

**LES NÉMATODES PHYTOPARASITES
DES RIZIÈRES INONDÉES DE CÔTE D'IVOIRE**

**III - ÉTUDES SUR LA DYNAMIQUE DES POPULATIONS
DE DEUX ENDOPARASITES : *HIRSCHMANNIELLA
SPINICAUDATA* ET *HETERODERA ORYZAE****

PAR

G. MERNY**

RÉSUMÉ

La dynamique des populations de deux parasites endophytes du riz en Côte d'Ivoire : Hirschmanniella spinicaudata et Heterodera oryzae, est considérée de trois points de vue : formation et développement d'une population endophyte, formation d'une population exophyte et survie en l'absence de la plante-hôte.

La pénétration en fonction de l'inoculum semble être représentée par l'équation :

$$y = \frac{K}{1 + \frac{a}{x^b}}$$

dans laquelle K, qui constitue la pénétration maxima si l'inoculum est très grand, semble représenter l'agressivité d'un parasite donné à l'égard d'un hôte donné.

Si l'on considère comme population initiale le nombre d'animaux ayant pénétré, on assiste, aux faibles inoculums, à un phénomène de sous-population et il est nécessaire de modifier les formules tirées de l'équation logistique en y introduisant un coefficient de correction.

La population exophyte d'Hirschmanniella spinicaudata ne se reconstitue qu'à la fin de la croissance du riz, quand la place vient à manquer dans les racines.

Les juvéniles d'Heterodera oryzae sont libérés rapidement par les masses d'œufs et plus lentement par les kystes. L'éclosion dans les kystes est stimulée par le sol et par les exsudats de racines de riz. Cependant, les effets de ces deux stimuli ne se surajoutent pas.

La conservation d'Hirschmanniella spinicaudata est meilleure dans les racines que dans le sol et ceci d'autant plus que le sol se dessèche.

* Les 1^{re} et 2^e parties de cette étude sont parues dans les Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Biol. n° 11, p. 3-43 et p. 45-67. L'ensemble de ces travaux a fait l'objet d'une thèse de doctorat ès Sciences naturelles qui a été soutenue le 27 juin 1970 devant la faculté des Sciences d'Abidjan.

** Laboratoire de Nématologie, Centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé, B.P. 20, Abidjan (Côte-d'Ivoire).

Les juvéniles d'Heterodera oryzae ont une longévité très faible, par contre, les masses d'œufs libèrent encore des juvéniles après neuf mois. Cependant, la survie de l'espèce repose surtout sur les kystes, qui libèrent encore des juvéniles après deux ans.

ABSTRACT

The population dynamics of two endophytic parasites of rice in Ivory Coast : Hirschmanniella spinicaudata and Heterodera oryzae has been studied from three points of view : constitution and development of an endophytic population, constitution of an exophytic population and survival without a living host plant.

The influence of the inoculum on the penetration is represented by the equation :

$$y = \frac{K}{1 + \frac{a}{x^b}}$$

K being the maximal possible penetration when the inoculum is very high. This coefficient seems to be constant with a given parasite on a given host and to represent the aggressiveness of this parasite toward this host.

If the number of animals which have penetrated at each inoculum level is considered as the initial population, under-populations are noted with the small inocula and a new coefficient ($+\frac{d}{c}$) must be applied to the initial population in the formula derived from the logistic equation.

When an endophytic population of H. spinicaudata develops in the rice roots, an exophytic population begins to build up only at the maturation of rice, when the roots cease to grow.

The emergence of larvae from egg-masses of Heterodera oryzae is important and starts early. It is smaller and starts later in the cysts where it is stimulated by the soil and by rice-root exsudates. However, the effects of both stimuli do not add.

The survival of Hirschmanniella spinicaudata is better in the roots than in the soil, especially if the soil becomes dry.

The survival of Heterodera oryzae larvae in the soil never exceeds 30 days. Larvae can still emerge from egg-masses after nine months and build up a new population. However, the cysts are the main factors of survival, the emergence of larvae being still strong after two years.

Les premiers travaux effectués sur les nématodes phytoparasites présents dans les rizières de Côte d'Ivoire ont fait l'objet de deux précédents articles, l'un (MERNY, 1970) traitant des espèces observées et l'autre (MERNY & DEJARDIN, 1970) relatant un essai d'évaluation de leurs populations.

Parmi les trente espèces observées deux ont été choisies pour faire l'objet d'études biologiques. Toutes deux sont endophytes et leur parasitisme peut, de ce fait, être considéré comme indubitable. L'une : *Hirschmanniella spinicaudata* (SCHUURMANS-STEKHOFEN, 1944), Luc & Goodey, 1963, a été choisie parce que, de tous les parasites certains du riz, c'est le plus fréquent, l'autre : *Heterodera oryzae* Luc & Berdon, 1961, parce que c'est la première espèce de ce genre observée sous les tropiques, dans le biotope assez particulier de la rizière inondée et qu'il pouvait sembler intéressant, a priori, de comparer sa biologie avec celle des espèces du même genre vivant en climat tempéré et aussi parce

que ce genre est connu pour contenir des espèces particulièrement pathogènes, telles *H. rostochiensis* sur la pomme de terre et *H. schachtii* sur la betterave.

Les deux ont en commun d'être des endoparasites, donc d'effectuer une partie au moins de leur cycle à l'intérieur des racines de l'hôte. Elles n'en présentent pas moins entre elles des différences fondamentales :

Hirschmanniella spinicaudata est un endoparasite migrateur, c'est-à-dire que tous les stades de son cycle, qui vivent normalement à l'intérieur des racines de l'hôte, peuvent également en sortir et accomplir dans le sol un trajet plus ou moins long à la recherche d'une autre racine à parasiter. Les œufs sont pondus et éclosent à l'intérieur des racines où plusieurs générations peuvent se succéder (fig. 1a).

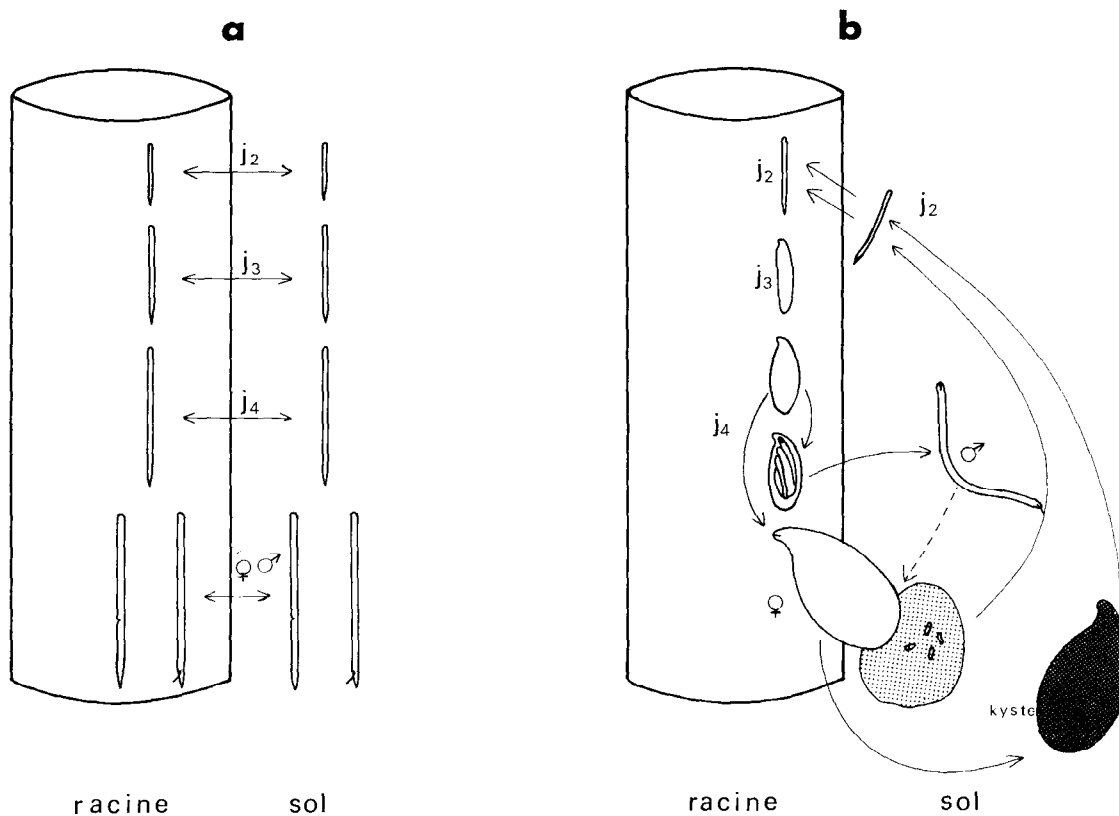


FIG. 1. - Cycles de deux endoparasites. a : *Hirschmanniella spinicaudata* (endoparasite migrateur) ;
b : *Heterodera oryzae* (endoparasite sédentaire)

La migration hors de l'hôte a lieu, vraisemblablement, quand, pour une raison ou une autre, manque de place ou sénescence des racines par exemple, celles-ci ne peuvent plus nourrir toute la population qu'elles hébergent.

Heterodera oryzae, à l'inverse, est un endoparasite sédentaire dont une seule forme, le juvénile du 2^e stade, est mobile. Issu de l'éclosion des œufs contenus dans les masses d'œufs ou les kystes, il envahit le sol à la recherche d'une racine. Après la pénétration, il subit les mues habituelles après avoir pris une position, la tête dans le cylindre central, qu'il ne quittera plus jusqu'à la dernière mue. Si l'adulte qui résulte de celle-ci est une

femelle, elle continuera à occuper le même lieu jusqu'à sa mort et sa transformation en kyste. S'il s'agit d'un mâle il redevient mobile mais limitera ses déplacements à la recherche des femelles sans qu'il s'agisse d'une véritable migration. La génération suivante devra, sous forme de juvéniles du 2^e stade, entrer à nouveau dans les racines pour continuer son développement (fig. 1b).

Les populations des deux parasites comportent donc des phases endophytes et des phases exophytes qui se succèdent selon des modes différents et qui, toutes, sont indispensables à leur maintien et à leur développement. La présente étude, qui a pour objet les rapports entre le parasite, le sol et la plante, a donc débuté par un essai de mise en lumière des rapports entre les deux phases et des processus par lesquels l'une est formée à partir de l'autre. On a considéré ensuite le devenir de populations, soit endophytes soit exophytes, que les circonstances amènent à devoir survivre en l'absence de tout hôte vivant (rapports entre les parasites et le sol).

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les animaux utilisés provenaient d'élevages entretenus au laboratoire sur des plants de riz cultivés soit en pots soit dans des buses de 4 m² spécialement conçues pour la culture du riz inondé. La souche d'*Heterodera oryzae* était originaire de la rizière de Bokakouamékro où l'espèce a été découverte et avait été ramenée par BERDON-BRIZUELA en 1961. Celle d'*Hirschmanniella spinicaudata* provenait d'une rizière de la station de Ferkessedougou et son élevage avait été mis en train par SOUCHAUD. Sauf rares exceptions, l'entretien des souches et les inoculations ont été effectués sur la variété « Moroberekan ».

Les inoculums étaient obtenus, pour *H. oryzae*, en faisant éclore, dans l'eau ordinaire, les œufs contenus dans des masses d'œufs prélevées sur des racines de riz infestées et, pour *H. spinicaudata*, en extrayant, par la méthode de l'aspersion (SEINHORST, 1950) les populations contenues dans les racines.

Pour les deux espèces, les inoculations ont été faites de deux manières :

1. En arrosant, à la pipette, la surface du sol portant un ou plusieurs pieds de riz avec une suspension de nématodes contenant un nombre connu de ceux-ci.

2. En ajoutant une suspension semblable à de la solution nutritive contenue dans un pilulier de verre de 47 cm³. Le pilulier était ainsi à moitié rempli. On plaçait alors, en son centre, le système racinaire d'une jeune plantule de riz et du sable était ajouté en pluie jusqu'à remplir le pilulier. L'intérêt de cette procédure était, au moins en principe, d'homogénéiser l'inoculum dans tout le volume du récipient.

L'étude de l'éclosion des œufs d'*Heterodera oryzae* chez les kystes et les masses d'œufs s'est effectuée sur des tamis circulaires dont la taille variait, selon les cas, de 1,5 à 10 cm, constitués par un anneau de matière plastique sur une face duquel était collé, à l'aide d'une solution de matière plastique dans du chloroforme, un treillis de nylon, dont les mailles étaient assez fines pour retenir les kystes ou les masses d'œufs mais permettait le passage des juvéniles. Dans les cas où l'éclosion avait lieu dans du sol, le fond du tamis était tapissé d'un papier aux fibres assez lâches pour permettre le passage actif des juvéniles. Les kystes utilisés dans ces expériences n'étaient jamais extraits du sol. En effet, les kystes libres dans le sol sont d'âges très divers et le nombre des œufs qu'ils contiennent ainsi que l'état physiologique de ceux-ci sont très variables. On n'a donc utilisé que des kystes nouvellement formés, prélevés directement sur les racines huit à dix semaines après l'inoculation de celles-ci par des juvéniles.

Il est arrivé, pour les études de dynamique des populations, que de grands nombres de juvéniles soient nécessaires et qu'il soit difficile de réunir, en une seule fois, toutes les masses d'œufs nécessaires à leur obtention. Les premières masses d'œufs collectées étaient alors stockées dans un liquide connu sous le nom de « solution de DROPKIN » (DROPKIN, MARTIN & JOHNSON, 1958) destiné à garder les œufs vivants en empêchant leur éclosion et consistant en une solution 0,3 molaire de Na Cl. Quand le nombre nécessaire de masses d'œufs était réuni, celles-ci étaient lavées et mises à éclore dans de l'eau ordinaire. Ce procédé avait, de plus l'avantage de stimuler l'éclosion, REVERSAT (Comm. pers.) ayant démontré qu'un séjour dans la solution de DROPKIN provoquait, par la suite, une éclosion plus rapide et plus abondante.

L'évaluation des populations endophytes, exophytes ou totales s'est effectuée de manières différentes avec l'un et l'autre parasite.

Dans le cas d'*Hirschmanniella spinicaudata*, les populations exophytes étaient extraites du sol à l'aide de l'éluatriateur de SEINHORST (SEINHORST, 1962) et les populations endophytes par la méthode des asperseurs. A ce sujet, un problème s'est posé : l'extraction des animaux par aspersion est lente et les racines, dans ces conditions, peuvent mettre très longtemps à se détériorer. Si l'on prolonge l'opération, il arrive que des animaux soient encore extraits après plusieurs mois. On n'est plus, dans ce cas, en présence d'une véritable extraction des animaux existants au moment de la récolte des racines mais d'un élevage. Pour éviter semblable inconvénient, on s'est fixé d'arrêter les extractions au bout de deux semaines, considérant que les animaux éclos pendant cette période compensaient ceux qui n'avaient pas encore été extraits au moment où le processus était stoppé.

Dans le cas d'*Heterodera oryzae*, l'évaluation du nombre de femelles ou de kystes formés s'est fait par examen direct des racines sous la loupe binoculaire. Celle des œufs contenus dans les masses d'œufs a été faite en les mettant à éclore après un séjour de deux semaines dans la solution de DROPKIN et en comptant, périodiquement, les juvéniles éclos jusqu'à ce que cette éclosion devienne pratiquement nulle. Dans les kystes, cette évaluation a été faite en extrayant les œufs dans un appareil mis au point par DEN OUDEN et dans lequel les kystes subissent un écrasement ménagé entre deux surfaces de verre dépoli. Ce traitement ayant pour effet de faire éclore artificiellement certains œufs, les juvéniles et les œufs étaient comptés indifféremment.

Enfin, quand des comptages d'individus contenus dans les tissus des racines étaient nécessaires, par exemple pour évaluer la pénétration, la coloration de DE GUIRAN (1966) a été utilisée. Après deux minutes dans le lactophénol à ébullition, les racines sont plongées, pendant plusieurs jours dans une solution de bleu coton dans le lactophénol qui se fixe électivement sur les nématodes contenus dans les racines.

2. CONSTITUTION ET CROISSANCE DE LA POPULATION ENDOPHYTE A PARTIR D'UN INOCULUM EXOPHYTE

Les nématodes endoparasites vivent et se reproduisent normalement à l'intérieur des racines de l'hôte où ils accomplissent au moins une partie de leur cycle de développement. La présence d'une plante-hôte est donc nécessaire à leur survie et à leur croissance.

Quand une population exophyte d'un endoparasite se trouve, dans le sol, en présence des racines d'une plante-hôte, il est indispensable, pour que cette population survive et s'accroisse, qu'une certaine proportion des individus qui la composent

pénètrent dans les racines de l'hôte et soient le point de départ d'une population endophyte.

Le premier acte de la constitution et de la croissance d'une population endophyte est donc la pénétration. C'est ce phénomène qui sera envisagé en premier lieu.

2.1. Pénétration.

Dans le sol, les racines de la plante-hôte se trouvent en présence d'une population composée, dans le cas d'*Hirschmanniella spinicaudata*, de tous les stades du développement, depuis le juvénile du 2^e stade jusqu'à l'adulte, et, dans celui d'*Heterodera oryzae*, des seuls juvéniles du 2^e stade.

Chaque animal, pris individuellement, possède une certaine capacité d'entrer dans une racine, qualité qu'on peut désigner sous le nom d'« agressivité ». Il semble très probable, à priori, que l'agressivité va varier d'un individu à l'autre et que de ce point de vue la population exophyte sera hétérogène. Une population possèdera cependant une « agressivité moyenne » qui s'exprimera par la proportion des individus qu'on peut s'attendre à voir pénétrer dans des conditions définies. Cette agressivité moyenne pourra également varier d'une espèce à l'autre et même d'une souche à l'autre de la même espèce.

On peut penser aussi que l'hôte jouera un rôle important dans l'intensité de la pénétration et que celle-ci variera selon son âge, sa densité, son état physiologique et sa variété.

Enfin, les conditions extérieures pourront avoir aussi un rôle déterminant. On a démontré (REVERSAT et MERNY, en préparation) que la granulométrie du sol avait une grande influence sur la pénétration et que la dimension des méats jouait un rôle prépondérant.

Tous ces facteurs vont influencer le phénomène de la pénétration qu'on a tenté de mesurer globalement, en essayant de se placer dans les meilleures conditions pour obtenir une intensité maxima.

2.1.1. *Hirschmanniella spinicaudata*.

Les racines de l'hôte se trouvent en présence, dans le sol, d'une population hétérogène où coexistent tous les stades du développement, les juvéniles du 2^e stade étant, en général, dominants.

Une première question se posait : quels stades étaient capables de pénétrer dans les racines ? Une population a été inoculée à des plants de riz âgés de 4 jours, chez laquelle on avait évalué la proportion des différents stades. Après 24 heures, les racines ont été colorées à la fuschine acide et les proportions des différents stades ont été de nouveau évaluées chez les animaux observés à l'intérieur de celles-ci. Il a été constaté (tabl. 1) que tous les stades étaient également capables de pénétrer.

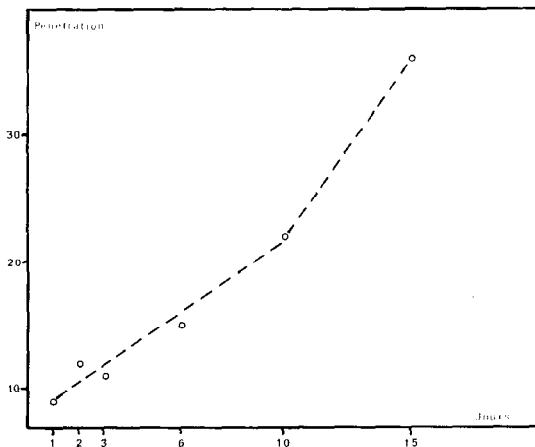
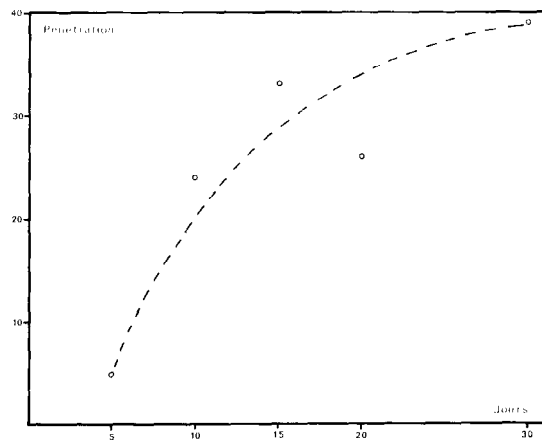
Dans les expériences qui ont suivi, il n'a donc été tenu aucun compte du stade de développement, tous les individus étant considérés comme équivalents en ce qui concernait leur capacité de pénétrer. Les inoculations étaient effectuées sur de jeunes plants de riz d'âge connu, de la variété « Moroberekan » dans des piluliers de 47 cm³, sur un mélange de sable lavé et de solution nutritive (Hoagland diluée 2 fois). Les nématodes étaient mis en suspension dans la solution nutritive dans laquelle on plongeait le système racinaire des plants de riz avant d'y verser le sable en pluie pour assurer la meilleure répartition possible des parasites dans le milieu.

TABLEAU I

Stades	Inoculum (%)	Animaux ayant pénétré après 24 heures (%)
Juveniles II	88	88,8
Juveniles III	5,5	3,4
Juveniles IV	2,7	4,4
Adultes	3,8	3,4

a) *Vitesse de pénétration.*

Au cours d'une première expérience, 130 animaux étaient inoculés par plantule de riz âgée de 4 jours. Après 1, 2, 3, 6, 10 et 15 jours, 10 systèmes radiculaires, respectivement, étaient extraits et colorés à la fuchsine acide et l'on comptait, dans chacun, le nombre de parasites ayant pénétré. On constate (fig. 2) que, pendant les 10 premiers jours, la courbe représentant la pénétration en fonction du temps est pratiquement une droite. Il semblerait qu'entre 10 et 15 jours, la pénétration soit devenue plus rapide. En réalité à 15 jours, la proportion des juvéniles du 2^e stade a augmenté. On est alors en présence du début de la génération suivante. Le laps de temps de 10 jours a donc été choisi pour toutes les expériences ultérieures.

FIG. 2. — Pénétration d'*Hirschmanniella spinicaudata* dans les racines du riz en fonction du temps,FIG. 3. — Pénétration d'*Hirschmanniella spinicaudata* dans les racines du riz en fonction de l'âge de la plante.b) *Influence de l'âge du plant de riz sur la pénétration.*

Deux cents individus ont été inoculés, dans les mêmes conditions que précédemment, à des plants de riz 5, 10, 15, 20 et 30 jours après la mise en germination des grains. Les résultats de cette expérience sont donnés à la figure 3. La pénétration, faible sur les plants âgés de cinq jours est forte sur tous les autres. Il semble qu'elle soit pratiquement équivalente sur ceux de 15 à 30 jours. L'âge de 15 jours a été choisi pour l'expérience suivante.

c) *Influence de l'inoculum sur la pénétration.*

La question principale restait : dans quelle mesure un inoculum exophyte préexistant est-il capable d'être à l'origine de la formation d'une population endophyte importante ? Autrement dit : en quel inoculum endophyte se transformera un inoculum exophyte donné et, par cela même, quelle pourra être l'importance de la population endophyte finale dont il sera le point de départ ?

