

Obtention de mutants morphologiques chez le nématode *Heterodera oryzae* parasite du riz

Patrice CADET
*Laboratoire de Nématologie,
ORSTOM, B.P. V 51, Abidjan, Côte d'Ivoire*

RÉSUMÉ

Au cours d'essais d'obtention de mutants morphologiques chez les juvéniles du deuxième stade d'*Heterodera oryzae*, trois souches stables ont été obtenues par l'action de l'acri-flavine.

La première souche présente un nanisme variable, la taille des juvéniles du deuxième stade allant de 50 à 75 % de celle des juvéniles sauvages. Cette mutation semble porter sur un seul gène.

La seconde souche présente un nanisme stable (70 % de la souche sauvage) et sa mutation semble porter sur plusieurs gènes.

La troisième souche présente une déviation de l'axe de la queue, qui fait un angle de 0 à 180° avec l'axe du corps. Cette mutation semble monofactorielle.

ABSTRACT

Attempts have been made to induce morphological mutations in second stage juveniles of *Heterodera oryzae*. The use of acriflavine at a concentration of 0.25 % for different times has resulted in three permanent mutant strains.

In the first strain juveniles are dwarfed having a length between 50 and 75 % of normal juveniles. This mutation appears to be monogenic. Juveniles of the second strain are dwarfed more uniformly with a length of 70 % of normal juveniles. This mutation seems to be polygenic.

Juveniles of the third strain have tails that are more or less bent. The angle between the tail and the body axis varies from zero to 180°. Such variability in this character suggested that several genes may be involved; however in crossings with the normal strain it reacted as if the mutation was monofactorial.

1. INTRODUCTION

Les techniques de mutagenèse exposées ici ont pour but l'obtention de mutants morphologiques qui pourront être utilisés comme marqueurs chromosomiques pour l'analyse génétique des propriétés physiologiques de *Heterodera oryzae*, notamment pour l'étude des phénomènes de rupture de la résistance d'une plante et plus particulièrement pour l'analyse de la composition d'un éventuel pathotype.

Les mutagènes utilisés sont soit de nature physique (choc thermique) soit de nature chimique (acide salicylique, nitrosoguanidine, thiabendazole, acriflavine, éthyl-méthane-sulfonate) soit un mélange de deux d'entre eux.

Le test de ces mutations a été très brièvement réalisé par accouplements contrôlés. Les dénombrements des juvéniles mutants et sauvages s'effectuent à la suite d'une F2.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. LE NÉMATODE

Heterodera oryzae est un parasite du riz, gonochorique et amphimictique (Netscher, 1969). Il présente la particularité de rassembler une partie de ses œufs dans une masse extérieure au kyste, facilement récupérable.

Après extraction des masses d'œufs des racines infestées, par aspersion violente, sur un tamis, on les place dans une solution de Dropkin (NaCl 17,5 g/l) pendant 6 à 20 jours, ce qui a pour effet de différer les éclosions et de les rassembler dans le temps, dès que la solution de Dropkin est remplacée par de l'eau. L'éclosion des œufs dans l'eau est pratiquement terminée au bout de trois jours (Reversat, 1971).

2.2. LA PLANTE-HÔTE

Le riz, variété Moroberekan (I.R.A.T.) est soit mis à germer sur tamis partiellement immergé dans l'eau et repiqué 5 jours après, soit semé directement dans des pots remplis de terre stérile.

L'inoculation a lieu de 10 jours à 3 semaines après la mise en germination.

Les pots sont arrosés 2 fois par semaine avec de la solution nutritive, les autres jours avec de l'eau.

