean       |               | 94.87             | S  | 72.51    | ns | 94.74       | S  | 73.37    | S  |
| 7.5        | 12            | 0.18              | b  | 72.92    |    | 4.26        | b  | 66.71    | ab |
|            | 32            | 0.92              | b  | 61.67    |    | 1.66        | b  | 53.90    | b  |
|            | 52            | 4.65              | ab | 67.00    |    | 1.89        | b  | 85.51    | a  |
|            | 72            | 12.52             | a  | 36.69    |    | 10.07       | a  | 72.70    | a  |
| Mean       |               | 4.57              | S  | 59.57    | ns | 4.47        | S  | 69.70    | S  |
| 12.5       | 12            | 0.00              |    |          |    | 0.12        |    | 72.22    |    |
|            | 32            | 0.59              |    | 52.08    |    | 0.16        |    | 91.67    |    |
|            | 52            | 0.00              |    |          |    | 0.20        |    | 82.48    |    |
|            | 72            | 1.32              |    | 66.66    |    | 1.05        |    | 88.89    |    |
| Mean       |               | 0.48              | ns | 59.37    | ns | 0.38        | ns | 83.81    | ns |
| 17.5       | 12            | 0.00              |    |          |    | 0.05        |    |          |    |
|            | 32            | 0.22              |    |          |    | 0.03        |    |          |    |
|            | 52            | 0.08              |    |          |    | 0.01        |    |          |    |
|            | 72            | 0.00              |    |          |    | 0.27        |    |          |    |
| Mean       |               | 0.07              | ns |          |    | 0.09        | ns |          |    |
| 22.5       | 12            | 0.00              |    |          |    | 0.00        |    |          |    |
|            | 32            | 0.00              |    |          |    | 0.00        |    |          |    |
|            | 52            | 0.00              |    |          |    | 0.00        |    |          |    |
|            | 72            | 0.06              |    |          |    | 0.01        |    |          |    |
| Mean       |               | 0.02              | ns |          |    | 0.00        | ns |          |    |

ns = Not significant, S = significant (P = 0.05), HS = highly significant (P = 0.01). Variances of percentages of recovered *R. similis* were analyzed after  $\log(x+10^{-5})$  transformation. Means in a row followed by the same letter are not different (P = 0.05) according to Duncan's multi-range test.

Table 6: Vertical distribution of recovered *R. similis* after simulated rainfalls on well-drained and wetted soils: regression comparison of the different depths (mean of three replicates) in Study 1.

| Rainfall (mm) | Well-drained soil   |                |        | Wetted soil         |                |        |
|---------------|---------------------|----------------|--------|---------------------|----------------|--------|
|               | Linear regression   | R <sup>2</sup> | F-test | Linear regression   | R <sup>2</sup> | F-test |
| 12            | Y = 3.423-0,561 x D | 0.76           | HS     | Y = 4,562-0,472 x D | 0.82           | HS     |
| 32            | Y = 3,848-0,519 x D | 0.79           | HS     | Y = 4,883-0,572 x D | 0.84           | HS     |
| 52            | Y = 4,167-0,568 x D | 0.70           | HS     | Y = 5,331-0,591 x D | 0.93           | HS     |
| 72            | Y = 3,163-0,476 x D | 0.74           | HS     | Y = 3,600-0,358 x D | 0.65           | HS     |

Y = log (x + 10<sup>-5</sup>), x designates the percentage of recovered *R. similis* in a layer, D: depth of the layer, HS: highly significant (P = 0.01).

Table 7: Vertical distribution of recovered *R. similis* after simulated rainfalls on well-drained and wetted soils: comparison of the different depths in Study 1.

| Depth | Well-drained soil |          | Wetted soil |          |
|-------|-------------------|----------|-------------|----------|
|       | % Recovered       | % Motile | % Recovered | % Motile |
| 2.5   | 94.87 a           | 72.51 a  | 94.74 a     | 73.37    |
| 7.5   | 4.57 b            | 59.57 b  | 4.47 b      | 69.70    |
| 12.5  | 0.48 c            | 59.37 b  | 0.38 c      | 83.81    |
| 17.5  | 0.07 d            |          | 0.09 d      |          |
| 22.5  | 0.02 d            |          | 0.00 d      |          |
|       | HS                | HS       | HS          | ns       |

ns = Not significant, S = significant (P = 0.05), HS = highly significant (P = 0.01). Variances of percentages of recovered *R. similis* were analyzed after log(x+10<sup>-5</sup>) transformation. Means in a row followed by the same letter are not different (P = 0.05) according to Duncan's multi-range test.

Table 8: Efficiency of the two methods of extraction of *R. similis* from soil: elutriation-Baermann compared to centrifugation-flotation. Results after five rainfall simulations; statistical tests conducted on 125 pairs of samples (5 cylinders x 5 depths x 5 replicates).

| Method                   | Females     | Males       | Juveniles  | Total       |
|--------------------------|-------------|-------------|------------|-------------|
| Elutriation + Baermann   | 23.0 ± 7.1  | 74.9 ± 33.6 | 8.1 ± 3.7  | 20.8 ± 6.5  |
| Centrifugation-flotation | 62.2 ± 18.9 | 65.4 ± 25.0 | 21.4 ± 9.6 | 49.1 ± 15.6 |
|                          | HS          | ns          | HS         | HS          |

Data were compared using bilateral Fisher's test. ns = Not significant, HS = highly significant (P = 0.01)

Table 9: Vertical distribution of recovered *R. similis* after simulated rainfalls: comparison of the different rainfalls in Study 2.

| Depth (cm) | Rainfall (hr x mm/hr) | Females     |         | Males       |         | Juveniles   |         |      |    |      |    |      |    |
|------------|-----------------------|-------------|---------|-------------|---------|-------------|---------|------|----|------|----|------|----|
|            |                       | % Recovered | % Alive | % Recovered | % Alive | % Recovered | % Alive |      |    |      |    |      |    |
| 2.5        | 3 x 30                | 85.6        | 95.2    | 70.8        | 95.2    | 66.9        | 93.7    |      |    |      |    |      |    |
|            | 6 x 30                | 78.7        | 59.2    | 77.7        | 59.9    | 74.4        | 43.8    |      |    |      |    |      |    |
|            | 12 x 30               | 93.0        | 74.7    | 93.6        | 71.7    | 93.4        | 64.2    |      |    |      |    |      |    |
|            | 18 x 30               | 76.6        | 84.2    | 77.2        | 85.0    | 74.2        | 64.1    |      |    |      |    |      |    |
|            | 3 x 60                | 87.4        | 77.8    | 88.9        | 72.5    | 73.9        | 67.4    |      |    |      |    |      |    |
| Mean       |                       | 84.3        | ns      | 78.2        | ns      | 81.6        | ns      | 76.9 | ns | 76.6 | ns | 66.7 | ns |
| 7.5        | 3 x 30                |             |         |             |         |             |         |      |    |      |    | 100. |    |
|            | 6 x 30                | 11.1        | 94.2    | 18.6        | 90.0    | 24.4        | 0       |      |    |      |    |      |    |
|            | 12 x 30               | 16.1        | 64.2    | 10.4        | 53.6    | 18.1        | 53.6    |      |    |      |    |      |    |
|            | 18 x 30               | 4.9         | 60.1    | 4.7         | 64.6    | 4.0         | 64.4    |      |    |      |    |      |    |
|            | 3 x 60                | 19.9        | 72.0    | 13.1        | 80.6    | 13.3        | 31.0    |      |    |      |    |      |    |
| Mean       |                       | 10.9        | 68.4    | 9.7         | 64.4    | 19.2        | 63.5    |      |    |      |    |      |    |
|            |                       | 12.6        | ns      | 71.8        | ns      | 11.3        | ns      | 70.6 | ns | 15.8 | ns | 62.5 | ns |
| 12.5       | 3 x 30                |             |         |             |         | 100.        |         |      |    |      |    |      |    |
|            | 6 x 30                | 2.1         | 90.5    | 3.2         | 0       | 6.8         | a       | 35.0 |    |      |    |      |    |
|            | 12 x 30               | 3.2         | 52.2    | 3.3         | 50.0    | 4.0         | a       | 64.3 |    |      |    |      |    |
|            | 18 x 30               | 1.0         | 33.4    | 0.7         | 50.0    | 1.1         | a       | 33.3 |    |      |    |      |    |
|            | 3 x 60                | 1.2         | 60.6    | 5.5         | 33.3    | 0.8         | b       | 0.0  |    |      |    |      |    |
| Mean       |                       | 1.2         | 57.7    | 0.3         | 66.7    | 4.6         | a       | 54.3 |    |      |    |      |    |
|            |                       | 1.7         | ns      | 58.9        | ns      | 2.6         | ns      | 60.0 | ns | 3.5  | S  | 37.4 | ns |
| 17.5       | 3 x 30                |             |         |             |         | 100.        |         |      |    |      |    |      |    |
|            | 6 x 30                | 1.0         | 37.3    | 6.2         | 0       | 1.8         | 0.0     |      |    |      |    |      |    |
|            | 12 x 30               | 1.7         | 33.3    | 8.1         | 50.0    | 1.4         | 0.0     |      |    |      |    |      |    |
|            | 18 x 30               | 0.9         | 59.7    | 1.0         | 33.3    | 1.4         | 25.0    |      |    |      |    |      |    |
|            | 3 x 60                | 2.1         | 83.3    | 2.8         | 0.0     | 10.6        | 16.7    |      |    |      |    |      |    |
| Mean       |                       | 0.3         | 55.6    | 0.2         | 0       | 0.7         | 66.7    |      |    |      |    |      |    |
|            |                       | 1.2         | ns      | 53.9        | ns      | 3.6         | ns      | 56.7 | ns | 3.2  | ns | 21.7 | ns |
| 22.5       | 3 x 30                |             |         |             |         | 100.        |         |      |    |      |    |      |    |
|            | 6 x 30                | 0.3         |         | 1.3         |         | 0.1         |         |      |    |      |    |      |    |
|            | 12 x 30               | 0.5         |         | 0.9         |         | 2.2         |         |      |    |      |    |      |    |
|            | 18 x 30               | 0.2         |         | 0.1         |         | 0.1         |         |      |    |      |    |      |    |
|            | 3 x 60                | 0.2         |         | 1.4         |         | 1.1         |         |      |    |      |    |      |    |
| Mean       |                       | 0.3         |         | 0.9         |         | 1.5         |         |      |    |      |    |      |    |
|            |                       | 0.3         | ns      |             | ns      | 0.9         | ns      |      | ns | 1.0  | ns |      |    |

ns = Not significant, S = significant (P = 0.05), HS = highly significant (P = 0.01). Variances of percentages of recovered *R. similis* were analyzed after  $\log(x+10^{-5})$  transformation. Means in a row followed by the same letter are not different (P = 0.05) according to Duncan's multi-range test.

Table 10: Vertical distribution of recovered *R. similis* after simulated rainfalls: comparison of the different depths in Study 2.

| Depth (cm)     | Females              |                  | Males                |                  | Juveniles            |                  |
|----------------|----------------------|------------------|----------------------|------------------|----------------------|------------------|
|                | % Recovered          | % Alive          | % Recovered          | % Alive          | % Recovered          | % Alive          |
| 2.5            | 84.3 a               | 78.2 a           | 81.6 a               | 76.9             | 76.6 a               | 66.7 a           |
| 7.5            | 12.6 b               | 71.8 ab          | 11.3 b               | 70.6             | 15.8 b               | 62.5 a           |
| 12.5           | 1.7 c                | 58.9 b           | 2.6 c                | 60.0             | 3.5 c                | 37.4 ab          |
| 17.5           | 1.2 c                | 53.9 b           | 3.6 c                | 56.7             | 3.2 c                | 21.7 b           |
| 22.5           | 0.3 d                |                  | 0.9 d                |                  | 1.0 d                |                  |
|                | HS                   | S                | HS                   | ns               | HS                   | S                |
| Regression     | L(F) = 4.71 - 0.31xD | F = 78.6 - 1.3xD | L(M) = 5.05 - 0.40xD | M = 77.6 - 1.4xD | L(J) = 4.76 - 0.35xD | J = 71.0 - 2.0xD |
| R <sup>2</sup> | 0.71 / HS            | 0.72 / HS        | 0.50 / HS            | 0.40 / S         | 0.44 / HS            | 0.53 / HS        |

ns = Not significant, S = significant (P = 0.05), HS = highly significant (P = 0.01). Variances of percentages of recovered *R. similis* were analyzed after  $\log(x+10^{-5})$  transformation. Means in a row followed by the same letter are not different (P = 0.05) according to Duncan's multi-range test. L(F), L(M) and L(J): % of recovered females, males and juveniles after transformation  $\log(x+10^{-5})$ ; D: depth (in cm), F, M, J: % of alive females, males and juveniles

Table 11: Dissemination of *R. similis* in groundwater: number of specimens isolated in the bucket under each soil cylinder in Study 2.

| Rainfall (hr x mm/hr) | Females | Males | Juveniles |
|-----------------------|---------|-------|-----------|
| 3 x 30                | 150     | 49    | 180       |
|                       | 7       | 3     | 3         |
|                       | 77      | 3     | 0         |
| 6 x 30                | 1       | 0     | 6         |
|                       | 0       | 0     | 1         |
|                       | 0       | 0     | 0         |
| 12 x 30               | 0       | 3     | 10        |
|                       | 0       | 0     | 0         |
|                       | 0       | 0     | 0         |
| 18 x 30               | 3       | 3     | 1         |
|                       | 1       | 0     | 1         |
|                       | 2       | 0     | 3         |
| 3 x 60                | 5       | 3     | 2         |
|                       | 0       | 0     | 0         |
|                       | 1       | 0     | 2         |
| % Alive               | 75      | 100   | 56.5      |

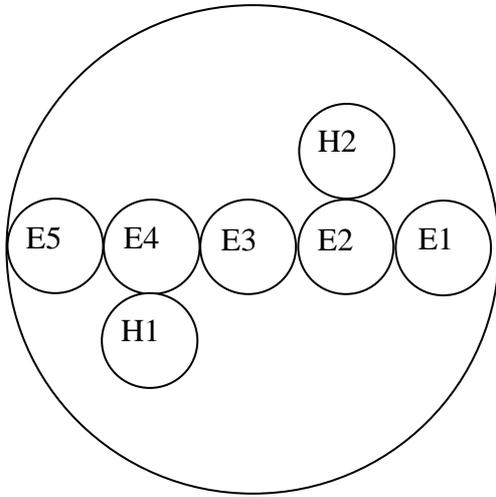


Figure 1: study 1

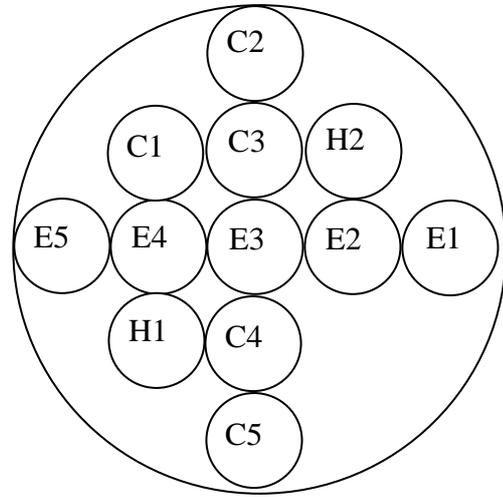


Figure 2: study 2, repetition 1

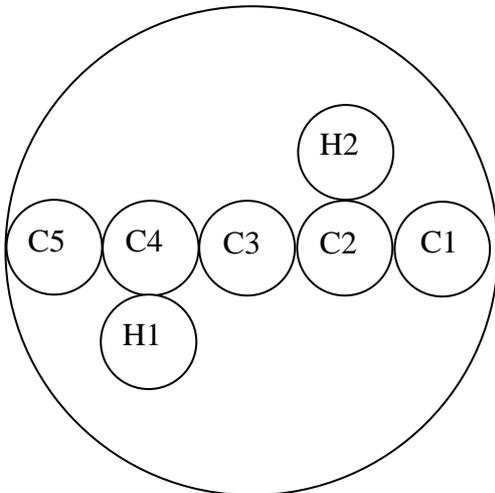


Figure 3: study 2, repetition 2 and 3

Figure 1, 2, and 3: Sampling scheme of soil, at the surface of the cylinder after simulated rainfall.

C1 to C5: sample for centrifugation-flotation; E1 to E5: samples for elutriation; H1 and H2: samples for soil water contents.

En Conclusion, la dissémination passive dans le sol paraît faible, voire marginale. Elle n'a été observée que sur deux cylindres de sol (sur 31) ; il est difficile de savoir si, dans chacun de ces deux cas, nous avons mesuré un artefact ou un phénomène provoqué par des fissures naturelles. Quoi qu'il en soit, cette dissémination semble limitée aux épisodes "catastrophe" à l'échelle du nématode (chute dans des fissures trop larges pour qu'il puisse se retenir).

#### **4 Étude à l'échelle de la parcelle**

Les résultats obtenus à l'échelle métrique semblent contredire les premières observations : les transferts par les eaux, réels à l'échelle du bassin versant, semblent marginaux à l'échelle décimétrique. Qu'en est-il à l'échelle intermédiaire ?

Par ailleurs, une autre approche pour étudier la dissémination de *R. similis* consiste à évaluer sa propagation sur sa plante hôte de prédilection, le bananier. Nous avons ainsi suivi l'infestation d'une parcelle initialement saine à partir d'une zone contaminée.

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue "Crop Protection".

Publication dans *Crop Protection* n°1<sup>9</sup> (n°27, p. 1237-1243) :

**Preventing nematodes from spreading: a case study with *Radopholus similis* (Cobb)**

**Thorne in a banana field.**

Christian Chabrier<sup>1\*</sup> and Patrick Quénéhervé<sup>2</sup>

<sup>1</sup> CIRAD, UPR Systèmes Bananes et Ananas, Pôle de Recherche Agroenvironnemental de la Martinique, BP. 214, 97 232 Le Lamentin, Martinique

<sup>2</sup> IRD, UMR IRD-CIRAD-UM2: Résistance des Plantes aux Bioagresseurs, Pôle de Recherche Agroenvironnemental de la Martinique, BP. 214, 97 232 Le Lamentin, Martinique

\*Corresponding author: Christian Chabrier

Tel.: + (596) 596-42-30-73

E-mail address: [christian.chabrier@cirad.fr](mailto:christian.chabrier@cirad.fr)

## Abstract

During the last decade, new crop systems have been developed in the French West Indies to avoid repeated applications of nematicides in banana fields. These combine fallow or rotation crops and nematode-free *in vitro*-plants. In many fields, however, after 2-4 years, the burrowing nematodes *Radopholus similis* progressively re-infest banana fields, leading growers to reapply nematicides. Among different hypotheses for re-infestation, we studied the possibility that nematodes were disseminated by runoff water. The study was conducted in an experimental field on plots which were defined by ditches or marked with flags and weeded or not, prior to replanting with *in vitro*-plants. Results showed that 50 to 80cm-deep ditches efficiently prevent *R. similis* dissemination and that dispersion by water runoff is the major route of contamination. In contrast, weed management during the fallow period had little influence.

**Keywords:** Contamination dynamics, Burrowing nematode, Pest dissemination, Runoff water, Weed.

## Introduction

The burrowing nematode *R. similis* is a major pest of banana worldwide (Gowen *et al.*, 2005; Quénéhervé, 2008). In large commercial plantations of banana, nematode control is still based on the application of two to four nematicide treatments per year. An alternative cropping system has therefore been developed in Martinique (French West Indies), during the last fifteen years that is based on the cleanup of lands contaminated by plant-parasitic nematodes prior to planting. This cleanup is done through either a fallow period or an appropriate crop

---

<sup>9</sup> Soumis le 17/12/2007, corrections mineures envoyées le 06/03/2008, accepté le 10/03/2008

rotation, and then nematode-free banana *in vitro*-plants are planted. Consequently, growers may cultivate bananas for 2 to 3 years without nematicide application in banana fields free of the burrowing nematode (Chabrier *et al.*, 2005b). After a 2 to 4 years period, some banana fields are re-infested with *R. similis*, leading to reduction in both yield and plantation longevity. Previous studies (Zem, 1983; Rivas and Roman, 1985; Quénéhervé *et al.*, 2006) showed that several weeds may act as transitional hosts of *R. similis*. Another hypothesis, that nematodes are disseminated by runoff water, was selected for this study. Numerous authors have considered that water dissemination can be a major factor in their spread (Faulkner and Bolander, 1970a; 1970b; Burr and Robinson, 2004; Robinson, 2004). Furthermore, DuCharme (1955) and Loos (1961) observed *R. similis* in drainage water.

In this study, we present the spatial monitoring of the recontamination of a banana field by *R. similis*. Experimental plots were set up to evaluate, plant by plant, the respective influence of i) weeds as nematode reservoirs and ii) runoff water circulation on the successive nematode infestations, and consequently, on the following nematode-free period.

## Materials and methods

This study was performed in a 1-ha field near the Northern Atlantic coast of Martinique (61° 02' 11" West, 14° 48' 14" North). The field was on a steep slope (38%), but such slopes are often found in banana fields in the Windward Islands and French West Indies. The soil is a nitisol, developed on volcanic andesitic ashes; these soils are 71 % clay and the major clay mineral is halloysite, which forms sand-size particles with organic compounds. In such peculiar soils, the percolation of water is similar to that in sandy soil. Khamsouk (2001) showed that at soil capacity, water conductivity varies between 50 and 60 mm h<sup>-1</sup> and that this nitisol contains numerous pores of 30-300 µm, which are ideal for nematode movement (Wallace, 1958). On such bare soil at field capacity, 10 to 20 mm of water precipitation is needed to observe runoff with a rainfall intensity of 30 to 60 mm h<sup>-1</sup>.

At the beginning of the study, up to 32 000 individuals of *R. similis* per 100 g of fresh banana roots were found after extraction by the centrifugation-flotation method (Coolen and d'Herde, 1972). This highly infested field was split into five parts; upstream, a band of 20 m width was preserved with *R. similis* infested banana plants, while downstream, four plots designated 11, 12, 21 and 22 with surface areas between 685 and 1 227 m<sup>2</sup> were marked out (Figure 1).