Pour y répondre, deux expériences ont été effectuées. Dans les deux cas, des plants de riz âgés de 15 jours étaient mis en présence d'inoculum variables. Après 10 jours, les systèmes racinaires étaient lavés, colorés à la fuchsine acide et on comptait les animaux ayant pénétré. La méthode de préparation des inoculum consistait à partir d'une suspension concentrée qu'on étendait par dilutions successives. Chaque inoculum était obtenu en diluant trois ou quatre fois l'inoculum précédent. Avant l'inoculation, 3 cm³ de suspension étaient prélevés et les animaux présents y étaient comptés de façon à obtenir une évaluation de l'inoculum réel, lequel différait parfois sensiblement de l'inoculum théorique.

Les inoculum réels étaient les suivants :

— 1^{re} expérience : 2 661, 632, 121, 30, 8.

— 2^e expérience : 10 280, 3 510, 930, 316, 144, 33.

Les résultats de ces deux expériences sont donnés au tableau II.

TABLEAU II

Inoculum	Pénétration	
	1 ^{re} expérience	2 ^e expérience
8	3	
30	5	
33		4
114		5
121	21	
316		20
632	74	
930		48
2.661	161	
3.510		115
10.280		180

Si les chiffres obtenus diffèrent sensiblement en valeur absolue, l'allure du phénomène est la même dans les deux cas. Des essais d'expression mathématique de la pénétration en fonction de l'inoculum, effectués par approximations successives, ont montré que les points expérimentaux pourraient s'ajuster à une courbe répondant à l'équation :

$$y = \frac{K}{1 + \frac{a}{x^b}} \quad (1)$$

dans laquelle x représente l'inoculum, y le nombre d'individus ayant pénétré et K le nombre maximum d'individus pouvant pénétrer, dans les conditions de l'expérience, si l'inoculum devient très grand.

Si x tend vers l'infini, y tend vers K , qui représente la pénétration maximale possible. Si x tend vers 0, le dénominateur tend vers l'infini et y tend vers 0. La courbe représentant l'équation passe donc par l'origine.

Cette équation peut s'exprimer sous la forme :

$$y = \frac{K}{1 + 10^{A - b \log x}}$$

dans laquelle $A = \log a$. Elle correspond à une logistique, à cela près que la variable n'y est pas x mais $\log x$.

Si la formule (1) rend compte du phénomène, on doit avoir :

$$\frac{1}{y} = \frac{1 + \frac{a}{x^b}}{K} \quad (2)$$

d'où l'on tire :

$$\frac{K}{y} = 1 + \frac{a}{x^b}$$

$$\frac{K}{y} - 1 = \frac{a}{x^b}$$

$$\log \left(\frac{K}{y} - 1 \right) = \log a - b \log x \quad (3)$$

Si K est donné, la courbe exprimant $\log \left(\frac{K}{y} - 1 \right)$ en fonction de $\log x$ doit être une droite, $\log a$ et b étant, respectivement, l'ordonnée à l'origine et la pente de la droite. En faisant varier K , il est possible d'apprécier la valeur de ce coefficient pour laquelle les points représentant $\log \left(\frac{K}{y} - 1 \right)$ en fonction de $\log x$ s'alignent le mieux. Le calcul de la droite de régression donne alors, directement, la valeur de b et celle de $\log a$, d'où l'on déduit a . La figure 4 donne, en exemple du calcul de ces coefficients, celui ayant trait à la deuxième expérience.

Pour les deux expériences, les équations obtenues par cette méthode sont, respectivement :

$$y = \frac{270}{1 + \frac{731}{x^{0,872}}} \quad \text{et} \quad y = \frac{270}{1 + \frac{2339}{x^{0,908}}}$$

Les courbes théoriques représentant ces formules sont données à la figure 5. Les points expérimentaux s'y ajustent de façon satisfaisante. Dans les deux cas, les points correspondant aux deux niveaux d'inoculum les plus faibles s'écartent sensiblement de la courbe théorique. Ce fait doit pouvoir s'expliquer par la grande variabilité des résultats obtenus à ces niveaux.

Si l'on examine le tableau II, on constate qu'à inoculum égal la pénétration a été sensiblement plus importante dans la première expérience. Cependant, le coefficient K est resté le même, le maximum de pénétration possible n'ayant pas varié d'une expérience à l'autre. Seuls les coefficients a et b ont varié.

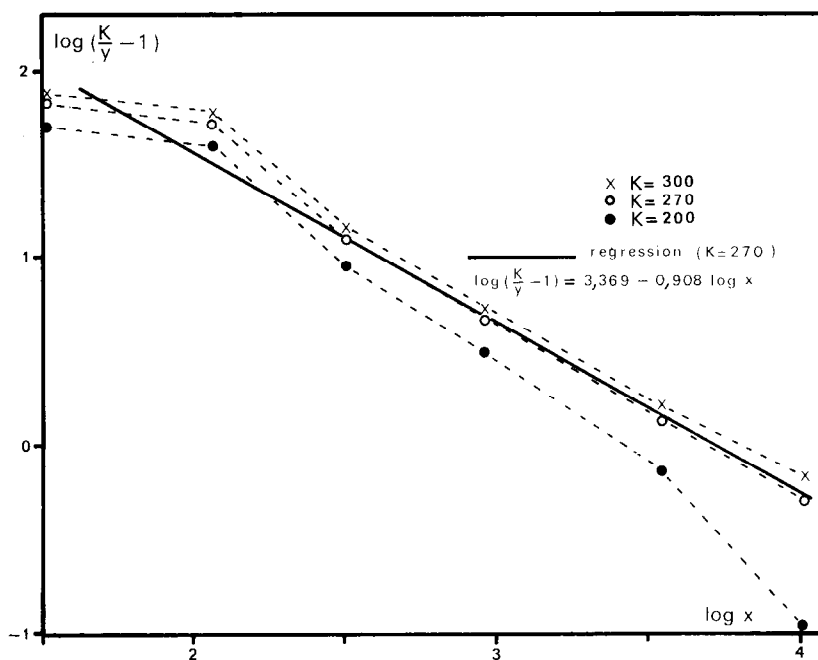


FIG. 4. — Pénétration d'*Hirschmanniella spinicaudata* dans les racines du riz en fonction de l'inoculum
Détermination de K

2.1.2. *Heterodera oryzae*.

L'inoculum, dans ce cas, n'est plus composé que de juvéniles du 2^e stade, qu'on obtient en mettant des masses d'œufs à éclore dans l'eau. Ainsi qu'il a été établi au cours d'une expérience qui sera relatée dans un chapitre ultérieur, la vie des juvéniles du 2^e stade d'*Heterodera oryzae* a une durée assez limitée et il semble très possible qu'une certaine proportion des juvéniles perdent assez rapidement leur agressivité. Pour homogénéiser l'inoculum, on n'a utilisé que des juvéniles éclos au cours des 3 derniers jours.

Au cours des expériences préliminaires (REVERSAT et MERNY, en préparation), on a utilisé les mêmes méthodes que pour *Hirschmanniella spinicaudata*. Il a pu ainsi être démontré que la pénétration augmentait avec l'âge des plants de riz et qu'elle était d'autant plus forte que l'hôte restait plus longtemps en contact avec l'inoculum. Cependant, après deux semaines, on observait la formation des premières masses d'œufs à partir desquelles risquait de se développer un inoculum additif appartenant à la génération suivante.

L'expérience ayant pour but de connaître l'influence du niveau d'inoculum sur l'importance de la pénétration a donc été effectuée sur des plants âgés de deux semaines qu'on laissait en contact avec l'inoculum pendant deux semaines également.

On avait cependant remarqué que, dans le sable arrosé d'une solution nutritive, la pénétration était sensiblement moins forte que dans le sol. Cette expérience a donc été faite sur du sol, dans des récipients de matière plastique opaque d'une contenance de 200 cm³. L'inoculum était appliqué à la pipette, par aspersion de la surface du sol.

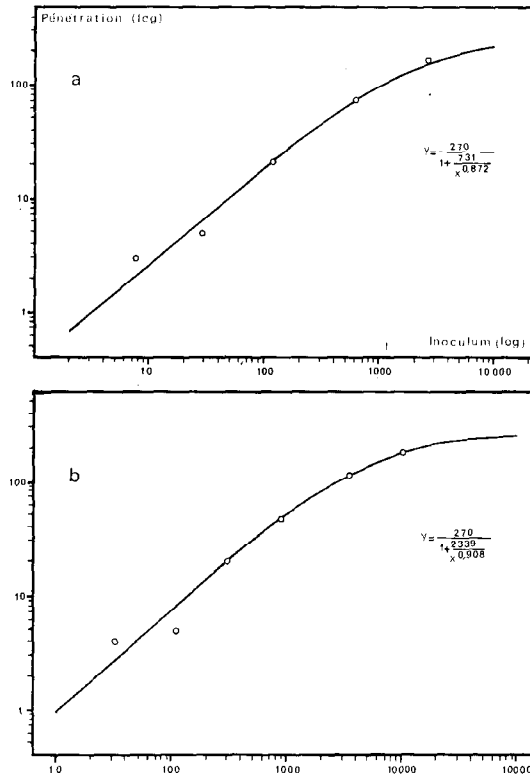


FIG. 5. - Pénétration d'*Hirschmanniella spinicaudata* dans les racines du riz en fonction de l'inoculum.

Ajustement des points expérimentaux à l'équation $y = \frac{K}{1 + \frac{a}{x^b}}$.

a : 1^{re} expérience ; b : 2^e expérience

Les inoculums réels, mesurés à la lame de Peters, étaient respectivement de : 5 190, 1 560, 646, 189, 62 et 18 juvéniles.

La pénétration a été observée après coloration des racines par la méthode de De GUIRAN (1966) mieux adaptée aux *Heteroderidae* que la coloration à la fuchsine acide.

Les résultats bruts sont donnés au tableau III.

L'application de la formule (1) après appréciation de K par la méthode définie ci-dessus amène à l'expression :

$$y = \frac{35}{1 + \frac{390}{x^{0,949}}}$$

TABLEAU III

Inoculum réel	Pénétration moyenne (n = 20)
18	1,2
62	4,3
189	10,7
646	14,0
1.560	29,8
5.190	30,3

Les points expérimentaux s'ajustent de façon satisfaisante à la courbe représentant cette équation (fig. 6).

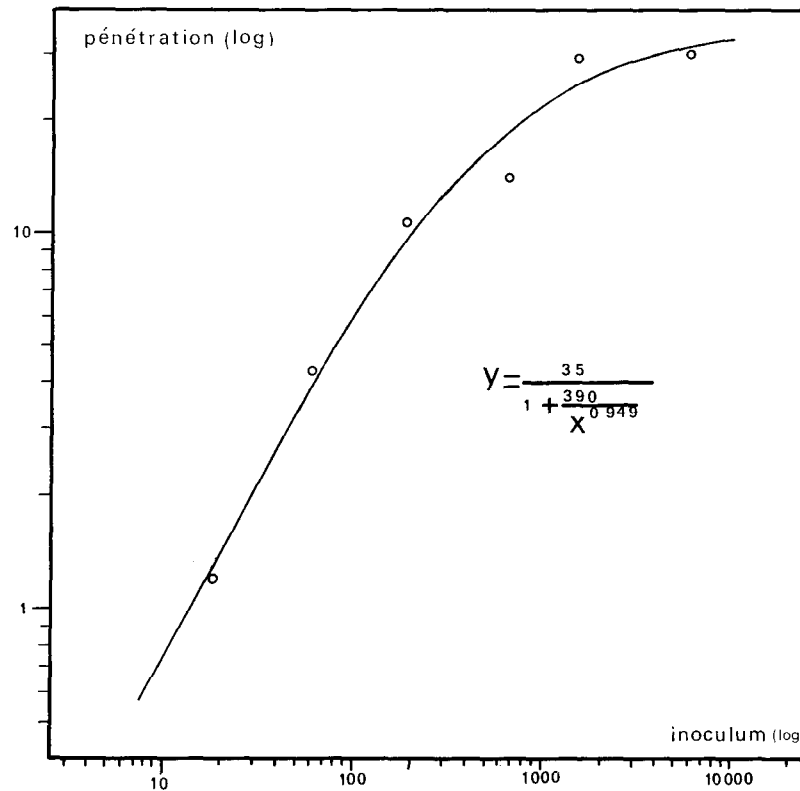


FIG. 6. - Pénétration d'*Heterodera oryzae* dans les racines du riz en fonction de l'inoculum.

Ajustement des points expérimentaux à l'équation : $y = \frac{K}{1 + \frac{a}{x^b}}$

Une première expérience, effectuée sur sable, dans des piluliers de 47 cm³, avec des plants âgés de 5 jours et où la pénétration avait été très sensiblement moins forte, avait conduit à l'expression :

$$y = \frac{40}{1 + \frac{930}{x^{0,732}}}$$

Il est frappant de constater que, comme on l'a déjà observé pour *Hirschmanniella spinicaudata*, le coefficient K semble être une valeur remarquablement stable, à l'inverse des coefficients a et b qui sont très variables.

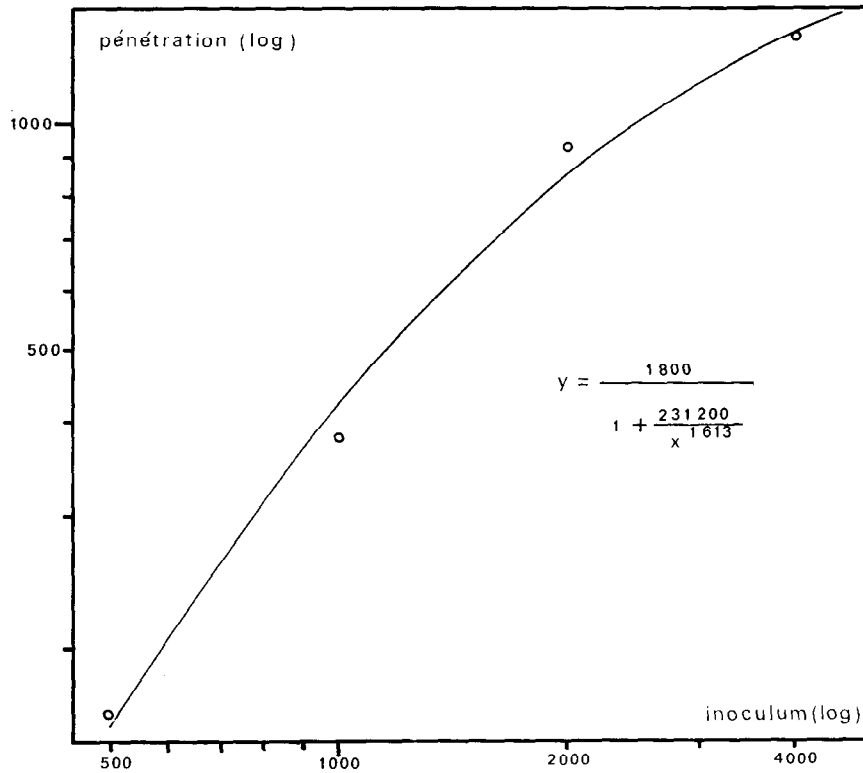


FIG. 7. - Pénétration de *Meloidogyne javanica* dans les racines de la tomate.

Ajustement des points expérimentaux à l'équation : $y = \frac{K}{1 + \frac{a}{x^b}}$

(d'après les résultats de WALLACE, 1966)

Il est intéressant de rapprocher les résultats obtenus avec *Hirschmanniella spinicaudata* et *Heterodera oryzae* de ceux obtenus par WALLACE (1966) avec *Meloidogyne javanica*. WALLACE, étudiant la pénétration de *M. javanica* dans les racines de tomate, fait varier à la fois l'inoculum et le temps de contact entre celui-ci et la racine. Ils s'attache surtout à déterminer le temps à partir duquel la pénétration n'a plus lieu et trouve

qu'elle est pratiquement nulle après 4 à 8 jours, ce qui indique que les juvéniles de *Meloidogyne* ont une longévité très inférieure à celle qui a été observée chez ceux d'*Heterodera oryzae*. Malheureusement, il ne donne pas les nombres obtenus à chaque niveau d'inoculum. On peut cependant les déduire de mesures effectuées sur son graphique. En traitant les données obtenues à 4 jours de la même manière que les précédentes, on constate (fig. 7) que les points expérimentaux s'ajustent à une courbe ayant pour équation :

$$y = \frac{1\ 800}{1 + \frac{231 \cdot 200}{x^{1,613}}}$$

Les coefficients ainsi obtenus sont très différents de ceux auxquels on était arrivé pour les deux parasites précédents. Ils sont tous notablement plus élevés et traduisent des conditions dans lesquelles la pénétration est beaucoup plus importante.

Le fait que la variation de la pénétration en fonction de l'inoculum s'adapte à l'équation (1) n'est qu'une constatation empirique. La signification biologique des coefficients K, a et b reste à définir. Elle ne pourrait être comprise qu'après de longues études au cours desquelles on ferait varier les facteurs dépendant du parasite, de la plante et des conditions extérieures qui ont été évoquées ci-dessus.

Il semblerait que le coefficient K, qui représente la pénétration maxima possible quand l'inoculum tend vers l'infini, soit caractéristique du couple hôte-parasite. S'il paraît varier peu d'une expérience à l'autre avec le même couple, il varie beaucoup d'un couple à l'autre et pourrait peut-être fournir une expression utile de l'agressivité moyenne d'une espèce ou lignée d'un parasite donné vis-à-vis d'un hôte donné. Il ne s'agit encore bien entendu, que d'une présomption qui demande à être confirmée. Les coefficients a et b, par contre, seraient plutôt liés aux facteurs inhérents aux conditions extérieures.

2.2. Croissance de la population.

Les inoculums internes ainsi constitués vont être le point de départ du développement d'une population.

Chez *Hirschmanniella spinicaudata*, l'inoculum, mis à part les cas où il est très faible, comprend tous les stades du parasite, depuis la femelle fécondée qui va pondre jusqu'au juvénile du 2^e stade sur le point de subir sa seconde mue. Pendant les jours qui vont suivre la pénétration, les individus composant l'inoculum vont continuer leur évolution en même temps qu'avec les premières éclosions la génération suivante va se constituer. Les générations seront mêlées et la croissance de la population sera continue.

Chez *Heterodera oryzae*, par contre, tous les individus qui composent l'inoculum sont des juvéniles du 2^e stade. Ils vont se développer parallèlement jusqu'à ce que, mis à part une faible proportion d'individus qui n'accompliront pas le cycle complet, tous soient devenus adultes. Au bout d'un certain temps, environ 4 semaines, la première génération aura terminé son développement et la génération suivante sera contenue, en puissance, à l'état d'œufs, dans les femelles qui vont se transformer en kystes et dans les masses d'œufs. Pour que cette seconde génération se développe, il sera nécessaire qu'un certain nombre de ces œufs éclosent, essentiellement ceux contenus dans les masses d'œufs, qu'une population exophyte de juvéniles du 2^e stade se constitue et qu'une nouvelle pénétration ait lieu. Une forte proportion des œufs, presque tous ceux contenus dans les kystes, ne seront pas utilisés mais serviront de formes de résistance et de réserve pour des populations futures.

2.2.1. *Hirschmanniella spinicaudata*.

Il est bien connu que, dans la plupart des cas, le développement d'une population animale dans un espace limité en fonction du temps suit la loi

$$N = \frac{K}{1 + e^{(a - r_m t)}} \text{ que SEINHORST (1966) formule : } P = \frac{E}{1 + e^{k - rt}} \quad (4)$$

correspondant à une courbe logistique (VERHULST (1839), PEARL & REED (1920)), dans laquelle P est la population au temps t, E représentant la population maxima quand l'espace dont elle dispose est « saturé » et r le taux d'accroissement maximum, k étant une constante d'intégration.

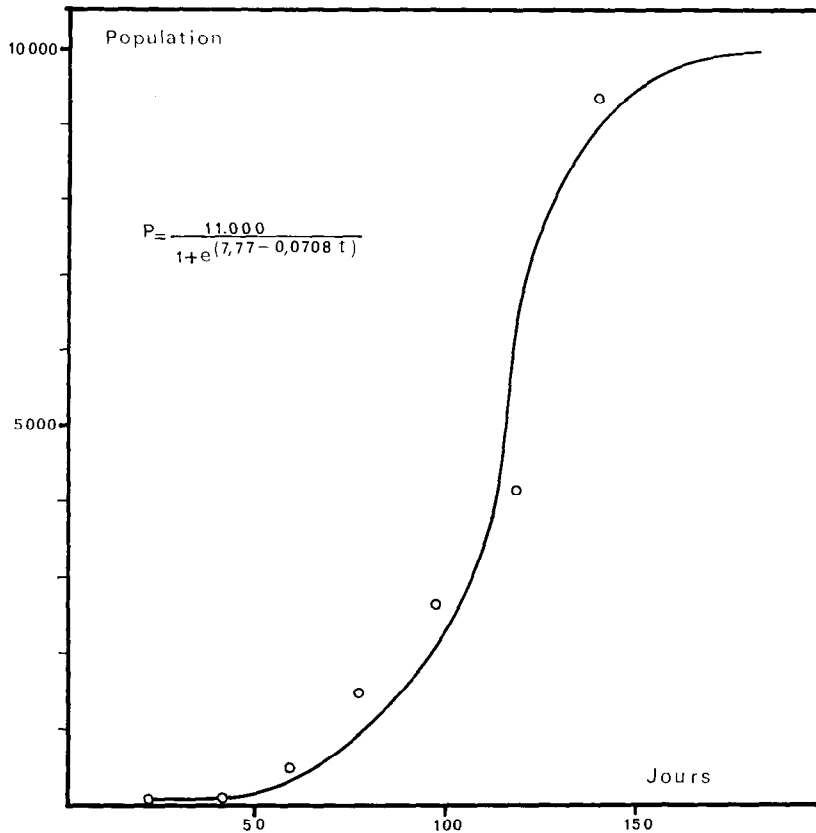


FIG. 8. — Développement, dans le temps, d'une population d'*Hirschmanniella spinicaudata* à partir d'un inoculum donné.

Ajustement des points expérimentaux à l'équation : $P = \frac{E}{1 + e^{k - rt}}$

L'étude du développement dans le temps, d'une population résultant d'un inoculum connu peut donc fournir d'utiles renseignements sur les possibilités de développement d'une espèce de nématode parasite sur un hôte donné et dans des conditions déterminées.

