UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques

Biotechnologie et Valorisation des Phyto-Ressources

Titre

Méthodes d'extraction des nématodes à galles *Meloidogyne* et leurs effet sur le concombre

Présenté par : Wassim Rhalloussi

Encadré par :

- **Pr Jamila Al figuigui**
- **Pr Said Amiri**

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

- Mr : Pr Saad Rachiq FST Fès
- Mr : Pr Said Amiri ENA Meknès
- Mr :Pr Jamila Al figuigui FST Fès

Année universitaire

2016/2017

Dédicaces

A mes très chers parents, mon frère, et tous les membres de ma famille pour leurs sacrifices ;

A tous mes chers (es) amis (es) avec lesquelles je partage les moments forts dans ma vie ;

A tous ceux qui m'ont aidé de prés ou de loin pour la réalisation de mon projet;

Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes chères à mon cœur.

Qu'elles trouvent ici l'expression de toutes mes gratitudes et mes amours.

REMERCIMENTS

Avant tout développement de ce stage de fin d'études, il apparaît opportun de commencer ce rapport de stage par des remerciements, à ceux qui m'ont beaucoup appris au cours de ce stage, et à ceux qui ont eu la gentillesse de faire de ce stage un moment très profitable.

Mes remerciments vont d'abord pour **M. Amiri**, pour tous ses conseils et orientations durant toute la période de stage.

Jetiens également à remercier notre chère professeur **Mme AL FIGUIGI Jamila** pour sa collaboration, son aide, ses efforts et conseils.

Mes remerciements vont aussi à l'ensemble du personnel de service du laboratoire de Phytopathologie à l'ENA pour les conseils qu'ils ont pu me prodiguer au cours de cette période de stage.

Que tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce projet, surtout **Ikram**, y trouvent l'expression de ma profonde gratitude.

Sans oublier aussi d'exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à tous les membres du Jury : Pr. Mme Al FiguiguiJamila, Pr. M.Rachiq de la Faculté des Sciences et tTechniques de Fès et M. AmiriSaid de l'Ecole nationale d'Agriculture de Meknès.

Liste des Figures

N°	Titre	Page
1	Structure typique d'un nématode	**2**
2	Assiettes de Baermann	**11**
3	Plant de concombre après une semaine du semis.	**12**
4	Plants de concombre après 4semaines du repiquage.	**13**
5	Vue d'un nématode au microscope(X60)	**15**
6	Indice de galle moyen pour chaque tunnel	**16**
7	Evolution du diamètre de la tige	**17**
8	Evolution hauteur de la plante	**17**
9	Taux d'humidité	**18**

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
1	Systématique des *Meloidogyne*	**4**
2	Méthodes d'extraction en fonction des différents types de nématodes et d'échantillons.	**7**
3	Indice de galles d'après Speijer et De Waele	**14**
4	Résultats de l'éxtraction	**15**

Sommaire

Introduction générale.....1

Chapitre 1: Revue bibliographique…….…….....….....2

I -. Biologie de base des nématodes phytoparasites……2

1 - Apparence et structure …….2

2- Types de nématodes……..3

3- Cycle biologique……..3

4- Systématique des nématodes à galles ……..4

II- Dégâts occasionnés des nématodes sur les cultures maraichères …….…....4

1. Nématodes en maraîchages……..4

2. Symptômes d'attaques de nématodes…….5
2-1. Symptômes sur les parties aériennes…….....5
2-2 Symptômes sur les parties souterraines……..5

III- Méthodes d'extraction……7

1- Choix de la méthode d'extraction……..7

2- Méthodes par gravité……..7
2-1. Sédimentation…….……7
2-2 Centrifugation ……8

3- Méthodes utilisant la mobilité des nématodes……...…....8
3-1. Méthode de Baermann……...8
3-2. Brumisation incubation…….…….9

Chapitre II : Matériel et méthodes……...10

I- Extraction des nématodes……..10
1. Origine des populations……...……10
2. Méthode de prélèvement des échantillons ……10
3. Extraction des nématodes à partir du sol ……10
3-1. Méthode des assiettes……..10
3-2. Méthode de centrifugation ……..11

II- Estimation de la charge en Meloidogyne des sols prélevés……12
1. Biotest……..12
2. Paramètres de croissances……..……..13
3. Indice de galle racinaire……..……13

Chapitre III : Résultats……15

I. Extraction des nématodes à partir du sol……..15
II. Estimation de la charge en Meloidogyne des sols prélevés……..……16
1. Indice de galles……16
2. Paramètres de croissance……17
3. Teneur en eau ……18

Conclusion générale et perspectives……...……19

Introduction générale

Les nématodes ou « vers ronds » non segmentés sont des animaux vermiformes, les plus souvent microscopiques, également ubiquistes généralement sous forme parasites mais aussi comme organismes libres. Ils sont généralement très petits, mais certains peuvent atteindre plusieurs mètres de longueur. Dans notre cas nous nous intéressons spécifiquement aux nématodes parasites des plantes ou phytoparasites, qui eux sont très petits, voire microscopiques, capables d'occasionner des dégâts significatifs aux plantes cultivées et sont extrêmement répandus (Coyne et al., 2010). Ils attaquent la quasi-totalité des cultures maraichères (Sasser & Carter, 1985) et sont responsables des pertes de rendement de la production alimentaire mondiale à hauteur de 14%, soit l'équivalent d'une perte économique de plus de 100 milliards de dollars par an (Bélair, 2005).

