

Université de Neuchâtel

993<sup>993</sup>  
Faculté des Sciences

Institut de zoologie

**Contribution à l'étude  
de la biologie  
d'un parasite de la carotte**

*«Le nematode à kyste, heterodera carotae (Jones)»*

Thèse réalisée par

**Vincent Aubert**

Neuchâtel 1986

**Contribution à l'étude  
de la biologie  
d'un parasite de la carotte**

*«Le nematode à kyste, heterodera carotae (Jones)»*

UNIVERSITE DE NEUCHÂTEL

FACULTE DES SCIENCES

INSTITUT DE ZOOLOGIE

Directeur : Professeur A. Aschlimann

---

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA BIOLOGIE

D'UN PARASITE DE LA CAROTTE :

LE NEMATODE A KYSTE, HETERODERA CAROTAE (JONES)

THESE

réalisée à la Station Fédérale de Recherches Agronomiques

de Changins sur Nyon (VD)

et présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel

pour l'obtention du grade de docteur ès sciences

par

V i n c e n t A U B E R T.

licencié ès sciences orientation biologie de l'Université de Neuchâtel

Originaire de Savagnier (Neuchâtel)

Neuchâtel

1986

# IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

Contribution à l'étude de la biologie d'un  
parasite de la carotte: le Nématode à kyste,  
*Heterodera caretæ* (Jones)

de Monsieur Vincent Aubert

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL  
FACULTÉ DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel,  
sur le rapport des membres du jury,

Messieurs A. Aeschlimann, R. Vallotton  
(Changins), W. Matthey et M. Luc (Paris)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 16 février 1987

Le doyen:

François Sigrist

A Mireille

En qui j'ai trouvé, tout au long de ce travail,  
plus qu'un soutien accompagné d'une admirable  
patience et compréhension.

Bien sûr, il y a de la finalité dans la nature  
puisque'il y en a dans l'esprit de l'homme, mais  
le problème est de savoir si la nature peut  
"finaliser" sans passer par un cortex cérébral.

Jean Roatand

Au Professeur André AESCHLIMANN

Directeur de l'Institut de Zoologie  
de l'Université de Neuchâtel

Qui a bien voulu me faire l'honneur de présider cette thèse. Vos cours si dynamiques ainsi que votre passion pour la parasitologie ont fait naître en moi un très vif intérêt pour ce domaine de la biologie. Votre chaleur humaine, vos nombreuses relations et votre volonté de "gagnant" sont autant de qualités qui méritent d'être soulignées. Veuillez trouver, cher Professeur Aeschlimann, dans ces quelques lignes le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur Michel LUC

Inspecteur Général de Recherche à l'Office de  
Recherche Scientifique et Technique d'Outre Mer  
à Paris

A qui je dois la découverte des nématodes phytoparasites. J'ai eu la chance de pouvoir m'initier, lors d'un stage dans votre laboratoire, à cette branche quelque peu originale de la parasitologie. Grâce à l'éventail de vos connaissances et à votre volonté de les faire partager, cette période fut une expérience d'une richesse extraordinaire. Je tiens à vous exprimer, cher M. Luc, l'expression de ma sincère gratitude.

**Au Docteur Roland VALLOTTON**

Responsable de la section Nématologie de la Station  
Fédérale de Recherches Agronomique de Changins

A qui je dois le sujet de cette thèse et qui a permis  
la réalisation de ce travail dans le cadre de la Station  
de Changins. Je vous prie de recevoir, M. Vallotton,  
l'expression de mes profonds remerciements pour votre  
présence, vos critiques et conseils tout au long de  
ce travail.

**Au Professeur Willy MATHEY**

Professeur d'Ecologie Animale et d'Entomologie à  
l'Université de Neuchâtel

Qui a bien voulu accepter de faire partie du Jury  
de thèse. Par vos vastes connaissances en matière de  
faune du sol vous apportez ici la note bienvenue  
du "généraliste".

Un grand merci également au personnel de la section Météorologie de la Station de Changins : M. J.-J. Perrier pour son aide et ses précieux conseils pratiques, Mlle. G. Bovay et Mme. G. Kissling pour leur collaboration.

Je n'aimerais pas oublier la section Météorologie pour l'enregistrement des données météo ( température du sol ) et en particulier M. J. de Siebenthal pour son aide technique et son soutien lors de la programmation des résultats avec l'ordinateur.

Finalement, je tiens à remercier le Directeur de la RAC, M. Alexandre Vez qui a bien voulu m'accueillir dans ses murs pour la réalisation de ce travail.

Je tiens également à remercier M. le Dr. E. Heas, responsable du laboratoire de microscopie électronique de l'Institut de Zoologie de l'Université de Neuchâtel pour avoir gracieusement mis à ma disposition les différents appareils.

Enfin il me faut aussi remercier le Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique. Sans son appui financier durant trois ans, ce travail n'aurait pas pu avoir lieu. ( Subside No 3.365-0.82 )

## TABLE DES MATIERES

<b>A. <u>INTRODUCTION</u></b>	5
1. HISTORIQUE ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE	6
2. IMPORTANCE AGRONOMIQUE	7
2.1. Nature des dégâts, aspect phénologique	8
2.2. Moyens de lutte	9
3. POSITION SYSTEMATIQUE ET TAXONOMIQUE	11
4. CYCLE DU PARASITE	20
4.1. Eventail des plantes-hôtes et relations plantes - nématode	26
4.2. Nature des dégâts, aspect histologique	28
5. ECLOSION CHEZ LES NEMATODES A KYSTES	29
6. SYNTHESE ET HYPOTHESES DE TRAVAIL	35
6.1. Synthèse	35
6.2. Hypothèses de travail	36
<b>B. <u>MATERIEL ET METHODES</u></b>	
1. MATERIEL BIOLOGIQUE	39
2. REALISATION DES TAMIS A ECLOSION	39
3. METHODES D'ORDRE GENERAL	40
3.1. Elevage du parasite et test biologique	40
3.2. Extraction	41
3.2.1. Technique du décanteur à contre-courant	42
3.2.2. Centrifugation	44
3.2.3. Ultrabroyage	44

3.3. Décomptage	45
4. METHODES SPECIALES	47
4.1. Test au tétrazolium	47
4.2. Test au new blue R	48
4.3. Récolte des exsudata radiculières	49
4.4. Elevege en boîte de Petri	50
4.5. Elevege en boîtes quadriceLLulaire	52
4.6. Fixation et montage	54

### C. PARTIE EXPERIMENTALE

1. ETUDE MORPHOMETRIQUE ET MORPHOLOGIQUE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE	57
2. ETUDE DE LA QUALITE D'HOTE DE DIVERSES OMBELLIFERES SAUVAGES ET CULTIVEES	79
2.1. Inventaire des ombellifères sauvages ou adventices du Valais central	79
2.1.1. Description des stations étudiées	79
2.1.2. Inventaire botanique	83
2.2. Germination et culture des ombellifères	86
2.3. Test biologique et essais en boîte de Petri	88
2.4. Recherche de la présence du nématode dans les prairies naturelles	91
3. ETUDE DU CONTENU DES KYSTES ET DES MASSES D'OEUFs	95
4. MISE EN EVIDENCE D'UNE DIAPAUSE PARTIELLE	100
4.1. Expérience effectuée avec les kystes	101
4.2. Expérience effectuée avec les masses d'oeufs	105

5. ETUDE DES MODALITES DE L'ECLOSION DES JUVENILES (J <sub>2</sub> )	109
5.1. Influence des exsudats radicalaires spécifiques sur le taux d'éclosion du parasite	109
5.2. Eclosion différentielle des kystes et des masses d'oeufs	112
5.3. Influence d'un choc thermique de durée variable sur l'éclosion	117
5.4. Influence de différentes températures constantes sur l'éclosion de <u>H. carotae</u>	133
5.5. Eclosion en pleine terre	140
5.6. Influence d'un stockage à basse température sur l'éclosion et le taux de multiplication du parasite	143
6. ETUDE DU NOMBRE DE GENERATIONS ANNUELLES	148
7. ETUDE DE LA DUREE DE VIE DES JUVENILES INFESTANTS	152
8. INFLUENCE DE L'AGE DE LA CAROTTE SUR LA MULTIPLICATION DU PARASITE	153
9. EVOLUTION DU TAUX DE MULTIPLICATION EN FONCTION DE LA VALEUR DE L'INOCULUM	158
10. OBSERVATIONS SUR L'EVOLUTION DU QUOTIENT SEXUEL DE <u>H. CAROTAE</u> ELEVE EN BOITE DE PETRI	162
10.1. Influence de la variété de carotte	162
10.2. Influence du niveau d'infestation	162
10.3. Evolution différentielle des juvéniles issus des kystes ou des masses d'oeufs	167

<b>D. <u>DISCUSSION</u></b>	
1. CONSIDERATIONS SUR LA SPECIFICITE PARASITAIRE EN PHYTONEMATOLOGIE	173
1.1. Conséquences au niveau agronomique	174
2. STRATEGIES DE SURVIE	177
2.1. Rôle des masses d'oeufs	177
2.2. Rôle des kystes	179
2.3. Rôle des juvéniles libres dans le sol	182
3. CONSEQUENCES AU NIVEAU AGRONOMIQUE DE LA PERSISTANCE DU NEMATODE DANS UN SOL CONTAMINE	183
4. CONSIDERATIONS SUR LES NOTIONS D'EQUILIBRE DES POPULATIONS ET DE SEUIL DE TOLERANCE	184
<b>E. <u>CONCLUSION</u></b>	191
<b>F. <u>RESUME</u></b>	195
<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	199
<u>SUMMARY</u>	203
<b>G. <u>BIBLIOGRAPHIE</u></b>	207

## A. INTRODUCTION

La classe des nématodes qui comprend actuellement plus de 15000 espèces est d'une extraordinaire richesse. En effet, la diversité et la capacité d'adaptation de ses représentants leur ont permis la colonisation de toutes les niches écologiques possibles. La majorité de ces espèces, les formes dites "libres" se trouvent dans le sol, les eaux douces et les mers, s'y nourrissent de bactéries, de protozoaires, d'algues, de champignons ou même (les prédateurs) d'animaux, y compris d'autres nématodes. Mais la notoriété de ce groupe zoologique est avant tout liée au mode de vie que certains individus ont adopté il y a plus de 350 millions d'années : le parasitisme (Anderson, 1984). Rares sont les vertébrés et invertébrés non concernés par les cycles parasitaires des nématodes, en qualité d'hôtes définitifs, ou d'hôtes intermédiaires. L'homme ne fait pas exception et un papyrus datant de 1550 av. J.-C. nous indique que l'ascaris et le ver de Médine étaient déjà connus et redoutés à cette époque. Par contre il fallut attendre encore de nombreuses années pour remarquer que le parasitisme des nématodes n'était pas inféodé uniquement au monde animal. C'est grâce à l'invention du microscope que Needham découvre en 1743 le premier nématode phytoparasite du blé niellé (Anquine tritici). Mais l'importance réelle de ces nématodes parasites de plantes ne fut prise en considération qu'après la deuxième guerre mondiale, au moment de l'apparition des premiers nématicides efficaces tel le D.D. (dichloropropène-dichloropropène). L'utilisation de ce produit comme fumigant dans le sol permit en bien des cas de réduire les populations de nématodes à des taux où leur incidence économique était négligeable. A partir de ce moment de nombreuses études ont été entreprises et un grand nombre de problèmes culturels, imputés par méconnaissance à des "fatigues" de sol, ont pu être résolus.

Ainsi les nématodes qui sont, de tous les animaux pluricellulaires, les plus nombreux sur terre, constituent le groupe, qui, à l'exception des arthropodes, a eu l'impact le plus important sur

l'homme, soit directement, soit à travers ses activités agronomiques.

Lors de ces trente dernières années la phytonématologie a permis d'apporter un éclairage nouveau sur certains problèmes agronomiques par la découverte et la description de nombreux agents pathogènes. Aujourd'hui il est de notre devoir d'approfondir ces recherches et d'étudier de manière toujours plus précise la nature même du parasite et de ses relations avec la ou les plantes hôtes. Tel est le cas du nématode à kyste de la carotte signalé pour ses déprédations dans les cultures maraichères mais dont la biologie demeure relativement mal connue.

## 1. HISTORIQUE ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Nous devons la première mention de carottes attaquées par un nématode à kyste à Triffitt (1931). Cependant il faut attendre la description détaillée de Jones (1950 a,b) pour que l'espèce Heterodera carotae soit prise en considération. Cet auteur a prélevé des kystes sur des racines de carottes récoltées en été 1944 à Chatteris, en Angleterre, et a décrit l'espèce type à partir de cette population. D'autres infestations ont été découvertes par la suite dans la même région, certaines parcelles produisent de la carotte chaque année depuis plus de vingt ans. Depuis, la présence de H. carotae est signalée en Hollande (Oostenbrink, 1955) ainsi qu'en Allemagne Fédérale (Sturhan, 1960) dans la région de Nürnberg. Par la suite Ritter (1961) mentionne la présence du parasite en France dans la région nantaise, la Manche et le bassin parisien, de même que Kir'janova (1963) pour l'URSS, Andarsson et Nyberg (1964) pour la Suède, Swarup et al., (1964) pour l'Inde. D'autre part, une référence anonyme dans le rapport du Ministère de l'Agriculture de Dublin (1966) relève la présence du ravageur en Irlande; il en est de même en 1969 pour l'Irlande du Nord. D'autres pays tels que la République Démocratique d'Allemagne (Decker, 1968), la Hongrie (Javor, 1968), l'Italie (Ambrogioni, 1969) la Pologne (Brzeski, 1970) et l'Ecosse (Osborne, 1971) viennent agrandir l'aire de répartition de ce nématode. Enfin un rapport annuel de l'Institut de recherches agronomiques de Chypre à Nicolaie (1975) fait état de la

présence de H. carotae sur l'île, et dernièrement Jakobsen (1979) pour le Danemark et Vallotton (1980) pour la Suisse allongent la liste des pays qui hébergent le nématode à kyate de la carotte. En Suisse H. carotae cause actuellement en Valais d'important dégâts dans une zone comprise entre Martigny et Seillon. Sa présence e également été notée à St-Sulpice (VD), Aigle (VD), Eysins (VD) ainsi que dans le Seeland, ce qui indique que sa distribution pourrait être assez vaste (Vallotton, comm. pers.)

Ainsi ce ravageur dont la présence n'a jamais été signalée outre-atlantique, possède une distribution géographique strictement européenne à l'exception de la mention faite aux Indes qu'il nous faut prendre avec précaution.

## 2. IMPORTANCE AGRONOMIQUE

H. carotae pose de graves problèmes dans les régions de cultures intensives strictement inféodées à des sols très sablonneux. Que ce soit en Italie (Lamberti, 1971 a; Ambrogioni et Palmisano, 1976; Greco and Brandonisio, 1980) ou en France (Harranger, 1972; Caubel, 1977), la culture répétée de carottes permet une multiplication importante de H. carotae. En effet, la population de nématodes peut décupler à chaque culture. Ambrogioni et Palmisano (1976) démontrent une diminution de trois quarts de la production de carottes dans une parcelle où la culture fut répétée pendant trois ans. En France les rendements ont passé en trois ans de 50 à 25 tonnes / hectares (Harranger, 1972). En Suisse les problèmes sont apparus en Valais, haut lieu de la culture intensive. En 1978, de nombreux cultivateurs se sont alarmés de leur baisse de production. Les résultats d'analyses démontrèrent une contamination très grave (250 - 900 kystes/250 cc de sol) nettement supérieure au seuil de tolérance généralement admis, soit 40 kystes/250 cc de sol (Vallotton, 1980). Cependant il faut préciser que les pertes réelles dues à ce nématode sont rarement évaluées avec précision car les baisses de rendement sont généralement compensées par un apport supplémentaire d'engrais (Caubel, 1977).

## 2.1 Nature des dégâts, aspect phénologique

Les symptômes au champ se traduisent par des zones à végétation irrégulière, le feuillage perd de sa vitalité, sa couleur passe au jaune-rouge avec souvent les parties les plus âgées nécrosées (Lamberti, 1971 a; Harranger, 1972). Caubel (1977) précise que ces symptômes ne sont malheureusement pas caractéristiques. Au niveau de la racine on observe une réduction de la taille des pivots et une intense production de nombreuses racines latérales qui donnent un aspect chevelu (Fig. 1). La lignification se fait plus rapidement et la croissance est irrégulière ce qui provoque des distorsions et des déformations du pivot. L'apex, fortement atteint par les premières attaques du parasite, se nécrose. D'autres zones de croissance sont ainsi induites et donnent un aspect digité à la carotte. La valeur marchande d'un tel légume en est bien évidemment diminuée sinon nulle, ce qui explique l'importance économique du parasite.

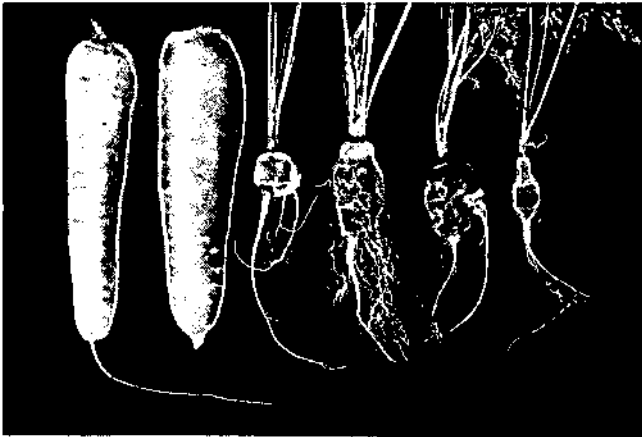


Fig. 1. Déformations extrêmes de carottes parasitées par H. carotae.

## 2.2 Moyens de lutte

### a) Lutte chimique

De nombreux travaux concernant des essais de traitements chimiques ont été effectués dans des champs infestés par H. carotae (Oudinet et al., 1962; Oudinet, 1968; Ferron et Mimaud, 1971; Lamberti et al., 1973). Ces recherches ont permis de prouver l'action pathogène en plein champ de H. carotae. Gréco et al., (1974) démontrant l'efficacité de produits tels que le phénamiphos et le dezomet alors que l'application de D.D. (dichloropropane-dichloropropène) à la dose de 300 litres/ha s'est avéré insuffisant (Lamberti et al., 1974). Par la suite d'autres expériences sont venues confirmer et préciser l'action positive de certains composés (D.D., dazomet (3,5-dimethyltetrahydro-1,3,5-(2H)-thiadiazine-2-thione), ditrapex (80 % D.D. et 20 % methylleothiocyanate), phenamiphos (ethyl-4-(methylthio)-n-tolylisopropylphosphoramidate)) (Philis, 1976; Gréco et al., 1976 a, b; Gréco et Lamberti, 1977 a, b, c). En Suisse, les nématicides D.D. shell et dezomet à l'opposé du terbufos (2-tart-butylthio-methyl-D-O-diethyl-phosphoro-dithioate) contrôlent bien la première génération du ravageur. Cependant les nématodes rescapés du traitement chimique parviennent à se développer et forment une deuxième génération sur la culture en place (Vellotton, comm. pers.). En culture de pomme de terre la recolonisation du sol par le nématode Heterodera rostochiensis après une application de nématicide a été démontré par Scotto la Massese et Roussel (1975) (Scotto la Massese et Cuany, 1977). Ainsi la protection chimique permet la culture en terrain infesté mais ne provoque pas pour autant une diminution des populations du ravageur. En effet, l'inoculum très faible qui persiste après une désinfection suffit à provoquer un très fort accroissement des populations en une seule année surtout si l'espèce forme plusieurs générations (Caubel, 1982).

## b) Lutte biologique

Des possibilités de lutte contre certains nématodes parasites semblent réalisables grâce à la commercialisation de champignons prédateurs. Ces espèces produisent des organes de captures (anneaux contracteurs, boutons adhésifs) et piègent les espèces et stades mobiles de nématodes (Barron, 1977; Pelouille, 1981; Cayrol, 1983; Gray, 1984; Kerry, 1984). La pratique de cette lutte se révèle très délicate car il faut tenir compte de différents paramètres tels que les conditions édaphiques (salinité, pH, taux de matière organique), le type de ravageur, les conditions ambiantes du milieu ( $t^{\circ}\text{C}$ , Hr.) etc. pour permettre au champignon la colonisation optimale du sol. Des résultats encourageants ont été enregistrés dans des cultures intensives en présence de H. glycines ou H. echinarti parasités entre autre par Nematospora gynomphile (Hartwig, 1981; Crump and Kerry, 1983). Certaines espèces de champignons comme N. gynomphile et Verticillium chlamydosporium attaquent les femelles sur les racines et empêchent de cette manière la formation de kystes ou réduisent la fécondité des femelles et tuent les oeufs ce qui permet une diminution des populations de H. avenae en Angleterre et en Europe (Kerry and Crump, 1982). En ce qui concerne H. carotae, aucune information n'est encore connue; un essai est actuellement en place en Valais avec l'utilisation du champignon Arthrobatrya irregularis (Royal 350) (Vallotton, comm. pers.)