Soixante-dix plantules de riz, croissant séparément dans des pots d'environ 5 l ont reçu, chacune, un inoculum exophyte de 500 individus. A des intervalles d'environ

20 jours, des séries de 10 pots étaient prélevées et les systèmes radiculaires placés à l'asperseur pour en extraire la population endophyte qu'ils contenaient. Au bout de deux semaines, les individus extraits de chaque système racinaire étaient totalisés. La croissance de la population a pu ainsi être suivie pendant 140 jours représentant le cycle végétatif du riz (fig. 8). Partant de l'hypothèse que les points expérimentaux ainsi obtenus s'ajustaient à une courbe logistique, les coefficients E, r et k ont été appréciés par la méthode décrite par PEARL (1930). Dans le cas présent, l'équation représentant la population en fonction du temps est :

$$P = \frac{11\,000}{1 + e^{(7,77 - 0,0708 t)}}$$

Les points expérimentaux de la figure 8 s'y ajustent d'une façon suffisante pour qu'on puisse considérer que l'équation (4) s'applique au cas présent.

Cependant, une telle expérience ne renseigne que sur le développement d'une population à partir d'un inoculum exophyte donné. On peut considérer que le véritable inoculum n'est constitué que par les individus qui ont pénétré dans les racines et qui y continuent leur développement. Par ailleurs, le fait qu'à partir d'un inoculum de 500 individus, le développement de la population ait pris une certaine forme ne permet pas d'en conclure qu'il en serait de même avec des inoculums plus forts ou plus faibles. Enfin, comme le fait remarquer SEINHORST (1966) la mesure de la densité de population à des temps différents ne permet pas de vérifier avec rigueur l'applicabilité de l'équation de VERHULST-PEARL. Pendant le temps que dure l'expérience, la plante continue sa croissance et, de ce fait, le coefficient E, représentant le nombre maximum d'animaux qu'elle peut héberger, n'est pas constant. Il est donc préférable de mesurer le développement des populations à partir d'inoculums différents, les conditions dans lesquelles les plantes effectuent leur croissance demeurant constantes.

En appliquant la formule (4) la population finale (P_f) s'exprime, en fonction de la population initiale, par l'équation :

$$P_f = \frac{E a P_i}{(a - 1)P_i + E} \quad (5)$$

dans laquelle a est égal à : $e^{r(t_f - t_i)}$ (SEINHORST, 1966). L'exploitation des résultats obtenus dans une expérience doit permettre de calculer les coefficients a et E.

OOSTENBRINK (1966) en donne une formulation plus simple :

$$P_f = \frac{P_i}{b + c P_i} \quad (6)$$

les coefficients b et c correspondant respectivement, dans la formulation de SEINHORST, à :

$$\frac{1}{a} \quad \text{et} \quad \frac{a - 1}{Ea}$$

Le facteur de reproduction $R \left(= \frac{P_f}{P_i} \right)$ peut alors s'exprimer par la formule :

$$R = \frac{1}{b + c P_i} \quad (7)$$

OOSTENBRINK donne un moyen simple d'apprécier les coefficients b et c , en calculant, pour chaque couple de résultats expérimentaux, P_i , P_f , le coefficient $Z = \frac{P_i}{P_f}$

Il est égal à $b + c P_i$ et la courbe exprimant Z en fonction de P_i est alors une droite, les coefficients b et c étant respectivement l'ordonnée à l'origine et la pente de la droite de régression des points expérimentaux.

L'étude de la dynamique des populations d'*Hirschmanniella spinicaudata* a donc été reprise en évaluant les populations finales obtenues à partir d'inoculum variés.

Des pots portant chacun un pied de riz ont été inoculés avec respectivement : 30, 100, 300, 1 000 et 3 000 individus. Dix répétitions étaient effectuées par niveau d'inoculum. Après la maturation des grains, on a évalué la population endophyte par extraction en plaçant les systèmes radiculaires à l'aspersion (SEINHORST, 1950) et la population exophyte par élutriation à partir d'une partie aliquote du sol contenu dans le pot (tabl. IV). On a tenté d'ajuster les résultats obtenus à l'équation (6).

TABLEAU IV

P_i	P_f
30	3 736
100	4 466
300	12 773
1 000	28 997
3 000	33 759

Le calcul de la régression de $Z \left(= \frac{P_i}{P_f} \right)$ en fonction de P_i (fig. 9) a permis de calculer les coefficients b et c .

$$Z = 0,013 + 0,0000249 P_i$$

L'équation exprimant P_f en fonction de P_i serait donc :

$$P_f = \frac{P_i}{b + c P_i} = \frac{P_i}{0,013 + 0,0000249 P_i}$$

Elle permet d'établir une courbe théorique à laquelle les points expérimentaux s'ajustent de façon satisfaisante (fig. 9).

La deuxième expérience était jumelée avec l'une des expériences précédemment décrites concernant la pénétration. Quarante-cinq répétitions avaient été faites par niveau d'inoculum. Au bout de 10 jours, 20 systèmes radiculaires par niveau d'inoculum étaient colorés à la fuchsine acide pour l'étude de la pénétration, les 25 plants restant étant transférés, après lavage, dans de petites rizières expérimentales de 2×2 m, chaque rizière recevant les 25 plants auxquels on avait appliqué le même inoculum. A maturité on appréciait, pour chaque pied de riz, la population endophyte par la méthode des asperseurs et la population exophyte par élutriation d'échantillons de sol de 1/8 de litre représentant la 320^e partie du volume occupé par la rhizosphère de chaque pied de riz, qui est d'environ 40 litres. La somme des deux grandeurs ainsi obtenues donnait une appréciation de la population finale pour chaque pied (tabl. V).

TABLEAU V

P_1	P_f	$Z = \frac{P_1}{P_f}$
33	172	0,192
114	776	0,147
316	3 620	0,087
930	8 797	0,106
3 510	11 162	0,314
10 280	12 442	0,826

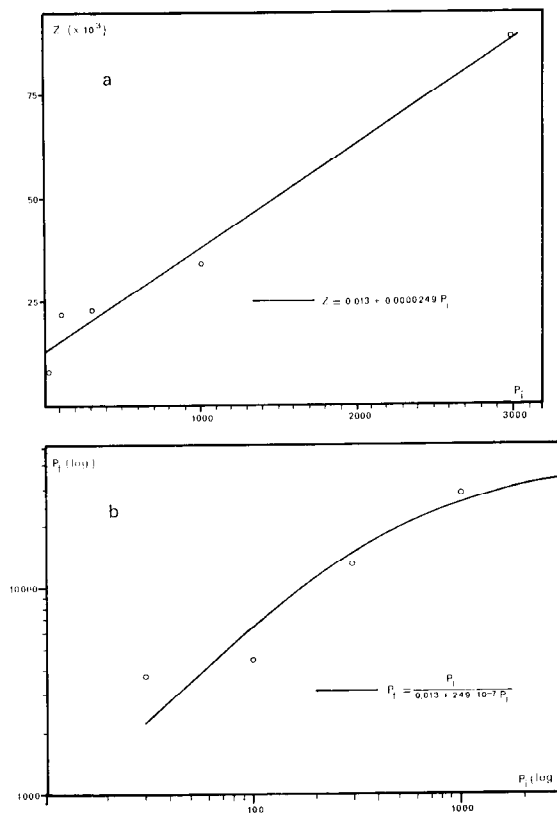


FIG. 9. — Population finale (P_f) d'*Hirschmanniella spinicaudata* en fonction d'un inoculum exophyte.
 a : calcul des coefficients b et c ; b : ajustement des points expérimentaux à l'équation :

$$P_f = \frac{P_1}{b + c P_1} \quad (1^{\text{re}} \text{ expérience})$$

Il est visible (fig. 10a) que la courbe exprimant Z en fonction de P_1 n'est pas une droite, les valeurs de Z correspondant aux faibles inoculums ayant tendance à être trop élevées. Si l'on étudie la régression de Z en fonction de P_1 , on obtient :

$$Z = 0,105 + 0,000068 P_1$$

La population finale doit alors être donnée en fonction de la population initiale, par l'équation :

$$P_f = \frac{P_i}{0,105 + 0,000068P_i} \quad (\text{fig. 10b})$$

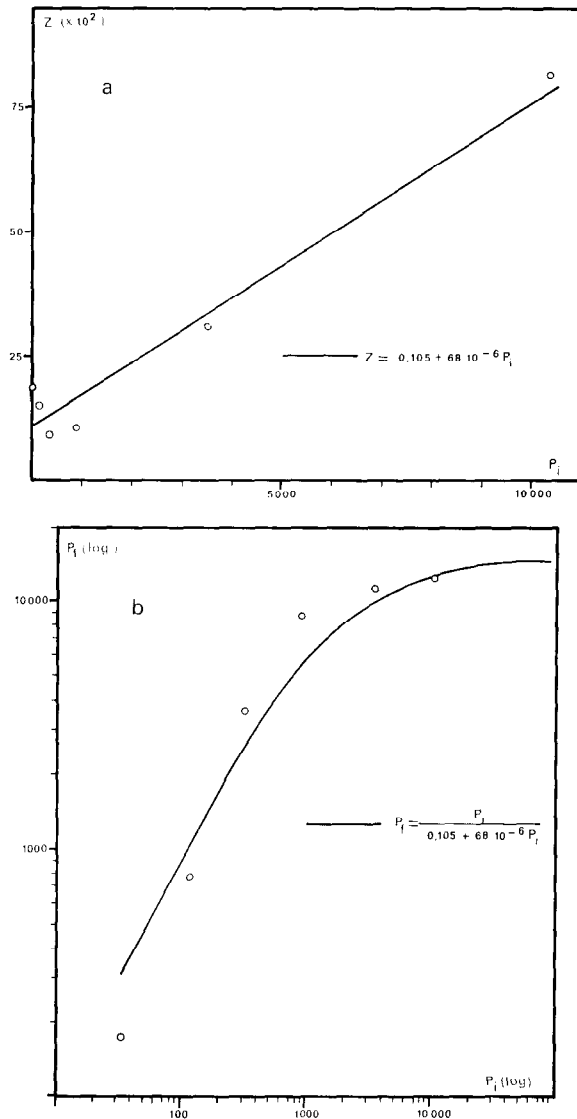


FIG. 10. – Population finale (P_f) d'*Hirschmanniella spinicaudata* en fonction d'un inoculum initial exophyte (P_i) laissé en contact des racines pendant un temps donné. a : calcul des coefficients b et c ;

b : essai d'ajustement des points expérimentaux à l'équation : $P_f = \frac{P_i}{b + c P_i}$
 (l'ajustement est mauvais et la loi de VERHULST-PEARL ne semble pas convenir)

Il est évident que, dans ce cas, les points expérimentaux s'ajustent assez mal à l'équation de VERHULST PEARL. Celle-ci ne rend pas exactement compte du phénomène, ceci semblant être dû, en majeure partie, aux trop fortes valeurs de Z , donc aux trop faibles valeurs de P_t , pour les petits inoculums.

Les inoculations ayant été faites en même temps sur les plants de riz servant à l'étude de la pénétration et sur ceux servant à l'étude du développement de la population, on peut considérer que la pénétration a été sensiblement la même dans les deux lots. Les nombres d'individus ayant pénétré à chaque niveau d'inoculum peuvent donc être considérés comme représentant les inoculums endophytes dans la série destinée à l'étude du développement de la population. Il est donc légitime de les considérer comme populations initiales et de les utiliser dans le calcul du coefficient Z (tabl. VI).

TABLEAU VI

P_i	P_t	Z
4	172	0,0233
5	776	0,0064
20	3 620	0,0055
48	8 797	0,0055
115	11 162	0,0103
180	12 442	0,0145

Le phénomène constaté précédemment s'est fortement accentué, les valeurs de Z devenant rapidement très élevées pour les faibles valeurs de P_i (fig. 11a). La courbe n'est pas une droite mais les points expérimentaux semblent s'ajuster au mieux à une hyperbole de formule :

$$Z = \frac{a P_i^2 + b P_i}{c P_i + d} \quad (8)$$

admettant une asymptote parallèle à l'axe des Z et d'abscisse égale à $-\frac{d}{c}$ et une asymptote oblique passant par l'origine et de pente égale à $\frac{a}{c}$

Si l'équation (8) est exacte, P_t en fonction de P_i doit être exprimé par la relation :

$$P_t = \frac{P_i}{Z} = \frac{c P_i + d}{a P_i + b} = \frac{P_i + \frac{d}{c}}{\frac{a}{c} P_i + \frac{b}{c}} \quad (9)$$

dont la courbe représentative est une hyperbole équilatère dont les asymptotes ont respectivement pour abscisse et pour ordonnée :

$$-\frac{b}{a} \quad \text{et} \quad \frac{c}{a}$$

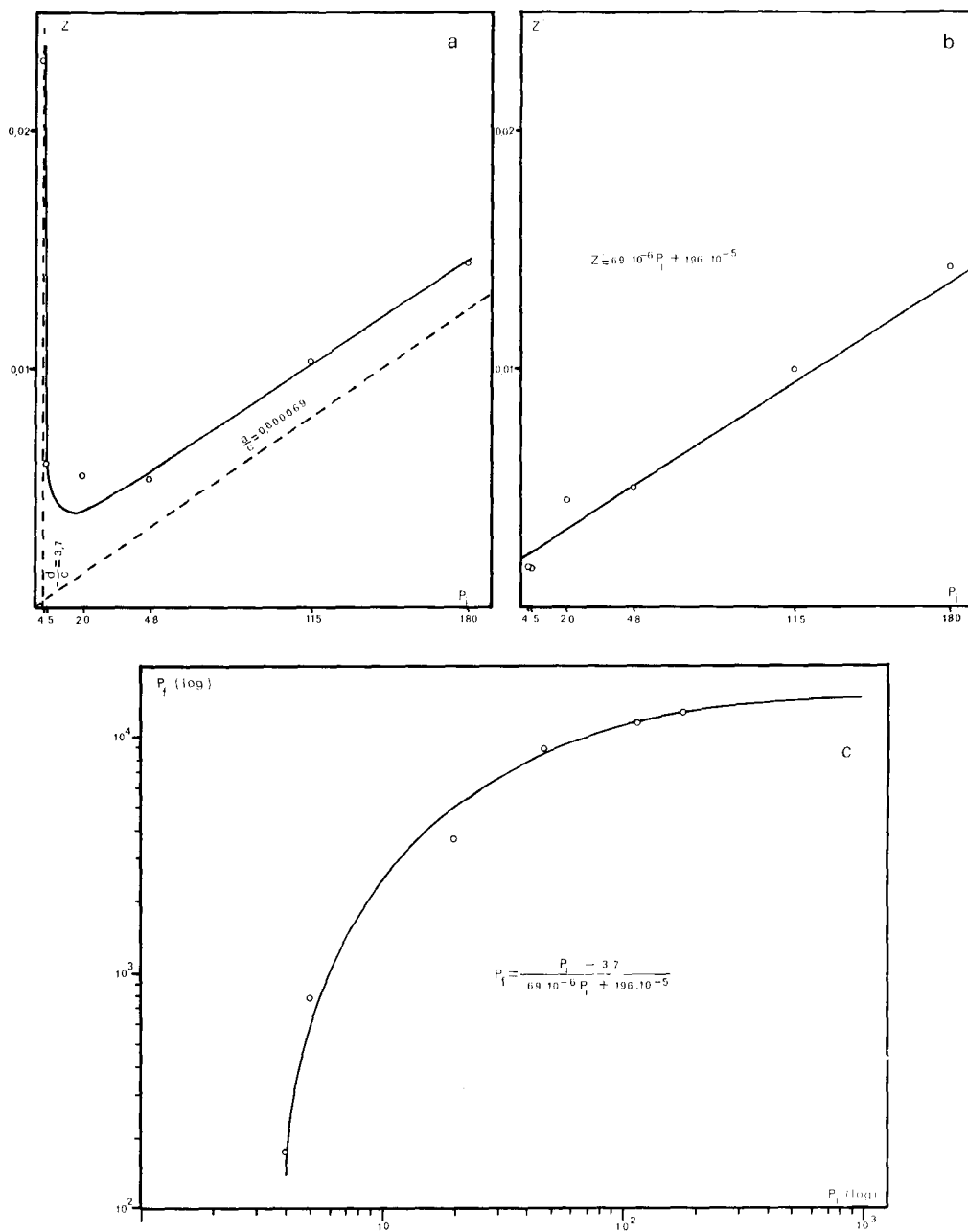


FIG. 11. - Population finale (P_f) d'*Hirschmanniella spinicaudata* en fonction du nombre des individus ayant effectivement pénétré dans les racines (P_i).

$$a : \text{courbe} : Z = \frac{\frac{a}{c} P_i^2 + \frac{b}{c} P_i}{P_i + \frac{d}{c}} ; b : \text{calcul des coefficients } \frac{a}{c} \text{ et } \frac{b}{c} ;$$

c : ajustement des points expérimentaux à l'équation : $P_f = \frac{P_i + \frac{d}{c}}{\frac{a}{c} P_i + \frac{b}{c}}$

Si l'on pose $Z' = \frac{P_i + \frac{d}{c}}{P_f}$, Z' en fonction de P_i s'exprime par la relation :

$$Z' = \left(P_i + \frac{d}{c} \right) \left(\frac{\frac{a}{c} P_i + \frac{b}{c}}{P_i + \frac{d}{c}} \right) = \frac{a}{c} P_i + \frac{b}{c} \quad (10)$$

C'est alors une droite.

D'après les points expérimentaux de la figure 11a, il est visible que $\frac{d}{c}$ a une valeur voisine de 3. Par approximations successives, il est possible de déterminer la valeur de $-\frac{d}{c}$ pour laquelle les points représentant Z' en fonction de P_i s'alignent le mieux. Ici, $-\frac{d}{c}$ peut être considéré comme peu différent de 3,7 (fig. 11b) le calcul de la droite de régression fournissant $\frac{b}{c} = 0,00196$ et $\frac{a}{c} = 0,000069$.

Dans l'équation (8), on peut diviser chacun des membres du 2^e terme par c. On a :

$$Z = \frac{\frac{a}{c} P_i^2 + \frac{b}{c} P_i}{P_i + \frac{d}{c}} = \frac{0,000069 P_i^2 + 0,00196 P_i}{P_i - 3,7}$$

La courbe théorique s'ajuste, de façon satisfaisante, aux points expérimentaux (fig. 11a).

La courbe représentant P_f en fonction de P_i doit avoir pour équation :

$$P_f = \frac{P_i + \frac{d}{c}}{\frac{a}{c} P_i + \frac{b}{c}} = \frac{P_i - 3,7}{0,000069 P_i + 0,00196} \quad (\text{fig. 11c})$$

Les points expérimentaux s'ajustent, de façon satisfaisante à cette courbe.

Ainsi, dans le cas d'*Hirschmanniella spinicaudata*, espèce bisexuée, chez qui la proportion de mâles et de femelles est voisine de 1, et si l'on considère, comme population initiale, le nombre moyen par pied de riz de nématodes ayant pénétré dans les racines avant transplantation, l'équation de VERHULST-PEARL ne rend pas compte, au moins pour les faibles inoculums, des relations entre la population finale et la population initiale, celles-ci étant liées par une relation du type.

$$P_f = \frac{P_i + \frac{d}{c}}{\frac{a}{c} P_i + \frac{b}{c}}$$

dont la courbe représentative est une hyperbole équilatère.

La différence essentielle entre cette relation et celle de VERHULST-PEARL est l'introduction du coefficient $-\frac{d}{c}$ qui représente le plus petit inoculum théorique pour lequel on peut espérer le développement d'une population, parce qu'au-dessous de cette valeur il y a peu de probabilités pour que cet inoculum contienne une femelle fécondée ou un mâle et une femelle ayant des chances de se rencontrer. Il est également possible que cet effet soit renforcé par un phénomène d'« autogamie » jouant au cours des trois ou quatre générations qui doivent se succéder entre l'inoculation et l'évaluation de la population finale.

A partir de données expérimentales, la courbe exprimant $Z = \frac{P_i}{P_f}$ en fonction de P_i doit permettre d'évaluer le coefficient $\frac{d}{c}$, les deux autres étant évalués en calculant la régression entre :

$$Z' = \frac{P_i + \frac{d}{c}}{P_f} \text{ et } P_i.$$

Le taux de reproduction $R = \frac{1}{Z}$, passe par un maximum qui, dans le cas présent, doit être atteint pour un inoculum moyen d'environ 20 individus.

KORT (1962) étudiant la croissance des populations d'*Heterodera rostochiensis* Woll. et prenant pour unité le kyste, avait, le premier, constaté l'existence d'un niveau d'inoculum pour lequel le taux de reproduction était maximum. Il suggère que les faibles taux de reproduction observés aux faibles inoculums peuvent être dus à des difficultés de reproduction tout en faisant remarquer qu'avec un seul kyste, ce qui est le niveau d'inoculum le plus bas qu'il ait utilisé, il y a peu de chance pour que le nombre de juvéniles du deuxième stade qu'il libère soit vraiment très petit. Il est bien connu que, chez les *Heterodera* la proportion de mâles diminue beaucoup dans les faibles populations et il est possible, comme KORT en émet l'hypothèse, que le nombre des mâles soit alors trop faible pour assurer la fécondation de toutes les femelles.

SEINHORST (1968) a également observé des taux de multiplication particulièrement bas avec de faibles populations initiales de *Rotylenchus uniformis* et les attribue aussi aux faibles chances de fécondation des femelles.

Des résultats des deux expériences qui viennent d'être relatées concernant la dynamique d'une population d'*Hirschmanniella spinicaudata* à partir d'un inoculum exophyte, on peut conclure que, si cet inoculum est laissé un temps indéfini au contact des racines, la loi de croissance exprimant les rapports entre la population initiale et la population finale peut être considérée comme s'ajustant à la formule

$$P_f = \frac{P_i}{b + c P_i}$$

dérivée de celles de VERHULST-PEARL.

Par contre, si l'inoculum exophyte et les racines ne restent en contact que pendant un temps limité (dans le cas présent : 10 jours), les résultats expérimentaux s'ajustent mal à cette relation, les populations finales obtenues aux niveaux d'inoculum les plus bas étant sensiblement trop faibles.

Si l'on considère non plus les inoculums exophytes mais les inoculums endophytes obtenus à chaque niveau et évalués dans une expérience parallèle, la relation de

VERHULST-PEARL n'est plus applicable, le phénomène constaté précédemment s'étant considérablement accentué. L'ajustement des résultats expérimentaux à une loi mathématique, ici une hyperbole équilatère, rendant indispensable l'introduction d'un nouveau coefficient qui correspond au plus petit inoculum possible pouvant être à l'origine du développement d'une population.

2.2.2. *Heterodera oryzae*.

Dans le cas de ce parasite, étudier le développement d'une population pendant tout le cycle de la plante-hôte reviendrait à faire le bilan d'une succession complexe de phénomènes. Plusieurs générations se seraient succédées, entre lesquelles aurait eu lieu la formation de populations exophytes à partir desquelles de nouvelles pénétrations se seraient effectuées. Nous nous sommes donc borné à l'étude du développement de la population pendant une seule génération du parasite.