Les nématodes à galles appartiennent au genre Meloidogyne. Ce genre comprend plus de 90 espèces qui sont responsables d'environ 5% de pertes globales de rendement de la production alimentaire, les quatre espèces principales d'entre elles sont *Meloidogyne javanica, Meloidogyne arenaria, Meloidogyne incognita et Meloidogyne hapla* et sont les parasites les plus répandus dans le monde (Eisenback&Triantaphyllou, 1991). Les juvéniles du genre Meloidogyne infectent les racines et provoquent la formation de galles. Ils perturbent également le système vasculaire de la plante dans lequel circulent l'eau, les éléments nutritifs et les photosynthétases, entrainant des infections secondaires par agents phytopathogènes.

Comme ils sont difficiles ou impossibles à observer au champ, et leurs symptômes sont généralement non spécifiques, les dommages infligés par les nématodes aux cultures sont le plus souvent attribués à d'autres causes plus visibles. Ce n'est qu'une fois que les nématodes sont reconnus comme causes des dommages aux cultures, que des méthodes de contrôle peuvent être envisagées. Ces méthodes dépendent des espèces incriminées, de végétale, des systèmes de culture et des pratiques locales (Coyne et al., 2010).

Les travaux menés dans la présente étude se focalisent sur l'extraction, la caractérisation et l'identification de nématodes à galles à partir d'échantillons du sol, en se basant sur leurs caractères morpho-biométriques ainsi que sur l'évolution de la population des nématodes et son effet sur la culture du concombre.

Revue bibliographique

I . Biologie de base des nématodes phytoparasites

1 Apparence et structure

Les nématodes phytoparasites sont des parasites obligatoires biotrophes, qui se nourrissent uniquement du cytoplasme des cellules vivantes, ils sont le plus souvent des vers ronds non segmentés en forme d'aiguille, leur taille varie de 0,25 à plus de 1 mm, certains atteignent quatre mm. Ils existent avec une vaste variabilité de formes et de tailles, mais généralement sont présentés avec une forme effilée (Figure 1) de la tête à la queue. Chez quelques espèces, les femelles perdent leur forme effilée au cours de leur croissance, jusqu'à devenir des femelles adultes élargies. Comme les autres animaux, les nématodes possèdent un système circulatoire, respiratoire et digestif. Les nématodes phytoparasites diffèrent des autres par la présence d'une structure spécialisée qui est le stylet. Ce dernier est utilisé pour injecter des enzymes dans les cellules et les tissus végétaux des plantes, et en extraire le contenu, d'une façon similaire à celle des pucerons. (Coyne et al., 2010).

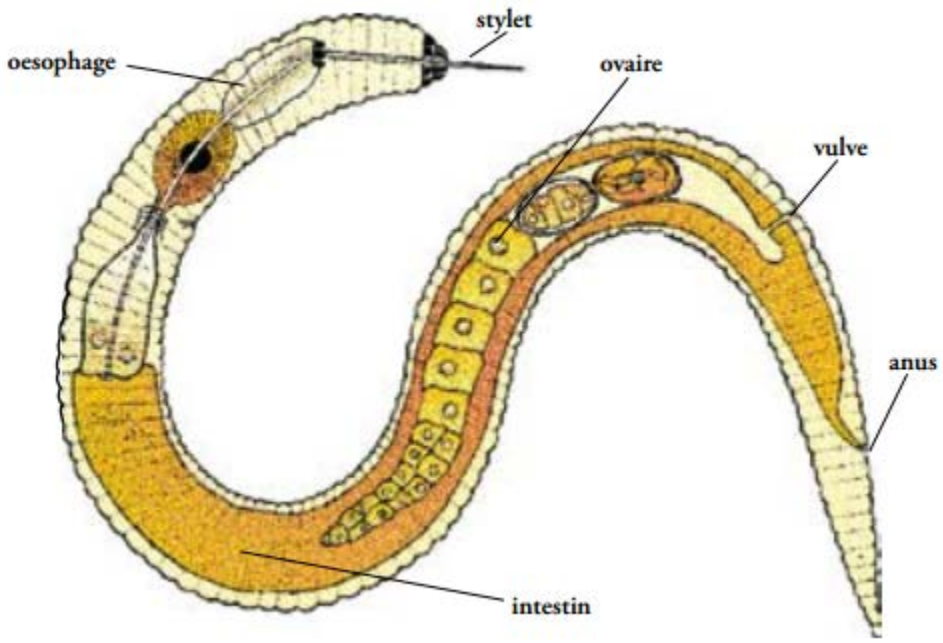

Fig 1:Structure typique d'un nématode (d'après R. Esser dans Coyne et al., 2010)

2 Types de nématodes

Le comportement alimentaire des nématodes permet de les classer en trois catégories, chacune subdivisée en sédentaire quand l'animal se fixe et s'alimente d'un site nourricier permanent ou en migrateur quand il se déplace pour s'alimenter.