## c) Lutte intégrée

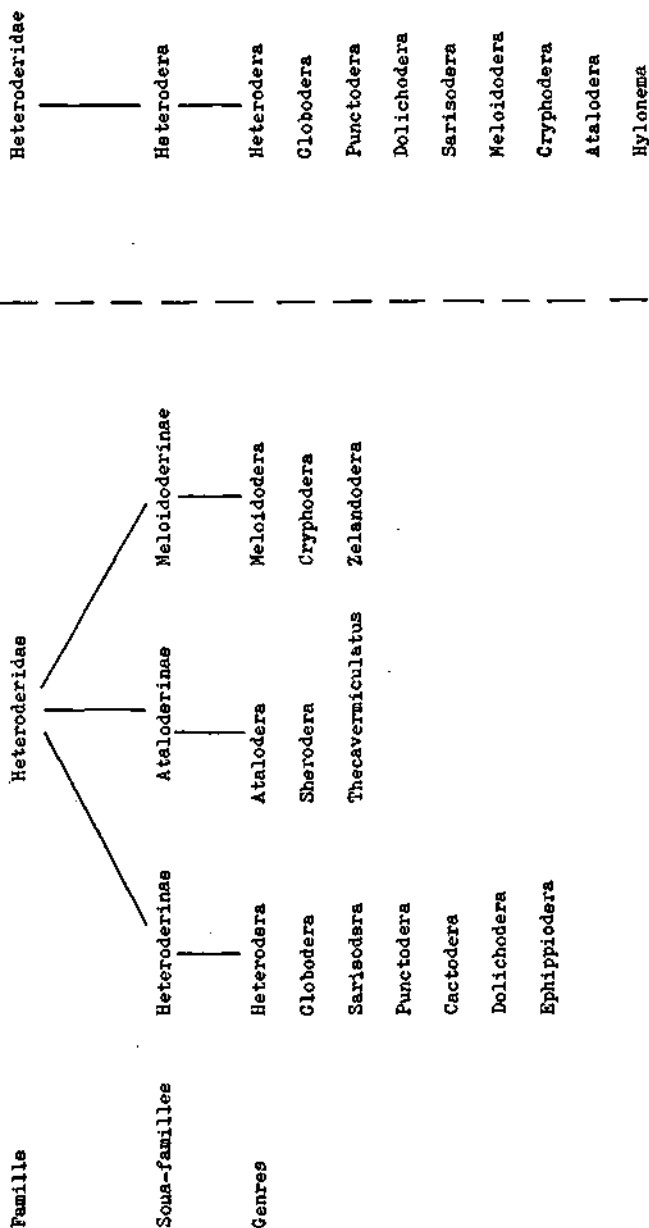
La lutte intégrée contre les nématodes consiste principalement à établir des rotations culturales avec, lorsqu'ils existent, l'introduction de cultivars résistants. Cette technique est applicable de ce fait essentiellement à des parasites oligophages. Des résultats très prometteurs ont été apportés par les travaux de Mugniery (1978 b, 1982 a; Mugniery et Balandras, 1984) sur le nématode de la pomme de terre, Globadera rostochiensis. Les cultures-pièges de pomme de terre (récolte de la plante-hôte de variété hâtive avant que le parasite n'ait terminé son cycle) conduisent à une diminution annuelle du rava-

geur de 80 %. Ainsi deux années de culture-piège combinées à un traitement nématicide conduit à une réduction moyenne de 98.5 % de la population. D'autres travaux font état des possibilités de lutte intégrée en grande culture contre H. avenae principalement. Des rotations adéquates complétées par l'introduction de variétés résistantes donnent également des résultats intéressants (Caubel et al., 1975; Vallotton et Vez, 1981; Rovira et Simon, 1982; Rivoal, 1983 a). Ambrogioni et Palmisano (1976) ont étudié les effets de la rotation culturale sur les populations de H. carotae et la production de carottes. Ces auteurs estiment qu'une année de culture de carottes tous les trois ans permet une augmentation de production de facteur 7 en comparaison avec une culture durant trois années consécutives qui provoque une baisse de production de 75 %. Malheureusement aucun cultivar de carotte résistant n'est connu à ce jour. Certains cultivars tels que "Vilmorin 66" ou "Mi-longue de Nantes 90" semblent toutefois plus tolérants (Graco et Lambertini, 1977 d; Greco et Brandonisio, 1982).

### 3. POSITION SYSTEMATIQUE ET TAXONOMIQUE

Si l'appartenance des nématodes à kytates à la famille des Heteroderidae fait l'unanimité au sein des taxonomistes, il en est pas de même pour la répartition des genres à l'intérieur de cette famille. Une étude récente (Stelter, 1984) fait état de sept genres dans la sous-famille des Heteroderinae (Fig. 2) en accord avec la classification des Heteroderidae de Mulvey et Stone (1976) ainsi que Stone (1977). Luc et al., (1978) proposent par contre la suppression des sous-familles généralisant admises chez les Heteroderidae de même que la synonymie de certains genres. Cette famille regroupe de cette manière huit genres (Fig. 2). La phylogénie du genre Heterodera, genre type de la famille, n'a par contre jamais été remise en question. Le nématode à kytate, H. carotae appartient comme son nom l'indique à un groupe d'espèces caractérisé par la transformation des femelles matures en kytates. Ces derniers résistent fort bien à la dégradation naturelle et peuvent être présents dans le sol en quantités non négligeables. C'est pourquoi la majorité des

Fig. 2. CLASSIFICATION DES HETERODERIDAE



d'après Mulvey & Stone (1976)

Stone (1977)

Stelzer (1984)

d'après Luc et al. (1978)

Stelzer (1984)

critères taxonomiques sont fondée sur les caractères morphologiques de ces kystes et plus précisément sur ceux de leur région vulvaire. Les kystes du genre Heterodera possèdent en général une région vulvaire proéminente appelée "cône vulvaire" qui leur donne une forme de citron. Dans l'ensemble de ces caractères, cinq sont primordiaux :

a) Les fenêtres

Lors de la maturation des kystes, les alentours de la vulve se transforment, la cuticule s'amincit et les lèvres du cône vulvaire deviennent ainsi transparentes lors de l'observation au microscope optique. Cette transformation appelée "fenestration" peut donner différents types de région vulvaire (Fig. 3)

b) Le sous-pont

Résultat d'une induration des muscles supportant le vagin, sa présence ou son absence ainsi que sa morphologie sont utilisées pour différencier les espèces.

c) Les bullae

Il s'agit d'épaississements endocuticulaires à l'intérieur du cône vulvaire situés soit sous les fenêtres, soit au niveau du sous-pont; leur présence ou leur absence, ainsi que leur forme sont utilisées comme caractères spécifiques.

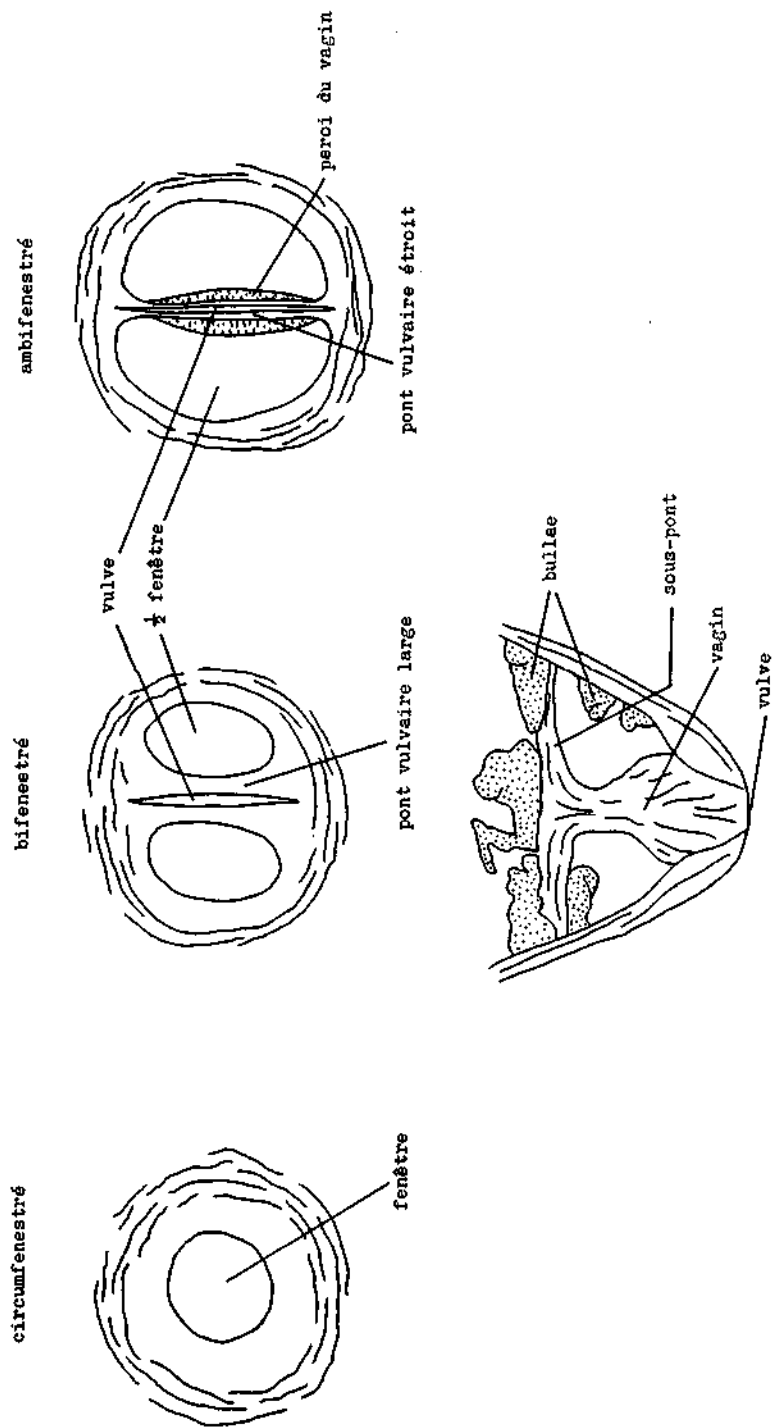
d) Le bassin

C'est la région amincie entourant les fenêtres dont la largeur et la forme peuvent être utiles pour séparer certaines espèces.

e) Le pont et la fente vulvaire

La largeur du pont vulvaire lié au type de fenestration, ainsi que la longueur de la fente vulvaire sont des caractères de première importance. Cooper (1955) a établi une relation intéressante entre la longueur de la fente vulvaire et la présence

Fig. 3. DIFFERENTS TYPES DE REGION VULVAIRE



cône vulvaire de profil

de masses d'oeufs chez certaines espèces : Dans ce dernier cas, la longueur de la fente vulvaire est environ égale au diamètre des oeufs; par contre, dans le cas d'espèces dépourvues de masses d'oeufs, la longueur de la fente vulvaire est plus petite que le diamètre de l'oeuf.

Ainsi donc, sur la base de caractères intéressant uniquement les kystes, il est possible d'identifier de manière assez précise les différentes espèces d'Heterodera (Goffart, 1960; Mathews, 1970; Mulvey, 1972). Ce dernier reconnaît au sein du genre Heterodera cinq groupes morphologiques distincts différant par la forme générale du kyste, la longueur de la fente vulvaire, le type de région vulvaire qui dépend de la dimension, du nombre et de la forme des fenêtres, la présence ou non de bullae et du sous-pont (Tableau 1 ; fig. 3).

Ainsi H. carotae appartient au groupe d'Heterodera No 5 pourvu de kystes ambifenestrés, sans bullae, avec un sous-pont rarement présent ou, si présent, faiblement développé. Le pont vulvaire est mince, souvent déchiré chez les vieux spécimens et la fente vulvaire relativement longue. Les mensurations de plusieurs populations figurent au tableau 2. Une description détaillée de H. carotae est donnée par Mathews (1975).

Deux autres stades évolutifs sont également utiles pour confirmer l'identification d'une espèce: les juvéniles infestants (J<sub>2</sub>) et les mâles. Lors d'une éclosion massive qui précède une infestation, les juvéniles peuvent se trouver en quantité importante dans le sol. D'autre part il n'est pas rare de trouver des juvéniles éclos à l'intérieur des kystes. Les critères de première importance pour la détermination sont: la longueur du corps, la longueur de la queue et de sa partie hyaline, la longueur du stylet et la forme de ses boutons basaux, le nombre d'anneaux céphaliques et le nombre de lignes du champ latéral. Certains auteurs (Wouta and Weischer, 1977) ont proposé une clé de détermination des quinze espèces d'Heterodera de l'Europe de l'ouest les plus connues en utilisant que les caractères larvaires. Il faut reconnaître cependant que les différences entre certaines espèces dont notamment H. carotae Jones, 1950 et H. cruciferae Franklin, 1945 sont très légères, ce qui implique un risque de confusion lors des analyses de sol. En effet, seule la longueur de la partie terminale, hyaline, de la queue permet de

Tab. 1.

## Classification des Heterodera selon Mulvey (1972)

Groupe	Caractéristiques	Exemple
1	kyste rond, région vulvaire proéminente. Fente vulvaire très courte.	<u>Heterodera = Globodera rostochiensis</u>
2	kyste en forme de citron. Fente vulvaire courte (< 20µm). Cône vulvaire circumfenestré.	<u>Heterodera betulae</u>
3	kyste en forme de citron. Fente vulvaire courte (< 16 µm). Cône vulvaire bifenestré.	<u>Heterodera avenae</u>
4	kyste en forme de citron. Fente vulvaire longue (> 35 µm). Cône vulvaire ambifenestré.	<u>Heterodera schachtii</u>
5	kyste en forme de citron. Fente vulvaire longue (> 30 µm). Sous-pont absent ou très fin, bullae rares. Cône vulvaire ambifenestré ou bifenestré.	<u>Heterodera carotae</u>

Tab. 2. Mesurations de kystes de Heterodera carotae

(  $\mu\text{m.}$  )

auteurs	fenêtres		fente vulvaire		sous-pont		distance	
	longueur	largeur	longueur	longueur	longueur	longueur	vulve-anus	vulve-anus
TACONI ( 1976 )	40.14 (36.25-48.30)	39.25 (33.75-43.70)	48.30 (40.25-52.50)		105.51 (97.75-113.75)		19.41 (17.25-23.75)	
AMBROGIONI & PALMISANO ( 1979 )	36.53±2.16 32.28±2.25 36.80±1.70	42.42±1.83 35.34±2.51 41.01±0.76	50.82±2.89 46.30±2.37 52.90±0.86		119.34±9.66 (69-69.60) (57.5-109.25)		30.18±1.56 36.2±2.10 36.03±3.34	
MULVEY ( 1972 )	34 - 40	38 - 40	45 - 50		----		----	
MATHEWS ( 1975 )	31 (27-36)	39 (35-42)	47 (43-51)		90			
PALMISANO & CAVALLI ( 1982 )	25.3-52.8	26.4-51	36.8-55.6		50.6-141		----	



Tab. 4. Comparaison des caractères morphologiques de *Heterodera carotae* et d'espèces apparentées

(  $\mu\text{m.}$  )

Caractères	<i>H. goettingiana</i>	<i>H. cruciferae</i>	<i>H. cyperi</i>	<i>H. urticae</i>	<i>H. carotae</i>
longueur du kyste	635	551	640	492	445
largeur du kyste	458	419	325	435	340
taille de la masse d'oeufs	variable	grande	grande	petite	grande
nbr. oeufs pondus ds. M.O.	variable	beaucoup	beaucoup	aucun	beaucoup
longueur de la L2	463	427	441	541	454
champ latéral L2	4 lignes	4 lignes	3 lignes	4 lignes	4 lignes
longueur de l'oeuf	111	99	104	108	103
largeur de l'oeuf	50	47	40	53	47
longueur du mâle	1245	1186	964	1199	1190
pointe des spicules	3-dentée	3-dentée	2-dentée	2-dentée	2-dentée

d'après Methews (1971)

les séparer. Les données morphométriques de différentes populations de H. carotae figurent au tableau 3. Nous y remarquons que les critères de détermination intéressant les mâles sont principalement la longueur du corps, du atylet et des spicules ainsi que la morphologie de ceux-ci. Le nombre d'annules de la région labiale peut également être un caractère utile.

Les oeufs par contre sont d'une moindre importance pour l'identification d'une espèce, encore que certaines différences entre espèces puissent être observées.

En conclusion, la taxonomie des nématodes à kystes, fondée sur des caractères morphologiques parfois très discrets, est une spécialité difficile qui demande une observation très détaillée des individus. Le tableau 4 démontre la proximité de certaines valeurs morphométriques de quatre espèces voisines du nématode de la carotte. Les différences interespécifiques n'apparaissent pas au premier coup d'oeil et il arrive que les caractères morphologiques ne soient pas des critères suffisants. Dans cette situation il faut avoir recours à des élevages sur plante(s)-hôte(s) discriminante(s). C'est le cas pour la différenciation entre H. carotae et H. cruciferae.

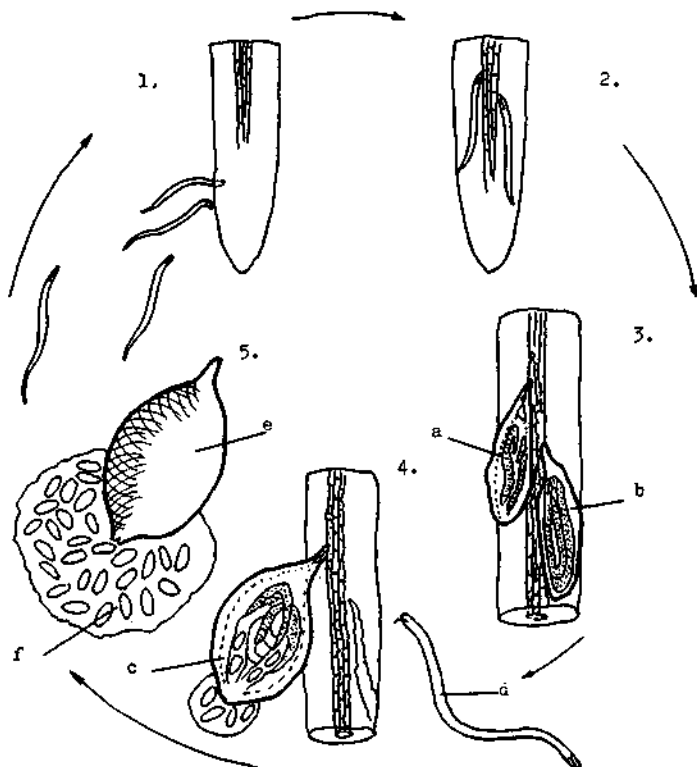
#### 4. CYCLE DU PARASITE

Comme tous les Heteroderidae, H. carotae est un endoparasite sédentaire. Endoparasite car le développement se déroule à l'intérieur des tissus végétaux et sédentaire car les différentes mues se font au même endroit. C'est par la pénétration des juvéniles infectieux ( $J_2$ ) dans les tissus racinaires que le cycle débute (fig. 4).

##### Stade $J_2$

Constituant un des stades libre et mobile de la vie du parasite (le mâle possède ces mêmes caractéristiques), le juvénile de deuxième stade après avoir percé l'épiderme de la racine et traversé le parenchyme cortical vient se loger parallèlement au cylindre central. Il est important de préciser que l'infestation a lieu principalement sur les racines secondaires et radicales,

Fig. 4. Cycle du nématode à kyste, *Heterodera carotae*



1. Attraction et pénétration dans la racine des juvéniles contaminants (J2).
2. Juvéniles ayant rejoint leur site définitif.
3. Transformation des juvéniles en femelle (a) et en mâle (b).
4. Femelle adulte (c) faisant saillie hors de la racine et commençant à produire des oeufs, et mâle adulte vermiforme (d) libre dans le sol.
5. Corps de la femelle morte transformé en kyste (e) contenant une partie des oeufs et masse gélatineuse (f) contenant l'autre partie des oeufs (masse d'oeufs).

d'après de Guiran (1933)

et non sur le pivot central. Parfois le juvénile ne pénètre pas entièrement et une partie de son corps demeure hors de la racine. La durée de ce second stade larvaire est d'environ 9 jours selon Ambrogioni (1971) qui étudia le cycle biologique de H. carotae en plain champ et en condition contrôlée.

#### Seconde mue

Elle commence à partir du sixième jour après la pénétration. En général 12 jours après la pénétration tous les juvéniles se trouvent au stade  $J_3$ .

#### Stade $J_3$

Le juvénile de troisième stade se développe à l'intérieur de la cuticule du stade précédent. Sa taille augmente principalement en largeur rendant ainsi l'indice morphologique  $\alpha$  (longueur / largeur calculée au milieu du corps) plus petit ( $\alpha_{J_2} = 20$ ;  $\alpha_{J_3} = 12$ ). Le bulbe médian s'arrondit lors de son accroissement. A partir de ce stade apparaît le primordium génital constitué de plusieurs cellules qui occupent environ la moitié de la largeur du corps. La distinction des sexes devient possible. Chez les juvéniles femelles les ébauches génitales se développent en deux branches de longueur variable. Chez les juvéniles mâles, l'indice  $\alpha$  est légèrement plus élevé que chez les juvéniles femelles ce qui s'explique par une croissance en largeur un peu moins importante. Le bulbe médian augmente également de taille, mais prend une forme plutôt ovale. L'ébauche génitale s'accroît jusqu'à environ 2/3 de la longueur du corps et son extrémité se replie à 1/3 de la partie antérieure. Les juvéniles de troisième stade mâles apparaissent bien formés le quinzième jour après la pénétration alors que les juvéniles femelles apparaissent entre le onzième et le seizième jour.

#### Troisième mue

Elle débute à partir du quinzième jour et peut se prolonger jusqu'au 19<sup>ème</sup> jour pour les femelles alors que chez les mâles elle apparaît un peu plus tôt, entre le 14<sup>ème</sup> et le 17<sup>ème</sup> jour.

jour. Elle se caractérise par un gonflement toujours plus prononcé des femelles alors que les mâles raccourcissent légèrement.