Là encore, comme dans le cas d'*Hirschmanniella spinicaudata*, les expériences concernant la croissance de la population étaient couplées avec celles ayant pour objet l'étude de la pénétration, la moitié des systèmes radiculaires servant à l'observation de ce dernier phénomène et les autres étant remis en terre pendant la période de quatre semaines nécessaire au développement de la génération suivante. A la fin de ce laps de temps, les systèmes radiculaires étaient examinés et on en extrayait les femelles, généralement porteuses de masses d'œufs, qui y étaient attachées. Après un séjour de deux semaines dans la solution de DROPKIN, elles étaient placées dans de l'eau sur des tamis et l'on comptait chaque jour les juvéniles éclos. Après trois semaines l'éclosion était devenue très faible et les femelles étaient mortes et s'étaient transformées en kystes. Ceux-ci étaient alors dilacérés dans l'appareil de DEN OUDEN, ce qui permettait d'apprécier leur contenu en œufs.

La population initiale était donc constituée par les juvéniles du deuxième stade inoculés et la population finale par les juvéniles du deuxième stade éclos dans les masses d'œufs ou contenus, en puissance, dans les œufs des kystes.

Dans le tableau VII la population finale exprimée représente la moyenne des données observées sur 20 pieds de riz et le taux de reproduction $\left(\frac{P_f}{P_i}\right)$ est donné, dans la colonne (1) en fonction de l'inoculum et dans la colonne (2) en fonction du nombre de parasites ayant pénétré.

TABLEAU VII

Population initiale		Population finale	Taux de reproduction	
Inoculum	Pénétration		(1)	(2)
18	1,2	102	5,7	85
62	4,3	400	6,5	93
189	10,7	1 186	6,2	111
646	14,0	2 484	3,8	177
1 560	29,8	3 425	2,2	115
5 190	30,3	3 147	0,6	104

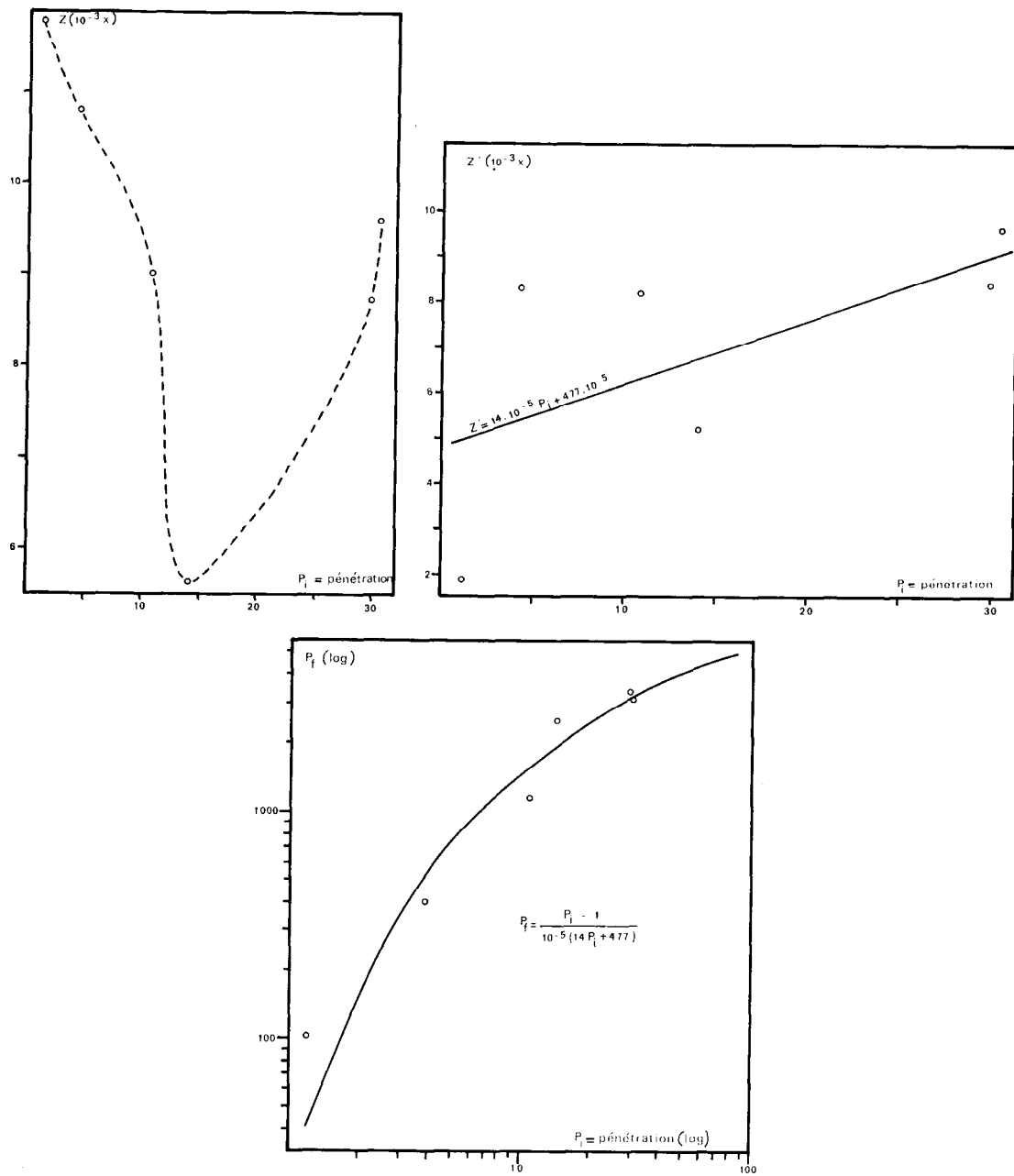


FIG. 12. - Population finale (P_f) d'*Heterodera oryzae* en fonction du nombre des individus ayant effectivement pénétré dans les racines (P_i). a : $Z = \frac{P_i}{P_f}$ en fonction de P_i ;

b : calcul des coefficients $\frac{a}{c}$ et $\frac{b}{c}$; c : ajustement des points expérimentaux à l'équation :

$$P_f = \frac{P_i + \frac{d}{c}}{\frac{a}{c} P_i + \frac{b}{c}}$$

Comme on l'a déjà constaté pour *Hirschmanniella spinicaudata*, le taux de reproduction varie, en fonction de la population initiale, d'une manière très différente selon que celle-ci est représentée par l'inoculum exophyte ou par le nombre d'individus ayant pénétré. Dans le premier cas, si l'on met à part une légère croissance entre le niveau d'inoculum le plus bas et le niveau immédiatement supérieur, le taux de reproduction est régulièrement décroissant et la croissance de la population peut être représentée, à peu de choses près, par une équation logistique. Dans le deuxième cas, le taux de reproduction, d'abord croissant, passe par un maximum et décroît à nouveau aux niveaux d'inoculum élevés.

On constate donc, comme avec *Hirschmanniella spinicaudata*, une sous-population aux inoculums faibles. La courbe représentant Z en fonction de P_i est cependant moins régulière (fig. 12a) et le calcul de Z' , en considérant $-\frac{d}{c}$ égal à 1 ne permet pas d'aligner les points représentant ce coefficient en fonction de P_i . Un calcul de régression permet cependant d'estimer :

$$Z' = 0,00014P_i + 0,00477 \text{ (fig. 12b)}$$

Les coefficients $\frac{a}{c}$ et $\frac{b}{c}$ ainsi calculés permettent d'estimer la population finale en fonction du nombre d'animaux ayant pénétré considéré comme population initiale :

$$P_f = \frac{P_i - 1}{0,00014P_i + 0,00477}$$

Les points expérimentaux s'ajustent grossièrement à la courbe ainsi calculée (fig. 12c).

Chez *Heterodera oryzae*, le phénomène de sous-population aux faibles inoculums se présente donc, grossièrement de la même façon que chez *Hirschmanniella spinicaudata* et, si l'on considère comme population initiale l'inoculum endophyte mesuré dans une expérience parallèle, la loi de VERHULST-PEARL ne s'applique pas à la croissance de la population. Il est cependant plus difficile de donner une expression mathématique du phénomène et l'expression

$$P_f = \frac{P_i + \frac{d}{c}}{\frac{a}{c}P_i + \frac{b}{c}}$$

s'applique mal.

Il est à noter que, au plus faible niveau d'inoculum, une moyenne de 1,8 femelle a été observée par plant. Si l'on y ajoute les mâles, qui n'ont pas été collectés, la pénétration moyenne a dû dépasser deux individus par plant alors qu'elle n'était que de 1,2 dans l'expérience parallèle. Ce fait joint à la grande variabilité caractéristique des *Heteroderidae* peut sans doute expliquer les difficultés éprouvées dans le cas présent. Il n'est pas exclu, cependant, que certaines caractéristiques de la sexualité des espèces de cette famille, notamment la variation du taux des mâles avec l'importance de la population, aient compliqué le phénomène.

3. CONSTITUTION DE LA POPULATION EXOPHYTE A PARTIR DE LA POPULATION ENDOPHYTE PRÉEXISTANTE

Une population vivant à l'intérieur du système racinaire d'un pied de riz a un développement limité. Deux facteurs limitants vont jouer : l'espace et le temps. L'importance relative des deux facteurs va être très différente selon qu'il s'agit d'un endoparasite migrateur ou d'un endoparasite sédentaire.

3.1. *Hirschmanniella spinicaudata*.

Dans le cas d'un endoparasite migrateur, on peut imaginer une plante-hôte dont les racines auraient une longévité tendant vers l'infini et continueraient de croître régulièrement. Les générations successives du parasite qu'elle hébergerait coloniseraient, par voie interne, les racines néoformées et, si un équilibre s'établissait entre la croissance des racines et celle de la population du parasite, celui-ci pourrait rester indéfiniment endophyte. Ce schéma est, bien sûr, irréalisable dans la pratique et les racines de la plante-hôte ont une longévité et un développement limités. Le système racinaire du riz augmente, au cours du développement de la plante, d'abord faiblement pendant le premier mois, puis beaucoup plus vite au cours des mois suivants, la taille maximale étant atteinte à la sortie des panicules, au moment où la croissance de la population du parasite est la plus forte (fig. 8). S'il est difficile de connaître la population maximale qu'un système racinaire peut héberger, il est possible que, dans les cas de forte infestation, cette population soit atteinte ou même dépassée à la fin du cycle végétatif du riz. Même si ce n'est pas le cas, les racines restant en terre après la récolte, les parasites vont en sortir soit parce que les populations continuant à s'y développer vont devenir trop fortes soit parce que, les racines pourrissant, la place va y manquer ainsi que la quantité de nourriture disponible. C'est à ce niveau que va intervenir le facteur temps et son rôle ne sera que secondaire puisqu'il n'agira que par l'intermédiaire du facteur espace. Son rôle variera suivant les conditions du sol dans lequel les racines se trouvent : teneur en eau, flore microbienne, qui pourront ralentir ou hâter la désintégration des racines.

Une population d'*Hirschmanniella spinicaudata* verra donc son développement limité par l'espace qui est à sa disposition, soit parce que, son développement étant très rapide, elle atteindra une densité excédant les possibilités des racines qui l'hébergent, soit parce que, avec le temps, cet espace s'amenuisera et viendra à disparaître par la désintégration des racines.

Une population qui s'est constituée pendant le cycle végétatif de la plante-hôte ne pourra donc se prolonger et continuer son développement que si une certaine proportion des individus qui la composent sortent des racines et réussissent à atteindre un autre système racinaire vivant dans lequel une nouvelle population endophyte pourra s'établir. Ce passage ne pourra s'effectuer que grâce à l'existence d'une phase exophyte intermédiaire.

L'étude de la constitution de la population exophyte chez *Hirschmanniella spinicaudata* a porté sur 78 pieds de riz préalablement inoculés avec 500 individus par pied et repiqués dans deux petites rizières expérimentales. Deux fois par mois, 24 prélèvements de sol étaient faits entre les pieds de riz, dans chaque rizière. Ce n'est que 90 jours après l'inoculation, au moment où apparaissent les premiers panicules, qu'une population notable commence à être trouvée dans le sol, mais il faut attendre la maturation du riz pour que la population exophyte augmente de façon considérable (fig. 13).

Après la maturation, la population exophyte continue à croître de façon importante pendant un certain nombre de jours.

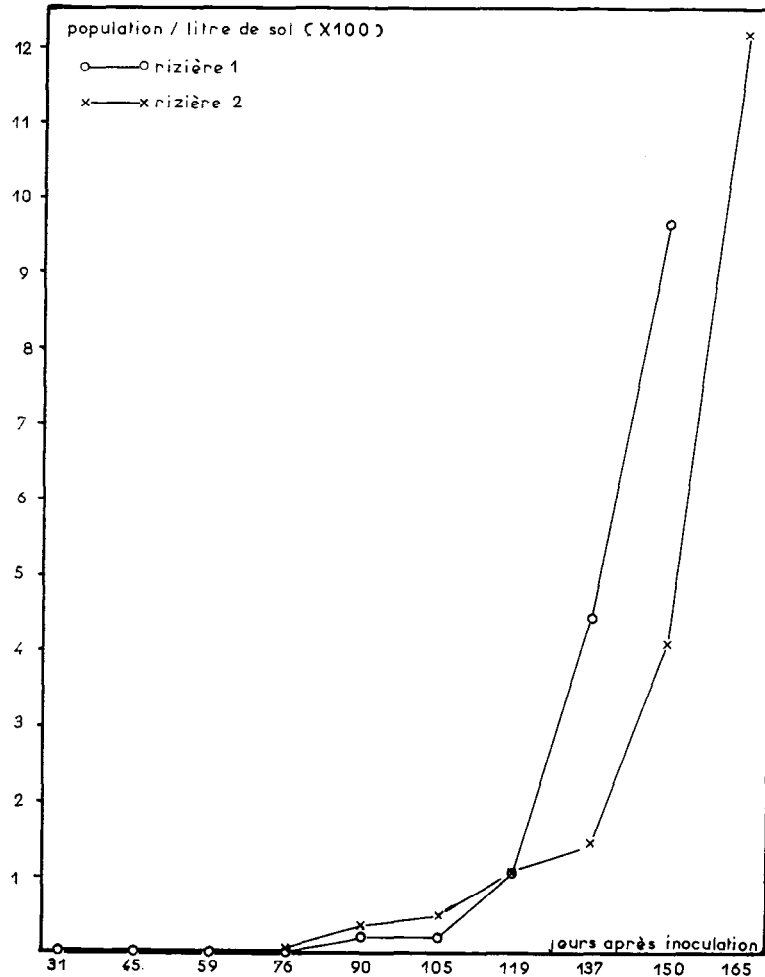


FIG. 13. — Constitution d'une population exophyte d'*Hirschmanniella spinicaudata* dans deux rizières expérimentales pendant un cycle végétatif du riz

C'est donc au moment où la croissance de la population est la plus forte et où celle des racines se ralentit que, les parasites se multipliant trop vite pour pouvoir coloniser régulièrement les tissus de l'hôte au fur et à mesure de leur éclosion, une certaine proportion était obligée d'émigrer dans le sol.

3.2. *Heterodera oryzae*

Dans le cas d'un endoparasite sédentaire, qui est celui d'*Heterodera oryzae*, les processus de formation de la population exophyte sont très différents.

Si l'on considère la proportion des individus constituant l'inoculum primaire, obligatoirement composé de juvéniles du deuxième stade, qui s'est établie dans un système racinaire, on aboutit, au moment où la première génération a terminé son cycle, à un certain nombre d'œufs contenus dans les kystes ou réunis en masse dans la matrice gélatineuse attachée à l'extrémité postérieure des femelles. L'éclosion de ces œufs aura lieu à l'extérieur des racines et, avant que la génération suivante puisse se constituer, les juvéniles du deuxième stade issus de cette éclosion vont devoir passer, obligatoirement, par une phase exophyte avant que certains arrivent à pénétrer dans des racines pour constituer la génération suivante.

C'est donc, dans ce cas, le facteur temps qui va être primordial puisque, à la fin de chaque génération du nématode et quelle que soit la place disponible dans les racines il devra y avoir constitution d'une population exophyte et nouvelle réinfestation de l'hôte.

Chez *Heterodera oryzae*, chercher à connaître les processus de formation de la population exophyte revient donc à étudier le phénomène de l'éclosion des œufs dans les masses d'œufs et les kystes.

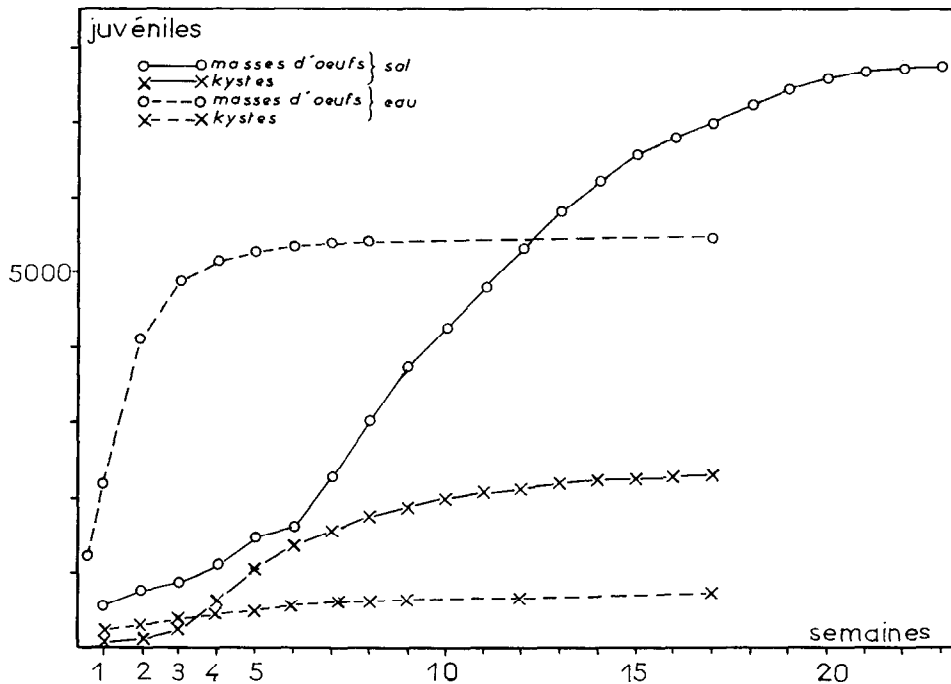


FIG. 14. -- Libération de juvéniles du 2^e stade par des kystes et des masses d'œufs d'*Heterodera oryzae* dans l'eau et dans le sol

3.2.1. Comparaison des kystes et des masses d'œufs.

La libération des juvéniles par les kystes et les masses d'œufs a été comparée dans deux conditions différentes :

a) Dans l'eau, des lots de 50 kystes ou 50 masses d'œufs ont été déposés sur des tamis à mailles larges, placés dans des verres de syracuse et recouverts d'eau ordinaire. Les

juvéniles libérés étaient comptés tous les deux ou trois jours au début et toutes les semaines par la suite.

b) *Dans le sol*, les mêmes lots de kystes ou de masses d'œufs ont été mis dans du sol de forêt préalablement éluétrié trois fois pour en enlever la presque totalité des nématodes qu'il contenait en lui laissant l'essentiel de sa microflore et des éléments chimiques pouvant avoir une influence sur la libération des juvéniles. Ce sol était placé sur un tamis doublé d'un tissu en fibres synthétiques permettant le passage actif des juvéniles mais pas celui du sol. Le tamis était placé dans une boîte de Pétri contenant assez d'eau pour que tous les interstices du sol en soient remplis.

L'examen des courbes de la figure 14 montre que, dans les deux conditions et à nombre égal, les masses d'œufs libèrent beaucoup plus de juvéniles que les kystes néoformés. Il est également évident que, tant chez les masses d'œufs que chez les kystes, la libération des juvéniles dans le sol, si elle est plus lente au début, est finalement plus abondante que dans l'eau. Ceci est particulièrement net pour les kystes qui, au bout de quatre mois, ont libéré trois fois plus de juvéniles dans le sol que dans l'eau.

Il est évident que, même dans le sol, les kystes n'ont libéré qu'une assez faible proportion des œufs qu'ils contenaient. En effet, LUC et BERDON (1961) ont disséqué 10 kystes et y ont compté les œufs. Ils en ont trouvé de 60 à 680 avec une moyenne de 106 alors que, dans l'expérience précédemment décrite, l'éclosion a affecté, en moyenne, une quarantaine d'œufs par kyste. Au bout de quelques semaines, les masses d'œufs avaient vu leur contenu devenir presque nul alors que les kystes contenaient encore un nombre d'œufs représentant un gros potentiel d'infestivité.

Tout semble se passer comme si les masses d'œufs devaient assurer la réinfestation immédiate et la constitution de la génération suivante, les kystes servant de réserve et assurant les réinfestations futures.

3.2.2. *Eclosion dans les kystes.*

Depuis le début du siècle, de nombreux auteurs se sont attachés à découvrir l'influence des facteurs externes sur l'éclosion des larves dans les kystes des nombreuses espèces d'*Heterodera* vivant en milieu tempéré. Les kystes représentent, pour un sol, une source d'infestation permanente et durable et le danger qu'ils représentent pour l'économie de certaines cultures explique l'intérêt qu'ils ont suscité. SHEPHERD (1962) a publié une mise au point critique de la totalité des travaux effectués sur ce sujet. Il en ressort que les conditions optimales pour l'éclosion dans les kystes varient beaucoup d'une espèce à l'autre et que les diverses espèces réagissent parfois de manière très différente à un même stimulus.

Les kystes de certaines espèces, comme *H. schachtii*, *H. trifolii* et *H. glycines* libèrent une certaine quantité de juvéniles dans l'eau, alors que ceux d'autres espèces, telles *H. rostochiensis*, *H. carotae*, etc. n'en libèrent pratiquement pas dans les mêmes conditions. Les diffusats de racines, appliqués « in vitro » à certaines espèces stimulent beaucoup la libération des juvéniles (*H. rostochiensis*) et n'ont aucun effet sur certaines autres (*H. avenae*). De nombreuses espèces présentent un phénomène de dormance, la libération des juvéniles par leurs kystes diminuant beaucoup pendant certains mois de l'année (*H. rostochiensis*, *H. humuli*) ; certaines ne présentent pas du tout ce phénomène (*H. schachtii*), d'autres enfin ont des kystes qui ne libèrent des juvéniles que pendant une courte période de l'année (*H. avenae*).

Chez *Heterodera oryzae*, nous avons mis en lumière l'action stimulante des diffusats de racines et surtout celle du sol qui a fait l'objet d'une étude un peu plus poussée.

Enfin l'influence de l'humidité du sol a été étudiée. Les résultats concernant la longévité des kystes et la libération de juvéniles par ceux-ci sur de longues périodes seront donnés dans un chapitre ultérieur.

