

THÈSE de DOCTORAT de l'UNIVERSITÉ PARIS 6

Spécialité:
SCIENCES DE LA VIE
Interactions Hôtes-Parasites

présentée par

Johnny BOYER

pour obtenir le grade de DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PARIS 6

INTERACTIONS BIOLOGIQUES (FAUNE,
RAVAGEUR, PARASITES, MICROFLORE) DANS
DES SOLS SOUS CULTURES EN MILIEU TROPICAL
HUMIDE (ILE DE LA RÉUNION)

soutenue en:

devant le jury composé de :

Mr Francis FOREST	Directeur de Recherche au CIRAD (Montpellier)
Mr Patrick LAVELLE	Professeur à l'Université Paris VI
Mr Roger MICHELLON	Ingénieur de Recherche au CIRAD-CA de Madagascar
Mr Georges REVERSAT	Directeur de Recherche ORSTOM Bondy
Mr Roger RIVOAL	Directeur de Recherche à l'INRA de Rennes
Mme Corinne ROULAND	Professeur à l'Université Paris XII-CRÉTEIL

THÈSE de DOCTORAT de l'UNIVERSITÉ PARIS 6

Spécialité:
SCIENCES DE LA VIE
Interactions Hôtes-Parasites

présentée par

Johnny BOYER

pour obtenir le grade de DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PARIS 6

**INTERACTIONS BIOLOGIQUES (FAUNE,
RAVAGEUR, PARASITES, MICROFLORE) DANS
DES SOLS SOUS CULTURES EN MILIEU TROPICAL
HUMIDE (ILE DE LA RÉUNION)**

soutenue en:

devant le jury composé de :

Mr Francis FOREST	Directeur de Recherche au CIRAD (Montpellier)
Mr Patrick LAVELLE	Professeur à l'Université Paris VI
Mr Roger MICHELLON	Ingénieur de Recherche au CIRAD-CA de Madagascar
Mr Georges REVERSAT	Directeur de Recherche ORSTOM Bondy
Mr Roger RIVOAL	Directeur de Recherche à l'INRA de Rennes
Mme Corinne ROULAND	Professeur à l'Université Paris XII-CRÉTEIL

Avant-Propos

Je voudrais remercier le Professeur Patrick Lavelle, Directeur du Laboratoire d'Écologie des Sols Tropicaux du centre ORSTOM de Bondy pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et conseillé dans ce travail.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Mr Georges Reversat qui a dirigé ce travail avec rigueur .

Ce fut un plaisir pour moi d'avoir travaillé avec Roger Michellon, Ingénieur de Recherche du CIRAD-CA de Madagascar, sans qui la partie terrain n'aurait pu être effectuée. Je le remercie de son aide financière et d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je remercie infiniment Mr Roger Rivoal, Directeur de Recherche à l'INRA de Rennes, pour avoir accepté d'être rapporteur.

J'exprime ma gratitude au Professeur Corinne Rouland de L'Université de Paris XII-Créteil, pour avoir accepté de corriger et d'être rapporteur de ce travail.

Je remercie Mr Francis Forest, Directeur de Recherche au CIRAD de Montpellier, pour avoir accepté de participer au jury.

Je tiens également à remercier:

- Mme Reversat, Directrice de Recherche à l'ORSTOM de Bondy, pour ses critiques et ses corrections.

- Annick Aing, Nicole Zerbib, Françoise Pelletier et Jacqueline Coquenat

- Jérôme Tondob, Jean-Pierre Rossi,

- Syloain Perret, Frédéric Demarne.

- André Chabane.

- Toute l'équipe des Colimaçons, Richard, Aristhène, Patrick, Josian, Just, Maxime, Olivier et à "ti claude", Ginot, Hugues et Aidé.

A ceux qui m'ont supporté et dont leur présence m'a été agréable, je ne sais comment leur exprimer toute ma gratitude. Merci à Anne Pando-Babuon, Christiane Sannier, Marie-France Riandey, Syloain Locati.

À "Mickey", Ramon, Michel et à Danielle.

Merci à Eleusa, Lydie et Sylvain Lardy, Fabienne Charpentier et Jocelyne Yazi. Je leur garde toute mon amitié.

Ce mémoire est dédié à ma compagne (mon tantine) Marie-José et à notre fille Anne (mon kafrine). Merci pour tout.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
PREMIÈRE PARTIE :	
Effet du couvert végétal et de l'inoculation de vers de terre sur une culture de maïs et de géranium	10
1.1. INTRODUCTION	11
1.2. PRÉSENTATION GÉNÉRALE DES SITES	12
1.2.1. Contexte géologique	12
1.2.2. Le Climat	13
1.2.3. La végétation naturelle	13
1.2.4. Cultures et productions agricoles	14
1.2.5. Les sols	16
1.2.5.1. Présentation générale	16
1.2.5.2. Principaux sols	17
1.2.6. Caractéristiques analytiques du sol d'étude	17
1.3. MÉTHODOLOGIE	20
1.3.1. Parcelles expérimentales	20
1.3.2. Echantillonnage de la faune du sol	24
1.3.2.1. La macrofaune	24
1.3.2.2. Les nématodes	25
1.3.3. Matériel végétal	27
1.3.3.1. Lotier velu (<i>Lotus uliginosus</i> Schkuhr)	27
1.3.3.2. Maïs (<i>Zea mays</i> L.)	27
1.3.3.3. "Géranium rosat" (<i>Pelargonium x asperum</i> Erhart)	28
1.3.4. Analyses chimiques du sol	29
1.3.5. Biomasses et activités microbiennes	31
1.3.6. Méthodes Statistiques utilisées	32

1.4. RÉSULTATS DE LA PREMIÈRE PARTIE	33
1.4.1. ÉTUDE DES PEUPELEMENTS DE MACROINVERTÉBRÉS EN FONCTION DES MODES DE GESTION DE LA CULTURE DE GÉRANIUM	34
1.4.1.1. Densités	34
1.4.1.2. Biomasses	36
1.4.1.3. Répartition verticale de la macrofaune dans le sol	38
1.4.1.4. Analyse factorielle des correspondances (AFC) avec les densités	40
1.4.2. EFFETS DE LA COUVERTURE DE LOTIER ET DE L'INOCULATION DE VERS DE TERRE SUR LA CULTURE DE MAÏS	41
1.4.2.1. Production végétale	41
1.4.2.1.1. Maïs	41
1.4.2.1.2. Lotier	43
1.4.2.2. Populations de vers de terre (<i>Amyntas corticis</i>)	43
1.4.2.3. Populations de <i>Pratylenchus vulnus</i>	46
1.4.2.4. Biomasse et activité respiratoire de la microflore	48
1.4.2.5. Propriétés chimiques du sol	48
1.4.2.6. Analyse en Composantes Principales avec les données de nématodes chimiques et biologiques du sol et agronomiques	49
1.4.3. EFFETS DE LA COUVERTURE DE LOTIER ET DE L'INOCULATION DE VERS DE TERRE SUR LA CULTURE DE GÉRANIUM	51
1.4.3.1. Production végétale	51
1.4.3.2. Population de ver de terre (<i>Amyntas corticis</i>)	52
1.4.3.3. Population de <i>Pratylenchus sp.</i>	54
1.4.3.4. Biomasse et activité respiratoire de la microflore du sol	54
1.4.3.5. Analyse en Composantes Principales	55
1.5. DISCUSSION ET CONCLUSIONS DE LA PREMIÈRE PARTIE	57
1.5.1. ÉTUDE DES PEUPELEMENTS DE MACROINVERTÉBRÉS EN FONCTION DES MODES DE GESTION DE LA CULTURE DE GÉRANIUM	58

1.5.2. EFFETS DE LA COUVERTURE DE LOTIER ET DE L'INOCULATION DE VERS DE TERRE SUR LES CULTURES DE MAÏS ET DE GÉRANIUM	61
---	----

DEUXIEME PARTIE :
ETUDE AU LABORATOIRE DES INTERACTIONS ENTRE
LES VERS DE TERRE ET LES NEMATODES
PHYTOPARASITES 65

2.1. INTRODUCTION	66
-------------------	----

2.2. MATERIEL ET MÉTHODES	66
2.2.1. Les vers de terre	66
2.2.2. Les nématodes	67
2.2.3. Élevage des vers de terre et des nématodes en laboratoire	68
2.2.4. Multiplication des nématodes en microserre	68
2.2.5. Préparation des extraits de tube digestif des vers de terre	69
2.2.6. Interactions entre <i>Pontoscolex corethrurus</i> , <i>Pratylenchus zaeae</i> et <i>Oryza sativa</i> en pot	70
2.2.7. Interactions entre <i>Pontoscolex corethrurus</i> et <i>Heterodera sacchari</i>	71
2.2.7.1. Ingestion de kystes, émergence des juvéniles J2 et évaluation de la population finale des kystes d' <i>Heterodera sacchari</i>	71
2.2.7.2. Action du tube digestif de <i>Pontoscolex corethrurus</i> sur les J2 d' <i>Heterodera</i> <i>sacchari</i>	71
2.2.7.3. Action du tube digestif de <i>Pontoscolex corethrurus</i> sur l'éclosion des œufs d' <i>Heterodera sacchari</i>	72
2.2.8. Isolement et dénombrements des bactéries du sol	72
2.2.9. Effets des extraits de tube digestif d' <i>Amyntas corticis</i> sur la microflore du sol	72
2.2.10. Effets des inhibiteurs spécifiques de protéases sur le contenu du tube digestif d' <i>Amyntas corticis</i>	73

2.2.11. Effets des protéases sur la population de J2 d' <i>Heterodera sacchari</i>	73
2.2.12. Mise en évidence de la trypsine dans le contenu du tube digestif d' <i>Amyntas corticis</i>	74
2.2.13. Méthodes Statistiques utilisées	74
2.3. RÉSULTATS	76
2.3.1. Interactions entre <i>Pontoscolex corethrurus</i> , <i>Pratylenchus zeae</i> et <i>Oryza sativa</i> en pots	76
2.3.2. Interactions entre <i>Pontoscolex corethrurus</i> et <i>Heterodera sacchari</i>	77
2.3.2.1. Ingestion des kystes et étude de l'émergence des J2 des kystes d' <i>Heterodera sacchari</i>	77
2.3.2.2. Evaluation de la population finale par dissection des kystes	78
2.3.2.3. Action des extraits de tube digestif (TDC et TDS) de <i>Pontoscolex corethrurus</i> sur l'éclosion des œufs et sur les J2 d' <i>Heterodera sacchari</i>	80
2.3.3. Action du tube digestif et du contenu de vers de terre (<i>Amyntas corticis</i>) sur la microflore du sol	83
2.3.3.1. Analyses microbiologiques	83
2.3.3.2. Effets des extraits de tube digestif de ver (<i>Amyntas corticis</i>) sur la microflore du sol	84
2.3.3.3. Mise en évidence de la colonie bactérienne 3 dans le tube digestif de ver et caractérisation	84
2.3.4. Effets des inhibiteurs spécifiques de protéases sur le contenu du tube digestif de ver de terre (<i>Amyntas corticis</i>)	85
2.3.5. Effets des protéases sur les juvéniles 2 d' <i>Heterodera sacchari</i>	87
2.3.6. Mise en évidence d'une activité tryptique dans le tube digestif avec son contenu (TDC) de ver de terre et au niveau de la colonie bactérienne coque gram+	89
2.4. DISCUSSION-CONCLUSIONS	91
2.4.1. Interactions entre <i>Pontoscolex corethrurus</i> , <i>Pratylenchus zeae</i> et <i>Oryza sativa</i> en pots	91

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Dans les pays tropicaux humides, du fait d'une pression démographique grandissante et d'une demande de production agricole accrue, la surexploitation des milieux entraîne une dégradation importante des sols soumis à des degrés de stress chimique, physique et biologique de plus en plus importants (Greenland & Szabolcs, 1994). Dans ces pays, les pratiques agricoles traditionnelles deviennent destructrices et notamment la culture itinérante sur brûlis qui, avec un temps de jachère trop court pour permettre une régénération forestière, a contribué à la diminution rapide des surfaces de forêt dans nombre de pays des zones tropicales humides.

Avec un système de jachères courtes le sol n'est pas suffisamment régénéré. La fertilité des sols diminue, les rendements aussi. Il s'ensuit une augmentation et une exploitation accrue de la forêt.

Le contexte économique et social de la plupart des pays des zones tropicales humides ne permet pas d'envisager de solution agronomique classique des pays développés à ce grave problème : l'apport massif d'engrais chimiques ou de produits phytosanitaires aux cultures, est, la plupart du temps, impossible en raison de l'inadéquation des moyens de transport ou de la difficulté à financer ces intrants (F.A.O., 1981); par ailleurs, quand ces obstacles n'existent pas, ces méthodes agronomiques, classiques des pays tempérés, ont parfois subi des échecs car elles ne prenaient pas en compte la spécificité des sols tropicaux (faible pouvoir tampon, toxicité aluminique par exemple).

Plusieurs voies de recherche permettant de pérenniser les cultures à faibles intrants sont actuellement développées parmi lesquels l'intégration des processus naturels, tels le recyclage efficace des nutriments, la fixation biologique de l'azote, le contrôle biologique naturel des parasites dans la conduite des cultures et une meilleure utilisation des potentiels biologiques et génétiques des plantes et des espèces animales.

Une des voies de recherche est la manipulation des processus biologiques qui entretiennent la fertilité des sols dans des systèmes naturels et qui permettent à des sols apparemment pauvres, de soutenir une production primaire élevée (Swift & Lavelle, 1987; Swift, 1994). Le programme TSBF (Tropical Soil Biology and Fertility) lancé en 1984 par l'IUBS et l'UNESCO dans le cadre de la "Décennie des Tropiques" s'est fixé pour objectif de déterminer des moyens pour conserver ou améliorer les potentialités agricoles des sols tropicaux et optimiser des techniques agricoles à faibles intrants.

Outre la gestion adaptée des matières organiques (application de résidus de récolte et d'engrais vert de légumineuses, cultures en couloirs), la manipulation de la macrofaune du sol semble offrir des perspectives intéressantes. Certains groupes-clés de macroinvertébrés tels que les vers de terre, les termites, les fourmis et autres arthropodes se nourrissent de la litière, affectent la structure physique du sol et la dynamique des

nutriments et de la matière organique par leur effets sur la minéralisation et l'humification (Anderson & Flanagan, 1989; Lavelle *et al.*, 1992a; Lavelle & Gilot, 1994).

1. État des connaissances

En milieu tropical humide, la manipulation des populations de vers de terre représente une option de gestion intéressante; en effet ces vers représentent généralement plus de 50% de la biomasse de la faune totale dans ces milieux (Lavelle *et al.*, 1989) et ils exercent le plus souvent des effets positifs sur la plupart des paramètres de la fertilité naturelle des sols et, *in fine*, sur la croissance des plantes. Par ailleurs, ils affectent l'ensemble de l'espace des horizons supérieurs, contrairement aux fourmis et aux termites, eux aussi abondants, mais dont les actions sont plus localisées.

Dans les sols tropicaux humides, les vers de terre appartiennent majoritairement à la catégorie écologique des endogés (Lavelle, 1983). Ces vers ingèrent de grandes quantités de sol (Bolton & Phillipson, 1976; Lavelle, 1978; Lavelle *et al.*, 1987) sans y ajouter de matériau organique frais tel que la litière; ils se nourrissent de la matière organique du sol, contrairement aux épigés et aux anéciques qui se nourrissent essentiellement de débris organiques peu humifiés.

L'activité des vers, principalement celle des endogés, affecte l'agrégation du sol, la densité apparente, la porosité et le taux d'infiltration de l'eau, prévenant dans la majorité des cas l'érosion et la compaction (Noble *et al.*, 1970; Van Rhee, 1977; Sharpley *et al.*, 1979; Blanchart, 1990). Certaines espèces de vers de terre sont considérées comme "compactantes" ; elles se nourrissent d'agrégats organo-minéraux de petite taille et libèrent des agrégats de taille supérieure riches en composés minéralisables (Sharpley & Syers, 1976, 1977; Sharpley *et al.*, 1979; Lavelle *et al.*, 1992a; Brossard *et al.*, 1996) mais leur action à long terme peut être négative sur les propriétés physiques du sol si leurs effets ne sont pas régulés par ceux des espèces "décompactantes", et affecter à terme la croissance des plantes.

L'effet des vers de terre se manifeste aussi sur les caractéristiques chimiques du sol. Les nutriments contenus dans les déjections de vers (turricules) sont plus disponibles que dans le sol, en particulier l'azote et le phosphore (Bouché, 1975; Lee & Ladd, 1984; Barois *et al.*, 1987, Springett & Syers, 1979; Satchell & Martin, 1984; Lopez-Hernandez *et al.*, 1993; Chapuis & Brossard, 1995). A différentes échelles de temps, la matière organique des sols tropicaux est affectée par les vers de terre. A l'échelle du transit intestinal (quelques heures), ils accélèrent la minéralisation (Martin, 1991; Lavelle *et al.*, 1992a) et la fragmentation des particules de matière organique en éléments plus fins (Martin, 1989). A l'échelle de temps du turricule "frais" (quelques heures à quelques

jours), l'activité microbienne se poursuit et conduit à une minéralisation et une réorganisation des nutriments dans la biomasse microbienne (Lal & De Vleeschauwer, 1982; Barois *et al.*, 1987; Lavelle *et al.*, 1992b). Par la suite, la décomposition diminue de manière importante dans les turricules âgés, du fait d'une protection de la matière organique dans la structure compacte des turricules (Martin, 1991).

Interactions entre les vers de terre et la végétation

De nombreux travaux menés en milieu tempéré et tropical, ont mis en évidence une corrélation entre l'abondance des vers de terre (Lumbricidae) et la production de plantes cultivées. Les travaux de Brown *et al.* (1996) réalisés sur six pays différents, impliquant 14 espèces de plantes, six grands groupes de sols et 11 espèces de vers de terre montrent que dans plus de 63% des cas étudiés une augmentation globale de la production des plantes est obtenue. Toujours selon Brown *et al.* (1996) les plantes qui bénéficient le plus des effets de la présence des vers de terre sont les arbres tropicaux (de 121% à 880% au Pérou) et le thé (162%, en Inde). Toutes les espèces de vers de terre n'ont pas le même impact sur la croissance des plantes. D'autres expériences ont montré que l'effet des vers variait selon les espèces et la biomasse introduite (Brown *et al.*, 1996). Des effets négatifs ou nuls peuvent être observés sous certaines conditions (Edwards & Lofty, 1980; Lee, 1985), comme l'insuffisance de la biomasse de ver introduite (Derouard *et al.*, 1997). Ces effets sur la production des plantes sont expliqués au moins en partie par l'action de l'activité des vers sur les paramètres physiques et chimiques du sol.

Réciproquement la végétation elle-même exerce une influence sur les populations naturelles de vers de terre. Cet effet semble lié d'une part aux espèces végétales impliquées et d'autre part aux techniques de culture: culture permanente ou culture annuelle. Ainsi sous les pâturages améliorés avec des plantes herbacées de couvertures (*Brachiaria humidicola*, *Desmodium ovalifolium*, *Centrosema pubescens*, *Purearia phaseoloides*), la macrofaune montre une forte densité en vers de terre dont la biomasse représente plus de 70% de la biomasse totale de la macrofaune du sol (Lavelle & Pashanasi, 1989; Decaëns *et al.*, 1994, 1997). Au contraire sous les cultures annuelles de riz et de manioc fortement fertilisées on constate une diminution importante quantitative et qualitative des populations d'invertébrés du sol (Decaëns, 1994).

Interactions entre nématodes et association de plantes

Les dégâts occasionnés par les nématodes aux cultures peuvent être importants et sont fonction de la sensibilité, de la non tolérance de la plante et de la pratique de la monoculture (Luc *et al.* 1990). Cette pathogénie est liée à la sensibilité des plantes aux nématodes présents sur le terrain. Certains nématodes possèdent un spectre d'hôtes assez large et d'autres plus restreint. D'où l'intérêt des rotations culturales dans la lutte contre les nématodes (Luc *et al.*, 1990).

Si l'effet des nématodes est bien connu dans le cas des monocultures, lors d'associations entre des plantes de sensibilités différentes aux nématodes les résultats obtenus sont plus complexes (Marban-Mendoza *et al.*, 1989, 1992). La culture mixte de *Concanavalia ensiformis* (Légumineuse) et de la tomate provoque une réduction du nombre de galles causées par *Meloidogyne incognita* et *Nacobbus aberrans*. Dans les mêmes conditions la légumineuse, *Mucuna deeringia* a un effet plus faible (Marban-Mendoza *et al.*, 1989).

Relations entre les vers de terre et la microflore

Il existe un mutualisme entre les vers de terre et la microflore du sol pour l'exploitation de la matière organique (Barois & Lavelle, 1986; Barois, 1987). Dans ce système interactif, le ver fournit du carbone assimilable sous forme de mucus intestinal pour déclencher l'activité microbienne intestinale. La microflore ainsi activée est en mesure de dégrader la matière organique du sol, la rendant assimilable pour le ver, par la production d'enzymes. Zhang *et al.* (1993) ont montré que la cellulase et la mananase retrouvées dans le contenu digestif du ver *Pontoscolex corethrurus* étaient effectivement produites par la microflore ingérée. Par des mesures de microrespirométrie, Barois (1987) observe une activité microbienne supérieure dans la partie moyenne et postérieure du tube digestif des vers de terre.

Relations entre les vers de terre et les nématodes

En parasitologie animale (animaux domestiques et sauvages), plusieurs travaux ont mis en évidence le rôle d'hôte intermédiaire, de réservoir de parasites et de vecteur de propagation assuré par les vers de terre (Rysavy, 1969). Les cysticercoïdes (stades infestant des Cestodes) d'*Amoebotaenia cuneata*, Linstow 1872, ont été retrouvé chez le ver de terre *Eisenia foetida* Savigny 1826, par Grassi et Rovelli en 1892.

Les vers de terre peuvent ingérer de grandes quantités de sol et de litière, jusqu'à plusieurs centaines de tonnes de sol sec ha⁻¹an⁻¹ pour les endogés (Lavelle, 1978; Lee, 1985). On peut donc penser que les nématodes du sol sont ingérés en même temps. En étudiant la dispersion de *Steinernema carpocapsae* (Weiser) en présence de vers de terre (*Lumbricus terrestris* et *Aporrectodea trapezoides*), Shapiro *et al.* (1993) retrouvèrent des nématodes vivants dans les vers disséqués et les turricules sans altération de leur capacité à pénétrer et à se reproduire dans *Galleria mellonella* (L.).

Concernant l'antagonisme direct des vers de terre vis à vis des nématodes phytoparasites du sol, peu d'études concernant les interactions entre les vers de terre et la microfaune des sols et plus précisément les nématodes phytoparasites ont été faites (Lee, 1985). A fortiori, peu de travaux portant sur les mécanismes d'interactions pouvant exister entre ces deux groupes zoologiques ont été réalisés.

Ellenby (1945) observe expérimentalement, en présence de vers de terre (*Allolobophora longa* Ude) une augmentation du nombre de larves qui émergent des kystes d'*Heterodera rostochiensis* Wollenweber, que cette émergence est plus précoce et qu'un plus grand nombre de kystes produisent des larves.

Les expériences réalisées par Dash *et al.* (1980), ont porté sur les nématodes du sol (phytoparasites, microbivores et les prédateurs). En présence d'un, deux et de quatre vers de terre ils observent une diminution de la population totale de nématodes à une, deux, trois, quatre, et six semaines. Le pourcentage de diminution est doublé quand on passe de un à deux vers de terre, mais reste le même quand on passe de deux à quatre vers.

Yeates en 1981 observe une diminution du nombre total de nématodes du sol dans trois types de sol. Cependant, à l'intérieur des groupes fonctionnels de nématodes, il note une augmentation de certaines catégories, particulièrement les bactériophages et les prédateurs.

Senapati (1992) travaillant sur des nématodes phytoparasites, *Hirschmanniella* et *Heliocotylenchus*, et des bactériophages, *Acrobeloides* observe une diminution de la population de ces nématodes en présence du ver de terre *Lampito mauritii* Kingberg, qui fait partie de la catégorie des anéciques.

Relations entre les nématodes phytoparasites et la microflore

Des relations synergiques existent entre les nématodes et la microflore du sol. La présence des nématodes peuvent sensibiliser la plante aux maladies bactériennes. Par les blessures faites aux racines de la plante hôte, ils facilitent l'invasion bactérienne (Poinar & Hansen, 1986). Les nématodes peuvent aussi agir comme vecteur, en transportant les bactéries à la surface de leur corps (Hawn, 1971; Riley & McKay, 1990). Cela semble le

cas dans l'association entre *Pseudomonas solanacearum* et *Meloidogyne incognita* (Lucas *et al.*, 1955). Le flétrissement bactérien dû à *Pseudomonas solanacearum*, est plus important dans les variétés de tomates résistantes en présence de *M. incognita*. Les galles induites par *Anguina funesta*, dans le ray-grass (*Lolium rigidum*) deviennent toxiques aux animaux (moutons, vaches) quand le ray-grass est colonisé par les bactéries (Lanigan *et al.*, 1976; Stynes *et al.*, 1979).

Les relations antagonistes sont aussi observées entre la microflore et les nématodes phytoparasites. La colonisation des plantes par des endomycorrhyzes a un effet dépressif sur les nématodes. La pénétration et le développement de *M. incognita* chez la tomate est significativement réduite par *Glomus mosseae* (Sikora, 1978). L'infection des racines de tabac par *Pseudomonas solanacearum* permet une diminution de la population de *Meloidogyne incognita* (Lucas *et al.*, 1955).

Enfin, les nématodes eux même subissent l'effet de micro-organismes qui peuvent être prédateurs ou parasites. Les cas les plus connus sont les champignons prédateurs de nématodes comme *Arthrobotrys irregularis* (Cayrol, 1983) et l'actinomycète *Pasteuria penetrans* (Birchfield & Antonopoulos, 1976). De plus sans aller jusqu'au parasitisme on constate que la présence de certaines souches bactériennes permet l'attachement de *Pasteuria penetrans* à *Meloidogyne* spp. (Duponnois & Mateille, 1996).

2. Objectifs

L'apport récent de l'agroforesterie et des couvertures végétales permanentes du sol permet de proposer des systèmes de culture stables dans un environnement protégé. La fixation d'une agriculture durable ne se conçoit qu'à partir de techniques de protection totale du capital sol associant les cultures à des couvertures herbacées comme cela a été démontré dans de nombreuses régions du monde (Hargrove, 1991; Monegat, 1991; Seguy *et al.*, 1996).

Sans vouloir infirmer l'interprétation donnée de l'effet des vers de terre et des techniques agrobiologiques (couvertures végétales permanentes) sur la fertilité du sol, on peut toutefois se demander si les expériences pratiquées ne restent pas passibles d'observations complémentaires sur d'éventuels effets des vers de terre et des couvertures végétales sur la flore et la faune phytoparasites, tels que les nématodes pour ne prendre que les plus évidents. Pour en rester au strict domaine des nématodes phytoparasites qui nous concerne, on peut imaginer une action des vers de terre et des couvertures herbacées vivantes, antagoniste des nématodes phytoparasites.

C'est sur cette hypothèse de base que les travaux relatés dans ce mémoire ont été entrepris. D'une part dans un contexte particulièrement favorable, celui de l'Ile de la

Réunion on a tenté de mettre en évidence sur le terrain les relations entre les pratiques culturales et la faune du sol et d'autre part, au laboratoire, on a tenté de mettre en évidence les interactions entre deux groupes de cette faune du sol, les vers de terre endogés et les nématodes phytoparasites.

A l'île de la Réunion, la culture itinérante traditionnelle avec jachère arborée s'est progressivement sédentarisée sous l'influence de différents facteurs socio-économiques. L'abandon de la jachère, qui assurait la restauration de la fertilité, a entraîné, en l'absence d'un changement notable des itinéraires techniques, une baisse de rendements accompagnée d'une prolifération des adventices et des maladies. Cette dégradation des conditions agronomiques des cultures a contribué à la disparition d'un grand nombre d'exploitations (Michellon, 1996). Les effets néfastes de certaines cultures de rente et leurs conséquences sur l'exode rural ont conduit à la mise en place du Plan d'Aménagement des Hauts en 1983. L'intervention de la recherche agronomique s'est inscrite dans le cadre de ses orientations. Ses objectifs comportèrent en effet : la protection de l'environnement, et en particulier la défense et la restauration des sols, avec l'introduction de couverts végétaux permanents, le développement agricole de la zone, grâce au soutien des productions traditionnelles (géranium rosat, cultures maraîchères...) et à une diversification des cultures destinées au marché local (vivrières, maraîchères et élevages).

Le mémoire a été divisé en deux parties : une, relative aux expériences au champ et l'autre qui a porté sur l'étude au laboratoire des mécanismes d'interaction pouvant exister entre les vers de terre et les nématodes phytoparasites.

La première partie, réalisée à l'île de la Réunion a comporté deux étapes. Dans un premier temps, il s'agissait pour nous, d'étudier les populations de la macrofaune du sol en fonction des modes de gestion des cultures. A partir des résultats obtenus dans de cette première étude, et en tenant compte de l'effet des couvertures végétales sur les rendements agricoles, on a choisi une couverture pour la mise en place des essais expérimentaux. Ces essais ont porté sur l'étude *in situ* des effets de l'inoculation de vers de terre et de la couverture végétale permanente choisie, séparément et en association sur les populations de nématodes phytoparasites trouvés sur les cultures (*Pratylenchus vulnus* et *P. sp.*), sur les cultures de maïs et de géranium et certains paramètres chimiques et biologiques du sol. Nous avons voulu vérifier deux hypothèses de terrain:

- la première: les vers de terre diminuent la population de nématodes phytoparasites
- la seconde: la couverture agit elle directement sur les nématodes en servant de piège ou indirectement en stimulant les vers.

Les espèces animales et végétales impliquées sur le terrain étaient imposées par la situation:

- plantes: maïs / géranium / couverture de lotier
- les vers de terre: *Amyntas corticis* qui est l'espèce trouvée sur les sites étudiés
- nématodes: *Pratylenchus vulnus* et *Pratylenchus sp.*, trouvés sur les parcelles étudiées.

La deuxième partie, a été réalisée au laboratoire et a porté sur l'étude des interactions *in vitro* pouvant exister entre les nématodes phytoparasites et les vers de terre géophages (qui se nourrissent de la matière organique des sols) tropicaux lors du transit intestinal des nématodes dans le tube digestif des vers de terre. Les expériences ont montré qu'il existe une action indirecte du tube digestif des vers de terre sur les nématodes et le mécanisme de cette interaction a été élucidé.

On a choisi comme modèle d'étude des situations et des espèces quelques peu différentes de celles rencontrées lors des travaux réalisés sur le terrain et ceci pour deux raisons :

- *Heterodera sacchaririz* et *Pratylenchus zeaeriz* font partie des modèles d'étude du laboratoire avec lesquels il est aisé de travailler.

- les espèces de terrain comme *Pratylenchus vulnus* et *Pratylenchus sp.* n'ont pas pu être maîtrisées au laboratoire dans les mêmes conditions.

De plus les élevages de vers de terre tropicaux au laboratoire n'ont pu être parfaitement maîtrisés car même dans les conditions favorables qui impliquent l'usage du sol d'origine, la reproduction d'*A. corticis* et de *Pontoscolex corethrurus* n'a pu être obtenue. Dans ces conditions, l'expérimentation a été faite avec des animaux importés d'outre mer au fur et à mesure des besoins. Pour les espèces de vers de terre, notre choix a porté sur :

- *Amyntas corticis* qui est l'espèce trouvée sur les sites et parcelles expérimentales. Ses capacités d'adaptation sont plus restreintes car il s'agit d'un ver de moyenne altitude (1000 m d'altitude) mais son statut écologique particulier d'épi-endogé en fait un cas très intéressant pour l'enfouissement de la matière organique végétale

- *Pontoscolex corethrurus* qui est une espèce pantropicale endémique susceptible de s'adapter à de nombreuses conditions écologiques ce qui en fait un candidat idéal pour l'inoculation dans de nombreux écotypes.

I. PREMIÈRE PARTIE :

Effet du couvert végétal et de l'inoculation de vers de terre sur une culture de maïs et de géranium

1.1. INTRODUCTION

La culture itinérante traditionnelle avec jachère arborée s'est progressivement sédentarisée sous l'influence de différents facteurs socio-économiques. Après l'abandon de la jachère arborée, la restauration de la fertilité du sol n'est plus assurée. La monoculture entraîne une diminution du rendement liée à l'appauvrissement des sols, en l'absence de lutte anti-érosive, à la prolifération des adventices et à des maladies (Michellon, 1992).

Dans les Hauts de l'ouest de l'île de la Réunion, le CIRAD dispose de la station de recherche des Colimaçons (780 m, géranium, systèmes vivriers, arboriculture fruitière) et gère divers sites expérimentaux : Cocâtre (850 à 1100 m), Fond Jardin (975 à 1050 m). L'Ouest de l'île regroupe les terres au dessus de 600 m, entre St Paul et les Avirons, soit une surface totale d'environ 20 000 hectares dont 9 000 ha sont à vocation agricole.

Nous avons bénéficié des dispositifs installés depuis 1984 par une équipe du CIRAD-CA dirigé par Roger Michellon. Les systèmes de culture comparés pendant une décennie (sur le site de Cocâtre) ont été mis en place en 1983 après 15 années de monoculture du géranium. En 1988, pour évaluer l'intérêt des couvertures végétales, elles ont été étendues à des sols non dégradés après canne à sucre, ou restaurés par la jachère d'*Acacia mearnsii*. On s'est en premier attaché à étudier le peuplement d'invertébrés du sol engendré par des systèmes de culture avec différentes couvertures végétales permanentes.

A partir de cette première étude, la couverture végétale la plus favorable au développement et au maintien de la macrofaune du sol, et dont l'installation est rapide, sera choisie pour la seconde étape de l'expérience. Dans cette seconde étape, il s'agit d'étudier l'impact de la présence de la couverture sélectionnée et de l'inoculation de ver de terre, séparément et en association, sur les paramètres chimiques et biologiques du sol et sur les performances agronomiques (rendements) des cultures pratiquées. Parmi les paramètres biologiques, il s'agit d'étudier l'évolution des populations de nématodes phytoparasites, de la microflore du sol et d'un lépidoptère parasite du maïs, le foreur des tiges (*Sesamia calamistis*), le borer "rose". Les cultures végétales choisies sont le maïs et le géranium.

1.2. PRÉSENTATION GÉNÉRALE DES SITES

L'île de la Réunion se situe par 21° 07 de latitude sud et 55°32 de longitude est, dans l'Océan Indien occidental, à 800 km de Madagascar et 200 km de l'île Maurice.

D'une superficie de 2510 km², elle possède une forme générale ovoïde dont le grand axe mesure 70 km et l'axe transverse 50 km. Elle est constituée par la partie émergée d'un stratovolcan intraplaque, établi à partir d'un fond océanique de -4000 m (Le Piton des Neiges).

1.2.1. Contexte géologique

a) Le massif du Piton des Neiges (Chevalier, 1979)

Le Piton des Neiges a émergé il y a un peu plus de 3 millions d'années et les dernières phases de son activité datent de 10000/15000 ans. Deux unités géologiques ont été mises en place : la série des océanites constitue le bouclier primitif et présente 2 phases d'activité : les océanites anciennes zéolitisées, affleurant au fond des Cirques (phase sous-marine de l'édification); les océanites récentes, formées d'un empilement de coulées d'océanites et de basalte à olivine. La seconde est la série différenciée qui recouvre l'ensemble et se compose de basaltes alcalins et ses produits de différenciation (hawaïtes, mugéarites, benmoréites, trachytes).

Le volcanisme effusif du massif devient explosif dans la phase finale de son activité. C'est la période des laves différenciées concomitante du début de l'activité du Piton de la Fournaise. Les dernières émissions (-40000 à -15000 ans) sont de type pyroclastique.

Ces dépôts cendreaux ont saupoudré la majeure partie des "Hauts" de l'île (Raunet, 1991). Ce matériau hétérogène est composé de cendrées, scories, ponces, tufs et lapillis. Il a atténué la topographie et constitue un substrat d'altération rapide sur lequel se sont différenciés les sols profonds de l'île, en particulier les sols andiques des versants ouest et sud.

b) Le massif du Piton de la Fournaise

Le Piton de la Fournaise s'est édifié il y a un peu plus de 500000 ans en s'appuyant sur le versant est du Piton des Neiges et son activité se poursuit actuellement. Volcan de type hawaïen il est caractérisé par l'émission de laves très fluides.

1.2.2. Le Climat

L'île doit son climat contrasté à sa situation océanique, à sa latitude australe assez basse et à la "compacité" de son orographie et son altitude élevée.