#### Stade J<sub>4</sub>

Ce stade se caractérise par l'apparition d'un dimorphisme sexuel très marqué. Les juvéniles femelles prennent un aspect globuleux (en forme de poire) et commencent de faire saillie à la surface des racines. Leur cuticule est parcourue de fines lignes longitudinales. L'ébauche vulvaire se présente en position subterminale. Les juvéniles femelles atteignent le 4<sup>ème</sup> stade larvaire entre le 20 et le 24<sup>ème</sup> jour après la pénétration. Le juvénile mâle se développe entièrement à l'intérieur de la cuticule du juvénile de 3<sup>ème</sup> stade. Il est marqué par un allongement rapide, l'individu se repliant trois fois sur lui-même. A ce stade les spicules sont presque complètement formés, contrairement à certaines autres espèces telles que H. schachtii Schmidt, 1871 ou H. oryzae Luc et Bardon Brizuela, 1961 (Raski, 1950; Bardon Brizuela et Mery, 1964). Les J<sub>4</sub> mâles apparaissent entre le 18 et le 21<sup>ème</sup> jour.

#### Quatrième mue

Elle a lieu entre le 23 et le 25<sup>ème</sup> jour pour les femelles et entre le 20 et le 24<sup>ème</sup> jour pour les mâles. Chez ces derniers elle est marquée par l'augmentation de la longueur du corps qui atteint la taille adulte, l'apparition de l'annulation cuticulaire transverse ainsi que celle du champ latéral, qui, d'après Ambrogioni (1971), se présente sous forme de deux lignes parallèles.

#### Adulte

Les tissus résineux déchirés laissent apparaître la femelle blanche, bien gonflée, entièrement remplie par les ovaires. A ce stade il est possible de distinguer une petite goutte transparente au niveau du cône vulvaire. Cette masse gélatineuse s'agrandit pour finalement entourer la moitié inférieure du corps

de la femelle. La femelle adulte apparaît à partir du 24<sup>ème</sup> jour et plus. Après s'être dégagé de la cuticule des stades précédents, le mâle adulte, filiforme quitte la racine et gagne le sol. Ce second stade mobile du cycle biologique du nématode apparaît entre le 24 et le 28<sup>ème</sup> jour. La cuticule du mâle montre une annelation transverse bien visible ainsi qu'un champ latéral formé de quatre lignes longitudinales, les apicules bidentés à leur extrémité sont bien développés. La partie labiale comprend sept à huit anneaux céphaliques. Le mâle, attiré chimiquement par la femelle va la rejoindre et la féconder. Les premiers oeufs formés seront pondus dans la masse gélatineuse appelée alors masse d'oeufs.

#### Kyste

La femelle, une fois fécondée, continue de grossir. La masse d'oeufs se développe et peut contenir jusqu'à 400 oeufs. Le changement de couleur entre la femelle blanche et le kyste mature brun est dû à l'action de la polyphénol oxydase sur les polyphénols des téguments cuticulaires. Ainsi les parois du kyste deviennent dures et résistantes mais restent néanmoins perméables à certaines substances chimiques et à l'oxygène dissout (Ellanby, 1955; Hesling, 1982).

#### Oeufs

Les oeufs contenus dans le kyste ou la masse d'oeufs sont blanchâtres, réniformes et possèdent un contenu granuleux. Les premiers oeufs pondus dans la masse gélatineuse, lorsque la femelle est encore blanche, se trouvent sous forme embryonnée. Par la suite des oeufs renfermant un juvénile totalement formé y sont également déposés. D'autre part, le développement des oeufs dans le kyste est fréquemment plus tardif que celui des oeufs pondus dans la masse d'oeufs.

## Stade J<sub>1</sub>

Le juvénile de premier stade se forme dans l'oeuf ; il se caractérise par la présence du stylet, toutes autres structures internes étant invisibles.

## Première mue

La première mue se déroule également à l'intérieur de l'oeuf et donne naissance au juvénile infectant (J<sub>2</sub>) qui se trouve replié trois fois sur lui-même. L'éclosion a lieu soit dans la masse d'oeufs, soit dans le kyste. Le juvénile quitte ce dernier de manière "naturelle" par la fente vulvaire ou en déchirant la cuticule dans les zones de moindre résistance appelées "fenêtres".

Ainsi le cycle d'Heterodera carotae se présente de manière identique à celui décrit par Berdon Brizuels et Merny (1964) pour H. oryzae (espèce qui possède également une masse d'oeufs importante). La principale différence est relative à sa durée. En effet, le cycle de H. oryzae est court, les premières juvéniles de deuxième stade de la nouvelle génération apparaissant entre le 26 et le 30<sup>ème</sup> jour après la pénétration. En ce qui concerne H. carotae, le développement des différents stades se déroule avec à peine 10 jours de retard sur le cycle de H. oryzae. Par contre, la ponte et la maturation des oeufs se passe de manière beaucoup plus lente. Il faut encore attendre environ 10 jours après la première apparition des mâles et des femelles adultes pour observer des femelles blanches avec leur masse d'oeufs en voie de développement contenant encore des oeufs non segmentés. Le premier kyste brun apparaît sur les racines après environ 70 jours. A ce stade les masses d'oeufs atteignent leur volume définitif et renferment des oeufs dont le développement embryonnaire est terminé. Ainsi l'achèvement du cycle de H. carotae demande environ trois mois.

#### 4.1 Eventail des plantes-hôtes et relations plante-nématode

Le plupart des espèces du genre Heterodera possèdent une gamme de plantes-hôtes dans une seule famille botanique ou dans quelques autres familles proches. Cependant, pour certaines espèces telles que H. schachtii ou H. trifolii Goffert, 1932 les plantes-hôtes appartiennent à plusieurs familles. Parfois la gamme d'hôte de deux espèces de nématode peut se superposer. C'est le cas pour H. schachtii et H. cruciferae qui se multiplient tous les deux sur choux et d'autres crucifères. Cependant seul H. schachtii se reproduit sur chénopodiacées. H. carotae appartient à un groupe de nématodes hautement spécialisé qui se rencontre non pas dans une seule famille mais dans un seul genre botanique. En effet, ce nématode semble inféodé strictement aux ombellifères et plus précisément à la carotte sauvage ou cultivée. Sur 105 espèces appartenant à 23 familles différentes testées par Jones (1950 b) ou sur 16 espèces de la famille des ombellifères testées par Winslow (1954), seul le genre Daucus dont les espèces D. carota L ssp. sativa et D. pulcherrimus ont permis la multiplication du parasite. Cependant il ne faut pas exclure que d'autres ombellifères puissent assurer le survie du nématode. Lors d'un test effectué à la Station Fédérale de Recherches Agronomiques de Changins, H. carotae accomplit son cycle sur le Torilis arvensis, ombellifère sauvage trouvée en Valais. (Vallotton, 1980)

D'autre part, les relations entre le parasite et le ou les plante(s)-hôte(s) peuvent être de différente nature. Une classification simple de Dropkin et Nelson (1960) prenant en considération le croissance de la plante-hôte et du parasite (fig. 5) aide à définir les notions de tolérance, résistance et sensibilité. La manière dont la plante exprime cette relation envers le nématode peut également varier.

Fig. 5. Relations plante-parasite

		croissance de la plante-hôte	
		bonne	mauvaise
croissance du parasite	bonne	plante-hôte tolérante	plante-hôte sensible
	mauvaise	plante-hôte résistante	plante-hôte hyper-sensible

d'après Dropkin & Nelson (1960)

En ce qui concerne la résistance par exemple, la plante-hôte peut, chez les nématodes à kystes, exercer une influence importante sur le déterminisme du sexe et provoquer de cette manière la production d'un nombre excessif de mâles. Ce phénomène conduit à une diminution des femelles, donc à une baisse de la population (Triantaphyllou, 1973; Mugniery, 1982 b; Mugniery et Fayet, 1984). Un autre type de résistance se rencontre dans le cas des plantes-plèges. Le nématode pénètre dans la plante mais ne peut pas s'y développer. Il reste en général bloqué au stade J<sub>2</sub> ou J<sub>3</sub>.

La connaissance des mécanismes de résistance au niveau génétique permet la production de cultivars résistants commercialisables. Les résultats les plus encourageants sont enregistrés avec les pommes de terre et les céréales pour lutter contre Globodera rostochiensis et H. avenae (Williams, 1956; Rohde, 1972; Rivoel

et al., 1978; Rivosl, 1979 s; Person-Dedryver, 1983; Lamberti et al., 1983; Mugniery, 1985).

D'autre part, plusieurs chercheurs ont identifié au sein d'une même espèce la présence de différentes races biologiques (Sturhen, 1971). Ces races biologiques ou pathotypes ne possèdent aucune différences morphologiques mais se caractérisent soit par leurs affinités pour certaines plantes-hôtes, dites plantes discriminantes, soit par leurs cycles et conditions thermiques d'éclosions (Rivoal, 1978, 1979 b, 1982). Il est en outre très délicat de vouloir différencier les races biologiques des races géographiques car bon nombre d'espèces de phytonématodes ont été largement disséminées par l'homme, si bien qu'il n'est guère possible de reconnaître leur répartition naturelle.

#### 4.2 Nature des dégâts, aspect histologique

Les espèces appartenant aux Heteroderidae, nématodes endoparasites, possèdent des relations très étroites avec leur plante-hôte. Cette affinité se traduit au niveau histologique par d'importantes transformations. Après avoir traversé l'épiderme, les cellules du parenchyme cortical et l'endoderme, le parasite ( $J_2$ ) se fixe au niveau des cellules vasculaires du cylindre central. Arrivé dans le cylindre central, le nématode induit la production de cellules géantes ou d'un syncytium. En ce qui concerne M. cerotiae, plusieurs études ultrastructurales démontrant que cette transformation résulte d'une destruction progressive des parois cellulaires à partir de 5 jours après l'inoculation (Ambrogioni et Porcinai, 1972; Vovles, 1978; Porcinai et Ambrogioni, 1979). Le cytoplasme extrêmement dense de ces cellules géantes (multinucléées ou à noyaux multilobés, plus grands, organelles intracellulaires très nombreux) traduit une intense activité métabolique et de synthèse. Knypl et Janss (1975) ont d'ailleurs enregistré une augmentation de la synthèse d'ARN et de protéines chez des cerottes infestées par Meloidogyne hapla. Ainsi ce nématode induit, chez la plante-hôte, la formation d'un tissu nutritif. En effet, la transformation phytocellulaire est en relation avec l'évolution biologique du parasite. La production optimale du syncytium permet de cette manière la

maturation des nombreux œufs de la femelle de H. carotse (Porcinsi et Ambrogioni, 1979).

## 5. ECLOSION CHEZ LES NEMATODES A KYSTES

L'éclosion est un moment capital dans la vie d'un parasite. C'est avant tout le point de départ du cycle biologique dont dépendra son développement ultérieur. Ce stade intéresse également le parasitologiste dans l'optique d'interrompre le cycle parasitaire et de lutter de cette manière contre un ravageur indésirable.

Le terme éclosion correspond en général à la naissance d'un individu, c'est à dire à sa sortie de l'œuf. Dans notre cas le phénomène est légèrement différent car la juvénile, après s'être débarrassé du chorion de l'œuf, doit encore quitter le kyste avant de se trouver libre et mobile dans le sol. Eclosion signifie donc dans nos propos libération du juvénile à partir du kyste et non de l'œuf. Cette précision est importante. Ellenby (1956) démontra que l'éclosion se déroule plus rapidement et avec une variabilité plus faible chez des kystes ouverts artificiellement ou traités avec de la trypsine. Le kyste apparaît donc comme une barrière supplémentaire retardant la libération des juvéniles infestants. L'éclosion chez les nématodes phytoparasites dépend de différents facteurs.

### a) Conditions physiques

La température joue un rôle primordial. Banyar et Fischer (1971 a) établirent à 15°C l'éclosion optimale de H. avenae. D'autres espèces adaptées à des conditions tropicales nécessitent une température de 29°C (Koshy and Swarup, 1971). D'autre part, des fluctuations de température simulées au laboratoire les variations journalières dans le sol stimulent également l'éclosion de G. rostochiensis (Bishop, 1955). L'influence des variations saisonnières provoque chez H. avenae (Maaghar, 1970; Banyar and Fischer, 1971 b; Rivosi, 1978, 1979 b) et chez G. rostochiensis (Fenwick and Reid, 1953; Winslow, 1956) des modalités d'éclosion différentes selon les climats. Ainsi des populations géographi-

quement distinctes s'adaptent aux conditions climatiques régionales afin d'assurer une synchronisation entre l'éclosion des juvéniles et la croissance de la plante-hôte (Lae and Atkinson, 1976).

Les oeufs d'Heterodera supportent un large spectre d'humidité du sol. Cependant un milieu saturé en eau provoque une asphyxie qui inhibe l'éclosion et à l'opposé, un terrain sec empêche les juvéniles d'éclore et de se mouvoir (Shepherd and Clarke, 1971).

#### b) Stimulation chimique

De nombreux composés chimiques ont été testés afin d'augmenter artificiellement le taux d'éclosion (Clarke and Shepherd, 1966, 1967, 1968; Reversat, 1981). Certaines substances se sont avérées soit toxiques, soit inhibitrices de l'éclosion ou encore inactives. L'action de quelques composés utilisés à concentration optimale peut être aussi efficace que celle, naturelle, des exsudats radiculaires. C'est en 1922 que Baunske remarqua pour la première fois l'aspect stimulant des exsudats radiculaires d'une plante sur l'éclosion des oeufs d'Heterodera. Cette substance est excrétée dans le milieu ambiant par les racines des plantes. Sa composition chimique, très complexe, comprend principalement des sucres, acides aminés, peptides, enzymes, acides organiques etc... (Clarke and Widdowson, 1966; Rovira, 1969). Les exsudats radiculaires possèdent des propriétés spécifiques qui induisent l'éclosion des juvéniles contaminants tout en les attirant de façon sélective vers les sites alimentaires. Par la suite, il s'est avéré que plusieurs espèces d'Heterodera sont stimulées par la présence d'exsudats radiculaires extrait de leurs plantes-hôtes (Winslow, 1955). Cependant d'autres espèces ne nécessitent pas la présence de telles substances et éclosent parfaitement bien dans de l'eau. Des facteurs stimulent ou inhibent l'éclosion des oeufs de H. glycines ont été découverts à l'intérieur du contenu des kystes de cette espèce (Okada, 1972 ; 1974). Cet auteur émet l'hypothèse que l'éclosion dépend de la balance entre ces deux facteurs.

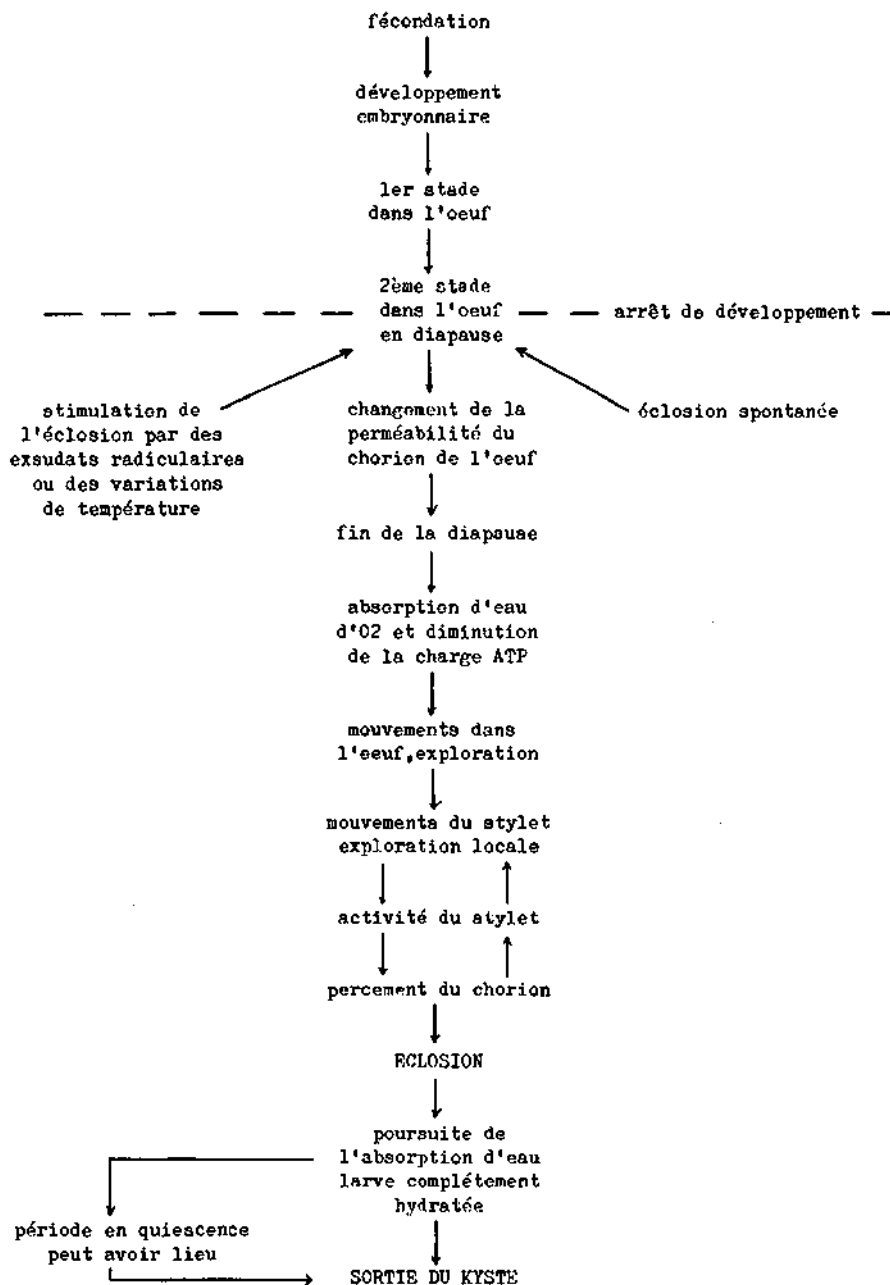
### c) Mécanismes de l'éclosion

Actuellement les mécanismes de l'éclosion ne sont pas encore totalement élucidés. Les travaux de Atkinson et al., (1977 a, b; 1979; 1980 a, b) proposent des hypothèses sur le rôle possible du  $\text{Ca}^{++}$ . Au contraire, Clarke et Hennessy (1981, 1983) indiquent que le  $\text{Ca}^{++}$  n'est pas essentiel pour l'éclosion des oeufs. Ces auteurs émettent l'hypothèse que le déclenchement de l'éclosion peut être le résultat de changements dans la perméabilité du tégument de l'oeuf. Les travaux de Clarke et Perry (1977) et Perry et Clarke (1981) font office de synthèse des principales connaissances à ce sujet.