2-1 Ectoparasites :

Les cellules épidermiques ou corticales de la racine sont attaquées par les larves libres dans le sol qui utilise le stylet pour s'en nourrir. Ce type de parasitisme est le plus primitif.

2-2 Semi-endoparasites :

Chez ces nématodes, seule la partie antérieure du nématode pénètre dans les racines, la partie postérieure restant dans le sol, Les cellules entourant la tête du nématode se transforment en site nourricier

2-3 Endoparasites :

Les nématodes endoparasites migrateurs au sein de la plante au niveau de la racine ou de la tige. A cause de leur caractère polyphages ils provoquent des nécroses tissulaires massives (Wyss, 1997). Les endoparasites sédentaires migrent dans le tissu racinaire de plante, établissent un site nourricier, cessent d'être mobiles et s'y alimentent. Ce groupe comporte les nématodes à kyste et les nématodes à galles.

3 Cycle biologique

Le cycle de développement des nématodes est typiquement divisé en 6 stades : le stade œuf, 4 stades juvéniles et le stade adulte. Il est composé de 2 phases :

La phase exophyte qui se passe à l'extérieur de la plante, elle commence lors de la ponte de l'œuf et fini par la pénétration d'un juvénile de stade 2 dans la racine de la plante.

La phase endophyte qui constitue la phase parasitaire au sein de la plante.

La durée de chacun de ces stades et du cycle biologique complet diffère selon les espèces et dépend de facteurs comme la température, la teneur en eau et la plante hôte (Coyne et al., 2010)

4 Systématique des nématodes à galles

Les nématodes à galles sont des animaux de l'embranchement des Némathelminthes du phylum des Nématoda. La classification complète du genre Meloidogyne est décrite ci-dessous dans le Tableau 1

Tableau 1. Systématique des *Meloidogyne* d'après Reddy 1983

Embranchement	Nematoda
Classe	Secernentea
Ordre	Tylenchida
Super-famille	Heteroderoidae
Famille	Meloidogynidae
Genre	*Meloidogyne*

II Dégâts occasionnés des nématodes sur les cultures maraichères

1 Nématodes en maraîchages

Les cultures maraichères sont attaquées par toute sorte de nématodes mais ceux du genre *Meloidogyne*ils sont les plus dangereux. Ils s'attaquent à toutes les légumes avec une prédilection aux cucurbitacées (melons, concombres…) , les composés (laitue…) et les solanées (tomates…). Les cultures sous serre sont les plus touchées dans la mesure où les attaques sont aggravées par les températures élevées. Cette particularité fait que les *Meloidogyne* entraînent fréquemment des dégâts par climat chaud, culture tropicales, méridionales et sous serres.

Les chutes de rendement sont rarement sensibles la première année d'infestation, les populations de nématodes étant trop faible. Par contre si les cultures sensibles se succèdent pendant deux ou trois ans, la récolte peut se trouver gravement compromise dès la troisième année. La chute de la récolte peut atteindre jusqu'à 50%.

Par ailleurs, les dommages peuvent se trouver accentués par la présence d'agents pathogènes notamment des champignons et des bactéries qui peuvent avoir avec les nématodes des relations de synergie parasitaire (Coyne et al., 2010).

Les dommages causés aux plantes et les baisses de rendements qui en résultent proviennent du mode d'alimentation des nématodes. Ils détournent à leur profit une partie du métabolisme de la plante et endommagent le système radiculaire de la plante par réductions et destructions des racines et des radicelles ce qui réduit l'alimentation en eau et en sels minéraux.

2 Symptômes d'attaques de nématodes

Le plus grand défi lorsqu'il s'agit de reconnaître les nématodes comme responsables des dommages observés sur une culture tient au fait que la plupart d'entre eux ne produisent pas de symptômes spécifiques, faciles à identifier. En effet, les attaques de nématodes sont le plus souvent non spécifiques et facilement confondues avec des symptômes d'origine abiotique ou biotique. Par exemple, les symptômes de chlorose peuvent être dus à une déficience en azote mais aussi à la présence de nématodes.

Les symptômes d'attaques de nématodes sont observables sur les parties aériennes comme sur les parties souterraines.(Coyne et al., 2010).

2-1 Symptômes sur les parties aériennes

Les symptômes sur les parties aériennes se divisent en deux catégories. Ceux qui sont causés par des nématodes des parties aériennes qui attaquent le feuillage et les autres causés par des nématodes du sol attaquant les racines.

2-2 Symptômes sur les parties souterraines

Ils sont parfois suffisamment spécifiques pour autoriser le diagnostic d'un problème nématologique. L'arrachage des plantes ou le dégagement des racines est nécessaire pour observer les symptômes. Ces derniers comprennent:

a. Galles

Les galles racinaires sont la plupart du temps causés par les nématodes à galles *Meloidogyne,* bien que d'autres nématodes peuvent aussi former des galles. Elles varient considérablement selon l'espèce de Meloidogyne, la culture et le cultivar, et parfois sont observables sur racines et sur tubercules. Elles peuvent se présenter sous forme de petits épaississements bien individualisés en tête d'épingle, ou bien au contraire de massifs épaississement de tissus végétaux déformés et coalescents, ainsi que par des renflements irréguliers à l'extrémité et tout au long de la racine.