La Réunion est donc soumise à un climat tropical austral à deux saisons : une saison fraîche et sèche de mai à novembre, durant laquelle l'alizé souffle du S-SE et une saison chaude et humide de décembre à avril, influencée par les courants de mousson du NE.

Sous l'influence de ces courants, l'île est divisée en deux zones : la côte au vent (2000 à 8000 mm de pluie/an) et la côte sous le vent (600 à 2500 mm de pluie/an). Un gradient altitudinal ajoute à la variabilité spatiale des précipitations, principalement sur le versant est.

Durant la saison chaude, des dépressions tropicales pouvant évoluer en cyclones, sont responsables de la plus grande partie du total pluviométrique annuel et conditionnent la grande variabilité inter annuelle observée. Les pluies de saison sèche présentent une certaine constance inter annuelle car elles sont généralement de nature orogénique, l'humidité de l'alizé se condensant sur la masse montagneuse de l'île.

L'humidité relative de l'air reste très élevée avec des valeurs minimales d'environ 50% et des maximales de plus de 90% sur la côte (Cadet, 1980). Dans les hauts de l'Ouest, la moyenne est d'environ 85% à 600 m et de 90% entre 1000 et 1500 m du fait des brouillards fréquents (Genere 1985).

L'insolation, importante en zone côtière (8 h/jour en moyenne) est largement réduite (4 à 5 h) dans les Hauts de l'ouest par l'ennuage. L'insolation atteint un minimum vers 1 100-1 500 m d'altitude (3h 30/j) (Genere, 1985).

Les températures varient principalement en fonction de l'altitude ; le gradient est de $-0,7^{\circ}\text{C}$ pour 100 m en moyenne. Sans relation nette avec l'altitude, l'amplitude thermique journalière est comprise entre 6 et 9°C .

1.2.3. La végétation naturelle (Cadet, 1980)

La végétation naturelle de la Réunion est zonée en ceintures subcirculaires et étagée suivant l'altitude et la pluviométrie.

Cadet (1980) distingue quatre grands ensembles phyto-écologiques fondamentaux : la série mégatherme semi - xérophile, la série mégatherme hygrophile, la série mésotherme hygrophile et la végétation éricoïde oligotherme des hautes altitudes.

Les séries mégathermes de moyenne et basse altitude ont été en grande partie éliminées ou fortement dégradées par l'homme, les formations végétales naturelles (endémiques ou introduites) occupent principalement les Hauts, les ravines et le littoral ouest sec.

La végétation forestière s'étend dès 700 m dans l'est et commence par une bande forestière d'espèces introduites (*Psidium cattleianum*, *Eugenia jambos*...) et passe ensuite à une forêt primitive de bois de couleur, de type mégatherme hygrophile (*Cyathea sp*, *Pandanus montanus*) puis mésotherme (*Acacia heterophylla*, *Nastus bornicus*). Dans l'ouest, une bande littorale sèche est couverte d'une savane semi-aride (*Heteropogon contortus*) ou arbustive (*Leucaena glauca*). Entre 1200 et 2000 m s'étend tout d'abord une zone à *Acacia decurrens* et *Lantana camara* puis l'étage à tamarins des Hauts et nattes (*Acacia heterophylla*, *Nastus borbonicus*). Au delà de 2000 m l'ensemble est couvert par une végétation éricoïde à base de *Phillippia montana*.

La flore de l'île est d'une grande richesse. Parmi la flore indigène on estime ainsi que 90% des espèces sont endémiques des îles du sud-ouest de l'océan Indien (Madagascar, Comores, Mascareignes), 60% n'existent qu'aux Mascareignes (Maurice, Réunion, Rodrigues) et que 30% sont endémiques strictes à la Réunion.

1.2.4. Cultures et productions agricoles

Plus de la moitié des surfaces agricoles (53%) est occupée par des cultures industrielles (principalement canne à sucre et plantes à huiles essentielles). La canne à sucre occupe 50% des surfaces agricoles. Le sucre reste la première exportation en volume et en valeur (80%) (Direction de l'Agriculture et des Forêts, 1996). Le système à base de géranium et les cultures vivrières des Hauts sont superposés géographiquement à la couverture de sols andiques d'altitude à fortes contraintes.

a) La canne à sucre

Dans le nord, l'est et le sud de l'île, le littoral jusqu'à 500 m est largement dominé par la canne à sucre. Dans l'ouest elle s'étend de 400 à 1000 m (33200 ha en 1990 pour une surface agricole utile. totale de 63600 ha). La superficie moyenne des exploitations

est de 3,17 ha. Le sucre en est le produit principal (195000 tonnes en 1995, essentiellement exporté), accompagné de production de rhum et dérivés (mélasses...).

D'autres spéculations s'associent au système cannier dans l'est de l'île : la vanille (700 quintaux en 1991), les fruitiers tropicaux (bananes et ananas). On observe un développement des cultures légumières (3550 ha en 1990). En altitude, la polyculture-élevage se substitue par place à la canne.

b) Les systèmes de culture à base de géranium

Le géranium (pélargonium à parfum) est une plante ligneuse buissonnante, sarclée et peu couvrante. Cette culture est menacée par la baisse de fertilité, l'érosion des substrats, les problèmes phytosanitaires, ainsi que de profondes mutations socio-économiques (diminution des actifs agricoles de la zone, "professionnalisme" des agriculteurs séduits par d'autres spéculations : élevage, horticulture...).

En 1990 la culture du géranium couvrait 1600 ha, dont plus de 1400 dans la zone des Hauts de l'ouest, en une bande 70 km entre 1000 et 1200 m. Il est associé à des cultures vivrières (maïs, haricot et légumes) et à des fruitiers tempérés. En 1990 23,3 tonnes d'huile essentielle ont été produites.

Depuis plusieurs années, la recherche (CIRAD) et le développement (Chambre d'Agriculture, A.P.R., S.A.F.E.R.) s'associent pour proposer des moyens pour augmenter la production agricole. Ces solutions passent par la mise au point et la vulgarisation d'itinéraires techniques adaptés et doivent permettre un nouvel essor pour une spéculation dont on connaît les potentialités et dont l'huile essentielle reste, en valeur, la deuxième production d'exportation après le sucre (Chastel, 1990).

c) Autres productions

Depuis quelques années on observe le développement récent et significatif de deux secteurs :

- l'élevage (naisseur et laitier) entre en concurrence avec le géranium dans les zones d'altitudes de l'ouest (1300-1500 m), dans les Hauts du sud et dans les zones des plaines, ou avec la canne dans le nord. La production laitière totale est passée de 183400 hl en 1986 à 314000 en 1995. Les effectifs des animaux (bovins, caprins, porcins et ovins) sont passés de 132000 en 1986 à 144500 en 1995.

- les cultures légumières et fruitières, alternatives à la canne dans le sud et le nord de l'île. Leur production a été multipliée par deux en l'espace de sept années (D.A.F., 1996).

Quelques plantes traditionnelles ont vu leur production chuter ces dernières années ou sont même menacées à court terme (tabac, vétiver...).

La production de céréales est passée de 2 000 q/ha à 131 000 q/ha. Jusqu'en 1992 on rencontrait parmi les céréales la production de maïs et de riz. Depuis seul le maïs est produit. Son rendement est de 33,4 q/ha.

1.2.5. Les sols

1.2.5.1 Présentation générale

Raunet (1988) considère que les andosols et les sols à caractères andiques couvrent près de la moitié de l'ensemble de l'île.

En 1960, Riquier classait ces sols en ferrallitiques bruns ou beiges. La connaissance analytique des matériaux andiques se précise dès cette époque et l'on décrit des séquences altitudinales et climatiques de sols développés sur matériaux volcaniques dans de nombreux pays (Quantin, 1972; Rosello, 1982).

La toposéquence des sols du flanc ouest du Piton des Neiges est décrite et montre le déterminisme de l'altitude, donc du climat sur le passage progressif des sols ferrallitiques aux andosols, puis à la podzolisation à haute altitude (Zebrowski 1975). A partir de ces résultats, une nouvelle carte est établie et fait apparaître les sols ferrallitiques andiques et les andosols (Riquier & Zebrowski, 1975; Brouwers, 1984). Une série d'études à l'échelle de 1/25 000 est réalisée (Brouwers & Raunet, 1981; Brouwers, 1982 et 1984) et aboutit à une carte morphopédologique, établie en 1988 à l'échelle du 1/50 000 (Raunet, 1988).

Gense (1976) a défini les séquences minéralogiques d'altérations dominantes suivantes. Sur les versants humides : Gibbsite+Allophanes/Halloysite/Métahalloysite. Sur le versant ouest : Gibbsite+Allophanes/Halloysite/Métahalloysite/Smectites.

Dans l'ouest de l'île depuis le littoral, se succèdent vertisols, bruns ferruginisés, bruns, bruns andiques, andosols. Sur les versants plus humides, la séquence

schématique est la suivante : sols ferrallitiques à argiles halloysite et kaolinite, ferrallitiques andiques, andosols.

1.2.5.2. Principaux sols

Les principaux sols cultivés sont des andosols andiques (Est, Hauts de l'Ouest et du Sud), des sols ferrallitiques (nord et sud) et des sols brunifiés (ouest et sud).

Les sols colluvionnés et caillouteux des Cirques, souvent andiques ou brunifiés, constituent un substrat agricole à part, très morcelé (îlets).

Les sols peu évolués sur alluvions récentes à galets et les sols argileux sur alluvions fines occupent des zones marginales au plan de la mise en valeur agricole.

1.2.6. Caractéristiques analytiques du sol d'étude

Les essais expérimentaux ont été réalisés sur sol andique sur cendres du Piton des Neiges du versant ouest. Cette région de l'île couvre une surface mise en culture importante (12000 ha) et concerne des spéculations variées (canne à sucre, géranium, cultures maraîchères, vivrières, fruitières, prairies).

a) Matière organique et azote

En surface (0-30 cm), le taux de matière organique est toujours très élevé, compris entre 10 et 20%. En conditions non cultivées le rapport C/N, de l'ordre de 17 à 18, est donc également très élevé. Le taux d'azote total est compris entre 2,8 et 7%. Sous culture, le C/N est de l'ordre de 11 à 13.

Cette richesse en matière organique, qui paraît faiblement humifiée, est une caractéristique des andosols de la Réunion. Les fractions organiques à dominance d'acides fulviques, sont très intimement liées aux gels allophaniques "amorphes" ou associées aux hydroxydes métalliques (Fe et Al) sous forme de chélates. L'expérience montre que cette matière organique, bien que très abondante, est très difficilement accessible à la minéralisation et à la nitrification. Sur ces sols, les apports de fumier ont toujours des effets très marqués.

b) pH

Ces sols sont nettement acides. Sur les versants ouest et sud le pH (eau) en surface (0-30 cm) est compris entre 5,0 et 5,3. En dessous de 30 cm, il se situe entre 4,6 et 5,0.

c) Complexe adsorbant

La capacité d'échange cationique (CEC), mesurée à la méthode de la cobaltihexamine, au pH du sol non séché, est comprise entre 6 et 8 mé/100g de sol. Une grande partie des charges négatives, donc de la capacité d'échange cationique est le fait de la matière organique en grande quantité. Les silicates d'alumine amorphes ("allophanes") et les hydroxydes amorphes développent des charges positives et sont donc responsables d'une forte capacité d'échange anionique (AEC).

d) Bases échangeables

Les bases échangeables sur les complexe adsorbant sont en très faibles quantités :

- dans l'horizon supérieur : Ca = 2 à 6 mé, Mg = 0,7 à 2 mé, K = 0,1 à 0,7 mé, Na = 0,1 mé (saturation V = 30 à 50%).

- en profondeur : Ca = 0,1 à 1 mé, Mg = 0,1 à 0,8 mé, K = 0,03, Na = 0,06 mé (saturation V = 2 à 7%).

e) Aluminium échangeable

Dans l'ouest de l'île (région "sous le vent"), à saison sèche bien marquée, les teneurs en aluminium échangeable sont de l'ordre de 1 mé/100g dans l'horizon de surface et de 0,5 mé en profondeur.

f) Le Phosphore

Les andosols de la Réunion sont riches en phosphore total (1500 à 3000 ppm) dans les vingt premiers centimètres à teneur élevée en matière organique (10 - 20%). Le taux de phosphore dit "assimilable", dosé par la méthode "Olsen modifiée Dabin" (extraction par NH_4F), donne également des valeurs relativement élevées, de 150 à 400 ppm, entre 0 et 20 cm et de 50 à 120 ppm jusqu'à 1 mètre. Ces valeurs sont en contradiction avec les expérimentations agronomiques qui montrent, pour les plantes cultivées, une carence en

phosphore. Le phosphore en grande quantité dans le sol est fortement retenu et donc peu biodisponible.

Les formes assimilables sont issues du P-Ca, d'une partie du P-Al et du P-organique (dans la mesure où cette matière organique est minéralisable). Le P-Fe est le plus fortement retenu. Dans ce type de sol, il apparaît nettement dominant. Le P-Ca est très peu abondant, sauf en cas d'apports d'engrais phosphocalciques mais il disparaît vite. D'autre part, la matière organique, très fortement liée et enfouie dans les minéraux amorphes est très peu minéralisable.

1.3. MÉTHODOLOGIE

1.3.1. Parcelles expérimentales

a) Parcelles pour l'étude de la macrofaune

Les parcelles cultivées qui furent étudiées sont au nombre de 6, toutes situées à 1000 et 1100 m d'altitudes. Les prélèvements ont été effectués au mois d'Août 1994, en hiver austral et en période de sécheresse.

* Géranium rosat (*Pelargonium x asperum* Erhart) avec couverture vivante de lotier (*Lotus uliginosus*) installée depuis 4 ans.

* Géranium rosat (*Pelargonium x asperum* Erhart) avec couverture vivante de kikuyu (*Pennisetum clandestinum*) installée depuis 4 ans.

* Géranium rosat (*Pelargonium x asperum* Erhart) avec couverture vivante d'Arachide (*Arachis pintoï*) installée depuis 2 ans.

* Géranium rosat (*Pelargonium x asperum* Erhart) en sol nu avec des cultures en rotations et avec du fumier de géranium au stade compost.

* Géranium rosat (*Pelargonium x asperum* Erhart) en sol nu avec des cultures intercalaires (tomate, haricots..).

* Géranium rosat (*Pelargonium x asperum* Erhart) en sol nu depuis 25 ans.

Ajoutées à ces parcelles cultivées, deux parcelles arborées ont été prises en compte :

* Jachère d'Acacia (*Acacia mearnsii*) âgée de quinze ans en association avec le "bringellier" (*Solanum auriculatum*), la "vigne marron" (*Rubus alceifolius*) et le "gallaber" (*Lantana camara*).

* Forêt tropicale humide dégradée partiellement exploitée (bois d'essence).



Photo 1 : Dispositif expérimental du maïs



Photo 2 : Dispositif expérimental du géranium

Les modalités expérimentales installées sur une surface de 9 m² (6 m x 1,5 m) à l'intérieur de chaque bloc, sont les suivants : Modalité 1 => maïs en sol nu; Modalité 2 => maïs + couverture de lotier; Modalité 3 => maïs + couverture de lotier + vers de terre introduits (139 individus par m², ind. m⁻²); Modalité 4 => maïs en sol nu + vers de terre introduits (139 ind. m⁻²).

Chaque bloc, ainsi que chaque modalité expérimentale à l'intérieur d'un même bloc sont séparés par un film plastique afin d'éviter le déplacement latéral des vers entre les différents traitements. Ce film plastique (80 microns d'épaisseur) est enterré jusqu'à 50 cm de profondeur et dépasse de 10 - 20 cm au dessus du sol. Pour chaque parcelle élémentaire le maïs (*Zea mays*, R 215 Zeedcoop) a été semé sur 4 lignes avec 20 graines par ligne, soit 80 graines pour chaque traitement, dans chaque bloc. Les lignes de semis sont séparées entre elles de 30 cm et les pieds de maïs, sur la même ligne, sont séparés de 27 cm.

Le semis de lotier a été réalisé en même temps que celui du maïs à raison de 6 kg.ha⁻¹.

Les vers de terre (*Amyntas corticis*) furent introduits au bout d'un mois et demi, quand le taux de recouvrement de la surface élémentaire par le lotier était de 50%, à raison de 139 ind. m⁻². Ce qui nous donne avec la densité initiale une population initiale de 141 ind. m⁻².

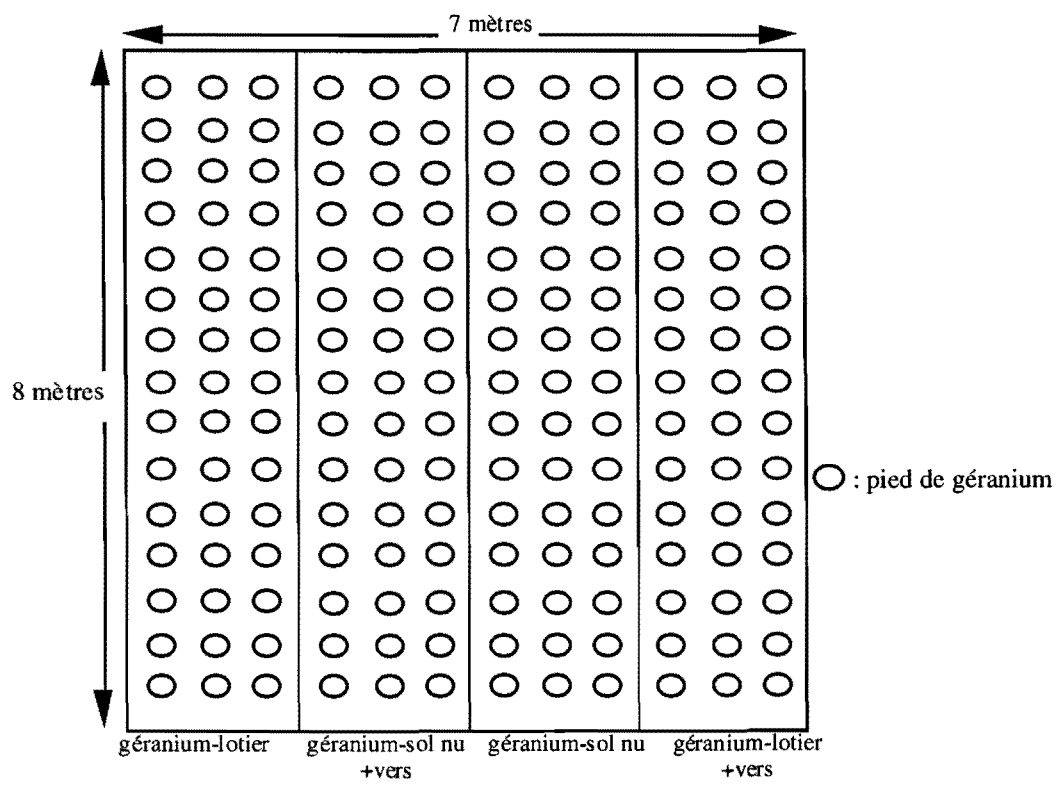
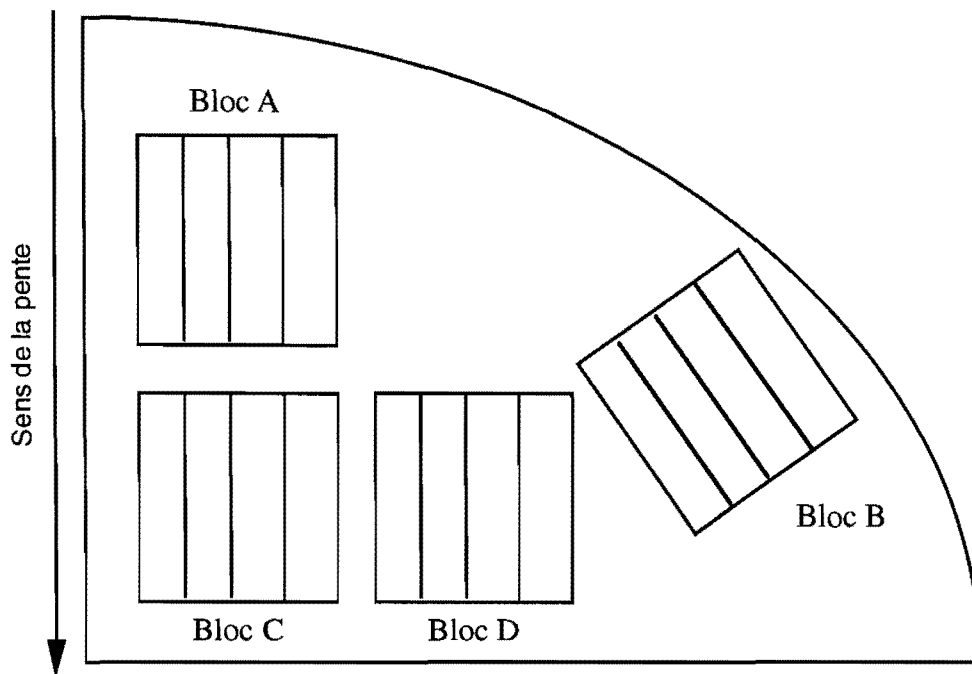
c) Parcelle de géranium

La parcelle de géranium a une superficie de 600 m², où environ 2 000 pieds de géranium sont plantés (33333 pieds/ha). Quatre blocs ont été installés et placés au hasard. Quatre modalités expérimentales ont été placées au hasard : Modalité 1 => géranium en sol nu; Modalité 2 => géranium + couverture de lotier; Modalité 3 => géranium + couverture de lotier + vers de terre introduits (141 ind. m⁻²); Modalité 4 => géranium en sol nu + vers de terre introduits (141 ind. m⁻²) (schéma 2, photo 2).

Le film plastique a été utilisé seulement dans les traitements où on a introduit des vers de terre. Dans ces traitements, les pieds de géranium ont été détourés sur 40 cm de profondeur afin d'avoir un monolithe de 30 cm de diamètre, le film plastique installé serrant le monolithe avec en son centre le pied de géranium.

Dans les modalités avec vers de terre, 10 individus ont été introduits par monolithe, soient 141 vers de terre par m², qui représente la population initiale car l'étude initiale a montré que la population de vers de terre était nulle.

Comme pour le maïs, le lotier a été semé au mois de mars, autour des pieds de géranium et les vers introduits un mois et demi après semis.



Dispositif de base

Schéma 2 : Dispositif expérimental de la parcelle de géranium

1.3.2 Échantillonnage de la faune du sol

1.3.2.1. La macrofaune

La méthode d'échantillonnage utilisée fut celle recommandée par le programme "Tropical Soil Biology and Fertility" (Lavelle & Pashanasi, 1989; Anderson & Ingram, 1993).

Pour chaque parcelle analysée, dix monolithes de sol de 25 x 25 x 30 cm ont été prélevés séparés de cinq mètres d'intervalle sur une ligne dont l'origine et la direction furent déterminées au hasard (Schéma 3). Un cadre de 25 cm de côté est utilisé pour marquer l'emplacement du monolithe, qui est isolé en creusant une tranchée de 20 cm de large tout autour. Après avoir récupéré la litière, on découpe le monolithe en 3 couches successives de 10 cm d'épaisseur. Chaque groupe faunistique est trié et séparé sur le terrain après identification à l'oeil nu d'après Bachelier (1978) et Roth (1980) et certaines vérifications étaient effectuées plus tard au laboratoire sous la loupe binoculaire sur du matériel fixé. Chaque couche de sol étant ensuite triée à la main et tous les invertébrés visibles à l'oeil nu sont prélevés et fixés à l'alcool 75°. Les vers de terre sont conservés dans du formol à 4%. Les principaux groupes identifiés sont : les Vers de terre, les larves de Coléoptères, les larves de Diptères, les Fourmis, les Diplopodes, les Chilopodes les Isopodes et un groupe "autre" qui comprend quelques rares Coléoptères adultes, Dermaptères, Némertes et stades larvaires de Lépidoptères.

L'étude de la macrofaune porte sur les densités et les biomasses. Les macro-invertébrés conservés dans l'alcool et le formol ont un poids inférieur à leur état d'origine. La biomasse est réajustée en utilisant des coefficients de corrections (déterminés par mesures des animaux vivants). Les différents coefficients sont de 24% pour les Vers de terre (poids du ver de terre frais = poids du ver dans le formol x 1,24; idem pour les autres coefficients), 15% pour les Crustacés, 15% pour les "autres", 12% pour les larves de Coléoptères et les larves de Diptères, 10% pour les Fourmis et 6% pour les Myriapodes.

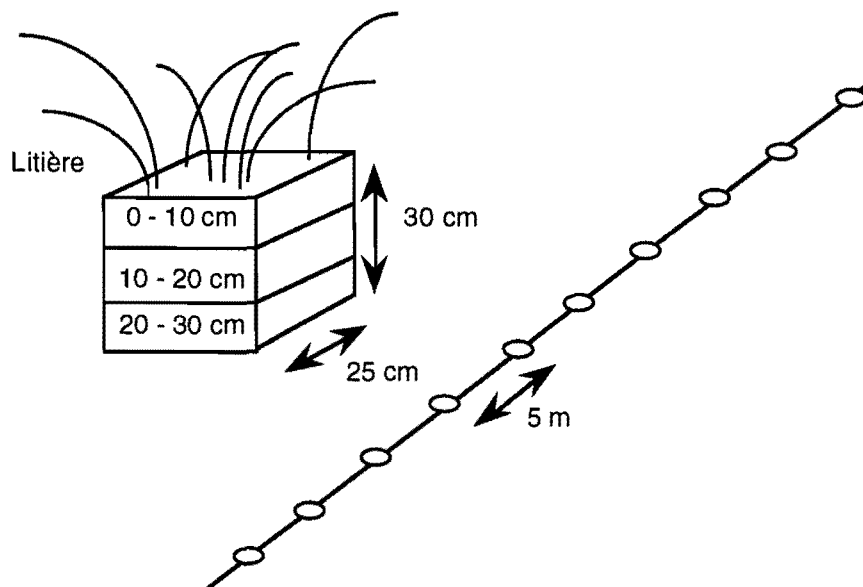


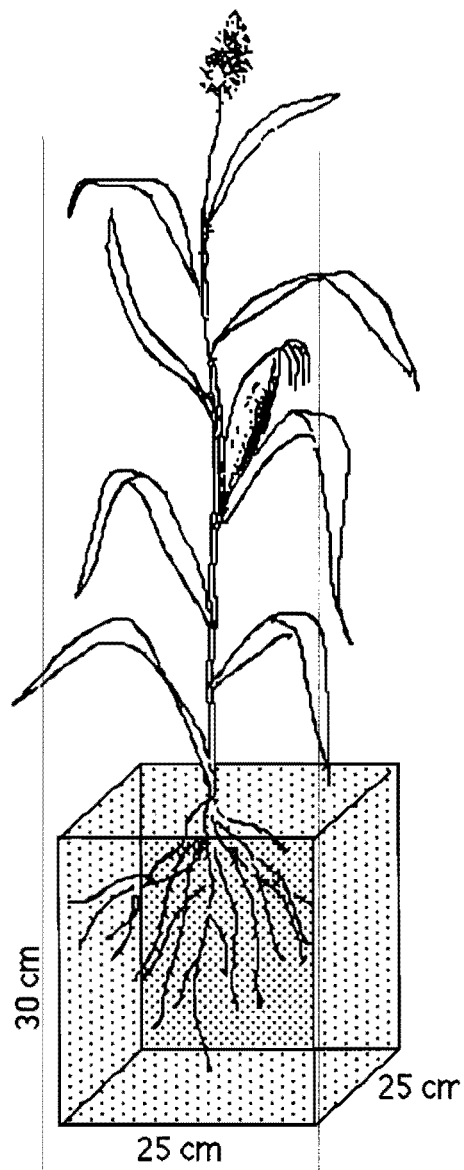
Schéma 3 : Méthode de prélèvement T.S.B.F.(Anderson & Ingram, 1993)

1.3.2.2. Les nématodes

A la fin de la précédente récolte (maïs), sur une ligne déterminée au hasard, une unité de prélèvement (UP) qui correspond à un bloc de 25 cm d'arête sur 30 cm de profondeur ayant un pied de maïs pour centre, est prélevée tous les 5 m (10 prélèvements) (schéma 4). Les racines de maïs contenues à l'intérieur d'une unité de prélèvement sont placées en asperseur pendant deux semaines (Seinhorst, 1950) afin d'extraire les nématodes puis mis à l'étuve à 85°C pendant 24 heures et pesées. Les nématodes de cinq sous échantillons de 100 g de la totalité du sol de l'UP sont extraits par la méthode de Seinhorst (1955) modifiée (Annexe 1).

La population initiale représente la somme des nématodes retrouvés dans le sol, plus ceux existant dans le système racinaire du maïs et la valeur trouvée était de 37930 ind.UP⁻¹ (individus/unité de prélèvement).

Les mêmes analyses ont été pratiquées sur les racines de géranium et la population initiale était de 2 ind.UP⁻¹.



Unité de prélèvement: UP
(18,75 l)

Schéma 4

1.3.3. Matériel végétal

1.3.3.1. Lotier velu (*Lotus uliginosus* Schkuhr)

La lutte contre l'érosion a constitué un préalable indispensable à l'intensification de systèmes diversifiés à la Réunion, comme dans la plupart des zones tropicales. L'utilisation de méthodes classiques (haies antiérosives, ...) nécessite des apports de matière organique sur les parcelles cultivées pour maintenir l'activité biologique des sols (en remplacement de la jachère), et assurer des rendements satisfaisants.

L'utilisation de pratiques agrobiologiques telles les couvertures végétales permanentes permet de lutter simultanément contre l'érosion et d'enrichir le sol en matière organique. Elle présente un ensemble d'effets agronomiques plus ou moins favorables (Guilluy & Perret, 1991; Michellon *et al.*, 1992) parmi lesquels une réduction de la prolifération des adventices, facteur décisif aux yeux des agriculteurs.

Le choix des espèces de couvertures s'est d'abord porté sur le kikuyu (*Pennisetum clandestinum*), qui constitue la base des pâturages d'altitude (Gilibert, 1981). Mais il concurrence souvent les cultures associées. La gestion avec les légumineuses fourragères semble plus aisée, en particulier avec le lotier velu (*Lotus uliginosus*), présent dans les prairies des Hauts (Fritz, 1967, 1968 et 1969) et pour lequel la sélection (Davies, 1974; Armstrong, 1974; Lambert *et al.*, 1974) a donné des variétés localement adaptées (Michellon, 1984) telle que la variété Maku, qui est tétraploïde et pérenne. L'implantation du lotier est aisée, par bouturage ou semis direct à la volée. Ces semences sont inoculées au préalable avec leur rhizobium spécifique et enrobées avec du phosphate naturel.

Il forme ensuite un tapis épais et continu grâce à ses rhizomes et stolons. Dans des conditions d'humidité optimale, la croissance du lotier est rapide et son taux de recouvrement est de 50% deux mois après semis.

1.3.3.2. Maïs (*Zea mays* L.)

Le maïs est cultivé toute l'année à la Réunion mais seulement en basse altitude durant l'hiver austral.

L'analyse nématologique (sol et racines) de la précédente culture (maïs) ayant montré une charge parasitaire importante, on a décidé de reconduire la même culture en hiver et en plantation tardive en utilisant la variété R 215 (hybride) Zeedcoop, originaire

du Zimbabwe, résistante à la rouille (*Puccinia sorghi*) et qui se développe en moyenne altitude avec une précocité intermédiaire (180 jours).

1.3.3.3. "Géranium rosat" (*Pelargonium x asperum* Erhart)

a) Position systématique

Les "géraniums rosat" font parti de la famille des Géraniacée du genre *Pelargonium* et regroupent des hybrides interspécifiques (Demarne, 1989).

b) Le cultivar "Rosé"

Pour disposer de matériel végétal homogène, le cultivar "rosé" (*Pelargonium x asperum*), le plus répandu des "géraniums rosat" a été choisi. Le cultivar "Rosé" est un sous-arbrisseau à port érigé, très ramifié, pouvant atteindre 1,3 m de hauteur et la couronne 1 m de diamètre. Il fleurit en Août et Septembre mais les fleurs sont mâles-stériles. L'androcée à maturité ne comporte que des anthères indéhiscentes, et des grains de pollen atrophiés et non féconds (Tokumasu, 1970). Le cultivar "Rosé" se bouture facilement (Demarne, 1989).

c) L'extraction des huiles essentielles et préparation des échantillons de géranium

La production d'essence chez le géranium rosat est surtout le fait de cellules spécialisées, organisées en poil sécréteurs. De nombreuses observations de ces poils sont rapportées dans la littérature (Yoshida, 1961; Kapetanidis & Mirimanoff, 1970; Payet, 1982; Oosthuizen-Joubert, 1986).

D'après Oosthuizen (1986), il semble que ces poils sécréteurs puissent être de deux types distincts et sécréter des produits différents, du moins chez certaines espèces (*Pelargonium radens*). Les deux types cependant, sont présents sur toutes les parties aériennes du végétal, avec une densité plus importante sur les feuilles et les parties vertes des inflorescences.

Dans tous les cas, les produits de la sécrétion de ces poils sont stockés dans des poches sous-cuticulaires à leur extrémité et l'extraction ne nécessite aucune préparation préalable du matériel végétal.

Pour cette étude, l'extraction des essences est réalisée par entraînement à la vapeur d'eau sur les limbes des feuilles fraîchement récoltées (maximum 24 heures). Une autre technique, consiste à extraire l'essence par dissolution dans un solvant organique volatile.

d) Extraction à chaud par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement des essences à la vapeur d'eau, ou hydrodistillation, est réalisée au laboratoire, dans des distillateurs en verre Pyrex, modifiés à partir du modèle de la Pharmacopée Française.

La colonne à distiller est du type "léger", afin de tenir compte de la densité de l'huile essentielle inférieure à celle de l'eau (0,892). Le dispositif de condensation réalise la cohobation des eaux de distillation, et permet la séparation et la récupération aisée de l'huile essentielle. Une échelle graduée en dixième de millilitre autorise une lecture rapide et précise du volume d'huile essentielle récupéré.

La charge en matière verte d'un distillateur est constituée par 300 à 700 g de limbe de feuilles fraîchement récoltés et pesés.

L'entraînement de l'essence se fait pendant 1 heure sous pression atmosphérique à 100°C, dans des conditions où la vapeur d'eau est saturante. L'huile récupérée est filtrée par passage sur un filtre hydrophobe (Marcherey-Nagel réf. MN 616 w.a.). Elle est ensuite conditionnée en flacon hermétique et conservée au froid et au sec, à l'abri de la lumière.

Les résidus de distillation sont pour leur part desséchés à l'étuve à 90°C pendant 24 heures pour déterminer la masse de matière sèche.

1.3.4. Analyses chimiques du sol

Les échantillons de sol ont été analysés au laboratoire d'Analyses agronomiques de la Réunion (CIRAD) suivant des protocoles standardisés (sauf pour la C.E.C. et les bases échangeables):

a) Carbone

Le dosage du carbone a été fait selon la méthode d'Anne, basée sur l'oxydoréduction : minéralisation au bichromate et acide sulfurique concentré (à 135°C) puis dosage ensuite par une solution de sel de Mohr.

b) Azote

L'azote total a été dosé après minéralisation par la méthode Kjeldahl (minéralisation de l'azote organique par l'acide sulfurique concentré bouillant en présence d'un catalyseur pour le passage de l'azote sous forme ammonium). L'ammonium est ensuite dosé par la méthode modifiée de colorimétrie de Bertelot en flux continu.

c) Phosphore

Le taux de phosphore dit "assimilable" est évalué par la méthode de "Olsen modifiée Dabin" (extraction par NH_4F). Le phosphore "assimilable" est dosé par colorimétrie phospho-molybdique.

d) Capacité d'Échange Cationique

L'extraction est faite par échanges électrochimiques au cobalt en excès, puis on dose par spectrophotométrie d'absorption atomique. La mesure se fait au pH du sol et non à pH 7 comme dans la pratique courante. En conséquence il n'y a pas de surévaluation de cette C.E.C. comme cela se produit pour un sol acide où certains sites de fixation des cations sont occupés par des protons ou par l'aluminium.

e) Les Bases échangeables

L'extraction est faite par échanges électrochimiques au cobalt en excès, puis le dosage se fait par spectrophotométrie atomique. La mesure est également effectuée au pH du sol.

1.3.5. Biomasses et activités microbiennes

a) Biomasses

La biomasse microbienne, estimée selon la technique de la fumigation - extraction (Chaussod & Nicolardot, 1982; Jenkinson, 1988; Joergensen, 1996), nécessite des échantillons composites (constitués par 20 prélèvements) équivalents à 40 - 45 g de sol sec.