### d) Éclosion de H. carotae

Les modalités d'éclosion des oeufs de H. carotae n'ont pas fait l'objet de nombreux travaux. Lors d'une étude de l'influence de 30 composés inorganiques, les juvéniles de cette espèce ont paru stimulés par trois ions seulement à savoir le zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ ), le chlorure de platinium ( $(\text{PtCl}_6)^{2-}$ ) et le cadmium ( $\text{Cd}^{2+}$ ); le chlorure et les sulfates de zinc donnant même des résultats supérieurs à l'exsudat radiculaire (Clarke and Shepherd, 1966). Au contraire, l'acide flavanique n'influence en rien le taux d'éclosion du nématode alors que ce composé provoque une bonne libération de juvéniles chez H. cruciferae et H. trifolii (Clarke and Shepherd, 1967). Enfin, Fox et Kerskes (1969) enregistrèrent une éclosion située entre 50 et 80% chez les kystes de H. carotae déposés dans une solution d'hypochlorite de sodium à 0.5 %. Cependant Winslow (1955 et 1956) et plus récemment Greco (1981) démontrent que l'éclosion de H. carotae est étroitement liée à la présence d'exsudats radicaux de carottes sauvages ou cultivées. D'autre part, il faut se souvenir que H. carotae possède une importante masse d'oeufs. Stelter (1969) explique la très forte multiplication du parasite par la possibilité de produire plusieurs générations annuelles grâce aux masses d'oeufs. Greco (1981) démontre que les oeufs issus des masses ou des kystes éclosent de manière différente. Il semblerait, d'après cet auteur, qu'un nombre égal de juvéniles soit libéré

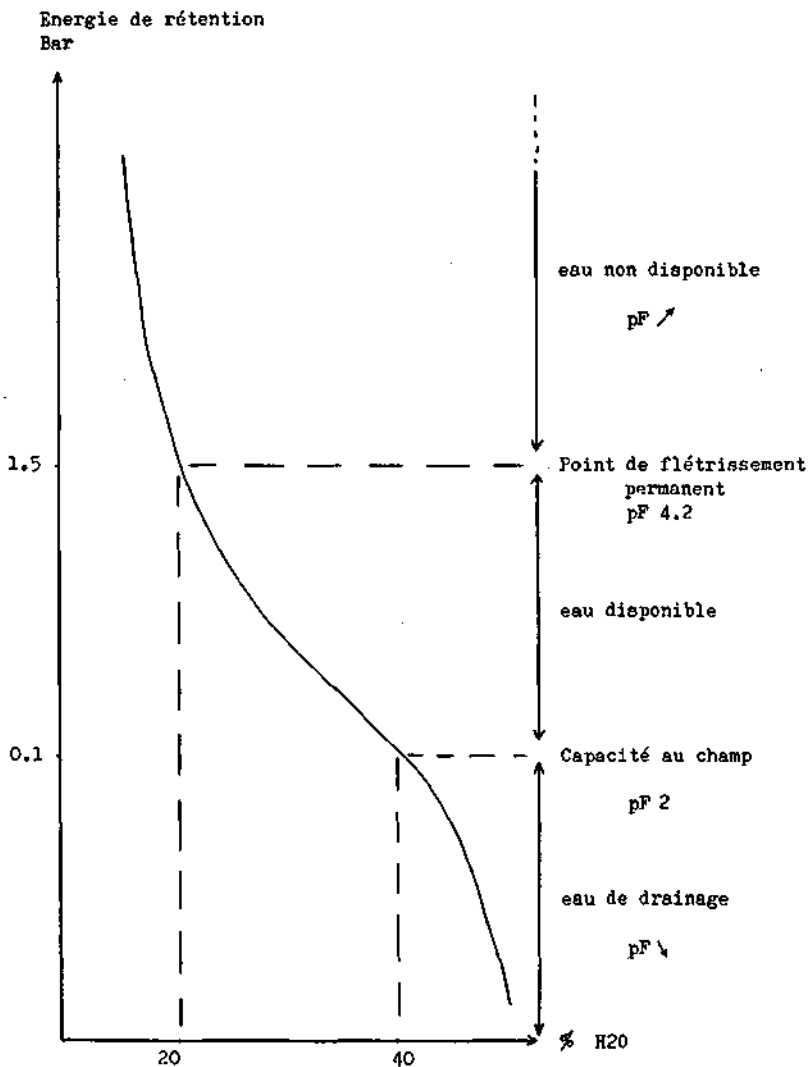
Fig. 6. Diagramme illustrant les différentes séquences de l'éclosion



rapidement par les masses d'oeufs déposées à 10°C dans de l'eau distillée ou de l'exsudat radiculaire, alors que les kystes, même placés dans de l'exsudat radiculaire ne se mettent à libérer des juvéniles qu'après deux mois. Le travail de Greco soulève deux problèmes d'ordre capital. Premièrement les juvéniles renfermés à l'intérieur du kyste semblent soumis à un arrêt de développement. Cette dispense bloque les individus au stade J<sub>2</sub> dans le chorion de l'oeuf et permet au nématode, en métabolisme ralenti, de résister aux conditions adverses du milieu. Deuxièmement, les modalités différentes d'éclosion des kystes et des masses d'oeufs pourraient signifier la présence de mécanismes d'éclosion variables non seulement au sein de la même espèce mais encore du même individu. H. carotae est l'une des rares espèces du genre Heterodera à posséder une masse d'oeufs importante. En région tempérée nous trouvons également H. cruciferae dont les modalités d'éclosion n'ont pas fait l'objet d'études approfondies. Il existe toutefois H. oryzae dont la cynétique d'éclosion dans l'eau et dans le sol des masses d'oeufs a été étudiée par Merny (1966). Cependant cette espèce se trouve en région tropicale et ne nécessite pas la présence d'exsudate radiculaire pour éclore. Ainsi les quelques comparaisons possibles doivent être faites avec précaution. Après avoir inhibé l'éclosion des masses d'oeufs de H. oryzae par la pression osmotique en les immergant dans des solutions de NaCl ou de glycérol à diverses concentrations et pendant des durées différentes, Reversat (1975) démontre que les principaux effets de ces traitements consistent soit en une diminution du nombre maximum d'éclosions, soit en une modification du temps nécessaire pour atteindre ce nombre maximum. D'autre part les variations de l'humidité du sol dans des valeurs se situant entre la capacité au champ et le point de flétrissement (Fig. 7) provoquent des réactions différentes des masses d'oeufs de Meloidogyne incognita (de Guiran et Demaree, 1978). Dans les sols argileux le *pf* optimum de libération des juvéniles (*pf*=3.6) est plus élevé que dans des sols sableux (*pf*=3.3); dans les deux cas cet optimum se situe au delà de la capacité au champ. Les mêmes auteurs démontrent que les masses d'oeufs supportent mieux un séjour d'une semaine dans un sol sec que dans un sol trop humide. Enfin, l'éclosion des oeufs de différentes espèces de Meloidogyne appa-

Fig. 7. SCHEMA DE L'EAU DISPONIBLE DANS UN SOL

(type argilo-limoneux)



pF = potentiel hydrique

rest beaucoup plus influencée par la température que par la présence d'exsudat radiculaire (Ekanayake and di Vito, 1984; Inserra et al., 1983).

## 6. SYNTHÈSE ET HYPOTHESES DE TRAVAIL

### 6.1 Synthèse

Les nombreux travaux publiés sur la biologie des nématodes du genre Heterodera et plus précisément de l'espèce H. carotae dont nous venons de faire état nous permettent d'extraire différents points qui ont frappé notre attention :

- A. La difficulté de la systématique du genre Heterodera ainsi que la proximité taxonomique de H. carotae et H. cruciferae.
- B. La gamme de plantes-hôtes de H. carotae est très étroite. Ce parasite apparaît donc hautement spécialisé.
- C. La présence chez H. carotae d'une importante masse d'œufs et surtout le fait que très peu d'études ont été entreprises en milieu tempéré sur la biologie de tels nématodes.
- D. L'unique étude différentielle des kystes de H. carotae et de leur masse d'œufs a mis en évidence des modalités d'éclosion variables selon que les juvéniles sont issus de l'un ou de l'autre. D'autre part, cette étude a été faite dans le sud de l'Italie où règnent des conditions climatiques bien différentes de chez nous. L'éclosion des œufs contenus dans une masse gélatineuse est davantage influencée par la température que par l'exsudat radiculaire.
- E. Bien que les mécanismes d'éclosion ne semblent pas varier énormément d'une espèce à une autre, les conditions requises (température, exsudat radiculaire) pour le déclenchement de ces mécanismes peuvent varier selon les climats et les espèces.
- F. Le travail de Greco (1981) démontre la possibilité de l'existence d'une diapause chez H. carotae.

- G. Le nématode à kyste de la carotte pose de graves problèmes agronomiques car les cultures maraichères se pratiquent encore trop souvent de manière intensive sans véritable rotation de culture.
- H. Les relations extrêmement étroites entre le parasite et sa planta-hôte démontrant une évolution très poussée du mode de parasitisme.
- I. Les lacunes existant dans la connaissance de la biologie de H. carotae ne permettent pas actuellement d'élaborer des plans de lutte intégrée conduisant à des résultats aussi efficaces que ceux obtenus contre G. rostrchiensis.

## 6.2 Hypothèses de travail

- A. La découverte d'une nouvelle planta-hôte locale de H. carotae suggère l'existence possible d'autres plantes-hôtes de ce nématode; en particulier certaines ombellifères sauvages pourraient jouer le rôle de réservoir naturel du parasite sans que sa présence ne soit soupçonnée du cultivateur lors de la mise en culture d'une prairie. Ainsi, après une année de culture de carottes, la population de H. carotae pourrait déjà devenir extrêmement élevée grâce à l'important taux de multiplication de ce ravageur. Dans ces conditions, nous envisageons l'étude systématique des ombellifères sauvages ou adventices du Valais central en vue de tester leur qualité d'hôte pour H. carotae. L'étude de la rhizosphère des ombellifères sauvages de jachères ou prairies devrait nous permettre de déterminer la présence et éventuellement l'abondance de ce nématode en conditions naturelles.
- B. Bien qu'il n'existe pas actuellement de cultivars connus comme résistants à H. carotae, il serait intéressant d'élargir ces recherches afin de mettre en évidence des phénomènes de résistance ou éventuellement de tolérance chez d'autres ombellifères cultivées ou peut-être chez des ombellifères sauvages qui se seraient révélées hôtes de H. carotae.
- C. La période durant laquelle les carottes sont cultivées en Italie du sud (semis en septembre et récolte en février) ne correspondant pas à la période de culture avec nos conditions

(semis en avril et récolte en octobre), il est possible que les modalités d'éclosion du nématode puissent varier selon les climats à la manière des différents pathotypes de H. avenae (Rivosi, 1978, 1979 b). Nous suggérons également comme certains auteurs italiens ou allemands que les juvéniles issus des masses d'œufs pourraient permettre la formation d'une deuxième voire d'une troisième génération annuelle. Quant aux individus contenus dans les kystes, ils seraient soumis à un arrêt de développement de type diapause. Par conséquent il nous paraît indispensable d'étudier les modalités d'éclosion de ce parasite ainsi que les facteurs responsables de la diapause en vue de leur élimination.

- D. Dans le but de préciser et d'améliorer les conditions de lutte intégrée, il apparaît nécessaire d'étudier la biologie du ravageur impliqué, comme ce fut le cas pour G. rostochian-  
ais par exemple. C'est pourquoi nous prévoyons l'étude de l'évolution des quotients sexuels de H. carotae en fonction de la différence de densité d'inoculum. D'autre part, la connaissance de la durée de vie des juvéniles infectants en absence de plante-hôte ainsi que le nombre possible, en conditions contrôlées, de générations annuelles permettrait de cerner en partie la dynamique de population de ce parasite.



## B. MATERIEL ET METHODES

### 1. MATERIEL BIOLOGIQUE

Le nématode à kyste de la carotte, Heterodera carotae, appartient à l'ordre des Tylenchida, famille des Heteroderidae. Un élevage en serre a été initié au mois de février 1983 à partir de kystes extraits de sol prélevé à Saillon (VS) dans un champ fortement infesté (700 kystes/250 cc de sol). Nous avons ainsi à disposition un matériel d'âge connu et élevé en conditions contrôlées.

### 2. REALISATION DES TAMIS A ECLOSION

Plusieurs auteurs ont mis au point des techniques plus ou moins perfectionnées pour permettre une éclosion optimale des juvéniles à partir de kystes de divers Heterodera (Shepherd, 1959; Vigliarcho, 1961; Curtis, 1965). Cependant la technique dite du tamis à éclosion semble de loin la plus simple et la plus pratique (Moriarty, 1963; Revereat, 1971), car elle ne nécessite pas la présence de systèmes trop compliqués.

Ces tamis à éclosion ont été fabriqués par nos soins. Des boîtes rondes en plastique (diamètre 2,5 cm) sont percées en leur centre sur un diamètre de 1,8 cm. Une toile de nylon (Scrnyel NY 180 H.D. N° 05217/07) de maille 180 µm est collée sur la face inférieure de la boîte, ainsi que trois têtes d'épingles servant de trépied. Ces tamis sont ensuite placés dans des boîtes de Petri en verre de 4 cm de diamètre. L'ensemble (tamis et boîte de Petri) est appelé tamis à éclosion (fig. 8).



Fig. 8. Tamis à éclosion.

### 3. METHODES D'ORDRE GENERAL

#### 3.1 Elevage du parasite et test biologique

##### a) Elevage du parasite

Pendant toute la durée de ce travail nous avons maintenu un élevage en serre du nématode, de façon à avoir à notre disposition, à tout moment, du matériel frais et en quantité suffisante.

Nous avons travaillé avec des pots en argile de 400 cc (diamètre 10 cm) remplis d'un mélange de terre végétale et de sable dans les proportions 1/3 - 2/3. Dix graines de carotte, cultivar Nendor Fl sont semées par pot. L'inoculum consiste en trente kystes prélevés dans le premier élevage du mois de février 1983 et placés dans un sachet en nylon afin de les différencier des kystes néoformés. La face inférieure des pots est obturée avec de la pâte à modeler afin d'éviter une perte de nématodes ( $J_2$  et mâles) due à leur motilité propre, ou à un

entraînement par percolation. Les pots sont ensuite placés en serre dans un lit de tourbe qui stabilise l'humidité et tamponne les variations de température ; la température moyenne est de 15°C avec des minima et maxima de 10°C et 20°C. L'humidité relative se situe aux alentours de 80 %. D'octobre à mars, la période diurne a été allongée jusqu'à 16 heures grâce à un éclairage complémentaire (quatre tubes au néon, type Mazdafluor) d'environ 4000 lux, au niveau des plantes. Ces dernières sont arrosées quotidiennement et bénéficient d'un apport d'engrais liquide (Muxal à 0,2 %) toutes les deux semaines. L'élevage est renouvelé tous les six mois environ.

#### b) Test biologique

Cette méthode consiste à inoculer une population de nématodes à des séries de plantes et à observer après quatre mois si le parasite s'y est multiplié. Sept graines prégermées (ombellifères sauvages) ou non (ombellifères cultivées) sont semées dans des pots en argile de 220 cc (diamètre 8 cm) remplis du mélange de terre décrit plus haut. L'inoculum consiste en 25 kystes de H. carotae prélevés en plein champ afin de travailler avec du matériel correspondant aux conditions naturelles. Les kystes utilisés comme inoculum ont été préalablement écriés, ceci pour plusieurs raisons : on contrôle ainsi le contenu des kystes et le bon état des juvéniles ; les kystes ne seront pas confondus avec ceux de l'inoculum ; la libération des juvéniles infestants est accélérée. Les différentes séries sont placées en serre dans les conditions déjà décrites pour l'élevage du parasite. Quatre mois plus tard, le contenu des pots est extrait au moyen du décanteur à contre-courant et analysé sous la loupe binoculaire. Les kystes bruns néoformés sont décomptés. Cinq répétitions sont effectuées par espèce testée.

### 3.2 Extraction

Trois méthodes d'extraction différentes sont utilisées selon que nous désirons récolter des kystes, des stades libres dans le sol ou des stades endoscitaires.

### 3.2.1 Technique du décanteur à contre-courant

Cette technique qui s'inspire des méthodes classiques d'élu-triation (Nerny et Luc, 1969) a été mise au point à la Station fédé-rale de Recherches Agronomiques de Changins. La vitesse de sédi-mentation dans l'eau de particules solides varie en fonction de leur densité et de leur dimension. Ainsi, dans une colonne ver-ticale, où un courant d'eau dirigé de bas en haut est entretenu, une particule ne sera entraînée vers le haut que si sa vitesse de sédimentation est inférieure à celle du courant. Il est donc possible, en agissant sur la vitesse du courant, de choisir la taille des éléments à extraire. Vallotton et Perrier (1977) donnent de plus amples renseignements techniques sur cet appa-reil.



Fig. 9. Décanteur à contre-courant.

### a) Extraction des kystes

L'échantillon (max. 400 cc de sol) est déposé sur un tamis de maille de 3 mm et fortement douché. Cette opération permet d'éliminer les particules les plus grossières et de détacher les kystes néoformés des racines de la plante. Les éléments lessivés sont ensuite récoltés sur un tamis à mailles de 150  $\mu\text{m}$  et versés dans l'extracteur où ils subissent une décantation de 15 minutes, le débit de l'eau étant de 180 - 200 litres/heure (Fig. 9). Pendant l'extraction le contenu du bidon est brassé plusieurs fois à l'aide d'une spatule en bois. Le produit de la décantation est retenu sur un tamis à mailles de 150  $\mu\text{m}$  puis versé dans un récipient en verre (bécher).

### b) Extraction des stades libres

Les individus appartenant aux stades libres, principalement juvéniles, sont extraits à partir des élevages en serre. Les plantes sont dépotées et placées avec le sol dans le décanteur à contre-courant, le feuillage des carottes ayant été coupé au niveau du collet. La décantation se déroule pendant 15 minutes à un débit d'eau faible (100 - 120 l/h). Pendant l'extraction le contenu du bidon est brassé délicatement pour désagréger les particules de sol retenues autour des racines. Le produit de la décantation est récolté sur deux tamis superposés à mailles de 45  $\mu\text{m}$ , puis stocké dans un bécher pour centrifugation ultérieure.

### c) Extraction mixte

Pour obtenir la population totale d'un élevage (kystes, juvéniles  $J_2$ , mâles) nous procédons de la manière suivante : un tamis à mailles de 180  $\mu\text{m}$  est placé sur les deux tamis à mailles de 45  $\mu\text{m}$ , afin de récupérer les kystes extraits lors de la première décantation qui se déroule comme pour l'extraction des stades libres décrite ci-dessus. Cette première phase terminée, l'échantillon subit une deuxième décantation. (cf. paragraphes a).

### 3.2.2 Centrifugation

Cette technique permet l'extraction des stades mobiles dans le sol et fait obligatoirement suite à une extraction au décanteur à contre-courant réglé sur un débit d'eau lent. Les refus de tamis, stockés dans un béccher, sont versés dans les tubes à centrifugation; on y ajoute du kaolin pour favoriser la formation d'un culot, puis les tubes sont équilibrés et centrifugés à 1800 g (3000 tours/minute) pendant quatre minutes. La phase liquide supérieure (surnageant) qui contient des particules d'une densité inférieure à 1 est jetée. Les tubes à centrifugation sont à nouveau équilibrés avec une solution sucrée de densité 1,22 M (604 gr de sucre pour 1 litre d'eau) et leur contenu mélangé avec soin au vibromixeur. La deuxième centrifugation se déroule à 1000 g (1800 tours / minutes) pendant 2 minutes. Le "surnageant" est versé sur un tamis à mailles de 10 µm placé dans une cuvette remplie d'eau afin de faciliter le tamisage et surtout de rincer les nématodes le plus rapidement possible : en effet, un séjour prolongé dans la solution de sucre risque de les plasmolyser. Le refus du tamis est soigneusement rincé et récolté dans un petit béccher. Il faut noter que la centrifugation suivant une première extraction au décanteur à contre-courant, il n'est pas rare de trouver dans le "surnageant" des stades endoracinaires ( $J_3$ ,  $J_4$ ) qui se sont détachés des racines lors de la première phase de l'extraction.

### 3.2.3 Ultrabroyage

Cette technique est utilisée pour extraire les nématodes endoracinaires. Dans un premier temps les crottes sont rincées afin d'éliminer toutes particules minérales. Puis les racines secondaires sont séparées du pivot central (dans lequel les nématodes ne pénètrent pas), l'excès d'eau est absorbé sur du papier filtre, puis les racines sont passées. Si le volume de la masse racinaire est important, on peut avoir recours à un sous-échantillonneur. Les racines sont ensuite coupées en petits morceaux, déposées au fond d'un tube en PVC et recouvertes d'eau du robinet. Les racines sont broyées à 20000 tours/minute (3 fois 10

ascondes) au moyen d'un ultrabroyeur Ultra-Turrax type TP 18 - 10. Celui-ci est ensuite soigneusement rincé et la suspension contenant les débris de tissus végétaux et les nématodes est versée dans un récipient.

### **3.3 Décompte**

L'analyse des résidus du décanteur à contre-courant, du "aurnes-geant" de la double centrifugation et du broyat racinaire se fait toujours sous la loupe binoculaire (Wild M5) aux grossissements 12x, 25x et parfois 50x.

#### **a) Comptage des kystes**

Les refus de tamis contenus dans un bécher sont versés sur un tamis de 5.5 cm. de diamètre à mailles de 180  $\mu$ m et reposent sur le couvercle d'une boîte de Petri en plastique contenant quelques  $\text{cm}^3$  d'eau. Les matériaux sont répartis à l'aide d'une pissette pour faciliter le comptage. La manipulation des kystes à l'aide de brucelles et leur dénombrement sont facilités par la présence de la fine pellicule d'eau qui empêche également un dessèchement trop rapide du substrat pendant l'observation en épiscopie qui peut parfois être assez longue.

#### **b) Comptage des stades libres et endoracinaires**

Les récipients contenant ou les formes libres, ou les stades endoracinaires sont vidés en plusieurs étapes dans une coupelle à comptage de 10 ml. dont le fond gravé délimite différents secteurs facilitant le comptage. L'observation a lieu en disscopie. La manipulation des nématodes et les opérations de triage se font à l'aide d'un cil monté sur un porte-aiguille. Si nécessaire, les individus sont prélevés à l'aide d'une pipette Pasteur effilée sur la flamme.

Problèmes rencontrés lors de l'extraction des stades libres ( $J_2$ ) dans le sol.

L'extraction des juvéniles libres dans le sol n'est pas, et de loin, satisfaisante : avec nos méthodes de travail nous enregistrons en effet une perte moyenne de 70 %, ce qui est énorme. C'est pourquoi nous sommes intéressés à rechercher la ou les phases durant lesquelles ces pertes peuvent survenir.

Il ressort de nos expériences que d'une part, la centrifugation proprement dite n'engendre pas beaucoup de perte et d'autre part, l'utilisation d'un tamis à mailles de 10  $\mu\text{m}$  au lieu de 20  $\mu\text{m}$  permet de récolter dix fois plus de juvéniles. La plus grande partie des pertes a lieu lors de la décantation. Les juvéniles doivent donc probablement passer à travers les tamis à mailles de 45  $\mu\text{m}$ . Sur ce point il est intéressant de noter la différence de rendement du décanteur à contre-courant selon que le débit est de 220 ou 120 litres/heure. Un débit élevé engendre une perte inférieure à celle provoquée par un débit plus faible, les remous et courants produits par un fort débit permettant aux juvéniles de rester en suspension ; au contraire, lors d'un débit plus faible, les juvéniles sédimentent sur le tamis et peuvent passer activement à travers.

Cette expérience nous a ainsi permis de déterminer, pour l'extraction des juvéniles de deuxième stade, un pourcentage de perte minimum de 42.75 %. Selon Kermerrec et Bergé (1972) les pertes en nématodes de petite taille ne pourront jamais être éliminées tant que l'on aura recours aux tamisages, à moins d'utiliser des tamis à mailles inférieures à 20  $\mu\text{m}$  qui augmentent encore le colmatage déjà très important avec cette entaille.