b. Kystes

Les nématodes à kystes comme celle du genre *Heterodera* et *Globodera* sont souvent observés à l'œil nu sur les racines de leur plante hôte, une fois le système racinaire débarrassé du sol adhérent. Les jeunes femelles adultes peuvent être observées sous forme de très petites têtes d'épingles blanches, donnant une apparence perlée aux racines lorsqu'elles sont nombreuses. Au fur et à mesure de la maturation des femelles, les kystes, qui contiennent plusieurs centaines d'œufs, durcissent et se colorent en brun ou en noir.

c. Raccourcissement du système racinaire

L'activité des nématodes peut aussi être à l'origine d'un raccourcissement des racines, en conséquence la biomasse racinaire est grandement réduite.

d. Lésions sur racines et tubercules

Les racines et les tubercules peuvent montrer des surfaces de tissus morts (nécrosés) résultant de l'activité des nématodes. Au fur et à mesure que les nématodes s'alimentent et migrent à l'intérieur des tissus végétaux, ils détruisent des cellules et altèrent les fonctions cellulaires, causant ainsi la mort des tissus.

e. Pourriture des racines et tubercules

Les nématodes à eux seuls peuvent conduire à des pourritures de racines et de tubercules à travers des migrations importantes, entraînant des nécroses et la mort de tissus végétaux et de racines. Fréquemment, des infestations bactériennes et fongiques se développent secondairement et contribuent au pourrissement.

f. Crevasses et craquelures

Parfois les racines et les tubercules montrent une surface crevassée et craquelée après une attaque de nématodes. Ce symptôme est souvent attribué par erreur à un stress hydrique ou nutritionnel durant la croissance.

III Méthodes d'extraction

1 Choix de la méthode d'extraction

Le choix de la méthode d'extraction dépend des conditions techniques et matérielles disponibles, du type d'échantillon et des espèces de nématodes présents. Quelques méthodes d'extraction sont plus adaptées à certaines espèces de nématodes tandis que d'autres sont plus générales.

Les techniques d'extraction sont nombreuses et diverses mais, à l'exception de celles consistant à désintégrer le produit, elles dérivent toutes soit de la méthode de décantation et tamisage de COBB (méthode par gravité) soit de celle de l'entonnoir de Baermann (méthode par mobilité).

Le tableau 2 montre quelle méthode est mieux adaptée pour différents types de nématodes, sédentaires ou migrateurs, dans des échantillons de sol, de racines ou de feuilles.

Tableau2. Méthodes d'extraction en fonction des différents types de nématodes et d'échantillons.

	Échantillon du sol		Echantillon racine /feuille	
	Nématodes sédentaires	Nématodes migrateurs	Nématodes sédentaires	Nématodes migrateurs
Baermann		X		X
Tamisage	X	X		
Broyage			X	X
Incubation			X	X

2 Méthodes par gravité

2-1. Sédimentation

Le principe est fondé sur le fait que la densité d'un nématode (environ 1,05) est très légèrement supérieure à celle de l'eau. Lorsqu'un sol est mis en suspension dans l'eau, la plus grande partie des particules de sol sédimente plus vite que les nématodes, qui sont alors récupérés par un passage du surnageant sur un tamis.

Cette technique permet une bonne extraction de tout les types de nématodes même ceux sous forme de kystes. Mais elle nécessite un équipement légèrement spécialisé et les nématodes risquent d'être endommagés durant l'extraction.

2-2 Centrifugation

L'extraction par centrifugation est réalisée sur le produit du tamisage d'un sol ou d'un broyat de végétaux. Elle peut également servir à éclaircir les extraits obtenus par sédimentation. La méthode de centrifugation est plus efficace que celle de Baermann mais ne peut être utilisée que pour des échantillons de faible volume (Merny et Luc, 1969).

Pour réduire la vitesse de sédimentation des nématodes, l'eau est remplacé par une solution ayant une densité légèrement supérieure à celle des nématodes, la vitesse de sédimentation des particules de sol se trouve ainsi diminuer également, on l'accélère avec une centrifugation.. Les vitesses pour l'extraction des nématodes vont de 700 à 2900 g. On distingue deux phases de centrifugation, une première centrifugation à l'eau élimine les particules organiques légères, de densité < 1, le surnageant obtenu est éliminé, une deuxième centrifugation est réalisée dans un liquide de séparation dont la densité se situe entre 1,15 et 1,20, les nématodes sont alors récupérés dans le surnageant.

Liquide de séparation est en général une solution de sucrose de densité 1,18 (485,5g/l), en raison du faible prix de la matière première et de son absence de toxicité (Hendrickx et al, 1976). La formation du culot ne peut se faire qu'en présence de kaolin, qui colle les argiles et limons au fond du pot de centrifugation. Cela évite la mise en suspension du culot quand on verse le surnageant (Kermarrec et Berge, 1972).

3 Méthodes utilisant la mobilité des nématodes

3-1 Méthode de Baermann

Cette méthode ou ses adaptations sont souvent appelée méthode modifiée de Baermann, méthode des assiettes, ou méthode des plateaux de Whitehead.