2.3. SCHEMA GÉNÉRAL POUR LA SÉLECTION DES LIGNÉES ÉVENTUELLEMENT MUTANTES

Dans une première opération, des juvéniles du deuxième stade (J2) sont soumis à l'action d'un mutagène, soit physique (pendant un temps variable) soit chimique (concentration et temps de contact variables). Ils sont ensuite inoculés au riz et l'on recueille, pour chaque essai (temps ou temps et concentration donnés), un nombre variable de masses d'œufs qui constituent la première génération. Les juvéniles qui en sont issus sont, à leur tour, inoculés au riz et fournissent un nombre n de masses d'œufs de deuxième génération qui, à leur tour, vont fournir des J2. Parmi ces masses d'œufs (m.o.) et pour chaque essai, un certain nombre (environ 5 par essai) sont sélectionnées au hasard, mises à éclore, et les J2 qui en sont issus sont observés. On ne constate alors la présence d'aucune mutation. Les J2 sont ensuite inoculés au riz séparément suivant la masse d'œufs dont ils sont issus et on collecte, en 3^e génération, un certain nombre de masses d'œufs descendant de la même masse d'œufs de la génération précédente. Là encore, et pour chaque masse d'œufs mère, un certain nombre de masses d'œufs de 3^e génération sont sélectionnées au hasard et les J2 qui en sont issus sont observés. Certaines fournissent à l'éclosion, une proportion variable de J2 présentant une mutation morphologique (larves naines ou à queue crochue avec partie hyaline réduite ou géantes ou présentant une combinaison de ces caractères). La totalité des J2 provenant de ces masses d'œufs est réinoculée au riz. On obtient ainsi un certain nombre de lignées où des mutations se sont manifestées à partir desquelles on essaie d'obtenir des lignées pures par purification de la souche à chaque génération, en pêchant un à un les J2 mutés et en les réinoculant au riz.

Par exemple pour l'expérience avec l'acriflavine, dans la descendance des animaux traités, c'est-à-dire à la fin de la première génération, on a réinoculé au maximum 3 000 juvéniles par traitement. Parmi les masses d'œufs que ces juvéniles ont fournies à la seconde génération, on en a choisi cinq au hasard par traitement, soit 265 au total, que l'on a inoculées séparément. Enfin pour chacune de ces 265 lignées, on a prélevé six masses d'œufs pour l'observation de leur descendance (recherche des mutants) soit 1590 au total (fig. 1).

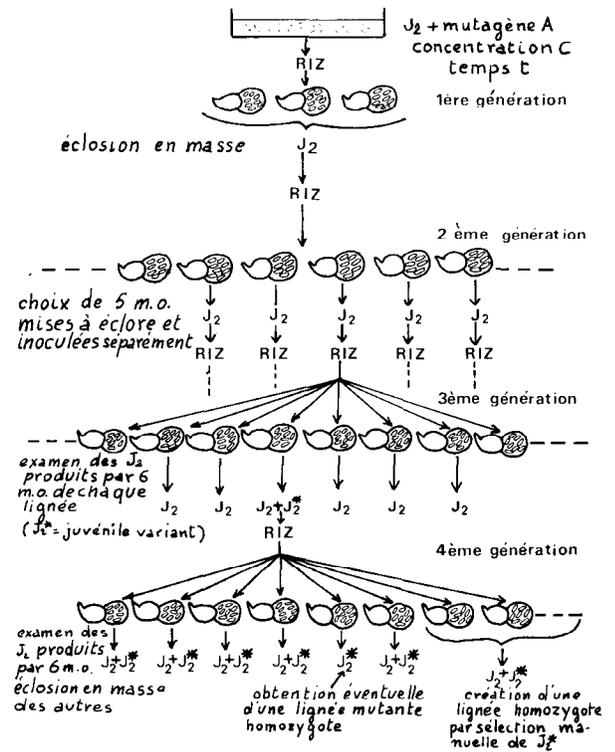


FIG. 1. — Schéma général pour la sélection de lignées éventuellement mutantes. Cas de l'acriflavine.

2.4. MÉTHODE D'APPLICATION DES MUTAGÈNES CHIMIQUES

Les seuls résultats positifs ayant été obtenus avec l'acriflavine, on s'est borné ici à la description du schéma expérimental utilisé avec ce mutagène.

L'acriflavine est mise en solution dans de l'eau déminéralisée; elle a été utilisée aux concentrations de 0,5 %, 0,25 %, 0,125 % et 0,06 % (poids/volume).

Les nématodes sont mis en suspension dans l'acriflavine dans un vase à tare de forme basse (Ø 50 mm) contenant :

- 6 300 J2 dans 3,5 cc pour les concentrations 0,5 et 0,25 %;
- 6 500 J2 dans 4 cc pour les concentrations 0,125 et 0,06 %.

La faible hauteur du liquide dans les récipients permet l'aération du milieu par diffusion.

Le rinçage des nématodes avant l'inoculation est effectué par centrifugations successives selon une méthode mise au point par Reversat (1971). A l'issue du dernier rinçage, on prélève un aliquot de la suspension afin de dénombrer sur les cent premiers juvéniles rencontrés ceux qui sont en mouvement et ceux qui sont immobiles.