#### 4. METHODES SPECIALES

##### 4.1 Test au tétrazolium

Afin de connaître le pourcentage de semences mortes dans une population de graines d'ombellifères sauvages récoltées en Valsais, nous avons eu recours au test au tétrazolium (Guy, 1979). Les semences sont déposées dans une boîte de Petri sur un papier filtre humide et stockées durant une nuit à 20°C. Le lendemain les graines sont coupées transversalement; la moitié qui contient l'embryon (du côté du stigmate) est plongée dans la solution de tétrazolium à 1 %. Après 24 heures d'incubation à 30°C à l'obscurité, les semences sont disséquées à la loupe binoculaire afin de déterminer la taille et la vitalité des embryons. Les observations sont classées en six catégories :

1. très bonne coloration en rouge;
2. très bonne coloration en rouge mais embryon minuscule;
3. embryon coloré en rouge, bien développé et albumen non coloré;
4. coloration générale faible;
5. albumen coloré mais embryon blanc;
6. Ni albumen ni embryon ou ce dernier en très mauvais état.

Les semences des catégories 1 à 3 sont considérées comme vivantes alors que celles des catégories 4 à 6 sont jugées mortes.

## 4.2 Test au new blue R

Il est souvent difficile de distinguer à l'intérieur des kystes ou des masses d'oeufs les individus (oeufs et juvéniles) vivants des individus morts. Plusieurs techniques de coloration peuvent être utilisées; certaines possèdent cependant l'inconvénient de mal colorer les stades morts (Moriarty, 1964), d'autres au contraire risquent de tuer les nématodes (Jatala, 1975) ! C'est pourquoi nous avons préféré travailler avec la technique dite du new blue R (Shepherd, 1962 a), coloration qui nous est apparue très fiable et très pratique. Les kystes sont plongés dans une solution à 0.05 % de new blue R et stockés à 5°C dans des petits godets. Une semaine plus tard le colorant est remplacé par de l'eau du robinet et les kystes écrasés afin de libérer les oeufs et les juvéniles. Avant d'être analysés, le contenu des kystes est rincé dans l'eau pendant 12 heures car il peut arriver que le chorion des oeufs se colore légèrement même si ces derniers sont vivants. Les godets sont ensuite observés à la loupe binoculaire à un grossissement de 25x et 50x. Les juvéniles vivants apparaissent blanchâtres et translucides à l'intérieur du chorion de l'oeuf ; au contraire, les individus morts se colorent, en général assez fortement, en bleu voire même en noir. Le contenu des oeufs dont le développement embryonnaire n'est pas terminé présente les mêmes réactions que les juvéniles ; il est donc possible de différencier les oeufs vivants et morts.

#### 4.3 Récolte des exsudats radiculaires

Les exsudats radiculaires sont récoltés sur des plantes âgées de deux mois au minimum et quatre mois au maximum. Les pots non arrosés depuis au moins 24 heures sont déposés sur un support en treillis métallique et placés dans une cuvette émaillée (Fig. 10). Pour définir le déficit de saturation on s'est inspiré de la méthode de Fenwick (1949). Ainsi on esture progressivement les pots par adjonction de 50 ml d'eau du robinet environ toutes les 15 minutes. Lorsque l'eau commence à couler par le fond du pot, on ajoute d'un seul coup une fois et demi le volume d'eau déjà utilisé pour définir le déficit de saturation. Un quart d'heure plus tard, la percolation obtenue représentant l'exsudat radiculaire est filtrée (papier filtre Schleicher & Schuell de diamètre 15 cm) et stockée au réfrigérateur à 5°C. A cette température les exsudats peuvent conserver leur activité pendant deux ans (Widdowson, 1958).



Fig. 10. Récolte des exsudats radiculaires.

#### 4.4 Élevage en boîte de Petri

Cette technique mise au point par Mugniery et Person (1976) présente l'énorme avantage de maîtriser parfaitement la pénétration des juvéniles dans la plante-hôte, leur développement complet ainsi que la fécondation des femelles. Elle permet d'autre part, une observation continue soit sous la loupe binoculaire, soit sous le microscope.

##### a) Préparation de la gélose

De l'agar-agar en poudre (Difco bacto-agar) est progressivement dissous dans de l'eau du robinet frémissante, à raison de 15 gr/litre. Après avoir laissé "monter" la solution trois à quatre fois (plus la gélose sera cuite longtemps, plus elle sera dure), la mousse surnaissante est éliminée; la gélose est ensuite délicatement versée dans des boîtes de Petri en plastique (Petraplastic 93 x 16 ext. 1.1010). Vingt-quatre heures plus tard on chasse des couvercles les gouttes d'eau provoquées par la condensation.

##### b) Mise en place de la plante

Les graines sont désinfectées dans du chlorure de mercure ( $HgCl_2$ ) dilué à 2 % dans de l'alcool à 85° durant 1 minute puis rincées à l'eau stérile dans quatre bains successifs. Les graines sont ensuite déposées sur la gélose dans le tiers supérieur de la boîte de Petri laquelle sera conservée en position verticale (en général 3 graines /boîte). L'humidité de la gélose ainsi qu'une température se situant aux alentours de 15°C suffit à provoquer la germination des graines (Fig. 11). Les élevages en boîte de Petri sont placés dans une enceinte climatisée (cellule Weiss). La température ambiante y est de 16°C pendant 12 heures de jour et de 12°C pendant 10 heures de nuit; les deux heures restantes correspondent au temps nécessaire pour permettre, matin et soir, le passage progressif d'une température à l'autre. Les plantules de crotte nécessitent de la lumière pour pousser convenablement; il faut toutefois veiller à ce que la

puissance de l'éclairage soit adaptée afin que l'effet de serre provoqué par les boîtes de Petri n'élève pas trop la température à l'intérieur de celles-ci, et nuise ainsi au développement du nématode.

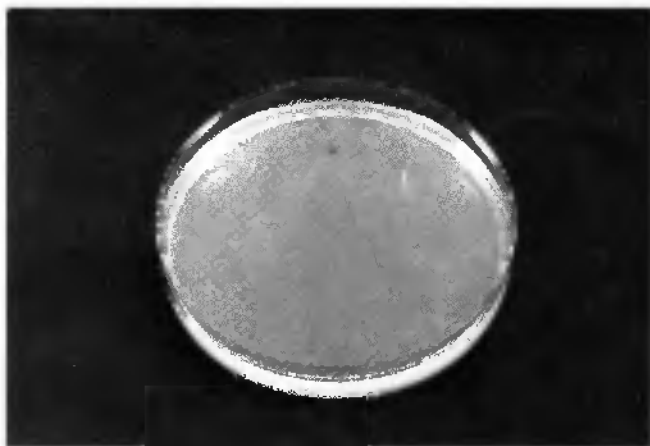


Fig. 11. Germination de plantules de carottes sur gélose pour l'élevage du nématode en boîte de Petri.

c) Mise en place du nématode

L'inoculation des juvéniles de H. carotae est effectuée dès qu'une des trois racines atteint environ 1 cm de longueur. La "meilleure" racine est essentiellement choisie en fonction de sa longueur et de l'adhérence à la gélose. Lorsque les racines n'adhèrent pas à la gélose, il est possible de les presser délicatement avec la pulpe du doigt. Les juvéniles sont ensuite déposés à l'aide d'un cil monté sur une aiguille, entre la coiffe et la zone pilifère de la racine.

d) Contrôle

La pénétration des juvéniles peut être contrôlée visuellement par examen au microscope des boîtes de Petri placées à l'en-

vera. Les juvéniles ayant pénétrés dans la racine peuvent être masqués par les tissus végétaux, leur localisation peut toutefois être établie grâce aux nécroses provoquées lors de la pénétration. Le développement larvaire du nématode peut également être suivi au microscope ou à la loupe binoculaire. En général les stades J<sub>2</sub> et J<sub>3</sub> entièrement endoracinaires sont difficiles à voir, mais il arrive que certains individus ne pénètrent pas totalement et laissent ainsi apparaître la partie postérieure de leur corps. Le stade J<sub>4</sub> ou "sacciforme" est généralement discernable, de même que le stade adulte à partir duquel les mâles quittent la racine et les femelles font saillies hors de la racine. Il faut cependant avoir parfois recours à la dissection de la plantule pour s'assurer du développement ou au contraire du blocage du nématode. Les racines sont alors simplement déposées dans la couvercle de la boîte de Petri et recouverte d'une goutte d'eau. La dissection se fait sous la loupe binoculaire.

#### 4.5 Élevage en boîte quadricellulaire

Cette méthode permet l'élevage de H. carotae dans de très petites enceintes. Les boîtes en plastique transparent (Firma Ritter-plastique, modèle G) sont formées de quatre compartiments triangulaires d'une contenance de 50 cc chacun; néanmoins leur profondeur de 10,5 cm rend la culture d'une plantule de carotte possible (Fig. 12). Ces boîtes, appelées couramment "boîte de Behringer" sont remplies du mélange de terre végétale et de sable défini plus haut. Un kyste ou une masse d'œufs est placé à l'intérieur d'un petit sachet en nylon afin de le (la) retrouver à la fin de l'expérience. Trois graines de carotte cv. Nandor Fl sont semées par compartiment; après la levée une seule plantule est conservée. Les boîtes quadricellulaires sont déposées dans de la tourbe, en verre et l'élevage se déroule dans les mêmes conditions ambiantes (température, humidité, éclairage) que celles décrites précédemment (cf. 3.1). Une humidification fréquente est nécessaire étant donné la petite surface de sol.

De cette manière il est possible de réaliser un élevage de nématodes sur une plantule de carotte à partir d'un seul kyste ou d'une seule masse d'œufs, tout en économisant de la place, chaque boîte correspondant à quatre répétitions.

Fig. 12. Elevage en boîte  
quadricellulaire.



#### 4.6 Fixation et montage

##### a) Préparation pour la microscopie électronique à balayage

Les kystes bruns ainsi que les femelles adultes (kystes blancs) ont été extraits des élevages conduits à la station de Chengins. Les juvéniles J<sub>2</sub> proviennent d'une série de kystes et de masses d'oeufs mis à éclore en conditions contrôlées. Les stades endoracinaires (J<sub>3</sub> et J<sub>4</sub>) ont été récoltés sur des plantules ayant poussé en boîtes de Petri après dissection des racines de la plante-hôte. Les mâles ont été "cueillis" à leur sortie des téguments des stades précédents. L'ensemble du matériel est immédiatement fixé au FA 4:1 (10 ml formaldéhyde 40 %, 1 ml acide acétique glacial, 89 ml eau distillée) (Seinhorst, 1966). Le fixateur chauffé à ébullition au bain marie est versé sur les individus déposés dans une petite goutte d'eau au fond d'une coupelle carrée. Les nématodes sont ensuite soumis à une déshydratation progressive par trois bains de 5 minutes dans de l'acétone à 50 %, 70 %, 90 % et trois bains de 15 minutes dans de l'acétone à 100 %. La dessiccation est réalisée par la méthode du point critique. En physique le terme "critique" qualifie une valeur qui, dans une échelle de température, de pression, de densité provoque un changement radical et total (Guilsumin, 1980). Le point critique du CO<sub>2</sub> est à 31.1°C pour une pression de 72.9 atm. A ce stade il n'y a plus deux phases, mais une seule phase, ni liquide ni vapeur, donc plus de tension de surface. Du point de vue pratique, le CO<sub>2</sub> n'étant pas miscible à l'eau, il faut avoir recours à des bains d'acétone de concentration croissante avant d'immerger l'échantillon dans le CO<sub>2</sub>. Afin d'obtenir une concentration maximale de CO<sub>2</sub> nous procédons à plusieurs rinçages. La température est ensuite amenée à 40°C ce qui induit une pression de 100 atm. Ce passage correspond au point critique proprement dit. Enfin la pression ambiante est rétablie en laissant s'échapper lentement le CO<sub>2</sub>. Les nématodes, manipulés à l'aide d'un cili ou d'un fin pinceau auquel ils adhèrent par électricité statique, sont collés sur des rotules. Les préparations subissent ensuite une ultime opération appelée métallisation qui consiste à recouvrir l'échantillon d'une mince

couche d'un métal conducteur. Elle se pratique dans un premier temps au moyen d'un évaporateur. On fait un vide poussé de  $10^{-4}$  torr par pompage puis un arc électrique est créé entre les extrémités de deux électrodes au carbone, ce qui produit une évaporation des atomes de carbone qui viennent se déposer sur l'échantillon (charbonnage). Dans un deuxième temps le matériel est doré au moyen d'un "sputtering". Cet appareil provoque le bombardement de la surface d'une petite masse d'or par des ions positifs d'argon sous un vide de  $10^{-2}$  torr. Des atomes d'or sont arrachés dont certains viennent recouvrir en une mince pellicule l'échantillon placé dans l'enceinte de l'appareil. La cage de Faraday ainsi créée autour de l'échantillon empêche la pénétration des électrons et prévient donc l'échauffement et la détérioration du matériel. Les observations ont été effectuées au microscope électronique à balayage Philips 500 PSEM.

#### b) Préparation pour la microscopie optique

Les individus, fixés de la même manière que pour l'observation au microscope électronique, sont stockés au réfrigérateur pendant une semaine dans le fixateur. Les nématodes sont ensuite transférés dans 0.5 ml d'une solution Seinhorst I (alcool 95°: 20 %, glycérine pure: 1 %, eau distillée: 79 %). Les échantillons sont déposés dans un dessiccateur à alcool (éthanol 96 %) qui est placé durant 12 heures au minimum dans une étuve à 35 - 40°C (Seinhorst, 1959). On complète ensuite le volume des échantillons avec une solution de Seinhorst II (alcool 95°: 95 %, glycérine pure: 5 %). Après passage à l'étuve pendant 10 à 12 heures, les récipients contenant les nématodes sont transférés dans un dessiccateur au chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) pendant une semaine. Finalement, les individus sont montés sur une lame de Cobb (double lamelle) dans de la glycérine pure (densité 1.26). Les kystes sont préalablement disséqués dans de l'acide lactique et les cônes vulvaires déposés sur une lamelle dans une goutte de glycérine gélatinée chauffés au bain-marie (9 gr de gélatine dans 40 cc d'eau distillée, 50 gr de glycérine, 1 gr de phénol). Ainsi, pendant que la glycérine gélatinée se refroidit et se solidifie, il est aisé d'orienter le matériel de manière optimale. Les observations ont été effectuées avec un microscope Wild

M 20 muni d'un tube à dessin permettant un grossissement maximum de 2000x.

## C. PARTIE EXPERIMENTALE

### 1. ETUDE MORPHOMETRIQUE ET MORPHOLOGIQUE AU MICROSCOPE ELECTRO- NIQUE A BALAYAGE

Notre intention n'est pas de refaire une description détaillée de H. carotae. De telles études existent déjà (Ambrogioni, 1971; Mathews, 1975). Cependant, étant donné les différences importantes des valeurs morphométriques des diverses populations de H. carotae décrites à ce jour (Tableau 3), il nous a semblé primordial de situer les populations suisses par rapport à ces variations. L'étude morphométrique de juvéniles prélevées à Fully (VS) démontra que la taille moyenne de ces individus ainsi que la longueur de la partie hyalina de leur queue dépasse nettement les valeurs antérieurement rapportées (Tableau 5). Le stylet par contre possède des dimensions semblables à celles des populations déjà décrites. La présence occasionnelle de juvéniles de taille très supérieure à la moyenne a également été observée par Valotton (comm. pers.) lors de nombreuses analyses de sol effectuées pour des cultivateurs valaisans. Les mensurations d'un autre lot de juvéniles, provenant de Saillon (VS), démontrent par contre une taille moyenne de 455  $\mu\text{m}$  qui correspond parfaitement avec les données bibliographiques. Jones (1950) dans la première description de H. carotae donne une valeur de 454  $\mu\text{m}$  pour la longueur moyenne des juvéniles instants. Pour expliquer ces variations, nous avons envisagé l'hypothèse suivant laquelle les juvéniles issus des kystes et ceux issus des masses d'oeufs pourraient présenter des tailles différentes. Les résultats exprimés au tableau 5 démontrent que ce n'est pas le cas. Bien que la longueur moyenne des juvéniles issus des masses d'oeufs soit légèrement supérieure à celle des juvéniles provenant des kystes correspondants, cette différence n'est assurée statistiquement (test de Duncan).

Les données morphométriques d'un lot de mâles issus de nos élevages en serre (Tableau 6) correspondent aux valeurs des cinq populations déjà décrites (Tableau 3): ils présentent cependant une taille légèrement supérieure ainsi qu'un stylet un peu plus

DONNÉES MORPHOMÉTRIQUES DE TROIS POPULATIONS SUISSES DE JUCHILLES DE HETERODOMA CAROTAE

	Fullr. (n = 10)	Saillon (n = 12)	Kyale, Alvega Changine (n = 15)	Huase d'oeuf, Alvega Changine (n = 16)
	moynne & écart-type	moynne & écart-type	moynne & écart-type	moynne & écart-type
	min. max. CV %	min. max. CV %	min. max. CV %	min. max. CV %
Longueur (µ)	496 ± 27,26 <sup>a</sup>	460 ± 16,43	410 ± 15,95	444 ± 25,28
n	21,26 ± 1,36	26,51 ± 76,11	20,15 ± 2,33	24,35 ± 1,6
Stylob (µ)	28,5 ± 1,49	21,5 ± 21,5	23,5 ± 0,62	23,89 ± 0,45
Lq (µ)	63,4 ± 4,81	46 ± 46	53,39 ± 3,43	53,12 ± 3,81
Lq,h (µ)	36,4 ± 4,03 <sup>b</sup>	32,1 ± 2,58	31,71 ± 3,21	33,42 ± 3,10
$\frac{Lq,h}{Lq}$	1,49 ± 0,18	1,15 ± 0,14	1,30 ± 0,12	1,39 ± 0,13
Sty.	1,95	12,09	1,49	1,18
		1,62	9,65	1,60
		10,88		9,32

<sup>a</sup> r différences assurées avec probabilité d'erreur P < 0,01

Lq r longueur de la queue

Lq,h r longueur de la partie hyaline, terminale de la queue

Tab. 6.

Données morphométriques des kystes, oeufs et mâles de *Heterodera carotae*

provenance : élevage Changins

	Kystes ( n=11 )			Oeufs ( n=11 )			Mâles ( n=12 )		
	moyenne $\pm$ écart-type	min. max.	cv %	moyenne $\pm$ écart-type	min. max.	cv %	moyenne $\pm$ écart-type	min. max.	cv %
Longueur ( $\mu$ m )	646.6 $\pm$ 85.89	500 775	13.28	107.1 $\pm$ 3.4	102.3 114	3.17	1239.5 $\pm$ 79.54	1125 1405	6.41
Largeur ( $\mu$ m )	411.4 $\pm$ 72.12	312.5 500	17.5	51.65 $\pm$ 1.22	50 53.5	2.37	32.7 $\pm$ 2.61	26.5 35	7.99
a	1.58	0.16 1.28	1.93	2.07	0.08 1.95	3.89	38.08	3.65 33.92	47.16 9.59
Stylet ( $\mu$ m )							26.97	0.54 26	2.03
Spicules ( $\mu$ m )							34.75	2.54 31	7.32
Fenêtres long. ( $\mu$ m )	57.5 $\pm$ 9.26	45 66	16.11						
" " ( $\mu$ m )	48 $\pm$ 2.60	44 52	5.43						
Pente vulvaire ( $\mu$ m )	52.5 $\pm$ 2.28	50 56	4.20						

court ; la longueur des apicules, au contraire, se situe bien à l'intérieur de la fourchette des valeurs mentionnées .

La comparaison des dimensions des kystes doit être faite avec une certaine prudence. Dans une même population il existe en effet des variations de taille énormes ; les coefficients de variation de la longueur (13.28 %) ou de la largeur (17.5 %) des kystes (Tableau 6) sont nettement supérieurs à ceux enregistrés pour la longueur du corps des juvéniles ou des mâles (3 % à 6 %). D'autre part, le kyste, en qualité de tégument mort de la femelle adulte, est fréquemment arraché de la racine, ce qui implique une détérioration de la partie antérieure ; le col par exemple peut être cassé ce qui peut expliquer en partie les variations de longueur. Néanmoins les valeurs affèrent à nos individus (Tableau 6) correspondent à celles publiées par Ambrogioni (1969) et Ambrogioni et Palmisano (1979), lesquelles valeurs sont cependant supérieures à celles données par Sturhan (1960), Mulvey (1972) et Mathews (1975). Pour ce qui est de la largeur, les kystes de nos populations apparaissent plus "dodues" que chez les autres, exception faite des kystes décrites par Mulvey (1972). La taille des oeufs est également plus grande; la longueur et la largeur de ces derniers sont en effet très largement supérieures aux valeurs connues, exception faite de la population d'Ambrogioni (1969) qui possède des oeufs d'une longueur moyenne de 112  $\mu$ m.

Il résulte de cette étude morphométrique que M. csrotae possède des juvéniles infestants de taille fort différente d'une population à l'autre. Ces variations ne s'expliquent ni par une origine différente des individus (kyste ou masse d'oeufs) ni par un isolement géographique, car des populations très dissemblables ont été prélevées dans une même région, le Valsais central, et dans des conditions pédologiques tout à fait identiques. On pourrait toutefois penser qu'un facteur d'origine alimentaire puisse être en cause. En effet, en cas de forte densité de population induisant une concurrence intraspécifique, il est connu que la quantité de nourriture influe sur la taille des individus. L'hyménoptère Ichneumon nigritarsis par exemple a des imagos dont la taille est fonction de celle de la chrysalide qui est parasitée par la larve (Dajoz, 1978). Tel pourrait être le cas chez les nématodes.