La plupart des auteurs qui ont observé la libération des juvéniles par les kystes ont constaté la grande variabilité des résultats obtenus et plusieurs se sont préoccupés de mettre au point une technique permettant de pallier cet inconvénient. FENWICK (1949), travaillant avec *H. rostochiensis*, constate qu'entre des lots de 50 kystes le coefficient de variation est élevé (15%), que la moyenne est du même ordre que l'écart-type et qu'il y a une corrélation entre la moyenne et la variance. Il constate que la transformation :

$$y = \log (x + 1)$$

diminue le coefficient de variation et supprime la corrélation entre la moyenne et la variance, ce qui rend possible une analyse statistique sur les données ainsi transformées.

Toutes les expériences qui vont être relatées ont été faites, au départ, sur des lots de 50 ou 100 kystes néoformés ou masses d'œufs avec cinq répétitions. Chaque fois qu'une analyse statistique était nécessaire, la transformation : $y = \log (x + 1)$ a été effectuée.

a) Influence du sol.

On est frappé de constater que la presque totalité des expériences relatées par les différents auteurs portant sur la libération des juvéniles par les kystes ont été effectuées « in vitro » comme si les résultats pouvaient être intégralement transposés au champ, le sol étant alors considéré comme un support inerte. Or, il a été constaté que, dans le cas d'*Heterodera oryzae*, le sol avait par lui-même une action sur l'éclosion tant chez les masses d'œufs que chez les kystes.

La constatation de l'influence du sol sur l'éclosion des juvéniles chez un *Heterodera* n'est cependant pas un fait entièrement nouveau. Quelques auteurs ont constaté fortuitement des faits semblables mais ne semblent pas en avoir été frappés et n'ont pas poussé plus loin leur étude :

FUCHS (1911) dissèque des kystes d'*H. schachtii* provenant de champs en jachère, sans herbes, depuis plusieurs années et constate que, dans les champs en jachère depuis quatre ans, 20% des kystes sont vides et 55% chez ceux en jachère depuis cinq ans. Il en conclut que les juvéniles sont libérés au fur et à mesure qu'ils arrivent à maturité, si les conditions d'humidité sont favorables, sans que la présence d'un hôte soit nécessaire. Par contre, WINSLOW (1955) note que, chez *H. schachtii*, les percolats de sol ne stimulent pas l'éclosion et, même, semblent parfois l'inhiber.

FENWICK (1950), testant des diffusats de racines sur des kystes d'*H. rostochiensis* sur trois variétés de sol et utilisant comme témoins du sol sans diffusat, constate que, chez ces témoins, 50% des juvéniles ont éclos alors qu'il est bien connu que les kystes d'*H. rostochiensis* ne libèrent pratiquement pas de juvéniles « in vitro » en l'absence de diffusats de racines. TRIFFITT (1930) avait d'ailleurs déjà constaté que, dans un extrait de sol, les kystes d'*H. rostochiensis* donnaient un peu plus de juvéniles que dans l'eau.

Ces auteurs ne semblent pas avoir prêté une grande attention aux faits ainsi constatés et ont continué, au moins en ce qui concerne *H. rostochiensis* et *H. schachtii* à attacher la plus haute importance à la présence d'un diffusat de racines actif, bien que cette action ne rendît pas toujours compte des phénomènes constatés au champ.

1. Terre de forêt et terre de rizière

L'action du sol a été constatée sur un échantillon de terre de forêt. Il restait possible que le, ou les, principes actifs soient particuliers à cette terre et que la terre de rizière

en soit dépourvue. L'activité d'un échantillon de terre prélevé dans une rizière du Centre a été comparée à celle de la terre de forêt (tabl. VIII).

TABLEAU VIII

Nombre moyen de juvéniles libérés par 50 kystes en 21 semaines

Répétitions	Terre de rizière	Terre de forêt
1	479	436
2	3 964	368
3	900	569
4	1 321	1 192
5	626	469
Total	7 290	3 034
Moyenne	1 458	607

Il y a une grande variabilité dans les résultats, d'une répétition à l'autre et, malgré la moyenne nettement plus élevée pour la terre de rizière, l'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre les deux traitements. Cependant, le « sign test » de FISHER appliqué aux résultats bruts indique une différence significative ($p = 0,03$). Il y a donc forte présomption pour que la terre de rizière soit sensiblement plus active que la terre de forêt.

L'expérience a ainsi montré que la terre de rizière était, pour le moins, aussi active que la terre de forêt pour stimuler la libération des juvéniles par les kystes.

2. Action des extraits aqueux de sol

Le sol contenant un ou des principes stimulant la libération des larves par les kystes, il était permis d'émettre l'hypothèse selon laquelle ce ou ces principes agiraient en solution et de tenter d'en faire un extrait aqueux.

Les extraits de sol ont été préparés par la méthode suivante : des quantités égales, en volume, de sol et d'eau sont mélangées dans des récipients en Pyrex bouchés et agités chaque jour à la main pendant quelques secondes. Au bout de deux semaines, après une dernière agitation, on laisse le sol se déposer au fond des récipients. Le surnageant est très trouble à cause de la présence d'un grand nombre de fines particules de sol. Des essais de filtration de ce surnageant ont été faits, sans grand succès, avec des papiers filtres de porosités diverses. Les particules de sol sont si fines qu'elles traversent presque tous les papiers filtres. Finalement, la filtration a été remplacée par une centrifugation à 4 000 tours/minute (2 000 g) pendant 15 mn. De cette façon, une grande partie des particules de sol en suspension sont éliminées mais le surnageant reste nettement trouble. C'est ce surnageant qui a été utilisé dans les expériences sous le nom d'extrait de sol.

Au cours d'une première expérience, les séries de 50 kystes ont été placées dans les conditions suivantes :

- a) extrait de sol ;
- b) extrait de sol ayant subi une stérilisation à 120° pendant 20 mn ;
- c) sol de forêt ayant été porté, pendant 1/2 h, à une température entre 70 et 80°, pour tuer les nématodes qu'il contenait ;
- d) sol déposé dans le fond des récipients de Pyrex après fabrication de l'extrait ;
- e) eau ordinaire.

Les courbes de libération des juvéniles de la figure 15 montrent que les trois premiers traitements ont eu un effet nettement stimulant, si on les compare à l'eau ordinaire (courbes a, b et c). Parmi eux, le plus efficace semble avoir été l'extrait de sol ayant subi une stérilisation par la chaleur. Cependant, l'analyse statistique montre que les résultats obtenus avec les deux extraits du sol ayant, ou non, subi la stérilisation ne sont pas significativement différents. Le chauffage à 120° pendant 20 mn n'a pas augmenté les propriétés stimulantes de l'extrait de sol mais il ne les a pas diminuées. Le ou les principes actifs contenus dans l'extrait de sol sont donc thermostables.

Un effet curieux est celui du sol restant après extraction (courbe d). Il semble avoir inhibé totalement l'éclosion et la libération des juvéniles. On pourrait conclure à la présence dans le sol d'un inhibiteur qui n'aurait pas été entraîné dans l'extrait mais cette hypothèse ne doit être accueillie qu'avec les plus expresses réserves. En effet, pendant la fabrication de l'extrait par la méthode décrite ci-dessus, où les récipients restent fermés, des fermentations anaérobies peuvent avoir eu lieu et, de fait, à la fin d'une fabrication d'extrait de sol, nous avons pu constater que le sol restant et l'extrait lui-même dégajaient une odeur faisant penser à l'action de bactéries sulfureuses, ce qui nous a amené à éliminer les produits de cette fabrication. L'inhibition de nématodes phytoparasites par des produits de fermentation a, d'ailleurs, été déjà constatée. Il s'agissait, en l'occurrence, de fermentations butyriques. Il est donc possible que de semblables fermentations aient eu lieu, à des degrés divers, et qu'elles soient responsables de l'effet inhibiteur manifesté par le sol restant après extraction.

Le mode d'action de l'extrait de sol reste à définir. Il peut avoir un mode d'action physique, notamment par sa pression osmotique, chimique par certains des corps minéraux ou organiques qu'il contient, ou biologique, notamment par les produits d'excrétion des champignons, des bactéries ou des racines des plantes qui s'y trouvent. L'identification du ou des principes actifs obligerait à effectuer une analyse complète du sol portant tant sur les composants minéraux qu'organiques. Il serait nécessaire de connaître les êtres vivants divers qui l'habitent et de tester leurs différents produits d'excrétion. Cette recherche mettrait en œuvre des techniques de microbiologie du sol et de chimie biologique qui sortiraient des moyens et, il faut bien le reconnaître, de la compétence d'un nématologiste.

Une hypothèse pouvait, cependant, être facilement mise à l'épreuve : celle de l'action physique due à la pression osmotique de l'extrait de sol. Une mesure cryoscopique a montré que la pression osmotique de l'extrait de sol utilisé dans les expériences précédemment décrites était voisine de 0,3 atmosphère. L'action de la pression osmotique sur la libération des juvéniles a déjà été constatée par divers auteurs. Notamment, WALLACE (1956) a étudié l'effet de diverses substances organiques ou minérales sur la libération des juvéniles par les kystes d'*H. schachtii*, il a constaté qu'avec certains corps, tels que l'urée, le chlorure de sodium, le saccharose, etc., le phénomène était stimulé à des concentrations variant entre 10^{-4} M et 10^{-2} M et inhibé à des concentrations supérieures et suggéré que cette inhibition était due à la pression osmotique, ce qui semble tout à fait probable. Mais la stimulation à la concentration optima est-elle due à cette même pression osmotique ? On peut en douter. En effet, si elle a été constatée avec

les mono et disaccharides ainsi qu'avec les chlorures alcalins, elle ne l'a pas été avec les polysaccharides et les chlorures alcalino-terreux. Il semble donc que ces corps, qui sont, à des degrés divers, des métabolites, puissent être engagés dans les processus physiologiques de l'éclosion et de la libération des juvéniles et agissent beaucoup plus par leur nature chimique que par leur concentration.

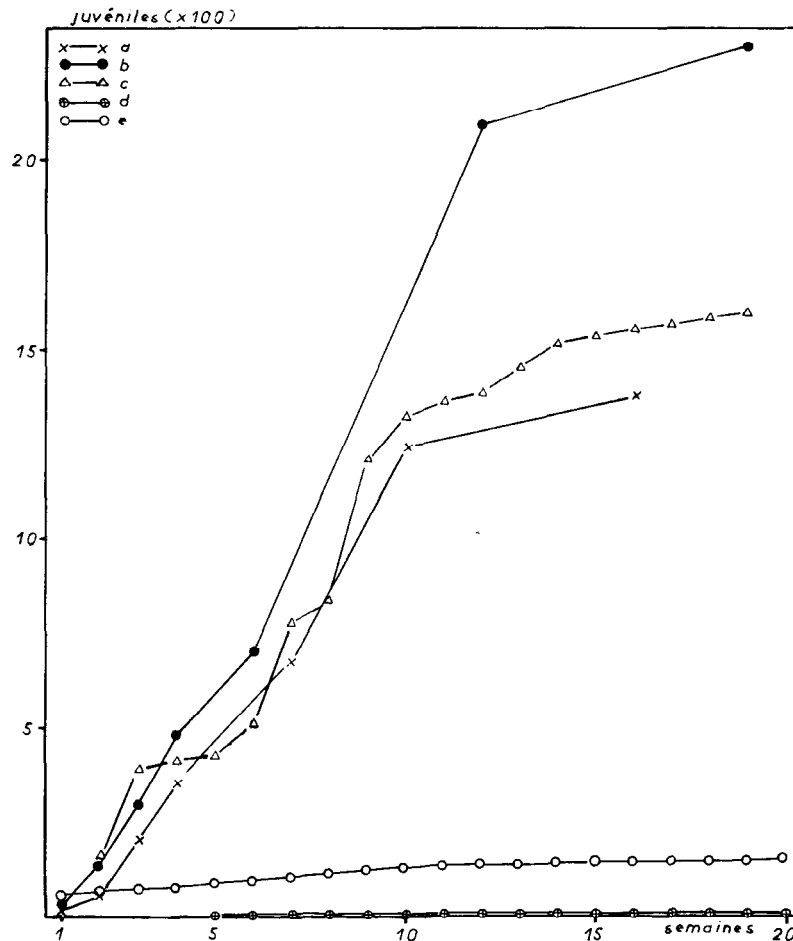


FIG. 15. — Influence du sol et des extraits de sol sur la libération des juvéniles par les kystes d'*Heterodera oryzae*. a : extrait de sol ; b : extrait de sol stérilisé à 120 °C ; c : sol de forêt ; d : sol déposé après fabrication de l'extrait ; e : eau ordinaire

Pour la présente étude, nous avons utilisé un polyéthylène glycol, d'un poids moléculaire de 600, dont le nom commercial est « Carbowax », produit biologiquement inerte et dont l'action éventuelle ne peut être que d'origine physique. Des lots de 50 kystes ont été placés dans des solutions de Carbowax présentant les pressions osmotiques suivantes :

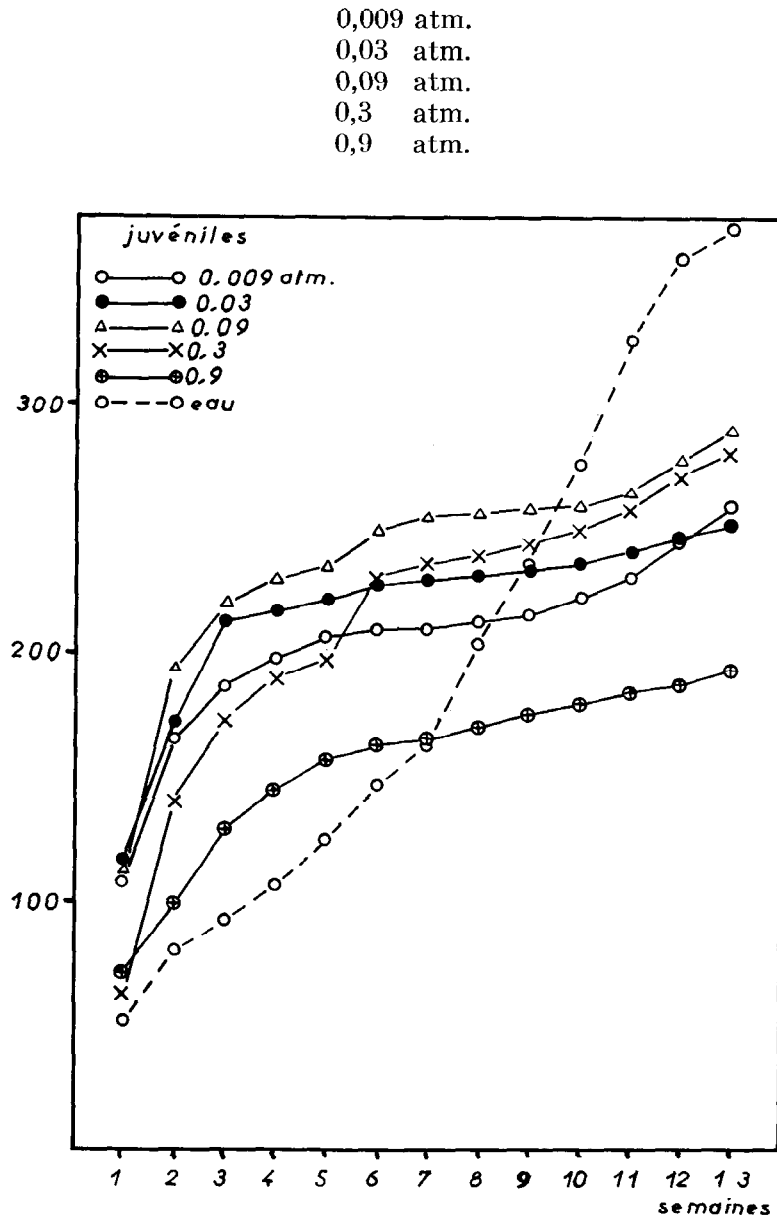


FIG. 16. — Influence de la pression osmotique sur la libération des juvéniles par les kystes d'*Heterodera oryzae*

La figure 16 montre les courbes cumulées de la libération des juvéniles dans ces diverses solutions pendant 13 semaines. Il est hors de doute qu'aucune des concentrations de Carbowax n'a stimulé l'éclosion. Tout au plus peut-on noter, au début, une légère accélération qui semble suivie par une inhibition, la plupart des kystes placés dans le Carbowax devant, semble-t-il, libérer finalement moins de juvéniles que ceux placés dans l'eau. Il est donc hautement improbable que l'effet stimulant de l'extrait de sol soit dû à sa pression osmotique.

Dans des études ultérieures, il peut devenir intéressant de pouvoir exprimer numériquement l'activité potentielle d'un extrait de sol donné. La même question s'est posée pour exprimer celle des diffusats de racines, indispensables à l'éclosion et à la libération des juvéniles chez *H. rostochiensis*. FENWICK (1952) a mis au point l'utilisation d'une unité arbitraire basée sur la dilution du diffusat. Si l'on met en abscisses le logarithme de la dilution du diffusat et en ordonnées le nombre de juvéniles libérés pour chaque dilution, on obtient, pour les dilutions les plus faibles, une droite oblique qui coupe en un certain point la droite tracée parallèlement à l'axe des abscisses et ayant pour ordonnée le nombre de juvéniles libérés dans l'eau. Pour les dilutions plus fortes que l'abscisse de ce point, le nombre de juvéniles libérés est sensiblement le même que dans l'eau. Il a démontré que l'abscisse de ce point ne dépendait pas des kystes utilisés mais caractérisait le diffusat employé. L'unité arbitraire se définit de la façon suivante: si la droite de dilution coupe la ligne « eau » en un point dont l'abscisse correspond à une dilution de 1/1 000, l'activité potentielle du diffusat est de 1 000 unités arbitraires, ce que FENWICK exprime en unités « L.A. » (log activity), par le logarithme de l'activité exprimée en unités arbitraires.

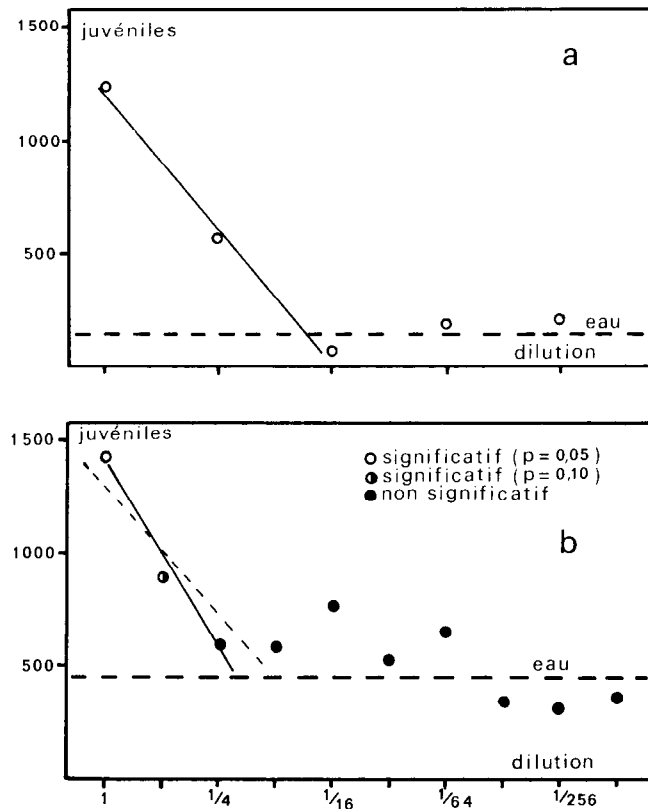


FIG. 17. -- Essai d'obtention d'un mode de mesure de l'activité d'un extrait de sol par la méthode des dilutions de FENWICK

Deux expériences ont été faites, ayant pour but de voir si cette méthode pouvait également s'appliquer à l'extrait de sol. Au cours de la première, les dilutions suivantes

ont été essayées : 1/4, 1/16, 1/64, 1/256 (fig. 17a). Les points obtenus avec les trois premières dilutions sont à peu près alignés et la droite coupe la ligne « eau » pour une dilution voisine de 1/16. Toutefois, il nous a semblé que l'écart entre les dilutions était trop grand et, au cours de la seconde expérience, l'échelle était : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512.

Les résultats sont ici beaucoup moins nets (fig. 17b). Les points correspondant à l'extrait de sol pur et aux deux premières dilutions sont à peu près alignés et la droite qui les joint coupe la ligne « eau » entre les dilutions 1/4 et 1/8. Par contre, une droite de régression calculée sur les quatre premiers points la coupe à la dilution 1/8. Par ailleurs, il semble bien que pour les dilutions plus importantes l'éclosion continue à diminuer lentement et ce n'est qu'à la dilution 1/128 qu'on a une éclosion inférieure à celle obtenue dans l'eau. L'interprétation de ces données présente donc de graves difficultés.

Si l'on analyse statistiquement les résultats après transformation des données en $y = \log(x + 1)$, on s'aperçoit que seuls l'extrait de sol pur et la dilution à 1/2 ont donné des résultats significativement différents de ceux obtenus avec l'eau, le premier traitement au seuil $p = 0,05$ et le second au seuil $p = 0,10$. On doit donc considérer que c'est pour une dilution comprise entre 1/2 et 1/4 que l'extrait cesse d'être plus actif que l'eau.

On peut en conclure que, si l'on dilue l'extrait, il perd son activité beaucoup plus vite que les diffusats de racines employés par FENWICK. Cette méthode ne pourra être employée qu'avec prudence, en utilisant une échelle de dilutions finement dégradée entre 1 et 1/16 au plus et en effectuant un grand nombre de répétitions pour augmenter, autant que possible, la significativité des résultats qu'elle fournira.

En réalité, le terme d'« extrait de sol » employé précédemment est assez impropre car il suppose qu'on a obtenu un produit actif en solution dans l'eau, ce qui n'est nullement prouvé. En effet, le liquide obtenu était toujours plus ou moins trouble et contenait de fines particules de sol en suspension.

On a donc tenté de séparer la fraction colloïdale de l'extrait de sol et de tester son efficacité, comparée à celle de la solution restante. La séparation a été effectuée à l'aide d'un gel de polysaccharides, dont le nom commercial est « Sephadex », qui a la propriété de laisser passer les grosses molécules plus vite et plus facilement que les petites. Par passages répétés à travers une colonne de Sephadex, l'extrait de sol a été séparé en deux fractions. La première, très trouble, contenait toutes les particules colloïdales, la seconde, limpide, ne semblait contenir que les corps en solution cristalloïde dans l'eau.

De jeunes kystes ont été placés dans ces deux fractions, à raison de cinq lots de 50 kystes par fraction. Au bout de cinq mois, 279 juvéniles étaient éclos dans la première fraction et seulement 80 dans la seconde. A l'analyse statistique, cette différence s'est révélée hautement significative ($p = 0,01$ avec le test t). Bien que les nombres d'éclosions obtenues dans cette expérience soient anormalement bas, il semble donc probable que la majorité de la ou des substances actives du sol soit portée par la fraction colloïdale de celui-ci.

b) Influence des diffusats de racines.