2.5. PRÉLÈVEMENTS

Les prélèvements sont effectués 2 ou 3 fois par jour, leur numéro d'ordre est indiqué dans le tableau 1. Par exemple le prélèvement N° 12 a eu lieu le 2^e jour à midi pour la concentration 0,25 %. Pour des raisons de commodité le prélèvement N° 53 n'est pas porté sur ce tableau, il a eu lieu le 7^e jour à 8 heures pour la concentration 0,06 %.

TABLEAU I

Ordre des prélèvements de juvéniles traités à l'acriflavine en fonction de la concentration en mutagène et du temps.

heures concentration	1er jour		2eme j.			3eme j.			4eme j.			5e j.		6e j.	
	12	16	8	12	16	8	12	16	8	12	16	8	16	8	16
0 5 %	1	3	7	11	14	18	22	24	28	32	33	37	41	45	49
0 25 %	2	4	8	12	15	19	23	25	29		34	38	42	46	50
0 125 %		5	9	13	16	20		26	30		35	39	43	47	51
0 06 %		6	10		17	21		27	31		36	40	44	48	52

2.6. ACCOUPLEMENTS CONTRÔLÉS

Pour effectuer les accouplements contrôlés, on met en présence une femelle supposée vierge et un mâle.

Des pieds de riz sont inoculés avec *H. oryzae*; après 8 jours de contact, on les met en culture hydroponique pour recueillir séparément les adultes.

— la femelle est prélevée avec un fragment de racine à l'âge de trois semaines environ. La solution nutritive où baignent les racines est fortement aérée, pour que l'agitation empêche autant que possible la rencontre entre les deux sexes.

— les mâles sont recueillis au fond de cultures hydroponiques menées parallèlement, 13 à 14 jours après l'inoculation.

Une fois recueillies, les femelles sont déposées pendant plusieurs heures dans la solution de Kimura 2,5 N contenant de l'arethan (2 éthoxy-éthyl mercure 5 ppm). Les mâles sont centrifugés plusieurs fois dans cette solution puis rincés au Kimura stérile. Ceci permet de retarder de quelques jours le développement des bactéries et des champignons dans le substrat où les accouplements vont avoir lieu.

Le support est constitué par un verre de syracuse d'embryologie contenant environ 5 cm³ de gélose à 0,8 % dissoute dans du Kimura 2,5 N stérilisé sur filtre millipore 0,22 µm.

Les géniteurs restent 10 à 15 jours en contact puis les femelles sont prélevées et placées dans la solution de Dropkin (NaCl 17,5 g/l) pendant 15 jours pour différer les éclosions. Enfin, on les met à éclore dans

l'eau pendant 3 jours et les juvéniles de la F1 sont inoculés au riz (variété Moroberekan) — 5 semaines plus tard, on recueille et dénombre les juvéniles de la F2.

A l'issu d'un accouplement contrôlé, les œufs ne sont jamais pondus dans la masse gélatineuse extérieure, même quand la femelle est blanche, c'est-à-dire vivante, à la fin de l'expérience. Il convient de la faire éclater lorsqu'on la met dans l'eau, de façon à libérer les œufs et à favoriser ainsi leur éclosion. Lorsque le nombre de juvéniles issus d'une femelle est inférieure à 50, on regroupe plusieurs descendance avant de les inoculer (cas B, fig. 2). Lorsqu'on a plus de 50 J2, on les inocule ensemble, séparément dans un seul pot (cas A, fig. 2). Ces juvéniles vont fournir quelques masses d'œufs de taille normale cette fois-ci puisqu'on ne contrôle pas les accouplements pour obtenir la F2 (les J2 de la F1 sont en principe tous des hétérozygotes identiques). On prélève les plus grosses parmi ces masses d'œufs, que l'on met à éclore isolément de façon à connaître les quantités de