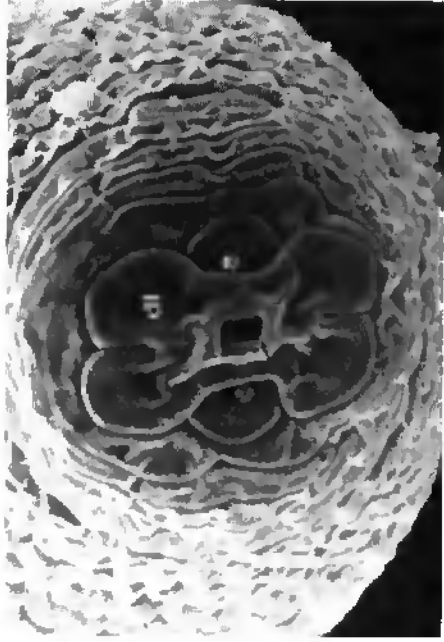
Dans un deuxième temps nous nous sommes intéressés à l'étude ultrastructurale de ce nématode par microscopie électronique à balayage. En effet, seuls les kystes ainsi que la face des juvéniles de deuxième stade de cette espèce ont fait l'objet de quelques rares études (Lamberti, 1971 b; Handschin, 1971; Stone, 1975; Ambrogloni et Palmisano, 1979).

a) Juvénile J<sub>2</sub>

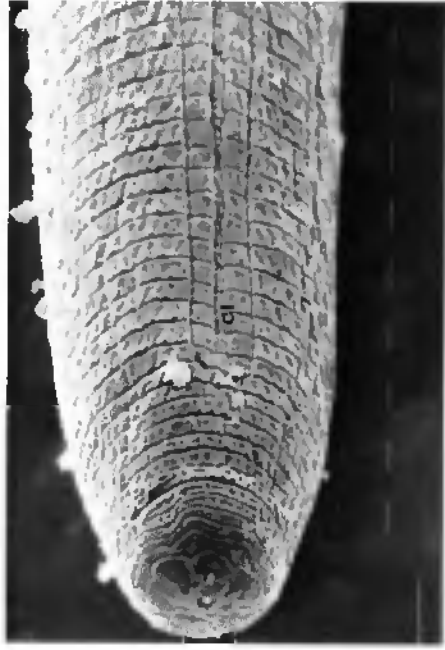
La partie labiale (ou céphalique) comprend quatre à cinq anneaux. En vue de face (Planche I a) le disque labial en fait invisible, a fusionné avec les secteurs labiaux subdorsaux et subventraux (cf. Baldwin et al., 1983). Les secteurs labiaux latéraux restent indépendants et entourant les amphides, ouvertures semi-circulaires placées latéralement au niveau de la constriction du "disque labial" entre les lobes ventraux et dorsaux. On observe dans une des ouvertures amphidiales un corpuscule sphérique. Il pourrait s'agir d'une sécrétion amphidiale qui, selon Endo (1978), servirait à tenir le nématode en position dans les tissus de la plante. On devine aux quatre coins de l'ouverture orale, carrée, les ouvertures des pores labiaux internes. Le champ latéral débute cinq anneaux en arrière de la légère constriction céphalique. Cette structure cuticulaire est composée de trois bandes présentant une aréolation régulière (Planche I b). L'anus, simple orifice circulaire est visible au niveau de la partie postérieure du juvénile dont la queue est progressivement effilée (Planche I c)

b) Juvéniles J<sub>3</sub> et J<sub>4</sub>

En vue générale (Planche II a) le juvénile de troisième stade se caractérise par un aspect "en boudin" dépourvu de queue et de champ latéral et, plus important encore, par une absence totale d'annelation cuticulaire. A fort grossissement (Planche II b) la cuticule apparaît très fortement plissée longitudinalement au niveau du pore excréteur. La partie postérieure est assez irrégulière et une ébauche de fente vulvaire semble se former antérieurement à l'anus (Planche II c). La Planche III a nous montre un individu à un stade J<sub>3</sub> plus avancé. Le gonflement du juvénile s'effectue par un étirement transversal de la cuticule rendu



a



b



c

Planche I

- a Juvénile (J2) en vue de face avec ouverture  
x 14520 orale (→), amphides (a), sécrétion amphidiale (←) et "disque labial" (dl).
- b Juvénile (J2) en vue de profil. Les 4 anneaux  
x 5320 céphaliques sont recouverts du "disque labial".  
7 anneaux après la légère constriction céphalique débute le champ latéral (cl).
- c Juvénile (J2). Vue ventrale de la partie  
x 2690 postérieure. Anus (→).



a



b



c

Planche II

a Juvénile (J3) in toto. Pore excréteur (→).  
x 620

b Détail du pore excréteur.  
x 5380

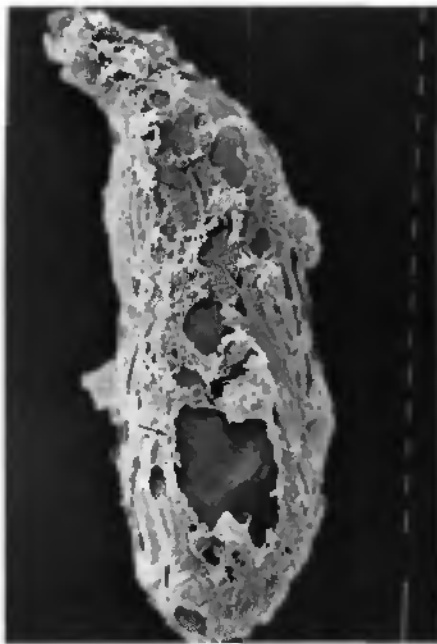
c Juvénile (J3). Partie postérieure en trans-  
formation.  
x 5360



a



b



c

Planche III

- a Juvénile (J3), Stade avancé. Notons l'absence  
x 550 de l'annelation cuticulaire transverse.
- b Juvénile (J3 - J4).  
x 500
- c Juvénile (J4) entouré des restes cuticulaires  
x 620 de stades précédents (→).

possible grâce à ses nombreux replis (Planche II b). Cette augmentation du volume se poursuit jusqu'à ce que la cuticule du juvénile de troisième stade apparaisse à nouveau tendue (Planche III b). La différence entre les stades  $J_3$  et  $J_4$  n'apparaît pas clairement au microscope électronique à balayage car il n'est bien évidemment pas possible de distinguer l'évolution des structures internes. Il n'est pas rare de trouver des restes cuticulaires, en partie déchirés, de stades précédents formant un réseau qui emprisonne le nématode (Planche III c). Grâce à la rupture de la cuticule, il est possible d'observer le mâle adulte totalement développé en place à l'intérieur des téguments du juvénile de quatrième stade (Planche IV a).

#### c) Mâle adulte

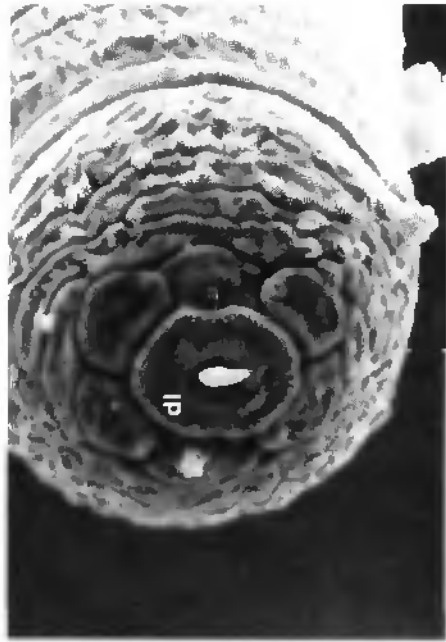
Le mâle adulte débarrassé des téguments des stades précédents apparaît replié quatre à cinq fois sur lui-même (Planche IV b). En vue de face le disque labiel, légèrement ovale est entouré de six secteurs labiaux bien délimités. Les secteurs latéraux bordent les amphides (Planche IV c). A plus fort grossissement (Planche V a), on remarque que l'ouverture orale est entourée des six pores labiaux internes. En vue de profil la partie antérieure du mâle se caractérise par une légère constriction (Planche V b) située postérieurement aux six anneaux céphaliques. Le champ latéral prend naissance au neuvième anneau postérieur à la constriction céphalique. Il est formé de trois bandes régulièrement aréolées. En progressant en direction de la partie postérieure on peut observer le pore excréteur, simple orifice situé ventralement au milieu de la fausse segmentation (Planche V c). Au milieu du corps, l'aréolation du champ latéral devient irrégulière tandis que la bande centrale reste lisse (Planche VI a). Il peut également arriver qu'aucune des trois bandes du champ latéral ne soit aréolée (Planche VI b). L'extrémité postérieure arrondie, sans appendice caudal, se caractérise par la présence d'un cloaque situé ventralement (Planche VI c). Les apicules laissant apparaître leur pointe bidentée (Planche VII a/b). Leur rôle comme organe copulateur guidant les spermatozoïdes à l'intérieur de la femelle apparaît à la planche VII c où les lames accolées forment un canal en gouttière.



a



b



c

Planche IV

- a Mâle adulte filiforme en position à l'intérieur  
x 590 des segments du juvénile (J4). Pore excréteur  
( → ),
- b Mâle adulte replié sur lui-même.  
x 690
- c Mâle en vue de face avec le disque labial (dl)  
x 1390 entouré des différents secteurs ( → ) du premier  
anneau céphalique. Amphide (a).

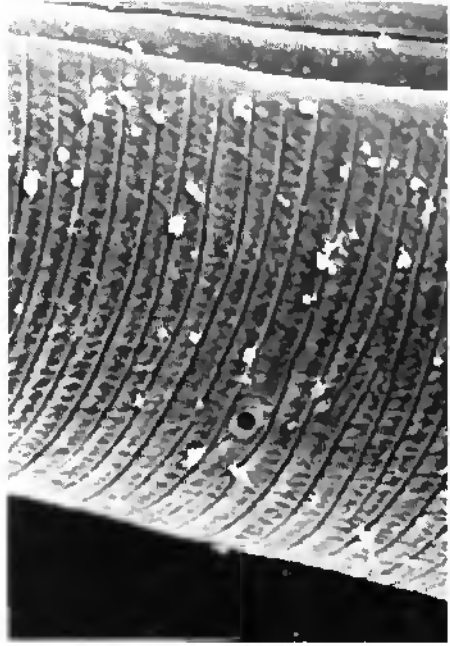
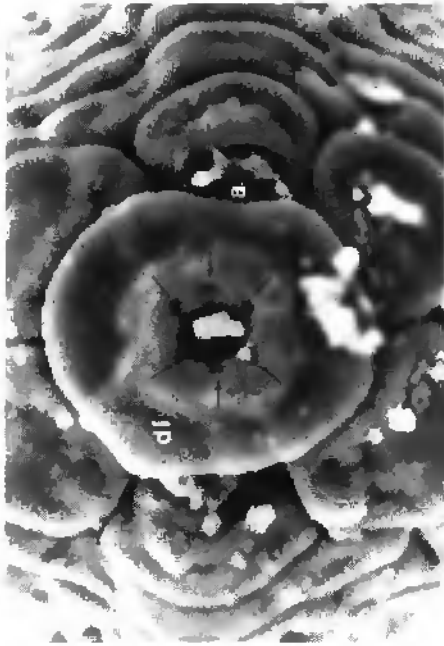
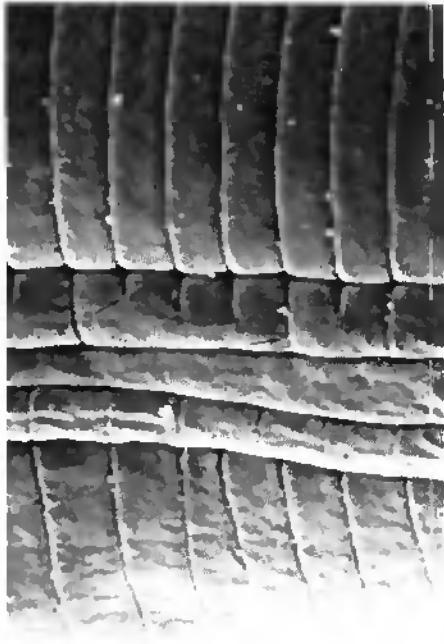
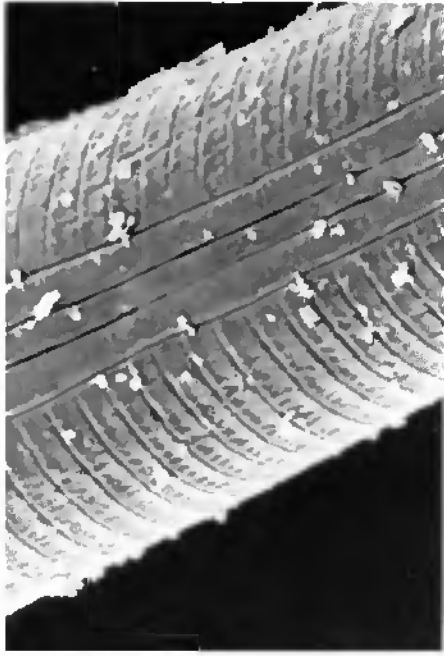


Planche V

- a MÂLE. Ouverture orale entourée des 6 pores  
x 21510 labiaux internes (→). Disque labial (dl),  
aphides (a).
- b MÂLE en vue de profil avec la constriction cépha-  
lique (→) et le début du champ latéral (cl).  
x 5380
- c MÂLE, pore excréteur (→).  
x 5380



a



b

Planche VI

- a Détail du champ latéral du mâle dont l'aréolation  
 x 10750 devient irrégulière ( → ).
- b A ce niveau les bandes du champ latéral sont  
 x 5380 lisses.
- c Mâle. Extrémité postérieure. Vue ventrale avec  
 x 5360 le cloaque ( → ).



c

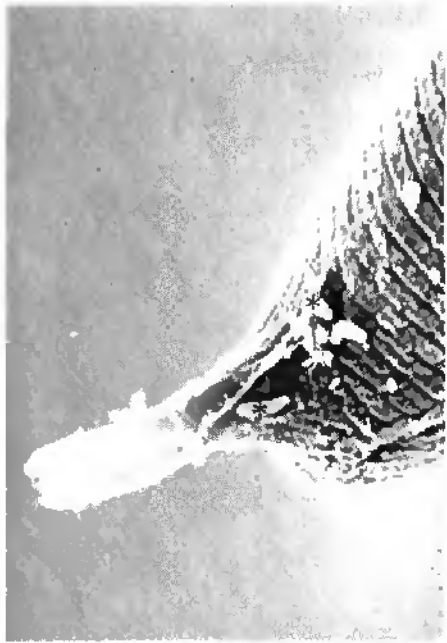


Planche VII

a Spicules extrudées. Bactéries (\*).

x 5380

b Détail des spicules avec extrémité bidentée (---).

x 10750

c Lames accolées des spicules formant un canal en

x 5380 gouttière.

#### d) Femelle adulte

Certaines femelles adultes, ou kystes blancs, ont été montées avec leur masse d'oeufs (Planches VIII a). On observe sur la cuticule de la femelle la présence d'une couche subcristalline (Planche VIII b). En séparant artificiellement la masse d'oeufs du kyste, on remarque que cette couche subcristalline n'est pas sécrétée à l'emplacement où se trouvait la masse gélatineuse (Planche VIII c). En vue de face la partie antérieure apparaît fortement modifiée (Planche IX a). Le disque labial, quadrangulaire, se distingue très bien de l'anneau labial. L'ouverture orale est ronde, les amphides ne sont pas visibles. L'annelette, désorganisée, est régulière à l'exception de quelques anneaux situés postérieurement à l'anneau labial. Il est parfois possible d'observer des individus avec le stylet extrudé (Planche IX b). Les stries de l'ornementation cuticulaire situées sur la partie bombée de la femelle globuleuse ne sont pas très profondes et semblent être étirées par le gonflement de l'animal (Planche IX c). Dans la région postérieure au contraire, les sillons sont de plus en plus marqués. L'anus, simple orifice elliptique, est situé dans une dépression, au milieu des sillons cuticulaires (Planche X a). Ce dernier cliché permet également de distinguer la région vulvaire d'une jeune femelle: on aperçoit la fente vulvaire bordée de chaque côté par le pont vulvaire, très étroit; les fenêtres et le bassin ne sont pas encore très bien délimités mais on devine cependant deux régions légèrement bombées, situées de part et d'autre de la fente vulvaire et sur lesquelles les sillons cuticulaires sont attompés. En vue de profil (Planche X b) le cône vulvaire est très en relief. A ce niveau les sillons sont profonds et étroitement entrelacés. En vue de face (Planche X c) on distingue deux zones semi-circulaires exemptes de sillons, séparées par la fente vulvaire, qui correspondent aux deux demi-fenêtres entourées du bassin vulvaire.

#### e) Kyste

Le kyste de M. carotea possède une forme typique en citron (Planche XI a). La partie postérieure et plus spécialement le cône vulvaire évolue en fonction de l'âge et du "vécu" du



a



b



c

Planche VIII

a Femelle avec sa masse d'oeufs (mo).

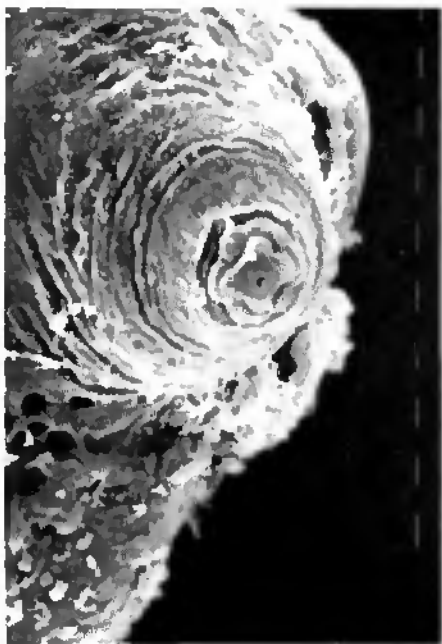
x 170

b Femelle en vue de face avec couche subcristalline (\*).

x 340

c Femelle en vue de profil. Couche subcristalline (+) et cône vulvaire (—→).

x 310



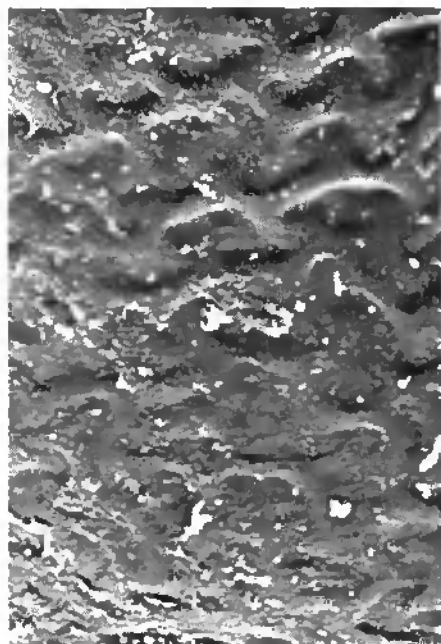
a



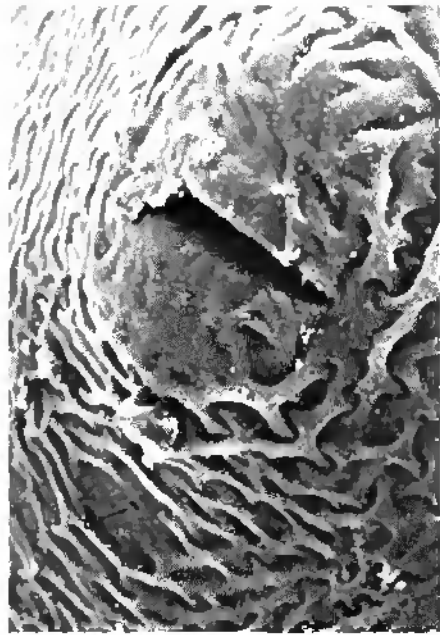
b

Planche IX

- a Femelle en vue de face avec disque labial  
x 5380
- b Femelle. Partie antérieure en vue de profil  
x 5380 avec le stylet extrudé.
- c Détail de l'ornementation cuticulaire de  
x 2690 la femelle.