Cette méthode est classiquement utilisée pour les extractions de nématodes mobiles à partir de broyats de végétaux, de semences, de terreaux organiques ou de faibles quantités de sol. Elle peut aussi servir à clarifier une solution après élutriation.

C'est une technique simple qui permet d'xtraire un grand nombre de nématodes mobiles et qui ne nécessitent pas de matériel spécialisé.cependant Pour une extraction maximale il faut une durée de 3-4jrs, les nématodes les plus grands et donc les moins mobile ne sont pas bien extraits.

3-2 Brumisation incubation (Seinhorst, 1950)

Dans cette méthode, l'échantillon du sol est placé dans un tamis posé à la partie supérieure d'un entonnoir. Un fin brouillard produit par un asperseur maintient l'échantillon continuellement humide. L'eau qui coule le long du sol entraînent les nématodes suit l'entonnoir. Elle est recueillie dans un récipient dans lequel les nématodes sédimentent.

Matériels et Méthodes

I. Extraction des nématodes

1. Origine des populations

Des échantillons du sol ont été prélevés du Domaine Dar ESSALAM situé à Rabat, ce dernier a une superficie de 85 Ha , et se spécialise essentiellement en production des cultures maraichères en mode biologique, tels tomate , carotte , concombre , courgette ect…

2. Méthode de prélèvement des échantillons

Pour chacun des 7 tunnels, 3 kg de sol ont été prélevé comme échantillon sur une profondeur allant de 3 à 4 cm, représentant l'horizon de forte densité racinaire de la plupart des cultures maraichères. Afin d'avoir un échantillon représentatif, les 3kg du sol on été prélevés sur plusieurs endroits répartis selon un échantillonnage en Zig Zagtouchant ainsi la totalité des tunnels utilisées pour les prélèvements.

3. Extraction des nématodes à partir du sol

Pour réaliser l'extraction des nématodes à partir du sol nous avons procédé par deux méthodes différentes.

3-1Méthode des assiettes

Cette méthode appelée aussi 'Baermanntrays' ,(Figure 2)est basé sur le protocole suivant :

- 250 g de sol est mise dans une bassine remplie d'eau environ de 800 ml .
- Après agitation, le contenu de la bassine a été passé à travers deux tamis, le premier de 1mm, le deuxième de 250 um à fin d'éliminer les débris végétaux et les particules grossières du sol.
- Un tamis de 100 um de mèche a été utilisé pour récupérer les nématodes en solution avec des particules très fines .
- Ce mélange est placé par la suite sur un papier filtre supporté par un tamis à mailles lâches qui est posé sur une assiette contenant suffisamment d'eau .
- Après au moins 48 heures, l'eau de récupération est passé à travers un tamis de 5um.

- Le contenu de chaque boîte est récupéré dans un tube gradué contenant un volume connu d'eau distilléeen vue d'identification et le comptage des nématodes.

Figure 2 : Assiettes de Baermann

3-2 Méthode de centrifugation (Southey ,1970)

Le protocole de cette méthode est le suivant :

1. On préleve100 g de sol d'un échantillon homogène.

2. On mélangeles100 g de sol avec de l'eau pour avoir un volume de 800 ml.

3. Aprèsagitation on laisse le sol décanter pendant 60 secondes.

4. On passe le contenue à travers un tamis de 250umse trouvant au dessus d'un autre tamis plus fin de 100um .rincer les débris sur les tamis.

5. Les débris et les nématodes sont rincésà partir du tamis fin vers un bêcher de 150 ml,le contenuest agité puis versé dans les tubes de centrifugation à 50 ml à fond rond, une cuillère de Kaolin est ajoutée dans chaque godet .

6. On équilibre les tubes dans le rotor horizontal et les centrifuge à 3000 tr/ min pendant 4-5 min.

7. Le surnageant est éliminé sans toucher au culot qui contient des nématodes.

8.On ajoute au tube par la suite suffisamment de liquide de séparation,fait d'une solution sucrée de 1.18 de densité, pour remplir la moitié vide restante au niveau du tube. On homogénéiseles granules avec une tige de verre, la tige de verre est rincéaprès chaque usage.

9.Une deuxièmecentrifugation à 3000 tr/ min pendant 2 min est réalisée, on laisse reposer sans freiner.

10. On récupère le surnageant à travers un tamis fin de 5 um.

II. Évaluationdes dégâts causés par les *Meloidogyne* aux cultures de concombres.

1-Biotest

Le biotest consiste en l'évaluation des dégâts manifestés par des plantations de concombre reconnues par leur sensibilité au Meloidogyne. Une plaque alvéole a était utilisé en premier pour semer les graines de concombres (Figure 3), deux semainesaprès, le repiquage des plants a était réalisé dans des pots de capacitéde 3 kg.

Les échantillons du sol pris de sept tunnels on été testés en plus d'un sol témoin stérilisé à 120°C pendant deux heures.

Les plants ont été arrosés chaque jour de façon à maintenir une bonne humidité du substrat.

4 semaines après le repiquage, les plantes (Figure 4) ont été soigneusement débarrassé de leurs pots de manière à ne pas endommager les racines, ces dernières sont lavées à l'eau courante pour éliminer le sol restant.

Plusieurs paramètres ont été mesurés afin d'évaluer les dégâts causés par les nématodes et ont concerné l'indice de galle et les paramètres de croissance.