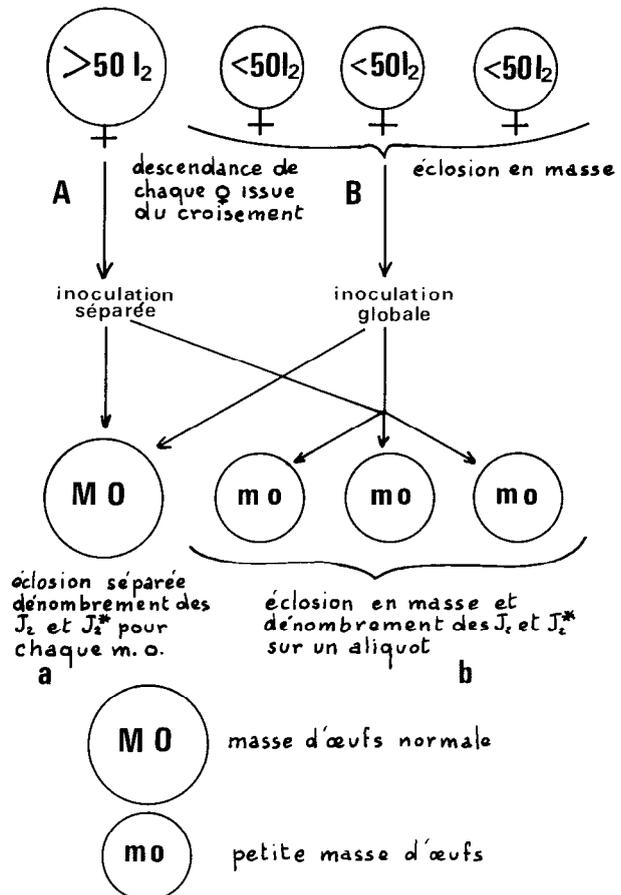


FIG. 2. — Réalisation des accouplements contrôlés.

J2 sauvages et de J2 mutants pour chacune d'elles (cas A, fig. 2). Le restant des masses d'œufs est mis à éclore en masse (cas B, fig. 2) et le dénombrement a lieu sur un aliquot. Dans la mesure du possible on a surtout tenu compte des cas Aa et Ra.

3. RÉSULTATS

3.1. IMMOBILITÉ DES JUVÉNILES EN FONCTION DE LA CONCENTRATION ET DU TEMPS (fig. 3)

Il est évident que tous les juvéniles immobiles ne sont pas morts, ils présentent naturellement des périodes d'activité et de repos. On obtient toujours par exemple une descendance avec des juvéniles immobilisés à 100 % par la chaleur. Néanmoins il existe nécessairement une corrélation. Pour les concentrations fortes d'acriflavine on obtient une immobilisation brutale de la plupart des juvéniles, elle se stabilise à un niveau légèrement inférieur à 100 %. Pour les concentrations faibles, l'immobilisation s'effectue par paliers successifs. On a obtenu le même phénomène avec l'EMS.

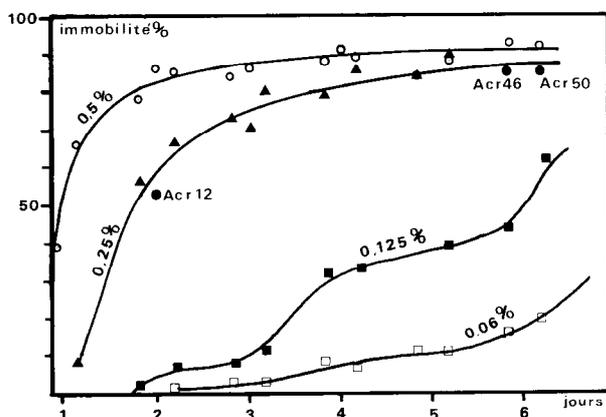


FIG. 3. — Immobilisation des juvéniles dans les différents prélèvements, en fonction de la concentration en mutagène et du temps.

3.2. OBTENTION DES MUTANTS

Dès la fin de la 4^e génération on a, dans 10 prélèvements, obtenu des juvéniles déformés de la même façon dans plusieurs des 6 masses d'œufs sélectionnées pour l'observation. Dans 9 prélèvements (Acr 12, 46, 42, 29, 50, 5, 9, 13 et 51), on a pu prélever un à un

les juvéniles variants et les inoculer par groupes d'environ 100. A la génération suivante deux cas se présentent :

(a) La lignée « purifiée » a fourni un grand nombre de descendants mutés, en mélange avec des juvéniles sauvages et il a été possible de sélectionner une nouvelle fois les mutants. Pour le prélèvement Acr 50 on a même trouvé trois masses d'œufs mutantes homozygotes qui ont immédiatement donné naissance à une lignée stable. C'est le cas des prélèvements Acr 46, 50, 35 et 13. Acr 13, caractérisé par une taille environ deux fois plus grande que la normale, et Acr 35 (nain), ont par la suite progressivement disparu au fil des générations.