All banana plants in these four plots were destroyed by two successive glyphosate injections (Chabrier and Quénéhervé, 2003). Plots 11 and 12 were surrounded by ditches, 50 to 80 cm deep, to isolate them from any water runoff or flooding from adjoining plots. Plots 21 and 22 were delimited only by flags, so that runoff and leached water could pass freely from the nematode infested upper band.

After three months, the four experimental plots were ploughed and natural vegetation was allowed to grow freely on plots 11 and 21 ("weedy fallow") whereas glyphosate was applied (1 080 g ha<sup>-1</sup>) on plots 12 and 22 each time a weed reached the early flowering stage ("mulched fallow"). Every 4 weeks, a floristic inventory was taken.

Thirteen months later, nematode-free *in vitro*-plants of the widely grown but nematode susceptible Cavendish banana cv. "Grande Naine" were planted. Nematode infestations were evaluated at the flowering period of the first cycle (25 weeks after planting) to the third cycle (96 weeks after planting) of production. At each flowering, five root samples

(about 20 cm long) were collected from the base of each corm of each banana plant where *R. similis* densities are usually the highest (Quénéhervé, 1990; Araya and De Waele, 2005).

The presence or absence of *R. similis* was assessed on every banana plant from each plot using a qualitative method of nematode extraction with hydrogen peroxide on an aliquot of 5 g root per plant (Gowen and Edmunds, 1973). Following this assessment, positive samples were combined in groups of five to 10 to reduce the number of composite samples to be extracted for quantitative results in the mist chamber (Seinhorst, 1950). We analyzed 710 samples by hydrogen peroxide maceration and 82 (1<sup>st</sup> cycle) to 89 (3<sup>rd</sup> cycle) samples by mist chamber incubation.

Yield parameters were measured individually at flowering or at the end of each cycle (dates of flowering and harvest, numbers of hands and fingers per bunch, bunch weight, and proportion of harvested plants). These data were used to calculate an annual raw yield indicator, expressed in tonnes ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> and calculated according to the following formula:

$$\text{ARY} = \text{Plant density} \times \text{Proportion of harvested plants} \times \text{Average bunch weight} \times (365 \text{ days year}^{-1} / \text{Duration in days of production cycle}).$$

Weather data were also collected at a station 250 m from the experimental field. On bare nitisol, rainfall of 60-mm h<sup>-1</sup> intensity (strong shower) needs at least 12 min for runoff to begin on fresh bare soil (water potential of -10 kPa), and almost 20 min on dry soil (water potential of -100 kPa). For this reason, we may consider that water leaching may occur only when rainfall exceeds 10 to 20 mm, depending to the initial soil moisture.

## Results

### Evolution of the infested plants from first to third cycles

During the fallow period, all plots were covered by weeds after 5 weeks. Creeper weeds (*Mikamia micrantha* HBK and *Ipomea tiliacea* (Willd.) Choisy) dominated first, but there then developed many clumps of Poaceae (*Echinochloa colona* (L.) Link, *Eleusine indica* (L.) Gaertn, *Chloris radiata* (L.) Sw., *Paspalum fasciculatum* Willd., *Leptochloa filiformis* Beauv. and *Sorghum halepense* (L.) Pers.), and Cyperaceae (*Cyperus spp.*). Also present were some *Phenax soneratii* (Poir.) Wedd., *Euphorbia heterophylla* (L.) Kl. and Garcke, *Vernonia cinerea* (L.) Less, *Amaranthus dubius* Mart., and *Solanum torvum* Sw.

On plots 12 and 22, flora was destroyed three times by glyphosate application. On plots 11 and 21, Poaceae first replaced the creepers and were then replaced by *P. soneratii*, *E. heterophylla* and *S. torvum* after the second month. Throughout the fallow period, both plots were completely covered by weeds.

The rainfall data collected close to the study field are presented in Table 1. The study began during a rather dry year; rainfall of more than 20 mm that might have generated water runoff on bare soil occurred only 25 times in 459 days. But the second and third cycles occurred during wetter years, with more than 40 rainfalls exceeding 20 mm per year. On bare soil, rainfall that may generate leaching occurred approximately once every 8 d.

Figure 2 shows the location of infested plants at the first flowering period. On plot 11, surrounded by ditches and not weeded during the fallow period, five isolated mats were found infested, and five plants formed a group around plant 1150. At that place, the *in vitro*-plant had died early and had been replaced by a ratoon sucker coming from an adjacent *R.*

*similis*-infested field. This plant was destroyed at the end of the first cycle and replaced by an *in vitro*-plant at the end of the second cycle. On plot 12, surrounded by ditches and weeded during the fallow period, six isolated plants were infested; most of them close to the northern ditch. On plot 22, with no ditches but weeded during the fallow period, 27 plants were infested; all were close to the upper border of the plot or to the northern ditch. On plot 21, also with no ditches but not weeded during the fallow period, 15 plants were infested; 12 of them were close to the upper border of the plot.

Figure 3 shows the location of infested plants at the third flowering, slightly less than 2 years after planting. Only 10 plants were infested on plot 11 (only ditches). With the exception of the mats of the infested pocket downstream, former plant 1 150, infested plants seemed to be randomly distributed. On plot 12 (ditches and weeded), nine plants were infested; five of them, highly infested, were close to the southern ditch; whereas the other four, much less infested, were randomly distributed. On plot 21 and 22 (no ditch), the upper border was totally contaminated and the distribution of infested plants seemed to follow lines from the top to downstream.

Figure 4 summarizes the percentage of infected mats of each plot. On plots 11 and 12 surrounded by ditches, these percentages stayed very low (from 3.6 to 4.5%), whereas on plots 21 and 22, not surrounded by ditches, the percentages of infested plants were three times higher at first flowering and then increased dramatically (up to 45.5 and 41.8%).

In nematology, density and frequency provide different information about nematode infestations. In this study, the frequency was more important than density; in order to combine these data, we used a modified prominence value index (Beals, 1960; Quénehervé and Ferris, 1990). This index, calculated as  $P = \text{density} \times \text{frequency}^{1/2}$ , used geometric means of *R. similis* concentrations in roots of infested plants. Geometric means were used because the *R. similis* distribution did not follow a normal law, and arithmetic means are not relevant. Depending on the plot, aggregative or even discrete distribution was observed (Figure 2 and 3). In such cases, the modified prominence value index using geometric means is a better descriptor of the abundance of nematode communities. At the end of the first cycle, indexes were already 23 times lower on ditched plots and were equivalent on formerly weeded and mulched fallow (Table 2). After the third cycle, density increased even more dramatically than frequency in the plot not surrounded by a ditch and weeded during the fallow period.

### **Incidence of nematode dispersal on horticultural results**

During this three-year experiment (Table 3), only a few differences in yield parameters appeared among the treatments. Plots 12 and 21 produced bigger bunches with more fruits and a higher proportions of bunches were harvested (90.1 and 89.1%) on plot 12 at the end of the second and third cycle of production. As a result, yields were higher on plot 12. Conversely, plot 22 produced lower yields.

As few plants were infected at the end of the first and second cycle of production, and as *R. similis* damage usually tends to cumulate with time (Quénehervé, 1993), results on Table 4 are limited to those obtained during the third cycle of production. For the most part, few differences were observed (Table 4). The gross yield reduction caused by *R. similis* reached only about 4% of the average yield for this last production cycle.

### **Discussion**

During the fallow period, several host plants of *R. similis* were observed: among them, *Echinochloa colona*, *Paspalum fasciculatum*, *Eleusine indica*, *Phenax soneratii*, and *Solanum torvum* are reported as good hosts of *R. similis* (Quénéhervé *et al.*, 2006). It was rather surprising that only a few differences appeared between weedy and mulched fallow. This is probably the result of a very efficient previous fallow period that destroyed almost all *R. similis* of the previous banana plants.

In contrast, the presence of ditches had a very important effect on nematode dissemination. Plants at the upper part of plots without ditches 21 and 22 immediately downstream from the infested area were highly likely to be contaminated. On plot 22, it seems also that a spot of *R. similis* had remained at the lowest extremity of the plot. In contrast, on plot 11 and 12, if we discount downstream plant 1150, the few contaminated plants seemed to be randomly distributed.

Fourteen months later, little had occurred on plot 11: we found *R. similis* in only three new plants (among 210 previously uninfested). In plot 21, contamination spots developed upstream to downstream, following lines of planting which, in that plot, were disposed parallel to the main slope. In plot 22, spots developed not only in the slope direction, but also along diagonal lines (see for example line formed by plant 3015-3024-3034), which, in the field, corresponded to a major water runoff pathway. It also seems that some contamination spots grew in all directions, perhaps because *R. similis* was disseminated by root contact. O'Bannon and Tomerlin (1969) showed that *R. similis* can rapidly move on roots of *Solanum nigrum* and thereby migrate 21 cm per month. At such a speed, it may theoretically spread from one banana plant to another in 11 months, as the average distance between banana plants was 2.3 m. However, in our study, *R. similis* spread a lot faster than previously described. In plots without ditches, *R. similis* migrated up to 14 m in 17 months, corresponding to five or six distances between two plants.

On the whole, these results suggest that although several spreading phenomena may occur simultaneously, spread by runoff was probably the major way of dissemination. Numerous authors consider that nematodes, including *R. similis*, can be disseminated by runoff water (Burr and Robinson, 2004). Duncan *et al.* (1990), however, observed that in a Florida citrus orchard, *R. similis* was unable to disseminate through root free soils. In Florida, bare soil acts as barriers that are wide enough to avoid water runoff and thus nematode dispersion. Conversely, in our experiment, runoff water crossed plots without ditches up to 25 times per cycle of production.

Paradoxically, we found in small scale studies, that dissemination by runoff water affected only a marginal portion of the *R. similis* population (Chabrier *et al.*, 2008). This phenomenon apparently requires many conditions: soil has to be close to water saturation, nematode population has to be close to the soil surface, and rain intensity has to be high enough. But, as banana plants concentrate up to 30 times the water flows that run along their stem, (Bassette and Bussière, 2004) and as *R. similis* populations are concentrated near the corm (Quénéhervé, 1990; Araya and De Waele, 2005) and thus the plant base, these conditions occur more often than we would expect. Moreover, although nematode numbers from a single square metre may be very low, in the field, water flow may collect nematodes from areas of several hundreds of square metres, thereby disseminating populations large enough to infest banana plants downstream. When ditches are present, they can prevent contamination from an entire plot upstream and also large runoff inside the plot; so that little, if any, water dissemination occurs. This is probably why we observed hardly any dissemination inside plots 11 and 12.

However, at flowering of the third cycle, although the *R. similis* distribution in the northern half of plot 12 looked like those observed overall in plot 12, four mats were extensively attacked near the border of the eastern ditch. It is possible that these plants had some roots in contact with the ditch wall and thus were likely to be contaminated by some nematodes transported and decanted in the ditch.

Despite these differences in nematode infestation, there was little impact on yield indicators. In the French West Indies, the main damage caused by *R. similis* is by plants toppling over (Blake, 1972; Chabrier *et al.*, 2005a) and thus nematode damage is also linked to other phenomena, especially wind during fruit fill. As no high winds (more than 60 km h<sup>-1</sup>) occurred between flowering and harvest of the second and third cycles, few bunches were lost.

## Conclusion

Ditches efficiently isolated field sectors and thus protected banana plants from *R. similis* infestation. However, other studies (Faulkner and Bolander, 1970a; 1970b; Waliullah, 1989; Tapia *et al.*, 2007) showed that irrigation canals and ditches may also drain nematodes and disseminate them. In the eastern bordure of plot 12, this dissemination occurred but was limited to four plants. Depending on their depth and orientation, ditches may thereby favour or prevent dissemination.

What is more, in this study, the main *R. similis* dissemination process clearly involved leaching. Even though *R. similis* leaching appears as a secondary phenomenon at the 0.1-metre scale (Chabrier *et al.*, 2008), runoff water is an efficient dissemination process at field scale. As a result, although ditches are efficient in preventing *R. similis* dissemination, they are likely to be even more efficient with nematodes such as *Scutellonema cavenessi*, whose behaviour favours their leaching (Cadet *et al.*, 2002).

In this study, prevention was efficient enough to delay field infestation by more than 3 years. By combining efficient fallows, with appropriate set-up and management, *in vitro*-plant planting, and ditches to prevent recontamination, it is now possible to manage an intensive banana field without any nematicide.

## Acknowledgements

The authors thank Christiane Bastol, Camille Hubervic, Jules Hubervic, Robert Jules-Rosette, Serge Marie-Luce for their technical assistance and Patrice Cadet for reviewing the manuscript.

## References

- Araya, M., De Waele, D., 2005. Effect of weed management on nematode numbers and their damage in different root thickness and its relation to yield of banana (*Musa* AAA cv. Grande Naine). *Crop Protection* 24, 667-676.
- Bassette, C., Bussière, F., 2004. Rainfall distribution modelling on a 3-D plant architecture: Application to banana tree. In: Godin C., (Ed.), *Proceedings of the 4th International Workshop on Functional-Structural Plant Models*, 7-11 June 2004 – CIRAD Edit., Montpellier, France, pp. 159-163.
- Beals, E., 1960. Forest birds communities in the Apostle Islands of Wisconsin. *Wilson Bull.* 72, 156-181.
- Blake, C.D., 1972. Nematode Diseases of Banana Plantations. In Webster, J.M., (Ed.), *Economic Nematology*. Academic Press, London, U.K., 245-267.
- Burr, A.H.J., Robinson, A.F., 2004. Locomotion behaviour. In Gaugler, R., Bilgrami, A.L., (Eds.), *Nematode Behaviour*. CAB International Edit., Wallingford, U.K., 25-62.
- Cadet, P., Planchon, O., Esteves, M., Lapetite, J-M., 2002. Experimental study of the selective transport of nematodes by runoff water in the Sudano-Sahelian area. *Applied Soil Ecology* 19, 223-236.
- Chabrier, C., Carles, C., Desrosiers, C., Quénéhervé, P., Cabidoche, Y.M., 2008. Nematode dispersion by runoff water: case study of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne on nitisol under humid tropical conditions. *Applied Soil Ecology* in press.
- Chabrier, C., Hubervic, J., Quénéhervé, P., 2005a. Evaluation de l'efficacité de deux formulations d'oxamyl contre les nématodes et charançons des bananiers à la Martinique. *Nematropica* 35, 11-22.
- Chabrier, C., Mauléon, H., Bertrand, P., Lassoudière, A., Quénéhervé, P., 2005b. Banane antillaise, les systèmes de culture évoluent. En Martinique, méthodes alternatives pour réduire l'utilisation des nématocides et insecticides en bananeraies. *Phytoma-La Défense des Végétaux* 584, 12-16.
- Chabrier, C., Quénéhervé, P., 2003. Control of the burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) on banana: impact of the banana field destruction method on the efficiency of the following fallow. *Crop Protection* 22, 121-127.
- Coolen, W.A., d'Herde, C.J., 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. *Ghent State Agriculture Research Centre*, 77 pp.
- DuCharme, E.P., 1955. Sub-soil drainage as a factor in the spread of the burrowing nematode. *Proc. Florida State Horticultural Society* 68, 29-31.
- Duncan, L.W., Kaplan, D.T., Noling, J.W., 1990. Maintaining barriers to the spread of *Radopholus similis* in Florida citrus orchards. *Nematropica* 20, 71-87.
- Faulkner, L.R., Bolander, W.J., 1970a. Acquisition and distribution of nematodes in irrigation waterways of the Columbia basin in Eastern Washington. *Journal of Nematology* 2, 362-367.

- Faulkner, L.R., Bolander, W.J., 1970b. Agriculturally polluted irrigation water as a source of plant parasitic nematode infestation. *Journal of Nematology* 2, 368-374.
- Gowen, S.R., Edmunds, J.E., 1973. An evaluation of some simple extraction techniques and the use of hydrogen peroxide for estimating nematode population in banana roots. *Plant Disease Reporter* 57, 678-681.
- Gowen, S.R., Quénéhervé, P., Fogain, R., 2005. Nematode Parasites of Bananas and Plantains. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., (Eds.), *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, 2nd edition. CAB International Edit., Wallingford, U.K., pp. 611-643.
- Khamsouk, B., 2001. Impact de la culture bananière sur l'environnement. Influence des systèmes de cultures bananières sur l'érosion, le bilan hydrique et les pertes en nutriments sur un sol volcanique en Martinique. (Cas du sol brun rouille à halloysite). PHD Thesis, ENSA-M., Montpellier, France, 220 pp.
- Loos, C.A., 1961. Eradication of the burrowing nematode *Radopholus similis* from bananas. *Plant Disease Reporter* 45, 457-461.
- O'Bannon, J.H., Tomerlin, A.T., 1969. Movement of *Radopholus similis* on a weed host (*Solanum nigrum*). *Journal of Nematology* 1, 21.
- Quénéhervé, P., 1990. Spatial arrangement of nematodes around the banana plant in the Ivory Coast: related comments on the interaction among concomitant phytophagous nematodes. *Acta Oecologica* 11, 775-786.
- Quénéhervé, P., 1993. Nematode management in intensive banana agrosystems: comments and outlook from the Côte d'Ivoire experience. *Crop Protection* 12, 164-172.
- Quénéhervé, P. 2008. Integrated management of banana nematodes In: Ciancio, A., Mukerji, K.G. (Eds.), *Integrated Management of Fruit Crops Nematodes*. Springer, The Netherlands, 1-54.
- Quénéhervé, P., Chabrier, C., Auwerkerken, A., Topart, P., Martiny, B., Marie-Luce, S., 2006. Status of weeds as reservoirs of plant parasitic nematodes in banana fields in Martinique. *Crop Protection* 25, 860-867.
- Quénéhervé, P., Ferris, H., 1990. Use of geometric vs. arithmetic mean in the prominence value index and diagram frequency vs. abundance (Abstr.). *Journal of Nematology* 21, 581.
- Rivas, X., Roman, J., 1985. Estudio sobre la gama de hospederos de una población de *Radopholus* de Puerto Rico. *Nematropica* 15, 165-170.
- Robinson, A.F., 2004. Nematode Behaviour and Migrations through Soil and Host Tissue. In: Chen, Z.X., Chen, S.Y., Dickson, D.W., (Eds.), *Nematology – Advances and Perspectives*. Tsinghua University Press and CAB International Edit., Wallingford, U.K., 330-405.
- Seinhorst, J.W., 1950. De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aantasting door het stengelaatje (*Ditylenchus dipsaci* (Khün) Filipjev). *Tijdschrift voor Plantenziekten* 5, 291-349.

Tapia, S., Zampini, M., Agostini, E., Manero, J.M., Curzel, V., Echenique, G., 2007. Conducción y dispersión de nematodos fitoparásitos por el agua de riego a cultivos de tabaco en la provincia de Jujuy, Argentina (Abstr.). *Nematropica* 37, 189.

Waliullah, M.I.S., 1989. Nematodes in irrigation canals of the Kashmir Valley, India. *Nematologica Mediterranea* 17 (1) 55-56.

Wallace, H.R., 1958. The movement of eelworms. I Influence of pore size and moisture content of the soil on the migration of larvae of the beet eelworm, *Heterodera shachtii*. *Annals of applied Biology* 46, 74-85.

Zem, A.M., 1983. Estudos sobre hospedeiros de *Radopholus similis* e *Helicotylenchus multicinctus*. *Soc. Brasil. Nemat.* 7, 175-187.