Les boîtes de Pétri contenant les échantillons de sol sont placées dans un grand dessiccateur dont la paroi est tapissée de papier filtre humide pour éviter que les échantillons ne se dessèchent pendant la fumigation (ou une coupelle d'eau, au fond du dessiccateur). Un bécher avec 50 ml de CHCl_3 (et quelques pierres ponce) est placé dans le dessiccateur: ce CHCl_3 a été préalablement lavé 3 - 4 fois dans une ampoule à décanter à l'eau déminéralisée (et non distillée, celle ci pouvant contenir des matières organiques), afin d'éliminer l'éthanol utilisé comme stabilisant.

Le dessiccateur est mis sous vide à l'aide d'une pompe. On estime que le vide est suffisamment établi lorsque le CHCl_3 bouillonne légèrement. La fumigation se poursuit pendant 16 h.

Au bout de 16 h, le vide est cassé, on rince à l'air 3 ou 4 fois le dessiccateur en ayant soin de piéger les vapeurs de CHCl_3 . Les échantillons de sol sont récupérés et mis en contact avec 200 ml de K_2SO_4 0,05 N pendant 45 mn à température ambiante et sur un agitateur rotatif. Ils sont ensuite centrifugés à 3500 tr pendant 10 mn.

Parallèlement les échantillons "témoins" ne subissant pas de fumigation sont extraits de la même manière pendant 1 h.

b) Coefficient de minéralisation du Carbone dans les sols

L'activité microbienne a été mesurée et le coefficient de minéralisation du carbone calculé selon la méthode de Dommergues (1960). Cent grammes de sol sec (échantillons composites) humidifiés à la capacité au champs sont placés dans des bocaux hermétiques à 28 °C avec à l'intérieur un bécher contenant 50 ml de soude N/10. Une fois par semaine la soude est remplacée et titrée par du HCl N/2 et cela durant quatre semaines, à raison de 8 répétitions par traitement. Dans le fond du bocal on place un bécher contenant 50 ml de soude N/10. Le bocal est fermé et laissé à incuber à 28°C pendant sept jours, le bocal

témoin ne contenant pas de sol mais de la soude. Au bout de sept jours, la soude est dosée par de l'HCL N/2.

1.3.6. Méthodes Statistiques utilisées

Les différentes analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel STAVIEW sur ordinateur Macintosh (Feldman *et al.*, 1987). Le test paramétrique utilisé est celui de l'ANOVA (analyse de la variance) aux seuils de probabilité $<0,01 < 0,05 < 0,06 < 0,07 < 0,09 < 0,1$.

Les test non paramétriques utilisés sont les tests U de Mann-Whitney et de Kruskal-Wallis aux seuils de $<0,01 < 0,05$.

1.4 RÉSULTATS DE LA PREMIÈRE PARTIE

1.4.1. ÉTUDE DES PEUPELEMENTS DE MACROINVERTÉBRÉS EN FONCTION DES MODES DE GESTION DE LA CULTURE DE GÉRANIUM

Cette étude a pour objectif de vérifier si les modes de gestion de la culture de géranium (en sol nu ou avec des couvertures végétales permanentes) en comparaison avec des parcelles boisées (jachère arborée et forêt tropicale), influent sur les populations de macroinvertébrés du sol.

1.4.1.1. Densités

Les macroinvertébrés trouvés sur les huit parcelles étudiées ont été déterminés et les groupes taxonomiques ont été considérés en fonction de leur densité. Sur cette base, les principaux groupes étudiés sont : les Isopodes, les Fourmis, les larves de Coléoptères, les larves de Diptères, les Chilopodes, les Diplopodes, les Vers de terre et le groupe "autres". Aucun termitte n'a été trouvé sur les parcelles étudiées.

Sur les parcelles où des vers de terre ont été trouvés, la détermination de l'espèce montre qu'il s'agissait d'une seule espèce, *Amyntas corticis* Kinberg 1867. *A. corticis* fait partie de la famille des Megascolecidae et possède les caractéristiques classiques des épigés, avec une pigmentation dorsale et des mouvements très vifs. Il s'agit très probablement d'un épi-endogé. Originaire de l'Asie de l'Est (Gates, 1972), il est trouvé dans les régions tropicales en moyenne altitude.

L'étude des densités moyennes totales, exprimée en nombre d'individus par mètre carré (ind.m⁻²) fait apparaître quatre groupes de situations:

- Un premier groupe où l'on trouve la plus forte valeur avec la jachère (2126 ind.m⁻²).
- Un second groupe où les plus faibles densités sont observées avec la culture du géranium en sol nu associée à des cultures en rotations (115 ind.m⁻²), en monoculture (260 ind.m⁻²) et associée à des cultures intercalaires (282 ind.m⁻²).
- Un troisième groupe qui comprend la couverture d'arachide âgée de 2 ans.
- Et un quatrième groupe avec des valeurs intermédiaires que l'on observe sous les couvertures végétales permanentes âgées de quatre ans avec respectivement 1125 et 1403 ind.m⁻² pour le kikuyu et le lotier et sous la forêt (1226 ind.m⁻²) (Tableau 1, page suivante).

Tableau 1 : Densités moyennes (ind.m⁻²) de la macrofaune du sol trouvées dans les huit parcelles étudiées: six parcelles cultivées (monoculture de géranium en sol nu depuis 25 ans, en sol nu avec cultures en rotations, en sol nu avec cultures intercalaires, avec couverture de lotier, avec couverture de kikuyu et couverture d'arachide) plus la jachère et la forêt. L'erreur standard est entre parenthèses. Dans la même ligne, les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes (P ≤ 0,1). Chilop.= Chilopodes, Diplop.= Diplopodes, l. Col.= larves de Coléoptères, l. Dipt.= larves de Diptères.

	Cultures en Rotations	Mono- culture (25 ans)	Cultures intercalaires	Arachide	Kikuyu	Lotier	Jachère	Forêt
Autres	11 (6) a	21 (8) a	19 (7) a	86 (12) a	179 (29) b	203 (37) b	595 (114) c	54 (18) a
Chilop.	5 (3) a	0 (0) a	3 (3) a	10 (5) ab	29 (13) bc	37 (17) c	42 (9) cd	64 (16) de
Isopodes	2 (2) a	0 (0) a	0 (0) a	8 (5) a	27 (9) a	80 (45) a	541 (102) b	317 (109) c
Diplop.	61 (28) a	8 (7) a	58 (52) a	77 (28) a	578 (158) b	170 (68) a	682 (121) b	576 (99) b
l. Col.	24 (13) ab	54 (28) cd	37 (8) cd	166 (28) c	51 (13) bc	498 (103) c	21 (10) abd	90 (18) abd
l. Dipt	10 (4) a	62 (13) a	22 (10) a	51 (12) b	59 (8) a	141 (50) c	2 (2) a	5 (3) a
Fourmis	2 (2) ab	115 (84) c	141 (148) bcd	341 (221) bc	144 (99) c	266 (117) e	13 (10) ad	0 (0) ad
Vers	0 (0) a	0 (0) a	2 (2) a	10 (10) a	58 (18) b	10 (7) a	232 (41) c	120 (32) d
Total	115 (152) a	260 (93) a	282 (152) a	749 (206) b	1125 (156) c	1405 (195) c	2128 (165) d	1226 (228) c

La jachère et la forêt sont caractérisées par de fortes densités en Diplopodes et en Isopodes. Ensembles ils représentent plus de 50% de la densité totale avec respectivement 60,1% et 72,8% pour la jachère et la forêt (Figures 1 et 2).

Sous les couvertures de légumineuses (*L. uliginosus* et *A. pintoï*) plus de la moitié de la densité moyenne totale est représentée par les larves de Coléoptères et les Fourmis. Sous *L. uliginosus* 35,4% de la densité moyenne totale est composée des larves de Coléoptères et 18,9% par les Fourmis. Sous l'*A. pintoï*, les Fourmis représentent 45,5% de la densité moyenne totale et larves de Coléoptères 22% (Figures 1 et 2).

La couverture de graminée (*P. clandestinum*) est caractérisée par une forte densité en Diplopodes, qui représente 51,4% de la densité totale.

Dans le groupe où les plus faibles densités moyennes totales sont trouvées, les Fourmis sont les plus représentées dans la culture en sol nu (44,2%) et avec cultures intercalaires (50%). La culture du géranium avec des cultures en rotations est caractérisée par une forte proportion en Diplopodes (53%) (Figures 1 et 2).

=> La jachère arborée permet de maintenir une forte densité de la macrofaune du sol. Dans les parcelles cultivées en géranium, les couvertures végétales présentent des densités moyennes et équivalentes à celles de la forêt et supérieures à celles observées sous cultures en sol nu.

=> On observe une diminution de la diversité de la macrofaune (nombre de taxon) lorsque la culture est pratiquée en sol nu.

1.4.1.2. Biomasses

Les biomasses moyennes totales sont exprimées en gramme par mètre carré (g.m⁻²).

L'analyse des biomasses moyennes totales des huit parcelles fait ressortir deux groupes de situations:

- un premier groupe où on trouve les plus fortes valeurs et qui comprend la jachère (265,85 g.m⁻²) et la forêt (167,75 g.m⁻²) (Tableau 2, page suivante).
- un second groupe comprenant le géranium cultivé en sol nu et avec les couvertures végétales (Tableau 2).

Tableau 2 : Biomasses moyennes (g.m^{-2}) de la macrofaune du sol trouvées dans les huit parcelles étudiées: six parcelles cultivées (monoculture de géranium en sol nu depuis 25 ans, en sol nu avec cultures en rotations, en sol nu avec cultures intercalaires, avec couverture de lotier, couverture de kikuyu et couverture d'arachide) plus la jachère et la forêt. L'erreur standard est entre parenthèses. Dans la même ligne, les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes ($P \leq 0,1$). Chilop.= Chilopodes, Diplop.= Diplopo des, l. Col.= larves de Coléoptères, l. Dipt.= larves de Diptères.

	Cultures intercalaires	Mono- culture (25 ans)	Cultures en Rotations	Arachide	Lotier	Kikuyu	Jachère	Forêt
Autres	0,24 (0,1) a	1,10 (0,68) a	0,42 (0,31) a	8,3 (3,57) b	10,43 (3,08) b	4,12 (1,19) a	2,06 (0,34) a	0,37 (0,16) a
Chilop	0,002 (0) a	0 (0) a	0,01 (0,01) a	0,02 (0,01) a	0,01 (0,01) b	0,11 (0,11) b	0,05 (0,02) a	0,03 (0,01) a
Isopodes	0 (0) a	0 (0) a	0,01 (0,01) a	0,07 (0,04) a	0,43 (0,3) a	0,26 (0,11) a	4,38 (0,85) b	1,49 (0,4) b
Diplop.	0,61 (0,59) acd	0,09 (0,07) c	0,58 (0,27) acd	0,85 (0,30) acd	1,41 (0,54) acd	4,5 (1,36) b	5,99 (1,04) b	1,93 (0,6) d
l. Col.	0,46 (0,11) bd	0,51 (0,24) bd	2,95 (2,4) acd	2,08 (0,61) bd	7,49 (2,28) æ	0,52 (0,29) bc	0,31 (0,15) e	8,69 (5,28) bd
l. Dipt	0,16 (0,06) bde	0,51 (0,17) b	0,07 (0,04) cd	0,44 (0,21) b	1,23 (0,36) a	0,46 (0,08) b	0,006 (0) œ	0,00 (0,0) œ
Fourmis	0,08 (0,09) be	0,04 (0,02) bf	0,001 (0) bd	0,17 (0,1) acdef	0,32 (0,23) a	0,08 (0,07) bc	0,01 (0,0) bf	0 (0) bf
Vers	0,22 (0,23) a	0 (0) a	0 (0) a	6,39 (6,74) a	3,98 (2,2) a	22,86 (6,11) a	253,05 (44,48) b	155,19 (51,53) c
Total	1,77 (0,64) a	2,25 (0,81) a	4,04 (2,46) a	18,33 (6,37) a	25,32 (4,39) a	32,92 (6,77) a	265,84 (44,13) b	167,74 (50,55) b

Sous la jachère et sous la forêt, les biomasses moyennes totales sont caractérisées par celles des vers de terre, où leurs propres biomasses représentent plus de 92% de la biomasse totale (Figures 2 et 3).

Sous la couverture de lotier, la biomasse moyenne totale est principalement composée par le groupe "autres" et les larves de Coléoptères et sous l'arachide par le groupe autre et les vers de terre. La biomasse totale de la faune sous graminée (kikuyu) est caractérisée par celle des Vers de terre qui est représentée 69,5% (Figures 2 et 3). Sous géranium avec cultures en rotations, les larves de Coléoptères sont dominantes avec une biomasse qui est égale à 73% de la biomasse totale moyenne. Les biomasses des Diplopodes et des larves de Coléoptères représentent plus de 60% de la biomasse totale dans le géranium cultivé avec des cultures intercalaires avec respectivement 34,4% et 26% pour les Diplopodes et les larves de Coléoptères (Figures 2 et 3).

En comparant les biomasses moyennes totales de la macrofaune du sol pour la culture de géranium en sol nu (monoculture depuis 25 ans, avec des cultures en rotations et avec des cultures intercalaires) avec le géranium associé aux couvertures végétales permanentes (arachide, lotier et kikuyu), on observe trois groupes significativement différents ($P \leq 0,05$) (Figure 4). Les plus faibles valeurs sont trouvées dans la culture du géranium en sol nu, les plus fortes sous couvertures végétales âgées de 4 ans (lotier et kikuyu) et la valeur intermédiaire sous couvertures âgées de 2 ans (arachide) (Figure 4).

=> Les plus fortes biomasses sont trouvées dans les parcelles boisées (jachère et forêt). Ces fortes valeurs sont influencées par celles des vers de terre.

=> En comparant la culture du géranium en sol nu et avec couvertures végétales, on constate que les biomasses sont significativement plus élevées sous couvertures permanentes âgées de 4 ans.

1.4.1.3. Répartition verticale de la macrofaune dans le sol

a) Les Vers de terre

Les vers de terre, quand ils sont trouvés, sont principalement localisés dans l'horizon 0 - 20 cm avec une préférence pour l'horizon 0 - 10 cm. Quelques vers sont retrouvés dans la litière (Figure 5, verso).

b) Les Isopodes

Les Isopodes sont trouvés en grande majorité dans la litière et dans certaines parcelles (lotier, kikuyu, forêt et jachère) entre 0 et 10 cm de profondeur (Figure 5).

c) Les Chilopodes

Sous jachère et forêt, les Chilopodes sont situés dans la litière et dans les 20 premiers centimètres du sol. Sous couvertures végétales, leur répartition est identique à celles des précédentes (Figure 5).

d) Les Diplopodes

Sous jachère et forêt, les Diplopodes sont principalement localisés dans la litière. A l'inverse, sous couvertures végétales, on les rencontre en grande majorité dans l'horizon 0 - 10 cm (Figure 5).

e) Les larves de Coléoptères

Les larves de Coléoptères sont principalement situées dans l'horizon 0 - 20 cm avec une forte proportion dans l'horizon 0 - 10 cm. On les rencontre surtout sous couvertures de légumineuses (Lotier, Arachide) et un peu moins sous la forêt (Figure 5).

f) Les larves de Diptères

Les larves de Diptères, ont la même répartition que celles des Coléoptères avec une localisation dans les vingt premiers centimètres du sol et à l'intérieur une plus forte densité entre 0 et 10 cm. Sous légumineuse on les retrouve dans tous les horizons et dans les cultures intercalaires principalement dans l'horizon 0 - 10 cm de profondeur (Figure 5).

g) Les Fourmis

Les fourmis sont trouvées dans tous les horizons. Sous l'arachide, ils sont principalement localisés entre 20 et 30 cm de profondeur (Figure 5).

h) "autres"

Le groupe "autres" est principalement localisé dans la litière, entre 0 et 10 cm de profondeur, et se retrouve en grande partie sous jachère et couvertures végétales vivantes (Figure 5).

1.4.1.4. Analyse factorielle des correspondances (AFC) avec les densités

L'analyse factorielle des correspondances facilite la classification des données très abondantes. Elle permet de visualiser sous forme de nuage de points les individus et les variables dans un espace vectoriel ayant autant de dimensions qu'il existe d'éléments dans les colonnes ou les lignes à analyser. Elle permet d'identifier les grands facteurs de variation influençant la distribution des paramètres et d'établir une typologie des situations possibles

L'analyse factorielle a été réalisée sur les densités obtenues pour les huit groupes et sites étudiés. La dispersion des points variables est expliquée à 82,58% par 2 facteurs (2 axes).

L'axe 1 qui explique 70,45% de la distribution des variables est déterminé par les espèces épigées (Vers de terre et Isopodes) et à un moindre degré les Diplopodes et dans le sens opposé par les Fourmis et les larves de Diptères. L'axe 2 qui explique 12,13% de la répartition des variables est caractérisé par les Diplopodes et les larves de Coléoptères (Figure 6 A).

La projection des parcelles étudiées (Figure 6B) montre que sur l'axe 1 les parcelles arborées (jachère et forêt) s'opposent par leurs fortes densités en espèces épigées (Vers et Isopodes) aux autres parcelles où prédominent les Fourmis et les larves de Diptère. Cet axe oppose les parcelles par leur mode de gestion du sol (culture en sol nu, avec couvertures végétales et parcelles boisées) et définit donc le type de recouvrement des sols.

L'axe 2 oppose les couvertures végétales entre elles et plus particulièrement la légumineuse *L. uliginosus* caractérisée par les larves de Coléoptères et la couverture de graminée, *P. clandestinum* caractérisée par les Diplopodes. Cet axe définit le type de couvertures végétales permanentes.

1.4.2. EFFETS DE LA COUVERTURE DE LOTIER ET DE L'INOCULATION DE VERS DE TERRE SUR LA CULTURE DE MAÏS

1.4.2.1. Production végétale

Dans ce chapitre nous verrons les effets de la présence de la couverture de lotier et des vers de terre sur la production de matière sèche du maïs, sur les proportions d'épis fertiles, d'épis attaqués par le foreur des tiges et sur la production de matière sèche du lotier.

1.4.2.1.1 Maïs

Sept mois après le semis, à maturité des grains (l'humidité des grains de maïs est inférieure à 35% et la plante est en phase de dessiccation) on attribue à chaque pied de maïs un numéro tiré au hasard (les pieds en bordure des parcelles élémentaires et des blocs sont exclus de l'échantillonnage). Puis chaque numéro est tiré au hasard à raison de dix pieds par traitement et par bloc, soit 40 pieds pour chaque traitement.

Sur les dix pieds tirés au hasard, cinq sont soumis à des analyses nématologiques portant sur les racines et sur le sol, soit 20 répétitions pour les nématodes. Les biomasses aériennes et racinaires par contre sont déterminées sur les dix pieds.

a) Pourcentage de reprise

Le pourcentage de pieds de maïs ayant repris sur les 80 plantés est le même selon la culture en sol nu et avec le lotier (62% et 60%). L'introduction des vers de terre augmente significativement ($P \leq 0,05$) cette proportion, uniquement quand le maïs est associé au lotier et aux vers (Tableau 3).

Tableau 3 : Proportions de reprise du maïs en fonction des modalités expérimentales (moyennes de 40 répétitions). Dans la même ligne, la même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$).

	MODALITÉS EXPÉRIMENTALES			
	maïs-sol nu	maïs sol nu +vers	maïs-lotier	maïs-lotier +vers
Maïs levés (%)	62 a	66 ab	60 a	77,5 b

b) Pourcentage de pieds fertiles et infestés par le borer

La proportion de pieds infestés par le borer "rose" (*Sesamia calamistis* Hampson) est de 50% pour le maïs en sol nu, 42,5% pour maïs en sol nu+vers, 32,5% pour le maïs-lotier et 27% pour le maïs-lotier+vers. Les différences sont significatives ($P \leq 0,05$) entre le maïs cultivé sur sol nu et le maïs-lotier+vers (Figure 7).

De la même façon, le nombre de pieds fertiles (épi fertile) sans attaque de borer est de 25% pour le maïs en sol nu, 45% pour le maïs+vers, 47,5% pour le maïs-lotier et de 62,5% le maïs-lotier+vers. Les différences sont significatives ($P \leq 0,07$) entre le maïs en sol nu et les autres modalités (Figure 7).

La proportion de pieds fertiles augmente significativement ($P \leq 0,05$) en présence de lotier et/ou de vers. Il passe de 45% dans le cas du maïs en sol nu à respectivement 75% avec lotier seul, 80% pour le maïs+vers et à 85% pour la modalité maïs-lotier+vers (Figure 7).

c) Production de matière sèche

Par unité de prélèvement (UP), la production de maïs (partie aérienne ou racines), ne présente pas de différences significatives ($P \leq 0,05$) entre les différentes modalités expérimentales (Figure 8).

Le poids moyen sec des racines de maïs par UP (unité de prélèvement) est de 2,5 g.UP⁻¹ sous maïs en sol nu, 2,7 g.UP⁻¹ pour le maïs+vers, 2,8 g.UP⁻¹ pour le maïs-lotier+vers et de 3,3 g.UP⁻¹ pour le maïs-lotier. Les différences ne sont pas significatives ($P \leq 0,05$) (Figure 8).

En multipliant la valeur du poids moyen de matière sèche.UP⁻¹ par le nombre de pied de maïs ayant poussé sur la parcelle élémentaire, nous obtenons à l'hectare 1,56 tonnes pour le maïs en sol nu, 2,11 tonnes pour le maïs+vers, 2,14 tonnes pour le maïs-lotier et 3 tonnes avec le maïs-lotier+vers. La différence est significative ($P \leq 0,01$) entre le maïs-lotier+vers et les autres modalités (Figure 9, verso).

Le rapport du poids sec de la partie aérienne au poids sec des racines peut constituer un indicateur de l'état physiologique de la plante et refléter les contraintes du milieu. Ce rapport est de 14,1 pour le maïs en sol nu, 15 pour le maïs+vers, 14 pour le maïs-lotier et 16 pour le maïs-lotier+vers. Les différences observées ne sont pas significatives (Annexe 2).

1.4.2.1.2. Lotier

La production de matière sèche pour le lotier est significativement augmentée ($P \leq 0,05$) en présence de vers de terre. Elle passe de 45,9 g.UP⁻¹ avec couverture seule à 55,1 g.UP⁻¹ lorsque le lotier est associé aux vers de terre (Figure 8, page précédente).

Au niveau du poids sec des racines de lotier aucune différence significative n'est observée entre lotier seul (21,1 g.UP⁻¹) et lotier+vers (20,6 g.UP⁻¹) (Figure 8).

En ramenant à l'hectare la valeur moyenne de matière sèche de lotier obtenue sur la surface de l'unité de prélèvement (0,0625 m²), cela nous donne 7 tonnes pour le traitement lotier seul et 8,8 tonnes pour le lotier avec vers de terre introduits (Figure 9). La différence est significative ($P \leq 0,05$).

Le rapport du poids sec de la partie aérienne au poids sec des racines est de 2,1 pour lotier seul et 3,2 pour lotier avec vers et la tendance est la même que pour le maïs. La différence est significative ($P \leq 0,05$) (Annexe 2).

=> L'association du lotier avec les vers permet d'obtenir une augmentation significative de la production de matière sèche du maïs.

=> L'introduction de vers sous la couverture augmente de façon significative la production de matière sèche du lotier (racines et parties aériennes).

=> La population de borer diminue lorsque le maïs est cultivé en association avec le lotier et les vers. En parallèle on observe une augmentation du nombre de pieds de maïs fertiles.

1.4.2.2. Populations de vers de terre (*Amyntas corticis*)

Par l'étude des effectifs et de la structure de population (adultes et juvéniles), on se propose de voir si la couverture de lotier permet à court terme le développement d'*A. corticis*.

a) Effectif de la population

La population initiale de vers de terre était de 141 ind.m⁻², qui correspondait à la somme des 139 ind.m⁻² introduits ajoutés aux 2 ind.m⁻² qui s'y trouvaient avant la mise en place des essais.

Pour la modalité expérimentale maïs en sol nu+vers, la population finale retrouvée est de 11 ind.m⁻², ce qui représente 7,8% de la population initiale. Pour le maïs-lotier, la population finale retrouvée est de 14 ind.m⁻², ce qui représente 9,9% de la population initiale (Tableau 4).

La biomasse initiale des vers (introduite plus celle existante) était de 96,22 g.m⁻² et de 84,23 g.m⁻² pour les modalités respectives, maïs en sol nu et maïs-lotier. Les biomasses finales ne représentent plus que 7,2% et 10,3% pour le maïs en sol nu et le maïs-lotier (Tableau 4).

Tableau 4 : Populations moyennes du ver de terre *Amyntas corticis* en fonction des modalités expérimentales. Pi, Pf représentent la population initiale et finale (moyennes de 40 répétitions). Dans la même ligne, la même lettre qui suit les moyennes indique que la différence n'est pas significative (P ≤ 0,05).

	MODALITÉS EXPÉRIMENTALES			
	maïs-sol nu	maïs-sol nu +vers	maïs-lotier	maïs-lotier +vers
Pi (ind.m ⁻²)	2	2+139	2	2+139
Pf (ind.m ⁻²)	0 a	11 b	0 a	14 b
Biomasse initiale (g.m ⁻²)	1,8 a	96,2 b	1,8 a	84,2 b
Biomasse finale (g.m ⁻²)	0 a	6,9 b	0 a	8,7 b

La population de vers de terre sous le maïs en sol nu est composée de 60% d'adultes (7 individus) dont la biomasse représente 89,8% de la biomasse totale de la population et de 40% de juvénile (4 individus) avec une biomasse qui est égale à 10,2% de la biomasse totale (Tableau 5, page suivante).

Sous maïs-lotier, la proportion de juvéniles représente 46% de la population totale (6 individus) avec une biomasse qui est égale à 12,6% de la biomasse totale de la population considérée. Les adultes ne représentent plus que 54% de la population totale avec une biomasse égale à 87,4% de la biomasse totale (Tableau 5).

Tableau 5: Structure de la population finale d'*Amyntas corticis*. Dans la même colonne, la même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$) entre les modalités expérimentales. L'erreur standard est entre parenthèses.

	DENSITÉS DES VERS DE TERRE				BIOMASSES DES VERS DE TERRE			
	Adultes (ind.m ⁻²)	Adultes (%)	Juvéniles (ind.m ⁻²)	Juvéniles (%)	Adultes (g.m ⁻²)	Adultes (%)	Juvéniles (g.m ⁻²)	Juvéniles (%)
maïs-sol nu	7 a	60 a	4 a	40 a	6,2 a	89,8 a	0,7 a	10,2 a
+ vers	(2,8)		(1,6)		(1,9)		(0,2)	
maïs-lotier	8 a	54 a	6 a	46 a	7,6 a	87,4 a	1,1 a	12,6 a
+ vers	(3,6)		(3)		(3,1)		(0,6)	

b) Calcul de l'apport d'azote représenté par les tissus de vers morts

Le calcul de l'azote apporté par les vers morts a été réalisé pour répondre à l'hypothèse que les cultures auraient pu bénéficier de cette apport azoté supplémentaire. La biomasse de vers que l'on a introduite et que l'on a pas retrouvée sera considérée comme nécromasse dans ce calcul. Le contenu intestinal représente environ 75% du poids frais du ver, par ailleurs la teneur en eau des tissus est de l'ordre de 75% : il en découle que le poids sec du ver vidé de la terre représente environ 6,5% du poids vif (entre 5-10%). Nous considérerons par la suite que le poids sec est égale à 7,5% du poids vif et la teneur en azote des tissus de l'ordre de 9% (Annexe 3).

La quantité d'azote apportée par les tissus des vers morts représente 0,6% de l'azote totale dans le traitement du maïs en sol nu et 0,5% dans le maïs-lotier (Annexe 3).

=> A court terme (cinq mois) on observe une forte diminution de la population introduite.

=> La présence de juvéniles (46% de la population finale) montre que la couverture de lotier permet le développement d'*A. corticis*.

=> Le faible pourcentage d'azote libéré par la matière morte des vers montre que la production de maïs et de lotier est due à l'activité des vers.

1.4.2.3. Populations de *Pratylenchus vulnus*

Nous voulions voir si l'utilisation d'une couverture végétale permanente et l'introduction de vers de terre permettaient de diminuer la population de nématodes phytoparasites dans les racines du maïs, en comparaison avec une culture pratiquée en sol nu.

A la fin de l'expérience, on observe une diminution de la population de nématodes dans les racines du maïs selon les modalités expérimentales. La valeur la plus élevée est trouvée dans les racines du maïs cultivé en sol nu avec 23 400 ind.UP⁻¹. Dans le maïs+vers et le maïs-lotier, les valeurs sont respectivement de 18 350 et 17 100 ind.UP⁻¹. Les différences sont significatives uniquement entre le maïs cultivé en sol nu et le maïs associé au lotier+vers (11 700 ind.UP⁻¹) ($P \leq 0,1$) (Figure 10).

Les racines de lotier contiennent des populations importantes de nématodes. Dans le maïs-lotier le nombre rencontré est de 68 122 ind.UP⁻¹ et il augmente en présence de vers (81 328 ind.UP⁻¹). La différence observée n'est pas significative ($P \leq 0,05$) (Figure 10).

Les plus fortes densités en nématodes sont observées dans le sol. On trouve une population de 204 945 ind.UP⁻¹ pour le maïs+vers et 107 369 ind.UP⁻¹ pour le maïs-lotier+vers. Dans le cas du maïs en sol nu et du maïs-lotier les valeurs sont respectivement de 161 985 et 111 370 ind.UP⁻¹. Les différences ne sont pas significatives ($P \leq 0,05$) entre les quatre modalités expérimentales (Figure 10).

Les population cumulées (sol + plante) de nématodes par UP, des cultures de maïs et de lotier font constater des valeurs les plus élevées dans le traitement maïs en sol nu + vers (223 295 ind.UP⁻¹) et dans le traitement du maïs-lotier+vers (200 397 UP⁻¹). Dans les traitements maïs en sol nu et maïs-lotier, les valeurs sont respectivement de 185 385 et 196 595 ind.UP⁻¹. Les différences ne sont pas significatives ($P \leq 0,05$) entre les modalités expérimentales (Figure 10). Les différences significatives ($P \leq 0,05$) entre les quatre modalités expérimentales et l'inoculum de départ (37930 ind.UP⁻¹) indiquent néanmoins une forte multiplication de ce parasite dans cet essai.

Les taux de multiplication des nématodes (population totale finale / population totale initiale) sont de 4,9 pour le maïs cultivé en sol nu, 5,9 pour le maïs+vers, 5,2 pour le

maïs-lotier et de 5,3 pour le maïs-lotier+vers. Ces chiffres ne sont pas significativement différents ($P \leq 0,05$) (Tableau 6, page suivante).

Par rapport à la densité totale par UP la proportion de nématodes est faible dans les racines de maïs, 7,3% à 14,1% selon la modalité expérimentale. Cette proportion endoracinaire est bien plus élevée dans le lotier (39,3% à 44,3%). A l'inverse, les nématodes dans le sol sont en plus faible proportion en présence de la couverture de lotier et de lotier+vers (48,3%) qu'en sol nu (>85,9%). (Tableau 6).

Tableau 6 : Coefficients de multiplication de *Pratylenchus vulnus*.UP⁻¹ (population totale finale/ population initiale par unité de prélèvement) et répartition des nématodes dans les racines de maïs, de lotier et dans le sol. Dans la ligne le même symbole et la même lettre indiquent que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$). Dans la même colonne, la même lettre indique que les différences ne sont pas significatives ($P \leq 0,05$). Écart-type entre parenthèses.

	MODALITÉS EXPÉRIMENTALES			
	maïs-sol nu	maïs-sol nu +vers	maïs-lotier	maïs-lotier +vers
P/Pi.UP⁻¹	4,9*	5,9*	5,2*	5,3*
nématodes/maïs (%)	13,3 a (8)	14,1 a (21)	12,4 a (13)	7,3 a (7)
nématodes/lotier (%)	-	-	39,3 b (32)	44,3 b (25)
nématodes/sol (%)	86,7 b (8)	85,9 b (21)	48,3 b (36)	48,3 b (27)

L'analyse des différents stades de développement du nématode, montre que dans le sol, quelque soit la modalité expérimentale, les femelles représentent plus de 60% de la population et que les juvéniles de troisième et quatrième stades sont inexistantes (Figure 11).

Les mâles ne sont trouvés dans le sol que pour la modalité maïs en sol nu. Dans les racines de maïs et dans celles du lotier, plus de 57% de la population est constituée de juvéniles de second stade. La proportion des juvéniles 3 (J3) et 4 (J4) se situe entre 6% et 13% et celle des mâles varie de 1% à 8%, selon la modalité expérimentale (Figure 11).

=> La présence des vers de terre et l'utilisation de la couverture de lotier en association avec la culture de maïs diminuent la densité de nématodes dans les racines de la

plante cultivée (maïs). Cette diminution est significative uniquement quand les vers sont associés au lotier.

=> En présence de lotier et de vers on observe une redistribution des nématodes. La grande majorité des nématodes se retrouve dans le sol et dans les racines du lotier.

1.4.2.4. Biomasse et activité respiratoire de la microflore

La biomasse microbienne est significativement augmentée ($P \leq 0,05$) pour les trois modalités expérimentales, maïs+vers (111 mg C/kg sol sec), maïs-lotier (112 C/kg sol sec), maïs-lotier+ vers (113 mg C/kg sol sec) par rapport au maïs cultivé en sol nu (84 mg C/kg sol sec) (Tableau 7).

Tableau 7: Biomasse microbienne du sol en fonction des diverses modalités expérimentales pour la culture du maïs. La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$).

MODALITÉS EXPÉRIMENTALES			
	maïs-sol nu	maïs-sol nu +vers	maïs-lotier +vers
Biomasse microbienne			
(mg C.kg ⁻¹ de sol sec)	84 a	111 b	113 b

Durant les quatre semaines d'analyses, les valeurs cumulées des coefficients de minéralisation du carbone sont significativement ($P \leq 0,05$) supérieures en présence de la couverture de lotier, associée ou non aux vers de terre par rapport aux deux modalités en sol nu. Cette différence entre les trois groupes s'accroît au cours de l'expérimentation (Figure 12).

1.4.2.5. Propriétés chimiques du sol

Globalement le carbone total (C_T) varie peu, de 8,14 g.100g⁻¹ (en sol nu) à 8,66 sous (lotier seul). C'est d'ailleurs entre ces deux modalités qu'est observée la seule différence significative ($P \leq 0,05$) (Tableau 8, page 50).

Pour le rapport C/N, on observe une différence significative ($P \leq 0,05$) qu'avec la couverture de lotier, où l'apport des vers diminue la valeur (11,0 contre 11,8).

Les nitrates, exprimé en pourcentage de l'azote total, sépare nettement le sol nu de la couverture de lotier, mais l'apport des vers ne modifie pas ce paramètre. Les différences entre ces deux groupes sont significative ($P \leq 0,05$) (Tableau 8, page suivante).

Le pH n'est significativement modifié qu'entre présence de la couverture et des vers de terre (5,06 contre 4,77) (Tableau 8, page suivante).

1.4.2.6. Analyse en Composantes Principales avec les données de nématodes, chimiques et biologiques du sol et agronomiques

L'analyse multivariée (ACP) permet de comparer n individus entre eux en tenant compte de m variables simultanément.

La distribution des différentes variables analysées est expliquée à 85,5% par deux axes.

L'axe 1 explique à lui seul 62% de la répartition des variables étudiées. Il est caractérisé par les variables matière sèche du lotier (MSL), densité de nématodes dans les racines de lotier (NL), les coefficients de minéralisation du carbone (C_m) et la densité en vers (VERS). Ces variables sont positivement corrélées entre elles et négativement corrélées à la densité de nématodes dans les racines du maïs (NM) et à la quantité de nitrates du sol (NO_3^-) (Figure 13A).

La projection des modalités expérimentales (Figure 13B) montre que l'axe 1 oppose les modalités expérimentales avec lotier, caractérisées par les variables coefficient de minéralisation du carbone, (C_m), densité de nématode dans le lotier (NL), densité en vers (VERS) et la matière sèche de lotier (MSL) aux modalités sans lotier caractérisées par les taux de NO_3^- et les densités de nématode dans les racines de maïs (NM). Cet axe est déterminé par le facteur couverture.

L'axe 2 explique 23,5% de la distribution des variables et il est caractérisé par le C/N et les densité de nématode dans le sol (NS). La projection des modalités expérimentales montre que l'axe 2 oppose les modalités avec lotier entre elles et les différencie par la présence ou non de vers. La modalité maïs-lotier est caractérisée par la variable C/N plus élevée et la modalité maïs-lotier+vers par la densité de nématodes dans le sol. L'axe 2 est déterminé par le facteur ver.

Tableau 8 : Variations des paramètres chimiques (moyennes de 20 répétitions) du sol en fonction des différentes modalités expérimentales sous culture de maïs. Dans la même ligne, la même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$).