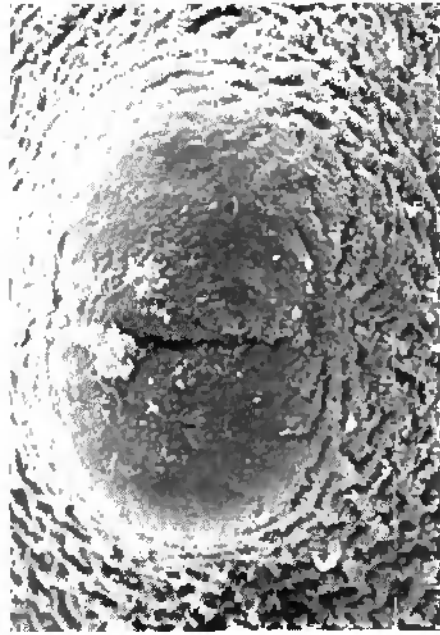
c



b



b



c

Planche X

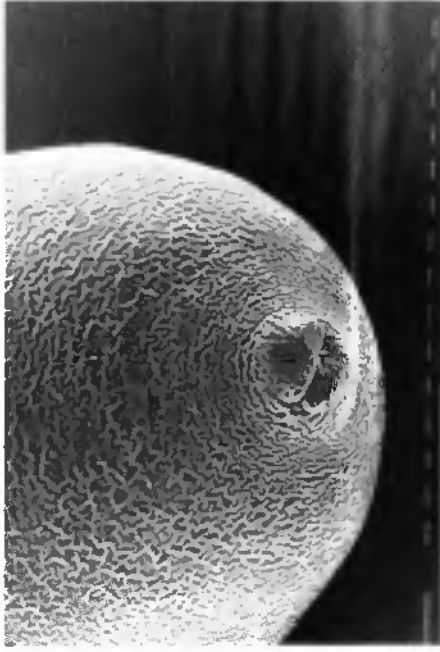
- a Femelle. Partie postérieure avec fente (—>) et bassin vulvaire (bv). anus (a —>). Les sillons de l'orientation cuticulaire, à cet endroit, sont très marqués.
- b Cône vulvaire en vue de profil.
- x 1340
- c Cône vulvaire en vue de face, fente vulvaire (—>) et fenêtres (f).
- x 1340

kyste. Dans un premier temps (Planche XI b) les fenêtres sont indemnes et la fente vulvaire entre-ouverte ; il faut noter les différences dans la disposition des sillons cuticulaires, entre la zone bombée du kyste où l'espace entre les plis est large, et la zone comprimée en bordure du cône vulvaire où les sillons, très serrés, forment un motif en "zig-zag". Le stade suivant correspond à un kyste un peu plus âgé (Planche XI c) : la fente vulvaire est largement ouverte parce qu'elle a permis le passage des oeufs déposés dans la masse gélatineuse. La planche XII a montre un stade encore plus avancé où les fenêtres ont été brisées par la sortie des juvéniles. La détérioration du cône vulvaire peut parfois se poursuivre (Planche XII b) jusqu'à ce que cette région devienne un cratère béant (Planche XII c).

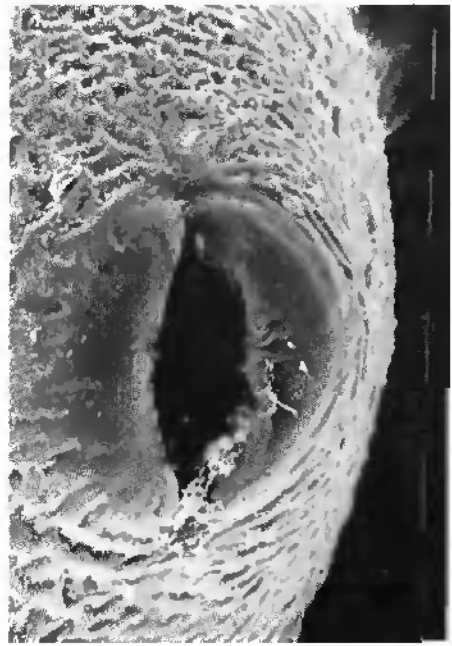
Il est intéressant de comparer nos résultats avec les observations déjà décrites dans la littérature. La forme du disque labial de nos individus est absolument identique à celle décrite par Stone (1975) dans une étude morphologique des juvéniles infestants de diverses espèces d'Heteroderidae. Cet auteur démontre en outre que la classification des différentes espèces d'Heterodera basée sur l'arrangement du disque labial des juvéniles concorde tout à fait avec les précédentes classifications de Mathews (1970) et Hulvey (1972; 1974) basées sur la structure du cône vulvaire. Ainsi la morphologie de la "face" des juvéniles apparaît être un critère taxonomique valable confirmant la proximité systématique de H. cruciferae, H. goettingiana, H. urticae et H. carotae. Cette parenté est confirmée par le travail de Green (1975) qui décrit une dépression anale relativement grande chez H. cruciferae, ce qui correspond également à notre description de la région anale de H. carotae. Cet auteur pense qu'une fente vulvaire large permettant la ponte des oeufs dans une masse gélatineuse est un caractère primitif. Il appuie son hypothèse sur le fait que en règle générale, les femelles de nématodes pondent leurs oeufs à l'extérieur de leur corps. Ainsi les espèces du groupe H. cruciferae, dont H. carotae, apparaissent comme une lignée primitive avec en son sein une tendance évolutive à la régression du nombre d'oeufs pondus dans une masse gélatineuse, comme c'est le cas chez H. goettingiana et H. urticae. Cette évolution devient de plus en plus prononcée chez



a



b



c

Planche XI

a Kyste in toto. Forme typique dite "en citron".

x 170

b Kyste. Cône vulvaire avec fenêtres intactes ( → )

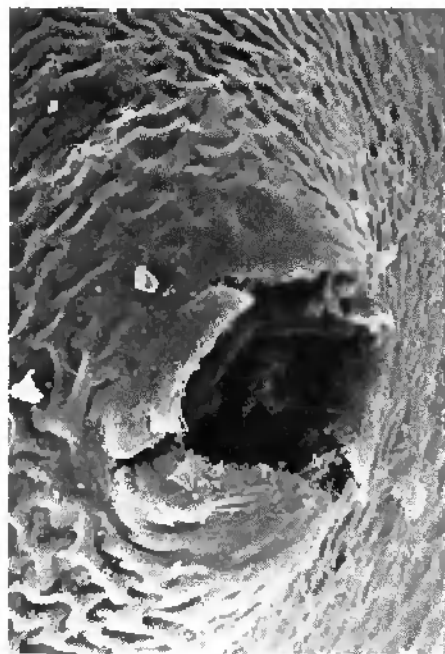
x 340 et ornementation cuticulaire en zig-zag.

c Cône vulvaire avec fente vulvaire élargie.

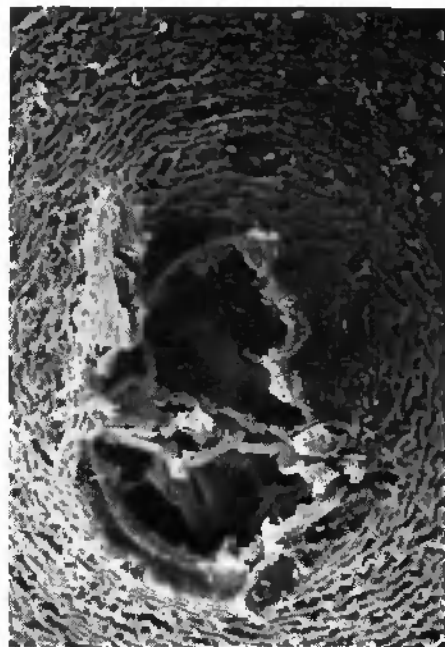
x 17200



a



b



c

Planche XII

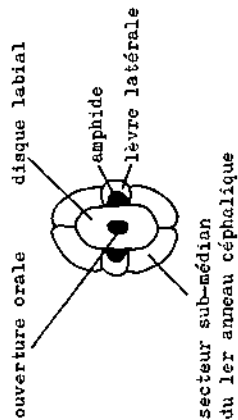
- a Cône vulvaire avec fenêtres partiellement  
x 1340 brisées (—→).
- b Cône vulvaire en partie détérioré par le  
x 1340 passage des juvéniles.
- c Cône vulvaire âgé, fortement détérioré, Restes  
x 1340 de la paroi du vagin (—→).

les espèces du groupe H. schachtii et celle du groupe H. avenae. La modification du comportement de ponte s'accompagne de transformations morphologiques et structurales des kystes, telles que la présence de bulles et d'un sous-pont très développé. Ce caractère primitif de H. carotae est légèrement en contradiction avec le travail de Stone (1975). Celui-ci pense que la structure de la face chez les espèces du groupe H. cruciferae traduit une position intermédiaire entre un arrangement primitif tel que celui observé chez H. betulae, H. waisai et H. cacti (sans d'un motif primitif type, à symétrie hexagonale, connu dans le genre Globodera) et d'un arrangement évolué décrit chez les espèces du groupe H. schachtii et chez H. avenae (Fig. 13). Ainsi les espèces apparentées à H. carotae apparaissent primitives ou semi-évoluées selon que l'on se base sur des critères morphologiques intéressant les kystes ou sur des critères morphologiques larvaires. D'autre part, la présence chez certaines espèces d'Heterodera de races biologiques qui, par définition, ne peuvent être différenciées morphologiquement, est confirmée par Rivoal (1974) qui, grâce au microscope électronique à balayage, décrit chez H. avenae une morphologie de la face identique pour les races Fr3 et Fr4.

Il faut relever encore que l'utilisation de l'ornementation cuticulaire des kystes comme caractère spécifique permettant une meilleure identification des espèces (Wieaer, 1953; Taylor, 1957; Lamberti, 1971 b) s'avère très problématique. Wilson (1969) et Green (1975) estiment que les variations de cette ornementation sont beaucoup trop importantes pour considérer celle-ci comme un caractère spécifique. Pour notre part, cette ornementation superficielle ne ressemble pas exactement à celle décrite chez H. carotae par Lamberti (1971 b).

Enfin, l'étonnante forme quadrangulaire du disque labial de la femelle (kyste blanc) est confirmée par un travail de Raski (1950) qui décrit le même arrangement chez H. schachtii. Dernièrement Luc et al. (1978) mentionnent également un disque labial quadrangulaire chez Hylonema ivorense, genre appartenant aussi à la famille des Heteroderidae. En ce qui concerne les mâles adultes, nous n'avons trouvé aucune référence d'études au microscope électronique à balayage pouvant permettre une comparaison.

Genre Globodera



arrangement type

primitif

H. cacti	H. cruciferae	groupe	H. schachtlii
H. betulae	H. carotae	H. schachtlii	
H. weissi	H. urticae	groupe	
	H. Goettingiana	H. avenae	

EVOLUTION

## 2. ETUDE DE LA QUALITE D'HOTE DE DIVERSES OMBELLIFERES SAUVAGES ET CULTIVEES

### 2.1 Inventaire des ombellifères sauvages ou adventices du Valais

#### 2.1.1 Description des stations étudiées

En suite à notre première hypothèse de travail, nous avons entrepris une étude floristique systématique des ombellifères de la plaine du Valais central. A cet effet, six stations réparties entre Collonges et Charvat ont été choisies afin de représenter différents types de prés à proximité plus ou moins immédiate de zones de cultures infestées par H. carotae. La première station est située sur la commune de Collonges (coordonnées 113.1/568.8; carte nationale No 1305 de la Dent de Morcles ; échelle 1:25000). L'endroit se trouve à la périphérie des zones de cultures maraîchères intensives et possède encore nombre de vieux vergers associés à d'anciennes prairies naturelles. La station No 1 représente ce type de milieu et la présence de vieux arbres fruitiers (Fig. 14) permet de supposer que la parcelle n'a plus été cultivée depuis environ 30 ans. Le couvert végétal au feuillage brillant traduit l'apport d'engrais organique amené par le bétail mis parfois à pâturer. Cette prairie grasse est généralement fauchée au début du mois de juillet.



Fig. 14. Station No 1.

La station No 2, également située sur la commune de Collonges (coordonnées 112.7/569.25) est caractérisée par sa richesse en carottes sauvages poussant dans un milieu très peu perturbé que l'on peut qualifier de prairie sèche en lisière de forêt (châtaignerie)(Fig. 15). Le sol maigre repose sur un substrat caillouteux provenant d'anciens éboulis granitiques.



fig. 15. Station No 2.

La station No 3 est un champ à l'orée d'un bois situé sur la commune de Doréuz (coordonnées 110.35/569.6). Selon le propriétaire du lieu, la parcelle, utilisée comme parc à cheval, n'a pas été mise en culture depuis plusieurs années (fig. 16).



Fig. 16. Station No 3.

La station No 4 (Fig. 17) se trouve au bas des contreforts des Follatères (coordonnées 110.2/569.8), dans une région ombragée et humide. La mince couche d'humus recouvre un substrat très sablonneux qui provient des anciennes alluvions du Rhône.



Fig. 17. Station No 4.

La station No 5 correspond aux talus bordant la route de Fully qui traverse une région de culture maraîchère très intensive (Fig. 18).



Fig. 18. Station No 5.

Enfin la station No 6 est située sur la commune de Cherrat (coordonnées 108.75/576.4 ; carte nationale No 1325 de Sembrancher ; échelle 1:25000). Cette parcelle rappelle la station No 1 car c'est également un ancien verger sur prairie grasse (Fig. 19) ; elle en diffère cependant par sa situation au milieu d'une zone à haute densité de cultures maraîchères.



Fig. 19. Station No 6.

## 2.1.2 Inventaire botanique

Durant l'été 1983 ainsi que le printemps et l'été 1984, nous avons recensé les ombellifères présentes dans les différentes stations. La majorité des plantes a été déterminées sur place à l'aide des ouvrages de Mc Clintock et Fitter (1964) et de Binz et Thommen (1976). Notre étude a permis de reconnaître 16 espèces d'ombellifères. La liste complète des ombellifères recensés figure au tableau 7.

Tab. 7. Liste des Ombellifères sauvages recensées au Valais avec leur répartition en fonction des stations.

Espèces	Stations					
	1	2	3	4	5	6
<i>Aegopodium podagraria</i> (l'herbe aux goutteux)	-	-	++	-	-	-
<i>Aethusa cynapium</i> (la petite ciguë)	-	-	-	-	+	-
<i>Angelica silvestris</i>	testée mais non trouvée au Valais					
<i>Anthriscus silvestris</i>	++	+	+	-	+	+
<i>Chaerophyllum aureum</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Chaerophyllum temulum</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Daucus carota</i> (la carotte sauvage)	+	++	+	+	++	++
<i>Heraclium sphondylium</i> (la patte-d'ours)	++	+	+	-	++	++
<i>Laserpitium siler</i>	hors station					
<i>Orlaya grandiflora</i>	hors station					
<i>Pastinaca sativa</i> (le pansis)	++	+	+	+	++	++
<i>Peucedanum creoselinum</i>	-	-	-	+	-	-
<i>Pimpinella major</i> (le grand boucage)	++	-	+	++	++	++
<i>Pimpinella saxifraga</i> (le petit boucage)	-	+	-	+	-	-
<i>Torilis arvensis</i>	hors station					
<i>Torilis japonica</i>	-	-	-	++	-	-

- : absente ; + : présente ; ++ : présente et abondante.

L'anthriscue sauvage (Anthriscus silvestris) apparaît la première ; ses ombelles blanches se déploient à la mi-mai. Cette espèce se retrouve dans la majorité des stations avec cependant une densité plus élevée dans la station No 1. A la même époque la patte d'ours (Heraclium sphondylium) commence de fleurir sur les bords de la route de Fully. Espèce très commune, la patte d'ours domina dans les stations 1,5 et 6. Elle est fréquemment accompagnée du panais (Pastinaca sativa), du grand boucage (Pimpinella major) et de la carotte sauvage (Daucus carota), espèces dont l'époque de floraison est plus tardive. Certaines plantes semblent inféodées à un seul milieu et deviennent ainsi caractéristiques d'une station sans être considérées pour autant comme espèces caractéristiques du point de vue phytosociologique. C'est le cas de l'herbe aux goutteux (Aegopodium podagraria), du cerfeuil penché (Chaerophyllum tanulum) ainsi que de la petite ciguë Aethusa cynapium. Le Peucedanum oreoselinum ne rentre pas dans cette catégorie car cette espèce fut découverte dans une zone d'éboulis en deça de la station No 3 proprement dite. Le petit boucage (Pimpinella saxifraga) se trouva uniquement dans deux stations ; sa répartition étant liée à la présence d'un sol maigre. D'autres espèces ont été rencontrées hors attention, mais toujours dans la région du Valais central, dans des biotopes très spécifiques tels que vieux murs de vigne et bord de chemin caillouteux. Toutes les espèces que nous avons recensées ont été signalées par Jaccard (1895) dans son catalogue de la flore valaisanne, et certains synonymisées ensuite par Bacherer (1956). Dans le but d'avoir à disposition des éléments de référence nous avons réalisé un herbier des principales plantes récoltées dans le Valais central. La détermination des espèces de la famille des ombellifères est très délicate. En effet, la plupart des caractères spécifiques se situent chez la graine. Certains d'entre eux ne sont d'ailleurs pas visibles à l'œil nu et il faut faire appel à la loupe binoculaire pour différencier, par exemple, Ornithoglossum arvensis de O. japonica (fig. 20). Étant donné l'importance de la graine dans la systématique des ombellifères, nous avons réalisé une collection des semences de toutes les espèces recensées dans nos stations.

Exemple de caractères permettant de différencier deux espèces  
d'ombellifères.

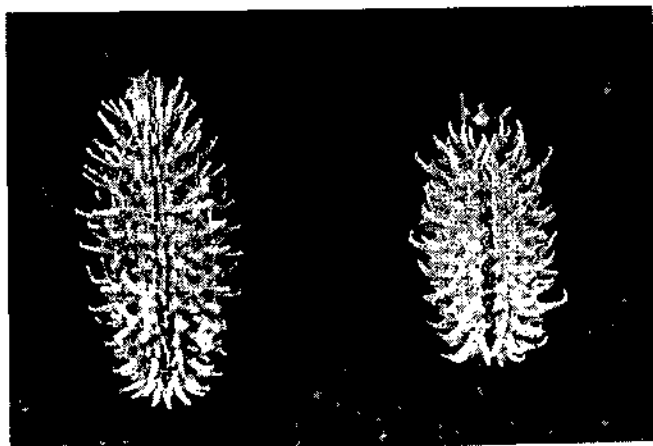


Fig. 20. Graines de I. arvensis et I. japonica.

I. arvensis  
aiguillons droits  
terminés en harpon.



I. japonica  
aiguillons arqués  
terminés en pointe.

## 2.2 Germination et culture des ombellifères

Le taux de germination au laboratoire des ombellifères sauvages est généralement faible (Robinson, 1954). Cela serait principalement dû à la présence de graines non viables, dépourvues d'embryons ou dont les embryons demeurent rudimentaires. C'est pourquoi, avant d'être mises en germination, les graines sont soumises au test au tétrazolium, afin d'évaluer leur viabilité et de connaître ainsi la qualité de nos stocks grainiers. Nous prélevons au hasard dix graines par lot à tester puis nous faisons une extrapolation en pourcentage des résultats observée (Fig. 21). Ainsi, le test au tétrazolium nous a permis d'isoler les lots de graines qui présentent, par espèce, le meilleur pourcentage de viabilité. Dans un deuxième temps nous avons tenté de faire germer les graines en les déposant dans une boîte de Petri sur papier filtre imbibé d'eau et d'acide gibbérélinique à 500 ppm. Ces boîtes de Petri sont placées dans des germinateurs réglés sur 12 h de nuit à 13°C et 12 h de jour à 18°C. Les résultats, assez décevants, seraient peut-être imputables à l'âge des graines. Il est connu que des semences trop fraîches possèdent des taux de germination très aléatoires (Guy, 1979). D'autre part, ces graines peuvent éventuellement se trouver en dormance, propriété bien connue chez certaines ombellifères (Robinson, 1954; Webster, 1979), même si elles ont réagi positivement au test au tétrazolium. C'est la raison pour laquelle nous avons stocké par la suite les graines de chaque espèce dans des boîtes de Petri contenant un papier filtre légèrement imbibé d'eau et placées pendant deux mois à 4°C à l'obscurité. Puis les graines sont mises en germination à raison de 15 par pots en argile de 12 cm de diamètre, remplis de terreau universel. Les séries sont placées en enceinte climatisée (12 h de jour à 16000 Lux et 18°C et 12 h de nuit à 13°C). Cette technique a livré de très bon résultats : en l'espace de deux mois, 70 % des espèces avait germé et était en pleine croissance, à l'exception d'Aegopodium podagraria, Heracleum sphondylium et Orleya grandiflora. Ces trois ombellifères germèrent de manière fortuite ce qui nous permit tout de même de les tester comme plantes-hôtes potentielles de H. carotee.

Fig. 21. Pourcentage de viabilité des différentes espèces  
d'ombellifères sauvages du Valais central.

(test au tétrazolium)

espèce	% de viabilité
<i>Acropodium podagraria</i>	100
<i>Aethusa cynapium</i>	90
<i>Anthriscus silvestris</i>	13.3
<i>Chaerophyllum temulum</i>	90
<i>Daucus carota</i>	80
<i>Heracleum sphondylium</i>	60
<i>Orlaya grandiflora</i>	10
<i>Pastinaca sativa</i>	50
<i>Peucedanum oreoselinum</i>	30
<i>Pimpinella major</i>	80
<i>Pimpinella saxifraga</i>	100
<i>Torilis arvensis</i>	70
<i>Torilis japonica</i>	100

La culture des ombellifères potagères n'a pas présenté de difficultés particulières puisque les graines de variétés commerciales ne sont pas affectées de dormance. Dix espèces végétales ont été testées.

### 2.3 Test biologique et essais en boîte de Petri

#### a) Test biologique

Le test biologique a mis en évidence le fait que, parmi les ombellifères sauvages recensées dans le Valais central, seule la carotte (D. carota), le torilis faux-cerfeuil (I. japonico) et, dans une proportion moindre, le torilis des champs (I. arvensis), permettent le développement de H. carotae (Tableau 8). Le petit boucage (P. saxifraga) permet très occasionnellement la multiplication du parasite. Parmi les ombellifères potagères (Tableau 9), seuls la carotte cultivée, (cv. Nendor fl) et le cerfeuil frisé (Anthriscus cerefolium) peuvent être considérés comme des plantes-hôtes, mais ce dernier de manière très médiocre. Ce test a permis de mettre en évidence avec une très grande certitude la multiplication du nématode. Par contre il n'a donné aucune information quant à la qualité possible de plante-piège de ces diverses ombellifères. C'est pourquoi nous avons également travaillé en boîte de Petri pour compléter l'information.