Table 1: Weather data collected during the study at Bellevue's Meteorological station, 250 m from the experimental field.

|  | Number of days | Cumulated rainfall (mm) | Number of days with rainfall |         |
|--|----------------|-------------------------|------------------------------|---------|
|  |                |                         | > 10 mm                      | > 20 mm |
| Year:  |                |                         |                              |         |
| 2002   | 365            | 1 974                   | 53                           | 24      |
| 2003   | 365            | 2 112                   | 56                           | 29      |
| 2004   | 366            | 3 167                   | 80                           | 41      |
| 2005   | 365            | 3 178                   | 133                          | 42      |
| Period:  |                |                         |                              |         |
| Fallow   | 459            | 2 168                   | 57                           | 25      |
| From planting to 1 <sup>st</sup> flowering (nematode sampling)                   | 178            | 1 003                   | 28                           | 15      |
| From 1 <sup>st</sup> flowering to 3 <sup>rd</sup> flowering (nematode sampling ) | 494            | 4 463                   | 111                          | 62      |

Table 2: Evolution of Prominence Value Index of plots and percentage of plants infected by *R. similis* from the first to the third flowering. This index was calculated following the formula:

| Plot                   | Cycle           | 11                             | 12                               | 21                     | 22                       |
|------------------------|-----------------|--------------------------------|----------------------------------|------------------------|--------------------------|
|                        |                 | ditch surrounded, weedy fallow | ditch surrounded, mulched fallow | no ditch, weedy fallow | no ditch, mulched fallow |
| Infected plants (%)    | 1 <sup>st</sup> | 4.5                            | 3.1                              | 15.6                   | 12.2                     |
|                        | 3 <sup>rd</sup> | 4.5                            | 4.7                              | 41.6                   | 48.0                     |
| Prominence Value index | 1 <sup>st</sup> | 239                            | 348                              | 5 748                  | 7 658                    |
|                        | 3 <sup>rd</sup> | 320                            | 4 208                            | 44 135                 | 13 501                   |

$PV = (\text{number of infested plant} / \text{number of plants})^{1/2} \times (\text{geometric mean of } R. \textit{similis} \text{ population in infested plants})$

Table 3: Effect of fallow management and ditch protection on the yield of a banana field over three successive production cycles. 11: ditch surrounded, weedy fallow; 12: ditch surrounded, mulched fallow; 22: no ditch, mulched fallow; 21: no ditch, weedy fallow. Confidence intervals were calculated with a 5 % error.

| Plot                                       | 11          | 12          | 21          | 22          |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Number of plants                           | 221         | 192         | 123         | 173         |
| First cycle of production                  |             |             |             |             |
| Interval planting–flowering (days)         | 185.1 ± 0.3 | 184.3 ± 0.3 | 183.8 ± 0.5 | 188.9 ± 0.4 |
| Number of hands/bunch                      | 7.5 ± 0.1   | 7.8 ± 0.1   | 8.1 ± 0.2   | 8.1 ± 0.1   |
| Number of fingers/bunch                    | 145.1 ± 3.4 | 155.9 ± 3.6 | 161.1 ± 3.9 | 162.4 ± 3.3 |
| Duration of the cycle (days)               | 272.8 ± 2.3 | 280.2 ± 1.7 | 275.9 ± 2.8 | 283.0 ± 1.8 |
| Bunch weight (kg)                          | 28.2 ± 0.6  | 31.3 ± 0.7  | 29.4 ± 0.8  | 29.7 ± 0.8  |
| % Harvested plants                         | 85.0        | 80.2        | 84.6        | 77.5        |
| Gross yield (t/ha/yr)                      | 57.7        | 58.9        | 59.3        | 53.3        |
| Second cycle of production                 |             |             |             |             |
| Interval previous harvest–flowering (days) | 164.4 ± 2.8 | 161.2 ± 2.1 | 160.7 ± 3.6 | 168.2 ± 2.3 |
| Number of hands/bunch                      | 8.7 ± 0.2   | 9.1 ± 0.2   | 9.7 ± 0.3   | 8.9 ± 0.2   |
| Number of fingers/bunch                    | 184.8 ± 6.1 | 193.0 ± 5.1 | 211.4 ± 8.4 | 186.1 ± 6.4 |
| Duration of the cycle (days)               | 244.5 ± 2.8 | 241.3 ± 2.4 | 242.6 ± 3.3 | 249.1 ± 2.8 |
| Bunch weight (kg)                          | 42.5 ± 1.3  | 44.0 ± 1.0  | 44.1 ± 1.7  | 41.7 ± 1.4  |
| % Harvested plants                         | 86.8        | 90.1        | 82.9        | 78.0        |
| Gross yield (t/ha/yr)                      | 99.1        | 108.0       | 99.0        | 85.8        |
| Third cycle of production                  |             |             |             |             |
| Interval previous harvest–flowering (days) | 161.6 ± 4.0 | 161.4 ± 2.4 | 157.1 ± 4.7 | 169.2 ± 4.9 |
| Number of hands/bunch                      | 8.2 ± 0.2   | 8.3 ± 0.2   | 9.1 ± 0.2   | 8.4 ± 0.2   |
| Number of fingers/bunch                    | 171.3 ± 5.5 | 174.5 ± 5.3 | 193.8 ± 7.6 | 175.5 ± 5.2 |
| Duration of the cycle (days)               | 249.4 ± 2.5 | 250.6 ± 1.8 | 247.5 ± 2.9 | 253.0 ± 2.7 |
| Bunch weight (kg)                          | 42.5 ± 1.2  | 41.9 ± 1.1  | 46.5 ± 1.9  | 41.2 ± 1.4  |
| % Harvested plants                         | 74.1        | 89.1        | 70.7        | 68.8        |
| Gross yield (t/ha/yr)                      | 82.9        | 97.9        | 87.3        | 73.5        |

Table 4: Effect of *R. similis* infestation on banana plants: average yield parameters collected on infected and uninfected mats. 11: ditch surrounded, weedy fallow; 12: ditch surrounded, mulched fallow; 22: no ditch, mulched fallow; 21: no ditch, weedy fallow. Average loss =  $(1 - R) * 100$ , with R: ratio between measures on infected and uninfected plants.

| Plot                                       |            | 11           | 12           | 21           | 22          | Average loss (%) |
|--|------------|--------------|--------------|--------------|-------------|------------------|
| Number of plants                           | Infected   | 10           | 9            | 56           | 72          |                  |
|  | Uninfected | 211          | 183          | 67           | 101         |                  |
| Interval previous harvest–flowering (days) | Infected   | 158.8 ± 20.8 | 151.0 ± 11.2 | 161.4 ± 8.2  | 165.2 ± 7.9 | -1.7 ± 1.2       |
|  | Uninfected | 161.8 ± 4.1  | 161.8 ± 2.5  | 158.8 ± 5.7  | 171.7 ± 6.2 |                  |
| Plant height                               | Infected   | 3.16 ± 0.18  | 3.14 ± 0.19  | 3.26 ± 0.08  | 3.20 ± 0.08 |                  |
|  | Uninfected | 3.2 ± 0.04   | 3.13 ± 0.04  | 3.19 ± 0.06  | 3.26 ± 0.06 |                  |
| Plant circumference                        | Infected   | 77.1 ± 6.8   | 78.4 ± 3.5   | 79.1 ± 2.0   | 74.0 ± 1.9  |                  |
|  | Uninfected | 75.3 ± 0.9   | 75.2 ± 1.1   | 77.5 ± 1.7   | 74.9 ± 1.4  |                  |
| Number of hands/bunch                      | Infected   | 7.4 ± 2.2    | 7.7 ± 2.0    | 8.1 ± 0.9    | 6.3 ± 0.9   | -13.1 ± 8.0      |
|  | Uninfected | 8.2 ± 0.2    | 8.2 ± 0.2    | 9.0 ± 0.3    | 8.4 ± 0.2   |                  |
| Number of fingers/bunch                    | Infected   | 179.0 ± 23.1 | 185.5 ± 22.2 | 195.8 ± 12.6 | 174.2 ± 8.7 | 2.9 ± 3.3        |
|  | Uninfected | 170.9 ± 5.5  | 174.0 ± 5.4  | 192.3 ± 9.5  | 176.2 ± 6.5 |                  |
| Duration of the third cycle (days)         | Infected   | 249.5 ± 11.6 | 243.3 ± 9.8  | 244.6 ± 5.0  | 250.3 ± 4.9 | -1.7 ± 1.2       |
|  | Uninfected | 249.4 ± 2.5  | 250.9 ± 1.9  | 249.7 ± 3.2  | 254.8 ± 3.0 |                  |
| Bunch weight (kg)                          | Infected   | 38.6 ± 5.4   | 42.9 ± 4.8   | 45.7 ± 2.9   | 41.0 ± 2.5  | -2.7 ± 4.8       |
|  | Uninfected | 42.6 ± 1.2   | 41.9 ± 1.1   | 47.1 ± 2.6   | 41.3 ± 1.6  |                  |
| % Harvested plants                         | Infected   | 88.9         | 77.8         | 67.9         | 66.7        | -2.7 ± 13        |
|  | Uninfected | 75.4         | 89.6         | 72.9         | 71.7        |                  |
| Gross yield (t/ha/yr)                      | Infected   | 90.4         | 90.1         | 83.5         | 71.7        | -3.97 ± 7.1      |
|  | Uninfected | 84.5         | 98.3         | 90.2         | 76.4        |                  |

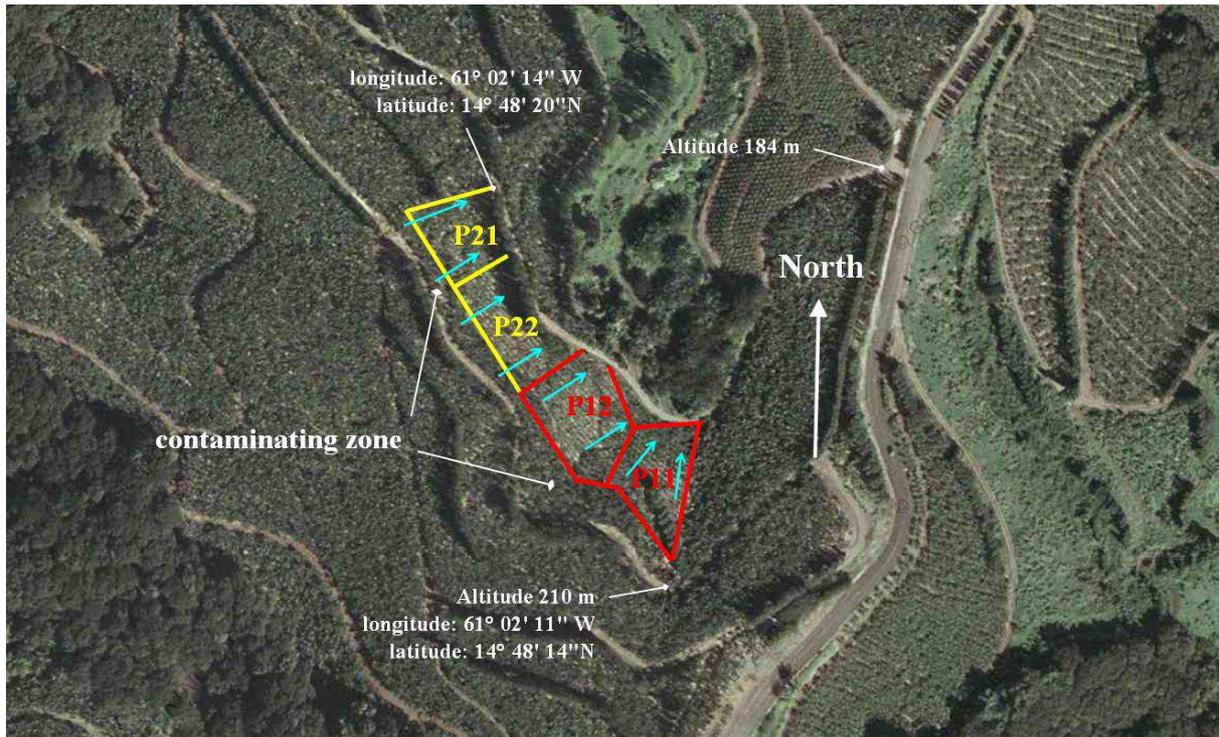


Figure 1: Schematic map of the fields. P11 to P22: plot 11 to plot 22. Red line: plot bordure with ditches; yellow line: plot bordure without ditches. Blue arrows give the slope sense.

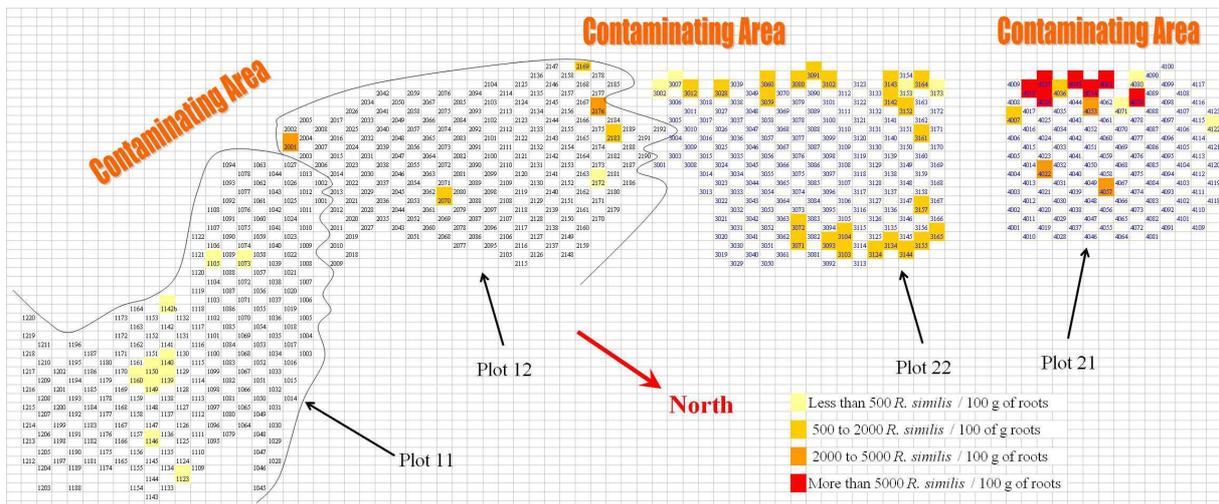


Figure 2: Location of the infested (coloured) and uninfested plants at first flowering, 5.5 to 6 months after planting. Each number corresponds to a mat. Continuous lines represent ditches in the field.

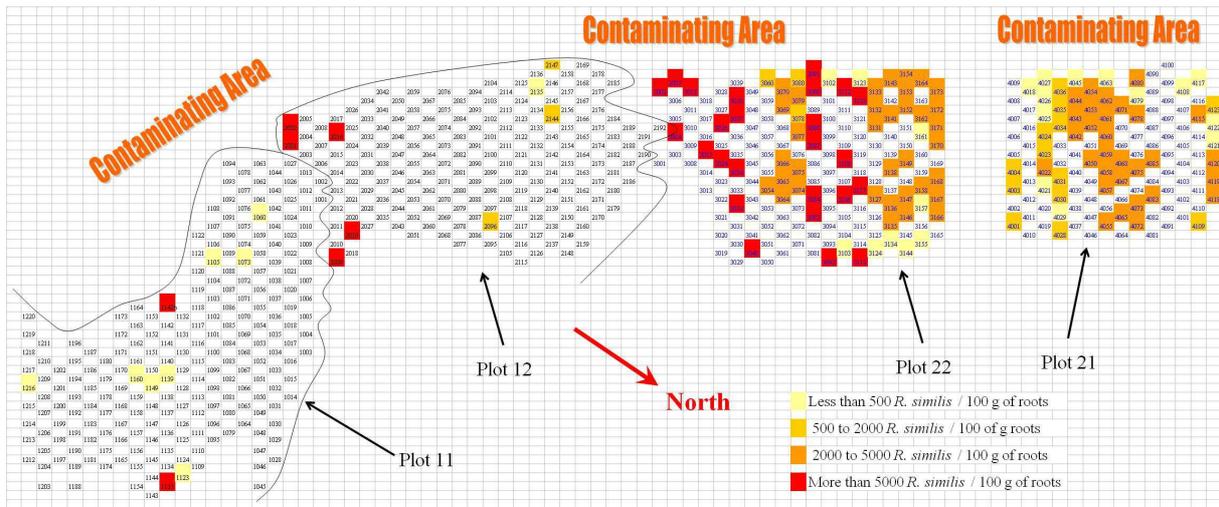


Figure 3: Location of the infested (coloured) and uninfested plants at third flowering, 22 to 22.5 months after planting. Each number corresponds to a mat. Continuous lines represent ditches in the field.

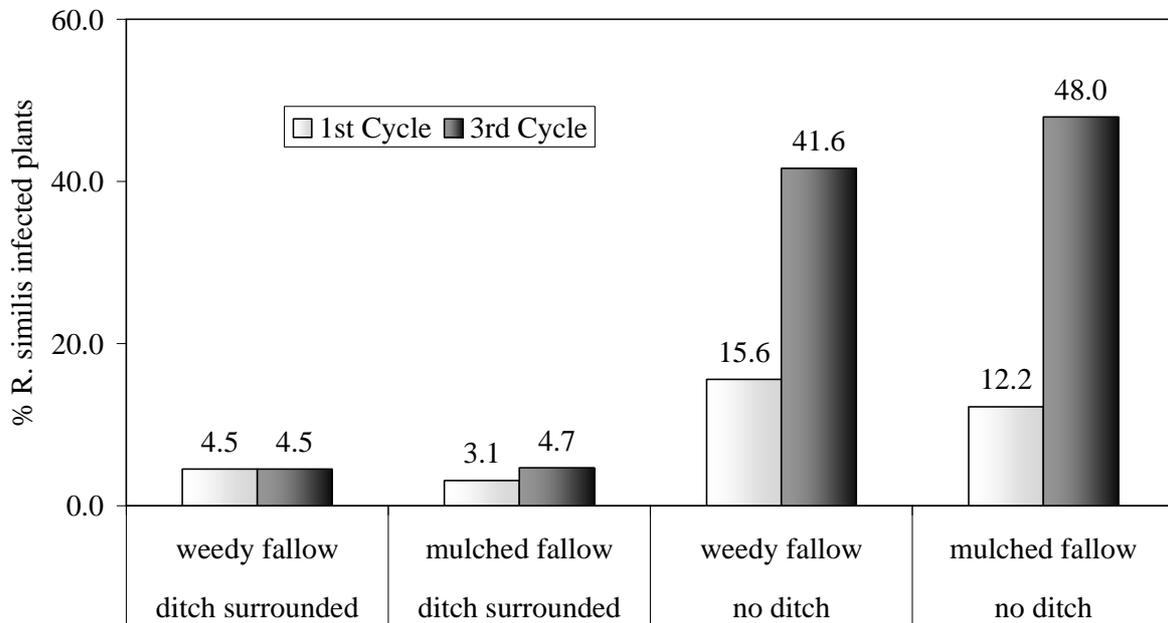


Figure 4: Percentage of plants infected by *R. similis* after the first and third flowering

## Discussion générale

Considérée jusqu'alors comme marginale, notamment dans le cadre des études de dynamique des populations, la phase sol du nématode phytoparasite *R. similis* avait été peu étudiée car les concentrations de *R. similis* sont faibles dans le sol (environ 1/1 000 de celle des racines). De là l'idée généralement admise que ce nématode peut réaliser l'ensemble de son cycle de vie sans quitter sa racine hôte.

Cependant, même si les nombres d'individus dénombrés dans les échantillons de sol paraissent faibles, ces populations jouent un rôle considérable quand on étudie leur persistance et leur dissémination à différentes échelles (de plant à plant comme de parcelle à parcelle).

Au début de ce travail, nous n'avions pas tous les éléments nécessaires pour orienter nos travaux et avons multiplié les facteurs étudiés. Dans le cas des essais "survie", cette multiplication s'est faite au détriment du nombre de répétitions et donc de la précision des résultats. Comme de surcroît, les différentes techniques d'extraction de nématodes du sol manquent de précision pour les effectifs faibles, il a parfois été difficile de faire un bilan. Des tendances et des hypothèses fortes ont néanmoins pu être mises en avant.

Pour la dissémination, notre problématique a été axée sur le transport par les eaux. A petite échelle, cette relation semble faible et conjoncturelle (limitée aux épisodes de fortes pluies). D'après l'étude à l'aide du simulateur de pluie, nous nous attendions à ce que le nombre de nématodes transportés augmente avec les volumes ruisselés et suive un modèle mécaniste. Or, cela n'a pas été le cas, contrairement à ce qu'avaient observé Planchon *et al.* (2000) au Sénégal.

Dans les bananeraies antillaises, *R. similis* a pendant des décennies été disséminé via le matériel végétal, dans un environnement humide et presque toujours favorable. Les circonstances n'ont ainsi pas été particulièrement favorables à la sélection de souches ayant un comportement apte à favoriser leur dispersion par d'autres voies. De surcroît, *R. similis* a été peu soumis à la concurrence d'autres espèces. Avant le développement des systèmes combinant sols assainis et vitro-plants, la concurrence avec les *Pratylenchus spp.* semblait limitée (Sarah, 1990). Les autres nématodes présents sur bananiers (*Helicotylenchus spp.*, *Meloidogyne spp.* ...) n'occupent pas la même niche écologique et sont moins compétitifs sur bananiers, du moins sur ceux du groupe Cavendish (Blake, 1966 ; Gowen *et al.*, 2005). Cependant, sur d'autres variétés de bananiers, cette situation pourrait changer ; une variété de bananier plus tolérante ou résistante à *R. similis* peut très bien être plus sensible à d'autres espèces de nématodes (Tixier *et al.*, 2008).

L'environnement écologique de *R. similis* est totalement différent de celui observé au Sahel par Cadet *et al.* (2002) et Villenave *et al.* (2003). Soumis à de bien plus fortes concurrences interspécifiques et à des ressources alimentaires saisonnières sur un espace donné, certaines espèces de nématodes, comme *Scutellonema cavenessi*, se sont développées à la faveur de caractéristiques biologiques et comportementales (anhydrobiose) qui favorisent leur entraînement par les eaux et donc la dissémination de l'espèce. Or, selon Cadet (comm. pers.), sans la sélection de souches aptes à se réfugier vers la surface du sol, à entrer en anhydrobiose à l'état adulte et à réussir plusieurs cycles consécutifs de réhydratation – déshydratation en début de saison des pluies, *S. cavenessi* avait peu de chance de se multiplier sur le mil car son

cycle de reproduction était trop lent par rapport à celui de son concurrent *Tylenchorhynchus gladiolatus*.

Dans une bananeraie pérenne, un *R. similis* entraîné par les eaux risque peut-être plus de mourir sans descendance qu'un nématode qui reste sur place ; ceci est particulièrement vrai pour les nématodes entraînés en profondeur, le système racinaire des bananiers étant plutôt superficiel. Nous pouvons donc penser que les individus qui sont retenus par des mouvements particuliers dans les 30 premiers cm de sol, où se trouvent les racines, peuvent plus facilement se multiplier. Il aurait été intéressant de réaliser les mêmes essais avec des *R. similis* de la "race" agrumes car ces derniers peuvent avoir intérêt à atteindre des horizons plus profonds pour attaquer les apex des racines basses. Nous n'avons pas pu réaliser cette étude aux Antilles françaises, la "race" agrumes étant un parasite de quarantaine qui n'a jamais été détecté en Martinique comme en Guadeloupe.

Par ailleurs, avant l'introduction des vitro-plants et le développement des techniques d'assainissement de sol, de nombreux essais (par exemple, Guérout *et al.*, 1976 ; Sarah et Vilardebo, 1978 ; Sarah *et al.*, 1989 ; Chabrier *et al.*, 2002 ; Chabrier *et al.* 2005) ont montré que les infestations de bananeraies se produisaient en quelques mois, les dégâts économiques pouvant apparaître dès le premier cycle. Lors de l'essai au champ, si l'eau a été un vecteur de dissémination efficace de *R. similis*, cette dissémination a nécessité plus d'une année pour entraîner une contamination généralisée des parcelles. Il est certain que, avant le développement de ces nouveaux systèmes de production, les *Radopholus* qui étaient entraînés par l'eau vers une nouvelle plantation avaient un faible poids démographique comparés à ceux qui étaient apportés avec le matériel végétal ou qui subsistaient dans le sol après arrachage de la plantation précédente. La dissémination par les eaux était totalement marginale.

