

ZOOLOGIE. — *Etude préliminaire de la survie en anaérobiose des juvéniles du Nématode Heterodera oryzae (Tylenchida : Heteroderidae). Note (*) de M. Georges Reversat (1), transmise par M. Pierre-Paul Grassé.*

Des mesures de la survie, de la respiration et du poids sec permettent de préciser certains effets de l'anaérobiose sur les juvéniles du Nématode *Heterodera oryzae*. L'anaérobiose provoque l'apparition d'une dette d'oxygène chez les juvéniles, réduit la consommation de leurs réserves énergétiques et accroît leur longévité.

Le Nématode *Heterodera oryzae* Luc et Berdon (2) est habituellement trouvé dans le sol de certains bas-fonds inondés en Afrique de l'Ouest. Strictement phytoparasite et radicicole, il vit sur de nombreuses plantes, dont le riz, cultivé en irrigation. Les sols des rizières inondées sont caractérisés par de faibles teneurs en oxygène, voire par des conditions anaérobies (3). La présente Note a pour but d'évaluer les effets de l'anaérobiose sur les juvéniles du second stade d'*Heterodera oryzae*, phase libre et infestante.

L'expérimentation a consisté tout d'abord à mesurer la durée de la survie de ces animaux en anaérobiose, puis à tenter de mettre en évidence certains des mécanismes qu'elle implique. Dans ce but, des mesures de la respiration postanaérobie et des changements pondéraux en anaérobiose ont été effectués. Pour toutes ces expériences, la mesure des mêmes paramètres en conditions aérobiques sert de témoin.

MÉTHODES. — Les juvéniles sont obtenus par l'éclosion d'œufs du parasite dans l'eau pendant 3 jours. Les juvéniles sont manipulés en suspension dans l'eau et leur nombre est déterminé par le comptage d'une partie aliquote sous la loupe bino-culaire. Toutes les expériences sont faites à 28 °C.

Anaérobiose. — Les juvéniles sont introduits dans un tube rempli d'une solution, préparée extemporanément, de $400 \cdot 10^{-6}$ de sulfite de sodium dans du tampon phosphate pH 7,50 mM. Le tube est alors fermé hermétiquement en évitant que subsiste toute bulle d'air. L'oxygène dissous oxyde rapidement le sulfite en sulfate [(4), (5)]. Le sulfite étant en excès, l'oxygène dissous disparaît complètement, créant ainsi une condition d'anaérobiose (6).

Respiration. — La mesure de l'intensité de la consommation d'oxygène est effectuée à l'aide de ludions d'un volume gazeux de 10 µl, dans lesquels sont introduits 80 juvéniles dépourvus de micro-organismes contaminants (7).

Epreuve de survie. — Les juvéniles sont déposés sur un filtre en papier placé dans une boîte de Pétri pleine d'eau. Les juvéniles actifs traversent le filtre. Ils sont recueillis dans la boîte 24 h après et comptés. Les juvéniles inactifs qui ne traversent par le filtre sont considérés comme morts.

Poids sec. — Un lot d'environ 100 000 juvéniles en suspension dans l'eau est recueilli par filtration sur un filtre préalablement séché et pesé. Le filtre est alors

24 AOÛT 1975 M.

71

Collection de Référence

M

8289 Biol

séché pendant 48 h en présence de gel de silice, puis repesé. Le poids sec est exprimé en nanogrammes (10^{-9} g) par juvénile.

RÉSULTATS. — 1. *Survie*. — L'expérimentation porte sur 20 lots d'environ 8 000 juvéniles.

Quatre lots sont gardés sous une mince couche d'eau (4 mm) en boîte de Pétri. La diffusion gazeuse assure aux animaux une oxygénation satisfaisante. Après 1, 2, 3 et 4 semaines, chaque lot est soumis à l'épreuve de survie puis replacé en boîte de Pétri. Ces résultats ont permis d'établir la courbe de survie en aérobiose (fig. 1, cercles blancs).

Les seize autres lots sont placés en anaérobiose. Après 1, 2, 3 et 4 semaines, quatre d'entre eux sont soumis à l'épreuve de survie, puis éliminés. Ces résultats ont permis d'établir la courbe de survie en anaérobiose (fig. 1, cercles noirs).