	MODALITÉS EXPÉRIMENTALES			
	maïs-sol nu	maïs-sol nu +vers	maïs-lotier	maïs-lotier +vers
C_T (g/100g)	8.14 a	8.2 ab	8.66 b	8.39 ab
N_T (g.kg-1)	7.27 a	7.43 a	7.38 a	7.72 a
C/N	11.3 ab	11.0 b	11.8 a	11 b
NO₃⁻ (% N_T)	2.87 a	2.11 a	0.80 b	0.94 b
P_T (mg.kg-1)	4444 a	4305 a	4458 a	4564 a
Pass (%)	13.9 a	12.8 a	14.2 a	14.0 a
pH	4.77 a	4.83 ab	5.06 c	4.98 bc
CEC (mé.100g⁻¹)	7.4 a	6.7 a	7.8 a	7.2 a
sat (% CEC)	55.4 ab	50.6b	59.5 a	52.4 ab
Ca (mé.100g⁻¹)	3.15 ab	2.46 b	3.62 a	2.79 ab
Mg (mé.100g⁻¹)	0.52 ab	0.42 b	0.58 a	0.51 ab
K (mé.100g⁻¹)	0.40 a	0.29 a	0.31 a	0.30 a
Na (mé.100g⁻¹)	0.34 a	0.37 b	0.30 a	0.30 a

1.4.3. EFFETS DE LA COUVERTURE DE LOTIER ET DE L'INOCULATION DE VERS DE TERRE SUR LA CULTURE DE GÉRANIUM

1.4.3.1. Production végétale

Les essais appliqués au géranium avaient pour objectifs de voir si l'utilisation de la couverture de lotier et la manipulation des vers de terre permettaient d'augmenter la production d'huile essentielle de géranium sans utilisation d'intrants chimiques et organiques. Les résultats ont porté sur la production de feuilles de géranium, de matière sèche de lotier et sur la production d'essence de géranium.

Les mêmes modalités expérimentales ont été appliquées au géranium. Aucune augmentation significative ($P \leq 0,05$) de la matière verte (feuille) et de la matière sèche des feuilles n'est obtenue pour le géranium mais la production de matière sèche du lotier est significativement augmentée ($P \leq 0,01$) en présence des vers de terre (Figure 14).

La biomasse des racines de géranium varie de 40,8 g.UP⁻¹ à 48,4 g.UP⁻¹ selon les modalités. La différence n'est significative ($P \leq 0,05$) qu'entre le géranium-lotier et le géranium+vers (Tableau 9).

En présence de vers on observe une augmentation significative ($P \leq 0,05$) de la biomasse racinaire du lotier (Tableau 9).

Tableau 9: Biomasses racinaires moyennes du géranium et du lotier. Écart-type entre parenthèses. Dans la même ligne, la même lettre qui suit les moyennes indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$).

	MODALITÉS EXPÉRIMENTALES			
	géranium-sol nu	géranium-sol nu +vers	géranium-lotier	géranium-lotier +vers
racines géranium (g.UP ⁻¹)	40,8 ab (23,5)	48,4 b (23,6)	36,4 a (21,8)	43 ab (26,2)
racines lotier (g.UP ⁻¹)	-	-	6,4 a (4,4)	8,4 b (5,4)

Le taux d'huile essentielle dans la matière verte est de 0,2% pour le géranium en sol nu et augmente de façon significative ($P \leq 0,01$) avec l'association lotier+vers (Tableau 10).

Tableau 10: Taux d'huile essentielle de géranium (%) dans la matière verte et la matière sèche en fonction des modalités expérimentales (moyenne de 40 répétitions, écart-type entre parenthèses). Dans la même ligne, la même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,01$).

	MODALITÉS EXPÉRIMENTALES			
	géranium-sol nu	géranium-sol nu +vers	géranium-lotier	géranium-lotier +vers
Taux d'huile dans la Matière verte (%)	0,213 a (0,1)	0,22 a (0,08)	0,22 a (0,07)	0,3 b (0,15)
Taux d'huile dans la Matière sèche (%)	0,7 a (0,23)	0,84 a (0,35)	0,74 a (0,27)	0,97 b (0,37)

La production d'huile essentielle à l'hectare est augmentée avec la couverture de lotier ou apport de vers, seul ou en association, mais la différence n'est significative qu'avec la modalité lotier+vers ($P \leq 0,06$) (Figure 15).

=> A court terme la présence de vers augmente significativement la production de matière sèche du lotier (racines et partie aériennes).

=> Le taux d'huile essentielle est augmenté en présence de l'association du lotier et des vers. Cette augmentation du taux d'huile permet d'obtenir une augmentation de la quantité d'essence de géranium à l'hectare sans qu'il y ait augmentation significative de la production foliaire dans la modalité lotier+vers.

1.4.3.2. Population de ver de terre (*Amyntas corticis*)

Comme pour le maïs, on voulait vérifier si la présence de la couverture de lotier associée à la culture de géranium permettaient le développement du ver *A. corticis*. Pour ce faire nous avons étudié l'effectif et la structure de la population à l'issue de l'expérimentation.

On constate une diminution significative ($P \leq 0,05$) de la densité et de la biomasse de la population finale des vers. Pour le géranium en sol nu seulement 4% (6 ind.m⁻²) de

la population introduite est retrouvée et 12% pour le géranium-lotier (17 ind.m⁻²). Cette baisse de la densité s'accompagne d'une diminution significative (P ≤ 0,05) de la biomasse. Seulement 1,2% de la biomasse initiale est retrouvée pour la modalité géranium en sol nu et 6,4% pour le géranium-lotier (Tableau 11).

Tableau 11: Populations moyennes du ver de terre *Amyntas corticis* en fonction des modalités expérimentales (moyenne sur 40 répétitions, erreur standard entre parenthèses) sous culture de géranium. Dans la même colonne, la même lettre et le même symbole indiquent que la différence n'est pas significative (P ≤ 0,05).

	MODALITÉS EXPÉRIMENTALES			
	géranium-sol nu	géranium-sol nu +vers	géranium-lotier	géranium-lotier +vers
Population initiale (ind.m ⁻²)	0	141 a	0	141 a
Biomasse initiale (g.m ⁻²)	0	91,3* (2,2)	0	85,90* (3,1)
Population finale (ind.m ⁻²)	0	6 b (4,2)	0	17 b (7,8)
Biomasse finale (g.m ⁻²)	0	1,1** (0,8)	0	5,5** (2,9)

L'analyse de la structure de la population montre que les juvéniles représentent près de 67% et 65% de la population totale pour les modalités respectives géranium en sol nu et géranium-lotier (Tableau 12).

Tableau 12: Structure de la population finale du ver de terre *Amyntas corticis* sous culture de géranium. Dans la même colonne, la même lettre indique que la différence n'est pas significative (P ≤ 0,05) entre les deux modalités expérimentales. L'erreur standard est entre parenthèse.

	DENSITES DES VERS DE TERRE				BIOMASSES DES VERS DE TERRE			
	Adultes (ind.m ⁻²)	Adultes (%)	Juveniles (g.m ⁻²)	Juveniles (%)	Adultes (g.m ⁻²)	Adultes (%)	Juveniles (g.m ⁻²)	Juveniles (%)
géranium -sol nu	2 a	33,3 a	4 a	66,7a	0,39 a	35,5 a	0,71 a	64,5 a
+vers	(1,56)		(2,86)		(0,35)		(0,48)	
géranium-lotier	6 a	35 a	11 a	65 a	3,25 b	59 a	2,25 a	41 a
+vers	(2,96)		(5,1)		(1,93)		(1,09)	

=> Comme pour le maïs, le géranium en sol nu ne permet pas un fort développement du ver *A. corticis*, malgré la reproduction de ce dernier.

=> La couverture de lotier permet la reproduction d'*A. corticis* et maintient sa population à un niveau beaucoup plus bas que la population introduite.

1.4.3.3. Population de *Pratylenchus sp.*

Les nématodes *Pratylenchus sp.* sont inexistantes dans les racines de géranium. Leurs densités sont plus élevées dans les racines de lotier, de 63 - 79 ind.UP⁻¹, qui sont cependant incroyablement plus bas que celles observées dans l'essai maïs (Figure 16).

1.4.3.4. Biomasse et activité respiratoire de la microflore du sol

La biomasse et l'activité respiratoire de la microflore du sol présentent des caractéristiques similaires à celles observées dans le cas du maïs avec une augmentation significative de la biomasse microbienne avec apports de vers, en sol nu ou sous lotier de ($P \leq 0,06$) (Tableau 13).

Tableau 13: Biomasse microbienne du sol en fonction des diverses modalités expérimentales pour la culture du géranium. La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,06$).

	MODALITÉS EXPÉRIMENTALES			
	géranium-sol nu	géranium-sol nu	géranium-lotier	géranium-lotier
		+vers		+vers
Biomasse microbienne (mg C.kg ⁻¹ de sol sec)	99,2 a	111,2 b	112,4 b	115,7 b

Les coefficients de minéralisations du carbone augmentent de façon significative ($P \leq 0,05$) en présence de lotier et de vers. Les valeurs cumulées du coefficient de minéralisation sur quatre semaines nous donnent pour la première semaine deux groupes significativement différents ($P \leq 0,05$), et à partir de la deuxième semaine, trois groupes significativement différents ($P \leq 0,05$). La plus faible valeur est trouvée sous sol nu et les plus fortes sous lotier avec ou sans apport de vers (Figure 17).

Les analyses chimiques du sol montrent une augmentation significative que pour le carbone total (C_T) ($P \leq 0,05$) sous lotier, avec ou sans apport de vers (Tableau 14).

1.4.3.5. Analyse en Composantes Principales

L'Analyse en Composantes Principales a été faite sur les paramètres agronomiques, chimiques et biologiques du sol.

La distribution des points variables est expliquée à 87,7% par deux facteurs (deux axes).

L'axe 1 qui explique 51% de la distribution des variables est caractérisé par les variables vers de terre (Vers), taux d'huile essentielle (Tx huile) et NH_4 (Figure 18A, page suivante). Ces variables sont fortement corrélées entre elles et à l'axe 1. La projection des modalités expérimentales (Figure 18B, page suivante) montre que cet axe oppose les modalités avec vers, caractérisées par les variables Vers, taux d'huile et NH_4 , aux modalités sans vers caractérisées par les variables chimiques du sol: pH, CEC, Mg, N_T et Ca. L'axe 1 est caractérisé par le facteur ver.

L'axe 2 qui explique 36,7% de la distribution des variables est caractérisé par les variables matière fraîche et sèche du géranium (MF et MS), le coefficient de minéralisation du carbone (Cm) et la densité de nématodes dans les racines de lotier (Nélot) (Figure 18A). La projection des modalités expérimentales montre que cet axe 2 oppose les modalités avec lotier caractérisée par les variables MF, MS, Cm et Nélot aux modalités en sol nu avec ou sans apport de vers. L'axe 2 est caractérisé par la couverture.

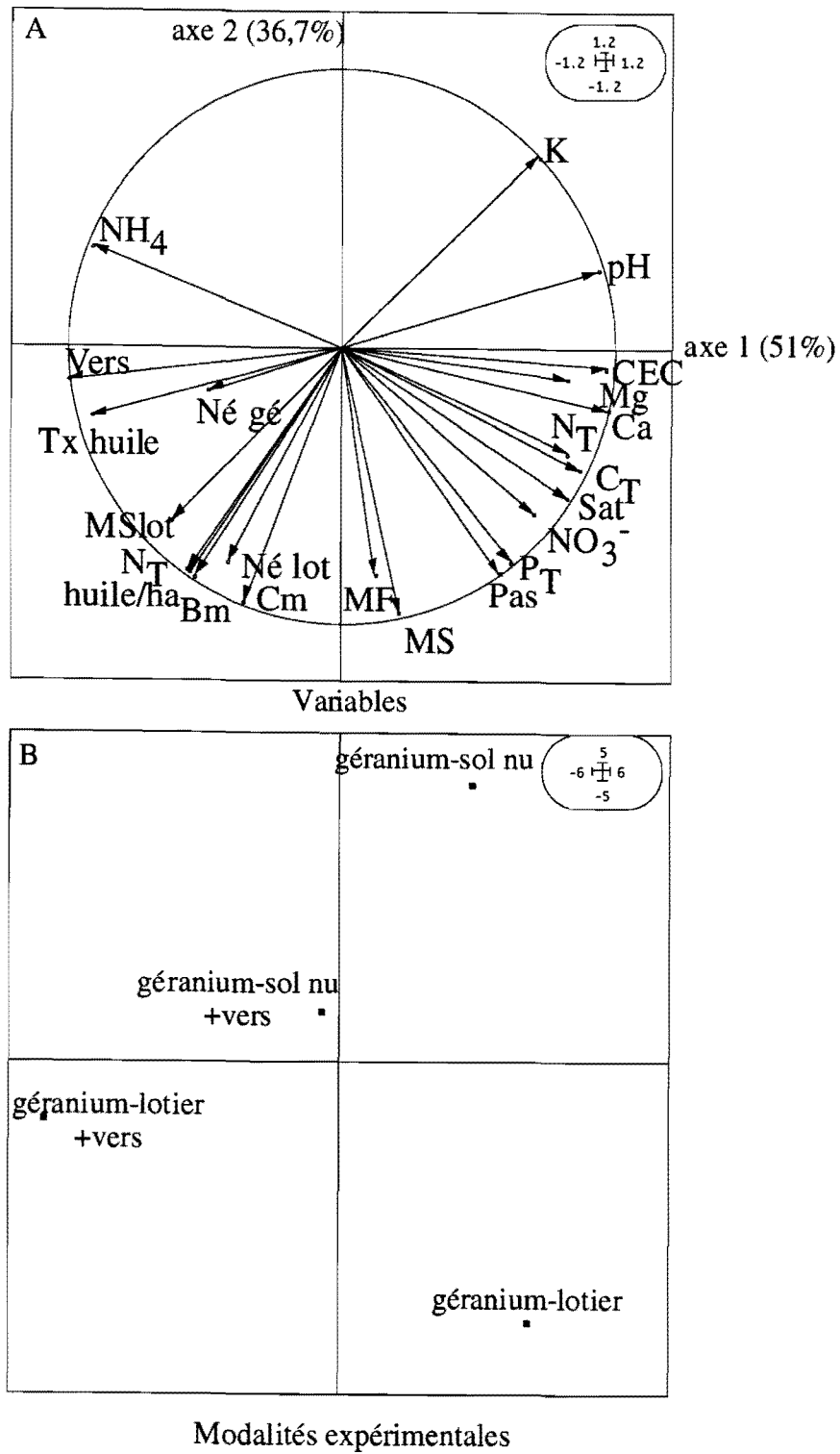


Figure 18: Graphes issus de l'Analyse en Composantes Principales effectuée sur les données de nématodes, des paramètres chimiques et biologiques du sol et sur les paramètres agronomiques (Graphe A) menées suivant les quatre modalités expérimentales (avec ou sans inoculation de vers; avec ou sans lotier) pour le géranium (Graphe B).

**1.5. DISCUSSION ET CONCLUSIONS DE LA
PREMIÈRE PARTIE**

1.5.1. ÉTUDE DES PEUPELEMENTS DE MACROINVERTÉBRÉS EN FONCTION DES MODES DE GESTION DE LA CULTURE DE GÉRANIUM

L'analyse des peuplements décrite par les densités et les biomasses moyennes totales fait ressortir quatre groupes bien distincts :

a) un premier avec les valeurs de densités et de biomasses les plus élevées qui comprend la forêt et la jachère. Dans ces deux sites, la biomasse des vers de terre représente plus de 93% de la biomasse moyenne totale.

b) un second, avec des valeurs moyennes qui regroupe les couvertures de lotier et de kikuyu qui présentent les plus fortes valeurs.

c) un troisième avec la couverture d'arachide.

d) le dernier groupe avec les valeurs les plus basses, comprend le géranium cultivé en sol nu depuis 25 ans, le géranium avec des cultures en rotations et avec des cultures intercalaires.

La présence d'une abondante litière en surface de la forêt et de la jachère permet un fort développement des espèces épigées (Diplopodes, Isopodes), de même que le ver de terre *Amyntas corticis*, seul ver épi-endogé retrouvé dans les parcelles étudiées. Les différences confirmées par l'AFC, montrent aussi que la qualité de la litière est un facteur déterminant. La densité d'invertébrés trouvée dans la forêt est inférieure à celle observée en Amazonie péruvienne (4200 ind.m⁻²; Lavelle & Pashanasi, 1989), en Côte d'Ivoire (de l'ordre de 5747 ind.m⁻²; Gilot *et al.*, 1995) et au Mexique (6409 ind.m⁻²; Lavelle & Kohlman, 1984). Ces différences s'expliquent par le fait que les analyses ont été réalisées dans des sols de forêts primaires ou secondaires alors que dans notre étude il s'agit de sols d'une forêt tropicale dégradée partiellement exploitée. A l'inverse, les biomasses moyennes totales rencontrées dans ces travaux sont inférieures aux nôtres. Ces différences viennent de la densité des vers de terre qui est plus élevée dans notre étude, de même que les biomasses correspondantes.

Sous la jachère, les densités retrouvées sont comparables à celles obtenues par Lavelle & Pashanasi en 1989 (1546 à 2214 ind.m⁻²) après une jachère de "Kudzu" (*Pueraria phaseoloides* Benth.) de six mois. Les biomasses moyennes totales (15,9 à

93,9 g.m⁻²) retrouvées dans l'étude de Lavelle & Pashanasi (1989) sont inférieures aux nôtres (265,8 g.m⁻²) et s'expliquent par la biomasse des vers de terre rencontrés.

Les densités totales retrouvées sous les couvertures de *P. clandestinum* (1125 ind.m⁻²) et de *L. uliginosus* (1403 ind.m⁻²) sont comparables à celles trouvées par Lavelle & Pashanasi (1989) (1546 ind.m⁻²) au Pérou sous plantations de palmiers (*Bactris gasipaes* Runth.) associées à une strate herbacée souvent riche en légumineuses ("Kudzu"). Dans cette dernière situation, la biomasse moyenne totale est supérieure (93,9 g.m⁻²) à celle de notre étude (18,33 à 25,32 g.m⁻²) du fait de la forte densité en vers de terre, 218 ind.m⁻² retrouvé par Lavelle & Pashanasi (1989) contre 10 à 50 ind.m⁻² pour notre étude.

Ce critère qualitatif de la litière différencie entre elles les couvertures végétales permanentes. Il sépare la graminée des légumineuses et parmi ces dernières les légumineuses entre elles. Les densités de vers de terre, différentes entre les légumineuses et la graminée, proviennent certainement de la qualité de la litière. Cortez & Hameed (1988) montrent que la biomasse des vers de terre augmente en présence de légumineuse (luzerne) de façon plus importante qu'en présence de graminée (ray-grass). Ici, nous avons l'effet inverse qui s'explique par la présence de tanins dans les feuilles de lotier (Jones *et al.*, 1970). Cette faible densité en vers de terre s'explique aussi par la faible valeur nutritive du lotier qui est riche en matières azotées totales (21,9% de matière sèche) mais avec une faible dégradabilité enzymatique (45% de la matière sèche) (Michellon, communication personnelle).

Le régime alimentaire des larves de Diptères et de Coléoptères (débris végétaux, racines) et les conditions micro-climatiques (humidité, température et densité du sol) peuvent expliquer les fortes densités retrouvées sous couverture de *L. uliginosus*. L'analyse factorielle montre bien que la culture du géranium avec la couverture de lotier se caractérise par une forte densité de larves de coléoptères, parmi lesquelles les larves de *Cratopus humeralis* sont souvent rencontrées. Ce charançon phytophage, malgré les traitements insecticides systémiques, attaque classiquement le géranium. Les adultes, au comportement grégaire, se regroupent alors dans la couverture de lotier qui constitue ainsi une plante piège très attractive (Quilici *et al.*, 1992). Le même résultat est observé en basse altitude pour les larves de *Hoplochelus marginalis* (ver blanc) (Quilici *et al.*, 1992). Le système racinaire de la plante de couverture joue le rôle de leurre à l'égard de la larve (Michellon, 1996). Sous l'*Arachis pintoï* les épigés sont peu nombreux. Sous ces deux légumineuses, les vers de terre sont peu abondants.

Sous la couverture de graminée, plus de la moitié de la densité de la macrofaune est représentée par les épigés et particulièrement par les Diplopodes. Les vers sont peu abondants en comparaison avec la jachère mais leur biomasse représente plus de la moitié (69%) de la biomasse moyenne totale.

La répartition en profondeur montre bien que dans les sites où il existe une litière (jachère, forêt, couvertures végétales), les espèces inféodées à cette litière (Chilopodes, Diplopodes, Isopodes) sont importantes. La répartition des vers, montre qu'il s'agit d'une espèce épi-endogée.

La diminution de la densité et de la biomasse de la macrofaune du sol sous culture de géranium pratiquée en sol nu s'accompagne d'une diminution de la diversité taxonomique. Ces résultats sont souvent observés sous cultures annuelles (Decaëns *et al.*, 1994).

Sous la culture de géranium en sol nu, en sol nu avec cultures en rotations et en association avec des cultures intercalaires, l'absence de litière explique le faible niveau de population épigée rencontrée. Les résultats obtenus ici sont comparables à ceux observés dans des cultures annuelles fertilisées où on observe une diminution spectaculaire, quantitativement et qualitativement des populations d'invertébrés du sol (4,3 à 3,2 g.m⁻² et 592 à 429 ind.m⁻²) (Decaëns *et al.*, 1994).

La macrofaune du sol est plus abondante dans les sites arborés (forêt et jachère) où la litière, par son abondance et sa qualité, permet son développement. A l'opposé, dans les parcelles cultivées en sol nu une diminution quantitative et qualitative (diversité) de la macrofaune, due à l'absence de conditions environnementales favorables induites par la litière (humidité, température) est observée. L'utilisation de couvertures végétales permanentes, par l'apport de litière et par la création de conditions favorables permettent de restaurer la macrofaune du sol. Pour la macrofaune, le choix d'une couverture doit aussi tenir compte de la quantité de litière apportée et de sa qualité (quantité d'azote assimilable, dégradabilité, substances nocives).

1.5.2. EFFETS DE LA COUVERTURE DE LOTIER ET DE L'INOCULATION DE VERS DE TERRE SUR LES CULTURES DE MAÏS ET DE GÉRANIUM

L'introduction de vers de terre améliore la reprise du maïs. Les stades jeunes de la plante sont donc soumis à un effet dépressif de la part de certains facteurs du sol, qui sont compensés par l'addition de vers de terre. Cet effet dépressif originel peut être en partie du aux effets pathogènes du nématode *Pratylenchus vulnus*.

L'introduction de vers de terre sous la culture de maïs associée à la couverture de lotier augmente la production de matière sèche du lotier (parties aériennes). Les fortes biomasses racinaires du lotier (3,4 t.ha⁻¹) permet d'abriter une forte population de *P. vulnus* qui ne semble pas lui être néfaste et qui diminue les populations de ce nématode dans le sol et dans les racines du maïs (0,4 t.ha⁻¹). Le nombre élevé de nématodes juvéniles dans les racines du lotier montre que cette plante est un bon hôte et qu'elle est peut être plus attractive que le maïs pour *P. vulnus*. Ce partage des populations entre les systèmes racinaires des deux plantes associées justifie donc en partie la diminution du nombre de nématodes dans les racines du maïs et explique en partie l'augmentation significative de la production de matière sèche de la partie aérienne du maïs.

D'autres mécanismes peuvent expliquer cette diminution. Les vers de terre peuvent avoir deux effets différents sur les nématodes. En premier, la création de macropores et la compaction du sol (Blanchart, 1990), due à l'activité des vers de terre, peuvent altérer les mouvements des nématodes dans le sol et modifier leur dynamique des populations. Deuxièmement, les nématodes contenus dans le sol ingéré (de façon passive) par les vers peuvent subir une altération de leurs propriétés parasitaires durant leur transit dans le tube digestif des vers.

Dans le cas du géranium, les faibles densités de nématodes observées prouvent que le géranium est un hôte médiocre pour l'espèce rencontrée (*Pratylenchus sp.*). Cette faible sensibilité aux nématodes est sans doute due à la présence dans les exsudats racinaires de géraninol, qui est toxique vis à vis des nématodes (Osman & Viglierchio, 1988). La toxicité du géraninol a été démontrée sur d'autres organismes pathogènes. Ainsi Rao et Singh (1994) montrent que le géraninol extrait de l'huile *Zanthoxylum alatum* a un effet fongistatique sur *Colletrichum falcatum* Went. et un effet insectifuge sur *Pyrilla perpusilla* Wlk.

La couverture de *L. uliginosus* protège les racines de maïs du nématode *Pratylenchus vulnus*, en étant elle même une plante hôte. A court terme, le fait que le lotier soit une plante hôte n'a aucune incidence sur le rendement en maïs. Mais on doit s'assurer que la charge parasitaire contenue dans les racines de lotier (couverture pérenne) ne constitue pas un potentiel parasitaire qui pourrait être transféré à la plante qui lui fait suite dans la rotation et qui pourrait être sensible à *P. vulnus*.

La présence simultanée de la couverture de lotier et des vers de terre ne modifie pas le nombre total de *Pratylenchus vulnus* dans la culture du maïs, mais modifie la répartition des nématodes entre les différents compartiments: sol, racines de maïs et racines de lotier. Les tendances exprimées par les analyses en composantes principales montrent que dans le cas du maïs nous avons une opposition entre les traitements avec et sans lotier puis entre les traitements avec ou sans vers de terre. Dans le cas du maïs la répartition des variables étudiées montre un effet couverture de lotier prépondérant.

Dans les essais avec le géranium, l'augmentation de la matière sèche du lotier (parties aériennes) est plus important (+90%) que dans le cas du maïs (lotier: +26%) en présence de vers de terre. Contrairement au maïs, le géranium étant un hôte médiocre pour les nématodes, l'augmentation de la production d'huile essentielle est donc la résultante d'effets conjugués de la couverture de lotier avec l'activité des vers sur la matière organique du sol. Les tendances obtenues par l'analyse en composante principale montrent que 51% de la distribution des variables est expliquée par un seul axe qui définit les modalités avec et sans vers de terre. Dans le cas du géranium nous avons un effet vers de terre.

Cette action conjuguée se vérifie sur la biomasse et l'activité respiratoire de la microflore du sol qui sont significativement augmentées par l'apport de matière organique facilement dégradée au sol par la litière de lotier, venant de la partie aérienne et racinaire du lotier. Mais aussi par les vers de terre qui par l'ingestion de sol, augmentent l'activité microbienne durant le transit à travers leur tube digestif (Barois, 1992). Malgré l'augmentation du coefficient de minéralisation du carbone sous couverture et sous couverture avec vers de terre, les valeurs observées (1% à 1,3% pour le maïs et 0,75% à 2,30% pour le géranium) sont faibles comparées à d'autres études qui varient de 2 à 5 en fonction des traitements appliqués aux cultures et du type de sol (Dommergues, 1960). Cela s'explique par les caractéristiques chimiques des Andosols, riches en matière organique qui est cependant, souvent fixée aux allophanes ou à aluminium et de ce fait moins accessible aux micro-organismes (Bel Hadj Brahim, 1987). De grandes quantités

d'aluminium amorphe et d'allophane induisent un déficit en phosphore assimilable (Borie & Zunino, 1983), qui devient alors un facteur limitant pour la microflore.

Les rendements obtenus en maïs, en huile essentielle de géranium et en lotier sont élevés en présence de vers pour la période concernée, or durant cette même période, il est apparu impossible de maintenir les populations d'*Amyntas corticis* au même niveau de population que leur inoculum. On pourrait émettre l'hypothèse que la totalité des vers qui ne sont pas retrouvés sont morts à l'intérieur des enclos, et que l'azote apporté par cette nécromasse ait bénéficié aux plantes (Annexes 3 et 4). Si cette hypothèse était juste, dans le cas du traitement du maïs en sol nu avec vers inoculés, nous aurions obtenu un rendement significativement supérieur au traitement du maïs seul en sol nu, ce qui n'est pas le cas. L'hypothèse la plus plausible est donc celle d'une fuite des vers de terre en dehors des enclos. *A. corticis* est un épigé avec de rapides mouvements (Gates, 1972). Il est cependant possible que l'apport de cette matière organique facilement assimilable (nécromasse) induise une stimulation sur la minéralisation de l'azote moins disponible présent dans le sol : un "priming effect" au sens de Jenkinson (1966) (Lavelle & Gilot, 1994). Cependant, Mary et al. (1993) n'observent pas de "priming effect" sur l'azote après apport de différents substrats (racines, mucilage de racine, glucose). En outre, les résultats de Graff & Makeschin (1983) montrent que l'effet sur la production végétale d'une nécromasse de vers est très inférieure à celui des vers en activité. Gilot (1994), montre que l'apport hypothétique d'azote par les tissus morts des vers (0,46 g N/m²) n'influe pas sur la production de maïs. On peut donc conclure que les effets observés résultent essentiellement de l'activité des vers.

Environ dix pour-cent de la population initiale de vers de terre ont été retrouvées à la fin de l'expérience. Cette forte diminution montre que le statut organique du sol sous maïs avec lotier et sous géranium avec lotier n'est pas capable de maintenir une population plus forte que 14 à 17 ind.m⁻². L'étude de la macrofaune (Boyer et al., 1996), étudiée auparavant montre que sous le géranium associé au lotier la population d'*Amyntas corticis* est inférieure à celle trouvée sous kikuyu (*Pennisetum clandestinum*) (50 ind.m⁻²). En comparaison de cette étude sur la macrofaune, on peut penser que le niveau maximal de la population d'*A. corticis* sous couverture de lotier est atteinte au bout de cinq mois. Cortez & Hameed (1988) montrèrent que la qualité de la litière est importante dans le l'évolution de la biomasse des vers. Ils montrent plus précisément l'importance de la quantité d'azote assimilable apportée par la litière. Il est donc évident qu'une plus forte population d'*A. corticis* ne peut exister sous lotier. Cette plus faible densité en vers de

terre s'explique par la présence de tannins dans les feuilles de lotier et sa faible digestibilité enzymatique (Johns *et al.*, 1970; Michellon, communication personnelle).

La couverture de lotier, plus importante en présence de vers de terre diminue significativement la population de *Sesamia calamistis*. La présence de vers de terre permet un meilleur développement de la couverture et cette dernière crée des conditions favorables au développement de prédateurs (Hyménoptères et larves de Diptères) des stades larvaires du borer, qui vivent dans le sol. L'étude de la macrofaune du sol (1.4.1.), a montré que les plus fortes densités en fourmis et en larves de Diptères sont retrouvées sous la couverture de lotier. Ce rôle de plante piège joué par la couverture de lotier a été observé dans le cas de *Cratopus humeralis*, charançon au comportement grégaire (Michellon, 1996).

La présence de vers et de couverture de *L. uliginosus* ne modifie pas de façon fondamentale l'évolution des caractéristiques du sol à cette échelle de temps. La teneur en bases échangeables, le taux de saturation, la capacité d'échange cationique (CEC) et le phosphore assimilable ne sont, en effet, pas affectés. Malgré les augmentations significatives du pH et du carbone total, ces valeurs restent en dessous des seuils de fertilité agronomiques définis par Pouzet *et al.* (1997). Pashanasi *et al.* (1996), à Yurimaguas (Pérou) observent des effets similaires jusqu'à la cinquième récolte et seulement à la sixième ils notent que la diminution du P et du K est stoppée, en présence de vers, alors qu'elle se poursuit en leur absence.

Les résultats montrent que l'utilisation de couvertures végétales permanentes permet de restaurer et de maintenir les populations de la macrofaune du sol. Parmi ces couvertures, le lotier, associé aux vers de terre introduits ont ensemble un effet significatif sur l'augmentation des rendements en matière sèche du maïs, en matière sèche du lotier et en huile essentielle de géranium. Dans le cas du maïs un effet prépondérant de la couverture de lotier est observé tandis que dans la culture du géranium nous avons un effet des vers de terre. Le lotier et les vers de terre agissent sur la population de *Pratylenchus vulnus* en modifiant leur répartition dans les trois compartiments étudiés : le sol, les racines de maïs et les racines de lotier.

DEUXIÈME PARTIE :

**Étude au laboratoire des
interactions entre les vers de terre
et les nématodes phytoparasites**

2.1. INTRODUCTION

Les vers de terre géophages peuvent ingérer de grandes quantités de sol dont ils tirent leur alimentation. Selon une précédente étude de Lavelle *et al.* (1987), les adultes de *Pontoscolex corethrurus* peuvent ingérer par jour une quantité de sol sec équivalente à 2,6 fois leur poids frais, et à 4,2 leur poids frais pour les juvéniles. Dans le cas de l'espèce native des savanes de Côte d'Ivoire *Millsonia anomala* Omodeo, cette valeur peut atteindre 30 chez les juvéniles et 10 chez l'adulte (Lavelle, 1978).

En se référant aux valeurs obtenues pour *P. corethrurus*, et en considérant uniquement la saison humide (6 mois), période où les vers sont les plus actifs, la quantité de sol qui transiterait par le tube digestif des vers de terre retrouvés sous la jachère (232 ind.m⁻²), serait de 108 à 175 kg par m² pour 6 mois et de 6,5 à 10,6 kg.m⁻² sous la couverture de lotier (14 ind.m⁻²). Si on considère la couche de sol arable de 1 m² de surface sur une profondeur de 30 cm cela représente 300 litres de sol, soit avec une densité moyenne de 1,5, un poids sec de sol d'environ 450 kg. D'après les chiffres précédent sur la consommation de sol des vers, il est donc évident qu'environ la moitié de ce sol arable transite par le tube digestif des vers.

On se propose de vérifier au laboratoire, si la diminution de la population de nématodes observée sur le terrain est due à une action directe des vers de terre sur les nématodes lors de leurs passage à travers le tube digestif des vers. Avec les modèles choisis (*Pontoscolex corethrurus-Pratylenchus zae*; *P. corethrurus-Heterodera sacchari* et *Amyntas corticis-H. sacchari*) il s'agit de cibler les stades (œufs, stade infestant, les kystes) susceptibles d'être affectés par le transit intestinal des vers. Les effets de ce passage à travers le tube digestif seront mesurés en étudiant la descendance des nématodes. Les facteurs (tube digestif des vers, microflore du sol, enzymes digestives des vers ou bactériens) qui peuvent entrer en jeu lors de ces mécanismes seront étudiés.

2.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.2.1. Les vers de terre

Les spécimens utilisés des deux espèces de vers de terre, *Pontoscolex corethrurus* et *Amyntas corticis* ont été ramenés de l'île de la Réunion.

P. corethrurus Müller, 1857 est un endogé poly-humique de la famille des Glossoscolecidae. Originaire du plateau Guyanais (Righi, 1974), il est non pigmenté et on le retrouve souvent dans des zones perturbées, aux alentours des villages, dans des pâturages, les cultures, les vergers et les forêts secondaires (Fragoso *et al.*, 1996). Il possède une grande tolérance aux variations physico-chimiques du sol, de température et d'humidité du sol et une forte capacité à assimiler des sols à faible teneur en matière organique (Lavelle *et al.*, 1987).

Il existe peu de données physiologiques sur *A. corticis*. Il fait partie de la famille des Megascolecidae. Originaire de l'Asie de l'Est, Chine, Japon, Corée (Gates, 1972) il est souvent rencontré en moyenne et haute altitude dans les écosystèmes naturels, les cultures, les pâturages, les plantations d'arbres, les jachères, où les températures varient de 13 à 26°C, le pH de 3,9 à 7,5, la matière organique de 2 à 12,6%, l'azote total de 2 à 4‰ et le carbone de 17 à 33% (Fragoso *et al.*, 1996). Il s'agit d'un épi-endogé géophage, pigmenté sur le dos et doté de vifs mouvements.

2.2.2. Les nématodes

Les espèces de nématodes utilisées dans nos expériences sont *Pratylenchus zae* Graham et *Heterodera sacchari* Luc & Merny. Elles ont été choisies pour leur facilité d'élevage en laboratoire.

Pratylenchus zae est un parasite du maïs, du coton, de la canne à sucre et du riz (Fortuner, 1976). La distribution de cet endoparasite migrateur est large: Brésil, Cuba, Inde, Côte d'Ivoire, Nigeria, USA (Ibanez, 1970; Reyes, 1970; Fortuner, 1976; Babatola, 1984). La souche utilisée au laboratoire est originaire du Tchad.

Heterodera sacchari est un endoparasite sédentaire à kyste, décrit comme parasite de la canne à sucre au Congo Brazzaville (Luc & Merny, 1963). Depuis, il a été retrouvé sur canne à sucre au Nigeria (Jerath, 1968), à la Jamaïque (Singh, 1974), au Pakistan (Maqbool, 1981), en Thaïlande (ASEAN, 1987), au Tchad (Reversat & Cadet, 1989) et sur riz, inondé ou pluvial, en Côte d'Ivoire (Merny, 1970) et au Sénégal (Fortuner & Merny, 1973). *H. sacchari* présente de réelles potentialités pathogènes vis à vis de ces deux cultures tropicales, le riz (Babatola, 1983) et la canne à sucre (Salawu, 1988). La souche utilisée en laboratoire est originaire du Congo-Brazzaville. Les expériences concernant *H. sacchari*, seront réalisées avec les kystes et les juvéniles de second stade (stade infestant) appelés J2.