Les nouveaux systèmes de production couplant l'utilisation des vitro-plants et l'assainissement des sols a évidemment changé cette relation : ils sont conçus pour prévenir la transmission par le matériel végétal et l'éradication des nématodes préalablement présents dans le sol. Dans ces nouveaux systèmes, la contamination par les eaux devient alors une voie de dissémination importante.

Lors de l'étude de la dispersion des nématodes sur le terrain, qui comparait l'évolution des infestations sur parcelles protégées et non protégées, les pluies reçues n'étaient pas exceptionnelles. Le ruissellement ne s'organisait pas au hasard et, quand il ne s'était pas organisé plus haut en amont, partait souvent du glacis autour des bananiers. Ceci nous amène à discuter de la pertinence du dispositif utilisé pour analyser la dissémination par les eaux de ruissellement en surface avec le simulateur de pluie d'Asseline et Valentin (1978).

En effet, nous avons étudié l'entraînement de *R. similis* par les eaux de ruissellement sur sol nu. Or, le bananier redistribue la pluie qu'il reçoit : les flux d'eau qui s'écoulent le long des pseudo-troncs peuvent représenter 30 fois la pluie incidente (Bassette, 2005). Si de tels flux ont été pris en compte pour les études de lixiviation, il n'en va pas de même pour l'étude avec les eaux de surface. Il eût fallu compléter ces études par l'utilisation d'un simulateur de plus grande taille (comme le dispositif EMIR de Esteves *et al.*, 2000) et évaluer les flux de nématodes en aval de bananiers. Ces simulations de pluie auraient dû être réalisées en aval de bananiers porteurs, mais aussi de bananiers chutés afin de mettre en évidence :

- une relation éventuelle entre l'entraînement de nématodes par les eaux et le "stemflow" (flux d'eau le long du pseudo-tronc)
- ou le rôle des bananiers arrachés. Nous aurions ainsi pu vérifier l'hypothèse énoncée à la fin de notre publication n°3 (Chabrier et Quénéhervé, 2008).

## Conclusion

*Radopholus similis* est un nématode parasite dont la biologie est parfaitement adaptée au système de culture pratiqué traditionnellement aux Antilles françaises : la monoculture bananière avec plantation d'organes végétatifs abritant le nématode.

Ses capacités de survie dans le sol sont plus faibles que celles de nombreuses autres espèces de nématodes, mais suffisantes pour assurer la survie de l'espèce quelques mois en l'absence d'hôtes.

L'étude de la survie des mâles dans le sol montre également que ceux-ci ont une longévité surprenante. Nos travaux sur l'évolution des populations dans le sol suggèrent que chez *R. similis*, les mâles ne sont pas qu'un témoin inutile de l'évolution d'une espèce chez qui la parthénogénèse serait devenue dominante. Compte-tenu de l'atrophie de leur système digestif, les mâles ne se nourrissent pas. Il est possible que leur capacité de survie soit liée à une moindre dépense énergétique journalière comparé aux femelles : les mâles ne cherchent probablement pas activement leur nourriture et, de toute façon, ne perdent pas de réserves lors du développement des œufs. Cette hypothèse mérite d'être étudiée ; il faudrait cependant évaluer les consommations d'énergie lors de la spermatogénèse et de l'ovogénèse, celles-ci étant mal connues.

Par ailleurs, nos résultats conduisent à penser que les interactions avec les micro- et méso-organismes du sol pourraient modifier l'aptitude de *R. similis* à survivre dans le sol. Ceci a été prouvé au Costa Rica et en Ouganda où des champignons antagonistes ont été isolés ; Paparu *et al.* (2007), Athman *et al.*, 2007, Zum Felde *et al.* (2006a) et Mendoza *et al.* (2007) ont ainsi montré que plusieurs genres de champignons, *Fusarium*, *Trichoderma* ou *Paecilomyces*, étaient des antagonistes de *R. similis* en vérifiant les postulats de Koch. Certaines souches de *Fusarium* et de *Verticillium* sont efficaces au champ (Zum Felde *et al.*, 2006b). Les études conduites sur les relations champignons et nématodes pourraient d'ailleurs déboucher sur la formulation et la commercialisation de champignons antagonistes (Mendoza *et al.*, 2007). Les recherches sur les interactions entre mésofaune et microflore paraissent ainsi nécessaires pour comprendre l'évolution des populations de ce nématode dans le sol et même conduire à la mise au point de méthodes de contrôle biologique.

Si *R. similis* peut être transporté par les eaux, nos études de dissémination ont montré que ce nématode se diffuse en effectifs moindres que d'autres espèces de Tylenchida de même taille. Sa dissémination passive est très faible dans le sol et ne concerne qu'une fraction marginale de sa population. En surface, les études simulations de pluie (en particulier l'analyse des ratios actifs/immobiles) suggèrent que *R. similis* adopte des comportements de fuite ou de refuge (plasticité réflexe ?) pour résister à l'entraînement par les eaux. Des expériences complémentaires doivent néanmoins être mises en œuvre pour le prouver. On pourrait ainsi comparer les profils de dissémination lors de simulations de pluie et dans des cylindres de sol de deux populations de *R. similis* ; l'une constituée d'individus en bon état et bien mobiles, l'autre d'individus dont les mouvements auraient été inhibés grâce à l'utilisation de faibles doses d'oxamyl.

Il nous semble possible que la sélection naturelle ait favorisé les individus dont le comportement se prête peu à la dissémination par les eaux. *R. similis* est ainsi un nématode dont les capacités de dispersion dans le sol paraissent modestes ; il se montre ainsi particulièrement adapté au parasitisme des plantes pérennes multipliées de façon végétative. Ce n'est pas un hasard si ce nématode est surtout connu comme ravageur majeur de plantes

pérennes : bananier, agrumes, théier, poivrier... mais pas de plantes annuelles, alors que des travaux précédents ont montré que des plantes annuelles comme *Solanum americanum* ou *Phenax soneratii* pouvaient être d'excellents hôtes de *R. similis*. A contrario, d'autres espèces de nématodes de taille et de morphologie similaire, comme *Scutellonema cavenessi* sont des ravageurs de plantes annuelles ; mais, leur comportement, radicalement différent, favorise leur dissémination par les flux d'eaux ; de surcroît, la capacité de cette espèce à entrer en anhydrobiose lui confère une longue capacité de survie et lui permet d'être disséminé efficacement par le vent (Baujard et Martiny, 1994). Contrairement à *R. similis*, *S. cavenessi* est donc capable de coloniser assez rapidement un champ pendant les phases d'inter-culture pour commettre des dégâts sur des cultures annuelles.

Pourtant, *R. similis* a été disséminé sur 4 continents et a été répandu dans la quasi-totalité des régions bananières. Cette dissémination est liée au transport de matériel de plantation par l'homme (Marin *et al.*, 1998). L'adoption de nouveaux systèmes de culture, en cours de développement, a permis de réduire considérablement l'importance des dégâts de ce nématode et l'utilisation des nématicides (Chabrier *et al.*, 2005b). La pression parasitaire s'est affaiblie. Mais d'une part d'autres espèces de nématodes sont susceptibles de prendre le relai ; et d'autre part, il est possible que ce nouveau contexte puisse favoriser l'émergence de lignées de *R. similis* dont les caractéristiques biologiques et les comportements seront mieux adaptés. Le monitoring des populations de nématodes chez les producteurs reste ainsi indispensable.

Enfin, les données sur la biologie et le comportement des ravageurs restent nécessaires pour expliquer les capacités d'un ravageur à s'adapter à son milieu et à commettre des dégâts. Il nous semble que les déplacements dans le sol comme dans la plante de *R. similis* soient surtout actifs ; il serait souhaitable que, au moins à petite échelle, les travaux sur la dissémination de ce type de nématodes définissent les principaux tactismes qui induisent les déplacements de population. Des dispositifs inspirés des olfactomètres doivent pour cela être mis au point ; dans ce but, nous pouvons nous inspirer dans un premier temps des dispositifs de Abou-Setta et Duncan (1998) ou de Le Saux et Quénéhervé (2002).

Quoi qu'il en soit, ce travail a permis de préciser les conditions de survie de *Radopholus similis* dans le sol. Il montre qu'il n'est pas souhaitable de diminuer la durée actuellement conseillée des jachères (un an). Il a surtout permis de définir une méthode pratique pour prévenir efficacement la contamination par les eaux. Les fossés de ceinture peuvent être assez facilement installés pour un coût raisonnable, même chez les agriculteurs les plus modestes. Il paraît désormais techniquement possible de maintenir une bananeraie pendant 4 ans sans que les populations de *R. similis* n'atteignent le seuil des dégâts économiques sans recourir aux nématicides. Le pari du "zéro nématicide" peut ainsi être gagné par la filière banane antillaise.

## Références bibliographiques

- Abou-Setta, M.M.; Duncan, L.W., 1998. Attraction of *Tylenchulus semipenetrans* and *Meloidogyne javanica* to Salts in vitro. *Nematropica*, **28**, 49-59
- Adams, B.D., Nguyen, K. B., 2002. Taxonomy and Systematics. In: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematology, CABI Publishing, Wallingford, pp. 1-33.
- Ambrose, E., 1984. Research and development in banana crop protection (excluding Sigatoka) in the English speaking Caribbean. *Fruits*, **39**, 254-247.
- Araya, M., Vargas, A., Cheves, A., 1999. Nematode distribution in roots of banana (*Musa* AAA cv. Valery) in relation to plant height, distance from the pseudostem and soil depth. *Nematology*, **1**, 711-716
- Arcinas, A., Sipes, B.S., Hara, A.H., Tsang, M.M.C., 2005. Effect of Conditioning Treatments of *Radopholus similis* at High Temperatures. *Journal of Nematology*, **37**, 250-253.
- Asseline, J., De Noni, G., Nouvelot, J.-F., Roose, E., 1993. Note sur la conception et l'utilisation d'un simulateur de ruissellement (About the design and the use of a runoff simulator). *Cah. - ORSTOM, Pédol.*, **28** (2), 405-411.
- Asseline, J. Valentin, C., 1978. Construction et mise au point d'un infiltromètre à aspersion (ou mini-simulateur de pluie). *Cahier ORSTOM, sér. hydrologie*, **15** (4), 321-349.
- Athman, S.Y., Dubois, T., Coyne, D., Gold, C.S., Labuschagne, N., Viljoen, A., 2007. Effect of endophytic *Fusarium oxysporum* on root penetration and reproduction of *Radopholus similis* in tissue culture-derived banana (*Musa spp.*) plants. *Nematology*, **9**, 599-607.
- Athman, S.Y., Dubois, T., Viljoen, A., Labuschagne, N., Coyne, D., Ragama, P., Gold, C.S., Niere, B., 2006. In vitro antagonism of endophytic *Fusarium oxysporum* isolates against the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Nematology*, **8**, 627-636.
- Araya, M., 2002. Metodología utilizada en el laboratorio de nematología de CORBANA S.A. para la extracción de nematodos de las raíces de banano (*Musa* AAA) y plátano (*Musa* ABB). *Corbana*, **28**, 97-110.
- Araya, M., Centeno, M., 1995. Recuperacion de *Radopholus similis*, *Helicotylenchus spp.*, *Meloidogyne spp.* y *Pratylenchus spp.* de raiz funcional, no funcional y combinada de banano (*Musa* AAA). *Corbana*, **20**, 11-16.
- Araya, M., Vargas, A., Cheves, A., 1999. Nematode distribution in roots of banana (*Musa* AAA cv. Valery) in relation to plant height, distance from the pseudostem and soil depth. *Nematology*, **1**, 711-716.
- Bakry, F., Carreel, F., Caruana, M.L., Côte, F.X., Jenny, C., Tézenas du Montcel, H., 1997. Les bananiers. In: Charrier, A., Jacquot, M., Hamon, S., Nicolas, D., *L'amélioration*

*des plantes tropicales. Collection Repères, CIRAD et ORSTOM édit. ambridge University Press, Cambridge, U.K., 109-139.*

Baham, J., Sposito, G., 1994. Adsorption of dissolved organic carbon extracted from sewage sludge on montmorillonite and kaolinite in the presence of metal ions. *Journal of Environmental Quality*, **23**, 147-153.

Baldwin, J.G., Perry, R.N., 2004. Nematode Morphology, Sensory Structure and Function. In Chen, Z.X., Chen, S.Y., Dickson, D.W., *Nematology – Advances and Perspectives. Tsinghua University Press and CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 175-257.*

Balland, P., Mestres, R., Fagot, M., 1998. Rapport sur l'évaluation des risques liés à l'utilisation de produits phytosanitaires en Guadeloupe et Martinique. *Document Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement/Ministère de l'Agriculture, Paris, France, 96 pp.*

Banerjee, K., Cheremisinoff, P. N., Cheng. S. L., 1995. Sorption of contaminants by fly ash in single solute system. *Environmental Science and Technology*, **29**, 2243-2251.

Bassette, C., 2005. Modélisation 3-D de l'interception de la pluie par le bananier : effet des caractéristiques physiques du couvert sur les flux d'eau et d'énergie cinétique transmis au sol. *Thèse de Doctorat de l'Université des Antilles et de la Guyane, Pointe à Pitre, France, 142 pp.*

Bassette, C., Bussière, F., 2004. Rainfall distribution modelling on a 3-D plant architecture: Application to banana tree. in Godin C., *Proceeding of the 4th International Workshop on Functional-Structural Plant Models, 7-11 June 2004 – CIRAD Edit., Montpellier, France. 159-163.*

Baujard, P., Martiny, B., 1994. Transport of nematodes by wind in the peanut cropping area of Senegal, West Africa. *Fundamental and Applied Nematology*, **17**, 543-550.

Beugnon, M, Champion, J., 1966. Etudes sur les racines du bananier. *Fruits*, **21**, 309-327.

Birchfield, W., 1957. Observation on the longevity without food of the Burrowing nematode. *Phytopathology*, **47**, 161-162.

Bird, A.F., 2004. Surface adhesion to Nematodes and its Consequences. In Chen, Z.X., Chen, S.Y., Dickson, D.W., *Nematology – Advances and Perspectives. Tsinghua University Press and CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 295-329.*

Blake, C.D., 1961. Root rot of bananas caused by *Radopholus similis* (Cobb) and its control in New South Wales. *Nematologica*, **6**, 295-310.

Blake, C.D., 1966. The histological changes in banana roots caused by *Radopholus similis* and *Helicotylenchus multicinctus*. *Nematologica*, **12**, 129-137.

Blake, C.D., 1972. Nematode Diseases of Banana Plantations. in: Webster, J.M., *Economic Nematology. Academic Press, London, U.K., 245-267.*

- Bridge, J., 1993. Worldwide distribution of the major nematode parasites of bananas and plantains. in: Gold C.S., Gemmill, B., *Biological and Integrated Control of Highland Banana and Plantain Pests and Diseases*. IITA, Ibadan, Nigeria, 185-198.
- Bridge, J., Price, N.S., Kofi, P., 1995. Plant parasitic nematodes of plantain and other crops in Cameroun, West Africa. *Fundamental and applied Nematology*, **18**, 251-260.
- Brodie, B.B., 1976. Vertical distribution of Three Nematode Species in Relation to Certain Soil Properties. *Journal of Nematology*, **8**, 243-247.
- Brooks , T.L., Perry, W.G., 1962. Apparent parthenogenetic reproduction of the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Soil Crop Science Society of Florida Proceeding*, **22**, 160-162.
- Burr, A.H.J., Robinson, A.F., 2004. Locomotion behaviour. In Gaugler, R., Bilgrami, A.L., *Nematode Behaviour*. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 25-62.
- Cadet, P., Albergel, J., 1999. Passive transport of phytoparasitic nematodes by runoff water in the Sudano-Sahelian climatic area. *Journal of Hydrology*, **214**, 91-102.
- Cadet, P., Planchon, O., Esteves, M., Lapetite, J-M., 2002. Experimental study of the selective transport of nematodes by runoff water in the Sudano-Sahelian area. *Applied Soil Ecology*, **19**, 223-236.
- Carroll, J.J., Vigliercho, D.R., 1981. On the transport of Nematodes by the Wind. *Journal of Nematology*, **13**, 476-483.
- Chabrier, C., Carles, C., Marie-Luce, S., Cabidoche, Y.M., 2008. Nematode dispersion by water leached in soil: case study of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne on nitisol under simulated rainfall. *Applied Soil Ecology*, **40**, 299-308.
- Chabrier, C., Hubervic, J., Quénéhervé, P., 2002. Evaluation of fosthiazate (Nemathorin® 10G) for the control of nematodes in banana fields in Martinique. *Nematropica* , **32**, 137-147.
- Chabrier, C., Hubervic, J., Quénéhervé, P., 2005a. Evaluation de l'efficacité de deux formulations d'oxamyl contre les nématodes et charançons des bananiers à la Martinique. *Nematropica*, **35**, 11-22.
- Chabrier, C., Mauléon, H., Bertrand, P., Lassoudière, A., Quénéhervé, P., 2005b. Banane antillaise, les systèmes de culture évoluent. En Martinique, méthodes alternatives pour réduire l'utilisation des nématicides et insecticides en bananeraies. *Phytoma-La Défense des Végétaux*, **584** (7-8), 12-16.
- Chabrier, C., Quénéhervé, P., 2003. Control of the burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) on banana: impact of the banana field destruction method on the efficiency of the following fallow. *Crop Protection*, **22**, 121-127.
- Chabrier, C., Quénéhervé , P., 2008. Preventing nematodes from spreading: A case study with *Radopholus similis* (Cobb) Thorne in a banana field. *Crop Protection*, **27**, 1237-1243

- Chapman, G., 1958. The hydroskeleton in the invertebrates. *Biological Reviews*, **33**, 338-371.
- Champion, J., 1963. Le bananier. *Maisonneuve et Larose, Paris, France*. 263 pp.
- Champion, J., 1968. Les bananiers et leur culture. Tome I. Botanique et génétique. *SETCO, Paris, France*. 214 pp.
- Chitambar, J.J., 1997. A brief Review of the burrowing nematodes, *Radopholus similis*. *California Plant Pest Disease Report*, **16**, 66-70.
- Cobb, N.A., 1893. Nematodes, mostly Australian and Fijian. *Macleay Mem. Vol., Linn. Soc. NSW*, 252-308.
- Cobb, N.A., 1915. Tylenchus similis, the cause of a root disease of sugar cane and banana. *Journal of Agricultural Research*, **4**, 561-568.
- Colbran, R.C., 1967. Hot water tank for treatment of banana planting material. *Queensland Department of Primary Industries, Division of Plant Industry, Brisbane, Australia, Advisory Leaflet*, 924.
- Colmet-Daage, F., Bernard Z., Gautheyrou, J., Gautheyrou, M., Lagache, F., Crecy, J. de, Poumaroux, A., Pallud, A., 1969. Carte des sols de la Martinique. *BSA, ORSTOM, Pointe-à-Pitre*.
- Coolen, W.A., d'Herde, C.J., 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. *Ghent State Agriculture Research Centre*, 77 pp.
- Cooper, A.F., Van Gundy, S.D., 1971. Senescence, quiescence, and cryptobiosis. In Zuckerman, B.M., Mai, W.F., Rohde, R.A., *Plant Parasitic Nematodes, Vol. II. Academic Press, New York, USA*, 139-146.
- Crawley, M.J., 2005. Statistics. An Introduction using R. *John Wiley & Sons edit., New York, USA*, 323 pp.
- Croll, N.A., Mathews, B.E., 1977. Biology of Nematodes. *John Wiley & Sons edit., New York, USA*, 201 pp.
- Davide, R.G., 1994. Biological control of banana nematodes: development of BIOCON I (BIOACT) and BIOCON II technologies. In Valmayor, R.V., Davide, R.G., Stanton, J.M., Treverrow, N.L., Roa, V.N., *Banana nematodes and weevil borers in Asia and the Pacific. INIBAP/ASPNET Edit. Los Baños, Philippines*, 139-146.
- Declerck, S., Devos, B., Delvaux, B., Plenchette, C., 1994. Growth response of micropropagated banana plants to VAM inoculation. *Fruits*, **49**, 103-109.
- Declerck, S., Risede, J.M., Delvaux, B., 2002. Greenhouse response of micropropagated bananas inoculated with in vitro monoxenically produced arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae*, **93**, 301-309.

- Delvaux, B., Guyot, Ph., 1989. Caractérisation de l'enracinement du bananier au champ. Incidences sur les relations sol-plantes dans les bananeraies intensives de la Martinique. *Fruits*, **44**, 633-647.
- Demeure, Y., Freckman, D. W., 1985. Recent advances in the study of anhydrobiotic nematodes. In: Zuckerman, B.M., Rohde, R.A., *Plant Parasitic Nematodes, Vol. III. Academic Press, New York*, 205-226.
- Demeure, Y., Reversat, G., Van Gundy, S.D., Freckman, D.W., 1978. The relationship between nematodes reserves and their survival to desiccation. *Nematropica*, **8**, 7-8.
- Dennis, S. O., Harrison, R. E., Aburime, S. A., Tsegaye, T., 1999. Distribution of water-facilitated entomopathogenic nematodes in soil columns. *Proc. SNA Research Conference*, **44**, 258-261.
- Dennis, S. O., Tsegaye, T., Harrison, R. E., 1998. Transport of entomogenous nematodes in soil. *Proc. SNA Research Conference*, **43**, 240-343.
- Dennis, S. O., Tsegaye, T., Aburime, S.A., Harrison, R.E., 2000. Sorption of a Biocontrol Agent and its Effects on Movement in Nursery Soil. *Proc. SNA Research Conference*, **45**, 229-232.
- Dochez, C., Whyte, J., Tenkuuand, A., Ortiz, R., De Waele, D., 2005. Response of East African highland bananas and hybrids to *Radopholus similis*. *Nematology*, **7**, 655-666.
- Dorel, M., Roger-Estrade, J., Manichon, H., Delvaux, B., 2000. Porosity and soil water properties of Caribbean volcanic ash soil. *Soil Use and Management*, **16**, 133-140.
- DuCharme, E.P., 1955. Sub-soil drainage as a factor in the spread of the burrowing nematode. *Proc. Florida State Horticultural Society*, **68**, 29-31.
- DuCharme, E.P., Birchfield, W., 1956. Physiologic races of the burrowing nematode. *Phytopathology*, **46**, 615-616.
- Duncan, L.W., 2005. Nematode Parasites of Citrus. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K.*, 437-466.
- Duncan, L.W., Kaplan, D.T., Noling, J.W., 1990. Maintaining barriers to the spread of *Radopholus similis* in Florida citrus orchards. *Nematropica*, **20**, 71-87.
- Duncan, L.W., Moens, M., 2006. Migratory Endoparasitic Nematodes. In: Perry, R.N., Moens, M., *Plant Nematology. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K.*, 123-152.
- Edgar, S.E., Cox, G.N., Kusch, M., Politz, J.C., 1982. The Cuticle of *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Nematology*, **14**, 248-258.
- Edwards, D.I., Wehunt, J., 1971. Host range of *Radopholus similis* from banana areas of Central America with indications of additional races. *Plant Disease Reporter*, **55**, 415-418.