(b) Les variants obtenus étaient trop peu nombreux et on a réinoculé sauvages et variants en mélange (cas des prélèvements Acr 12, 42, 29, 5, 9, 51). Toutes ces populations ont progressivement cessé de fournir des variants sauf Acr 12 qui redonne toujours des animaux dont la queue fait un angle très variable avec l'axe du corps, en mélange avec des animaux apparemment normaux. On n'a jamais pu les stabiliser phénotypiquement, même en sélectionnant ceux dont la queue a toujours la même inclinaison par rapport au corps.

3.3. DESCRIPTION DES MUTANTS (fig. 4)

3.3.1. *Acr 46 est un nain de taille variable* allant de 50 à 75 % de celle de l'adulte. On le repère surtout par la forme de sa queue dont la partie hyaline est soit très réduite mais encore pointue soit absente totalement. On rencontre tous les intermédiaires dans la population.

3.3.2. *Acr 50 est un nain de taille très stable* : autour de 70 % de celle de l'adulte. Une population de mutants apparaît beaucoup plus homogène que pour Acr 46. Outre sa taille, il est caractérisé par sa partie hyaline réduite mais conique à l'extrémité arrondie.

Les juvéniles nains sont plus larges que les J2 sauvages. En mélange, il n'est pas possible de séparer Acr 46 de Acr 50.

3.3.3. *Acr 12 possède une taille normale* mais la partie hyaline de la queue forme un angle variant de 0 à 180° avec l'axe du corps. Dans le cas d'un alignement complet, l'observation microscopique montre une boursoufflure de la zone qui lui est immédiatement supérieure, ce qui permet de distinguer le phénotype mutant du sauvage. Ce détail est invisible aux grossissements 25 à 30 habituellement utilisés à la loupe binoculaire. Dans les cas inverses extrêmes, la partie hyaline peut être totalement absente.