Depuis que BAUNACKE (1922) découvrit l'influence des diffusats de racines sur la libération des juvéniles par les kystes d'*Heterodera schachtii*, le phénomène a été étudié chez la plupart des espèces d'*Heterodera* et des différences très grandes ont été observées d'une espèce à l'autre. Alors que la présence de diffusats de racines est presque indispensable pour que des juvéniles soient libérées par *H. rostochiensis*, certaines espèces, comme *H. avenae* n'y sont pas du tout sensibles.

L'influence éventuelle des diffusats de racines du riz sur *H. oryzae* a été étudiée.

Une centaine de grains de la variété Moroberekan ont été semés en pot sur du sable lavé. Chaque jour, le pot était abondamment arrosé et l'eau de percolation recueillie au-dessous était réutilisée les jours suivants. Au bout de six semaines les jeunes plants de riz étaient pratiquement morts d'inanition et on cessait l'arrosage. Le percolat obtenu était amené à un litre et utilisé pour l'expérience, en place d'eau. Cinq lots de 50 kystes ont été observés et comparés avec cinq autres lots placés dans l'eau ordinaire (fig. 18). Les percolats ont peut-être eu une légère influence sur la libération des larves mais celle-ci, si elle existe, est très faible.

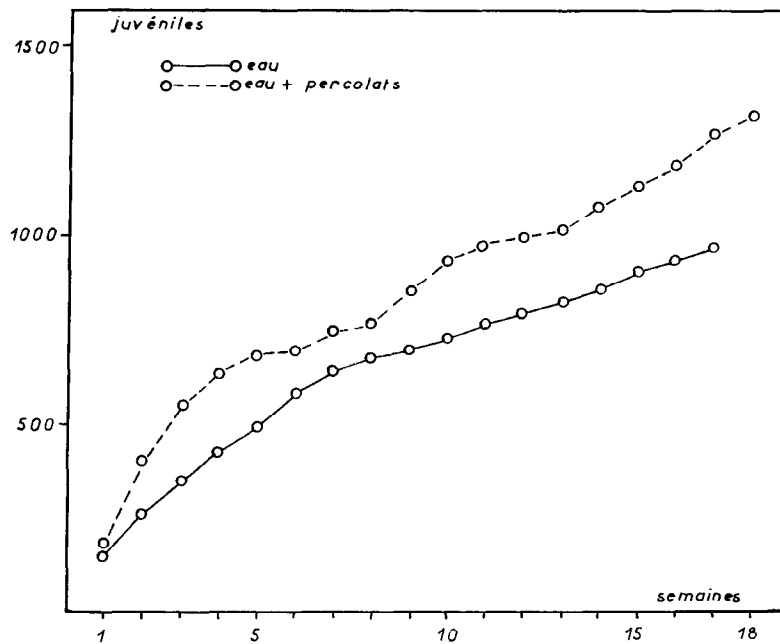


FIG. 18. — Influence des diffusats de racines sur la libération des juvéniles par les kystes d'*Heterodera oryzae* (1^{er} mode de préparation des diffusats)

Il était toutefois possible que ce résultat négatif soit dû non à l'inactivité des diffusats de racines de riz mais à un défaut dans leur mode de préparation. Il est bien connu que les diffusats de racines sont peu stables, sensibles à la chaleur, et qu'ils doivent être entreposés en réfrigérateur, à une température voisine de 4 °C. Il se pouvait donc que le laps de temps de six semaines, représentant la durée de leur préparation, soit trop long, surtout dans un pays chaud. Dans ces conditions, les diffusats préparés pour servir à la première expérience pouvaient avoir perdu la plus grande partie de leur activité. Il était possible d'autre part que, dans le cas du riz, le bref contact journalier entre l'eau et les racines soit trop court. Une autre méthode d'extraction a donc été élaborée.

De jeunes plantules de riz, provenant de grains mis à germer une semaine plus tôt et dont les racines mesuraient entre 2 et 4 cm, ont été placées une à une sur des tamis de gaze de nylon, la racine dépassant au-dessous du tamis et celui-ci étant posé sur un becher, entouré de papier noir et contenant deux litres d'eau dans laquelle plongeaient les racines (fig. 19). Après un contact de trois semaines, l'eau était recueillie et cinq

séries de 50 kystes y étaient placées, le même nombre de kystes étant placés dans de l'eau pure, comme témoins.

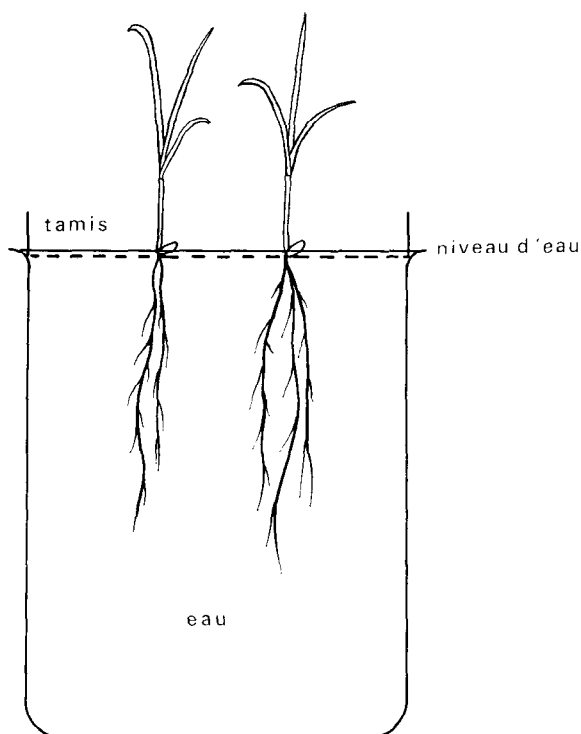


FIG. 19. — Dispositif de fabrication des diffusats de racines

Après plusieurs mois, les éclosions dans le diffusat de racines étaient beaucoup plus nombreuses que dans l'eau (fig. 20). Les diffusats de racines préparés par la méthode décrite ci-dessus sont donc actifs sur l'éclosion dans les kystes d'*Heterodera oryzae*.

Cette action n'avait, toutefois, été démontrée qu'« in vitro ». Il était possible, dans des conditions plus proches de la nature, qu'une interaction existât entre le sol et les diffusats de racines : WINSLOW (1955) a démontré que les diffusats de racines de pois ne stimulaient pas, « in vitro », la libération des juvéniles par les kystes d'*H. goettingiana* mais la stimulaient dans le sol. On peut imaginer qu'avec d'autres espèces d'autres formes d'interaction puissent avoir lieu. Deux expériences ont été effectuées destinées, la première à déterminer si l'activation de l'éclosion constatée « in vitro » avait lieu aussi dans un milieu solide constitué d'éléments biologiquement inertes et la seconde à déterminer si l'activation due à la présence de diffusats de racines pouvait se surajouter à celle due au sol.

Dans la première expérience, du sol artificiel, composé de sable lavé et de kaolin, dans la proportion de 1 à 4 en poids, a été placé dans deux séries de pots. Dans une série, du riz a été semé et arrosé périodiquement avec une solution nutritive contenant les éléments minéraux nécessaires au développement de la plante. Dans l'autre série, le sol a été laissé nu mais a reçu les mêmes quantités de solution nutritive que la première série. Au bout de deux mois, le sol a été prélevé dans les deux séries et bien mélangé séparé-

ment dans chaque série. Des kystes ont été placés dans le sol artificiel ayant porté du riz et dans le sol artificiel vierge. La figure 21 représente les courbes de libération des juvéniles dans les deux conditions, au bout de 147 jours.

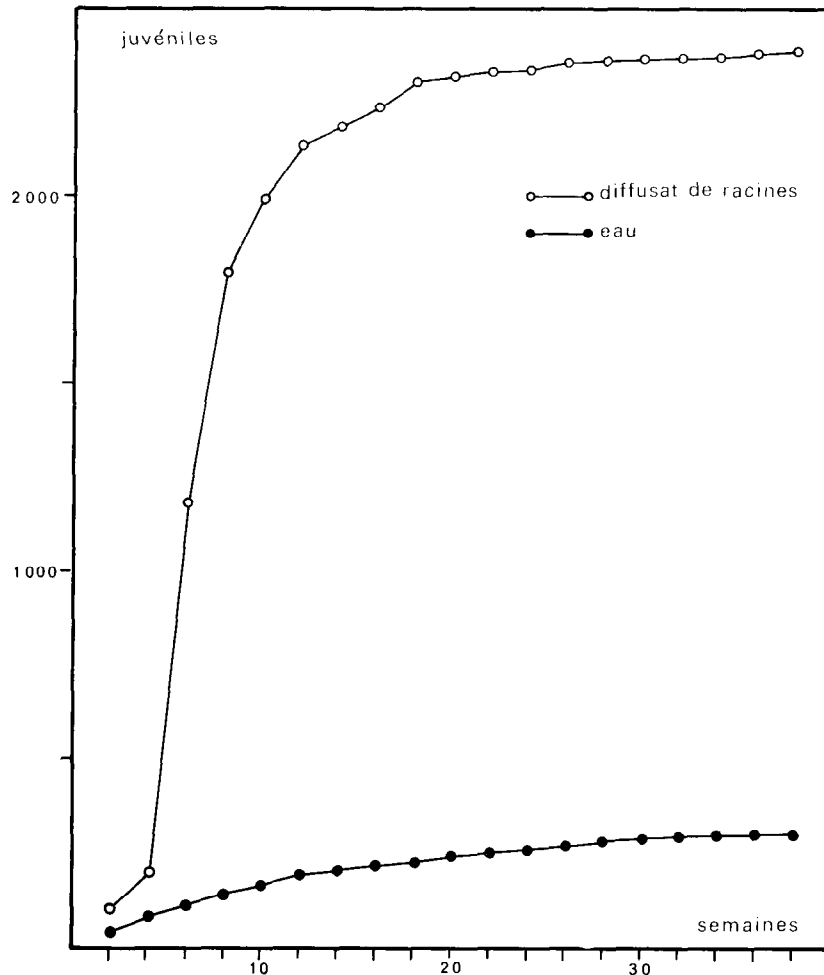


FIG. 20. — Influence des diffusats de racines sur la libération des juvéniles par les kystes d'*Heterodera oryzae*. (2^e mode de préparation des diffusats)

Les kystes inclus dans le sol artificiel ayant porté du riz ont libéré environ trois fois plus de juvéniles que ceux inclus dans le sol artificiel vierge et cette différence est significative au seuil $p = 0,01$.

Dans la deuxième expérience vingt lots de 100 kystes ont été placés, dans du sol, sur des tamis en boîtes de Pétri. Dix de ces lots étaient, en permanence, mouillés par du diffusat de racine et les dix autres mouillés à l'eau ordinaire. Dans les deux cas les éclosions n'ont débuté qu'après un temps de latence anormalement long (fig. 22). La différence constatée, au bout d'un laps de temps de presque deux ans, est trop faible pour avoir la moindre chance d'être significative. Il est donc évident que, si l'on ajoute au sol des diffusats de racines, l'éclosion est la même que dans du sol mouillé d'eau et que l'activité des diffusats ne s'est pas surajoutée à celle du sol.

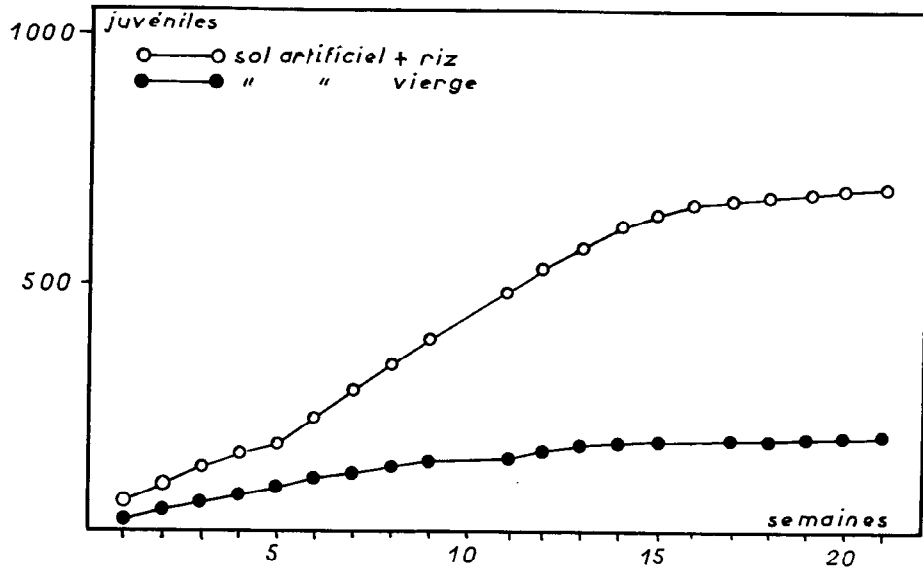


FIG. 21. - Libération des juvéniles par les kystes d'*Heterodera oryzae* dans un sol artificiel ayant porté du riz et dans un sol artificiel vierge

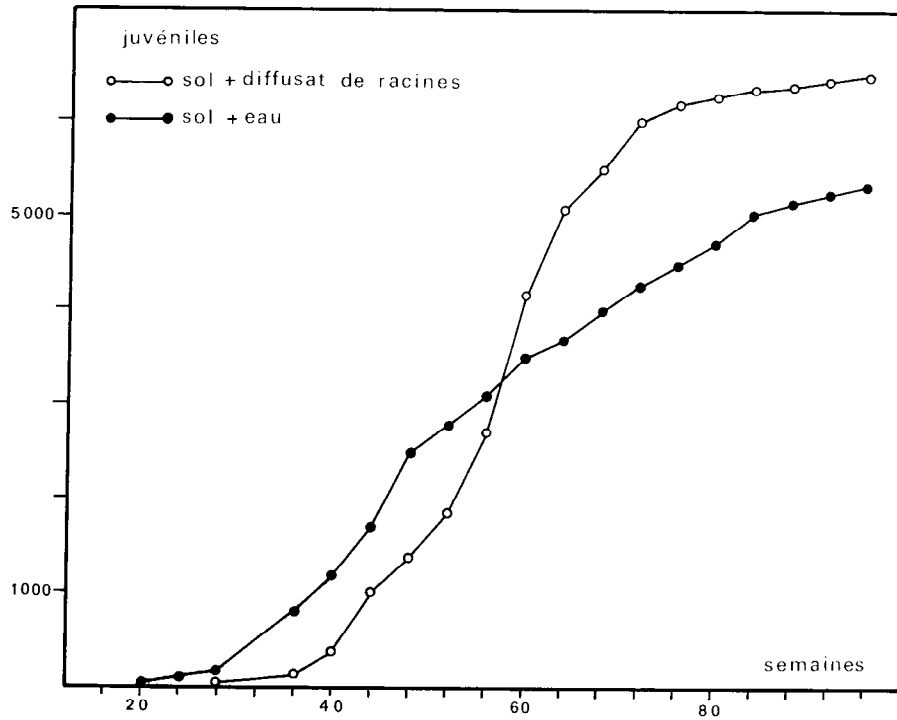


FIG. 22. - Libération des juvéniles par les kystes d'*Heterodera oryzae* dans le sol mouillé à l'eau ou aux diffusats de racines

c) *Influence de l'humidité du sol.*

WALLACE (1954) a mis en lumière l'influence de l'humidité du sol sur la libération des juvéniles d'*H. schachtii*. Il utilisait pour cela l'appareil reproduit à la figure 23, dans lequel une succion, ayant pour mesure la hauteur d'une colonne d'eau, est appliquée à une quantité de sol connue, contenant des kystes et placée dans un entonnoir en verre fritté. Il constatait que la libération maxima avait lieu quand l'eau disparaissait des interstices existant entre les éléments grossiers du sol et concluait que ce phénomène était dû à une meilleure oxygénation des kystes à mesure que l'eau disparaissait des interstices.

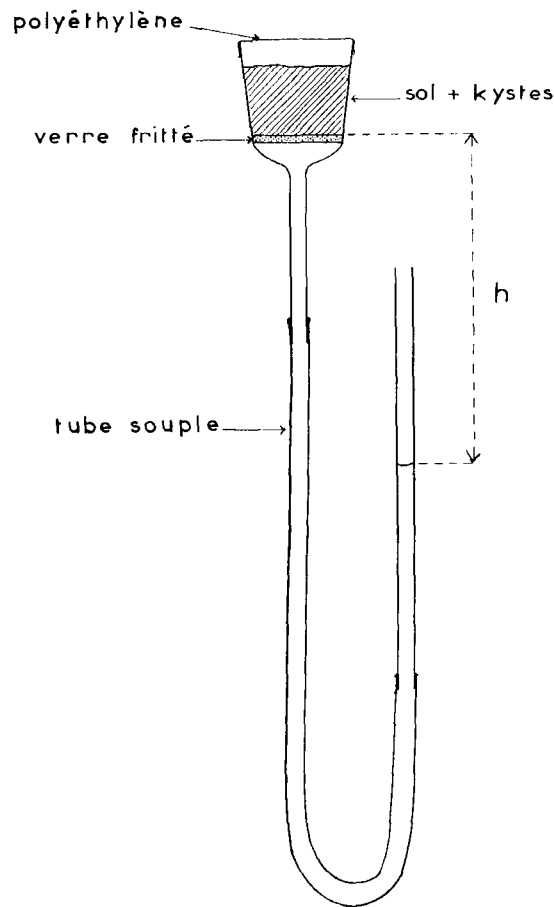


FIG. 23. — Dispositif de WALLACE pour l'étude de l'influence de l'humidité du sol sur la libération des juvéniles par les kystes d'*Heterodera*

Des appareils semblables ont été utilisés pour étudier l'influence de l'humidité du sol sur la libération des juvéniles par *H. oryzae*. On s'est servi, dans toutes les expériences, du même sol de forêt dont la teneur en eau en fonction de la succion avait été préalablement étudiée (courbe en pointillés de la fig. 24). Le moment où l'eau disparaît des

intertices entre les éléments grossiers du sol correspond au point d'inflexion de cette courbe, c'est-à-dire entre 20 et 40 cm de succion.

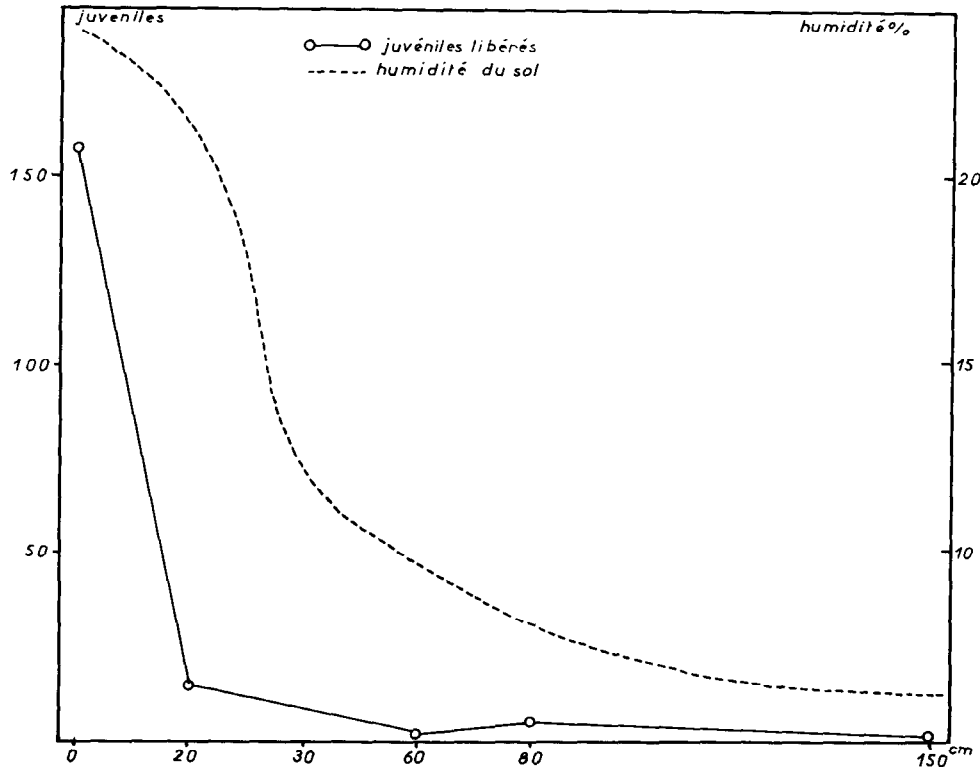


FIG. 24. -- Influence de l'humidité du sol sur la libération des juvéniles par les kystes d'*Heterodera oryzae*

Cent kystes étaient placés dans chaque appareil de WALLACE avec 2 g de sol sec. Cinq répétitions ont été faites pour chaque succion. Le niveau d'eau dans l'extrémité libre du tube était ajusté à la succion voulue et l'entonnoir en verre fritté était bouché avec une feuille de polyéthylène. Au bout de huit semaines, le sol était passé au tamis à mailles de 50μ pour éliminer les kystes et les juvéniles étaient recueillis par décantation et comptés. Des expériences préliminaires avaient montré qu'on recueillait par cette méthode entre 70 et 80% des juvéniles vivants et morts.

La courbe en trait plein de la figure 24 donne les variations de la libération des juvéniles en fonction de la succion. On ne constate pas, comme pour *H. schachtii*, de maximum d'éclosion pour une succion correspondant au point d'inflexion de la courbe de teneur en eau du sol. Le maximum de libération des larves est obtenu dans un sol gorgé d'eau (succion = 0) ainsi qu'on pouvait logiquement le supposer pour un animal vivant dans un sol inondé.

De ces quelques études sur le phénomène de l'éclosion chez *H. oryzae*, on peut conclure :

1° Que les masses d'œufs, si elles ont surtout pour rôle d'assurer la réinfestation immédiate, peuvent, jusqu'à un certain point, jouer un rôle dans la survie de l'espèce

et contribuer encore, au bout de plusieurs mois, à l'élaboration d'une population exophyte non négligeable.

2° Que les kystes ne libèrent que lentement les juvéniles formés à partir des œufs qu'ils contiennent et, par cela même, assurent la pérennité de l'espèce, comme il est de règle dans toutes les espèces de ce genre.

3° Que le sol dans lequel les kystes sont inclus stimule l'éclosion des œufs qu'ils contiennent au moins au cours des premiers mois de leur existence, et ce après un temps de latence très variable.

4° Que le ou les facteurs actifs du sol jouant un rôle dans cette stimulation semblent être localisés dans la phase colloïdale de ce sol.

5° Que, chez les kystes très jeunes, l'éclosion dans l'eau est faible, mais non négligeable.

6° Que les exsudats de racines stimulent l'éclosion chez les kystes en milieu aqueux, à condition que les racines restent trois semaines en présence de l'eau dans laquelle ils diffusent.

7° Que cet effet stimulant ne se surajoute pas à celui du sol dans lequel les kystes sont contenus.