2.2.3. Élevage des vers et des nématodes en laboratoire

- Vers de terre (Lombriciens):

Les vers de terre sont maintenus en vie dans leurs sols d'origines : sol brun pour *P. corethrurus* et andosol pour *A. corticis*. Les vers sont placés dans des boîtes en plastique d'une contenance de 2 litres avec leur sol d'origine. Les boîtes sont ensuite placées dans une étuve à 28°C pour *P. corethrurus* et à 20°C pour *A. corticis*. Une fois par semaine, le sol est humidifié (à la capacité au champ). Tous les quinze jours le sol contenant les vers est remplacé par du sol frais.

- Nématodes :

L'élevage et la multiplication de *P. zae* et *H. sacchari* sont réalisés sur le riz, *Oryza sativa*, cv Morobérékan, sur un mélange de sable de Fontainebleau (granulométrie médiane 200 µm et extrême de 50-300 µm) avec un polymère acrylique rétenteur d'eau (Grain d'eau®) (Reversat *et al.*, 1998) dans un tube PVC de 3 cm de diamètre et de 21 cm de hauteur, soit un volume de 110 cm³, arrosé trois fois par semaine avec 10 ml d'eau déminéralisée et de la solution nutritive de Hoagland, deux fois par semaine (2x10 ml/semaine).

L'ensemble des tubes PVC est placé dans une pièce maintenue à température ambiante de 27°C ±3°C sous un éclairage artificiel constitué par des tubes fluorescents dégageant une intensité lumineuse de 5000 lux durant une période de 12 h par jour, appelé phytotron par la suite (photo 3).

2.2.4. Multiplication des nématodes en microserre

Après les divers traitements réalisés *in vitro* entre les vers de terre et les nématodes, les populations de nématodes sont inoculées sur du riz *Oryza sativa*, cv Morobérékan, cultivé sur du sable dans des tubes en plastique transparent (polystyrène cristal) de 3 cm de diamètre et de 17 cm de hauteur (microserre). Ce tube est en fait constitué de 2 tubes reliés entre eux par un joint élastique en PVC transparent. Une ouverture à la base du tube inférieur permet l'arrosage de la plante avec la solution nutritive d'Hoagland et l'inoculation. Après germination, le riz est repiqué dans le tube inférieur avec le sable et de l'eau déminéralisée. Deux jours après le repiquage les nématodes traités sont inoculés. Ces microserres sont placés sous l'éclairage artificiel comme décrit précédemment (Reversat *et al.*, 1998). Cette technique n'a été employée que pour *Heterodera sacchari* et

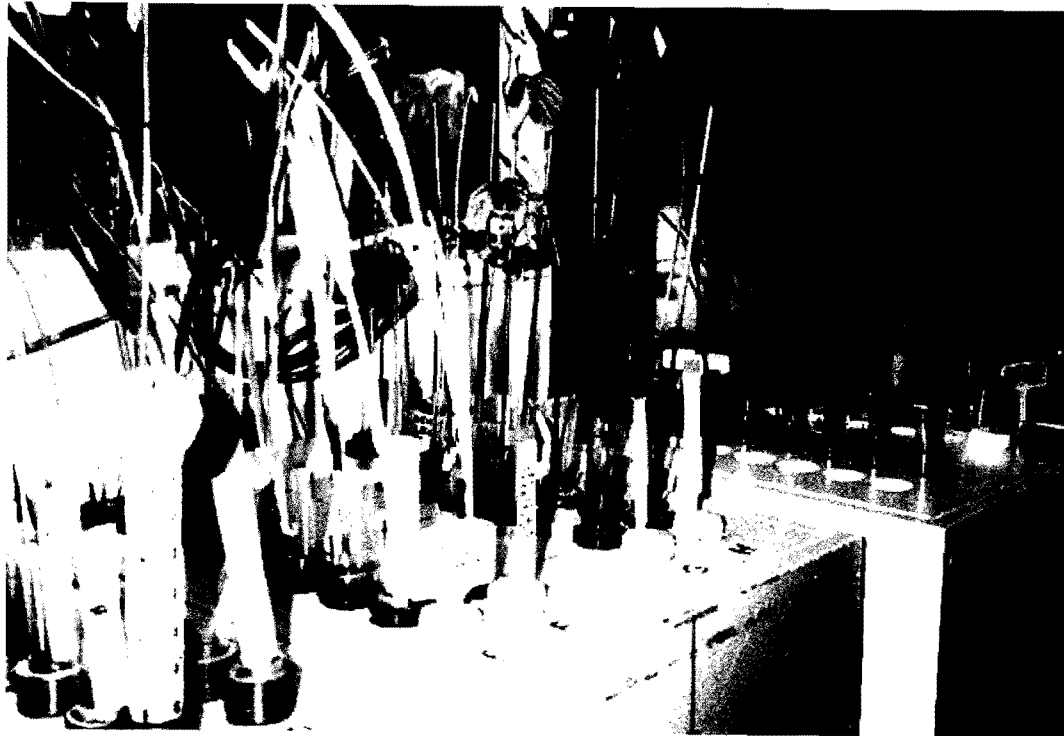


Photo 3 : Elevage des nématodes phytoparasites dans des tubes PVC

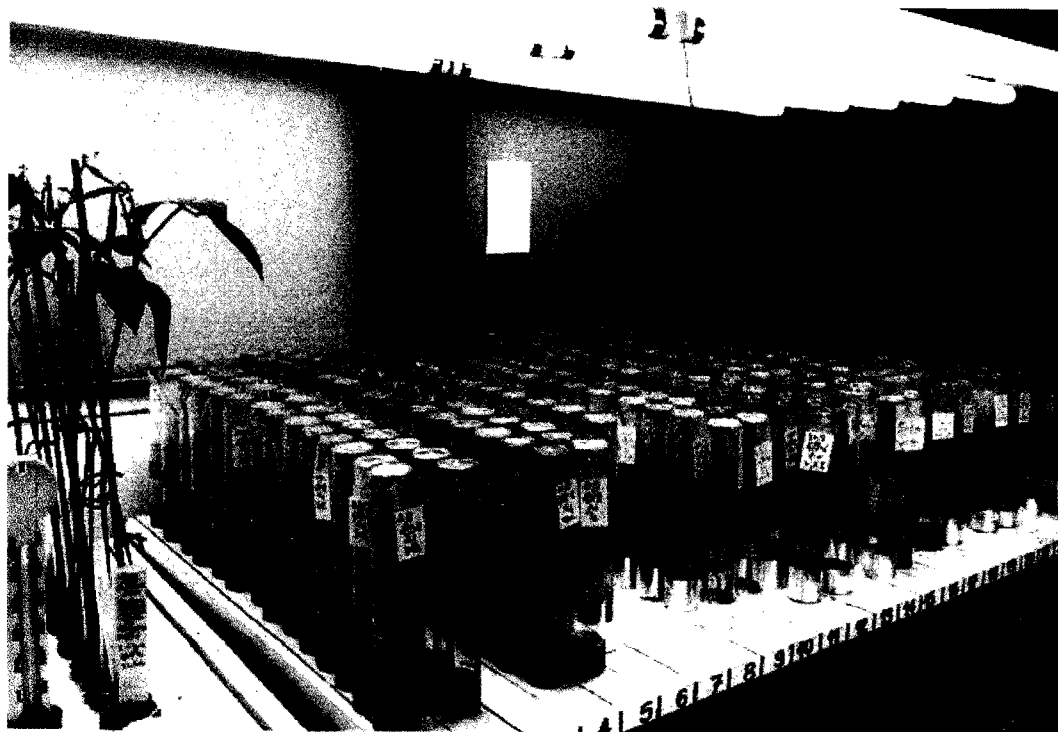


Photo 4 : Microserres pour études des mécanismes d'interactions

par la suite dans chaque expérience réalisée, l'inoculum, ou population initiale, P_i , déposé à l'intérieur de chaque microserre, est constitué de 50 J2 d'*H. sacchari* (photo 4).

Dans le cas d'*H. sacchari* cinq semaines après l'inoculation, le système racinaire du riz et le sable sont récupérés et placés dans une solution de Dropkin (NaCl à 0,3 M) pendant deux semaines afin de permettre le passage du stade de femelle blanche (femelle adulte dont le corps fait saillie hors de la racine) au stade kyste (corps de la femelle morte dont la paroi s'est transformée et contenant des œufs d'où éclore des juvéniles de second stade) (Dropkin *et al.*, 1958; Reversat, 1975). A l'issue de ce temps de maturation, les racines et le sable sont observés à la loupe afin de récupérer tous les kystes, contenant les œufs et les juvéniles, qui représentent la population finale, P_f .

2.2.5. Préparation des extraits de tube digestif des vers de terre

a) Extrait de tube digestif avec son contenu (TDC)

Le ver de terre est disséqué dans une solution de tampon phosphate, pH 6,5 (Urbasek, 1990), le tube digestif avec son contenu est prélevé (après l'oesophage au niveau des glandes de Morren jusqu'au pygidium) puis broyé à l'Ultra-turrax[®] et ensuite centrifugé (20 000 trs mn^{-1} , pendant 10 mn). Le surnageant correspond à l'extrait de tube digestif avec son contenu et sera appelé TDC dans la suite du texte.

b) Extrait de tube digestif seul (TDS)

Le ver de terre est mis à jeûner pendant 48 h dans une boîte de Pétri avec de la laine de cellulose imbibée d'une solution physiologique d'Holtfreter (8,77‰ NaCl, m/v) (Lattaud, 1983) contenant des antibiotiques (Pénicilline G, Colimycine) et un antifongique (Amphotéricyne B). Le ver est ensuite disséqué dans la solution tampon, le tube digestif est ouvert et lavé afin d'enlever le reste de contenu dans le tube digestif. Il est ensuite broyé et centrifugé comme précédemment. Le surnageant correspond à l'extrait de tube digestif seul et sera appelé TDS dans la suite du texte.

2.2.6. Interactions entre *Pontoscolex corethrurus*, *Pratylenchus zaeae* et *Oryza sativa* en pot

Les expériences sont réalisées dans des tubes en plastique de 10,3 cm de hauteur et de 5 cm de diamètre fermé par un grillage inox de 0.25 mm de maille soudé au fond du tube et pouvant contenir 200 g de sol brun stérilisé par congélation.

Pour cela le sol stocké au sec est d'abord humidifié à la capacité au champ, laissé à la température de la pièce pendant 24 h afin de réactiver les organismes en anhydrobiose et ensuite placé au froid à -20°C durant trois jours. Il est ensuite placé à nouveau à la température de la pièce pendant trois jours et recongelé à -20°C pendant trois jours. Après cette stérilisation, le sol est réinoculé avec un extrait aqueux de sol sans nématodes. La stérilisation par le froid présente l'avantage de détruire les nématodes du sol sans altérer la matière organique qui constitue la nourriture essentielle des vers de terre.

Un plant de riz âgé de 5 à 7 jours, est repiqué dans chaque pot. Les pots sont placés sous éclairage artificiel comme décrit précédemment et chaque pot est inoculé avec une population initiale, P_i , de 100 femelles de *P. zaeae*, trois jours après le repiquage du riz. Deux jours après l'inoculation du riz par les nématodes, les vers de terre, pesés individuellement, sont placés dans les pots.

Dix pots sont préparés avec deux vers de terre, dix pots avec trois vers de terre et vingt pots sans vers qui représentent les témoins.

Six semaines après l'inoculation des nématodes, à la fin de la première génération, dix pots avec deux vers de terre et dix pots témoins sont prélevés et traités. De la même manière, douze semaines après l'inoculation des nématodes, à la fin de la seconde génération, dix pots avec trois vers de terre et dix pots témoins sont prélevés et traités.

La partie aérienne du riz est séchée à 85°C pendant 24 h et pesée. La totalité du sol est extraite du pot et les vers de terre s'y trouvant sont prélevés, comptés et pesés. Les nématodes de la totalité du sol sont extraits par la technique des deux flacons (Seinhorst, 1955; voir annexe 1) et mis sur tamis avec du papier filtre durant dix jours. Les nématodes sont ensuite récupérés et comptés. Les nématodes des racines sont extraits en asperseur (Seinhorst, 1950) durant quatre semaines. Les racines sont séchées et pesées comme précédemment. Pour chaque pot, la population finale (P_f) est égale à la somme des populations de nématodes des racines et du sol.

2.2.7. Interactions entre *Pontoscolex corethrurus* et *Heterodera sacchari*

2.2.7.1. Ingestion de kystes, émergence des J2 et évaluation de la population finale des kystes d'*Heterodera sacchari*

Cette expérience a pour but de vérifier que l'ingestion de kystes de nématodes du genre *Heterodera* par *Pontoscolex corethrurus* est possible et d'évaluer les effets éventuels de cette ingestion sur l'émergence ultérieure des J2 à partir des kystes qui ont transité dans le tractus digestif des vers.

Dans une boîte en plastique avec couvercle de 500 ml, garnie de sol brun, deux vers de terre sont placés avec une centaine de kystes. Dans une deuxième boîte, une centaine de kystes est aussi placée dans le même type de sol mais sans ver de terre et correspondent au témoin. Vingt quatre heures après, les turricules se trouvant à la surface du sol sont récupérés et les kystes retrouvés à l'intérieur sont placés individuellement dans des tubes contenant de l'eau afin d'étudier la sortie des J2 sur cinq semaines.

Au terme de cinq semaines, chaque kyste est ouvert et l'ensemble des produits de cette dissection est placé dans du permanganate de potassium (KMnO_4), 4 mM pendant 24 h. Cette substance provoque l'éclosion artificielle des œufs viables d'*H. sacchari* en 24 heures (Reversat, 1981). Puis les J2 vivants et morts, les œufs morts et les coques des œufs vides sont comptés.

2.2.7.2. Action du tube digestif de *Pontoscolex corethrurus* sur les J2 d'*Heterodera sacchari*

Les extraits d'un tube digestif avec contenu (TDC) d'un ver de terre et d'un tube digestif seul (TDS) sont préparés et mis en contact avec les J2 pendant 3 h à 28°C.

Au terme des 3 h de contact, l'ensemble est centrifugé (centrifugeuse à main) 2 fois afin d'enlever les extraits de tube digestif, et 50 J2 de chaque traitement sont inoculés sur riz dans les microserres. Les témoins sont représentés par des J2 ayant séjournés dans de l'eau distillée pendant 3 h à 28°C.

On réalise 10 répétitions pour chacun des cinq traitements suivants: 1) Témoins (nématodes dans l'eau); 2) nématodes avec tube digestif seul (TDS); 3) nématodes avec tube digestif et son contenu (TDC); 4) nématodes dans le tampon phosphate (TpP); 5) nématodes ayant séjourné dans le sol brun humidifié (SB).

2.2.7.3. Action du tube digestif de *Pontoscolex corethrus* sur l'éclosion des œufs d'*Heterodera sacchari*

Après dissection de kystes, une centaine d'œufs sont placées dans une salière avec des extraits de tube digestif avec son contenu (TDC) et de tube digestif seul (TDS) de ver. L'ensemble des salières est placé dans une étuve à 28°C et la cinétique d'éclosion des œufs est réalisée sur 50 jours.

2.2.8. Isolement et dénombrements des bactéries du sol

La démarche initiale a consisté à séparer la microflore du sol en deux groupes : les gram + et les gram -. En fonction du premier résultat ainsi obtenu, une étude plus approfondie de la colonie pouvant jouer un rôle dans les interactions a été réalisée.

L'équivalent de 1 g de sol sec est broyé dans un mortier avec 10 ml d'eau distillée stérilisée, puis par dilution successives au 1/10, amené jusqu'à la dilution finale de 10⁻⁶. Pour chaque dilution intermédiaire, 0,1 ml est ensemencé sur boîte de Pétri (4 répétitions par dilution). Deux milieux sont utilisés pour les bactéries aérobies: un milieu général constitué d'un bouillon nutritif (1 g.l⁻¹) plus de l'agar-agar (7 g.l⁻¹), un milieu pour entérobactéries, milieu BRVG (Bile Red Violet Glucose agar) à 38,5 g.l⁻¹, comportant 2 inhibiteurs (violet de cristal et de la bile). Pour les bactéries anaérobies, un milieu pour lactobacilles (M17) a été utilisé puis un milieu viande-foie (5 g.l⁻¹).

Les milieux bouillon nutritif et BRVG sont incubés en atmosphère normale. Pour le milieu viande-foie, l'anaérobiose est établie en introduisant un système "Gaz Pack" dans la jarre, qui piège l'oxygène de l'air. Les incubations se font à 28°C pendant 5 jours.

Après dissection du ver de terre, le tube digestif est récupéré et ouvert dans 10 ml d'eau distillée et stérilisée afin de récupérer le contenu. On procède ensuite de la même façon que pour le sol pour l'isolement et le dénombrement des bactéries du contenu digestif.

2.2.9. Effets des extraits de tube digestif d'*Amyntas corticis* sur la microflore du sol

Chaque colonie bactérienne apparue sur l'un ou l'autre des milieux de culture est placée séparément dans du tampon phosphate (10 mM, pH 6,50) pendant 1 h avec les

nématodes et ensuite un extrait de tube digestif de ver de terre seul (1 ver *Amyntas corticis*) est ajouté. L'ensemble est placé à 28°C pendant 3 h. A la fin des 3 h, pour chaque traitement, 10 microserres avec à l'intérieur un pied de riz sont inoculés avec 50 J2 traités. L'ensemble des microserres est placé dans le phytotron pendant cinq semaines. Au bout des cinq semaines les racines et le sable de chaque microserre sont mis dans la solution de Dropkin pendant deux semaines. A la fin de ces sept semaines les kystes visibles sont comptés et recueillis.

2.2.10. Effets des inhibiteurs spécifiques de protéases sur le contenu du tube digestif d'*Amyntas corticis*

Quatre types d'inhibiteurs ont été utilisés, chacun spécifique d'une classe de protéases : l'iodoacétamide (Sigma I 6125) qui est un inhibiteur de protéases à thiol, la pepstatine A (Sigma P 4265) inhibiteur des protéases acides, l'AEBSF (4-2 aminoethylbenzene-sulfonyl fluoride, Sigma A 8456) qui inhibe les sérines protéases et l'EDTA (éthylène-diamine tétra-acétique acide) inhibiteur des protéases à métal.

Après dissection et extraction du tube digestif de ver de terre dans du tampon phosphate 10 mM à pH 6,5, les inhibiteurs sont dissous dans cet extrait de tube digestif. Les concentrations finales sont de 1 et 5 mM pour la iodoacétamide et de 1 et 10 mM pour les trois autres inhibiteurs.

Afin de voir si les traitements ont une action létale sur les J2, pour chaque traitement, trois inoculums de 50 J2 sont placés à l'étuve à 28°C pendant 15 jours. Au bout de ces 15 jours ils sont placés dans du KMnO₄, 4 mM pendant 24 h puis les J2 vivants sont comptés. On constate que le KMnO₄ active les J2 survivants sans qu'il soit nécessaire de les soumettre à un stimulus mécanique.

2.2.11. Effets des protéases sur la population de J2 d'*Heterodera sacchari*

Les protéases choisies dans cette expérience sont celles dont les inhibiteurs spécifiques ont eu un effet sur le tube digestif avec son contenu d'*Amyntas corticis* : la trypsine (EC 3.4.21.4., T 8642 de chez Sigma), la chymotrypsine (Type VII Sigma C 3142), la thermolysine et la collagénase. Les tampons et les concentrations des enzymes utilisées sont donnés dans le tableau 15 (Aumann, 1989).

Tableau 15 : Concentrations des enzymes et des tampons utilisés.

Enzymes	Tampons	Concentrations	pH
Trypsine	Tris acétate 50 mM	2 mg.ml ⁻¹	7,6
Trypsine	H ₂ O	2 mg.ml ⁻¹	6
Chymotrypsine	Tris acétate 50 mM	50 U.ml ⁻¹	7,8
Thermolysine	Ca-Na-acétate 50 mM	1 mg.ml ⁻¹	7,5
Thermolysine	Ca-Na-acétate 50 mM	1 mg.ml ⁻¹	6,5
Collagénase	Ca-Na-acétate 50 mM	1 mg.ml ⁻¹	7,5
Collagénase	Ca-Na-acétate 50 mM	1 mg.ml ⁻¹	6,5

En parallèle, le tube digestif d'un ver avec son contenu est placé dans du tampon phosphate 10 mM, pH 6,5 et dans du tampon Tris-acétate 50 mM, pH 7,6. L'ensemble des traitements est mis à l'étuve à 37°C pendant 16 heures (Aumann, 1989). Au terme des 16 heures, les nématodes sont lavés 3 fois par centrifugation (centrifugeuse à main). Un inoculum de 50 J2 est mis dans une microserre avec un plant de riz à raison de 10 répétitions par traitement et cinq semaines après les systèmes racinaires et le sable sont placés dans du Dropkin.

2.2.12. Mise en évidence de la trypsine dans le contenu du tube digestif d'*Amyntas corticis*

Le *N* - Acylarginine ester a été utilisé comme substrat pour la détermination de la trypsine. La réaction est suivie par la titration directe des groupes carboxyl libérés. Schwert et Takenaka (1955) trouvèrent que l'absorption du *N* - benzoyl-L-arginine éthyle ester est plus faible à 253 nm que le *N* - benzoyl-L-arginin esters, par conséquent l'hydrolyse de l'ester peut être suivie par spectrophotométrie. En l'absence de thrombine, plasmine et de kallitreine, cette méthode est spécifique de la trypsine. Le pH optimum de l'hydrolyse est à 8 et la longueur d'onde utilisée, 253,1 nm.

L'activité spécifique est calculé en accord avec la formule suivante :

$$\Delta E \text{ par minute} / 0,359 = \mu\text{moles substrat hydrolysé/minute}$$

avec 0,359 qui est la densité optique pour un volume d'essai de 3,2 ml correspondant à 1 μ mole de substrat/min.

2.2.13. Analyses statistiques utilisées

Les différentes analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel STAVIEW sur ordinateur Macintosh (Feldman *et al.*, 1987). Le test paramétrique utilisé est celui de l'ANOVA (analyse de la variance) aux seuils de probabilité $<0,01 < 0,05 < 0,06 < 0,07 < 0,09 < 0,1$.

Les test non paramétriques utilisés sont les tests U de Mann-Whitney et de Kruskal-Wallis aux seuils de $<0,01 < 0,05$.

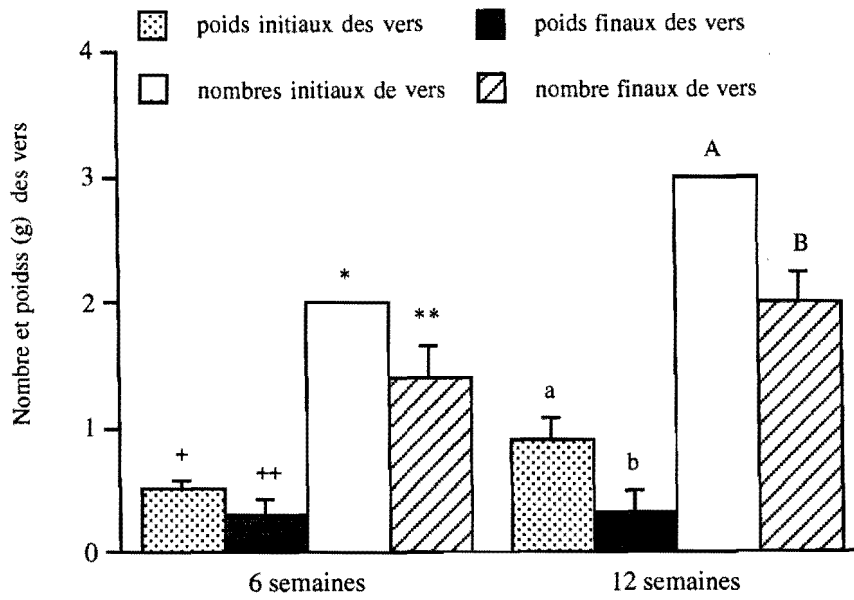


Figure 19 : Introduction de *Pontoscolex corethrurus* dans des pots contenant du riz inoculé par *Pratylenchus zaei*. Nombres et poids moyens (g) des vers de terre au début et à 6 et 12 semaines d'expérimentations. La même lettre ou le même symbole indique la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$). La barre verticale représente l'écart-type.

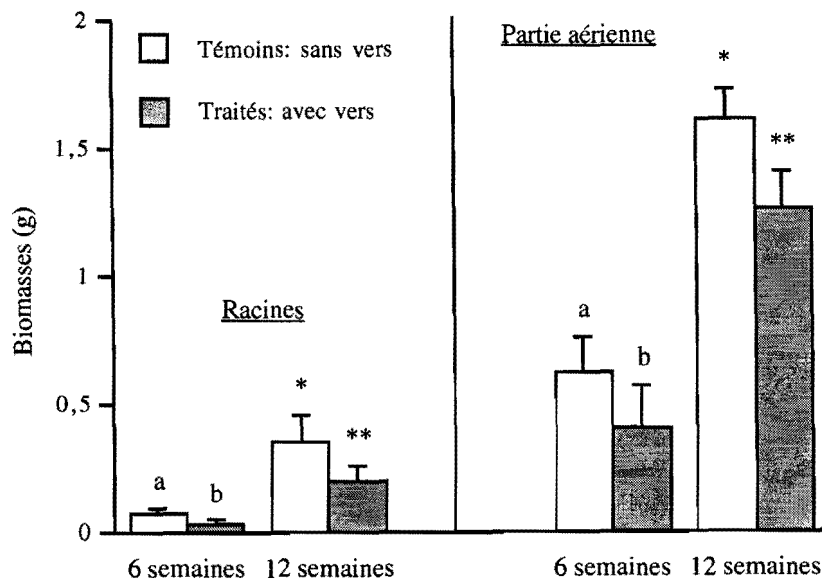


Figure 20 : Introduction de *Pontoscolex corethrurus* dans des pots contenant du riz inoculé par *Pratylenchus zaei*. Biomasses des racines et des partie aériennes du riz à 6 et 12 semaines pour les traités (2 et 3 vers de terre) et les témoins (sans vers de terre). La barre verticale représente l'erreur standard. La même lettre et le même symbole indiquent que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$, moyenne de 10 répétitions).

2.2.13. Analyses statistiques utilisées

Les différentes analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel STAVIEW sur ordinateur Macintosh (Feldman *et al.*, 1987). Le test paramétrique utilisé est celui de l'ANOVA (analyse de la variance) aux seuils de probabilité $<0,01 < 0,05 < 0,06 < 0,07 < 0,09 < 0,1$.

Les test non paramétriques utilisés sont les tests U de Mann-Whitney et de Kruskal-Wallis aux seuils de $<0,01 < 0,05$.

2.3. RÉSULTATS

2.3.1. Interactions entre *Pontoscolex corethrurus*, *Pratylenchus zeae* et *Oryza sativa* en pots

A travers ces expériences nous voulions voir l'évolution d'une population de nématodes inoculée sur du riz dans un sol stérilisé en présence de vers de terre. En parallèle à l'étude de la population des vers et des nématodes, la biomasse de la plante hôte a été mesurée.

a) Variations de la densité et de la biomasse des vers de terre

La biomasse moyenne initiale des vers de terre introduits dans les pots était de 0,26 g par ver pour le traitement avec deux vers de terre. Six semaines plus tard, on ne retrouvait plus que 1,4 ver par pot en moyenne avec un poids moyen de 0,18 g par ver (Figure 19). Le poids moyen initial des vers dans les pots inoculés avec trois vers de terre était de 0,30 g par ver et douze semaines plus tard, on ne retrouvait plus que 2 vers par pot en moyenne avec un poids moyen de 0,18 g par ver. Le poids et le nombre de vers après six et douze semaines sont significativement différents ($P \leq 0,05$) du poids et du nombre initial (Figure 19).

b) Variations de la biomasse de la partie aérienne et des racines du riz

Après six et douze semaines, la biomasse moyenne de la partie aérienne des plants de riz venant des pots témoins est significativement plus élevée que celle des plants de riz venant des pots traités avec deux et trois vers de terre ($P \leq 0,05$) (Figure 20). Le même résultat est observé avec les biomasses racinaires.

c) Variations de la population de nématodes

Six semaines après leur inoculation, le nombre total de nématodes par pot avec vers de terre est significativement plus faible que celui des témoins ($P \leq 0,09$) (Figure 21, verso). Le coefficient moyen de reproduction (Pf/Pi) dans les pots témoins (1,39) est significativement plus élevé ($P \leq 0,09$) que celui retrouvé dans les pots avec vers de terre, (0,86).

Douze semaines après l'inoculation des nématodes, le même résultat est observé et le coefficient moyen de reproduction est de 4,8 par pot pour les témoins contre 2,6 pour les pots avec vers de terre ($P \leq 0,01$) (Figure 21).

Six semaines après inoculation des nématodes, la population est composée de 49% de femelles, 4% de juvéniles de stade 3 et 4 et 47% de juvéniles de stade 2. Douze semaines après l'inoculation de nématodes, les valeurs correspondantes sont de 33% de femelles, 26% de juvéniles 3 et 4 et 41% de juvéniles 2.

=> La présence de vers de terre (*P. corethrurus*) diminue les populations de nématodes (*P. zae*) à la première et deuxième génération.

=> Dans les conditions expérimentales appliquées on observe une diminution dans le temps de la densité et de la biomasse des vers. Parallèlement la biomasse de la plante (racines et parties aériennes) diminue.

2.3.2. Interactions entre *Pontoscolex corethrurus* et *Heterodera sacchari*

Les expériences réalisées dans ce chapitre ont pour objectif de voir si les vers de terre ont une action directe sur les différents stades de développement d'*H. sacchari* (les kystes, les œufs et le stade infestant). On vérifiera si les kystes peuvent être ingérés par les vers et quelles en sont les conséquences. Par l'utilisation d'extraits de tube digestif de vers on s'assurera de son action sur les J2 en étudiant les populations de kystes obtenues et leur contenu à partir des J2 traités.

2.3.2.1. Ingestion des kystes et étude de l'émergence des J2 des kystes d'*Heterodera sacchari*

Vingt quatre heures après la mise en place des kystes et des vers de terre, on observe des turricules à la surface du sol dans la boîte contenant les vers. A l'intérieur des turricules prélevés, 11 kystes sont retrouvés. La présence des kystes dans les turricules prouve qu'ils ont été ingérés par les vers et qu'ils ont transité dans leur tube digestif. Onze kystes sont également prélevés dans le sol de la boîte témoin et les 22 kystes sont placés individuellement dans des tubes en plastique avec de l'eau pour l'étude de l'émergence des J2 contenus dans les kystes pendant cinq semaines.

Le nombre moyen de J2 qui ont émergé au cours des cinq semaines, est de 89 pour les kystes témoins et de 51 pour les kystes ingérés (qui ont transité par le tube digestif des

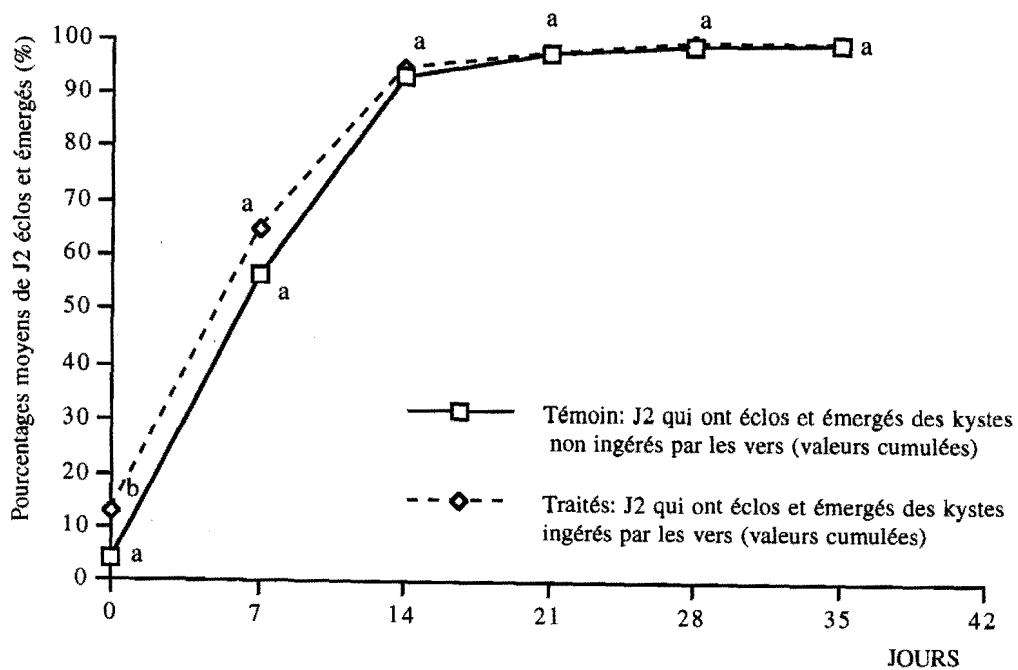


Figure 22 : Pourcentages moyens d'éclosions et de sorties de J2 d'*Heterodera sacchari* des kystes ingérés ou non par *Pontoscolex corethrurus* (moyenne de 11 kystes). Les valeurs données à J0 correspondent aux J2 éclos et sortis des kystes avant leur récupération dans le sol (Témoin) ou dans les turricules de vers de terre (kystes ingérés). La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,09$).

vers). Les différences sont significatives ($P \leq 0,05$). En rapportant ces valeurs au nombre moyen total d'œufs retrouvé dans un kyste cela représente pour les témoins 74,5% et pour les essais 64%. Ces pourcentages ne sont pas significatifs ($P \leq 0,05$) (Tableau 16, page suivante).

L'étude de la cinétique d'éclosion et d'émergence des J2 des kystes montre qu'au cours de la première semaine 56% des J2 ont éclos et ont émergé des kystes témoins contre 65% pour les kystes ingérés par les vers. A la fin de la deuxième semaine, 93% des J2 ont émergé dans les deux traitements. A la fin des quatre semaines 99% des J2 sont sortis aussi bien pour les J2 venant de kystes témoins que pour ceux des kystes ingérés. La différence n'est significative ($P \leq 0,09$) que pour les J2 qui sont sortis avant la récupération des kystes dans le sol et dans les turricules (Figure 22).

2.3.2.2. Évaluation de la population finale par dissection des kystes

La différence entre la somme des J2 qui ont émergé pendant les cinq semaines et les J2 qui ont éclos sous l'action du KMnO_4 , avec le nombre de chorions d'œufs retrouvés, nous donne le nombre de J2 qui ont émergé avant l'expérience (dans le sol et/ou bien dans le tube digestif de ver de terre et/ou dans les turricules). Le nombre total d'œufs est la somme des œufs morts avec le nombre de chorions des œufs.

Le nombre moyen de J2 qui ont émergé des kystes avant les cinq semaines est de 5 pour les kystes ingérés et de 12 pour les kystes témoins. La différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$). Mais rapporté au nombre total d'œufs par kyste, la différence est significative ($P \leq 0,09$) entre les kystes ingérés (4%) et les kystes témoins (13%) (Figure 22, Tableau 16, page suivante).

Le nombre moyen de J2 éclos naturellement (sans l'action du KMnO_4) et qui ont émergé avant et pendant l'expérience est de 94 pour les kystes témoins et de 63 pour les kystes ingérés. La différence est significative ($P \leq 0,06$). Mais rapporté au nombre total d'œufs par kyste, la différence n'est plus significative ($P \leq 0,06$) (Tableau 16, page suivante).

Tableau 16: Évaluation de la population finale du contenu d'un kyste d'*Heterodera sacchari* ingéré par *Pontoscolex corethrurus* (moyenne de 11 kystes). Dans la même ligne, la même lettre qui suit la moyenne pour le nombre et les pourcentages (par rapport au nombre total d'œufs par kyste) indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$; * $P \leq 0,06$; ** $P \leq 0,09$). L'erreur standard est entre parenthèses.