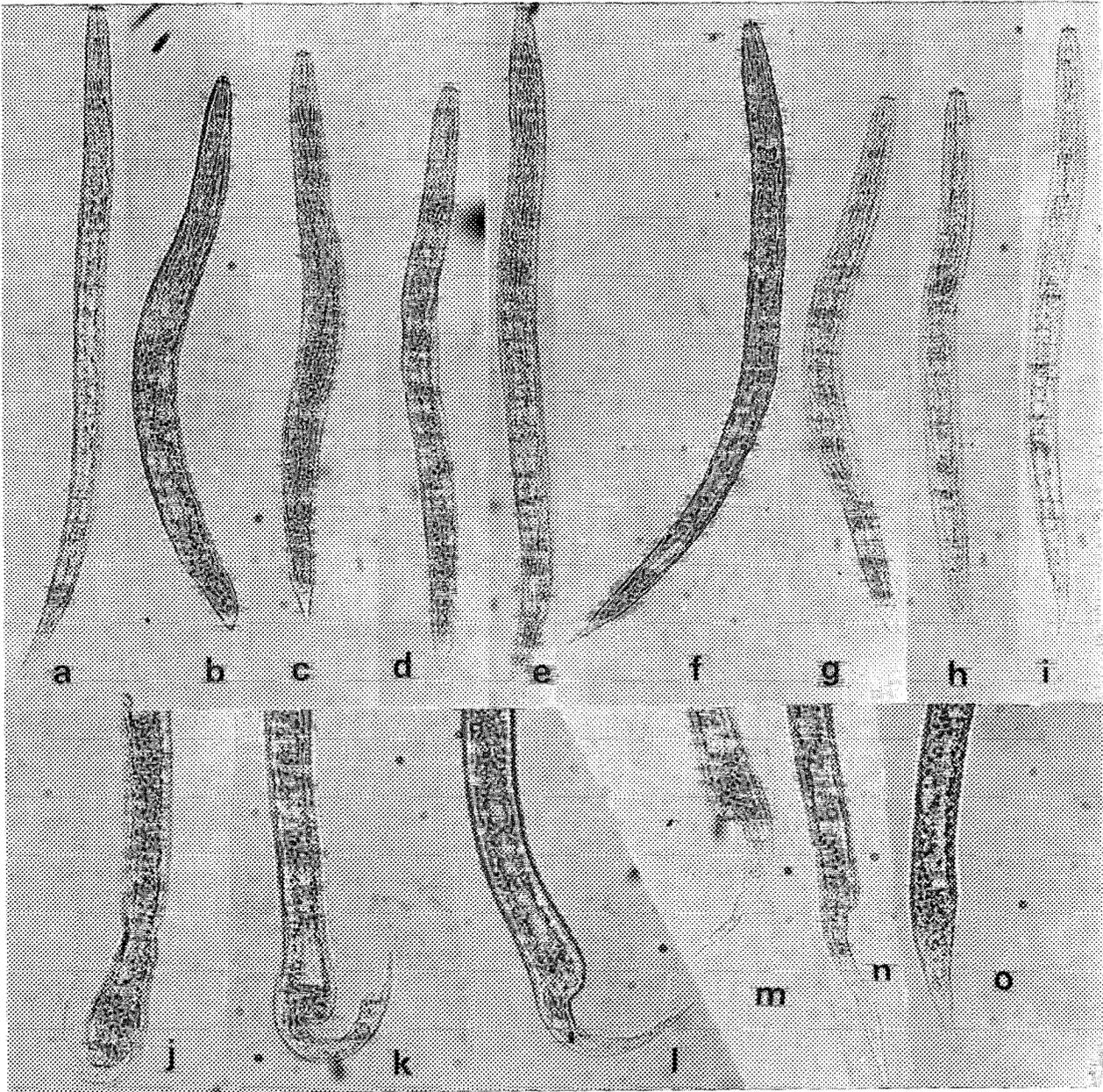


FIG. 4. — Variations morphologiques obtenues avec l'acriflavine. a : juvénile sauvage, b-f : mutant Acr 46, g-i : mutant Acr 50, j-o : mutant Acr 12.

3.4. RÉSULTATS DU TEST DES MUTANTS

Ils ont été testés par la méthode décrite au paragraphe 2.6.

3.4.1. La F1

Dans les trois cas, les juvéniles obtenus en F1 lorsque l'accouplement avait lieu dans le sens femelle

sauvage x mâle mutant étaient toujours de phénotype sauvage. Dans le cas inverse, on a parfois obtenu, en F1, des juvéniles de phénotype mutant, mais ceci étaient simplement dû au fait que les femelles utilisées pour ces accouplements avaient été fécondées accidentellement en culture hydroponique. Les trois mutations sont donc récessives. Une réserve sera toutefois émise à l'égard de Acr 12 puisqu'il n'est pas toujours pos-

sible de distinguer un mutant d'un sauvage au grossissement habituellement utilisé.

3.4.2. La F₂

3.4.2.1. Test de Acr 46 (tabl. II A)

Douze masses d'œufs ont pu être dénombrées individuellement pour les croisements dans le sens femelle Acr 46 x mâle sauvage et sept masses d'œufs pour les croisements en sens inverse. Les rapports sauvages/nains qui doivent théoriquement avoisiner 3 vont respectivement de 5,20 à 2,34 et de 5,03 à 2,60.

L'hypothèse d'un déterminisme monofactoriel n'est pas rejetée au risque 5 % pour la deuxième ligne du tableau 2.

TABLEAU II

Croisement des mutants avec la souche sauvage. Résultats obtenus à la F₂.

crois ^t	origin	+	*	+ *	total	+ theo	* theo	χ ² ₊	χ ² _*	χ ² _{tot}
♀ _* x ♂ ₊	Aa	2821	864	3,26	3 685	2763	921	1,21	3,52	4,73
id	Aa+Ab	2 878	890	3,23	3 768	2 826	924	0,95	1,25	2,20 ^x
♀ ₊ x ♂ _*	Aa	1 494	427	3,49	1 921	1 440	480	2,02	5,85	7,87
id	Aa+Ab	1 591	475	3,34	2 066	1 549	516	1,13	3,25	4,38

A - mutant Acr 46

+ = sauvage
* = mutant
x = différence non signif.

crois ^t	origin	+	*	+ *	total	+ theo	* theo	χ ² ₊	χ ² _*	χ ² _{tot}
♀ _* x ♂ ₊	Ba	733	210	3,49	943	707	235	0,95	2,65	3,60 ^x
id	Ba+Bb	784	228	3,43	1 012	759	253	0,82	2,47	3,29 ^x
♀ ₊ x ♂ _*	Ba	615	159	3,86	774	580	193	2,11	5,98	8,09
id	Ba+Bb	636	171	3,71	807	605	201	1,58	4,47	6,05