8° Qu'à l'inverse de ce qui a été constaté chez d'autres espèces, l'éclosion maximale a lieu dans le sol gorgé d'eau et non dans celui à la « field capacity ».

4. SURVIE DES ESPÈCES EN L'ABSENCE DE LA PLANTE-HÔTE VIVANTE

Qu'il s'agisse de l'un ou l'autre des deux parasites étudiés, il est possible que certaines graminées et cypéracées qui occupent le sol des rizières en intercampagne servent de relais entre la fin d'une campagne rizicole et le début de la suivante. Il a été constaté qu'*Heterodera oryzae* pouvait se reproduire sur quelques-unes d'entre elles. *Hirschmanniella spinicaudata*, par contre, n'a été que très rarement rencontrée sur d'autres plantes que le riz et toujours en populations très réduites.

De toute façon, ces plantes, si elles peuvent recouvrir complètement le sol de certaines rizières, ne sont que très peu, ou pas, présentes dans d'autres et, pour que la population se maintienne à un certain niveau, il est nécessaire qu'une proportion minimale de cette population, présente à la fin du cycle végétatif de l'hôte, puisse survivre pendant plusieurs mois en l'absence de celui-ci.

Le problème se pose de façon très différente pour *Hirschmanniella spinicaudata* et *Heterodera oryzae*.

4.1. *Hirschmanniella spinicaudata*.

Les populations d'*H. spinicaudata* sont normalement endophytes et ne quittent les racines pour émigrer dans le sol qu'à la fin du cycle végétatif de l'hôte, au moment où la place commence à manquer à l'intérieur des racines.

Si l'on suppose que le parasite trouvera, entre deux campagnes rizicoles, une plante spontanée qui pourra l'héberger et assurer un relai, le problème de la conservation de l'espèce doit être résolu. Cependant, une recherche systématique du parasite dans des bas-fonds à graminées et cypéracées, semblables à ceux où l'on établit habituellement les rizières, a permis de constater qu'il n'y existait qu'en très faibles populations dans le

sol (10 à 40 individus par l) et dans les racines de quatre cypéracées : *Cyperus* sp., *Fimbristylis dichotoma*, *Mariscus longibracteatus* et *Cyperus atroviridis* (moins d'un individu par g de racines). Il est donc très probable que des relais éventuels sur des graminées ou cypéracées occupant le sol des rizières en intercampagne ne peuvent jouer un grand rôle dans la conservation de l'espèce d'une année à l'autre.

4.1.1. Population exophyte dans un sol contenant des racines.

L'évolution de la population exophyte a été suivie pendant un an dans une petite rizière expérimentale dans laquelle, après maturation, la plante-hôte avait été coupée au-dessous du collet pour ne laisser dans le sol que les racines. Pendant toute l'année, le sol a été maintenu inondé.

On constate (fig. 25) que la population décroît très rapidement pour devenir très faible au bout de trois mois. Pendant les neuf mois suivants, elle reste à un niveau très bas, sans, cependant, disparaître tout à fait.

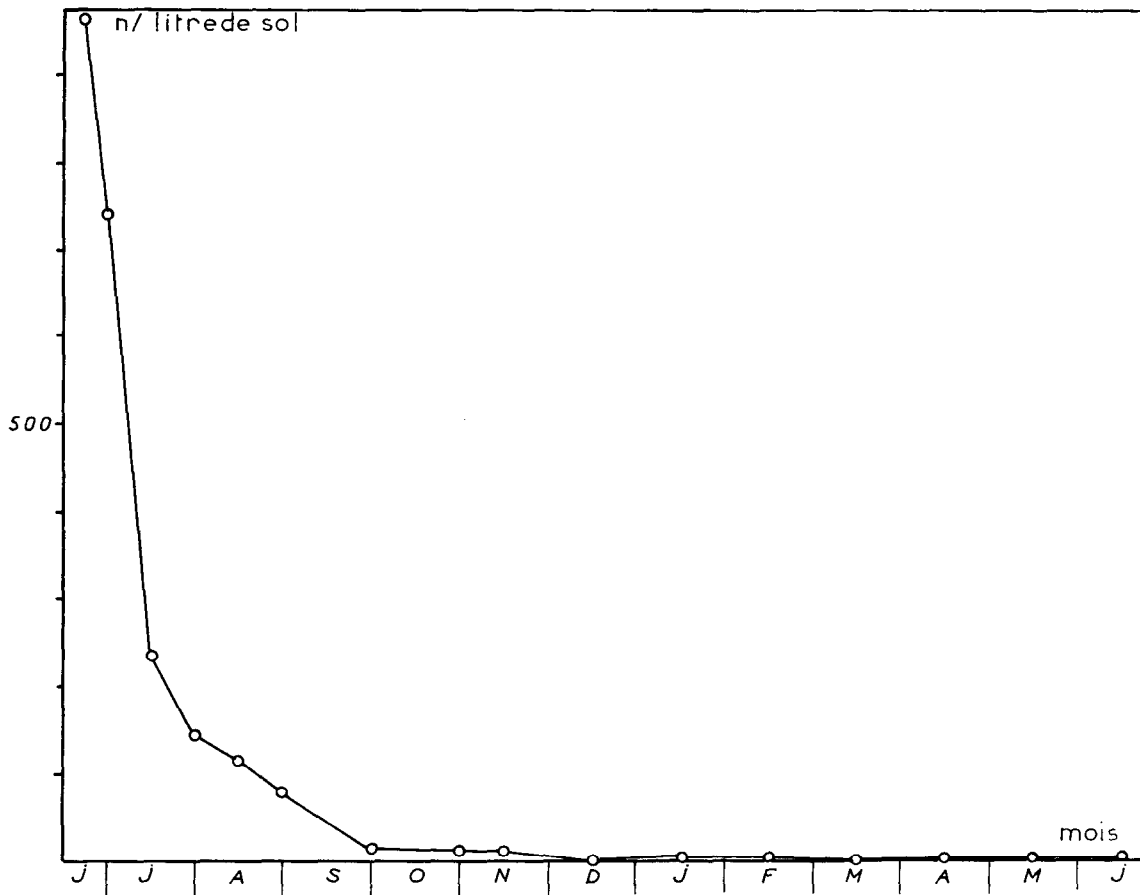


FIG. 25. — Evolution de la population exophyte d'*Hirschmanniella spinicaudata* dans une rizière inondée après recépage de la partie aérienne de l'hôte

Ce résultat nous a semblé assez inattendu puisqu'*H. spinicaudata*, vivant dans les rizières, peut être considéré, à priori, comme adapté au milieu aquatique. Nous avons alors émis l'hypothèse que les parasites pouvaient avoir émigré en profondeur et effectué, sur quatre points, des prélèvements de 20 cm en 20 cm, jusqu'à 1 m de profondeur, à l'aide d'une sonde imaginée et mise au point par BONZON (1966). Les résultats de ces observations sont présentés au tableau IX.

TABLEAU IX

Nombre d'*Hirschmanniella spinicaudata* par litre de sol

Profondeur	Répétitions				Total	Moyenne
0-20	0	8	0	64	72	18
20-40	0	0	0	0	0	0
40-60	0	0	0	0	0	0
60-80	0	16	0	0	16	4
80-100	16	0	0	0	16	4

S'il y a eu, en effet, une certaine migration en profondeur, elle est faible et les animaux restent nettement plus nombreux en surface. Au cours des prélèvements ultérieurs, les points où ces observations avaient été faites ont été éliminés.

Parallèlement, l'évolution de la population exophyte était suivi dans des pots où la plante-hôte, à maturité avait été également coupée, ces pots étant conservés dans une pièce climatisée où le sol s'est desséché rapidement pour atteindre, au bout d'un mois, une humidité voisine de celle du point de flétrissement. Après une diminution rapide pendant les deux premiers mois, la population remonte pour ne diminuer ensuite que lentement et rester encore importante au bout de dix mois (fig. 26).

Ainsi, après disparition des parties aériennes de la plante-hôte et les racines restant dans le sol, la population reste beaucoup plus longtemps à un taux élevé si le sol se dessèche que s'il est maintenu inondé.

Il n'est pas sans intérêt de rapprocher ces résultats de ceux obtenus par VAN DER VECHT et BERGMAN (1952) avec *Hirschmanniella* (= *Radopholus*) *oryzae*. Ayant placé des animaux, soit libres, soit contenus dans des racines, dans du sol à diverses conditions d'humidité, ils constatent que les populations libres dans le sol diminuent plus rapidement que les populations dans les racines. D'autre part, le taux de diminution des populations libres dans le sol est le même, que ce sol soit maintenu humide ou qu'il se dessèche lentement.

Il y a donc une contradiction apparente entre nos résultats et ceux de ces auteurs :

Chez *H. oryzae* l'humidité du sol semble avoir peu d'influence sur la conservation des populations alors que cette influence est énorme chez *H. spinicaudata*. Il faut cependant noter que nos expériences n'ont pas été conduites de la même manière : VAN DER VECHT et BERGMAN ont étudié l'influence de l'humidité du sol sur des populations libres et nous l'avons fait sur un mélange de sol et de racines. Par ailleurs, ils ont travaillé avec du sol humide, en couche mince, dans une boîte de Pétri et nous avons utilisé du sol profond et inondé depuis des mois. Ceci explique peut-être les différences obtenues. D'autre part, dans l'expérience précédente, l'étude en milieu humide avait lieu dans une rizière, où chaque pied de riz disposait d'un grand volume de sol et celle en milieu sec

dans des pots où ce volume était très limité. Par ailleurs, l'une de ces études avait lieu à l'air libre et l'autre dans une pièce climatisée. D'autres facteurs que la sécheresse et l'inondation ont pu jouer un rôle et la comparaison entre les deux traitements ne peut être faite avec rigueur.

Il nous a semblé indispensable de reprendre cette étude en distinguant la survie des populations libres dans le sol et celle des populations endophytes.

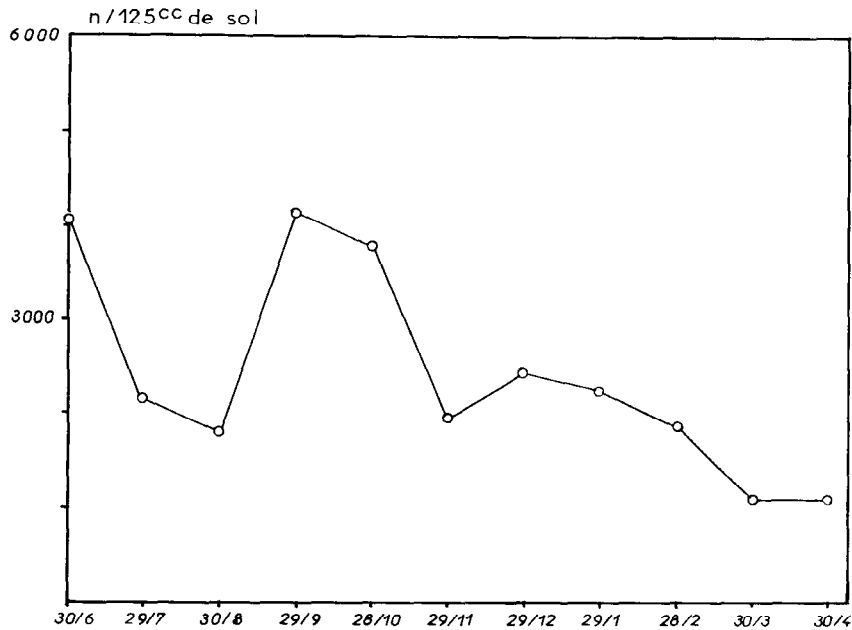


FIG. 26. — Evolution de la population exophyte d'*Hirschmanniella spinicaudata* en sol sec après recépage de la partie aérienne de l'hôte

4.1.2. Populations libres dans le sol.

Deux expériences ont été effectuées :

Dans la première 8 g de sol de forêt ont été placés dans des piluliers de 47 cm³ et chaque pilulier a reçu un inoculum d'environ 180 individus d'une population contenant tous les stades. Dans une première moitié les piluliers ont été remplis d'eau et le niveau périodiquement réajusté. L'autre moitié, après avoir reçu quelques gouttes d'eau pour permettre un certain tassement du sol, a été placée dans un dessiccateur à Ca Cl₂. Après deux, trois et quatre mois, les animaux vivants ont été extraits, dans des séries de 10 piluliers, par décantation suivie d'un passage sur papier permettant la migration des seuls nématodes vivants.

Les résultats (tabl. X) montrent que, dans deux cas, la diminution a été rapide mais qu'elle l'a été beaucoup plus dans le cas du sol desséché où la population était pratiquement nulle au bout de deux mois.

TABLEAU X

Nombre d'animaux vivants. Moyenne de 10 répétitions

Sol inondé			Sol sec	
2 mois	3 mois	4 mois	2 mois	3 mois
29	9,4	6,6	0,4	0

Dans la seconde expérience, on est parti d'un échantillon de sol prélevé dans une rizière expérimentale qui fut divisé en 20 lots de 1,5 l, chaque lot étant placé dans un pot de 2 l. Les 20 pots ont été gardés à température constante (environ 25°) dans une pièce climatisée, 10 pots étant maintenus inondés alors que le sol des 10 autres se desséchait rapidement. Au début de l'expérience, le sol contenait 1 053 individus au litre (moyenne de 10 prélèvements). Chaque mois, un prélèvement de 125 cm³ était effectué dans chaque pot et les nématodes extraits à l'élutriateur (tabl. XI).

TABLEAU XI

Nombre d'animaux vivants au litre de sol. Moyenne de 10 répétitions

	1 mois	2 mois	3 mois	4 mois
Sol inondé	812	517	526	308
Sol sec	211	77	25	34

Les résultats de l'expérience précédente sont confirmés, la population diminue plus vite dans un sol sec. La diminution a été moins importante et moins rapide que dans le cas précédent. Ceci doit pouvoir s'expliquer par le fait que, dans un sol qui s'est desséché lentement pour atteindre le point de flétrissement, l'air contenu dans les interstices du sol est encore à une humidité d'environ 97% alors que l'air contenu dans un sol placé en dessiccateur en présence de Ca Cl₂ ne doit plus renfermer que de très faibles quantités d'eau.

4.1.3. Populations endophytes.

Les systèmes radiculaires de pieds de riz, ayant avant transplantation reçu un inoculum de 1 000 individus par pied, ont été prélevés à la fin du cycle végétatif de la plante et coupés en fragments de 3 cm environ. Les fragments ainsi obtenus ont été mélangés et divisés en 50 lots de 35 g. Les nématodes contenus dans 10 de ces lots ont été extraits à l'asperseur et la population moyenne contenue dans un lot a pu ainsi être évaluée à 105 400 individus.

Les 40 lots restant ont été mis en pots de 1 l mélangés à de la terre stérile. Les 40 pots ont été conservés dans une pièce climatisée, 20 étant maintenus inondés et les 20 autres se desséchant rapidement. Après deux mois, puis, après quatre mois, les racines contenues dans 10 pots, respectivement ont été recueillies par tamisage et les nématodes qu'elles contenaient ont été extraits par aspersion (tabl. XII).

TABLEAU XII

Nombre d'animaux vivants. Moyenne de 10 répétitions

	2 mois	4 mois
Sol inondé	7 568	3 959
Sol sec	26 555	12 636

A l'inverse de ce qui a été observé précédemment pour les populations exophytes, les populations endophytes ont diminué plus lentement en sol sec qu'en sol inondé.

Quelle que soit l'humidité du sol, des individus qui, à la fin du cycle végétatif de la plante-hôte, ont quitté les racines ont peu de chance de pouvoir survivre jusqu'à ce qu'une nouvelle culture de riz soit mise en place. C'est donc les racines restant en terre qui vont jouer un rôle primordial dans la conservation de l'espèce entre deux campagnes rizicoles. Elles maintiendront la population à une densité plus élevée si le sol se dessèche que s'il reste inondé. Cet effet de la teneur en eau du sol doit pouvoir s'expliquer par le fait que, dans un sol inondé, les racines pourrissent plus vite et peuvent ainsi héberger de moins en moins d'animaux. Il est permis de supposer, à cet égard, que la flore microbienne joue un rôle non négligeable, certaines bactéries peuvent hâter cette décomposition des racines.

Il est, d'ailleurs, fort possible qu'on n'assiste pas, dans les racines, à une véritable survie des parasites mais que ceux-ci continuent à s'y reproduire, chaque génération étant plus faible que la précédente à cause des conditions peu favorables à cette reproduction. La remontée de la population observée en sol sec, au cours de la première expérience (fig. 26) pourrait ainsi s'expliquer : elle serait due à une éclosion importante dans des racines encore relativement en bon état.

4.2. *Heterodera oryzae*.

Chez cette espèce, la population présente à la fin du cycle végétatif de l'hôte se compose :

- 1° De juvéniles du 2^e stade libres dans le sol ;
- 2° De masses d'œufs attachées aux femelles récemment formées ou aux kystes jeunes et qui libèrent, de façon continue, des juvéniles du 2^e stade.
- 3° De kystes, parmi lesquels certains, relativement jeunes, sont encore attachés aux racines et d'autres, plus vieux s'en sont détachés et sont mêlés au sol.

La survie de l'espèce, en l'absence d'une plante-hôte va donc dépendre à la fois de la capacité des juvéniles du 2^e stade de rester vivants dans le sol et de celle des kystes et masses d'œufs de garder leur pouvoir de libérer des juvéniles. Dans les pays tempérés, la survie d'un *Heterodera* d'une année à l'autre n'a guère été étudiée qu'en fonction de la résistance des kystes. Il est, en effet, possible de penser que des juvéniles ou des masses d'œufs ne peuvent subsister pendant de longs mois en supportant des températures aussi basses que celles qui règnent, en hiver, dans les couches superficielles du sol. Ceci reste d'ailleurs à démontrer car, si cela est vrai, on peut se demander comment subsistent les *Meloidogyne*, qui n'ont que des masses d'œufs et pas de kystes. D'autre part, certaines espèces n'ont pas de masses d'œufs, ce qui est le cas d'*H. rostochiensis* qui a été la plus étudiée. Mais dans le biotope où *H. oryzae* existe à l'état naturel, c'est-à-dire dans les conditions de la rizière en bas-fond où le sol, même en saison sèche, est assez souvent plus ou moins humide et ne subit que des variations de température relativement faibles, on ne peut exclure, à priori, l'hypothèse selon laquelle les masses d'œufs, ou même les juvéniles, pourraient jouer un rôle dans la conservation du parasite entre deux campagnes rizicoles.

Des pots contenant environ 200 cm³ de sol gorgé d'eau ont été inoculés avec des juvéniles, des kystes ou des masses d'œufs et plantés, à des intervalles de temps croissants, à raison de 4 plantules âgées de 3 à 5 jours par pot. Quatre semaines après la plantation, on comptait les femelles blanches, ou éventuellement les kystes, formés sur les racines, dans chaque pot. Pendant tout le temps que durait l'expérience, les pots étaient arrosés journallement, de façon que le sol soit toujours recouvert de quelques millimètres d'eau pour reconstituer un biotope voisin des conditions moyennes du bas-fond.

4.2.1. Juvéniles du deuxième stade.

Chaque pot recevait un inoculum de 200 juvéniles. Deux expériences ont été faites, l'une avec du sol arrosé chaque jour, mais non inondé, l'autre avec du sol inondé comme il a été décrit au paragraphe précédent. Dans le premier cas, le riz a été planté 10, 20 et 30 jours après inoculation, dans le second 5, 10, 15, 20, 25 et 30 jours après inoculation. Dans les deux cas, des témoins ont été plantés le jour même de l'inoculation.

Dans les deux expériences (fig. 27) aucune infestation n'a eu lieu quand le riz était planté 30 jours après inoculation. On peut considérer qu'en l'absence de plante-hôte, la vie d'un juvénile, ou pour le moins le temps pendant lequel il reste capable d'entrer dans une racine pour y poursuivre son cycle, n'excède pas 25 à 30 jours. Il y a cependant une différence marquée entre les résultats des deux expériences. Dans un sol inondé, les juvéniles perdent très rapidement, dès le début, leur pouvoir infestant alors que dans le sol humide, il reste pratiquement le même pendant les 10 premiers jours. Un grand nombre de juvéniles sont donc sensibles à l'inondation du sol et aux conditions semi-asphyxiques qui en résultent,

4.2.2. Masses d'œufs.

L'inoculum se composait de 10 masses d'œufs par pot. Le riz était planté 1, 2, 3, 4, 6 et 9 mois après l'inoculation. Les témoins étaient plantés le jour même de l'inoculation. Le pouvoir infestant de l'inoculum croît régulièrement pendant les 3 premiers mois et commence à décroître au 4^e mois. Mais après cet intervalle, relativement long, il reste encore très important (fig. 28, courbe a). Il décroît ensuite rapidement entre 4 et 6 mois

et, à 9 mois, il est devenu très faible, sans cependant devenir nul. Neuf mois excédant la durée moyenne d'une inter-campagne, les masses d'œufs, à elles seules peuvent donc assurer la survie de l'espèce pour peu que les conditions du sol leur restent favorables, puisque 10 masses d'œufs placées dans le sol à l'origine fournissent cinq femelles, qui à la première réinfestation, amèneront la population à un niveau supérieur à celui de l'origine.

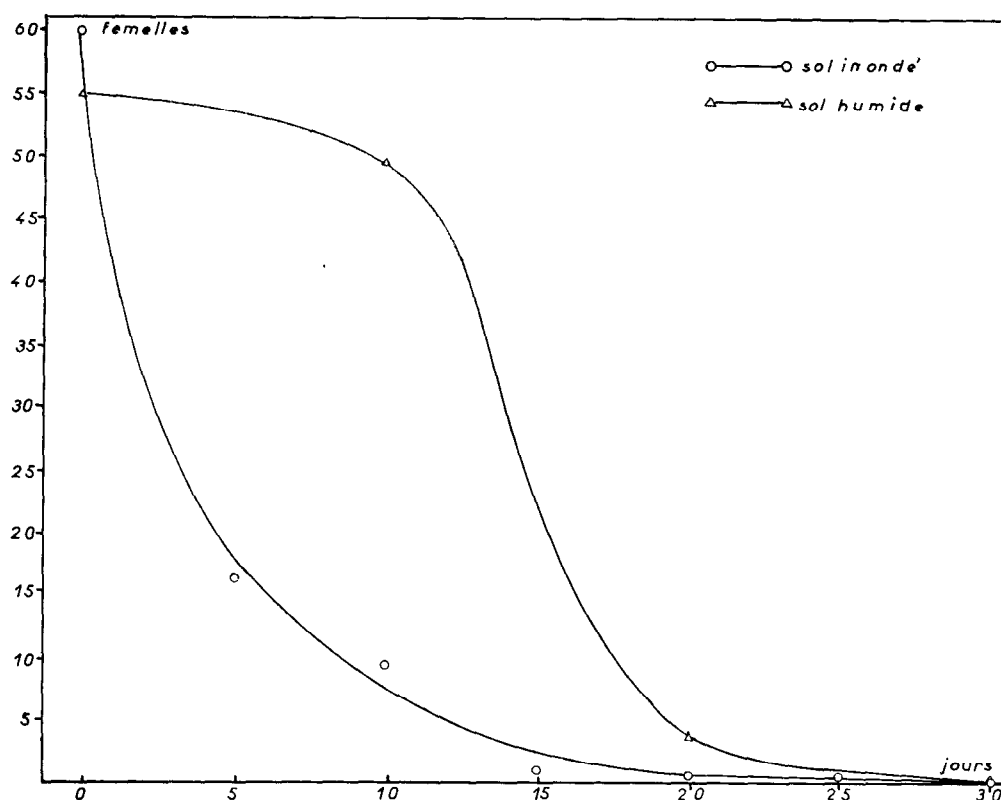


FIG. 27. - Survie des juvéniles du deuxième stade d'*Heterodera oryzae* en sol humide et en sol inondé

4.2.3. Kystes.

a) Survie en milieu inondé.