PARAMÈTRES COMPTÉS	KYSTES TÉMOINS		KYSTES INGÉRÉS	
	nombre	%	nombre	%
J2 émergé au cours de l'expérience	89 a	74,5 A	51 b	64 A
(a)	(11,2)	(4,6)	(8,1)	(6,2)
J2 vivants lors de la dissection	19 a	15,5 A	13 a	10 A
(b)	(6,5)	(4,6)	(5,9)	(3,4)
œufs morts	9 a	6,4 A	16 a	12,5 A
(c)	(4,5)	(2,8)	(8,8)	(5,6)
chorions des œufs (d)	113 a	93,6 A	76 a	87,6 A
	(13,6)	(2,8)	(15,2)	(5,6)
PARAMÈTRES CALCULÉS	nombre	%	nombre	%
Total des œufs	122 a	-	92a	-
(e = c + d)	(14,4)		(20,9)	
J2 émergés avant l'expérience	5 a	4 A**	12 a	13 B**
(f = d - [a + b])	(2,9)	(2,3)	(5,8)	(5)
Total J2 émergés	94 a*	78 A	63 b*	77,5 A
(g = a + f)	(11,9)	(4,5)	(10,2)	(6)

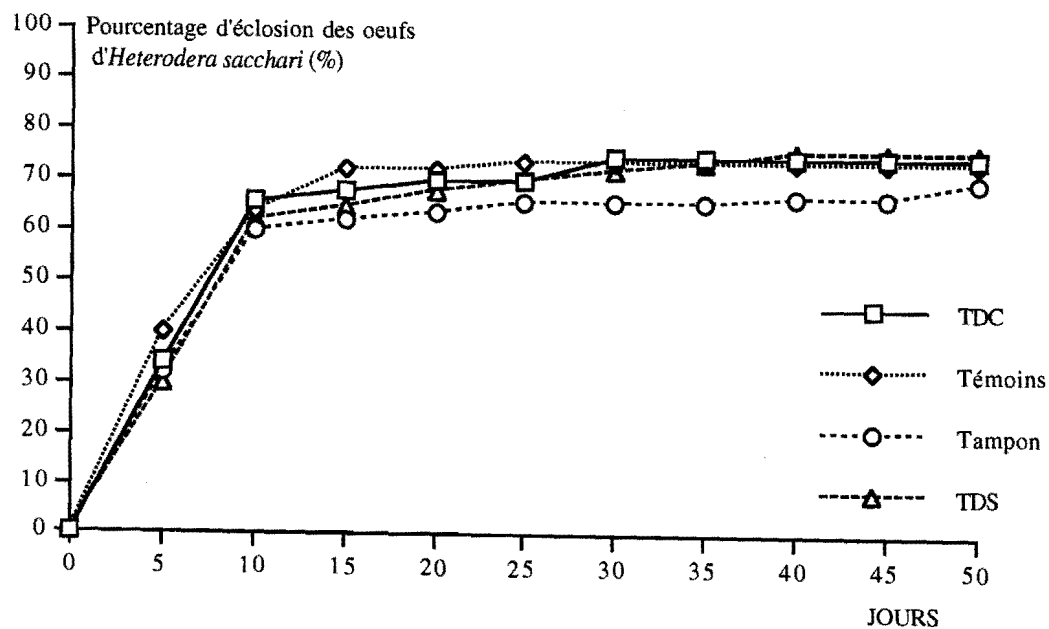


Figure 23 : Cinétique d'éclosion des œufs (en %) d'*Heterodera sacchari* après traitement avec un extrait de tube digestif et de son contenu (TDC) et de tube digestif seul (TDS) de *Pontoscolex corethrurus*.

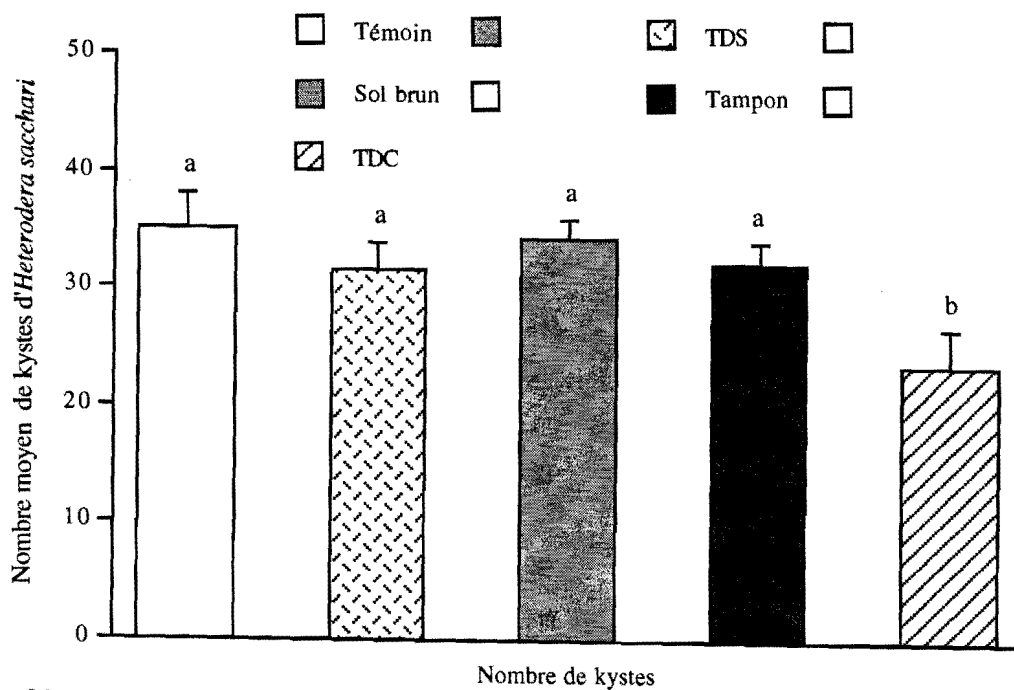


Figure 24 : Nombre moyen de kystes d'*Heterodera sacchari* obtenu cinq semaines après le traitement des J2 d'*H. sacchari* par le tube digestif et son contenu (TDC), par le tube digestif seul (TDS) de *Pontoscolex corethrurus*, par le sol brun et le tampon phosphate. La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$) et la barre verticale représente l'erreur standard (moyenne de 10 répétitions).

=> Les kystes d'*Heterodera sacchari* sont ingérés par le ver *Pontoscolex corethrurus*.

=> En valeur absolue on observe une diminution du nombre de J2 qui émergent des kystes qui ont été ingérés par les vers.

2.3.2.3. Action des extraits de tube digestif (TDC et TDS) de ver (*Pontoscolex corethrurus*) sur l'éclosion des œufs et sur les J2 d'*Heterodera sacchari*

a) Taux d'éclosion des œufs

La cinétique d'éclosion des œufs d'*H. sacchari* montre que le maximum d'éclosion est obtenu au bout de 25 jours (74%) pour les œufs témoins (dans de l'eau) et au bout de 30 jours pour les œufs ayant été traités avec un extrait de tube digestif de *P. corethrurus* associé à son contenu (TDC) (75%). Pour les œufs traités avec le tampon phosphate et avec un extrait de tube digestif seul (TDS) de *P. corethrurus*, le maximum d'éclosion est atteint au bout du 40 jours avec 67% d'éclosion pour le tampon et de 76% pour le TDS. Les différences ne sont pas significatives ($P \leq 0,05$) (Figure 23).

b) Effet sur les J2

Le nombre moyen de kystes obtenus cinq semaines après les traitements, pour un inoculum de 50 J2 inoculés, est de 35,2 pour le témoin, qui représente 70,4% de la population initiale. Pour les J2 qui ont été traités avec l'extrait de tube digestif seul (TDS), le tampon phosphate et un extrait aqueux de sol brun, les valeurs sont respectivement de 31,7 (63,4%), 32 (64%) et 33 (66%). Pour les J2 traités avec l'extrait de tube digestif associé à son contenu (TDC), le nombre moyen de kystes obtenus est de 23,7 soit 47,4% de la population initiale. Le nombre de kystes formés n'est significativement abaissé ($P \leq 0,05$) qu'après le contact des J2 avec le contenu du tube digestif de ver de terre (Figure 24).

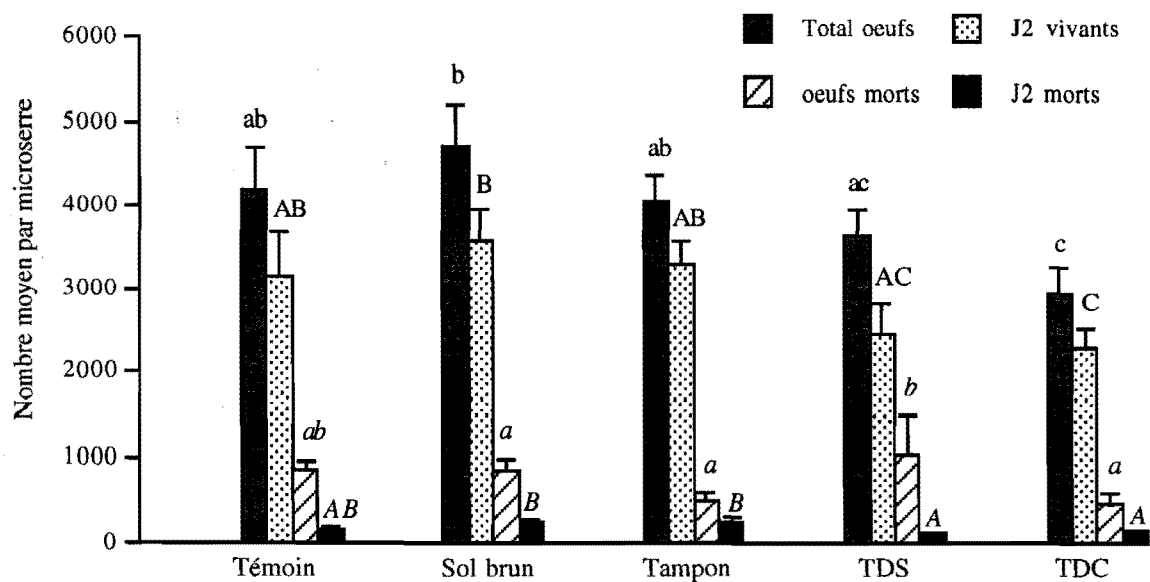


Figure 25: Nombre moyen de J2 vivants, de J2 morts, d'œufs totaux et d'œufs morts par microserre obtenu cinq semaines après le traitement des J2 par des extraits de tube digestif avec contenu (TDC) de tube digestif seul (TDS) de *Pontoscolex corethrurus*, d'extrait aqueux de sol brun et par le tampon phosphate. La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$ et $P \leq 0,09$). La barre verticale représente l'erreur standard.

c) Évaluation de la population finale du contenu d'un kyste

Le nombre moyen de J2 vivants par kyste varie de 77 pour le traitement avec le tube digestif seul (TDS) à 105 pour le tube digestif avec contenu (TDC), le témoin ayant une valeur moyenne de 91 J2 (Tableau 17, page suivante). Les différences ne sont pas significatives ($P \leq 0,05$).

Le nombre moyen d'œufs par kyste varie de 116 pour le tube digestif seul (TDS) à 137 pour les kystes provenant de J2 traités par un extrait aqueux de sol brun. Les différences observées entre les différents traitements ne sont pas significatives ($P \leq 0,05$) (Tableau 17, page suivante).

En comparaison avec les microserres témoins (J2 dans de l'eau), le nombre moyen de J2 vivants et le nombre moyen total d'œufs par microserre diminuent quand les J2 ont été mis en contact avec des extraits de tube digestif avec contenu, cinq semaines plus tôt. Les différences observées sont significatives entre le témoin et le traitement, tube digestif avec contenu pour les J2 vivants ($P \leq 0,09$) et pour le nombre total d'œufs ($P \leq 0,05$) par microserre (Figure 25).

Par rapport aux microserres dont les J2 ont été traités avec un extrait aqueux de sol brun, on observe une diminution significative ($P \leq 0,05$) du nombre total d'œufs, du nombre moyen de J2 vivants et J2 morts dans les cas où les J2 ont été mis en contact avec le TDS et avec le TDC des vers. Une diminution significative ($P \leq 0,05$) du nombre moyen de J2 morts est aussi observée entre les traitements TDS et TDC (Figure 25).

=> Le tube digestif de *Pontoscolex corethrurus* associé à son contenu (TDC) agit sur les J2 d'*Heterodera sacchari* en diminuant la population des kystes cinq semaines après traitements.

=> En comparaison avec les J2 témoins (dans de l'eau), on observe une diminution significative du nombre total d'œufs, du nombre de J2 vivants et du nombre de J2 morts par kyste quand les J2 ont été mis en contact avec un extrait de tube digestif de ver avec son contenu cinq semaines auparavant.

Tableau 17 : Évaluation de la population finale du contenu d'un kyste d'*Heterodera sacchari* (moyenne de 10 répétitions) cinq semaines après le traitement des J2 d'*H. sacchari* par le tube digestif et son contenu (TDC), par le tube digestif seul (TDS) de *Pontoscolex corethrurus*, par un extrait aqueux de sol brun et la solution de tampon phosphate. Dans la même ligne, la même lettre qui suit la moyenne indique que la différence observée n'est pas significative ($P \leq 0,05$). L'erreur standard est entre parenthèses.

	TRAITEMENTS				
	Témoin	Tube digestif seul	Sol Brun	Tampon	Tube digestif contenu
J2 vivants (KMnO₄)	91 a (12,6)	77 a (11,3)	104 a (7,6)	103 a (8,2)	105 a (8,9)
J2 morts (KMnO₄)	5 a (1,5)	5 a (0,5)	7 a (1,1)	8 a (2,3)	7 a (1,1)
œufs morts (KMnO₄)	25 a (2,5)	33 a (12,5)	25 a (3,9)	17 a (3,1)	21 a (3,4)
chorions	97 a (12,5)	83 a (11,4)	112 a (7,8)	111 a (8,7)	113 a (9,4)
Total des œufs	122 a (11,9)	116 a (5,5)	137 a (9,4)	128 a (10,7)	134 a (9,9)
J2 vivants (en % du Total œufs)	72 a (4,6)	67,7 a (9,1)	76,3 a (2,8)	81 a (3,0)	78,8 a (2,2)
J2 vivants (en % des chorions)	93,5 a (1,7)	85,8 a (8,9)	92,9 a (1,2)	93 a (1,9)	93 a (0,9)
J2 morts (en % total des œufs)	5 a (1,2)	4 a (0,4)	6 a (0,9)	6,5 a (1,3)	6 a (0,8)
œufs morts (en % Total des œufs)	23 a (4,1)	25 a (9,3)	18 a (2,4)	13 a (1,8)	15,6 a (2,4)

2.3.3. Action du tube digestif et du contenu de vers de terre (*Amyntas corticis*) sur la microflore du sol

Les précédents résultats ont montré que seule l'association de la paroi du tube digestif des vers avec son contenu (sol ingéré) agissait sur les J2 des nématodes. On se propose donc de vérifier l'action possible de la microflore du sol sur les J2.

2.3.3.1. Analyses microbiologiques

a) Milieux de sélection

Le dénombrement total sur "bouillon nutritif", qui permet la croissance de nombreuses bactéries (répété 4 fois), montre une augmentation significative de la densité moyenne des bactéries dans le sol où vivent les vers et dans le contenu de leur tube digestif. En comparaison avec le sol sans vers de terre (sol témoin), cette densité est 2,3 fois plus élevée dans le sol où vivent les vers et 3,3 fois dans le contenu digestif des vers (Tableau 18).

Tableau 18 : Densités des micro-organismes provenant de suspensions-dilutions du sol témoin (Andosol sans vers), du sol (Andosol) où les vers sont élevés et du contenu digestif d'*Amyntas corticis*,ensemencées sur différents milieux (moyenne de 4 répétitions). La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$).

	Sol sans ver	Sol avec ver	Contenu du tube digestif
Bactéries			
Bouillon Nutritif	7,75 10 ⁵ a	18 10 ⁵ b	25 10 ⁵ c
Milieu VRBG	5333 a	40000 b	6,710 ⁵ c

b) Observation morphologique

L'observation des colonies bactériennes au microscope, directement ou après subculture ne montre pas de différence entre les sols et le contenu digestif. Les milieux de cultures utilisés ne font pas apparaître une microflore morphologiquement différente entre les 3 milieux (sol témoin, sol avec vers et contenu digestif). Les bâtonnets gram+ prédominent (57%). Les entérobactéries représentent 29% des colonies observées et les cocci gram+, 14%.

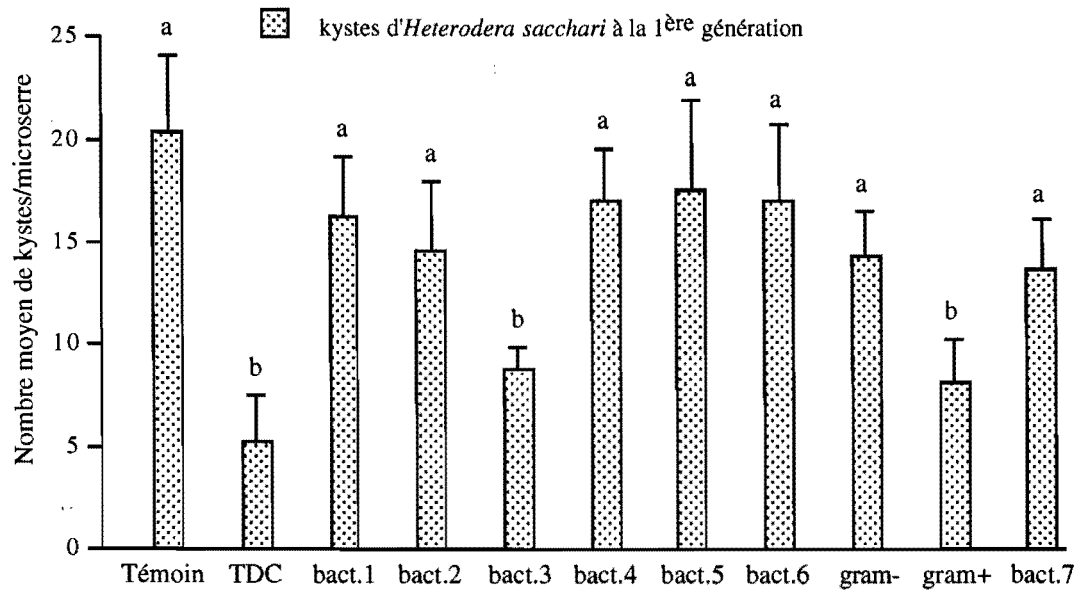


Figure 26: Nombre moyen de kystes d'*Heterodera sacchari* obtenu à la 1^{ère} génération après traitement des J2 d'*Heterodera sacchari* par les colonies bactériennes du sol avec des extraits de tube digestif d'*Amyntas corticis* TDC: tube digestif avec contenu, TDS: tube digestif seul, Témoin: J2 dans de l'eau. La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$) et la barre verticale représente l'erreur standard.

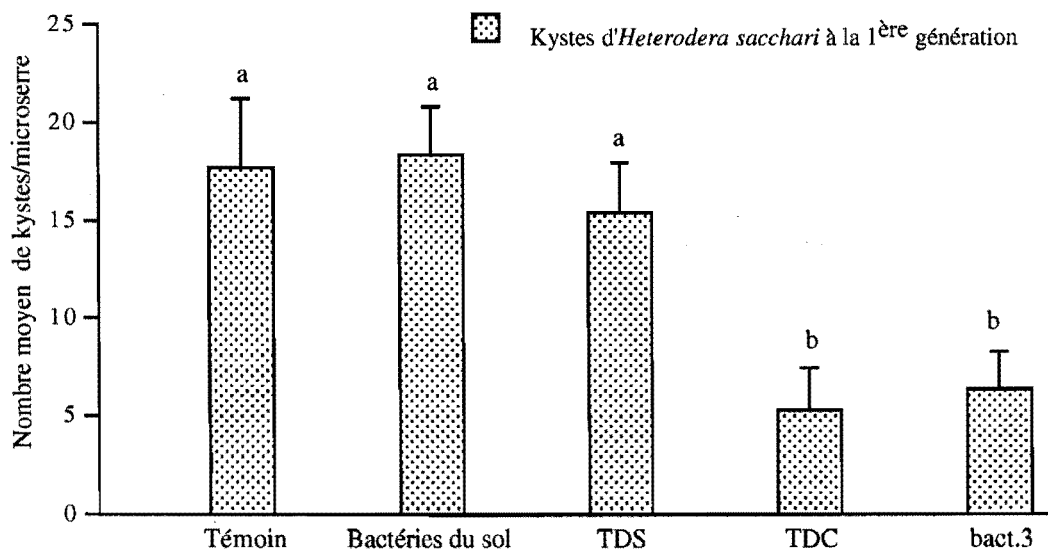


Figure 27: Nombre moyen de kystes d'*Heterodera sacchari* à la 1^{ère} génération après que les J2 aient été mis en contact avec l'ensemble des bactéries du sol non traitée par l'extrait de tube digestif de vers d'*Amyntas corticis* ($n = 9$), de la colonie bactérienne 3 (Bact3 $n = 9$) traitée par l'extrait de tube digestif seul (TDS) d'*A. corticis*, du tube digestif et de son contenu (TDC, $n = 9$) d'*A. corticis*, du tube digestif seul (TDS, $n = 9$) d'*A. corticis* en comparaison avec le témoin (J2 dans de l'eau, $n = 10$). La barre verticale représente l'erreur standard et la même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$).

Sur milieu de bouillon nutritif, on différencie morphologiquement cinq principaux types de colonies bactériennes : une colonie constituée de petit bacilles à gram+, une colonie avec de gros bâtonnets gram+, une à bâtonnets gram+ mobile, une à gros bâtonnets gram+ thermorésistant (10 mn à 90°C) et une colonie constituée de cocci gram+ thermorésistants. Deux colonies bactériennes à bâtonnets gram- ont été isolées sur le milieu BVRG.

Sur le milieu M17 à lactobacille, les colonies qui se sont développées dans les jarres d'anaérobiose (bâtonnets gram+) ont été ensemencées dans des tubes contenant le milieu viande-foie afin d'étudier leur type respiratoire et il s'avère que toutes sont des anaérobies facultatives. Il s'agit de bactéries du genre *Bacillus* (Bergey's, 1986)

2.3.3.2. Effets des extraits de tube digestif de ver (*Amyntas corticis*) sur la microflore du sol

On observe une diminution significative ($P \leq 0,05$) du nombre de kystes dans les traitements où les J2 ont été mis en contact avec la colonie bactérienne 3 (bact.3), avec l'ensemble des colonies bactériennes gram+, traités avec un extrait de tube digestif seul de ver de terre (*Amyntas corticis*) et avec le tube digestif+son contenu, cinq semaines plus tôt (Figure 26).

L'expérience a été répétée en comparant la colonie bactérienne 3 avec le tube digestif et son contenu (TDC), le tube digestif seul (TDS) et l'ensemble des bactéries du sol sans extrait de tube digestif et le témoin (J2 dans de l'eau). On observe une diminution significative ($P \leq 0,05$) du nombre moyen de kystes quand les J2 ont été en contact avec le tube digestif et le contenu de vers, et avec la colonie bactérienne 3 + un extrait de tube digestif seul (Figure 27).

2.3.3.3. Mise en évidence de la colonie bactérienne 3 dans le tube digestif de ver et caractérisation

L'ensemencement du contenu du tube digestif de ver sur milieu Bouillon Nutritif avec 10% de NaCl montre que la colonie bactérienne 3 est retrouvée dans le tube digestif des vers (Tableau 19, page suivante).

Tableau 19: Densités de la colonie bactérienne 3 provenant de suspensions-dilutions du sol (Andosol) sans vers, du sol (Andosol) où les vers sont élevés et du contenu digestif d'*Amyntas corticis* (moyenne de 3 répétitions).

	TRAITEMENTS		
	Sol sans vers	Sol avec vers	Contenu du tube digestif
colonie bactérienne 3	1000 a	20000 a	6 10 ⁵ b

La coloration gram montre que la colonie bactérienne 3 (bact.3) est une colonie coque gram+ . Elle peut être isolée par la chaleur, car elle peut résister pendant 10 min. à 85°C. Elle se développe sur "bouillon nutritif" avec 10% de NaCl et sur milieu de Chapman. Par repiquage sur milieu MEVAG, on note une légère oxydation en surface au bout de quelques jours seulement. Elle est catalase +, oxydase -, nitrate réductase -, gélatine + et caséine +. Dans la suite du texte nous l'appellerons cocci⁺.

=> On observe une action inhibitrice de la microflore du sol sur les J2 d'*H. sacchari*, lorsque cette microflore est mise en contact avec un extrait de tube digestif d'*A. corticis*.

=> Parmi cette microflore la colonie bactérienne coque gram+ est responsable de cette action inhibitrice qui s'exprime par une diminution du nombre de kystes d'*H. sacchari*.

2.3.4. Effets des inhibiteurs spécifiques de protéases sur le contenu du tube digestif de ver de terre (*Amyntas corticis*)

Sous l'action d'extraits de tube digestif seul (TDS) de vers, la microflore du sol agit sur la population de J2 d'*H. sacchari*. On veut voir si la colonie cocci⁺ agit sur les J2 par l'intermédiaire de protéases. On se propose donc d'utiliser des inhibiteurs spécifiques des quatre grandes classes de protéases et de voir, s'ils inhibent l'action du tube digestif de ver associé à son contenu.

A la concentration de 10 mM, la pepstatine A n'inhibe pas l'action du tube digestif du ver+son contenu (TDC) sur la population de J2 et le nombre de kystes obtenu n'est pas significativement différent (P≤ 0,05) du traitement avec le tube digestif+contenu (Tableau 20, page suivante).

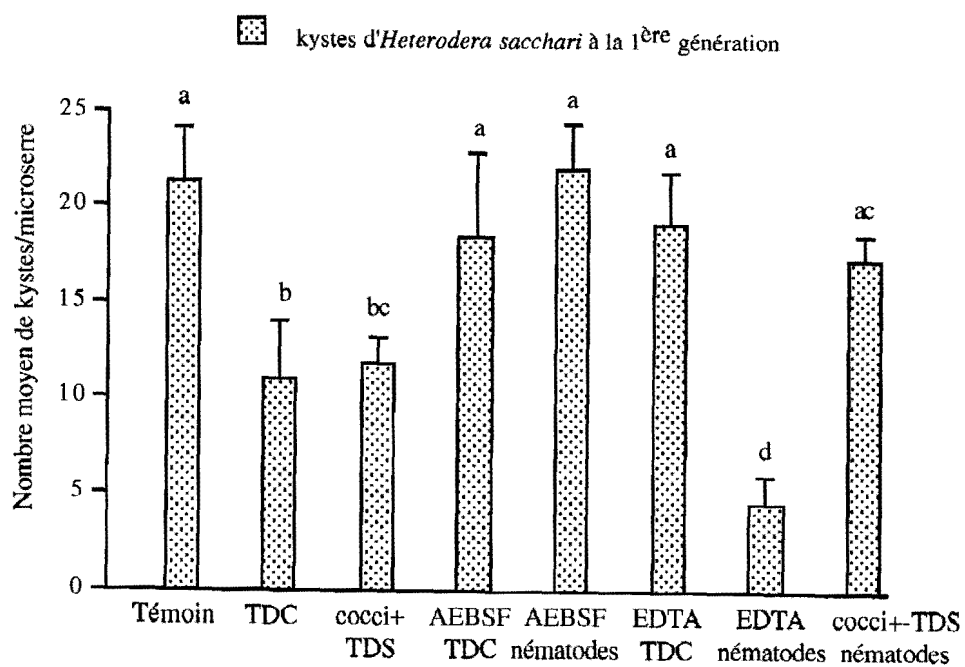


Figure 28 : Effets des inhibiteurs spécifiques sur le tube digestif et son contenu (TDC) d'*Amyntas corticis* et sur les J2 d'*Heterodera sacchari*. La barre verticale représente l'erreur standard. La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,07$).

Tableau 20 : Nombre moyen de kystes obtenu cinq semaines après traitement des J2 d'*Heterodera sacchari* avec la pepstatine A+TDC, pepstatine A+tampon, le tampon phosphate et le tube digestif avec contenu d'*Amyntas corticis*. La même lettre qui suit les moyennes, indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$). L'écart-type est entre les parenthèses.

	TRAITEMENTS				
	Témoins	Tampon	Pepstatine A +Tampon	Pepstatine A +TDC	TDC
Nombre moyen de kystes	28 a (8,2)	22 a (5,2)	23 a (8,0)	14b (7,2)	14 b (5,6)

A la concentration de 1 et 5 mM, on observe une action létale de la iodoacétamide sur les juvéniles J2 d'*H. sacchari*. A la concentration de 10 mM, l'AEBSF agit sur le contenu du tube digestif en inhibant son action sur les juvéniles 2 tout en n'ayant aucune action létale sur les J2 (Figure 28).

L'EDTA inhibe l'action du tube digestif et de son contenu mais l'EDTA agit directement sur les J2 (Figure 28).

Les différents traitements (TDC, TDS-cocci⁺, AEBSF, AEBSF-TDC et AEBSF-TDS-cocci⁺) utilisés, n'ont aucune action létale sur les J2 d'*Heterodera sacchari* (Tableau 21).

Tableau 21 : Effets des traitements sur la survie des juvéniles J2 d'*Heterodera sacchari* au 15^{ème} jour à 28°C dans de l'eau distillée (moyenne de 3 répétitions). La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$). L'erreur standard est entre les parenthèses.

	Témoin	TDC	TDS-cocci ⁺	AEBSF-J2	AEBSF-TDC	AEBSF-TDS cocci ⁺
J2 vivants	44,7 a (6,3)	45,7 a (6,0)	46,7 a (6,8)	47 a (6,5)	45 a (6,3)	42,7 a (6,7)
J2 vivants (%)	89	91	93,3	94	90	85,3

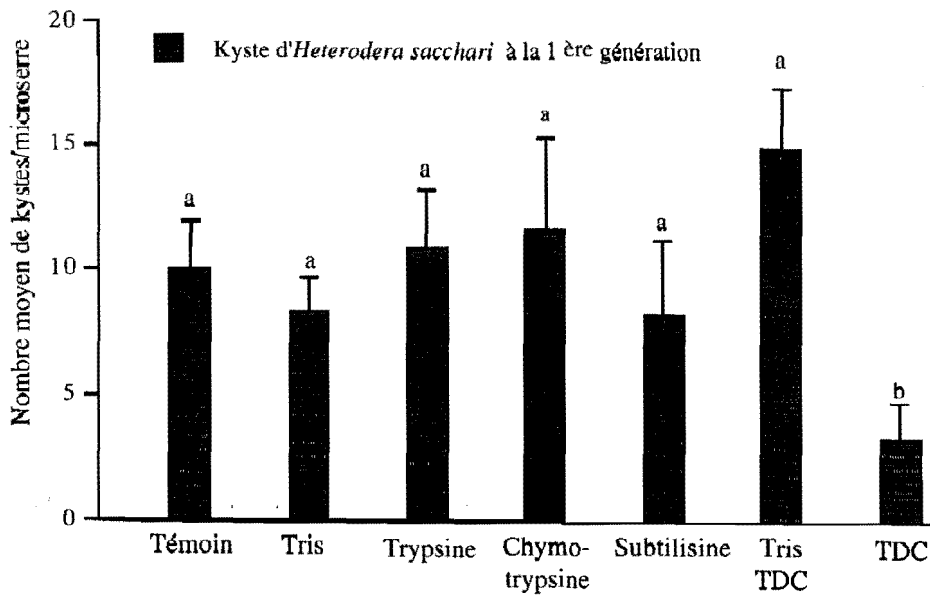


Figure 29 : Nombre moyen de kystes d'*Heterodera sacchari* obtenu à la 1^{ère} génération après traitement des J2 d'*Heterodera sacchari* avec du tampon Tris (Tris), avec le tube digestif de ver et son contenu (TDC) d'*Amyntas corticis*, avec la trypsine, la chymotrypsine et la subtilisine. Pour tous les traitements le nombre de répétitions est de 10 (la barre verticale représente l'erreur standard). La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$).

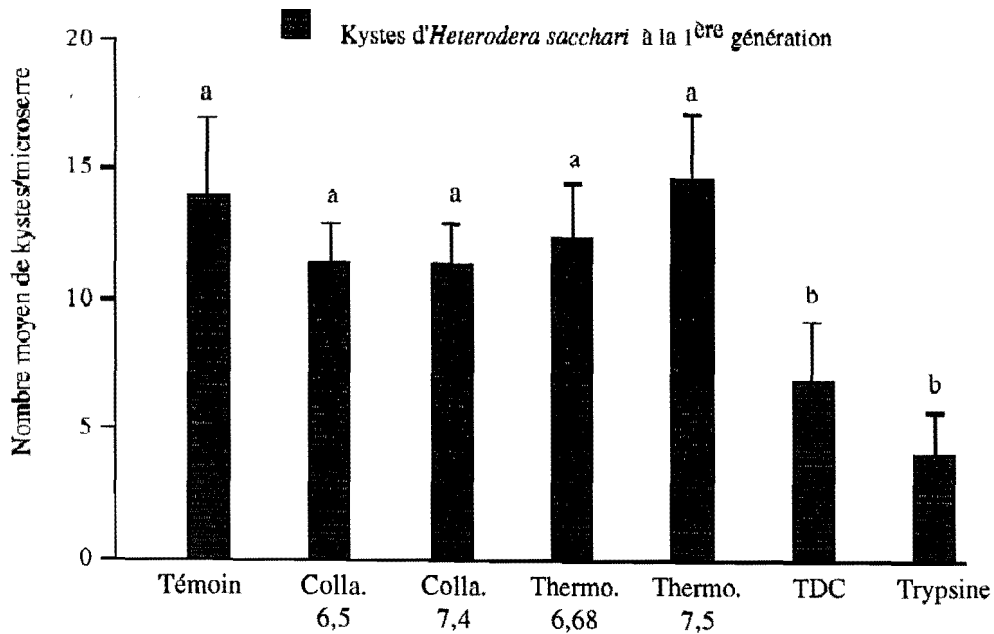


Figure 30 : Nombre moyen de kystes d'*Heterodera sacchari* obtenu à la 1^{ère} génération après traitement des J2 d'*Heterodera sacchari* avec les métalloprotéases (colla. = collagénase à pH 6,5 et 7,4; Thermo. = thermolysine à pH 6,68 et 7,5), la trypsine (pH 6,5) et le tube digestif d'*Amyntas corticis* avec son contenu (TDC). La barre verticale représente l'erreur standard et la même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,09$).

2.3.5. Effets des protéases sur les juvéniles 2 d'*Heterodera sacchari*

L'utilisation d'inhibiteurs spécifiques de protéases a montré que deux classes de protéases peuvent agir sur les J2 d'*H. sacchari* (sérines et métallo-protéases). On se propose de voir les effets directs de certaines de ces protéases sur les J2.

a) La première expérience a été réalisée avec les sérines protéases : la trypsine (2 mg.ml⁻¹ de tampon Tris-acétate pH 7,6), la chymotrypsine (pH 7,8) et la subtilisine (2 mg.ml⁻¹ d'eau distillée, pH 7,5).

Le nombre moyen de kystes obtenu à partir des juvéniles 2 traités est significativement inférieur ($P \leq 0,05$) pour les traitements où les J2 ont été traités avec le tube digestif de vers de terre et son contenu. Il n'existe aucune différence significative entre le témoin et les trois sérines protéases (Figure 29).

Les sérines-protéases n'ont aucune action létale sur les J2 d'*Heterodera sacchari*. Les différences observées ne sont pas significatives ($P \leq 0,05$) (Tableau 22).

Tableau 22 : Nombre de juvéniles 2 d'*Heterodera sacchari* vivants (n= 3) 24 h après les traitements avec les sérines protéases. L'erreur standard est entre parenthèses. La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$).

	Témoins	Trypsine	Chymotrypsine	Subtilisine	TDC	TDC-Tris acétate	Tris-acétate
Nombre de J2	46 a	41 a	41 a	44 a	45 a	45 a	44 a
survivants	(6,1)	(5,5)	(5,6)	(5,6)	(7,0)	(6,3)	(6,3)

b) La seconde expérience a porté sur la thermolysine (pH 6,68 et 7,5), la collagénase (pH 6,5 et 7,4) et la trypsine (2 mg.ml⁻¹ dans de l'eau distillée à pH 6,5).

Par rapport aux témoins (J2 dans de l'eau distillée), on observe une diminution significative ($P \leq 0,09$) du nombre de kystes cinq semaines après que les J2 aient été en contact avec le tube digestif et son contenu (TDC) et avec la trypsine dans de l'eau distillée à pH acide (6,5) (Figure 30).

Le tableau 23 donne le nombre de J2 vivants au bout de 24 heures après avoir été traités par les métalloprotéases et la trypsine. Aucune différence significative n'est observée ($P \leq 0,05$).

Tableau 23 : Nombre moyen de J2 d'*Heterodera sacchari* vivants ($n=3$) 24 h après les traitements avec les métalloprotéases, la trypsine et le tube digestif avec contenu d'*Amyntas corticis*. L'erreur standard est entre parenthèses. La même lettre indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$).