B - mutant Acr 12

croisem ^t	origine	+	*	+ *
♀ _* x ♂ ₊	Aa	133	34	3,91
id	Aa+Ab	358	86	4,11
id	Aa+Ba	324	75	4,32
id	Aa+Ab +Ba+Bb	1113	188	5,92
♀ ₊ x ♂ _*	Aa	1759	433	4,06
id	Aa+Ab	4905	1010	4,85
id	Aa+Ba	1917	473	4,05
id	Aa+Ab +Ba+Bb	2 634	617	4,26

C - mutant Acr 50

3.4.2.2. Test de Acr 12 (tabl. II B)

Cette souche n'étant pas stabilisée, on n'a effectué que quelques accouplements. Seule, la série B a été réalisée à l'issu de la F₁; c'est-à-dire que l'on a mélangé systématiquement toutes les descendance des accouplements. A cause du faible nombre de pots inoculés, on n'a pu dénombrer que très peu de juvéniles en F₂. Ceci rend les résultats très discutables.

3.4.2.3. Test de Acr 50 (tabl. II C)

On constate immédiatement que les rapports observés s'éloignent considérablement des rapports théoriques calculés pour les cas simples que nous testons (mutation monofactorielle ou bifactorielle). Une information substantielle ne pourrait être obtenue qu'après la réalisation de quelques croisements complémentaires (test cross par exemple).

4. DISCUSSION

4.1. LES MUTAGÈNES

Les résultats et la discussion ne porteront que sur l'expérience effectuée avec l'acriflavine puisque c'est la seule drogue qui ait fourni des mutations stables. C'est pourtant avec l'acide salicylique que nous avons obtenu le plus de déformation à l'issu des 4^e et 5^e générations (nanisme ou habitus courbe); mais aucune ne s'est révélée stable.

La nitrosoguanidine a tendance à stériliser les juvéniles car nous avons observé des individus mobiles qui n'ont pourtant pas donné de descendance; l'éthyl-méthane sulfonate a eu le même effet. Les concentrations utilisées s'avèrent trop toxiques pour *H. oryzae* alors qu'elles étaient très efficaces pour le nématode saprophyte *Caenorhabditis elegans* (Cadet & Dion, 1973; Person & Brun, 1974).

On a longtemps pu espérer l'obtention d'une souche mutante naine induite par le thiabendazole, mais elle s'est finalement éteinte après une dizaine de générations.

4.2. COURBE D'IMMOBILITÉ

Il est impossible de mesurer la toxicité d'un produit par le nombre de juvéniles immobilisés car les juvéniles au repos sont immobiles et en position droite comme les juvéniles morts. Toutefois il semble probable, a priori, qu'il y ait une liaison entre les deux

nombres. Quand on examine les courbes de la figure 1 on constate effectivement que la proportion d'individus immobiles donne une bonne idée de la toxicité du produit puisqu'elle est en liaison directe avec la concentration de celui-ci et avec le temps de contact.

Il est remarquable, au moins dans le cas de l'acri-flavine, que toutes les mutations stables ont été obtenues avec des doses toxiques pour lesquelles la proportion de juvéniles immobiles dépassait 50 %.

Pour les concentrations fortes, la toxicité est telle que pratiquement 100 % des J2 traités sont brutalement immobilisés, mais on retrouve toujours des individus de résistance particulièrement forte qui reprennent leur activité.

Pour les concentrations faibles, la croissance du taux d'immobilisation en fonction du temps de contact s'effectue par paliers. Ceci indique vraisemblablement que nous sommes en présence d'une population hétérogène constituée de groupes de nématodes possédant différents seuils de résistance à la drogue. Pourtant la souche d'*H. oryzae* élevée au laboratoire depuis plus de 10 ans provient d'un petit nombre d'individus.