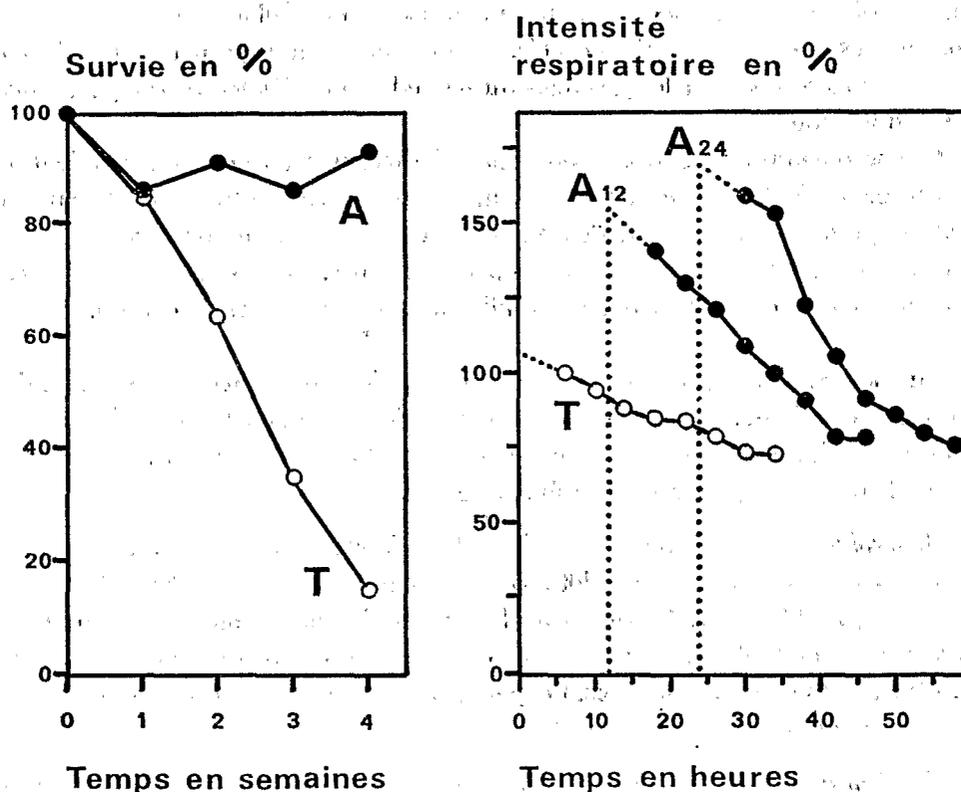


Fig. 1

Fig. 2

Fig. 1. — Survie des juvéniles d'*H. oryzae* (T : aérobiose ; A : anaérobiose).

Fig. 2. — Respiration postanaérobique des juvéniles d'*H. oryzae* (T : après aérobiose ; A₁₂ : après 12 h d'anaérobiose ; A₂₄ : après 24 h d'anaérobiose).

En aérobiose, la proportion des animaux survivants décroît régulièrement et sa valeur n'est plus que de 15% après 4 semaines. En anaérobiose, cette proportion semble stabilisée un peu en dessous du maximum et sa valeur est encore de 92% après 4 semaines.

TABLEAU
Evolution pondérale des juvéniles d'*H. oryzae*

Date	0	2 semaines	
Conditions	Aérobiose	Aérobiose	Anaérobiose
Poids sec ng/juvenile	31,8	24,4	30,2

Au cours de l'expérience en aérobiose, certains animaux sont actifs tandis que d'autres sont inactifs. Ces derniers représentent les animaux morts depuis la précédente épreuve de survie et qui seront éliminés à la suivante. Par contre, en anaérobiose, tous les animaux sont inactifs. La plupart d'entre eux retrouvent leur activité une fois ramenés en aérobiose, lors de l'épreuve de survie.

2. *Respiration.* — Trois lots de cinq ludions sont garnis de juvéniles et ne reçoivent pas de bulle d'air. Les ludions d'un premier lot, le lot témoin, reçoivent une bulle d'air puis sont introduits dans l'appareil de mesures, où la respiration est suivie pendant 30 h (fig. 2, cercles blancs). Les ludions des autres lots sont placés en anaérobiose pendant 12 h pour le premier lot et 24 h pour le second lot. A l'issue de l'anaérobiose, le sulfite est rincé puis les ludions sont alors traités comme les témoins (fig. 2, cercles noirs).

La respiration des animaux témoins diminue régulièrement au cours de l'expérience, ce qui est dû à des contraintes inhérentes à la méthode (⁷). Après l'anaérobiose, les respirations initiales sont plus élevées (+ 40 % pour 12 h et + 60 % pour 24 h). Puis les respirations diminuent régulièrement pour rejoindre la valeur de la respiration témoin après environ 24 h.

3. *Poids sec.* — D'un stock de juvéniles sont extraits six lots dont trois sont pesés aussitôt et trois placés en anaérobiose. Le stock est gardé en boîte de Pétri en aérobiose, comme on l'a décrit plus haut.