- Elsen, A., Declerck, S., De Waele, D., 2002. Effet de trois champignons mycorrhiziens arbusculaires sur l'infection du bananier par le nématode à galle des racines (*Meloidogyne spp.*). *Infomusa*, **11**, 21-23.
- Elsen, A., Baimey, H., Swennen, R., De Waele, D., 2003. Relative mycorrhizal dependency and mycorrhiza-nematode interaction in banana cultivars (*Musa spp.*) differing in nematode susceptibility. *Plant and Soil*, **256**, 303-313.
- Esteves, M., Planchon, O., Lapetite, J.-M., Silvera, N. et Cadet, P., 2000. The 'Emire' Large Rainfall Simulator: Design and Field Testing. *Earth Surface Processes and Landforms*, **25**, 681-690.
- Fallas, G.A., Sarah, J.L., 1994. Effect of storage temperature on the *in vitro* reproduction of *Radopholus similis*. *Nematropica*, **24**, 175-177.
- Fallas, G., Sarah, J.-L., 1995. Effect of temperature on the *in vitro* multiplication of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. *Fundamental and Applied Nematology*, **18**, 445-449.
- Fargette, M., Quénéhervé, P., 1988. Populations of nematodes in soils under banana, cv Poyo, in the Ivory Coast. *Revue de Nématologie*, **11**, 239-244.
- Faulkner, L.R., Bolander, W.J., 1966. Occurrence of large nematode populations in irrigation canals of South Central Washington. *Nematologica*, **12**, 591-600.
- Faulkner, L.R., Bolander, W.J., 1970a. Acquisition and distribution of nematodes in irrigation waterways of the Columbia basin in Eastern Washington. *Journal of Nematology*, **2**, 362-367.
- Faulkner, L.R., Bolander, W.J., 1970b. Agriculturally polluted irrigation water as a source of plant parasitic nematode infestation. *Journal of Nematology*, **2**, 368-374.
- Feldmesser, J., Feder, w. A., Rebois, R. V., Hutchins, P. C., 1960. Longevity of *Radopholus similis* and *Pratylenchus brachyurus* in fallow soil in the greenhouse. *Anatomical Record*, **137**, 355.
- Ferraz, L.C.C.B., Brown, D.J.F., 2002. An Introduction to Nematodes: Plant Nematology. A student's textbook. *Pensoft (edit.), Sofia, Bulgarie*, 221 pp.
- Filipjev, I.N., 1936. On the classification of the Tylenchinae. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*, **3**, 80-82.
- Fogain, R., and Gowen, S. R. 1996. Investigations on possible mechanisms of resistance to nematodes in *Musa*. *Euphytica*, **92**, 375-381.
- Forge, T.A. , Macguidwin, A.E., 1989. Nematode autofluorescence and its use as an indicator of viability. *Journal of Nematology*, **21**, 399-403.
- Guérout, R., Lassoudière, A., Vilardebo, A., 1976. Efficacité des nématicides sur deux types de sols à caractéristiques particulières en Côte d'Ivoire. *Fruits*, **31**, 427-436,

- Glazer, I., Orion, D., 1983. Studies on Anhydrobiosis of *Pratylenchus thornei*. *Journal of Nematology*, **15**, 333-338.
- Gnanapragasam, N.C.C, Mohotti, K.M., 2005. Nematode Parasites of Tea. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition*. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 581-609.
- Goodel, P., Ferris, H., 1980. Plant parasitic nematode distributions in an alfalfa field. *Journal of Nematology*, **12**, 136-141.
- Gowen, S.R., Edmunds, J.E., 1973. An evaluation of some simple extraction techniques and the use of hydrogen peroxide for estimating nematode population in banana roots. *Plant Disease Reporter*. **57**, 678-681.
- Gowen, S.R., Quénehervé, P., Fogain, R., 2005. Nematode Parasites of Bananas and Plantains. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition*. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 611-643.
- Griffith, R., Giblin-Davis, R., Koshy, P.K., Sosamma, V.K., 2005. Nematode Parasites of Coconut and other Palms. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition*. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 493-527.
- Hass, B., Downes, M.J., Griffin, C.T., 2002. Persistence of Four *Heterorhabditis* spp. Isolates in Soil: Role of Lipid Reserves. *Journal of Nematology*, **34**, 151-158.
- Heuzé, S. 2005. Hydrological behaviour of banana crops on a tropical soil: Estimation of the properties of an andosol and identification of the water processes at local scale. *Master Water management - Cranfield University, at Silsoe, Canada*. 72 pp.
- Holland, R.J., Williams, K.L., Nevalainen, K.M.H., 2003. *Paecilomyces lilacinus* strain Bioact251 is not a plant endophyte. *Australasian Plant Pathology*, **32**, 473 – 478.
- Hooper, D.J., 1986. Extraction of free-living stages from soil. In: Southey, J.F., *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes, sixth edition*., Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, UK, 5-30.
- Hooper, D.J., Hallmann, J., Subbotin, S.A., 2005. Methods for Extraction, Processing and Detection of Plant and Soil Nematodes. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition*. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., ISBN 0-85199-727-9, 53-86.
- Horry, J.P., Ortiz, R., Arnaud, E., Crouch, J.H., Ferris, R.S.B., Jones, D.R., Mateo, N., Picq, C., Vuylsteke, D., 1997. Banana and Plantain. In: Fucillo, D., Sears, L., Stapleton, P., *Biodiversity in Trust. Conservation and Use of Plant Genetic Resources in CGIAR Centres*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 67-81.
- Hubert, H., 2005. Incidence à moyen terme de la conduite de bananeraies sur les propriétés du sol ; conséquences sur le fonctionnement hydrique et l'érosion. Cas de deux systèmes de cultures sur sols brun-rouille à halloysite de Martinique. *Mémoire ENSA Rennes, Rennes France*, 17-18.

- Huettel, R.N., Dickson, D.W., Kaplan, D.T., 1984. *Radopholus citrophilus* sp. n. (Nematoda), a sibling species of *Radopholus similis*. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*, **51**, 32-35.
- Hugon, R., Ganry, J., Berthe G. 1984. Dynamique des populations du nématode *Radopholus similis* en fonction du stade de développement du bananier et le climat. *Fruits*, **39**, 251-253.
- Hugon, R., Picard, H., 1988. Relations spatiales entre taches et nécroses racinaires et nématodes endoparasites chez le bananier. *Fruits*, **43**, 491-497.
- Jaizme-Vega, M. C., Pinochet, J., 1997. Growth Response of Banana to Three Mycorrhizal Fungi in *Pratylenchus goodeyi* Infested Soil. *Nematropica*, **27**, 69-76.
- Jaramillo, R., Figueroa, A., 1974. Analisis armonico de la densidad de población de *Radopholus similis* (Cobb) Thorne en la zona bananera de Guapiles, Costa Rica. *Turrialba*, **24**, 402-406.
- Jenkins, W. R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, **48**, 692.
- Johnson, P.W., McKeen, C.D., 1973. Vertical movement and distribution of *Meloidogyne incognita* (Nematoda) under tomato in a sandy loam greenhouse soil. *Canadian Journal of Plant Science*, **53**, 837-841.
- Kaplan, D. T. 1994. Molecular characterization of the burrowing nematode sibling species, *Radopholus citrophilus* and *R. similis*. In: Lamberti, F., De Giorgi, C., McK Bird, D., *Advances in Molecular Plant Nematology*, Plenum Press, New York, 77-83.
- Kaplan, D.T., Opperman, C.H., 2000. Reproductive Strategies and Karyotype of the Burrowing Nematode, *Radopholus similis*. *Journal of Nematology*, **32**, 126-133.
- Kaplan, D.T., Vanderspool, M.C., Garrett, C., Chang, S., Opperman, H., 1996. Molecular polymorphisms associated with host range in the highly conserved genomes of burrowing nematodes, *Radopholus spp.* *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **9**, 32-38.
- Kerr, A., Vythilingam, M.K., 1966. Factors influencing the extraction of nematodes from soil. *Nematologica*, **12**, 511-517.
- Khamsouk, B., 2001. Impact de la culture bananière sur l'environnement. Influence des systèmes de cultures bananières sur l'érosion, le bilan hydrique et les pertes en nutriments sur un sol volcanique en Martinique. (Cas du sol brun rouille à halloysite). *Thèse de Doctorat de l'ENSA-M., Montpellier, France*, 220 pp.
- Khamsouk, B., Roose, E., 2003. Ruissellement et érosion d'un sol volcanique tropical cultivé en systèmes intensifs en Martinique. *Cahiers d'études et de recherches francophones / Agricultures*, **12** (3), 145-51.
- Koshy, P.K., Eapen, S.J., Pandey, R., 2002. Nematode Parasites of Spices, Condiments and Medicinal Plants. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition*. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 751-791.

- Lacher, T.E., Mortensen, S.R., Johnson, K.A, Kendall, R.J., 1997. Environmental aspects of pesticide use on banana plantations. *Pesticide Outlook*, **12**, 24-28.
- Lavalee, W.H., Rohde, A.A., 1962. Attractiveness of plant roots to *Pratylenchus penetrans* (Cobb). *Nematologica*, **8**, 252-260.
- Lavigne, C., 1987. Contribution à l'étude du système racinaire du bananier. Mise au point de rhizotrons et premiers résultats. *Fruits*, **42**, 265-271.
- Lecompte, F., 2002. Mise en place de l'architecture racinaire du bananier dans un andosol : effets des contraintes physiques liées au compactage. *Thèse de Doctorat de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris, France*, 131 pp.
- Le Saux, R., Quénehervé, P., 2002. Differential chemotactic responses of two plant-parasitic nematodes, *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*, to some inorganic ions. *Nematology*, **4**, 99-105
- Le Rû, B., Iziquel, Y., 1990. Étude expérimentale, à l'aide d'un simulateur de pluies, de l'effet mécanique de la chute des pluies sur les populations de la cochenille du manioc, *Phenacoccus manihoti*. *Acta Ecologica*, **11**, 741-754.
- Loos, C.A., 1961. Eradication of the burrowing nematode, *Radopholus similis*, from bananas. *Plant Disease Reporter*, **45**, 457-461.
- Loos, C.A. 1962. Studies on the life history and habits of the burrowing nematode, *Radopholus similis*, the cause of the blackhead disease of banana. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*, **29**, 43-56.
- Loos, C.A., Loos, S.B. 1960. The blackhead disease of bananas. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*, **27**, 189-193.
- Loridat, Ph., 1989. Etude de la microflore fongique et des nématodes associés aux nécroses de l'appareil souterrain du bananier en Martinique. Mise en évidence du pouvoir pathogène du genre *Cylindrocladium*. *Fruits*, **44**, 587-598.
- Luc, M., 1961. Note préliminaire sur le déplacement de *Hemicyclophora paradoxa* Luc (Nematoda – Criconematidae) dans le sol. *Nematologica*, **6**, 97-106.
- Maas, P.W.T., 1969. Two important cases of nematode infestation in Surinam. In: Peachey, J.E., *Nematodes of Tropical Crops*, CAB International Edit., Slough, U.K., 149-154.
- Mallamaire, A., 1939. La pourriture racinaire du bananier de chine causée par *Anguillulina similis* Goodey en Afrique occidentale française. *Agronomie coloniale*, **28**, 33-75.
- Marie, P., Dave, B., Cote, F., 1993. Utilisation des vitroplants de bananiers aux Antilles Françaises : atouts et contraintes. *Fruits*, **48** (Spécial Bananes), 89-94.
- Marin, D.H., Sutton, T.B., Barker, K.R. 1998. Dissemination of bananas in Latin America and the Caribbean and its relationship to the occurrence of *Radopholus similis*. *Plant disease*, **82**, 964-974.

- Mateille, T., Adjovi, T., Hugon, R., 1992. Techniques culturales pour la lutte contre les nématodes du bananier en Côte d'Ivoire : Assainissement des sols et utilisation de matériel sain. *Fruits*, **47**, 281-290.
- Mateille, T., Foncelle, B., 1988. Micropropagation of Musa AAA cv. 'Poyo' in the Ivory Coast. *Tropical Agriculture*, **65**, 325-328.
- Mateille, T., Foncelle, B., Ferrer, H., 1988. Lutte contre les nématodes du bananier par submersion du sol. *Revue de nématologie*, **11**, 235-238.
- McSorley, R., 2003. Adaptation of nematodes to environmental extremes. *Florida Entomologist*, **88**, 138-142.
- McSorley, R., Parrado, J.L., 1981. Effect of sieve size on nematode extraction efficiency. *Nematropica*, **11**, 165-174.
- McSorley, R., Parrado, J.L., 1987. Nematode losses during centrifugal extraction from two soil type. *Nematropica*, **17**, 147-161.
- McSorley, R., Frederick, J.J., 1991. Extraction Efficiency of *Belonolaimus longicaudatus* from Sandy Soil. *Journal of Nematology*, **23**, 511-518.
- Meagher, J.W., 1977. World dissemination of the Cereal Cyst Nematode (*Heterodera avenae*) and its Potential as a Pathogen of Wheat. *Journal of Nematology*, **9**, 9-15.
- Melin, P., Vilardebo, A., 1973a. Efficacité de quelques nématicides en bananeraie dans les sols volcaniques de la région du Mungo (Cameroun). *Fruits*, **28**, 3-17.
- Melin, P., Vilardebo, A., 1973b. Nématicides et désinfection à l'eau chaude dans la lutte contre *Radopholus similis* en bananeraie. *Fruits*, **28**, 843-849.
- Mendoza, A., Sikora, R.A., Kiewnick, S., 2004. Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* (strain 251) for the control of *Radopholus similis* in banana. *Commun Agric Appl. Biol. Sci.* **69**, 365-372.
- Mendoza, A. R., Sikora, R. A., Kiewnick, S., 2007. Influence of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 on the biological control of the burrowing nematode *Radopholus similis* in Banana. *Nematropica*, **37**, 203-213.
- Miller, P.M., 1978. Toxicity to *Tylenchorencehus dubius* and *Hoplolaimus galeatus* of Newly Unwrapped Plastic Containers. *Journal of Nematology*, **10**, 374-375.
- Milne, D.L., Keetch, D.P., 1976. Some observations on the host plant relationships of *Radopholus similis* in Natal. *Nematropica*, **6**, 13-18.
- Morgan, G.D., MacGuidwin, A.E., Zhu, J., Binning, L.K., 2002. Population Dynamics and Distribution of Root Lesion Nematode (*Pratylenchus penetrans*) over a Three-Year Potato Crop Rotation. *Agronomy Journal*, **94**, 1146-1155.
- Multigner, L., Cordier, S., Jégou, B., 2005. Effets adverses des produits phytosanitaires sur la santé humaine. In Regnault-Roger, C., Fabres, G., Philogène, B., *Enjeux*

*phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Lavoisier Edit., Paris, France, 243-259.*

Namaganda, J.M., Kashaija, I.N., Maslen, R., 2002. Host status of the common weeds of banana establishments to banana nematodes in Uganda. *Nematology*, **4**, 271.

Norton, D.C., 1978. Ecology of plant parasitic nematodes. *John Wiley & Sons edit., New York, USA*, 268 pp.

Nguyen, C.N., Subbotin, S.A., Madani, M., Yrinh, P.Q., Moens, M., 2002. The occurrence of burrowing nematodes *Radopholus spp.* on durian and coffee in Western Highland of Vietnam. *Nematology*, **4**, 271-272.

O'Bannon, J.H., 1977. Worldwide Dissemination of *Radopholus similis* and its Importance in Crop Protection. *Journal of Nematology*, **9**, 16-25.

O'Bannon, J.H., Tomerlin, A.T., 1969. Movement of *Radopholus similis* on a weed host (*Solanum nigrum*). *Journal of Nematology*, **1**, 21.

Ogiga, I.R., Estey, R.H., 1974. The use of Meldola Blue and Nile Blue A for distinguishing dead from living nematodes. *Nematologica*, **20**, 271-276.

Oostenbrink, M., 1960. Estimating nematode populations by some selected methods. *In* : Sasser, J.N., Jenkins, W.R., *Nematology. The University of North Carolina Press, Chapel Hill, USA*, 85-102.

Otobe, K., Itou, K., Mizukubo, T., 2004. Micro-moulded substrates for the analysis of structure-dependent behaviour of nematodes. *Nematology*, **6**, 73-77.

Paparu, P., Dubois, T., Coyne, D., Viljoen, A., 2007. Defense-related gene expression in susceptible and tolerant bananas (*Musa spp.*) following inoculation with non-pathogenic *Fusarium oxysporum* endophytes and challenge with *Radopholus similis*. *Molecular Plant Pathology*, **71**, 149-157.

Paparu, P., Dubois, T., Gold, C.S., Niere, B., Adipala, E., Coyne, D., 2006. Colonisation pattern of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*, a potential biological control agent, in roots and rhizomes of tissue cultured *Musa* plantlets. *Annals of Applied Biology*, **149**, 1-8.

Pinkerton, J.N., Mojtahedi, H., Santo, G.S., O'Bannon, J.H., 1987. Vertical Migration of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* under Controlled Temperature. *Journal of Nematology*, **19**, 152-157.

Pinochet, J., 1977. Occurrence and spatial distribution of root lesion nematodes on bananas and plantain in Honduras. *Plant disease Reporter*, **61**, 518-520.

Pinochet, J., 1986. Research Notes: A Note on Nematode Control Practices on Bananas in Central America. *Nematropica*, **16**, 197-203.

Pinochet, J., Fernandez, C., Sarah, J.L., 1995. Influence of temperature on *in vitro* reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi* and *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology*, **18**, 391-392.

- Planchon, O., Cadet, P., Lapetite, J-M., Silvera, N., Esteves, M. 2000. Relationship between raindrop erosion and runoff erosion under simulated rainfall in the Sudano-Sahel: consequences for the spread of nematodes by runoff. *Earth Surface Processes and Landforms*, **25**, 729-741.
- Poucher, C., Ford, H.W., Suit, R.F., DuCharme, E.P., 1967. Burrowing nematode in citrus. *Florida Department of Agriculture, Division of Plant Industry Bulletin*, **7**, 63 pp.
- Prot, J. C., 1975. Recherches concernant le déplacement des juvéniles de *Meloidogyne* spp. vers les racines. *Cahiers ORSTOM, série Biologie*, **10**, 251-262.
- Prot, J. C., 1978. Vertical migration of four natural populations of *Meloidogyne*. *Revue de Nématologie*, **1**, 109-111.
- Prot, J. C., 1980. Migration of plant-parasitic nematodes toward plant roots. *Revue de Nématologie*, **3**, 305-318.
- Prot, J.-C., Van Gundy, S.D., 1981. Effect of soil texture and the clay component on migration of *Meloidogyne incognita* second-stage juveniles. *Journal of Nematology*, **13**, pp 213-217.
- Pudasaini, M.P., Schomaker, C.H., Been, T.H., Moens, M., 2006. Vertical distribution of the plant-parasitic nematode, *Pratylenchus penetrans*, under four field crops. *Phytopathology*, **96**, 226-233.
- Quénéhervé, P., 1988. Populations of nematodes in soils under bananas, cv. Poyo, in the Ivory Coast. 2. Influence of soil texture, pH and organic matter on nematode populations. *Revue de Nématologie*, **11**, 245-251.
- Quénéhervé, P., 1989a. Populations of nematodes in soils under bananas, cv. Poyo, in the Ivory Coast. 3. Seasonal dynamics of populations in mineral soil. *Revue de Nématologie*, **12**, 149-160.
- Quénéhervé, P., 1989b. Populations of nematodes in soils under bananas, cv. Poyo, in the Ivory Coast. 4. Seasonal dynamics of populations in organic soil. *Revue de Nématologie*, **12**, 161-170.
- Quénéhervé, P., 1990. Spatial arrangement of nematodes around the banana plant in the Ivory Coast: related comments on the interaction among concomitant phytophagous nematodes. *Acta Oecologica*, **11**, 775-786.
- Quénéhervé, P., 1993 : Nematode management in banana agroecosystems : comments and outlook from the Côte d'Ivoire experience. *Crop Protection*, **12**, 164-172.
- Quénéhervé, P., 2008. Integrated management of banana nematodes In: Ciancio, A., Mukerji, K.G. (Eds.), *Integrated Management of Fruit Crops Nematodes*. Springer, The Netherlands, 1-54.
- Quénéhervé, P., Cadet, P., 1985. Localisation des nématodes dans les rhizomes du bananier cv. Poyo. *Revue de Nématologie*, **8**, 3-8.