	Témoins	Collagénase 6,5	Collagénase 7,4	Thermolysine 6,68	Thermolysine 7,5	TDC	Trypsine 6,5
Nombre de J2 survivants	45 a (0,4)	46 a (0,7)	42 a (1,4)	40 a (5,9)	46 a (1,5)	45 a (2,5)	44 a (2,8)

Quinze jours après les différents traitements, le nombre moyen de J2 survivants ne sont pas significativement différent ($P \leq 0,05$) en comparaison avec le témoin (Tableau 24).

Tableau 24 : Nombre moyen de juvéniles J2 vivants d'*Heterodera sacchari* au bout de 15 jours après avoir été traité par le tube digestif avec contenu d'*Amyntas corticis*, la thermolysine à pH 6,5 et 7,4; la collagénase à pH 6,5 et 7,5 et la trypsine à pH 6,5. La même lettre après chaque moyenne (5 répétitions) indique que la différence n'est pas significative ($P \leq 0,05$). L'écart-type est entre parenthèses.

	Témoins	Collagénase 6,5	Collagénase 7,4	Thermolysine 6,68	Thermolysine 7,5	TDC	Trypsine
Nombre de J2 survivants	42 a (2,2)	39 a (11,2)	38 a (6,6)	43 a (2,9)	42 a (2,8)	42 a (1,1)	43 a (3,7)

=> A pH acide, la trypsine agit sur les J2 d'*H. sacchari* en diminuant le nombre de kystes cinq semaines après l'inoculation des J2 traités sur le riz.

=> La trypsine n'a aucune action létale sur les J2.

2.3.6. Mise en évidence d'une activité trypsique dans le tube digestif avec son contenu (TDC) d'*Amynthas corticis* et au niveau de la colonie bactérienne coque gram+

Le tableau 25 donne les variations de densités optiques pour 0,5 minutes ($\Delta E/0,5$ min.) obtenues pour le tube digestif avec son contenu (TDC), le tube digestif seul (TDS), les cocci⁺ et les cocci⁺ traités avec un extrait du tube digestif seul (cocci⁺-TDS).

Tableau 25 : Dosage de l'activité de la trypsine dans le tube digestif avec son contenu (TDC), du tube digestif seul (TDS) d'*Amynthas corticis*, des cocci⁺ et de l'extrait de tube digestif seul (TDS) avec les cocci⁺. ΔE correspond à la différence de densité optique /0,5 minutes à 253,1 nm.

TRAITEMENTS											
TDC			TDS			cocci +			cocci + -TDS		
Temps	DO	ΔE	Temps	DO	ΔE	Temps	DO	ΔE	Temps	DO	ΔE
(min.)	(253,1 nm)	(0,5 min.)	(min.)	(253,1 nm)	(0,5 min.)	(min.)	(253,1 nm)	(0,5 min.)	(min.)	(253,1 nm)	(0,5 min.)
0	0,02	-	0	0,03	-	0	0,382	-	0	0,173	-
0,5	0,022	0,002	0,5	0,03	0	0,5	0,383	0,001	0,5	0,174	0,001
1	0,024	0,002	1	0,03	0	1	0,383	0	1	0,174	0
1,5	0,027	0,003	1,5	0,03	0	1,5	0,383	0	1,5	0,174	0
2	0,029	0,002	2	0,03	0	2	0,383	0	2	0,174	0
2,5	0,032	0,003	2,5	0,03	0	2,5	0,384	0,001	2,5	0,174	0
3	0,035	0,003	3	0,031	0	3	0,383	-0,001	3	0,174	0
3,5	0,039	0,004	3,5	0,031	0	3,5	0,383	0	3,5	0,176	0,002
4	0,042	0,003	4	0,031	0	4	0,383	0	4	0,176	0
4,5	0,05	0,008	4,5	0,031	0	4,5	0,383	0	4,5	0,176	0
5	0,053	0,003	5	0,031	0	5	0,382	-0,001	5	0,177	0,001

L'activité spécifique de la trypsine selon les traitements est donnée dans le tableau 26. L'activité de la trypsine Type XII (Sigma) est de 10000-13000 unités BAEE/mg de protéine. Ce qui est équivalent à une activité de 10-13 μ moles/min. Dans le cas du tube digestif de ver avec son contenu cela correspond à une quantité de 90 unités BAEE par mg de trypsine dans un tube digestif de ver. Le tube digestif seul ne montre aucune activité trypsique. Pour les cocci⁺- TDS, de très faibles valeurs sont obtenues.

Tableau 26 : Activité spécifique moyenne de la trypsine dans le tube digestif avec son contenu (TDC) et dans le milieu avec contenant les cocci⁺ avec l'extrait de tube digestif seul (TDS) d'*Amyntas corticis*.

	TRAITEMENTS			
	TDC	TDS	cocci ⁺	TDS-cocci ⁺
moyenne de ΔE /0,5 min.	0,0033	0	0	0,0004
moyenne de ΔE / min.	0,0066	0	0	0,0008
Activité spécifique (μ moles/min./1ml)	0,092	0	0	0,011

2.4. DISCUSSION-CONCLUSIONS

2.4.1. Interactions entre *Pontoscolex corethrurus*, *Pratylenchus zaeae* et *Oryza sativa* en pots

a) Population des vers de terre (Figure 19)

On constate que certains vers inoculés meurent au cours de l'expérience et que le poids moyen des survivants diminue significativement.

La raison la plus vraisemblable qui peut être invoquée est l'insuffisance de la masse de substrat utilisée (200 gr de sol brun). Cette quantité de sol est suffisante pour l'étude des nématodes mais pas pour celle des vers de terre. Toutefois ces conditions avaient été choisies afin qu'une proportion maximale de sol soit ingérée par les vers, de façon à rendre également maximale l'action des vers sur les nématodes. Les bases du calcul s'appuyaient sur les observations de Lavelle *et al.* (1987). En moyenne, un ver ingère chaque jour de 2 (adulte) à 4,2 fois (juvénile) son propre poids de terre (sèche) et il ne "reconsomme" pas ses propres turricules. En prenant une moyenne de 2 fois son poids de terre, avec deux vers d'un poids de 0,5 g, en 6 semaines, la consommation prévue est donc de 42 g soit 21% du sol initial. Avec 3 vers en 12 semaines, cette consommation serait de 126 g, soit 62% du sol initial.

Comme autre mécanisme possible de cette baisse de l'effectif des vers, on peut évoquer l'éventualité d'une action antagoniste des diffusats racinaires de la plante hôte sur le développement des vers de terre. En effet dans le sol, les vers ne sont pas contraints de vivre aussi près de la rhizosphère des plantes cultivées, et une distance faible, même de quelques centimètres, permet vraisemblablement à la microflore du sol d'intervenir sur ce type d'interaction.

A plus grande échelle, plusieurs auteurs ont observé une diminution de la densité de population de ver de terre lorsqu'elle est soit introduite (Gilot, 1997), soit de la population naturelle sous culture annuelle (Decaëns *et al.*, 1994). Derouard *et al.* (1997) observent une diminution de la biomasse des populations introduites d'*Hyperiodrilus africanus* (Eudrilidea) de 80% sous cultures de maïs et de riz.

b) Production végétale (Figure 20)

En présence de ver de terre, Pashanasi *et al.* (1992) observent une différence négative significative au niveau de la biomasse de la plante qui diminue quand la biomasse de ver introduite augmente. La biomasse du témoin (plante cultivée sans vers) est

supérieure à celle des plantes cultivées avec des biomasses de vers croissantes (120, 400 et 800 mg par pot).

On observe également, aussi bien à 6 qu'à 12 semaines que les biomasses racinaires et aériennes des riz cultivés avec vers de terre sont nettement inférieures à celle des témoins sans vers. Ces résultats sont opposés à ceux obtenus par d'autres auteurs. Edwards and Lofty (1980) obtiennent une augmentation du poids des racines en présence de vers de terre différents : *Allolobophora caliginosa*, *Allolobophora chlorotica*, *Lumbricus terrestris*. Van Rhee (1965) note une augmentation de la production de matière sèche totale chez le blé et le trèfle de 111% et 877%.

La diminution de la biomasse racinaire observée dans cette expérience, pourrait être due à une ingestion des radicelles par les vers : ce comportement a déjà été observé chez certaines espèces de vers (Pearce, 1978; Ferriere, 1980; Baylis *et al.*, 1986; Derouard *et al.*, 1997). Les radicelles seraient ingérées accidentellement à cause du volume réduit de substrat. Par diminution des capacités absorbantes du système racinaire, cette altération provoquerait à son tour une diminution de la croissance végétale de la partie racinaire et de la partie aérienne.

c) Influence des vers sur les populations de nématodes (Figure 21)

Dès la 1^{ère} génération (6^{ème} semaine) on observe une diminution des populations de *Pratylenchus zaei* et cette baisse s'accroît à la 2^{ème} génération (12^{ème} semaine). La différence est plus significative à la 2^{ème} génération. Cette différence entre les deux dates d'analyse de la population est due au temps de contact entre les nématodes et les vers. Ce temps de contact plus important augmente la probabilité de rencontre entre les vers et les nématodes. Ces observations confirment celles de Dash *et al.* (1980) qui notent une diminution progressive de la population des nématodes phytoparasites (de 4,9% à 34,9%) en fonction du temps de contact avec le ver (de 1 à 6 semaines).

La diminution des populations de nématodes phytoparasites (espèces indéterminées) en présence de vers de terre rajoutés a été observée par Dash *et al.* (1980), qui l'attribuent à la possibilité pour les vers de terre de se nourrir de matière organique vivante, dont les micro-organismes et les nématodes. Yeates (1981) invoque essentiellement les changements physiques, chimiques et microbiologiques du sol sous l'influence des vers. Senapati (1992) estime ainsi prouvées les potentialités de contrôle biologique des nématodes par les vers, que ce soit par ingestion directe ou par tout autre facteur.

Trois raisons peuvent expliquer cette baisse des populations des nématodes phytoparasites. Elles reprennent et affinent certaines hypothèses mentionnées précédemment.

Tout d'abord les modifications physiques du sol, dues à la présence des vers de terre par ingestion de sol et émission de turricules joueraient un rôle néfaste sur le déplacement des nématodes. Les vers de terre ont un effet sur l'agrégation du sol, par la création de macroagrégats et donc un effet sur la porosité du sol par la mise en place "d'espace vides" (Blanchart, 1990), nuisibles à la continuité de l'espace poral fin dans lequel se déplacent les nématodes. Les réinfestations sont ainsi diminuées.

Ensuite, le passage des nématodes dans le tractus digestif des vers par ingestion passive pourrait altérer leurs aptitudes parasitaires. Cette ingestion passive a pu être montrée de façon aisée dans le cas des kystes d'*Heterodera rostochiensis* (Ellenby, 1945) puisqu'on les retrouve dans les turricules, visibles à l'oeil nu. Ceci est confirmé par les observations faites au cours de ce travail sur l'ingestion passive des kystes d'*H. sacchari* (voir 2.3.2.1.). Lors du transit intestinal, des modifications physiologiques des nématodes pourraient avoir lieu sous l'influence soit des effets mécaniques du sol ingéré, agité par le péristaltisme du tube digestif du ver (passage par le jabot et le gésier des vers), soit d'une attaque de la cuticule ou des organes sensoriels (amphides, phasmides) des nématodes par les enzymes digestifs du ver ou de sa microflore intestinale.

Enfin l'éventuelle consommation de radicelles du riz, évoqué plus haut comme cause possible de la diminution de la biomasse racinaire, priverait les nématodes d'une partie de leur substrat nutritif.

2.4.2. Interactions entre *Pontoscolex corethrurus* et *Heterodera sacchari* et entre *Amyntas corticis* et *H. sacchari*

a) Effet de l'ingestion des kystes d'*Heterodera sacchari* par *Pontoscolex corethrurus* sur l'émergence des juvéniles 2 (Figure 22, Tableau 16)

La présence de kystes dans les turricules de ver de terre montrent que ces derniers sont ingérés par les vers lors de l'ingestion de sol. Le même résultat a été obtenu par Ellenby (1945) pour les kystes d'*H. rostochiensis* avec le ver de terre *Allolobophora longa*.

En valeur absolue on observe moins de J2 qui éclosent et émergent des kystes ingérés. Ce qui représente 77,5% des œufs d'un kyste ingéré pour 78% chez un kyste non ingéré. Ces résultats sont opposés à ceux obtenus par Ellenby (1945) qui observe un

nombre plus important de juvéniles qui sortent des kystes ingérés et retrouvés dans les turricules.

Le passage à travers le tube digestif de *P. corethrurus* n'a aucun effet sur la vitesse d'émergence des J2 des kystes, contrairement aux observations d'Ellenby (1945) qui note que les J2 émergent plus rapidement des kystes ingérés.

Ces résultats différents s'expliquent par les espèces en cause qui ne réagissent certainement pas de la même façon. Dans les expériences d'Ellenby le ver de terre utilisé, est *Allolobophora longa* et le nématode, *H. rostochiensis* Wollenweber. Les résultats obtenus par Ellenby peuvent aussi s'expliquer par l'équipement enzymatique du ver de terre. *A. longa* peut posséder des enzymes (chitinase, N-acetylglucosaminidase) qui pourraient agir sur le chorion des œufs d'*H. rostochiensis*. Au stade de notre étude on peut penser que le système enzymatique du tube digestif de *P. corethrurus* n'active pas l'éclosion et l'émergence des J2 d'*H. sacchari*.

b) Effet du tube digestif de *Pontoscolex corethrurus* sur l'éclosion des œufs et sur les J2 d'*Heterodera sacchari* (Figures 23, 24, 25 et Tableau 17)

Le pourcentage d'éclosion des œufs d'*Heterodera sacchari* n'est pas modifié après traitement par un extrait de tube digestif de ver seul (TDS) ou avec son contenu (TDC). Ces résultats directs confirment ceux obtenus précédemment où par l'observation du nombre de chorions d'œufs nous pouvions dire que le passage à travers le tube digestif de ver de terre n'influe pas sur l'éclosion des œufs à l'intérieur des kystes. Cette absence d'effet sur l'éclosion des œufs peut s'expliquer par l'absence, chez la population *P. corethrurus* de la Réunion, d'enzymes comme les lipases et la chitinase, pouvant agir sur les différentes couches (chitine, lipides) constituant le chorion de l'œuf (Perry & Gaur, 1996). Les travaux de Zhang *et al.* (1993) montrent que la population de *P. corethrurus* du Mexique possède les enzymes capables d'attaquer certains constituants de la chitine (N-acetylglucosamine et la laminarine) de champignon, mais la chitinase elle-même n'a pas été retrouvée. Les travaux de Skujins *et al.* (1965) prouvent que la lyse de la paroi des hyphes de champignons n'est possible que si la chitinase est associée à la β -(1 \rightarrow 3) glucanase. On peut donc penser que la population de *P. corethrurus* originaire de l'île de la Réunion ne possède pas les deux enzymes ou n'en posséderait qu'une seule. Le chorion de l'œuf d'*H. sacchari* pourrait également avoir une composition différente de celle du chorion de l'œuf *Heterodera rostochiensis* et de celle de la paroi des champignons et de ce fait être plus résistante. Cette résistance des œufs d'*H. sacchari* aux agents extérieurs fut observée par Garebedian et Hague (1984). On peut retrouver une autre indication d'une différence entre les propriétés des chorions des deux espèces dans le fait

que les œufs de *G. rostochiensis* sont sensibles aux exsudats de la plante hôte (pomme de terre) alors que ceux d'*H. sacchari* ne le sont pas (canne à sucre) (Garabedian & Hague, 1984).

c) Effet du tube digestif avec son contenu (TDC) et du tube digestif seul (TDS) de *Pontoscolex corethrurus* et d'*Amyntas corticis* sur la population de J2 d'*Heterodera sacchari* et sur la microflore du sol (Tableaux 17, 18, 19; Figures 26, 27)

L'extrait de paroi du tube digestif seul (TDS) de vers de terre (*P. corethrurus* et *A. corticis*) n'a aucun effet sur les J2 d'*H. sacchari*. A l'inverse, l'association de la paroi du tube digestif avec son contenu (sol ingéré) agit sur les J2 d'*H. sacchari* en diminuant leur capacité à donner un nombre normal de kystes. Les J2 traités par l'extrait de tube digestif avec son contenu, donnent au bout de cinq semaines une population moyenne de J2 vivants, de J2 morts et un nombre total d'œufs par microserre qui sont significativement inférieurs à ceux observés pour les J2 non traités (Témoins). Le tube digestif de ver associé à son contenu agit sur les J2 en diminuant leur capacité à donner un nombre de kystes normaux, par contre le nombre d'œufs par kyste est normal.

L'étude du dénombrement sur milieu solide montre une augmentation significative de la microflore du sol dans le tube digestif de vers. La microflore du sol ne montre aucune activité inhibitrice à l'encontre des J2. Mais sous l'effet d'extrait de tube digestif de vers, une colonie bactérienne qui a été isolée agit sur les J2 en diminuant leur capacité à donner un nombre normal de kystes. Cette colonie, coque gram+ est aussi retrouvée dans le tube digestif des vers.

La population bactérienne est activée dans le tube digestif des vers et dans le sol en présence de vers. La densité de micro-organismes rencontrée bien qu'inférieure à celle du tube digestif, reste supérieure à celle du sol témoin, sans vers. Lors du transit intestinal de la microflore du sol, Barois (1987) observe une multiplication par 6 de l'activité respiratoire de la microflore. Le mucus intestinal des vers joue un très grand rôle dans le déclenchement de l'activité microbienne. Il constitue l'apport énergétique indispensable au réveil de la microflore en vie ralentie dans le sol. D'après Martin *et al.* (1987), ce mucus est constitué d'une glycoprotéine et de petites molécules protéiques qui sont rapidement biodégradées au début du transit intestinal. Le rôle de ce mucus est souvent comparé à un déclencheur, "priming effect", au sens de Jenkinson (1966) de l'activité microbienne. La microflore ainsi stimulée se met ensuite à dégrader des macromolécules (cellulose, pigments bruns), et les rend assimilables pour le ver.

L'activation de la microflore des sols lors de son passage dans le tube digestif des vers de terre a été étudiée dans le cadre du mutualisme entre la microflore du sol et les vers, notamment pour dégrader la matière organique (Lavelle *et al.*, 1983; Barois, 1987; 1992; Martin *et al.*, 1987; Martin, 1989). Le mucus intestinal des vers est supposé jouer un rôle prépondérant dans ce système de digestion mutualiste. Selon Martin *et al.* (1987), les vers de terre augmentent l'activité microbienne en leur fournissant sous forme de mucus un substrat facilement métabolisable. La culture de tissus de tube digestif de *Pontoscolex corethrurus* nécessite la présence de la microflore du sol pour dégrader certains substrats tels que la cellulose (Zhang *et al.*, 1993). Ce mutualisme n'est pas retrouvé chez tous les vers. *Polypheretima elongata* par exemple est capable de synthétiser les enzymes nécessaires pour la dégradation la cellulose (Lattaud *et al.*, 1997).

Notre étude montre que le compartiment bactérien du sol est activé par la paroi du tube digestif des vers de terre lors de son ingestion. Parmi cette microflore la colonie coque gram+ qui est retrouvée dans le tube digestif agit sur les J2 d'*H. sacchari* en diminuant leur capacité à pénétrer les racines et à donner une descendance normale.

2.4.3. Actions des inhibiteurs spécifiques de protéases et de la trypsine sur le contenu du tube digestif du ver de terre, *Amyntas corticis* (Tableaux 20, 21, 22, 23, 24, 26; Figures 28, 29,30)

L'inhibition de l'action de la paroi du tube digestif des vers associée à son contenu et à la colonie coque gram+ par l'AEBSF et l'EDTA, prouve que les sérines protéases et les métalloprotéases peuvent agir sur les J2 d'*H. sacchari*. *In vitro*, la seule protéase qui possède une action inhibitrice sur les J2 est la trypsine. Contrairement aux observations d'autres auteurs (Roch *et al.*, 1991; Voburka *et al.*, 1992), aucune action de la trypsine n'est observée à pH basique. Mais au même pH que le tube digestif, (pH 6,5) la trypsine agit sur la population de juvéniles J2 en diminuant significativement le nombre de kystes issus de ces J2.

Le nombre de J2 vivants après le traitement avec la trypsine au bout de vingt quatre heures et de 15 jours, montre que la trypsine n'agit pas sur la viabilité des J2. Cette action intervient plutôt sur les capacités des J2 à pénétrer et à donner une descendance normale. L'utilisation *in vitro* de protéases contre les nématodes ont été étudiée par Galper *et al.* (1990). Ils utilisèrent la collagénase et une protéase extraite de *Streptomyces griseus* pour lutter contre les juvéniles 2 de *Meloidogyne javanica*. Mais ils notent une action létale de ces protéases sur les J2. Une activité collagénolytique a été mise en évidence dans la

partie postérieure du tube digestif d' *Allolobophora caliginosa* par Kaloustian (1981). En se référant aux travaux d'Aumann (1989), on peut penser que la trypsine agit sur les organes sensoriels des nématodes et plus exactement au niveau des sécrétions qui garnissent les amphides et les phasmides. Ces sécrétions jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement de ces organes sensoriels en piégeant les molécules organiques qui constituent des signaux pour elles. Ces mêmes travaux montrent que la trypsine n'a aucune action sur la cuticule des nématodes. La trypsine coupe les protéines au niveau des carboxyles terminaux entre les acides aminés lysine ou arginine qui sont retrouvées dans les glycoprotéines ou dans les mucopolysaccharides jouant un rôle dans les phénomènes de reconnaissance de surface.

Les activités protéasiques chez les vers de terre sont souvent faibles (Urbasek & Pizl, 1991). Voburka *et al.* (1992) mettent en évidence la présence dans le liquide coelomique de *Lumbricus terrestris* d'une activité inhibitrice des sérines protéases contre la trypsine uniquement. La présence d'inhibiteur spécifique de la trypsine chez cette espèce de ver de terre suggère que des excrétions de trypsine ont lieu dans le tube digestif de ver et que son origine est exogène. Les mêmes auteurs montrent que cet inhibiteur n'est pas retrouvé chez *Eisenia fetida*. Dans le liquide coelomique d'*Eisenia fetida andrei*, Roch *et al.* (1991) mettent en évidence trois sérines protéases dont une serait une "trypsine-like" et une autre une "chymotrypsine-like".

Cette diversité de l'équipement enzymatique concernant une protéase particulière est certainement sous l'influence de facteurs tels que l'origine géographique de l'espèce, le type de sol où elle évolue et de ce fait le type de microflore associée. A cela il faut ajouter le type de régime alimentaire du ver et donc sa catégorie écologique (épigée, anécique et endogée).

Une activité "trypsique-like" est retrouvée dans le tube digestif d'*A. corticis* avec le contenu (TDC). Les faibles activités protéasiques obtenues dans le cas de la bactérie cocci gram+ en présence d'extrait de tube digestif seul ne nous permettent pas de dire que cette colonie bactérienne sécrète de la trypsine. Ces faibles valeurs résultent des faibles quantités de matériel biologique utilisées.

Afin de mieux mettre en évidence la présence de la trypsine dans le cas de l'association de la colonie cocci+ et du tube digestif seul de vers (cocci+-TDS), d'autres méthodes d'analyses sont à envisagées, notamment l'électrophorèse à 2 dimensions.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les différentes observations effectuées dans ce travail à partir d'expériences réalisées au champ, à court terme et sans intrants ont permis de déterminer certains effets des vers de terre et des couvertures végétales permanentes sur les populations de nématodes phytoparasites, sur certains paramètres biologiques et chimiques du sol et sur la production végétale dans des systèmes de cultures à l'Ile de la Réunion.

On constate la plupart du temps une forte diminution des effectifs de la faune du sol lors de la mise en culture. C'est particulièrement vrai pour les cultures céréalières (maïs, riz pluvial), sous lesquelles l'essentiel de la faune, particulièrement par les vers de terre, a disparu (Critchley *et al.*, 1979; Dangerfield, 1989). Le travail mécanique du sol, les pesticides (Clement *et al.*, 1991), principalement les nématicides et les fongicides, et l'utilisation de technique qui laissent le sol à nu durant de longues périodes sont particulièrement néfastes à la macrofaune du sol.

Les résultats montrent qu'un contrôle des parasites (nématodes, borer) peut être obtenu par l'utilisation de couverts végétaux permanents et par l'inoculation de vers de terre. L'utilisation des nématicides, toxiques notamment vis à vis des vers de terre (Clement *et al.*, 1991), est une technique à éviter dans la mesure où des méthodes alternatives stimulant les effets des couvertures et des vers contribuent à résoudre ces problèmes parasitaires.

L'étude des populations de macroinvertébrés du sol sous culture de *Pelargonium x asperum* en fonction des différents modes de gestion du sol, montre bien que la pratique la plus appropriée pour régénérer la population de macroinvertébrés est celle de la jachère lorsqu'on la compare à une culture en sol nu et la forêt d'origine. Mais cette pratique est abandonnée car elle présente l'inconvénient d'immobiliser la terre. Les couvertures herbacées permanentes ont des effets bénéfiques contre l'érosion (Bougère, 1988; Perret *et al.*, 1996) et les adventices, permettant une diminution des intrants (Michellon, 1996). Dans notre étude elles ont en outre l'avantage, de maintenir une population conséquente de macroinvertébrés, certes significativement inférieure à celle observée sous la jachère mais significativement supérieure à celle rencontrée sous le sol nu. Parmi ces couvertures, la graminée *Pennisetum clandestinum* et la légumineuse *Lotus uliginosus* semblent les mieux adaptées. Ces résultats sont à relier aux augmentations de rendement obtenues pour les cultures de géranium et de maïs en présence de couverts végétaux (Michellon, 1996). Parmi ces couvertures, la gestion des cultures avec couverture de *L. uliginosus* permet une diminution de l'apport d'azote et les rendements sont meilleurs en comparaison avec ceux obtenus avec le *P. clandestinum* (Michellon, 1996).

Cette étude de la macrofaune était basée sur les modes de gestion des sols (sol nu, couvertures végétales) et a été réalisée une seule fois dans le temps au cours de l'hiver austral qui est la saison sèche. On peut donc penser que les valeurs trouvées sont des valeurs minimales. Il serait judicieux d'étudier l'évolution de cette macrofaune dans le temps au cours de la saison humide afin d'évaluer le niveau maximum atteint des populations et de corrélérer cette éventuelle évolution aux variations climatiques saisonnières, aux modes de gestion des sols et aux rendements de la plante cultivée.

Les effets de la présence de la couverture de lotier et des vers de terre sur les paramètres biologiques du sol et agronomiques ne deviennent significative que lors de l'association des vers avec la couverture. Le maïs semble mieux bénéficier de l'effet de la couverture et de la présence des vers. Le taux d'huile dans les feuilles de géranium est significativement plus élevé. L'augmentation de la production de matière sèche du lotier en présence de ver de terre est plus importante sous géranium que sous maïs. Lors de la mise en place des essais et au moment de l'échantillonnage, il nous était difficile de ne choisir que les jeunes pieds de géranium. Les vieux pieds de géranium produisant moins de feuilles que les jeunes (Michellon, 1996) et l'âge de la plante pouvant représenter un biais dans les résultats, il faudrait travailler sur des parcelles plus homogènes. Le semis de maïs ayant été réalisé tardivement, on peut penser que la production serait plus importante si l'expérience se réalisait en saison chaude et humide.

Séparément les vers de terre et la couverture de *L. uliginosus* diminuent la population de nématodes dans les racines de maïs et de géranium. Cette diminution est significative lorsque les vers sont associés à la couverture. La couverture et les vers de terre agissent sur la population de nématodes en modifiant leur répartition dans les racines de maïs, dans les racines de lotier et dans le sol. Le lotier s'avère donc être une plante hôte attractive pour *Pratylenchus vulnus*.

Pour le maïs, les effets favorables induits par la présence de vers de terre semblent davantage se faire sentir sur la production de matière sèche du maïs (+92%) que sur celle du lotier (+26%). Pour le géranium, on observe l'effet inverse, en présence de vers de terre la production de lotier est augmentée de +90% et l'huile essentielle de géranium de +38%. La différence provient de la quantité de nématodes rencontrée dans les racines de la couverture sous maïs et sous géranium et peut être aussi due à la pathogénie des espèces de nématodes.

Dans la culture du maïs il existe un effet couverture prédominant alors que dans la culture du géranium, avons un effet vers de terre.

Une diminution significative de la population de *Sesamia calamistis* est observée en présence de l'association couverture végétale et vers de terre introduits. L'étude du peuplement de macroinvertébrés du sol montre que sous couverture de lotier âgée de quatre ans il existe une forte population d'Hyménoptères qui sont des prédateurs des stades larvaires du borer.

Suite aux résultats obtenus sur le terrain et aux travaux, il était intéressant pour nous de voir si la diminution de la population de nématodes pouvait s'expliquer par une action directe des vers sur les nématodes. Les difficultés d'élevage et d'obtention du matériel ne permettant pas d'utiliser en laboratoire tous les organismes étudiés sur le terrain, et les conditions de milieu ne pouvant être les mêmes, il a été choisi d'utiliser un modèle qui permette d'étudier les processus en jeu lors du passage des nématodes dans le tube digestif des vers, l'important étant d'être dans des conditions permettant d'isoler ces processus. La possibilité de généraliser les conclusions obtenue avec ce modèle est suggérée par les autres travaux connus sur ce type de processus, mais la répétition de ces expériences avec d'autres organismes permettra de la confirmer.

Amyntas corticis et *Pontoscolex corethrurus* agissent sur le stade libre d'*Heterodera sacchari* qui est représenté par le stade juvénile 2 lorsque ces derniers transitent par le tube digestif des vers. L'effet sur les nématodes se fait sentir sur le nombre de kystes qu'ils sont capables de produire. Les vers stimulent la microflore du sol ingéré et dans ce cas particulier, la colonie bactérienne coque gram⁺ qui a été isolée. Cette colonie bactérienne est activée par le mucus intestinal des vers (Martin *et al.*, 1987). Les expériences *in vitro* montre que seule la trypsine agit sur les J2 d'*H. sacchari* en diminuant leur capacité à produire un nombre normal de kystes. La trypsine n'a aucune action sur la mobilité et la viabilité des J2. Une faible activité tryptique a été mise en évidence dans le tube digestif d'*Amyntas corticis* associé à son contenu (sol ingéré). Vu le site de coupure de la trypsine (au niveau du groupe carboxyle terminal, au niveau des acides aminés arginine ou lysine), on peut penser, comme le montrent les travaux d'Aumann (1989) que la cible de la trypsine est située au niveau des exsudats des amphides, au niveau des glycoprotéines. Afin de confirmer ou d'infirmer ces résultats préliminaires, il est nécessaire d'entreprendre des recherches par d'autres techniques (électrophorèse bidimensionnelle). De même une meilleure connaissance de la biochimie de la colonie bactérienne isolée (milieu de culture adéquate permettant la synthèse de protéase) permettrait de mettre en évidence cette activité protéasique.

Ces résultats permettent donc d'interpréter les expérimentations de terrain en attribuant aux vers une action sur les nématodes par l'intermédiaire de bactéries du sol stimulées par le mucus intestinal. Une diminution de la capacité à produire des kystes expliquerait la diminution du nombre de nématodes *in situ* en présence de vers. Cette action antagoniste des vers à l'encontre des nématodes est à associer, *in situ*, à l'effet attractif des racines du lotier.

PERSPECTIVES

Les perspectives de recherche qui peuvent être abordées portent sur la biologie des sols sous systèmes cultivés. Il s'agit d'étudier l'impact des modes de gestion des cultures (couvertures herbacées, boisées et mortes) sur l'évolution des peuplements de la macrofaune, de la microfaune parasitaire et de la microflore des sols et de dégager des indices pertinents qui seraient corrélés aux indices de production afin de mieux apprécier la notion de fertilité du sol.

Le choix d'une bonne couverture tient compte de sa facilité de mise en place, de gestion (maîtrise de son développement, faible compétition avec la spéculiation principale), de ses performances agronomiques et de sa faible exigence en fertilisants. Mais on doit aussi tenir compte de ses capacités à maintenir une forte densité et une grande diversité en macroinvertébrés du sol, à activer la microflore du sol et en association avec certaines composantes de la faune des sols à lutter contre certains ravageurs et pathogènes des cultures (nématodes, borer...). Cette étude permettrait une meilleure protection phytosanitaire des plantes dans le cadre d'une lutte biologique, en diminuant l'utilisation de pesticides qui ont pour effet secondaire de réduire la macrofaune des sols. Certaines interactions (couvertures-macrofaune, couvertures-microflore, couvertures-parasites, macrofaune-microflore, macrofaune-parasites...) et certains indices biologiques peuvent être déterminés. L'étude des facteurs environnementaux créés par le couvert végétal doit aussi prendre en compte l'aspect quantitative (C/N, N_T, C_T) et qualitative (dégradation enzymatique) de la litière.

Dans le cas où une couverture végétale s'avère être un hôte favorable à une espèce de nématode donnée on doit s'assurer que la charge parasitaire contenue dans ses racines ne représente pas un danger pour la culture qui suit et qui pourrait être plus sensible. L'étude à plus long terme et sur plusieurs cycles culturaux de la population de nématodes, dans les racines de la couverture, les racines de la plante cultivée et dans le sol est nécessaire pour évaluer ce risque.

BIBLIOGRAPHIE

Anderson J.M. & Flanagan P.W. (1989). Biological processes regulating organic matter dynamics in tropical soils. *In* : Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems. Coleman D.C., Oades J.M. and Uehara G. (Eds.), Honolulu, Hawaii, UK: University of Hawaii Press.

Anderson J.M. & Ingram J. (1993). Tropical Soil Biology and Fertility. A handbook of Methods. 2de edition . C.A.B., Oxford: 221p

Armstrong C.S. (1974). "Grasslands Maku" tetraploïd *Lotus* (*Lotus pedunculatus* cav.), *N.Z. Journal of Experimental Agriculture*, 2: 333-338

ASEAN Plant Quarantine Centre and Training Institut (1987). *Heterodera* sp. recorded in Thailand. *Planti News*, 6: 12

Aumann J. (1989). Enzymatic effects on lectin binding to *Heterodera schachtii* (Nematoda: Heteroderidae) males. *Nematologica*, 35: 461-468

Bachelier G. (1978). La faune des sols son écologie et son action. ORSTOM, Initiations-Documentations Techniques, n°38: 391pp

Babatola, J.O. (1983). Pathogenicity of *Heterodera sacchari* on rice. *Nematologia Mediterranea*, 11: 21-25

Babatola, J.O. (1984). Rice nematode problem in Nigeria: their occurrence, distribution and pathogenesis. *Trop Pest Manag.*, 30: 256-265

Barois I. & Lavelle P. (1986). Changes in respiration rate and some physicochemical properties of tropical soil during transit through *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta). *Soil Biol. Biochem.*, 18 (5): 539-541

Barois I. (1987). Interactions entre les Vers de Terre (Oligochaeta) tropicaux géophages et la microflore pour l'exploitation de la matière organique du sol. Thèse, Paris: Publication du Laboratoire de Zoologie de l'ENS: 152p

Barois I (1992). Mucus production and microbial activity in the gut of two species of *Amyntas* (Megascolecidae) from cold and warm tropical climates. *Soil Biol. Biochem.*, 24: 1507 - 1510

Barois I., Verdier B., Kaiser P., Mariotti A., Rangel P. & Lavelle P. (1987). Influence of the tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae) on the fixation and mineralization of nitrogen. *In*: Omodeo P., Bonvicini A.M. (Eds), *On Earthworms* (pp. 151-158). Bologna, Italy: Mucchi

Baylis J.P., Cherrett J.M. & Ford J.B. (1986). A survey of the invertebrates feeding on living clover roots (*Trifolium repens* L.). *Pedobiologia*: 201-208

Bel Hadj Brahim A (1987). Influence des constituants Alumineux et Ferriques non cristallins sur les cycles du carbone et de l'azote dans les sols montagnards acides. Thèse de l'Université de Nancy I

Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology (1986), Vol 2.