Après 2 semaines, les lots maintenus jusque-là en anaérobiose sont pesés, ainsi que trois nouveaux lots extraits du stock par une épreuve de survie.

En deux semaines, la diminution du poids sec d'un juvénile (tableau) est de 7,4 ng en aérobiose et de seulement 1,6 ng en anaérobiose.

DISCUSSION. — Les juvéniles d'*Heterodera oryzae* survivent donc à de longues durées d'anaérobiose. Cette capacité se retrouve chez d'autres nématodes dont le biotope habituel est également anaérobique : espèces libres de fonds marins et espèces parasites intestinaux de Vertébrés (⁸). Par contre, de nombreux Nématodes dont le biotope habituel est aérobie, succombent rapidement en anaérobiose [(⁸), (⁹)].

L'anaérobiose inhibe l'activité des juvéniles d'*Heterodera oryzae*. Dans ces conditions, la pénétration des juvéniles dans la plante hôte serait impossible et le cycle serait bloqué. Comme ce Nématode se perpétue en rizière inondée, il est probable qu'intervient un autre mécanisme. Les racines du riz libèrent de l'oxygène dans le milieu (¹⁰). Ainsi malgré la submersion, la rhizosphère du riz ne serait pas

anaérobie. *Heterodera oryzae* ne serait soumis à l'anaérobiose et donc obligé à l'inactivité qu'en l'absence de la plante. Dans cette perspective, *Heterodera oryzae* apparaît différent des Nématodes cités plus haut dont l'activité et le cycle sont observés aussi bien en anaérobiose qu'en aérobie.

La respiration postanaérobie (*fig. 2*) présente une hyper-consommation d'oxygène momentanée caractéristique de la compensation d'une dette d'oxygène [(⁸), (¹¹)]. Cette compensation couvre 70 % de la dette après 12 h d'anaérobiose et 40 % après 24 h. L'insuffisance de cette couverture ainsi que la différence observée entre 12 et 24 h pourraient être dues soit à une excrétion des produits de fermentation, soit à un ralentissement du métabolisme en anaérobiose.

Les juvéniles d'*Heterodera oryzae* ne se nourrissent pas avant d'avoir pénétré dans la plante hôte. La perte pondérale correspond donc, au moins en partie, à la disparition des réserves énergétiques endogènes, consommées par le métabolisme. Cette perte est beaucoup plus faible en anaérobiose qu'en aérobie (tableau). L'anaérobiose représenterait donc un facteur d'économie énergétique. A cette économie correspond une longévité accrue des juvéniles (*fig. 1*). Cette économie est peut-être simplement due à l'arrêt de l'activité. Cependant cette question du coût énergétique de l'activité chez les Nématodes est actuellement controversée [(¹²), (¹³), (¹⁴)].

(*) Séance du 24 mars 1975.

(1) Avec la collaboration technique de M. M. Gnahore Gohi.

(2) M. LUC et R. BERDON, *Nematologica*, 6, 1961, p. 272.

(3) Y. DOMMERMES et F. MANGENOT, *Ecologie microbienne du sol*, Masson, Paris, 1970.

(4) J. FELDMESSER et W. A. FEDER, *J. Parasitol.*, 40, 1954, p. 18.

(5) W. REINDERS et S. L. VLES, *Rec. Trav. Chim.*, 44, 1925, p. 249.

(6) I. M. KOLTHOFF et H. A. LAITINEN, *Science*, 92, 1940, p. 152.

(7) G. REVERSAT, *Cah. ORSTOM sér. Biol.*, 1975 (sous presse).

(8) D. L. LEE, *The physiology of nematodes*, Oliver et Boyd, Londres, 1965.

(9) W. L. NICHOLAS et R. JANTUNEN, *Nematologica*, 10, 1964, p. 409.

(10) W. ARMSTRONG, *Physiol. Plant. D*, 22, 1969, p. 296.

(11) T. VON BRAND, *Biochemistry of parasites*, Academic Press, New York, 1966.

(12) P. H. SANTMYER, *Proc. Helm. Soc. Wash.*, 23, 1956, p. 30.

(13) C. OVERGAARD-NIELSEN, *Nat. Jutl.*, 2, 1949, p. 1.

(14) M. le Professeur J. R. Le Berre m'a fait bénéficier de ses avis et conseils pour la présentation de cette Note.

Laboratoire de Nématologie,
Centre ORSTOM d'Adiopodoumé,
B. P. n° 20, Abidjan, Côte-d'Ivoire.