Fig 3 :Plant de concombre après une semaine du semis.

Fig 4. Plants de concombre après 4semaines du repiquage.

2. Paramètres de croissance

- ✓ *Poids frais et sec de la partie aérienne en g*

La partie aérienne qui comprend les feuilles est pesée avant et après séchage dans l'étuve à 60°C pendant 48h.

- ✓ *Poids frais et sec de la partie racinaire en g*

Les racines sont lavées et essuyées avant d'effectuer les pesées.

- ✓ *Hauteur de la tige en cm*
- ✓ *Diamètre à la base de la tige en mm*

  Le diamètre de la tige a été mesuré chez tous les plantes à leur base.

3. L'indice de galles racinaires

Afin d'évaluer les dégâts de *Meloidogyne* spp., un système d'indice de galles Speijer et De Waele (1997) a été adopté. Il se base sur le pourcentage de galles du système racinaire.

Tableau 3. Indice de galles d'après Speijer et De Waele

Pourcentage de galles présentent sur le système racinaire	**Score de l'indice de galle**
Aucune galle	0
Traces d'infection avec quelques petites galles	1
< 25 % de racines portant des galles	2
25-50% de racines portant des galles	3
50-75 % de racines portant des galles	4
>75 % de racines portant des galles	5

Résultats

I. Extraction des nématodes à partir du sol

Tableau4 : Résultats de l'extraction

Tunnel	Présence	Absence
Témoin		X
T34	X	
T13	X	
T7	X	
T41	X	
T32	X	
T31	X	
T24		X

Fig5 : Vue d'un nématode au microscope(X60)

Les résultats (tableau 4 et Figure 5) montrent que l'extraction par les deux méthodes des assiettes et de centrifugation à révéler la présence de nématodes dans les tunnels T7, T41, T31, T32, T34, T13. Le témoin en plus du tunnel T24 ne contiennent pas de nématodes.

II. Estimation de la charge en Meloidogyne des sols prélevés

1. Indice de galles

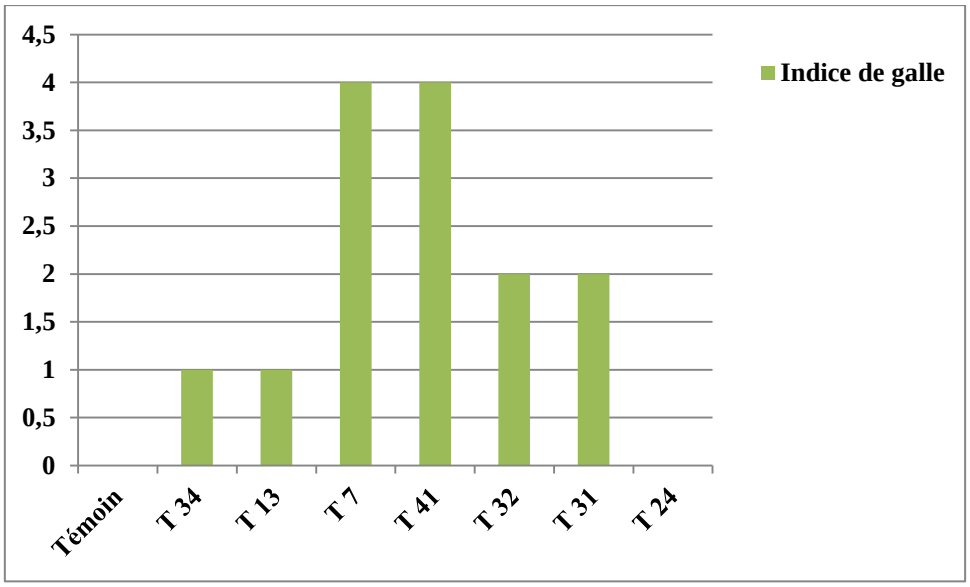

Fig6 : Indice de galle moyen pour chaque tunnel.

L'indice de galle est une méthode permettant de quantifier les dégâts subis par une plante infectée de nématodes. La présence ou l'absence de galles est un indicateur de la présence ou l'absence de nématodes. Plus l'indice de galle est élevé, plus la plante est infestée de nématodes et leurs présence est importante, donnant ainsi une estimation sur la densité de leur population.

Les résultats (Figure 6) montrent l'absence de galles chez le témoin et dans le tunnel T24. Les galles sont présentes dans tous les autres tunnels, et en forte densité notamment dans les tunnels T7 et le T41.