4.3. FÉCONDITÉ

Il semble que l'acri-flavine ait eu un effet stimulant sur la pénétration ou le développement étant donné le nombre de masses d'œufs obtenues en fin de seconde génération. Ceci s'est répercuté sur la fécondité et on a obtenu couramment des rendements de 30 à 40. Il est certain que la multiplicité des masses d'œufs obtenues a diminué les chances de sélectionner les mutants. La plus forte proportion de mutations stables ayant été obtenue, malgré cet inconvénient, avec l'acri-flavine, il est certain que cette drogue est très fortement mutagène sur *H. oryzae*.

A la fin de la 4^e génération on n'obtenait jamais plus de 10 % de J2 déformées. Ce pourcentage relativement faible pourrait s'expliquer en admettant que la femelle est fécondée par plusieurs mâles et que tous ne sont pas porteurs de la mutation.

4.4. LES MUTANTS

Acr 46 : cette mutation serait de nature monofactorielle ce qui rend cette souche facilement utilisable dans des croisements ultérieurs. Les comptages effectués à l'issue de la F2 amènent à constater systématiquement un déficit d'individus mutés par rapport au sauvage. Ceci provient vraisemblablement du fait que la taille des nains peut parfois atteindre 75 % de celle de l'adulte et si dans ce cas, la partie hayline n'est pas

très réduite, on peut les confondre avec des formes sauvages.

Par contre, bien que le mutant Acr 12 apparaisse lui aussi comme résultant d'une mutation monofactorielle, il semble douteux que se soit réellement le cas; compte tenu de la variabilité obtenue malgré les purifications successives. Seule, la réalisation d'accouplements contrôlés pourraient peut-être amener une stabilisation de cette souche, que nous gardons en réserve.

Acr 50 est apparemment d'un déterminisme compliqué bien qu'il soit phénotypiquement le plus stable. Le rapport sauvage/nain ne correspond pas à celui attendu dans le cas d'une intervention de 1 ou 2 gènes. Les seuls résultats d'une F2 sont insuffisants pour permettre de trancher entre des hypothèses plus compliquées comme par exemple, intervention de gènes liés ou de gènes indépendants avec épistasie. L'étude d'un back-cross amènerait un supplément appréciable d'informations.

Il apparaît pour les mutants Acr 46 et Acr 12 que les résultats ne sont pas significativement différents au seuil 5 % de l'hypothèse testée quand le croisement a lieu dans le sens femelle mutante par mâle sauvage. Ceci s'explique par le fait qu'il y a toujours des accouplements en culture hydroponique malgré l'agitation du milieu. Ceci se traduit dans ce cas par l'apparition en F1 de larves mutées alors que normalement les hétérozygotes sont de phénotype sauvage. Ces lignées sont immédiatement éliminées. Dans le cas inverse où l'on utilise une femelle sauvage et un mâle muté, toutes les lignées sont conservées. Ceci peut expliquer l'excès d'animaux de phénotype sauvage obtenus dans ce cas pour Acr 46 et Acr 12.

5. CONCLUSION

L'acri-flavine apparaît comme un mutagène extrêmement efficace pour *Heterodera oryzae*, principalement à la concentration de 0,25 % pour 6 jours de contact (mutants Acr 50 et Acr 46). Le mutant Acr 12 est issu de larves ayant séjourné 28 heures dans la solution de mutagène (tableau 1).

Pour définir exactement la nature des mutations, les expériences réalisées sont trop succinctes, mais néanmoins l'observation de leur comportement à travers une F1 et une F2 est suffisant pour juger de leur maniabilité en vue de leur utilisation en tant que marqueurs chromosomiques lors de futurs croisements entre souches d'agressivités différentes.

Manuscrit reçu au S.C.D. de l'ORSTOM le 30 juillet 1976.

BIBLIOGRAPHIE

- CADET (P.) & DION (M.), 1973. — Production of *Caenorhabditis elegans* mutants under the influence of ethyl-methane-sulfonate (E.M.S.). *Nematologica*, 19 : 117-118.
- NETSCHER (C.), 1969. — L'ovogénèse et la reproduction chez *Heterodera oryzae* et *H. sacchari* (Nematoda : Heteroderidae). *Nematologica*, 15 : 10-14.
- PERSON (F.) & BRUN (J.), 1974. — Mutagénèse physique et chimique chez le nématode autofécond *Aphelenchoides composticola*. *Annls Biol. Ecol, anim.*, 6 : 111-130.
- REVERSAT (G.), 1971. — Contribution à l'étude de la biologie d'un nématode phytoparasite : *Heterodera oryzae*. Thèse, Lyon, 52 pp.