L'inoculum se composait de 25 kystes par pot. En plus du témoin, les intervalles étaient de 1, 3, 4, 6, 8 et 9 mois. Pendant les trois premiers mois, le pouvoir infestant de cet inoculum est très faible. Il passe par un premier maximum au bout de 4 mois et décroît légèrement à 6 et 8 mois. Enfin, le maximum absolu est atteint à 9 mois (fig. 28, courbe b). Ceci suggère l'existence d'un phénomène de maturation ou, peut-être, de sortie de diapause des œufs contenus dans le kyste, seuls, un nombre d'œufs relativement réduit étant capables d'éclore dans les premiers mois qui suivent la formation du kyste.

Cette hypothèse est confirmée par le résultat d'une expérience qui a été relatée précédemment (fig. 22) dans laquelle des kystes placés dans du sol mouillé par de l'eau ou des diffusats de racines libéraient encore des juvéniles au bout de 2 ans. On ne connaît

donc pas, avec exactitude, la longévité des kystes. Il est cependant probable que la plupart de ceux-ci sont encore capables de libérer des juvéniles du deuxième stade et donc de provoquer la formation d'une population exophyte, après plusieurs années.

b) *Résistance à la sécheresse.*

Dans les expériences décrites précédemment, les kystes étaient placés dans des conditions hydriques favorables à leur survie et à l'éclosion des juvéniles. Dans le cas d'*Heterodera oryzae*, les kystes ont à subir, pendant l'intercampagne, des conditions qui varient beaucoup d'une rizière à l'autre. Dans certaines le sol reste toujours humide sinon gorgé d'eau et dans d'autres il devient très sec. L'étude de la survie du contenu des kystes devait donc tenir compte de ce phénomène.

On a distingué la résistance à la sécheresse dans le sol et dans l'air.

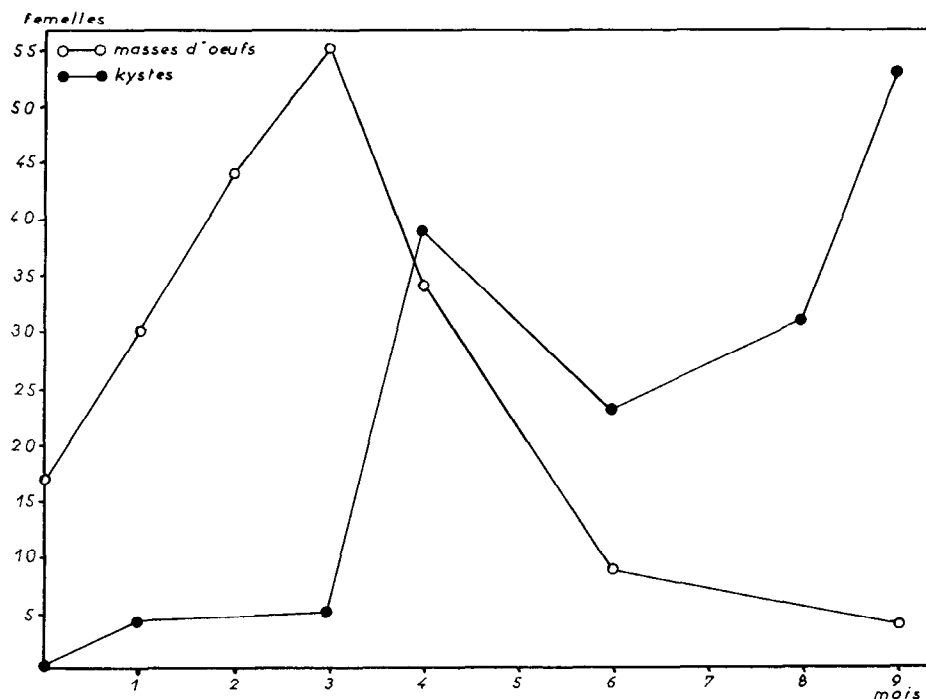


FIG. 28. — Durée de l'infestivité d'un inoculum composé de kystes ou de masses d'œufs d'*Heterodera oryzae* dans un sol inondé

1. *Dans le sol*

La première expérience avait pour but d'étudier le comportement des kystes séjournant plusieurs mois dans un sol ayant une humidité égale à la « field capacity », c'est-à-dire un sol dont toute l'eau de gravitation a disparu. Pour cela, du sol a été placé dans des appareils de WALLACE et soumis à une succion de 170 cm d'eau, succion à laquelle d'après la courbe d'humidité de ce sol (fig. 24), on peut considérer que toute l'eau de gravitation s'en est retirée. Le sol ainsi traité a été placé dans de petits tamis et a reçu 100 kystes par tamis. Les tamis ont ensuite été conservés 1, 2, 4 et 6 mois dans un dessiccateur contenant de l'eau distillée. Dans ces conditions d'après la formule :

$$pF = 6,502 + \log_{10} (2 - \log_{10} H)$$

qui permet d'obtenir, en fonction du pF, l'humidité de l'air dans les interstices du sol, celui-ci aurait dû se conserver à la même humidité. Il devint vite évident qu'il n'en était rien. En fait, le sol continuait à se dessécher assez rapidement. D'une humidité de 6 à 7,5% au moment de son introduction dans le dessiccateur, il atteignait, dès le premier mois, une humidité de 2,8 à 3,6%, c'est-à-dire inférieure à l'humidité de ce sol à son point de flétrissement, qui est de 4 à 5%.

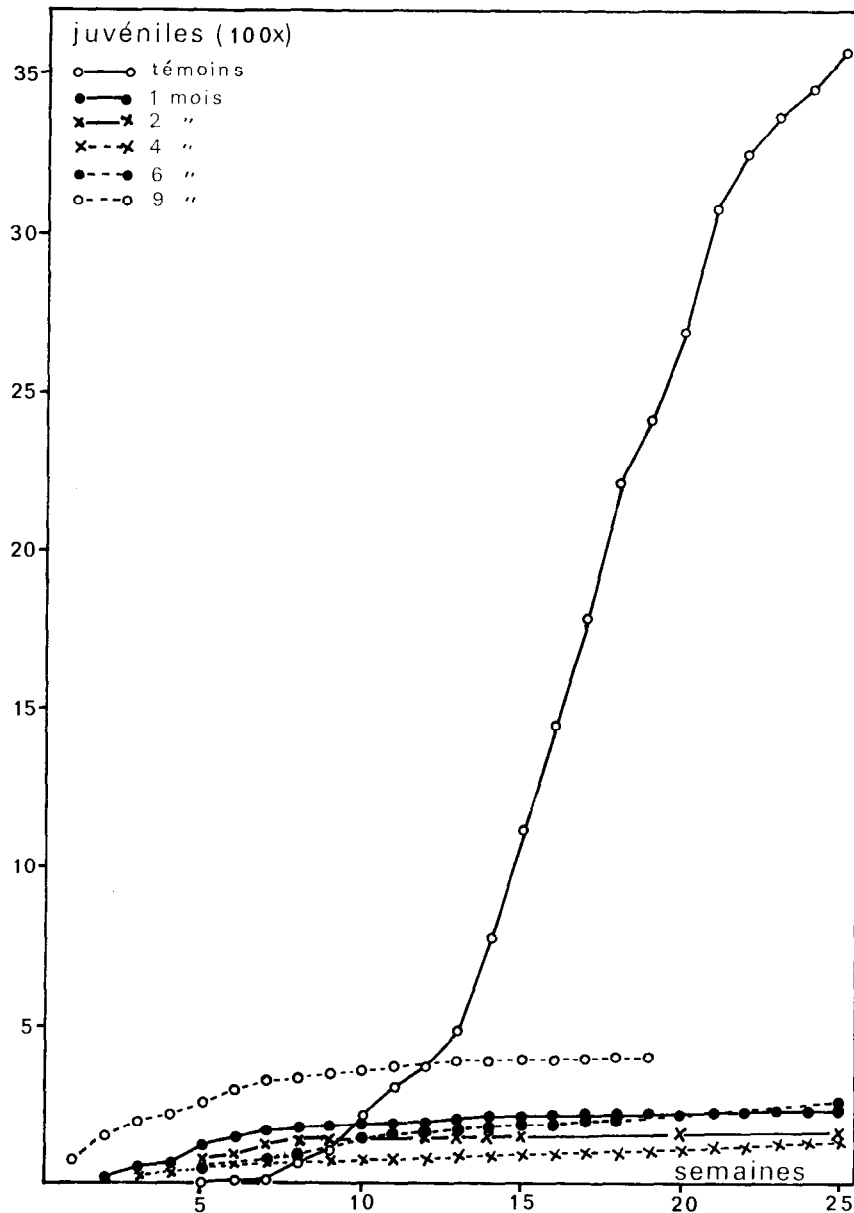


FIG. 29. - Libération de juvéniles par des kystes d'*Heterodera oryzae* ayant passé un temps variable en sol sec

Ces conditions, si elles ne répondaient pas à l'intention première, présentaient l'intérêt d'être très semblables à celles d'un sol se desséchant rapidement au début de la saison sèche. L'expérience n'a donc pas été modifiée.

Après le temps prévu, les tamis ont été placés dans une quantité d'eau suffisante pour que le sol qu'ils contenaient en soit toujours gorgé et on a compté, chaque semaine, les juvéniles libérés. Au même moment, des témoins ont été mis en place, constitués par des kystes nouvellement prélevés et n'ayant subi aucune dessiccation. Les comptages ont été poursuivis pendant 9 semaines (fig. 29).

Il est évident que, chez les kystes ayant subi une sécheresse, même de courte durée, la libération des juvéniles est beaucoup moins intense que chez ceux qui n'y ont pas été soumis. Il est cependant remarquable que l'éclosion a été la plus intense chez ceux ayant eu à supporter une sécheresse de 9 mois (différence significative au seuil $p = 0,01$ avec ceux ayant subi une sécheresse de 4 mois). Il semble donc que, chez les kystes soumis à la sécheresse les œufs arrivant à maturité pendant cette période soient tués mais que, quand ces kystes sont à nouveau placés dans des conditions favorables à l'éclosion, les œufs qui arrivent à maturité ou sortent d'une éventuelle dormance à ce moment soient encore viables. Cette hypothèse pourrait expliquer que l'éclosion soit plus forte chez les kystes âgés de 9 mois que chez ceux âgés de 1, 2, 4 et 6 mois.

Des kystes soumis, dans le sol, à une longue sécheresse peuvent donc par la suite, même si une part importante de leur contenu est mort, libérer assez de juvéniles pour qu'une population se développe en présence d'une plante-hôte.

2. Dans l'air

Il est important de distinguer la résistance des kystes à la dessiccation dans le sol et dans l'air car, ainsi que l'observe A. SHEPHERD (1962) dans un sol qui est desséché naturellement, il reste encore une quantité considérable d'humidité. Au point de flétrissement, l'humidité relative de l'air contenu dans le sol est d'environ 97%.

La résistance des kystes placés dans un air sec varie beaucoup d'une espèce à l'autre. Certaines espèces y sont particulièrement sensibles. HESLING (1956) note que chez *H. avenae* un séjour de 8 h dans l'air sec inhibe complètement la libération des larves par les kystes.

Des séries de 100 kystes néoformés d'*H. oryzae* ont été placés, nus, sur du papier filtre, dans un dessiccateur à Ca Cl_2 (humidité relative voisine de 0) pendant 6, 12 et 24 h. A l'issue de cette période, les kystes étaient placés sur de petits tamis dans du sol gorgé d'eau.

Au bout de 9 semaines on obtenait les résultats exposés au tableau XIII.

TABLEAU XIII

Nombre d'heures à l'air sec	Nombre de juvéniles libérés par 100 kystes (moyenne de 5 répétitions)
0 (témoins)	1 423
6	3,6
12	1,6
24	1,2

Le nombre de juvéniles libérés par 100 kystes est pratiquement nul dans les trois cas. *H. oryzae* est donc, comme *H. avenae*, très sensible à une véritable dessiccation. Encore faut-il faire une réserve importante. Il se peut que seuls aient été tués ou définitivement inhibés, les œufs capables d'éclore à ce moment-là et situés à la périphérie du kyste. Il est alors possible que des œufs non encore capables d'éclore et situés au centre du kyste n'aient pas été touchés par la dessiccation et qu'ils éclosent ensuite s'ils se trouvent dans des conditions favorables.

On peut conclure que les juvéniles, même dans un sol où les conditions de température et d'humidité leur sont favorables, ont une durée de vie réduite et ne peuvent en aucun cas assurer la pérennité de l'espèce si ce sol est dépourvu de plante-hôte. Par contre, les masses d'œufs ont un pouvoir infestant très important, qui peut durer pendant plusieurs mois et même, dans des conditions favorables, leur permettre d'assurer, à elles seules la survie du parasite entre deux cultures de riz. Les kystes restent, cependant, les principaux facteurs de pérennité ; leur pouvoir infestant devenant maximum quand celui des masses d'œufs devient faible, tout se passe comme s'ils « prenaient le relais » de celles-ci. Ils résistent à de longues périodes de sécheresse dans le sol et gardent le pouvoir, si les conditions deviennent favorables à l'éclosion, de libérer assez de juvéniles pour qu'une nouvelle population se développe.

CONCLUSIONS

Des quelques données qui ont ainsi pu être obtenues sur la biologie de ces deux parasites, il est possible de tirer les conclusions suivantes :

1° Dans des conditions favorables, ils ont l'un et l'autre, des taux de reproduction élevés mais le rôle des mâles y est primordial et, avec des populations initiales faibles, on observe des cas de sous-population dus, probablement, à un défaut de fécondation des femelles.

2° Les lois de croissance tirées de l'équation logistique ne peuvent s'appliquer que dans le cas des populations initiales exophytes relativement élevées et laissées au contact des racines pendant un temps illimité. Dans le cas de populations initiales endophytes relativement faibles la loi de croissance est une hyperbole équilatère.

3° Les racines du riz peuvent héberger des populations importantes d'*Hirschmanniella spinicaudata* et une population exophyte ne commence à se reconstituer qu'à la fin du cycle végétatif de l'hôte, au moment où la place vient à manquer dans les racines.

4° Chez *Heterodera oryzae*, la population exophyte se reconstitue de façon pratiquement continue par l'éclosion des œufs contenus dans les masses d'œufs et les kystes.

L'éclosion dans les masses d'œufs est rapide et abondante et les réinfestations peuvent être fortes à chaque génération.

Dans les kystes, la plupart des œufs subissent une diapause et les éclosions sont nettement plus tardives. Faibles dans l'eau, elles sont fortement stimulées par le sol et par les diffusats de racines de riz, les effets de ces deux stimuli ne se surajoutant cependant pas.

5° En l'absence de plante-hôte, *Hirschmanniella spinicaudata* survit mal hors des racines, surtout si le sol se dessèche. Par contre, la survie est meilleure à l'intérieur des racines où il semble même que le parasite continue à se reproduire pendant un certain temps, et ceci beaucoup mieux en sol sec qu'en sol inondé.

6° Les juvéniles d'*Heterodera oryzae* ont une longévité trop faible pour jouer un rôle dans la pérennité de l'espèce. Les masses d'œufs, qui libèrent des juvéniles rapidement et en grand nombre ont surtout pour rôle d'assurer les réinfestations immédiates mais peuvent, après un temps excédant la durée de l'intercampagne, assurer la reconstitution d'une population. Cependant, c'est surtout les kystes qui assurent la survie de l'espèce, l'éclosion y étant encore importante après deux ans.

7° Si le sol de la rizière portait du riz en permanence, les populations de ces deux parasites pourraient devenir très importantes. Bien que leur capacité de survivre en l'absence de plante-hôte soit assez bonne c'est pourtant grâce aux longs mois d'intercampagne que les populations restent relativement faibles dans les rizières.

8° La grande longévité des kystes d'*Heterodera oryzae* pourrait sans doute amener, dans certains cas, la formation de populations très fortes et il serait souhaitable que cette espèce, qui semble se répandre, soit l'objet d'une certaine surveillance.

BIBLIOGRAPHIE

- BAUNACKE (W.) – 1922 – Untersuchungen zur Biologie und Bekämpfung des Rübenne-
matoden *Heterodera schachtii* Schmidt. *Arb. biol. Abt. (Anst. – Reichanst.) Berlin*,
11, 185-288.
- BONZON (B.) – 1966 – *Etude méthodologique du système radicellaire d'ananas comosus (L.)
Merr. variété Cayenne lisse*. Diplôme d'Etudes Supérieures, Univ. Paris, 137 p.
- DROPKIN (V. H.), MARTIN (G. C.), JOHNSON (R. W.) – 1958 – Effect of osmotic concen-
tration on hatching of some plant parasitic nematodes. *Nematologica*, **3**, 115-126.
- FENWICK (D. W.) – 1949 – Investigations on the emergence of larvae from cysts of the
potato-root eelworm *Heterodera rostochiensis*. I. Technique and variability. *J.
Helminth.*, **23**, 157-170.
- FENWICK (D. W.) – 1950 – Investigations on the emergence of larvae from cysts of the
potato-root eelworm *Heterodera rostochiensis*. 3. Larval emergence in soil under the
influence of potato-root diffusate. *J. Helminth.*, **24**, 86-90.
- FENWICK (D. W.) – 1952 – The bio-assay of potato-root diffusate. *Ann. appl. Biol.*, **39**,
457-467.
- FUCHS (O.) – 1911 – Beitrag zur Biologie des Rübenneematoden *Heterodera schachtii*.
Z. landw. Vchsw. Ost., Jahrg. 14, 923-949.
- GUIRAN (G. de) – 1966 – Coloration des nématodes dans les tissus végétaux par le bleu
coton à froid. *Nematologica*, **12**, 646.
- HESLING (J. J.) – 1956 – Some observations on *Heterodera major*. *Nematologica*, **1**, 56-63.
- KORT (J.) – 1962 – Effect of population density on cyst production in *Heterodera rosto-
chiensis* Woll. *Nematologica*, **7**, 305-308.
- LUC (M.), BERDON-BRIZUELA (R.) – 1961 – *Heterodera oryzae* n. sp. (Nematoda : Tylen-
choidea) parasite du riz en Côte d'Ivoire. *Nematologica*, **6**, 272-279.
- MERNY (G.) – 1966 – Biologie d'*Heterodera oryzae* Luc & Berdon, 1961. II – Rôle des
masses d'œufs dans la dynamique des populations et la conservation de l'espèce.
Ann. Inst., nat. Rech. agron., Paris, sér. C, **17**, 445-449.
- MERNY (G.) – 1970 – Loi de croissance, sur plants de riz, d'une population endophyte
d'*Hirschmanniella spinicaudata* (Nematoda : Tylenchoidea). *Nematologica*, **16**,
227-234.

- MERNY (G.) – 1970 – Les nématodes phytoparasites des rizières inondées en Côte d'Ivoire. I – Les espèces observées. *Cah. ORSTOM, sér. Biol.*, **11**, 3-43.
- MERNY (G.), DEJARDIN (J.) – 1970 – Les nématodes phytoparasites des rizières inondées de Côte d'Ivoire. II – Essai d'estimation de l'importance des populations. *Cah. ORSTOM, sér. Biol.*, **11**, 45-67.
- OOSTENBRINK (M.) – 1966 – Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Med. Landb. Hogesch. Wageningen*, **66**, 1-45.
- PEARL (R.) – 1930 – *Introduction to medical biometry and statistics*. Philadelphia : W. B. Saunders Co., pp. 150, 350, 385.
- PEARL (R.), REED (L. J.) – 1920 – On the rate of growth of the population of the United States since 1790 and its mathematical representation. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **6**, 275-288.
- REVERSAT (G.), MERNY (G.) – Quelques modalités de l'infestation des racines de riz par *Heterodera oryzae* (en préparation).
- SEINHORST (J. W.) – 1950 – De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aanstasting door het stengelaaltje (*Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev) *Tijdschr. Pl. Ziekt.*, **56**, 291-349.
- SEINHORST (J. W.) – 1962 – Modifications of the elutriation method for extracting nematodes from soil. *Nematologica*, **8**, 117-128.
- SEINHORST (J. W.) – 1963 – Five new *Tylenchorhynchus* species from West Africa. *Nematologica*, **9**, 173-180.
- SEINHORST (J. W.) – 1966 – The relationships between population increase and population density in plant parasitic nematodes. I – Introduction and migratory nematodes. *Nematologica*, **12**, 157-169.
- SEINHORST (J. W.) – 1968 – Underpopulation in plant parasitic nematodes. *Nematologica*, **14**, 549-553.
- SHEPHERD (A. M.) – 1962 – *The emergence of larvae from cysts in the genus Heterodera*. Farnham Royal, England ; Commonw. Agric. Bur. ; 90 p.
- TRIFFITT (M. J.) – 1930 – Observations on the life-cycle of *Heterodera schachtii*. *J. Helminth.*, **8**, 185-196.
- VAN DER VECHT (J.), BERGMAN (B. H. H.) – 1952 – Studies on the nematode *Radopholus oryzae* (Van Breda de Haan) Thorne and its influence on the growth of the rice plant. *Pemb. Balai Besar Penj. Pert. Bogor*, **131**, 82 p.
- VERHULST (P. F.) – 1939 – Note sur la loi que la population suit dans son accroissement. *Mathématique et Physique*, **10**, 113-121.
- WALLACE (H. R.) – 1954 – Hydrostatic pressure-deficiency and the emergence of larvae from cysts of the beet eelworm. *Nature, London*, **173**, 502-503.
- WALLACE (H. R.) – 1956 – The emergence of larvae from cysts of the beet eelworm, *Heterodera schachtii* Schmidt, in aqueous solutions of organic and inorganic substances. *Ann. appl. Biol.*, **44**, 274-282.
- WALLACE (H. R.) – 1966 – Factors influencing the infectivity of plant parasitic nematodes. *Proc. R. Soc., séries B*, **164**, 592-614.
- WINSLOW (R. D.) – 1955 – The hatching response of some root eelworm of the genus *Heterodera*. *Ann. appl. Biol.*, **43**, 19-36.