Birchfield W. & Antonopoulos A.A. (1976). Scanning electron microscope observations of *Duboscquia penetrans* parasitizing root-knot larvae. *J. Nematol.*, 8: 279-280

- Blanchart E. (1990). Rôle des vers de terre dans la formation et la conservation de la structure des sols de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire). Thèse de l'Université, Rennes I.
- Bolton P.J. & Phillipson J. (1976). Burrowing, feeding, egestion and energy budget of *Allolobophora rosea* (Savigny) (Lumbricidae)- *Ecologia* (Berl.) 23: 225-245
- Borie F. & Zunino H. (1983). Organic matter-phosphorus associations as a sink in P-fixation processes in allophanic soils of Chile. *Soil Biol. Biochem.*, 15: 599-603
- Bouché M.B. (1975). Action de la faune sur les états de la matière organique dans les écosystèmes. In: Kilbertus et al. (Eds), Biodégradation et humification, pp. 157-168. Pierron, Sarreguemines.
- Bougère J. (1988). Aperçu sur l'érodibilité des andosols cultivés à la Réunion. In: CIRAD, 1988: Andosols de l'île de la Réunion. Séminaire de Saint Denis, 24 Mai-1er Juin, p 157-162. CIRAD-CNRS-INRA-ORSTOM-Université
- Boyer J., Michellon R. & Lavelle P. (1996). Characterisation of Macrofauna in *Pelargonium x asperum* plantations with different management options. In *Proceeding of XII International Colloquium on Soil Zoology*, Dublin, 21-26 July, 1996, 236 (Abstr.).
- Brossard M., Lavelle P. & Laurent J.Y. (1996). Digestion of a vertisol by an endogeic earthworm *Polypheretima elongata*, Megascolecidae, increases soil phosphate extractibility. *Eur.J.Soil Biol.*, 32: 107-111
- Brouwers M. (1982). Le milieu physique et les sols de la zone de moyenne altitude de St Paul. Aptitude à la canne à sucre. Document DDA-IRAT: 49p avec annexes et carte morphopédologique au 25000^{ème}
- Brouwers M. (1984). Reconnaissance pédologique de la zone de moyenne altitude de la Saline à St Leu. Aptitude des sols à la culture sous irrigation. Document DDA-IRAT: 27p avec carte morphopédologique au 25000^{ème}
- Brouwers M. & Raunet M. (1981). Inventaire morphopédologique dans les Hauts de la Réunion. Aptitudes agricoles des terres. Etablissement Public Régional, DDA, IRAT: 89p annexes et cartes morphopédologiques au 25000^{ème}
- Brown G., Pashanasi B., Gilot C., Patrón J.C., Senapati B.K., Giri S., Barois I. & Blakemore R.J. (1996). Effects of earthworms on plant growth. In: Conservation of soil fertility in low input agricultural systems of the humid tropics by manipulating earthworm communities. Final Report of Macrofauna Project II: 171p
- Cadet T. (1980). La végétation de l'île de la Réunion. Etude phytoécologique et phytosociologique. Thèse de docteur ès science, Université de la Réunion: 312p
- Cayrol J.C. (1983). Lutte biologique contre les *Meloidogyne* au moyen d'*Arthrobotrys irregularis*. *Revue de Nématol.*, 6: 265-273
- Chapuis L. & Brossard M. (1995). Modifications et stabilité du phosphore échangeable d'un ferralsol ingéré par un ver géophage. C.R.A.S. Paris, t. 320, série II a: 587-592
- Chastel J.M. (1990). La filière géranium. In: Manuel des techniciens du géranium. Edition 1990. Géranium Conseil (APR-CIRAD-SAFER-SPV-SUAD): 11p

Chaussod R. & Nicolardot B (1982). Mesure de la biomasse microbienne dans les sols cultivés. I Approche cinétique et estimation simplifiée du carbone facilement minéralisable. *Rev Ecol Biol Sol* 19: 501-512

Chevalier L. (1979). Structure et évolution du volcan du Piton des Neiges, Ile de la Réunion. Leurs relations avec les structures du bassin des Mascareignes. Thèse de doctorat de 3^{ème} cycle, Université de Nancy I: 83p et annexes

Clements R.O., Murray P.J. & Sturdy R.G. (1991). The impact of 20 years' absence of earthworms and three levels of N fertilizer on a grassland soil environment. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 36: 75-85

Cortez J. & Hameed R. (1988). Effets de la maturation des litières de ray-gras (*Lolium perenne* L.) dans le sol sur leur consommation et leur assimilation par *Lumbricus terrestris* L. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 25 (4): 397-412

Critchley B.R., Cook A.G., Crichley U., Perfect T.J., Russell-Smith A. & Yeadon R. (1979). Effects of bush clearing and soil cultivation on the invertebrate fauna of a forest soil in the humid tropics. *Pedobiologia*, 19: 425-438

Dangerfield J.M. (1989). Abundance, biomasse and diversity of soil macrofauna in savanna woodland and associated managed habitats. *Pedobiologia*, 34: 141-150

Dash M.C., Senapati B.K. & Mishra C.C. (1980). Nematode feeding by tropical earthworms. *Oikos*, 34: 322-325

Davies W.E. (1974). The potentiel of *Lotus* spp. for hill land and wales. *Journal of British Grassland Society* 24 (1): 264-270

Decaëns T., Lavelle P., Jimenez Jaen J.J., Escobar G. & Rippstein G. (1994). Impact of land management on soil macrofauna in the Oriental Llanos of Colombia. *Eur. J. Soil Biol.*, 30(4): 157-168

Decaëns T., Dutoit T. & Alard D. (1997). Earthworm community characteristics during afforestation of abandoned chalk grasslands (Upper Normandy, France). *Eur. J. Soil Biol.*, 33 (1): 1-11

Demarne F. (1989). L'amélioration variétale du "Géranium rosat" (*Pelargonium* sp.) contribution systématique, caryologique, et biochimique. Thèse de l'Université de Paris XI: 250p

Derouard L., Tondoh J., Vilcosqui L. & Lavelle P. (1997). Effects of earthworm introduction on soil processes and plant growth. *Soil Biol. Biochem.*, Vol 29, 3/4: 541-545

Direction de l'Agriculture et de la Forêt (1996). Annuaire de statistique agricole. Données de l'année 1995. Ministère de l'Agriculture et de la Forêt D.A.F. Service de Statistique Agricole. S^t Denis: 58p

Dommergues Y. (1960). La notion de coefficient de minéralisation du carbone dans les sols. *L'Agronomie Tropicale* 1: 54-60

Dropkin V.H., Martin G.C. & Johnson R.W. (1958). Effect of osmotic concentration on hatching of some plant parasitic nematodes. *Nematologica*, 3: 115-126

Duponnois R. & Mateille T. (1996). The *Pasteuria penetrans* helper Bacteria (PHB): Effects of 2 bacterial strains on the relationships between *P. penetrans* and *Meloidogyne incognita*. In *Proceedings of the Third International Nematology. Congress, Gosier, Guadeloupe, July 7-12 1996*, 169 (Abstr.).

Edwards C.A. & Lofty J.R. (1980). Effects of earthworm inoculation upon the root growth of direct drilled cereals. *J. Appl. Ecol.* 17: 533-543

Ellenby C. (1945). Influence of earthworms on larval emergence in the potato-root eelworm, *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. *Annals of Applied Biology*, 31: 332-339

F.A.O.-UNESCO (1981). Agriculture: Horizon 2000, Développement Economique et Social. F.A.O. Pub. Rome 23

Feldman D.S., Hofmann R. Gagnon J. & Simpson J. (1987). Statview II. Abacus concept.

Ferriere G. (1980). Fonctions des lombriciens. VII. Une méthode d'analyse de la matière organique végétale ingérée. *Pedobiologia*, 20: 263-273

Fortuner R. (1976). *Pratylenchus zaei*. C.I.H. Descr. Pl. parasit. Nematodes, Set 6, No. 77

Fortuner R. & Merny G. (1973). Les nématodes parasites des racines associés au riz en Basse-Casamance (Sénégal) et en Gambie. *Cah. ORSTOM, sér. Biol.*, 21: 3-20

Fragoso C., Moreno A., Kanyonyo J. & Rodriguez C. (1996). A survey of tropical earthworms: Taxonomy, Biogeography and Environmental plasticity. In: Conservation of soil fertility in low input agricultural systems of the humid tropics by manipulating earthworm communities. Final Report of Macrofauna Project II: 171p

Fritz (1967). Collection de comportement d'espèces et de variétés fourragères. Rapports annuels IRAT-Réunion: 83-92

Fritz (1968). Collection de comportement d'espèces et de variétés fourragères. Rapports annuels IRAT-Réunion: 163-170

Fritz (1969). Collection de comportement d'espèces et de variétés fourragères. Rapports annuels IRAT-Réunion: 89-95

Galper S., Cohn E., Spiegel Y. & Chet I. (1990). Nematicidal effect of collagen-amended soil and the influence of protease and collagenase. *Fundam. appl. Nematol.*, 13 (1): 67-71

Garabedian S. & Hague N.G. (1984). The effect of weekly exposures to non-volatile nematicides and sugarcane root diffusta on the hatching of *Heterodera sacchari*. *Revue Nématol.* 7 (1): 95-96

Gates G.E. (1972). Burmese earthworms. An introduction to the systematics and biology of Megadrile Oligochaetes with special reference to southeast Asia. *Transactions of the American Philosophical Society. New Series* 62 (7): 326pp

Genere B. (1985). L'altération d'un programme multilocal de recherche agroclimatiques sur la canne à sucre à la Réunion. Thèse de docteur-ingénieur, ENSA Montpellier: 115p

Gense C. (1976). L'altération des roches volcaniques basiques sur la Côte orientale de Madagascar et à la Réunion. Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles, Institut de Géologie, Strasbourg, 176pp

Gilbert J. (1981). Productions fourragères en plein champ à la Réunion-Quantités-Qualités-EDE-Chambre d'Agriculture de la Réunion: 147p

Gilot C. (1994). Effets de l'introduction du ver géophage tropical *Millsonia anomala* Omodeo en systèmes cultivés sur les caractéristiques des sols et la production végétale en moyenne Côte d'Ivoire. Thèse de l'Université Paris VI/INAPG: 159p. + annexes

Gilot C. (1997). Effects of a tropical geophageous earthworm, *M. anomala* (Megascolecidae), on soil characteristics and production of a yam crop in Ivory Coast. *Soil Biol. Biochem.*, 29 (3/4): 353-359

Gilot C., Lavelle P., Blanchart E., Keli J. Kouassi P. & Guillaume G. (1995). Biological activity of soil under rubber plantations in Côte d'Ivoire. *Acta Zool. Fennica* 196: 186-189

Graff O. & Makeschin F. (1983). Influence of earthworm upon nutrient uptake, yield and protein content of plants. In: Grappelli A Tomati U (Ed.), *International symposium on agricultural and environmental prospect in earthworm farming*, (pp. 39-45). Rome

Grassi B. & Rovelli G. (1892). Recherche embriologique sui Cestodi. *Att. Asc. Catania*, 4: 15-108

Greenland D.J. & Szabolcs I. (1994). Soil resilience and sustainable land use. CAB International, Greenland D.J. and Szabolcs I. (Eds.): 561p

Guilluy D. & Perret S. (1991). Effets de couvertures permanentes sur la porosité d'andosols cultivés. Note technique 02/91. CEEMAT-LAGEPHY Réunion: 14p avec annexes

Hargrove W.L. (Eds) (1991). Covercrops for clean water. Ankeny, U.S.A., *Soil and Water Conservation Society*: 198p

Hawn E.J. (1971). Mode of transmission of *Corynebacterium insidiosum* by *Ditylenchus dispasi*. *Journal of Nematology*, 3: 420-421

Ibanez A.R. (1970). *Determinacion de plantas hospederas del nematodo Pratylenchus zaeae*. Graham 1951, bajo condiciones de invernadero. Thesis, Panama Universidad, 33 p

Jenkinson D.S. (1966). The priming Action. *Journal of Applied Radiation Isotopes*. Supplement: 199-208

Jenkinson D. S. (1988). Determination of microbial biomass carbon and nitrogen in soil. In: Advances in nitrogen cycling in agricultural agrosystems. J Wilson (eds) CAB Wallingford UK: 368-386

Jerath M.L. (1968). *Pl. Dis. Reprtr*, 52: 237-239

Joergensen RG (1996). The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass : calibration of the K_{ec} value. *Soil Biol. Biochem.* 28: 25-31

- Jones W.T., Lyttleton J.W. & Clark R.T.J. (1970). *Ibid*, 13: 149-156
- Kaloustian K.V. (1981). A collagenolytic type enzyme from the posterior body wall tissues of the estivating earthworm, *Allolobophora caliginosa* (Savigny). *Comp. Biochem. Physiol.* 68A: 669-672
- Kapetanidis I. & Mirimanoff A. (1970). Influence des conditions écologiques sur la production de terpènes par *Pelargonium x asperum* Ehrh. Ex Willd. 1^{ère} communication: Introduction générale-Etude morphologique et anatomique. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 45: 132-146
- Lal R. & De Vleeschauwer D. (1982). Influence of tillage method and fertilizer application on chemical properties of worm casting in tropical soil. *Soil Till. Research*, 2: 37-52
- Lambert J.P., Boyd A.F. & Brock J.L. (1974). An evaluation of five varieties of *Lotus pedunculatus* Cav. compared with "Grasslands Huia" white clover under grazing at Kaikohe. *N.Z. Journal of Experimental Agriculture*, 2: 359-363
- Lanigan G., Payne A.L. & Frahn J.L. (1976). Origin of toxicity in parasitized annual rye grass (*Lolium rigidum*). *Australian Veterinary Journal*, 52: 244-246
- Lattaud C. (1983). Contrôle du sexe des cellules germinales chez l'Annélides Oligochète *Eisenia fetida f. typica* Sav., Thèse de l'Université Paris VI
- Lattaud C., Zhang B.G., Locati S., Rouland C. & Lavelle P. (1997). Activities of the digestive enzymes in the gut and in tissue culture of a tropical geophagous earthworm, *Polypheretima elongata* (Megascolecidae). *Soil Biol. Biochem.*, 29 (3/4): 335-339
- Lavelle P. (1978). Les vers de terre de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire): peuplements, populations et fonctions dans l'écosystème-Doctoral Thesis, Université Paris VI, Publi. *Lab. Zool. ENS* 12
- Lavelle P. (1983). The soil fauna of tropical savannas. II-The earthworms. In: Bourlière F. (Eds.). *Tropical Savannas*. E.S.P.C., Amsterdam, Netherlands: 485-504
- Lavelle P., Barois I., Cruz I., Fragozo C., Hernandez A., Pineda A. & Rangel P. (1987). Adaptative strategies of *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta), a peregrine geophagous earthworm of the humid tropics. *Biol. Fertil. Soils*, 5: 188-194
- Lavelle P. & Gilot C. (1994). Priming effects of macroorganisms on microflora: a key process of soil fonction? In: ritz K., Dighton J & Giller K. (Eds), Beyond the biomass Wye: Wiley-Sayce publication
- Lavelle P. & Kohlmann B. (1984). Etude quantitative de la macrofaune du sol dans une forêt tropicale humide du Mexique (Bonampak, Chiapas). *Pedobiologia* 27: 377-393
- Lavelle P. Melendez G., Pashanasi B. & Schaefer R. (1992a). Nitrogen mineralization and reorganization in casts of the geophagous tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae). *Biol. Fertil. Soils*, 14: 49-53
- Lavelle P. & Pashanasi B. (1989). Soil macrofauna and land management in Peruvian Amazonia (Yurimaguas, Loreto). *Pedobiologia*, 33: 283-291

Lavelle P., Schaefer R. & Zaidi Z. (1989). Soil ingestion and growth in *Millsonia anomala*, a tropical earthworm, as influenced by the quality of the organic matter ingested. *Pedobiologia*, 33: 379-388

Lavelle P., Spain A.V., Blanchard E., Martin A., Martin S. (1992 b). *The impact of soil fauna on the properties of soils in the humid tropics*. In: S.P.A. Lal R. (Eds), *Myths and Science of Soils of the Tropics* (pp. 157-185). Madison, Wisconsin: SSSA Special Publication.

Lavelle P., Zaidi Z. & Schaefer R. (1983). Interactions between earthworms, soil organic matter and microflora in an African savanna soil. In: Lebrun Ph., André A.M., de Medts A., Gregoire-Wibo C. & Wauthy G. (eds.), *New Trends in Soil biology* (pp 253-259). Louvain-la-Neuve: Dieu-Brichard

Lee K.E. & Ladd J.N. (1984). Some recent advances in soil biology and biochemistry. In: Australian Society of Soil Science (5 eds), *National soils conference*, pp. 83-103. Brisbane.

Lee K.E. (1985). *Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use*. Academic Press: New-York: 411pp

Lopez-Hernandez D., Fardeau J.C. & Lavelle P. (1993). Phosphorus transformations in two P-sorption contrasting tropical soils during transit through *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta). *Soil Biol. Biochem.*, 25(6): 789-792.

Luc M. & Merny G. (1963). *Heterodera sacchari* n.sp. (Nematoda: Tylenchoidea) parasite de la canne à sucre au Congo-Brazaville. *Nematologica*, 9: 31-37

Luc M, Sikora R.A. & Bridge J. (1990). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. C.A.B. International (eds), Wallingford, XVII + 629 pp

Lucas G.B., Sasser J.N. & Kelman A. (1955). The relationship of root-knot nematodes to Granville wilt resistance in tobacco. *Phytopathology*, 45: 537-540

Maqbool M.A. (1981). Occurrence of root-knot and cyst nematodes in Pakistan. *Nematologia Mediterranea*, 9: 211-212

Marban-Mendoza N., Bess Dicklow M. & Zuckerman B.M. (1989). Evaluation of control of *Meloidogyne incognita* and *Nacobbus aberrans* on tomato by two leguminous plants. *Revue Nématol.* 12 (4): 409-412

Marban-Mendoza N., Dicklow M. & Zuckerman B.M. (1992). Control of *Meloidogyne incognita* on tomato by two leguminous plants. *Fundam. appl. Nématol.*, 15 (2): 97-100

Martin A., Cortez J., Barois I. and Lavelle P. (1987). Les mucus intestinaux de ver de terre, moteur de leurs interactions avec la microflore. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, 24: 549-558

Martin A. (1989). Effets des vers de terre tropicaux géophages sur la dynamique de la matière organique du sol dans les savanes tropicales humides. Thèse de l'Université, Paris XI.

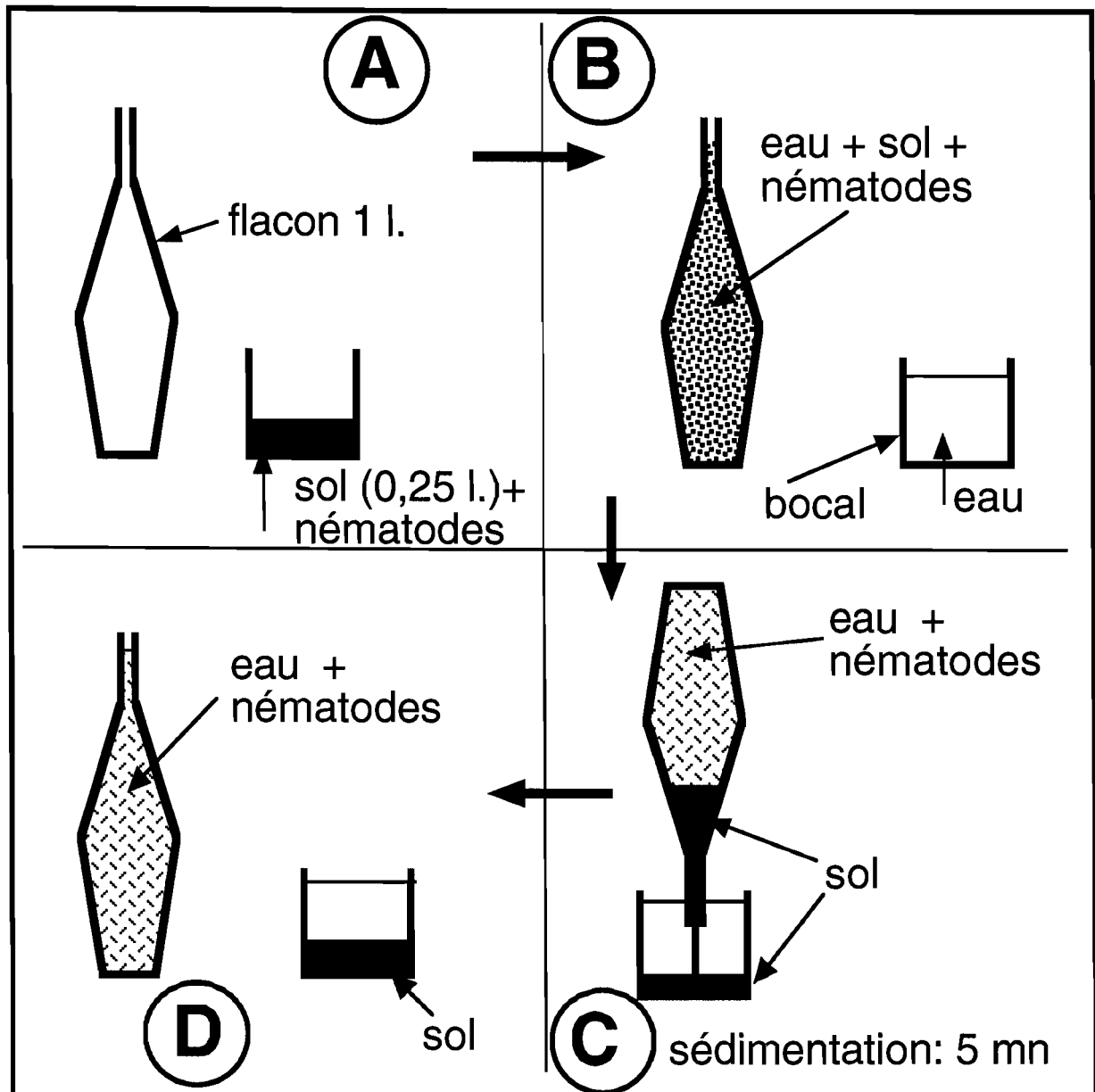
Martin A. (1991). Short-and-long-term effects of the endogeic earthworm *Millsonia anomala* (Omodeo) (Megascolecidae, Oligochaeta) of tropical savannas, on soil organic matter. *Biol. Fertil. of Soils*, 11: 234-238

- Mary B., Fresneau C., Morel J.L. & Mariotti A. (1993). C and N cycling during decomposition of root mucilage, roots and glucose in soil. *Soil Biol. Biochem.* 25 (8): 1005-1014
- Merny G. (1970). Les nématodes phytoparasites des rizières inondées en Côte d'Ivoire. I- Les espèces observées. *Cah. ORSTOM, sér. Biol.*, n°11: 3-43
- Michellon R. (1984). Productions fourragères. Rapport annuel IRAT-Réunion: 127-128
- Michellon R. (1992). Les systèmes de culture. *In: Le géranium à la Réunion.* C.A.H., Saint Denis, Réunion, Graphica: 15-22
- Michellon R. (1996). Modes de gestion écologique des sols et systèmes de culture à base de géranium dans les Hauts de l'Ouest de la Réunion. CIRAD-CA, Rapport N° 47-96: 97 pp
- Michellon R., Dejante P. & Vincent G. (1992). Implantation de couvertures en association avec des cultures vivrières: aspects techniques et économiques. CIRAD-IRAT-Réunion, n°1: 14 pp avec annexes
- Monegat C. (1991). Plantas de cobertura do solo : características e manejo em pequenas propriedades. Chapeco, Brésil, Monegat (Eds.): 337 pp
- Noble J.C., Gordon W.T. & Kleinig C.R. (1970). The influence of earthworms on the development of mats of organic matter under irrigated pastures in Southern Australia. *In: Plant nutrient and soil fertility, Proceeding of the XIth International Grassland Congress*, pp 465-468. Queensland, Australia: Queensland University Press
- Oosthuizen-Joubert L.M. (1986). A study of secretion by the glandular hairs of *Pelargonium radens*. Phd. Univ. of Pretoria, South Africa: 224 pp
- Osman A.A. & Viglierchio D.R. (1988). Efficacy of biologically active agents as nontraditional nematicides for *Meloidogyne javanica*. *Rev. Nématol.*, 11 (1): 93-98
- Pashanasi B., Lavelle P., Alegre J. & Charpentier F. (1996). Effect of the endogeic earthworm *Pontoscolex corethrurus* on soil chemical characteristics and plant growth in a low-input tropical agroecosystem. *Soil Biol. Biochem.*, 28 (6): 801-810
- Pashanasi B, Melendez G., Szott L. & Lavelle P. (1992). Effect of inoculation with the endogeic earthworm *Pontoscolex corethrurus* on soil (Glossoscolecidae) on N availability, soil microbial biomass and the growth of three tropical fruit tree seedlings in a pot experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 24 (12): 1655-1659
- Payet J. (1982). Caractères morphologiques, anatomiques des *Pelargoniums* à feuilles odorantes et essai de classification numérique. Thèse n° 3263, Université Paris-Sud Orsay: 119 pp
- Perret S., Michellon R., Boyer J. & Tassin J. (1996). Soil rehabilitation and erosion control through agro-ecological practices on Reunion Island (French Overseas Territory, Indian Ocean). *Agriculture Ecosystems and Environment*, 59: 149-157
- Perry R.N. & Gaur H.S. (1996). Host plant influences on the hatching of cyst nematodes. *Fundam. appl. Nematol.*, 19 (6): 505-510

- Pearce T.G. (1978). Gut content of some lumbricid earthworms. *Pedobiologia*, 18: 3-157
- Poinar G.O., Jr & Hansen E.C. (1986). Associations between nematodes and bacteria. *Helminthological Abstract (Series B)*, 55: 62-91
- Pouzet D., Chabalier P.F. & Legier P. (1997). Description, Approche critique & Utilisation du système expert d'interprétation des analyses chimiques des sols de la Réunion. CIRAD-Réunion: 97p
- Quantin P. (1972). Les Andosols. Revue bibliographique des connaissances actuelles. Cahiers de l'ORSTOM, série Pédologique, X (3): 273-301
- Quilici S., Vercambre B & Bonnemort C. (1992). Les insectes ravageurs. In: Le géranium rosat à la Réunion, C.A.H. Saint Denis Réunion, Graphica: 79-90
- Rao G.P. & Singh S.B. (1994). Efficacy of geraniol extracted from the essential oil of *Zanthoxylum alatum* as a fungitoxicant and insect repellent. *Sugar cane*, 4: 16-20
- Raunet M. (1988). Carte morphopédologique au 50000^{ème}. Département de la Réunion. CIRAD-IRAT, Conseil Régional de la Réunion: 4 feuilles
- Raunet M. (1991). Le milieu physique et les sols de l'Ile de la Réunion. Conséquences pour la mise en valeur agricole. CIRAD-IRAT/Région Réunion: 438 pp
- Reversat G. (1975). Elevage monoxénique du nématode *Heterodera oryzae* sur le riz. *Ann. Zool.-Ecol. anim.*, 7 (1): 81-89
- Reversat G. (1981). Potassium permanganate as a hatching agent for *Heterodera sacchari*. *Revue Nématol.*, 4: 174-176
- Reversat G. & Cadet P. (1989). Etude des nématodes de la canne à sucre sur le complexe sucrier de Banda-Sarh (Tchad). Pointe Noire, ronéoté: 23 pp
- Reversat G., Boyer J., Sannier C. & Pando-Bahuon A. (1998). Use of a mixture of sand and a water absorbent synthetic polymer as substrate for the xenic cultivation of plant nematodes in the laboratory. *Fund. Appl. Nematol.* (in press)
- Reyes R.D. (1970). Determination de la eficiencia de diferentes variedades de arroz de maíz, como hospederas de *Pratylenchus zaeae*. In : *Progreso de Labores de Investigaciones Agropecuarias*. Panama; Facultad de Agronomía, Panama Universidad: :159-166
- Righi G. (1974). *Pontoscolex* (Oligochaeta, Glossoscolecidae), a new evaluation . *Stud. Neotrop. Faun. Environ.*, 19 (3): 159-177
- Riley I.T. & McKay A.C. (1990). Specificity of the adhesion of some plant pathogenic microorganisms to the cuticle of nematodes in the genus *Anguina* (Nematoda: Anguinidae). *Nematologica*, 35: 90-103
- Riquier J. (1960). Notices sur les cartes pédologiques de reconnaissance, Ile de la Réunion. ORSTOM-IRMS Madagascar, Tananarive: 72 pp
- Riquier J. & Zebrowski C. (1975). Pédologie de la Réunion. In: L'Atlas des D.O.M. La Réunion, planche 10, CNRS-IGN: 4 pp et carte

- Singh N.D. (1974). *Pl. Dis. Repr.*, 58: 122
- Skujins J.J., Potgieter H.J. & Alexander M. (1965). Dissolution of fungal Cell Walls by a Streptomycete Chitinase and β - (1 \rightarrow 3) Glucanase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 111: 358-364
- Springett J.A & Syers J.K. (1979). The effect of earthworm casts on ryegrass seedlings. *In: Second Australian conference on grassland invertebrate ecology*, Wellington: Crosby TK and Pottinger RP.: 44-47
- Stynes B.A., Petterson D.S., Lloyd J. Payne A.L. & Lanigan G.W. (1979). The production of toxin in annual rye grass, *Lolium rigidum* infected with a nematode, *Anguina* sp. and *Corynebacterium rathayi*. *Australian Journal of Agriculture Research*, 30: 201-209
- Swift M.J. & Lavelle P. (1987). *Processus Biologiques et Fertilité des Sols Tropicaux (TSBF)-Biology International*, Special Issue 14: 1-52
- Swift M.J. (1994). Maintaining the biological status of soil: a key to sustainable land management. Greeland D.J., Szabolcs I (Eds). *In: Soil resilience and sustainable land use*. Budapest, CAB International: 291-308
- Tokumasu S. (1970). Comparison of anther and pollen development between male-sterile tetraploids in *Pelargonium roseum*. *Japan J. Breeding*, 20(4): 211-218
- Urbásek F. (1990). Cellulase activity in the gut of some earthworms. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 27 (1): 21-28
- Urbásek F. & Pizl V. (1991). Activity of digestive enzymes in the gut of five earthworm species (Oligochaeta; Lumbricidae). *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 28 (4): 461-468
- Van Rhee J.A. (1965). Earthworm activity in plant growth in artificial cultures. *Plant Soil* 22: 45-48.
- Voburka Z., Mares M., Vetvicka V., Bilej M. Baudys M. & Fusek M. (1992). New trypsin inhibitors are present in the coelomic fluid of the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Biochemistry International*, 27 (4): 679-685
- Yeates G.W. (1981). Soil nematode population depressed in the presence of earthworms. *Pedobiologia*, 22: 191-195
- Yoshida T. (1961). Physiological and ecological studies on the secretory function of essential oil in *Pelargonium* species. *Special Bull. N°2, Coll. Agri. Ehime Univ.*: 82 pp
- Zebrowski C. (1975). Etude d'une climatoséquence dans l'île de la Réunion. *Cahiers ORSTOM, série Pédologique*, XIII (3-4): 255-278
- Zhang B.G., Rouland C., Lattaud C. & Lavelle P. (1993). Activity and origin of digestive enzymes in gut of the tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus*. *Eur. J. Soil Biol.*, 29: 7-11

ANNEXES



Annexe 1 :Extraction des nématodes du sol par une adaptation simplifiée de la méthode des deux flacons de Seinhorst (1955).

A) Matériel: Flacon en verre de 1 litre* et échantillon de sol de 0,25 litre contenant les nématodes (* Bouteille d'eau minérale de 1 litre de marque Perrier)

B) Mise en suspension: L'échantillon de sol est introduit dans le flacon avec de l'eau et le mélange constitué par l'eau, le sol et les nématodes est homogénéisé par renversement.

C) Sédimentation: Le flacon est renversé sur un bocal contenant de l'eau. Le sol sédimente rapidement dans le bocal tandis que les nématodes restent en suspension dans l'eau du flacon.

D) Résultat: Le flacon contient la plupart (environ 80%) des nématodes de l'échantillon en suspension dans l'eau avec quelques impuretés comme de l'argile et de la matière organique. Le bocal contient le sol avec un minimum (environ 20%) de nématodes résiduels.

E) Seconde extraction: Ce sol extrait déjà une fois est extrait une deuxième fois selon le même processus en quatre temps, A, B, C et D avec un second flacon, afin de récupérer le maximum de nématodes ($80\% + 80\% \text{ de } 20\% = 96\%$ dans les deux flacons). Les contenus (eau+nématodes) des deux flacons sont ensuite réunis et tamisés sur une batterie de trois tamis en toile d'acier inoxydable à maille de 50 microns (diamètre 200 mm), qui retiennent les nématodes et laissent passer l'argile. Les nématodes recueillis sur ces tamis sont ensuite purifiés par passage actif sur un filtre de cellulose placé sur un tamis rigide dans une boîte de Petri pleine d'eau, qui retient la matière organique, et laisse passer les nématodes.

Annexe 2:

Rapports de la biomasse aérienne à la biomasse racinaire pour le lotier et le maïs (moyennes de 40 répétitions). Dans la même ligne, la même lettre indique que les différences ne sont pas significatives ($P \leq 0,05$).

	MODALITÉS EXPÉRIMENTALES			
	maïs-sol nu	maïs-sol nu +vers	maïs-lotier	maïs-lotier +vers
A/R (maïs)	14.1 a	15.2 a	14.4 a	15.9 a
A/R (lotier)	-	-	2,1 a	3.2 b

Annexe 3 :

Calculs de la biomasse des vers de terre (*Amyntas corticis*) disparue des parcelles de maïs et de la quantité d'azote apportée par les tissus des vers morts.

	MODALITÉS EXPÉRIMENTALES	
	maïs-sol nu +vers	maïs-lotier +vers
Biomasse inoculée et existante (g.m^{-2})	96,2	84,2
Biomasse retrouvée (g.m^{-2})	6,9	8,7
Différences (g.m^{-2})	-89,3	-75,5
Poids sec (7,5% poids vif)	6,7	5,7
Teneur en N (9%) (g/m^2)	0,6	0,5

Annexe 4 :

Calculs de la biomasse des vers de terre (*Amyntas corticis*) disparus et de la quantité d'azote apportée par les tissus des vers morts dans les parcelles de géranium.

MODALITÉS EXPÉRIMENTALES		
	géranium -sol nu + vers	géranium-lotier +vers
Biomasse inoculée (g.m ⁻²)	91,28	85,9
Biomasse retrouvée (g.m ⁻²)	1,11	5,5
Différences (g.m ⁻²)	-90,17	-80,4
Poids sec (7,5% poids vif)	6,76	6,03
Teneur en N (9%) (g/m ²)	0,6	0,5

RÉSUMÉ

A la Réunion, par manque de terre cultivable, la pratique de la jachère arborée a été abandonnée et la fertilité des sols n'est plus assurée. L'utilisation de couvertures herbacées sous culture, permet de mettre en place des systèmes agricoles durables et d'améliorer les rendements de la production. D'autres méthodes qui favorisent les processus biologiques de fertilité des sols sont testés afin d'augmenter la productivité et la durabilité de l'agriculture. Elles cherchent à utiliser au mieux les ressources disponibles, intrants chimiques, résidus organiques, et à stimuler l'activité de la faune du sol. Une attention particulière est portée aux vers de terre parce qu'ils dominent dans les écosystèmes naturels tropicaux et qu'il est possible de manipuler leurs populations. On peut aussi se demander si cette augmentation de la fertilité des sols ne résulterait pas d'une action antagoniste des vers de terre et des couvertures herbacées permanentes à l'encontre des nématodes phytoparasites.

En comparaison avec une jachère arborée (2118 ind.m⁻²), l'étude de la macrofaune des sols montre que l'utilisation de diverses couvertures végétales permanentes permet de maintenir une population moyenne de la macrofaune sous culture de géranium (*Pelargonium x asperum*). Parmi ces couvertures, le *Lotus uliginosus* (lotier velu) semble la plus adaptée (1405 ind.m⁻²).

Les effets de l'activité du ver, *Amyntas corticis* (Oligochaeta) et de la couverture de *L. uliginosus* ont été mesurés sur certains paramètres biologiques et chimiques du sol et sur les populations de nématodes endoparasites des plantes ainsi que sur la production de maïs et d'huile essentielle de géranium.

A court terme, en hiver austral et sans intrants, la présence de la couverture de *L. uliginosus* permet de maintenir la population de vers de terre au même niveau que celui rencontré sous la même couverture âgée de quatre ans. En comparaison avec une culture sur sol nu, l'association de cette couverture et de l'introduction de vers augmente significativement la biomasse (maïs: +35%; géranium: +16%) et l'activité respiratoire (maïs: +37%; géranium: +32%) de la microflore du sol, la production de matière sèche du maïs (+92%), la production d'huile essentielle de géranium (+38%) et la production de matière sèche de lotier (+26% sous maïs et +90% sous géranium). En parallèle, la population de *Pratylenchus vulnus*, nématode endoparasite, est significativement diminuée dans les racines de maïs (-50% en présence de l'association du lotier avec les vers de terre).

Les expériences au laboratoire montrent que le transit à travers le tube digestif des vers de terre perturbe les capacités physiologiques des nématodes à donner une descendance normale. Ces perturbations sont sous l'effet direct d'une microflore du sol antagoniste, qui est activée lors de son passage dans le tube digestif des vers. Une colonie responsable des ces modifications a été isolée. Une protéase responsable de cet effet a été identifiée.

MOTS-CLES: Macrofaune, vers de terre, nématodes, microflore, couvertures végétales, lotier, maïs, géranium, enzymes, protéases, Ile de la Réunion.