- Quénéhervé, P., Cadet, P., 1986. Une nouvelle technique d'échantillonnage pour l'étude des nématodes endoparasites du bananier. *Revue de Nématologie*, **9**, 95-97.
- Quénéhervé, P., Cadet, P., Mateille, T., 1991. New approaches to chemical control of nematodes on bananas: field experiments in the Ivory Coast. *Revue de Nématologie*, **14**, 543-549.
- Quénéhervé, P., Chabrier, C., Auwerkerken, A., Topart, P., Martiny, B., Marie-Luce, S., 2006a. Status of weeds as reservoirs of plant parasitic nematodes in banana fields in Martinique. *Crop Protection*, **25**, 860-867.
- Quénéhervé, P., Chotte, J-L., 1997. Distribution of nematodes in vertisol aggregates under a pangola grass pasture in Martinique. *Applied Soil Ecology*, **4**, 193-200.
- Quénéhervé, P., Ferris, H., 1990. Use of geometric vs. arithmetic mean in the prominence value index and diagram frequency vs. abundance. *Journal of Nematology*, **21**, 581.
- Quénéhervé, P., Marie-Luce, S., Barout, B., Grosdemange, F., 2006b. Une technique de criblage variétal précoce des bananiers envers les nématodes phytoparasites. *Nematology*, **8**, 147-152.
- Quillin, K.J., 1999. Kinematics calling of locomotion by hydrostatic animals: ontogeny of peristaltic crawling by the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Journal of Experimental Biology*, **202**, 661-674.
- Reversat, G., 1975. Etude préliminaire de la survie en anaérobiose des juveniles du nematode *Heterodera oryzae* (Tylenchida: Heteroderidae). *C. R. Acad. Sc. Paris*, **280**, 2865-2868.
- Reversat, G., 1980. Effect of in vitro storage time on the physiology of second stage juveniles of *Heterodera oryzae*. *Revue Nématologie* **3**, 233-241.
- Reversat, G., Rossi, J.-P., Bernhard, P., 1997. Analyse des courbes de survie de nématodes phytoparasites selon le modèle de Teissier. *C. R. Acad. Sc. Paris*, **320**, 259-266.
- Rivas, X., Roman, J., 1985. Estudio sobre la gama de hospederos de una población de *Radopholus* de Puerto Rico. *Nematropica*, **15**, 165-170.
- Robinson, A.F., 2004. Nematode Behaviour and Migrations through Soil and Host Tissue. In Chen, Z.X., Chen, S.Y., Dickson, D.W., *Nematology – Advances and Perspectives*. Tsinghua University Press and CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 330-405.
- Robinson, A.F., Heald, CM, 1989. Accelerated Movement of Nematodes from Soil in Baermann Funnels with Temperature Gradients. *Journal of Nematology*, **21**, 370-378.
- Robinson, A.F., Inserra, R.N., Caswell-Chen, E.P., Vovlas, N., Troccoli, A., 1997. *Rotylenchulus* species: identification, distribution, host range, and crop resistance. *Nematropica*, **27**, 127-180.

- Rodríguez-Kábana, R., King, P.S., 1975. Efficiency of Extraction of Nematodes by Flotation-Sieving Using Molasses and Sugar and by Elutriation. *Journal of Nematology*, **7**, 54-59.
- Rodríguez-Kábana, R., Pope, M.H., 1981. A simple incubation method for the extraction of nematodes from soil. *Nematropica*, **11**, 175-185.
- Rostobekova, N.V., 1957. Значение воды, овощей и зелени в распространении гельминтозов. *Сообщения Академии Наук Грузинской ССР*, **18**, 467-472.
- Rumbos, C.I., Kiewnick, S., 2006. Effect of plant species on persistence of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 in soil and on root colonization by the fungus. *Plant and Soil*, **283**, 25-31.
- Sansoulet, J., 2006. Transferts d'eau et des ions potassium et nitrate dans un sol à charges variables sous un couvert redistributeur de pluie. *Thèse de Doctorat de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris, France*, 136 pp.
- Sarah, J.L., 1989. Banana Nematodes and their Control in Africa. *Nematropica*, **19**, 199-216.
- Sarah, J.L., 1990. Les nématodes et le parasitisme des racines de bananiers. *Fruits*, **45** (Spécial Bananes), 60-67.
- Sarah, J.L., Chabrier, C., Mestre, J. 1996. Méthode d'étude de l'efficacité en plein champ de nématicides destinés à lutter contre les nématodes des bananiers. *Méthode CEB n° 182. Association Nationale de Protection des Plantes (ANPP) Edit. Paris, France*. 7 pp.
- Sarah, J.L., Fogain, R., Valette, C., 1997. Résistance des bananiers aux nématodes : criblage variétal et approche des mécanismes. *Fruits*, **52**, 267-271.
- Sarah, J. L., Kehe, M., Beugnon, M., Martin, P. E., 1988. Expérimentation avec l'aldicarbe pour lutter contre *Radopholus similis* (Cobb) Thorne (Nematoda Pratylenchidae) et *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera, Curculionidae) en bananeraie. 2. Expérimentations réalisées en Côte d'Ivoire. *Fruits*, **43**, 475-484.
- Sarah, J.L., Lassoudière, A., Guérout, R., 1983. La jachère nue et l'immersion du sol : deux méthodes intéressantes de lutte intégrée contre *Radopholus similis* Cobb. dans les bananeraies des sols tourbeux de Côte d'Ivoire. *Fruits*, **38**, 35-42.
- Sarah, J.-L., Pinochet, J., Stanton, J., 1996. *Radopholus similis* Cobb, nématode parasite des bananiers. *Fiche technique n°1, INIBAP, Montpellier, France*, 2 pp.
- Sarah, J.L., Perrier, X., 1988. Sampling *Radopholus similis* in banana, sample size and accuracy. *XIX International Nem. Symp. ESN., Uppsala, Sweden, 7-13 Aug. 1988*.
- Sarah, J. L., Vilardebo., A., 1979. L'utilisation du Miral en Afrique de l'ouest pour la lutte contre les nématodes du bananier. *Fruits*, **34**, 729-741.
- Seinhorst, J.W., 1950. De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aantasting door het stengelaatje (*Ditylenchus dipsaci* (Khün) Filipjev). *Tijdschrift voor Plantenziekten*, **5**, 291-349.

- Seinhorst, J.W., 1956. The quantitative extraction of nematodes from soil. *Nematologica*, **1**, 249-128.
- Seinhorst, J.W., 1962. Modifications of the elutriation method for extracting nematodes from soil. *Nematologica*, **8**, 117-128.
- Sher, S.A. 1968. Revision of the genus *Radopholus* Thorne, 1949 (Nematoda, Tylenchoidea). *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*, **35**, 219-237.
- Siddiqi, M. R., 2000. Tylenchida: Parasites of Plants and Insects. 2<sup>nd</sup> Edition. *CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K.*, 336 -357.
- Siddiqi, M. R., 1963. On the classification of the Pratylenchidae (Thorne, 1949) nov. grad. (Nematoda: Tylenchida), with a description of *Zygotylenchus browni* nov. gen. et nov. sp. *Z. ParasitKde*, **23**, 164-169.
- Sikora, R. A., Pocasangre, L. E., 2004. Nouvelles technologies pour améliorer la santé des racines et augmenter la production. *InfoMusa*, **13** (2), 25-29.
- Simons, W.R., 1973. Nematode survival in relation to soil moisture. *Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen, Nederland*, **73-3**, 85 pp.
- Sorribas, F.J., Verdejo-Lucas, S., Forner, J. B., Alcaide, A., Pons, J., Ornat, C., 2000. Seasonality of *Tylenchulus semipenetrans* Cobb and *Pasteuria* sp. in Citrus Orchards in Spain. *Journal of Nematology*, **32**, 622–632.
- Spiegel, Y.M, Burrows, P.M., Bar-Eyal, M., 2003. A Chemo Attractant in Onion Root Exudates Recognized by *Ditylenchus dipsaci* in Laboratory Bioassay. *Phytopathology*, **93**, 127-132.
- Stanton, J.M., Pattison, A.B., Kopittke, R.A., 2001. A sampling strategy to assess banana crops for damage by *Radopholus similis* and *Pratylenchus goeoyi*. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **41**, 675-679.
- Steiner, G., Buhner, E., 1933. The nematode *Tylenchulus similis* Cobb as a parasite of tea plant (*Thea sinensis*), its sexual dimorphism, and its nemic associate in in the same host. *Zeitschrift Parasitenkunde*, **5**, 412-420.
- Stover, R.H., 1972. Banana, Plantain and Abaca Diseases. *Commonwealth Mycological Institute and CAB International Edit., Farnham Royal, Bucks., U.K.*, 15-30.
- Suit, R.F., DuCharme, E.P., 1953. The burrowing nematode and other parasitic nematodes in relation to spreading decline. *Citrus Leaves*, **33** (8-9), 32-33.
- Tapia, S., Zampini, M., Agostini, E., Manero, J.M., Curzel, V., Echenique, G., 2007. Conducción y dispersión de nematodos fitoparásitos por el agua de riego a cultivos de tabaco en la provincia de Jujuy, Argentina. *Nematropica*, **37**, 189.
- Tarjan, A.C., 1956. The possibility of mechanical transmission of nematodes in Citrus groves. *Proceeding of the Florida State Horticultural Society*, **69**, 34-37.

- Tarjan, A.C., 1961. Longevity of *Radopholus similis* (Cobb) in host free soil. *Nematologica*, **6**, 170-175.
- Tarjan, A.C., 1971. Migration of three pathogenic nematodes through two Florida soils. *Soil Crop Science Society of Florida Proceeding*, **31**, 253-255.
- Teissier, D., 1984. Etude expérimentale de l'organisation des matériaux argileux. Hydratation, gonflement et structuration au cours de la dessiccation et de la réhumectation. *Thèse de l'Université Paris VII, Paris, France*, 361 pp.
- Teissier, G., 1933. Recherches sur le vieillissement et sur les lois de la mortalité. *C. R. Acad. Sc. Paris, Physiol., Physico-Chimie Biol.*, **10**, 237-284.
- Tenkouano, A., Hauser, S., Coyne, D., Coulibaly, O., 2006. Clean Planting Materials and Management Practices for Sustained Production of Banana and Plantain in Africa. *Chronica Horticulturae*, **46**, 14-18.
- Ternisien, E., 1989. Etude des rotations culturales en bananeraie. 2. Impact des cultures de rotation sur la production bananière et l'état sanitaire du sol. *Fruits*, **44**, 445-454.
- Ternisien, E., Ganry, J., 1990. Rotations culturales en culture bananière intensive. *Fruits*, **45** (Spécial Bananes), 98-102.
- Thomason, I.J., Caswell, E.P., 1987. Principles of nematode control. In: Brown, R.H., Kerry, B.R., *Principles and practice of nematode control in crops*, Academic Press Australia, Sydney, Australia, 87-130.
- Thompson, H.W., Roebuck, A., Cooper, B.A., 1949 Floods and the spread of potato root eelworm. *Jour. Minist. Agric.*, **56**, 109-114.
- Thorne, G., 1949. On the classification of *Tylenchida*, new order (Nematoda, Phasmidia). *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*, **16**, 37-73.
- Tixier, P., Salmon, S., Chabrier, C., Quénéhervé, P., 2008. Modelling pest dynamics of new crop cultivars: The FB920 banana with the *Helicotylenchus multicinctus*–*Radopholus similis* nematode complex in Martinique. *Crop Protection*, in press (doi: 10.1016/j.cropro.2008.06.004).
- Tomlin, C. 2003. The Pesticide Manual. Fourteenth edition. Crop Protection Publication. *British Crop Protection Council Edit., Alton, UK*, 1344 pp.
- Tobar, A., Valor, H., Talavera, M., 1995. Kinetics of recovery from anhydrobiosis in *Pratylenchus thornei*, *Merlinius brevidens* and *Heterodera avenae* from field soils and dry roots of the host plant. *Fundamental and Applied Nematology*, **18**, 21-24.
- Townshend, J.L., 1984. Anhydrobiosis in *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology*, **16**, 282-289.
- Townshend, J.L., Webber, L.R., 1971. Movement of *Pratylenchus penetrans* and the moisture characteristics of three Ontario soils. *Nematologica*, **17**, 47-57.

- Towson, A.J., Apt, W.J., 1983. Effect of Soil Water Potential on Survival of *Meloidogyne javanica* in Fallow Soil. *Journal of Nematology*, **15**, 110-115.
- Umesh, K.C., Krishnappa, K., Bagyaraj, D.J., 1989. Interaction of *Radopholus similis* with *Glomus fasciculatum* in banana. *Journal of Nematology*, **21**, 592.
- Valette, C., Andary, J.P., Geiger, J.P., Sarah, J.L., Nicole, M., 1998. Histochemical and cytochemical investigations of phenols in roots of banana infected by the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Phytopathology*, **88**, 1141-1148.
- Valette, C., Baujard P., Nicole M., 1997. Ultrastructural observations on the cuticle of *Radopholus similis* (Nematoda: Pratylenchidae). *Fundamental and Applied Nematology*, **20**, 481-485.
- Van Weerdt, L. G., 1958. Studies on the Biology of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949. Part II, Morphological variation within and between progenies of single females. *Nematologica*, **3**, 184-196.
- Van Weerdt, L. G., 1960. Studies on the Biology of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949. Part III, Embryology and Post-Embryonic Development. *Nematologica*, **5**, 43-52.
- Verschor, B.C., De Goede, R.G.M., 2000. The nematode extraction efficiency of the Oostenbrink elutriator-cottonwool filter method with special reference to nematode body size and life strategy. *Nematology* **2**, 325-342.
- Viglierchio, D. R., Schmitt, R. V., 1983. On the methodology of nematode extraction from field samples: Comparison of methods for soil extraction. *Journal of Nematology*, **15**, 450-454.
- Viglierchio, D. R., Yamashita, T.T., 1983. On the Methodology of Nematode Extraction from Field Samples: Density Flotation Techniques. *Journal of Nematology*, **15**, 444-449.
- Vilardebo, A., 1981. Application des résultats de recherches de lutte contre la nématose du bananier due à *Radopholus similis* Cobb dans l'ouest africain. *Nematropica*, **11**, 193-206.
- Vilardebo, A., 1984. Problèmes scientifiques poses par *Radopholus similis* et *Cosmopolites sordidus* en cultures bananières des zones francophones de production. *Fruits*, **39**, 227-233.
- Villenave, C., Cadet, P., Planchon, O., Estève, M., Lapetite, J.M., 2003. Transport of free-living nematodes by runoff water in a Sudano-Sahelian area. *Applied Soil Ecology*, **23**, 85-91.
- Waliullah, M.I.S., 1989. Nematodes in irrigation canals of the Kashmir Valley, India. *Nematologica Mediterranea*, **17** (1) 55-56.
- Wallace, H.R., 1958a. The movement of eelworms. I Influence of pore size and moisture content of the soil on the migration of larvae of the beet eelworm, *Heterodera schachtii* Schmidt. *Annals of applied Biology*, **46**, 74-85.

- Wallace, H.R., 1958b. The movement of eelworms. II A comparative study of the movement in soil of *Heterodera schachtii* Schmidt and of *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev. *Annals of applied Biology*, **46**, 86-94.
- Wallace, H.R., 1958c. The movement of eelworms. III The relationship between eelworm length, activity and mobility. *Annals of applied Biology*, **46**, 662-668.
- Wallace, H.R., 1959. The movement of eelworms in water films. *Annals of applied Biology*, **47**, 366-370.
- Wallace, H.R., 1960. The movement of eelworms. IV The influence of soil type, moisture gradient and host plant roots on the migration of the potato-root eelworm *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. *Annals of applied Biology*, **48** (1), 107-120.
- Wallace, H.R. 1963. The biology of plant parasitic nematodes. *Edward Arnold (edit.), LTD, London, U.K.*, 280 pp.
- Wallace, H.R., 1968. The dynamic of Nematode movement. *Annual Review of Phytopathology*, **6**, 91-114.
- Wharton, D.A., 2004. Survival strategies. In Gaugler, R., Bilgrami, A.L., *Nematode Behaviour. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K.*, 371-399.
- Whitehead, A.G., Hemming, J.R., 1965. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology*, **55**, 25-38.
- Yeates, G.W., Boag, B., 2006. Female size shows similar trends in all clades of the phylum Nematoda. *Nematology*, **8**, 111-127.
- Yen, J.H., Lee, M.D., Chen, D.Y., Lin, C.Y., Tsay, T.T., 1998. The comparison of three nematode-extraction methods on four selected nematodes. *Plant Protection Bulletin (Taipei)*, **40**, 153-162.
- Zem, A.M., 1983. Estudos sobre hospedeiros de *Radopholus similis* e *Helicotylenchus multicinctus*. *Sociedade Brasileira de Nematologia*, **7**, 175-187.
- Zum Felde, A., Pocasangre, L. E., Carñizares Monteros, C. A., Sikora, R. A., Rosales, F. E., Rivero, A. S., 2006a. Effect of combined inoculations of endophytic fungi on the biocontrol of *Radopholus similis*. *InfoMusa*, **15**, 12-18
- Zum Felde, A., Pocasangre, L.E., Sikora, R.A., 2006b. Detection of *in-plant* suppressiveness to *Radopholus similis* in suckers from banana plants protected with mutualistic fungal endophytes. *Nematropica*, **36**, 122.

## **Annexes**

|   |            |
|---|------------|
| <b>Annexe 1 : Méthodes de lutte (cas des bananiers) .....</b> | <b>158</b> |
| <b>Annexe 2 : Protocoles normalisés .....</b>                 | <b>161</b> |
| <b>Annexe 3 : Localisation des parcelles d'étude .....</b>    | <b>180</b> |
| <b>Annexe 4 : Publications .....</b>                          | <b>181</b> |

## **Annexe 1 : Méthodes de lutte (cas des bananiers)**

### **1- Lutte chimique**

La lutte contre ce ravageur a longtemps reposé sur l'utilisation de nématicides, en Amérique comme en Afrique (Stover, 1972 ; Sarah, 1989). Les fumigants organo-halogénés ont été largement utilisés dans les années 60 et 70, avant d'être progressivement remplacés par des formulations granulés d'organo-phosphorés puis de carbamates (Vilardebo, 1981). En Martinique, jusqu'au milieu des années 90, les bananeraies étaient traitées deux à trois fois par an avec des organo-phosphorés (fenamifos et ethoprofos, puis isazofos, cadusafos et terbufos) et des carbamates (aldicarbe, oxamyl). En 1996, les bananeraies ont ainsi reçu 950 tonnes de nématicides, soit environ 74 % des produits phytosanitaires utilisés sur l'île (Chabrier *et al.*, 2005b). L'utilisation de telles quantités de produits phytosanitaires posaient des problèmes de sécurité (Multigner *et al.*, 2005) et de pollution (Lacher *et al.*, 1997 ; Balland *et al.*, 1998) qui rendaient indispensable le développement d'autres méthodes de lutte.

### **2- Systèmes couplant destruction des populations en place et replantation avec du matériel "sain"**

Parallèlement au développement de la lutte chimique, des travaux ont été menés pour i) détruire les populations de *R. similis* en place, par mise en jachère, rotation culturale ou immersion (Ternisien, 1989 ; Ternisien et Ganry, 1990 ; Maas, 1969 ; Sarah *et al.*, 1983 ; Mateille *et al.*, 1988) ; et ii) obtenir du matériel de plantation indemne.

Pour atteindre ce second objectif, trois groupes de méthodes ont été développés :

- . pralinage : cette méthode consiste à tremper les rejets dans une bouillie nématicide (éthoprofos, fénamifos ...) rendue suffisamment épaisse et collante par adjonction de bentonite. Environ 1 g de matière active devait adhérer à la souche (Vilardebo, 1981). Cette méthode pose des problèmes sérieux de sécurité pour le personnel, non seulement pour les ouvriers chargés du traitement, mais aussi ceux qui transportent et plantent les rejets traités.

- . traitement à l'eau chaude : en plongeant des rejets dans de l'eau à 55°C pendant 20 minutes, il est possible de détruire les populations de *R. similis* qui s'y trouvent (Black, 1961 ; Colbran, 1967 ; Melin et Vilardebo, 1973b). Mais cette technique abîme sérieusement le matériel végétal. Elle est néanmoins encore utilisée, en particulier pour les plantains en Afrique. L'IITA préconise aujourd'hui un trempage de 30 secondes dans l'eau bouillante (Tenkouano *et al.*, 2006).

- . utilisation de vitro-plants : ce matériel de plantation a permis dès le début des années 90 de cultiver les bananiers après jachère pendant 1 à 2 ans sans nématicides (Mateille et Foncelle, 1988 ; Mateille *et al.*, 1992 ; Quénéhervé, 1993 ; Marie *et al.*, 1993). L'amélioration des méthodes de destruction des anciennes bananeraies (Chabrier et Quénéhervé, 1993), et des pratiques culturales ont permis d'augmenter l'efficacité de cette stratégie.

Cependant, la diversité des adventices hôtes de *R. similis* (Quénéhervé *et al.*, 2006a) a contraint à développer le principe d'une "jachère entretenue", qui consiste à détruire périodiquement la couverture végétale avec un herbicide systémique, ce qui accroît les risques d'érosion.

Quoi qu'il en soit, l'utilisation des vitro-plants couplée aux jachères a permis en quelques années de diminuer drastiquement les populations de *R. similis*. (Chabrier *et al.*, 2005b). Ces

résultats permettent d'envisager de cultiver les bananiers sans nématicides ... sous réserve que les processus de dissémination de *R. similis* soient mieux connus.

### 3- Utilisation de variétés résistantes

Les niveaux de tolérances aux nématodes sont très variables entre les bananiers (Sarah *et al.*, 1997). Ils dépendent d'une part de la dureté des parois cellulaires (Fogain et Gowen, 1996) et de leur teneur en lignine ; d'autre part de la capacité des bananiers à émettre des composés phénoliques (flavonoïdes, acide férulique, dopamine, esters caféïques ...) qui contribuent à défendre les tissus attaqués par *R. similis* (Valette *et al.*, 1998). D'autres mécanismes pourraient toutefois être impliqués (Sarah *et al.*, 1997).

Des travaux sont ainsi en cours pour évaluer les niveaux de tolérance de géniteurs potentiels et d'hybrides de bananiers, ainsi que de sélections clonales (Dochez *et al.*, 2005 ; Quénéhervé *et al.*, 2006b).