2. Paramètres de croissances

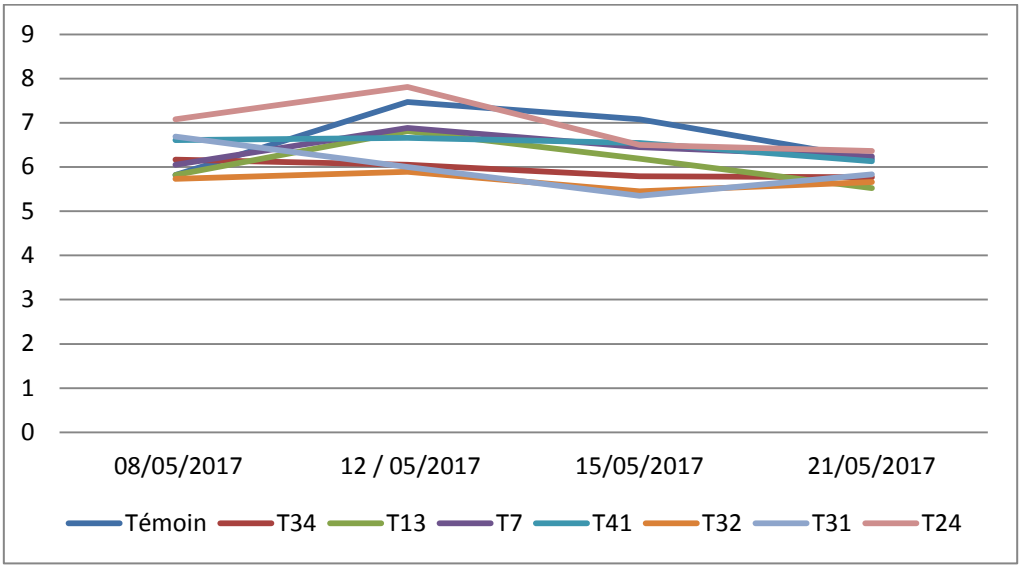

Fig7 : Evolution du diamètre de la tige en mm

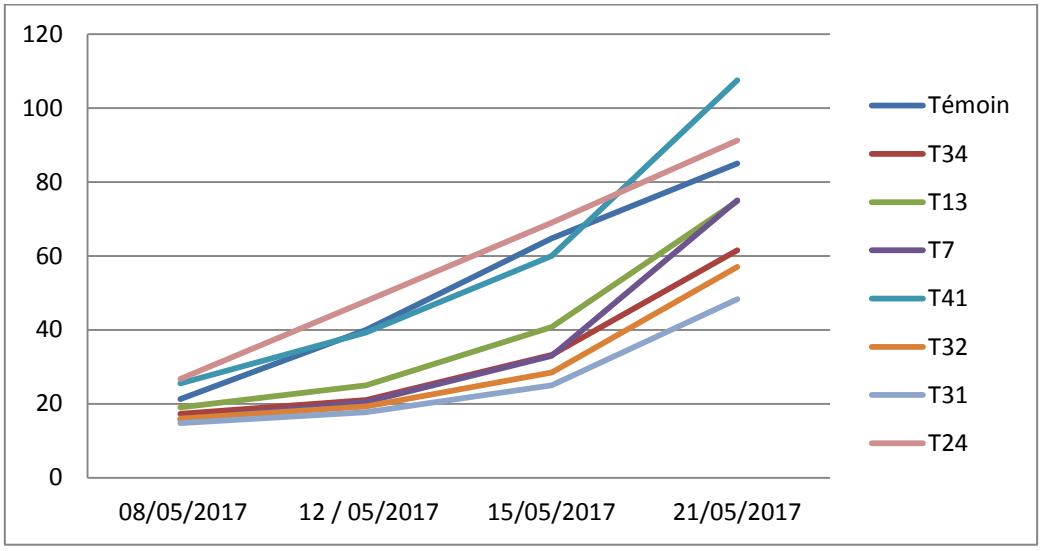

Fig8 : Evolution de la hauteur de la plante en cm

En mesurant la hauteur de la plante et son diamètre on a pu suivre la croissance des plantes au cours du biotest. L'évolution des plants c'est révélé similaire chez les plantes infecté et les plantes témoins. Par contre ces dernières et celles du tunnel T24 ont des hauteurs supérieur aux autres plantes des tunnels infestées sauf celles du tunnel T41. Généralement les nématodes attaquent les racines et les détruisent, la plante se trouve ainsi en manque de nutrition. La durée du biotest n'a pas permis d'arriver au stade de destruction des racines de ce fait, seul des altérations mineurs sur la croissance du concombre on tété noté.