Cependant, les bananiers cultivés pour l'alimentation sont difficiles à améliorer. En effet, ces variétés cultivées sont pratiquement toutes stériles (Champion, 1968 ; Bakry *et al.*, 1997). Les hybrides obtenus par croisement de diploïdes et de tétraploïdes ne peuvent être améliorés qu'en sélectionnant les mutations qui peuvent survenir dans une population. Compte tenu des contraintes qui pèsent par ailleurs sur cette culture, et dont certaines sont prioritaires, comme par exemple la nécessité d'être tolérants aux maladies fongiques (fusariose et cercosporioses), les agriculteurs seront contraints d'utiliser des variétés peu tolérantes à court voire à moyen terme (Horry *et al.*, 1997 ; Bakry *et al.*, 1997).

### 4- Lutte biologique

Dès 1989, Umesh *et al.* avaient observé que des plants mycorhizés semblaient plus tolérants à *R. similis* que des plants témoins. La nutrition (surtout en azote et phosphore) des bananiers en serres est fortement améliorée lorsque ceux-ci sont mycorhizés avec des *Glomus spp.*, champignon mycorhizien à vésicules et arbuscules (VAM) qui améliorent ainsi la croissance des plants (Declerck *et al.*, 1994). Jaizme-Vega et Pinochet (1997) ont montré que *Glomus aggregatum* et surtout *Glomus mosseae* permettaient d'atténuer les dégâts de *Pratylenchus goodeyi* sur les racines de bananiers Cavendish, sans toutefois diminuer les populations de nématodes. In-vitro, Elsen *et al.* (2002 et 2003) ont observé des populations de *R. similis* et de *Meloidogyne spp.* significativement plus faibles dans des racines mycorhizées que dans des racines qui ne l'étaient pas. Ces résultats, tous obtenus en conditions contrôlées (essais in-vitro ou en pots sur milieu préalablement stérilisé) ont permis d'espérer que l'inoculation de vitro-plants de bananiers avec des souches sélectionnées de *Glomus spp.* pendant le sevrage sous serre permettrait d'améliorer la tolérance de la plante aux nématodes. Malheureusement, sur sols naturels, les résultats ont été décevants, les *Glomus spp.* naturellement présents dans le sol prenant le dessus sur les souches sélectionnées (Declerck *et al.*, 2002).

Des études ont également été menées avec des champignons nématophages, comme par exemple *Paecilomyces lilacinus* souche 251. Cette souche peut permettre de contrôler *R. similis* in vitro (Mendoza *et al.*, 2004). Une formulation est ainsi commercialisée sous les noms de Biocon<sup>®</sup> ou de BioAct<sup>®</sup> WG en Asie (Davide, 1992). En Martinique, cette formulation n'a pas permis un contrôle satisfaisant ni de *R. similis* ni de *Pratylenchus coffeae* ; les pertes à la récolte ont été considérables (de 69 à 74 % par rapport aux témoins traités avec les nématicides de référence).

Si *P. lilacinus* a été isolé une fois dans des racines de bananiers (Rumbos et Kiewnick, 2006), ce champignon n'est pas considéré comme étant normalement un endophyte (Holland *et al.*, 2003). Ce champignon attaque essentiellement *R. similis* quand il est libre dans le sol.

En revanche, avec des endophytes stricts, des résultats très prometteurs ont été obtenus avec *Fusarium oxysporum* ou *Trichoderma atroviride*, (Sikora et Pocasangre, 2004). Des premiers essais au champ ont donné des résultats positifs en Ouganda (Paparou *et al.*, 2006 ; Athman *et al.*, 2007) et au Costa Rica (Zum Felde, 2006b), mais il reste à vérifier ces résultats et à évaluer les risques liés à leur dissémination. L'introduction de ces micro-organismes utiles peut constituer un pas supplémentaire vers la mise en œuvre d'une protection intégrée des cultures, en complément des méthodes prophylactiques et agronomiques.

Quoi qu'il en soit, l'utilisation d'antagonistes ne permet pas encore de contrôler *R. similis* ; en attendant la mise au point et le développement de ces méthodes, d'autres techniques doivent être mises en œuvre par les producteurs.

### **5- Autres méthodes de protections des bananiers**

Le bon état physiologique des bananiers leur permet de mieux supporter et compenser les attaques de nématodes. Une fertilisation adaptée et le maintien d'une teneur élevée en matière organique contribuent à améliorer l'état général de la bananeraie et à mettre en œuvre un programme de lutte intégrée (Gowen *et al.*, 2005).

Enfin, les nématodes étant des agents de verse, le tuteurage et le haubanage contribuent à limiter les dégâts (Sarah, 1989). Cependant, en plus d'être coûteuse en main d'œuvre, cette mesure est très insuffisante en cas de forte attaque par les nématodes.

## **Annexe 2 : Protocoles normalisés**

- 1- Extraction de nématodes par Elutriation
- 2- Extraction de nématodes d'un échantillon de racines par centrifugation-flottaison
- 3- Extraction de nématodes par aspersion (Chambre à brouillard)

## Extraction de nématodes par Elutriation

| Désignation : | Rédaction                       | Vérification            | Approbation                      |
|---------------|---------------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| Nom :         | Christiane Mauriol- Bastol      | Patrick Quénéhervé      |                                  |
| Fonction :    | Technicienne supérieure<br>CQSE | Responsable laboratoire | Conseil de groupement du<br>PRAM |
| Date :        |                                 |                         |                                  |
| Signature     |                                 |                         |                                  |

### Modification à l'origine de cette version :

Version initiale

Document :  géré  non géré

## I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Il s'agit d'une méthode d'extraction des nématodes du sol. Cette méthode est parfaitement adaptée quand un grand nombre d'analyses de sol sont nécessaires (cas des enquêtes diagnostic, recherche...)

Ce mode opératoire s'adresse aux chercheurs, techniciens, stagiaires, VCAT

## II. PRINCIPE DE LA METHODE

Tamisage et séparation par gravité. Cette méthode utilise la différence de taille et de poids spécifique des nématodes et des éléments du sol.

## III. DOCUMENTS ASSOCIES

- P-TE-01 /NEMA Réalisation des analyses
- I-M-02/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild MZ8
- I-M-03/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild M5A
- I-M-04/NEMA Utilisation microscope Leitz Diaplan
- I-M-05/NEMA Utilisation microscope LEICA DMLB

Carnet à souche type manifold

*Ces documents se trouvent au laboratoire de nématologie salle 108*

## IV. ABREVIATIONS

Cf. : confer

cm : centimètre

cm<sup>3</sup> : centimètre cube

h : heure

mL : millilitre

mL/mn : millilitre par minute

mm : millimètre

PVC : Polychlorure de vinyle

VCAT : volontaire civil à l'aide technique

µm : micromètre

## V. MOYENS EMPLOYES

### §a. Le matériel

Le matériel critique est identifié par un (\*)

- 1 Bulleur

- 4 tamis à maille de 50 µm
- Cellule de comptage de 1 ou 5 mL
- Couvercle boîte de pétri (12 cm de diamètre)
- Cuvette en plastique 1 litre
- Des Erlenmeyers de 2 litres avec les embouts coniques correspondants
- Entonnoir en plastique
- Passoire à grosse maille (environ 2 mm)
- pipette
- Pissette à eau
- Plaque de comptage de 5 mL ou de 1 mL
- Quelques béchers de 250 cm<sup>3</sup>
- Quelques tamis artisanaux (PVC et toile moustiquaire)
- Quelques tubes de comptage gradués à 100 ,50 ,25 mL
- Seaux de 10 litres
- Tissu de cellulose ,2 feuillets (mouchoirs type Kleenex)
- Une batterie d'élutriateurs de Seinhorst avec les débitmètres eau correspondants (80 à 50 mL/mn)
- Une loupe binoculaire ou un microscope
- Une trompe à vide

*Ce matériel se trouve salle 109 et 108*

#### §b. Les réactifs

Néant

#### §c. Consignes de sécurité spécifiques

Il est important de faire attention lors de la manipulation des Erlenmeyers et de leur mise en place sur les élutriateurs, risque de casse et de blessures.

#### §d. Etalon et Calibrage

Le débitmètre doit afficher entre 80 et 50 mL/mn (régler à l'aide du bouton)

Le matériel optique est contrôlé chaque année par la société Leica, une étiquette est apposée sur ce matériel, attestant le contrôle.

#### §e. Processus opératoire

### **1-Enregistrement des échantillons**

Voir procédure P-TE-01 /NEMA

## 2-Technique

*(La mise en œuvre de cette technique nécessite un accompagnement)*

- Un volume de 250 cm<sup>3</sup> de terre est prélevé à partir de l'échantillon initial à l'aide d'un bécher ; il est ensuite mélangé et dispersé dans un litre d'eau au dessus du tamis à grosse maille afin de retenir graviers et grosses racines dans une petite cuvette en plastique. Le mélange en suspension est ensuite introduit dans l'erlenmeyer de 2 litres à l'aide d'un entonnoir. On complète à ras bord avec de l'eau du robinet.
- Après agitation, l'erlenmeyer et son embout conique sont placés au dessus de la colonne d'élutriation de Seinhorst, préalablement remplie d'eau, bouchée à sa base et parcourue par un courant d'eau ascendant (80 mL /mn). Les particules de sol sédimentent rapidement dans le bas de la colonne tandis que les nématodes et les débris organiques demeurent en suspension dans l'erlenmeyer et le sommet de la colonne d'élutriation.
- Au sommet de la colonne, le trop plein d'eau avec les nématodes et les débris organiques s'écoule dans un seau de 10 litres.
- Au bout de 20 mn le contenu de l'erlenmeyer est à son tour versé dans le seau de 10 litres et l'élutriation continue pour encore 10 mn à 50 mL /mn.
- Au bout de 10 mn, c'est le contenu de la colonne (au-dessus de la partie qui a sédimenté) qui est recueilli dans le seau de 10 litres.
- On laisse le contenu du seau sédimenter à son tour quelques minutes avant de verser l'ensemble de la suspension au-dessus d'une batterie de 4 tamis de 50 µm.
- Le refus de chaque tamis est récupéré dans un bécher de 250 mL avant d'être lui même délicatement renversé au dessus d'un tamis à grosse maille (PVC et toile moustiquaire) qui sert en fait de support à une double épaisseur de tissus de cellulose . Le tamis est ensuite posé au dessus d'un couvercle de boîte de Pétri que l'on complète avec de l'eau et laissé au repos afin de récupérer les nématodes vivants dans une solution propre et limpide.
- Au bout de 24 à 48 heures, on récupère l'eau contenue dans la boîte de Pétri, dans un tube gradué à 100, 50, 25 mL
- Laisser décanter 2 heures, puis aspirer à l'aide de la trompe à vide à la dilution désirée

## 3-comptage

- Faire buller le tube pour remettre en suspension les nématodes
- Prélever 5 mL ou 1 mL de cette suspension avec une pipette ; mettre dans une cellule de comptage de 5 mL ou 1 mL

Compter tous les nématodes présents dans la cellule de comptage à l'aide de la loupe binoculaire ou au microscope suivant les instructions : I-M-02/NEMA, I-M-03/NEMA, I-M-04/NEMA, I-M-05/NEMA.

- Noter les résultats sur un carnet à souche type manifold

#### §f. Expression des résultats

1. Les critères de validation :

Néant

2. les calculs :

Appliquer le facteur de dilution

3. la limite de détection :

Néant

4. l'incertitude des résultats :

Néant

5. les autocontrôles :

Néant

#### §g. Conditions de conservation et d'élimination des échantillons

Les échantillons sont conservés environ 1 semaine pour contrôle le cas échéant. Puis ils sont éliminés par le circuit normal des déchets ménagers.

#### §h. Commentaires – Remarques

#### **Quelques étapes en images**



Elutriateurs



Débitmètre



Préparation échantillon



Elutriation



Tamisage



Récupération



Mise sur tamis



Phase de repos 24 à 48 heures

## Extraction de nématodes d'un échantillon de racines Par centrifugation-flottaison

| Désignation : | Rédaction                       | Vérification            | Approbation                      |
|---------------|---------------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| Nom :         | C.Mauriol-Bastol                | P.Quénéhervé            |                                  |
| Fonction :    | Technicienne supérieure<br>CQSE | Responsable laboratoire | Conseil de groupement du<br>PRAM |
| Date :        |                                 |                         |                                  |
| Signature     |                                 |                         |                                  |

### Modification à l'origine de cette version :

Complément d'informations

Document :     géré                       non géré

## **I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION**

Description des différentes étapes de la méthode d'extraction de nématodes par centrifugation- flottaison (modifiée par Coolen et d'Herbe 1972), dans le but de dénombrer les nématodes contenus dans un échantillon de racine.

Ce mode opératoire s'adresse aux chercheurs, ingénieurs, techniciens, VCAT et stagiaires.

## **II. PRINCIPE DE LA METHODE**

Cette méthode à pour principe l'utilisation de la densité des nématodes par rapport à l'eau et à une solution de sulfate de magnésium.

## **III. DOCUMENTS ASSOCIES**

P-TE-01/NEMA Réalisation des analyses

P-TE-02/NEMA Habilitation du personnel

### Enregistrements :

- E-TE-02/NEMA Solution de sulfate de magnésium
- E-TE-03/NEMA Fiche de comptage
- E-TE-04/NEMA Bon de commande
- E-GD-05 N°EXT 2007-01/NEMA Publication Coolen et d'Herbe 1972

### Instructions :

- I-M-01/NEMA Utilisation centrifugeuse JOUAN C412
- I-M-02/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild MZ8
- I-M-03/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild M5A
- I-M-04/NEMA Utilisation microscope Leitz Diaplan
- I-M-05/NEMA Utilisation microscope LEICA DMLB

## IV. ABREVIATIONS

- $(\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O})$ : *Sulfate de magnésium, 7 molécules d'eau*
- $\mu$  : *micron*
- $\mu\text{m}$  : *micromètre*
- cf. : *confer*
- cm : *centimètre*
- g : *gramme*
- g/l : *gramme par litre*
- mL : *millilitre*
- mn : *minute*
- réf : *référence*
- CQSE : *correspondante qualité sécurité environnement*
- VCAT : *volontaire civil à l'aide technique*

## V. MOYENS EMPLOYES

### a. Le matériel

Le matériel critique est identifié par « \* »

- Centrifugeuse avec godets de 250 mL
- Mixer
- Vibro mélangeur
- \*Batterie de tamis : 250  $\mu\text{m}$ , 80  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , 32  $\mu\text{m}$  et un tamis de 5  $\mu\text{m}$
- Balance
- Planche à découper
- Couteau
- Passoire
- Becher de 250mL, 100mL
- Tubes gradués à 25, 50,100 mL
- Microscopes
- Loupe binoculaire
- Cellule de comptage
- \*Densimètre

Tout ce matériel se trouve salle 108 et 109

b. Les réactifs

Le réactif critique est identifié par un « \* »

- Kaolin réf : 24926364 Labover (*argile concassé qui sert à contenir les débris végétaux et les nématodes pendant les centrifugations*)
- Solution de sulfate de magnésium ( $MgSO_4, 7H_2O$ ) réf 25165361SP Labover, soit 450 g (plus ou moins 1 g) pour un litre d'eau du robinet (à défaut, on peut utiliser du sucre, soit 500 g/l plus ou moins 1 g), afin d'obtenir une densité comprise entre 1.15 et 1.20.

Ces réactifs sont stockés dans la salle de réserve produits chimiques.

Néant c. Consignes de sécurité spécifique

d. Etalon et Calibrage

un contrôle mensuel de la solution de sulfate de magnésium est effectué à l'aide d'un densimètre (densité comprise entre 1.15 et 1.20), la densité obtenue est reportée sur la fiche E-TE-02/NEMA.

Si la densité de la solution est inférieure à 1.15 on la réajuste en ajoutant un peu de sulfate de magnésium jusqu'à obtenir la densité voulue. Noter la nouvelle valeur sur la fiche.

Le matériel optique est contrôlé chaque année par la société LEICA

Les balances sont contrôlées chaque année par la société BALCO

Une étiquette est apposée sur ces appareils pour attester du contrôle, les fiches de maintenance sont gérées par le responsable maintenance.

e. Processus Opérateur

### **Enregistrement du prélèvement**

Les échantillons sont enregistrés suivant la procédure P-TE-01/NEMA.

### **Préparation de l'échantillon**

- Laver les racines avec un jet puissant d'eau pour les débarrasser de la terre.
- Sur une planche, découper les racines en petits morceaux de 1 cm environ.

- Mettre les morceaux de racines dans une passoire, les laver à l'eau courante pour éliminer toute la terre.
- Bien homogénéiser le lot de racines.
- Prélever dans un petit Becher en plastique un aliquote d'environ 50 g de racines. Dans le cas où les échantillons ne peuvent être traités immédiatement, identifier l'échantillon. Conserver au frais.
- Remettre dans le sachet les racines non utilisées, garder environ deux semaines en cas de contrôle.
- Extraction par centrifugation – flottaison
- Mettre dans le bol du mixer les racines pesées, ajouter 200 mL d'eau du robinet.
- Mixer 2 fois 30 secondes avec un intervalle de 5 secondes entre les 2 broyages.
- Verser le broyat sur une colonne de tamis : de bas en haut 32  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , 80  $\mu\text{m}$ , 250  $\mu\text{m}$ , tamis préalablement mouillés. Bien rincer le bol du mixer au dessus du tamis 250  $\mu\text{m}$ .
- Tamiser pendant 2 mn avec un jet puissant sans éclabousser, le contenu du tamis 250  $\mu\text{m}$ .
- Jeter le contenu du tamis 250  $\mu\text{m}$ , puis laver, au dessus du tamis 50  $\mu\text{m}$  (jet très faible), le contenu du tamis 80  $\mu\text{m}$ , par-dessus et par-dessous, en l'inclinant un peu afin de faire descendre doucement le contenu vers le bas.
- Récupérer le contenu du tamis 80  $\mu\text{m}$  dans un godet de centrifugation 250 mL, dans lequel on aura mis au préalable 3 cuillères à café de KAOLIN.
- Faire de même pour les tamis 50  $\mu\text{m}$  et 32  $\mu\text{m}$ .
- Mettre en suspension à l'aide du Vibro mélangeur.
- Equilibrer précisément avec de l'eau distillée les godets 2 à 2 sur la balance.
- Centrifuger à 3000 tours / mn pendant 5 mn.
- Jeter le surnageant (eau).
- Ajouter 200 mL de sulfate de magnésium (*opérer rapidement car les nématodes supportent mal la pression osmotique du sulfate de magnésium*).
- Remettre le culot en suspension avec le Vibro mélangeur.
- Equilibrer précisément les godets 2 à 2 sur la balance avec du sulfate de magnésium.
- Centrifuger à 3000 tours / mn pendant 5 mn cf. I-M-01/NEMA

- Verser le surnageant sur un tamis de 5 µm préalablement mouillé.
- Laisser le tamis en place quelques minutes pour récupérer le sulfate de magnésium.
- Laver doucement (jet d'eau très faible) par-dessus et par-dessous, le tamis légèrement incliné.
- Récupérer le contenu du tamis (entonnoir) dans un tube gradué de 50 mL, à l'aide d'une pissette d'eau.

## Comptage

- Mettre un bulleur dans le tube pour remettre en suspension les nématodes.
- Prélever environ 2 mL de cette suspension avec une pipette, monter en cellule de 1 mL.
- Compter au microscope ou à la loupe (cf. I-M-02/NEMA, I-M-03/NEMA, I-M-04/NEMA, I-M-05/NEMA) tous les nématodes présents dans le quadrillage (10x8=1mL) et reporter le résultat sur la fiche E-TE-03/NEMA.

### f. Expression des résultats

#### 1. Les critères de validation :

Habilitation de l'opérateur suivant la procédure P-TE-02/NEMA

#### 2. Les calculs :

Appliquer la formule suivante pour avoir le nombre de nématodes contenus dans 100 g de racines.

$$\frac{\text{Nbre.de.nématodes} \times \text{volume}}{50\text{g.de.racines}} \times 100$$

#### 3. La limite de détection :

Le matériel optique est choisi d'après des critères stricts pour l'observation des nématodes.

#### 4. L'incertitude des résultats :

Néant.

#### 5. Les autocontrôles :

Néant

### g. Conditions de conservation et d'élimination des échantillons

Les échantillons (après 2 semaines environ) sont éliminés par le circuit normal des déchets ménagers.

*h. Commentaires - Remarques*

- Refuser tout échantillon qui ne serait pas identifié correctement et qui ne serait pas accompagné d'un bon de commande.

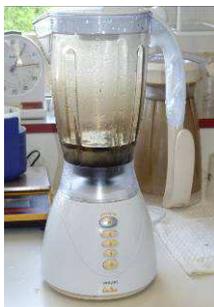


Réservoir MgSO<sub>4</sub>

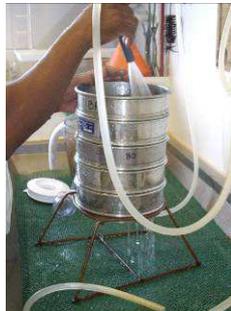


Colonne de tamis

Quelques étapes en image



Broyage



Tamisage



Agitation



Tamis 5 $\mu$  (récupération)



Récupération en tube

## Extraction de nématodes par aspersion (Chambre à brouillard)

| <b>Désignation :</b> | <b>Rédaction</b>                | <b>Vérification</b>     | <b>Approbation</b>               |
|----------------------|---------------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| Nom :                | Christiane Mauriol- Bastol      | Patrick Quénéhervé      |                                  |
| Fonction :           | Technicienne supérieure<br>CQSE | Responsable laboratoire | Conseil de groupement du<br>PRAM |
| Date :               |                                 |                         |                                  |
| Signature            |                                 |                         |                                  |

**Modification à l'origine de cette version :**

Version initiale

**Document :**     **géré**                       **non géré**

## **I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION**

Cette méthode permet d'extraire les nématodes des tissus végétaux.

Avec cette méthode, les nématodes sont parfaitement préservés et vivants donc plus facile à identifier et peuvent être utilisés pour d'autres usages : fixation, ré infestation. Cette technique demande du temps, les résultats finaux ne sont pas obtenus avant 15 jours.

Ce mode opératoire est destiné aux chercheurs, techniciens, stagiaires, VCAT

## **II. PRINCIPE DE LA METHODE**

Par l'action d'un brouillard d'eau sur un échantillon à analyser, les nématodes présents vont sortir d'eux-mêmes de cet échantillon, et seront ainsi récupérés.

## **III. DOCUMENTS ASSOCIES**

- P-TE-01 / NEMA Réalisation des analyses
- I-M-02/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild MZ8
- I-M-03/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild M5A
- I-M-04/NEMA Utilisation microscope Leitz Diaplan
- I-M-05/NEMA Utilisation microscope LEICA DMLB

Carnet à souche type manifold

*Ces documents se trouvent au laboratoire de nématologie salle 108*

## **IV. ABREVIATIONS**

°C : degré Celsius

µm : micromètre

cf. : confer

cm : centimètre

cm<sup>3</sup> : centimètre cube

g : gramme

mL : millilitre

mL/mn : millilitre par minute

mm : millimètre

PVC : polychlorure de vinyle

R1 : première date de récupération (7 jours)

R2 : deuxième date de récupération (14 jours)

VCAT : volontaire civil à l'aide technique

## V. MOYENS EMPLOYES

### §a. Le matériel

Le matériel critique est identifié par (\*)

- balance
- Boîtes de pétri (12 cm de diamètre)
- Bulleur
- Cellule de comptage de 5 mL
- Chambre à brouillard
- Couteaux, planche à découper
- Etuve
- Filtres de cellulose (Kleenex)
- Microscope ou loupe binoculaire
- Passoire à grosse maille
- Pipette
- Pissette à eau
- Quelques béchers de 250 cm<sup>3</sup>
- Quelques bouts de tuyaux plastiques 10 cm de longueur environ
- Quelques entonnoirs en plastique
- Quelques flacons en plastiques de 500 mL
- Quelques tamis artisanaux à grosse maille (PVC et toile moustiquaire, à fabriquer selon modèle)
- Quelques tubes de comptage gradués (25, 50,100 mL)
- Trompe à vide

*Ce matériel se trouve en salle 108 ,109 et salle de stockage au sous sol*

### §b. Les réactifs

Néant

### §c. Consignes de sécurité spécifiques

Néant

### §d. Etalon et Calibrage

Néant

### §e. Processus opératoire

#### **1-Enregistrement des échantillons**

Voir procédure P-TE-01 /NEMA

#### **2-Technique**

*(La mise en œuvre de cette technique nécessite un accompagnement)*

- Placer les racines dans la passoire et les laver à l'eau (jet puissant) pour les débarrasser de la terre adhérente. Découper les racines en petits morceaux d'environ 1 cm de longueur sur la planche à découper. Laver les morceaux de racines dans la passoire à l'eau courante en prenant la précaution de ne pas perdre les petites racines et bien homogénéiser l'ensemble. Sur un tamis à toile de moustiquaire, peser un poids convenu de racines (de 20 à 40g en fonction de la taille des racines)
- Placer ce tamis sur un entonnoir équipé à son extrémité d'un tuyau d'une dizaine de cm. Placer l'ensemble du dispositif sur le flacon de 500 mL équipé d'un trop plein de surface sur le support adapté dans la chambre à brouillard (1 minute de brouillard, 2 minutes de ressuyage).
- Au bout de 7 jours, on récupère le flacon contenant la suspension R1 avec son numéro d'échantillon que l'on remplace par un second flacon (un premier comptage sera effectué sur cette suspension R1).
- Après 2 heures de sédimentation, on pompe délicatement le trop-plein des flacons à l'aide d'une trompe à vide et la suspension de nématodes (inférieure en volume à 100 mL) est transférée directement dans un tube de comptage.
- Au bout de 14 jours, on récupère le flacon contenant la suspension R2 avec son numéro d'échantillon et l'on procède comme décrit ci-dessus.
- En fonction de la limpidité des suspensions de nématodes en R1 et R2, une filtration sur filtre de cellulose sera ou non envisagée. Pour ce faire, le contenu du tube sera délicatement renversé au dessus d'un tamis à grosse maille (PVC et toile moustiquaire) qui sert en fait de support à une double épaisseur de tissus de cellulose. Le tamis est ensuite posé au dessus d'un couvercle de boîte de Pétri et laissé au repos afin de récupérer les nématodes vivants dans une solution propre et limpide.
- Au bout de 24 heures, on récupère la solution dans un tube gradué à (100, 50, 25 mL) avant de procéder au comptage sur un aliquote de la solution à la dilution désirée.

### **3- Comptage**

- Mettre un bulleur dans le tube pour remettre en suspension les nématodes
- Prélever 5 mL de cette suspension avec une pipette ; Mettre dans une cellule de comptage de 5 mL
- Compter tous les nématodes présents dans la cellule soit au microscope ou à la loupe : cf. I-M-02/NEMA, I-M-03/NEMA, I-M-04/NEMA, I-M-05/NEMA .

### §f. Expression des résultats

1. Les critères de validation :  
Néant

2. les calculs :

Appliquer le facteur de dilution 20,10 ou 5

Les résultats des comptages après 7 et 14 jours sont rassemblés Les racines sont alors séchées à l'air ambiant, puis 24 heures dans une étuve à 50 °C avant d'être délicatement pesées. On note le poids des racines sèches, on peut ainsi après calcul rapporter le nombre de nématode par gramme de racines fraîches ou sèches.

3. la limite de détection :

Néant

4. l'incertitude des résultats :

Néant

5. les autocontrôles :

Néant

### §g. Conditions de conservation et d'élimination des échantillons

Les échantillons sont conservés environ 1 semaine pour contrôle le cas échéant. Puis ils sont éliminés par le circuit normal des déchets ménagers.

### §h. Commentaires - Remarques

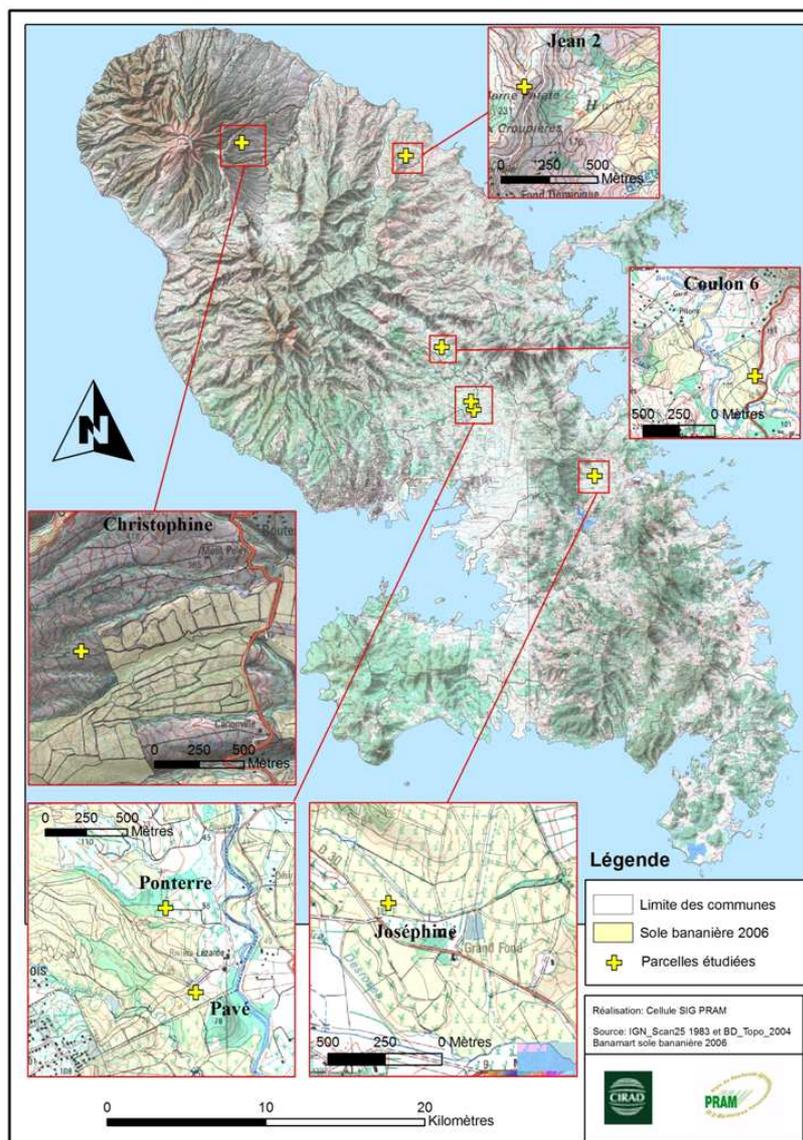


**Chambre à brouillard**



**Echantillon**

### Annexe 3 : Localisation des parcelles d'étude



Emplacement des différentes parcelles d'étude

| Commune         | Plantation (ou Lieu-dit) | Parcelle      | Responsable   | longitude     | latitude      | altitude (m) |
|-----------------|--------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| Ajoupa-Bouillon | Savane Pascal            | Christophines | M. Limier     | 61° 07' 56" W | 14° 48' 44" N | 460 – 470    |
| Marigot         | Bellevue                 | Jean 2        | M. Surcouf    | 61° 02' 11" W | 14° 48' 14" N | 210 – 230    |
| Gros Morne      | St Etienne               | Coulon 6      | Mme Elisabeth | 61° 00' 59" W | 14° 41' 38" N | 120 – 125    |
| St Joseph       | Rivière Lézarde          | Abricot 1     | CIRAD         | 60° 59' 57" W | 14° 39' 25" N | 50 - 55      |
| St Joseph       | Rivière Lézarde          | Pavé          | CIRAD         | 60° 59' 53" W | 14° 39' 28" N | 60 - 65      |
| St Joseph       | Rivière Lézarde          | Pomme         | CIRAD         | 60° 59' 55" W | 14° 39' 46" N | 65 – 70      |
| St Joseph       | Rivière Lézarde          | Ponterre      | CIRAD         | 60° 59' 59" W | 14° 39' 45" N | 65 – 70      |
| François        | Ti-Fonds                 | Joséphine     | M. Viviès     | 60° 55' 40" W | 14° 37' 09" N | 18           |

Coordonnées géographiques et altitude des parcelles citées

## Annexe 4 : Publications

### 1. Publications issues de ces travaux

- Chabrier, C., Carles, C., Desrosiers, C., Quénéhervé, P., Cabidoche, Y.M., 2009. Nematode dispersion by run-off water: case study of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne on nitisol under humid tropical conditions. *Applied Soil Ecology*, **41**, 148-156.
- Chabrier, C., Carles, C., Quénéhervé, P., Cabidoche, Y.M., 2008. Nematode dissemination by water leached in soil: Case study of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne on nitisol under simulated rainfall. *Applied Soil Ecology*, **40**, 299-308.
- Chabrier, C., Quénéhervé, P., 2008. Preventing nematodes from spreading: a case study with *Radopholus similis* (Cobb) Thorne in a banana field. *Crop Protection*, **27**, 1237-1243.
- Chabrier, C., Tixier, P., Duyck, P.F., Carles, C., Quénéhervé, P., 2010. Factors influencing the survivorship of the burrowing nematode, *Radopholus similis* (Cobb.) Thorne in two types of soil from banana plantations in Martinique. *Applied soil ecology*, **44**, 116-123.
- Chabrier, C., Tixier, P., Duyck, P.F., Cabidoche, Y.M., Quénéhervé, P., 2010. Survival of the burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne without food: Why do males survive so long? *Applied soil ecology*, **45**, 85-91.

### 2. Communications et posters lors de congrès :

- Chabrier, C., Desrosiers, C., Carles, C., Quénéhervé, P., Cabidoche, Y-M., 2006. *Radopholus similis* water spreading in banana fields grown on halloysitic nitisol in Martinique. Communication au 38<sup>e</sup> congrès de l'ONTA (Organization of Nematologists of Tropical America) en juillet 2006 ; résumé publié dans *Nematropica*, **36**, 117-118.
- Chabrier, C., Carles, C., Mauriol-Bastol, C., Quénéhervé, P., 2007. New insights on soil survival of *Radopholus similis* (Cobb) in the absence of host. Poster présenté au 39<sup>e</sup> congrès de l'ONTA en octobre 2007 ; résumé publié dans *Nematropica*, **37**, 148-149.
- Chabrier, C., Carles, C., Mauriol-Bastol, C., Quénéhervé, P., 2008. Survival of *Radopholus similis* (Cobb) in volcanic soils without host-plant. Poster présenté au 5<sup>e</sup> congrès de l'IFNS (International Federation of Nematology Societies) en juillet 2008.
- Chabrier, C., Mauriol-Bastol, C., Quénéhervé, P., 2008. Water dissemination of *Radopholus similis* (Cobb) on nitisol in Martinique. Poster présenté au 5<sup>e</sup> congrès de l'IFNS (International Federation of Nematology Societies) en juillet 2008.

# **Survie et dissémination du nématode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne dans les sols bruns-rouilles à halloysites (nitisols) : effets de l'état hydrique et des flux hydriques**

## **Résumé**

Le nématode phytoparasite *Radopholus similis* est un ravageur majeur des bananiers et plantains dans le monde. Introduit à partir du XVI<sup>e</sup> siècle en Afrique et Amérique, ce nématode occasionne des pertes importantes dans les bananeraies traditionnelles. La mise au point de nouvelles méthodes culturales a permis de réduire son impact ; mais des connaissances supplémentaires sont requises pour comprendre sa persistance et prévenir sa dispersion.

Considérée jusqu'alors comme marginale, la phase sol de *R. similis* avait été peu étudiée car les populations de *R. similis* sont faiblement concentrées dans le sol (environ 1/1 000<sup>e</sup> de celle des racines). Pourtant, le volume du sol exploré par les racines de bananier représente 100 à 300 fois le volume de ces racines ; la phase sol concerne 30 à 50 % des effectifs de *R. similis*.

Après avoir considéré les caractéristiques des sols volcaniques antillais, et notamment les classes de capillaires susceptibles d'héberger *R. similis* (capillaires de 20 à 300 µm de diamètre), nous avons évalué les différentes méthodes d'extraction des nématodes : filtration Baermann, élutriation, centrifugation-flottaison, aspersion, macération dans l'eau oxygénée. Les rendements à l'extraction de chaque méthode, leurs avantages et inconvénients ont été discutés. Ce travail a été complété par l'évaluation d'une méthode de coloration vitale qui permet de discriminer les nématodes morts et vivants.

L'aptitude à la survie de *R. similis* dans le sol a ensuite été évaluée. Pour cela, nous avons déposé des suspensions de nématodes dans des piluliers remplis de sol de natures et de potentiels matriciels variables, mais toujours sans ressource alimentaire. Ces piluliers ont ensuite été conservés jusqu'à 180 jours dans des conditions de température optimale pour *R. similis*. Les durées de survie mesurées ont ainsi été légèrement supérieures à celles que l'on trouve habituellement dans la bibliographie : si on exclut les sols saturés en eau, il restait au bout de six mois de 1,7 à 9,3 % de la population apportée dans le nitisol et de 9,5 à 11,9 % dans l'andosol. Pour les adultes, les courbes de décroissances de population de *R. similis* pouvaient généralement être ajustées à l'aide des modèles de décroissance exponentielle ou de Teissier. Ces courbes dépendaient de la nature du sol, du potentiel hydrique et du sexe. Nous avons ainsi observé que les mâles avaient une capacité de résistance surprenante ; dans le nitisol, les taux de survie ont été en moyenne proches du double de ceux des femelles. Cette capacité de survie des mâles serait liée à une moindre dépense énergétique journalière que chez les femelles : les mâles, dont le système digestif est atrophié, ne chercheraient pas activement leur nourriture et ne perdraient pas de réserves lors du développement des œufs. Par ailleurs, dans les sols stérilisés, la survie était optimale quand les sols étaient proches de la capacité au champ ; dans les sols non perturbés, elle était optimale dans les sols les plus secs. Ces résultats contradictoires pourraient s'expliquer par les interactions avec les autres organismes du sol qui, en diminuant la capacité de survie, pourraient avoir un rôle antagoniste.

Une étude complémentaire a été réalisée dans des tubes remplis d'eau ou de solutions de sol, extraites d'un nitisol par centrifugation. Au bout de 35 jours, il restait 7 à 8 % des populations initiales de *R. similis*, et ce, pour les deux sexes. Cette espèce peut donc subsister assez longtemps dans des eaux qui circulent pour être disséminée par ruissellement.

Nous avons donc étudié la dissémination de *R. similis* par les flux d'eau ; en surface à l'aide de simulateur de pluie, en profondeur à l'aide de cylindres de sol sur lesquels nous avons simulé des pluies allant jusqu'à 3,7 fois le volume poral du cylindre (pluie de 540 mm). Ces études ont été complétées par un dispositif au champ qui a permis de cartographier les recontaminations dans des parcelles isolées ou non hydrologiquement par des fossés. La dissémination passive a été très faible dans le sol et n'a concerné qu'une fraction marginale des populations. Il semble que *R. similis* ait adapté ses comportements pour résister à l'entraînement par les eaux (plasticité réflexe ?). En surface, les simulations de pluie ont montré que la dissémination par les eaux nécessitait des conditions bien particulières : sols proches de la saturation en eau, racines ou bulbes arrachés à la surface du sol. Néanmoins, la dissémination passive existe, essentiellement en surface ; elle s'apparente à un phénomène restreint aux événements "catastrophe" à l'échelle du nématode : destruction de son milieu de vie par les intempéries accompagnées d'épisodes de ruissellement important. Elle est suffisante pour entraîner la recontamination d'une parcelle en moins de deux ans.

L'ensemble de ces travaux a montré que le comportement de *R. similis* est un facteur essentiel pour comprendre sa survie et sa dispersion. Sa biologie lui permet de bien s'adapter aux cultures pérennes à multiplication végétative, comme le bananier. Lorsque ces dernières sont cultivées en monoculture, les dégâts peuvent être considérables.

**Mots clefs :** nématode, *Radopholus similis*, survie, dissémination, nitisol, andosol, ruissellement, percolation, Antilles

# **Survival and dissemination of the nematode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne in halloysitic nitisols: effect of the water potential and water flows**

## **Summary:**

The burrowing nematode *Radopholus similis* is a major pest of bananas and plantains all over the world. Introduced from the XVI<sup>th</sup> century in Africa and America, this nematode causes important losses in the traditional banana plantations. Recent development of new cropping systems reduced its impact; but additional knowledge is required to understand its persistence in soil and to prevent its dispersal.

Usually considered as marginal, the soil phase of *Radopholus similis* has not been extensively studied because the concentrations of *R. similis* are not very important in the soil (almost 1/1,000 of the concentration in roots). While taking into account both soil volume and nematode numbers, the soil phase contains 30 to 50 % of *R. similis* individuals.

After considering the characteristics of the West Indian volcanic soils, especially classes of capillaries which are likely to contain *R. similis* (capillaries from 20 to 300  $\mu\text{m}$  in diameter), we evaluated the various methods of extraction of nematodes: Baermann filtration, elutriation, centrifugation-flotation, aspersion, maceration in hydrogen peroxide. The extraction efficiency of each method, their advantages and disadvantages were discussed. This work was completed by the evaluation of a method of vital coloration to differentiate the dead nematodes from the living ones.

Then, the capacity of survival of *R. similis* in soils was evaluated. We placed a *R. similis* suspension in 30 mL containers filled up with soils of different types at different water potential, but always without food source. These containers were stored for up to 180 days in conditions of optimal temperature for *R. similis*. The observed survival durations were slightly higher than those usually found in the bibliography: water saturated soils set apart, we recovered after six months from 1.7 to 9.3 % of the initial population in the nitisol and from 9.5 to 11.9 % in the andosol. Considering the adults, the decreasing curves of *R. similis* populations could generally be adjusted either with an exponential model or with a Teissier's model. These curves depended on the soil nature, the water potential and the nematode sex. We thus observed that males had a remarkable survival capacity; in the nitisol, their average survival rates were close to twice those of females. This survival capacity is likely to be linked with a lesser daily energy expense in males than in females: it would seem that males, whose digestive system is atrophied, did not forage and did not use reserves for the development of eggs. Apart from this, in the sterilized soil, survival was optimal when soils were close to the field capacity; in the natural soils, survival was optimal in the driest conditions. These contradictory results may be explained by the interactions with other soil organisms which, by decreasing the capacity of survival, may have an antagonistic effect.

A complementary study was carried out in tubes filled with water or with soil solutions, extracted from a nitisol by centrifugation. After 35 days, 7 to 8 % of the initial populations of *R. similis* of each sex remained alive. This species can thereby remain long enough in running waters to be dissipated by runoff.

We thus studied the dispersion of *R. similis* by water flows; on soil surface with rainfall simulators and along soil depth with soil cylinders on which we sprinkled simulated rainfalls

which totalized up to 3.7 times the pore volume of the cylinder (total of 540 mm rainfall). These studies were completed by a field trial which led to successive maps of nematode recontaminations in subplots isolated or not from upstream water by ditches. The passive dissemination seems very weak inside the soil and affects only a marginal fraction of the populations. It seems that *R. similis* resorts to a behaviour of fleeing from leaching (plasticity reflex?) to resist water flows. On soil surface, rainfall simulation showed that dissemination by surface waters required very particular conditions: soils close to water saturation, unearthed roots or toppled-over plants on soil surface. Nevertheless, passive water dissemination occurs mostly on soil surface, but this phenomenon is restricted to “disaster” events at the scale of the nematode: destruction of its environment by tropical showers with heavy runoff. Actually, *R. similis* leaching by runoff water is sufficient to contaminate a banana plot in less than two years.

All these studies showed that the behaviour of *R. similis* is an essential knowledge to understand its survival and dispersal. Its biology allows good adaptation to the long-lasting cultures with vegetative reproduction, such as banana plants. When these are cultivated in monoculture, *R. similis* damages can be considerable.

**Keywords:** nematode, *Radopholus similis*, survival, dissemination, nitisol, andosol, runoff, percolation, French West Indies