3. Paramètres de croissances

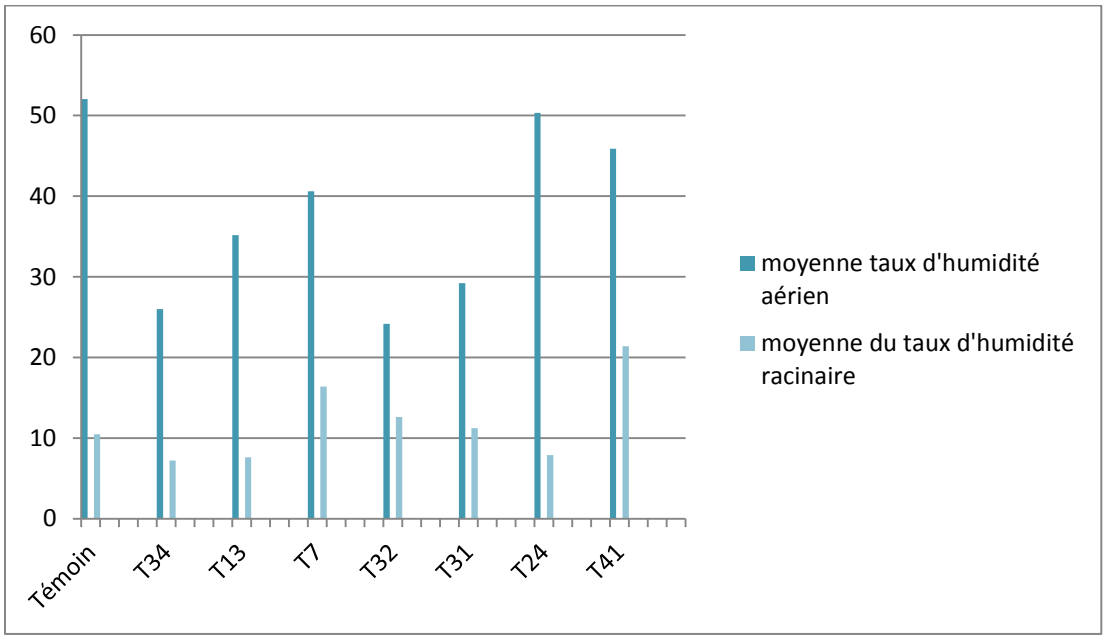

Fig9 : Taux d'humidité

Le poids frais et le poids secs des plants ont été pesés après l'arrachage, ça nous a permis de déterminer le teneur en eau (Figure 9) de la partie aérienne et de la partie racinaire de la plante séparément.

Les résultats montrent que les parties aériennes contenant le plus d'eau sont celles du témoin et du T24, ces plants ne sont pas infectés par les nématodes. Tandis que la teneur en eau racinaire est la plus élevée dans les plants du T7 et T41, qui eux détiennent le plus grand indice de galle.

Conclusion générale

Ce travail a été réalisé à l'ENA de Meknès et avait pour objectif d'abord l'extraction des nématodes et ensuite l'évaluation de leur charge dans les échantillons.

L'extraction par deux méthodes différentes a confirmé la présence de nématodes dans le sol de tous les échantillons sauf ceux du tunnel T24. Les galles retrouvées sur les racines après arrachage des plants proviennent certainement de la présence de ces nématodes dans les tunnels T7, T41, T31, T32, T13, T34.

L'indice de galle attribué à chaque échantillon, nous a permis d'estimer la densité de population des nématodes dans le sol, en effet plus l'indice est élevé plus la densité de populationdevient forte. Nos résultats ont révélé que les populations les plus denses se trouvent dans les échantillons des tunnels T7 et T41.

En conclusion, ce travail nous a permis de confirmer la présence de nématodes à galles et d'évaluer la charge de leurs populations dans les échantillons du sol.

Perspectives

- Effectuer un comptage exact de la densité de population des Meloidogyne dans le sol.
- Identification de l'espèce de *Meloidogyne*responsable de l'attaque.
- Mettre au point une stratégie de lutte et déterminer le traitement le plus efficace afin d'éliminer ces parasites.

Références Bibliographiques

- Coyne DL, Nicol JM et Claudius-Cole B (2010). Les nématodes des plantes: Un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire. Secrétariat SP-IPM, Institut International d'Agriculture Tropicale (IITA), Cotonou, Benin, pp. 3-31. Edition traduit par Quénéhervé P.

- Cobb NA (1919). The orders and classes of nemas. Contrib. Sci. Nematol. 8: 213-216.

- Chitwood BG (1949). Root-knot nematodes I. A revision of the genus MeloidogyneGoeldi, 1887. P. Helm. Soc. Wash. 16: 90-104.

- Guiran DG &Netscher C (1970). Les nématodes du genre Meloidogyne, parasites de cultures tropicales. Cah. ORSTOM, Sér. Biol. 11: 151-157.

- HENDICKX G.J, COOLEN W.A et MOERMANS R. (1976) Influence de la nature et de la densité des liquides de séparation sur les nématodes pendant le processus de centrifugation-flottation. Nematologiamediterranea 4, 31-40.

- KERMARREC A. et BERGE J.B (1972) Méthodes d'estimation des populations de nématodes des sols et des racines. Bulletin de la société d'écologie t III, 2, 151-169.

- Laïetitia Paganelli. Etude de partenaires protéiques d'une protéine associée aux microtubules, ´ MAP65-3, indispensable à la formation des cellules géantes induites par le nématode à galles Meloidogyneincognita : caractérisation du complexe de surveillance de la mitose chez Arabidopsis. Sciences agricoles. Université Nice Sophia Antipolis, 2013. Français, pp. 4-8.

- MaisaraMukhaimar. Sources naturelles de la résistance contre les nématodes à galles Meloidogynejavanica chez la plante modèle Arabidopsisthaliana.. Génétique des plantes. Université Paris Sud - Paris XI, 2015. Français, pp. 1-6.

- Prot J.-C, SORIANO I.R.S, MATIAS D. M (1994) Major root-parasitic nematodes associated with irrigated rice in the Philippines, Fundamental and applied nematology, pp. 75-78.

- SEINHORST J.W (1964) Methods for the extraction of Heterodera cysts from not previously dried soil samples. Nematologica 10, 87-94.

- Taylor A.L (1968). Introduction à la recherché sur les nématodes phytoparasites. Manuel FAO pour l'étude des nématodes phytoparasites et les moyens de luttes. Rome, 1968, 135p