#### b) Essais en boîte de Petri

L'étude menée en boîte de Petri confirme les résultats obtenus ci-dessus. Cependant le cerfeuil frisé (A. cerefolium) et le torilis des champs (I. arvensis), qualifiés d'hôtes médiocres lors du test biologique, n'ont pas été atteints. D'autre part, le grand boucage (P. major) peut être exceptionnellement parasité sans pour autant permettre au nématode de terminer son cycle. Une nécrose a également été observée sur le petit boucage (P. saxifraga) mais aucun parasite intratissulaire n'a été observé.

Ainsi cette étude menée en partie sur des espèces non testées par Jones (1950) et Winslow (1954) a permis d'observer deux

Tab. 8. Evaluation de la qualité d'hôte de diverses  
ombellifères sauvages du Valais

Espèces	Test biologique Nombre de kystes bruns néoformés		Boîte de Petri % de pénétration
	Nbre de kystes totaux	Moyenne de 5 répétitions	
<i>Aegopodium podagraria</i>	0		0
<i>Aethusa cynapium</i>	0		0
<i>Angelica silvestris</i>	0		0
<i>Chaerophyllum aureum</i>	0		0
<i>Chaerophyllum temulum</i>	0		0
<i>Daucus carota</i>	916	152.6 (6 répétitions)	63
<i>Heracleum sphondylium</i>	0		0
<i>Laserpitium siler</i>	0		0
<i>Orlaya grandiflora</i>	0		0
<i>Pastinaca sativa</i>	0		0
<i>Peucedanum oreoselinum</i>	0		0
<i>Pimpinella major</i>	0		3
<i>Pimpinella saxifraga</i>	2	0.4	1 nécrose
<i>Torilis arvensis</i>	12	2.4	0
<i>Torilis japonica</i>	551	110.2	10.5

Tab. 9. Evaluation de la qualité d'hôte de diverses

ombellifères potagères

Espèces	Test biologique Nombre de kystes bruns néoformés		Boîte de Petri % de pénétration
	Nbre de kystes totaux	Moyenne de 5 répétitions	
Ache de Montagne	0		-
Aneth	0		0
Carotte cv. Nandor F1	535	178,3 (3 répétitions)	60
Céleri à côtes	0		0
Céleri à couper	0		0
Céleri-rave	0		0
Cerfeuil frisé	3	0.6	0
Fenouil	0		0
Panais demi-long	0		0
Persil cv. Paramount	0		0

ombellifères sur lesquelles H. carotae se multiplie. Le torilis faux-cerfeuil (T. japonica) est à considérer comme une excellente plante-hôte étant donné que le nématode s'y développe aussi fortement que sur la carotte. Le torilis des champs (T. arvensis), sur lequel Valletton (1980) a déjà observé le développement complet de H. carotae, apparaît par contre dans nos tests comme une plante-hôte médiocre. Le petit boucage (P. saxifraga) ainsi que le cerfeuil frisé (A. cerefolium) ne sont pas à prendre en considération bien que permettant occasionnellement le développement de deux ou trois individus. Le grand boucage (P. major), exceptionnellement parasité dans notre étude expérimentale, pourrait être éventuellement considéré comme plante-piège car aucune femelle néoformée n'a été découverte lors de l'analyse au moyen du biotest. Il est enfin également intéressant de noter que parmi les ombellifères potagères étudiées, seule la carotte permet un important développement du ravageur. Pour compléter la gamme de plantes-hôtes de H. carotae il faut ajouter le torilis à large feuille (Caucalis = Torilis leptophylla) sur lequel Mugniery a pu multiplier le nématode (Valletton, 1980). Cette ombellifère est signalée en Suisse par Binz et Thomman (1976) comme plante rare et adventice, ce qui explique que nous ne l'ayons pas trouvée dans nos stations valaisannes. Ainsi quatre espèces botaniques appartenant à deux genres d'une même famille permettent à H. carotae de se reproduire (Aubert, 1985).

#### 2.4 Recherche de la présence du nématode dans les prairies naturelles

En parallèle à l'expérience précédente, et pour tenter de connaître la répartition du parasite en dehors des cultures maraîchères, nous avons entrepris un sondage systématique de la rhizosphère des ombellifères recensées dans nos différentes stations. Des échantillons d'environ 1 dm<sup>3</sup> de sol sont prélevés auprès de cinq plantes par espèce et par station. Au laboratoire nous prélevons des sous-échantillons de 250 cc que nous passons au décanteur à contre-courant pour en extraire les kystes. Le tableau 10 indique le nombre moyen de femelles brunes d'Heterodera trouvées par station et par espèce botanique. Il est inté-

Tab. 10. Présence de nématodes à kyste du genre *Heterodera* dans la rhizosphère  
des ombellifères sauvages du Valais central

Espèces botaniques	Nombre de kystes (moyenne de 5 répétitions ± écart-type)					
	Stations					
	1	2	3	4	5	6
<i>Aegopodium podagraria</i>	-	-	4	-	-	-
<i>Aethusa cynapium</i>	-	-	-	-	1,8±1.9	-
<i>Anthriscus silvestris</i>	29,8±23.9	3,6±5.1	1±1			
<i>Chaerophyllum temulum</i>	-	-	0	-	-	-
<i>Daucus carota</i>	5,2±5.9	13,8±20.7	5,4±7.4	6,2±7.5	82,2±78.2	0,6±0.8
<i>Heracleum sphondylium</i>	14±26.4	15,8±23.4	6±4,8	-	16,4±17.3	42±4.4
<i>Pastinaca sativa</i>	10,4±6.18	6,4±3.4	9,8±7.9	3,2±7.1	2,2±2.2	0,8±0.4
<i>Peucedanum oreoselinum</i>	-	-	-	9,8±10.4	-	-
<i>Pimpinella major</i>	3,2±5.4	-	4,6±4,3	3,4±2.4	7±11.8	0,6±0.8
<i>Pimpinella saxifraga</i>	-	30,2±31.9	-	6,6±8.2	-	-
<i>Torilis japonica</i>	-	-	-	10±16.9	-	-

ressant de remarquer que le plus grand nombre de kystes semble inféodé à la rhizosphère de la carotte sauvage de la station No 5. Ceci peut s'expliquer par la présence à côté de cette parcelle d'un champ de carotte probablement infesté. Cependant, lors des prélèvements effectués dans la rhizosphère des ombellifères, nous contaminons bien évidemment nos prises d'échantillons avec de la terre issue de la rhizosphère de graminées et autres plantes poussant aux alentours des ombellifères. Ceci explique la présence de kystes à proximité de la masse racinaire d'espèces botaniques ne permettant pas la multiplication de H. carotae. Ce tableau donne ainsi un aspect uniquement quantitatif de la répartition des nématodes à kyste du genre Heterodera. C'est pourquoi nous avons entrepris, dans un deuxième temps, une analyse qualitative au moyen d'un biotest afin d'isoler la présence de H. carotae en conditions naturelles. Seuls les échantillons de terre provenant de la rhizosphère des deux plantes-hôtes du nématode ont été analysés. Un sous-échantillon de 250 cc de sol est prélevé dans les échantillons les plus riches en kystes. Le sol est passé au décanteur à contre-courant et le refus de tamis contenant les éventuels kystes est ensuite versé dans un sachet en nylon pour servir ainsi d'inoculum. Les élevages sont réalisés de manière identique au test biologique avec, comme plante discriminante, la carotte cultivée, cv. Nandor Fl. Quatre mois plus tard, le contenu des pots est extrait au décanteur à contre-courant et soigneusement analysé sous la loupe binoculaire de même que la masse racinaire de la carotte, au cas où quelques kystes y seraient restés accrochés. Les résultats, qui figurent au tableau 11, pourraient traduire la répartition d'une espèce en voie de disparition.

Tab. 11.      Recherche de la présence en milieu prairial de Heterodera  
carotae dans la rhizosphère de deux ombellifères sauvages  
du Valais par multiplication sur plante-hôte au moyen d'un

biotest

espèce	stations					
	1	2	3	4	5	6
Daucus carota	0	0	0	0	150*	0
Torilis japonica	-	-	-	0	-	-

\* = nombre de kystes néoformés

En effet, H. carotae ne fut isolé que de la rhizosphère de carottes sauvages provenant de la station No 5.

Ces résultats nous suggèrent quelques remarques:

1. il faut se souvenir que la station No 5 est située en pleine zone de culture intensive de carotte. L'échantillon fut prélevé sur le talus bordant d'un côté la route de Fully et de l'autre côté un champ de carotte. Les pieds de carotte sauvage avaient probablement été contaminés par des juvéniles provenant du champ ou par des kystes amenés sur le talus par le maraîcher lors des travaux de culture.
2. Le fait de ne pas trouver de kystes néoformés dans la majorité des séries ne signifie pas que la nématode n'existe pas dans ces stations. En effet, il est possible que les populations naturelles se trouvent à une densité d'équilibre relativement basse, ce qui ne permet pas d'isoler le parasite par la méthode du biotest. Il n'est pas exclu également que le contenu des kystes servant d'inoculum puisse se trouver en dormance et qu'une période de quatre mois ne soit pas suffi-

samment longue pour permettre la levée de cette dormance hypothétique, la libération des juvéniles infestants, la pénétration et le développement du parasite dans les tissus végétaux.

Ainsi, lorsque les résultats sont positifs, comme c'est le cas pour la station N° 5, cette expérience permet d'assurer avec certitude la présence de H. carotæe en conditions naturelles. Par contre, lorsque les résultats sont négatifs, il n'est pas possible d'affirmer que le nématode n'existe pas dans les stations étudiées.

### 3. ETUDE DU CONTENU DES KYSTES ET DES MASSES D'OEUFS

Dans la pratique, le degré de contamination du sol par les nématodes du genre Heterodera est souvent exprimé sous forme d'un nombre de kystes par unité de volume de sol. Cette indication assez grossière et imprécise peut être affinée en précisant le nombre de kystes pleins et le nombre de kystes vides ou, mieux encore, en recensant les juvéniles ou oeufs vivants à l'intérieur des kystes (expression en nombre d'individus par gr de sol). Cependant, comme nous l'avons vu au chapitre morphologie, la taille des kystes varie énormément. Par conséquent nous pouvons supposer que le potentiel infectieux représenté par le contenu des kystes, doit également varier passablement d'un individu à l'autre. D'autre part, le développement embryonnaire des oeufs au sein d'un kyste n'est peut-être pas homogène. Le potentiel infectieux que représentent les masses d'oeufs est également mal connu. Ces différentes raisons nous ont donc poussé à identifier le contenu d'une population de kystes et de masses d'oeufs.

Schéma expérimental : Le contenu d'un pot de nos élevages en serre âgé d'environ quatre mois a été passé au décanteur à contre-courant. Nous avons choisi au hasard parmi la population extraite un lot de 40 kystes ou de 40 masses d'oeufs de première génération sur lesquels nous avons effectué le test au new blue R. Lors de l'observation à la loupe binoculaire, le contenu des kystes et des masses d'oeufs est divisé en sept catégories selon le stade de développement et la vitalité des individus. Les

résultats sont exprimés en pourcentage d'individus par catégories de même qu'en fréquence de kystes ou masses d'oeufs par classe (chaque classe représentant une fourchette de contenu). Résultats : La figure 22 contient les paramètres utilisés pour caractériser notre échantillon de kystes. Nous remarquons que le contenu moyen d'une femelle adulte de H. carotae est de 215 individus. La dispersion autour de la moyenne est relativement importante, ce qui induit un coefficient de variation également élevé. La meilleure information que nous puissions tirer de cette étude est sans aucun doute la répartition du contenu de ces kystes au sein des différentes catégories. Ainsi il apparaît que 77 % des individus contenus dans les femelles brunes de H. carotae âgées de quatre mois se trouve sous forme d'oeufs pleins, vivants, renfermant un juvénile de deuxième stade totalement formé (Fig. 22 A). Sur les 23 % restant, les oeufs pleins en cours de développement correspondent à 17 % si bien qu'il ne reste que 5 % d'oeufs vides et morts. Précisons que la mortalité ne touche que 2.5 % (juvéniles et oeufs morts) du contenu des kystes. Signalons encore que la répartition des kystes dans les différentes classes suit une courbe de Gauss classique (Fig. 22 B).

Les résultats de l'étude du contenu de 40 masses d'oeufs sont présentés à la figure 23. Il ressort de cette analyse que le contenu moyen des masses d'oeufs, 411.95 individus, avoisine le double de celui des kystes. Par contre, la dispersion autour de la moyenne est moins importante, ce qui induit un coefficient de variation de 26.26 % qui est environ 10 % inférieur à celui enregistré pour les kystes. En ce qui concerne la répartition du contenu des masses d'oeufs dans les différentes catégories, on remarque que les oeufs pleins vivants et entièrement formés sont légèrement moins nombreux que les oeufs pleins embryonnés (fig. 23 A) et que ces deux catégories réunies représentent environ 92 % du contenu des masses d'oeufs ; les 8 % restant correspondent pour moitié aux oeufs vides et pour moitié aux oeufs morts.

Fig. 22. Identification du contenu de 40 kystes de *H. carotae*

Nombre moyen d'individus (oeufs + juvéniles) par kyste :  $215.10 \pm 76.60$

Minimum : 30

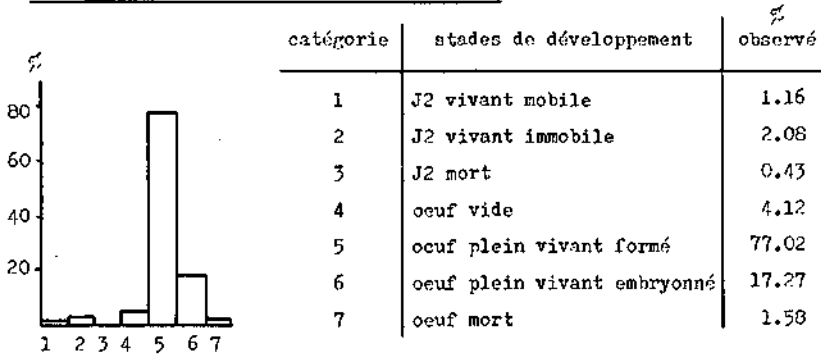
Coefficient de variation : 35.61 %

Maximum : 352

Intervalle de confiance P 0.05 23.75

P 0.01 31.14

A. Etude qualitative du contenu des kystes



B. Etude quantitative du contenu des kystes

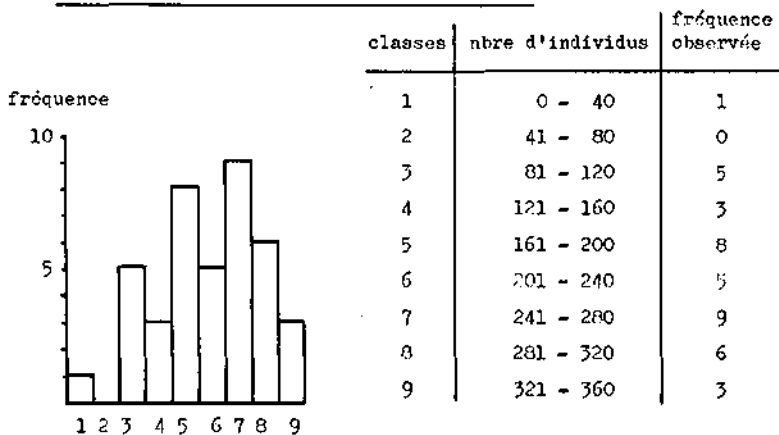


Fig. 23. Identification du contenu de 40 masses d'oeufs de *H. carotae*

Nombre moyen d'individus (oeufs + juvéniles) par masse d'oeufs :  $411.95 \pm 108.2$

Minimum : 116

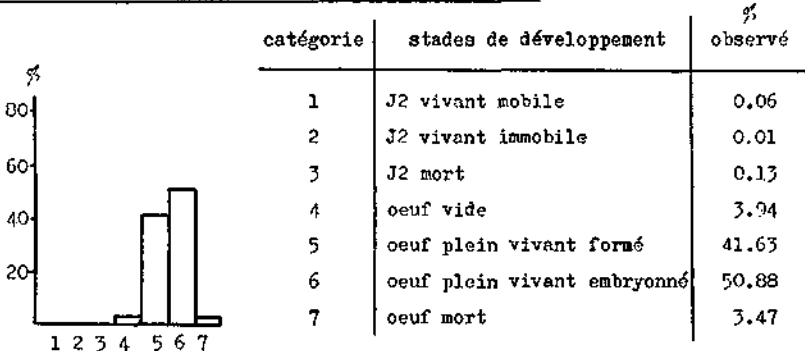
Coefficient de variation : 26.26 %

Maximum : 637

Intervalle de confiance P 0.05 33.51

P 0.01 44.31

A. Etude qualitative du contenu des masses d'oeufs



B. Etude quantitative du contenu des masses d'oeufs

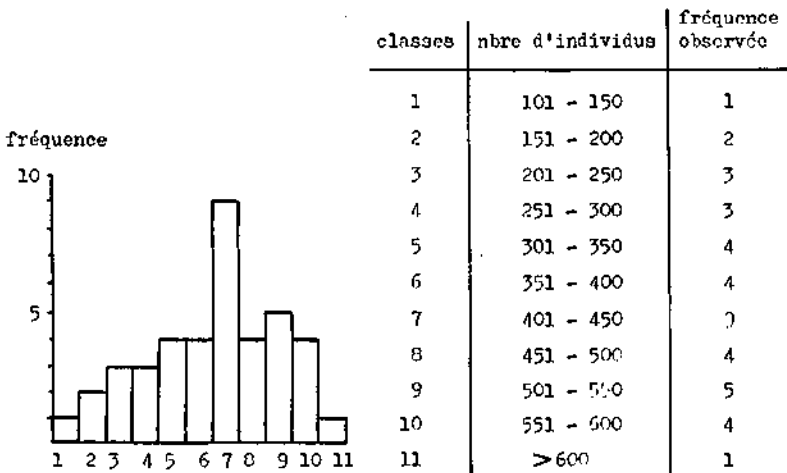




Fig. 24. Oeufs embryonné ( → ) et oeufs entièrement formés avec ( $J_2$ ).

Lorsque l'on compare le contenu des kystes à celui des masses d'oeufs, on remarque que les catégories les plus importantes sont les mêmes. Cependant le développement des kystes semble plus avancé que celui des masses d'oeufs car les oeufs pleins vivants et totalement formés représentent 77 % du contenu par opposition à 41 % enregistré pour les masses d'oeufs. Ceci peut s'expliquer de deux façons :

1. Pour des raisons pratiques nous avons extrait les kystes et les masses d'oeufs de deux élevages différents et à des dates différentes. Celui contenant les masses d'oeufs a été réalisé en partie durant un hiver, période pendant laquelle la croissance des cultures sous serre est ralentie, même en conditions contrôlées.
2. Nous avons volontairement extrait les masses d'oeufs à partir d'un élevage moins âgé (les kystes correspondants étaient encore blancs) que celui des kystes, pour ne pas risquer de récolter des masses d'oeufs qui auraient déjà commencé à libérer des juvéniles.

Ainsi, à âge égal et dans des conditions d'élevage identiques,

le contenu des kystes n'est pas à un stade de développement plus avancé que celui de leur masse d'oeufs. Nous avons remarqué, au contraire, que les oeufs des masses encore adhérentes aux kystes sont en avance sur le développement des oeufs contenu dans les kystes. Soit les oeufs des masses sont formés et prêts à éclore, alors que dans les kystes ils sont encore embryonnés, soit ils sont en partie déjà vidés et ceux dans des kystes prêts à éclore. Ceci provient du fait que les oeufs des masses sont formés avant ceux des kystes. Notons enfin que la différence entre le nombre moyen d'individus par kyste et par masse d'oeufs est hautement significative ( $P < 0.001$ ). Cette étude a permis de mettre en évidence une grande homogénéité du contenu des kystes et des masses d'oeufs âgés d'environ quatre mois. Il est intéressant de noter d'autre part que le potentiel infectieux des masses d'oeufs est deux fois supérieur à celui des kystes.

#### 4. MISE EN EVIDENCE D'UNE DIAPAUSE PARTIELLE

Les résultats obtenus au chapitre précédent nous ont permis de cerner de manière plus précise l'importance réelle du potentiel infectieux représenté par les kystes et les masses d'oeufs. Cependant, il nous manque encore une information de premier ordre à savoir l'état physiologique d'une population fl âgée d'environ quatre mois. En effet, selon que le contenu des kystes et des masses d'oeufs se trouve en état de diapause ou non, le potentiel infectieux aura des répercussions à plus ou moins long terme.

Schéma expérimental : Le matériel provient de la population de première génération extraite précédemment, lors de l'identification du contenu des kystes et des masses d'oeufs. Vingt individus sont prélevés au hasard et placés en boîte quadricellulaire (boîte de Behringer) à raison d'un kyste ou d'une masse d'oeufs, dans un sachet en nylon, et d'une plantule de carotte par cellule. L'élevage se déroule dans les conditions décrites au chapitre matériel et méthode No 4.5. Quatre mois plus tard, le contenu des boîtes est passé au déconteur à contre-courant selon la méthode mixte afin d'extraire la totalité de la population néoformée. Le refus des tamis à mailles de 45  $\mu$ m. est cen-

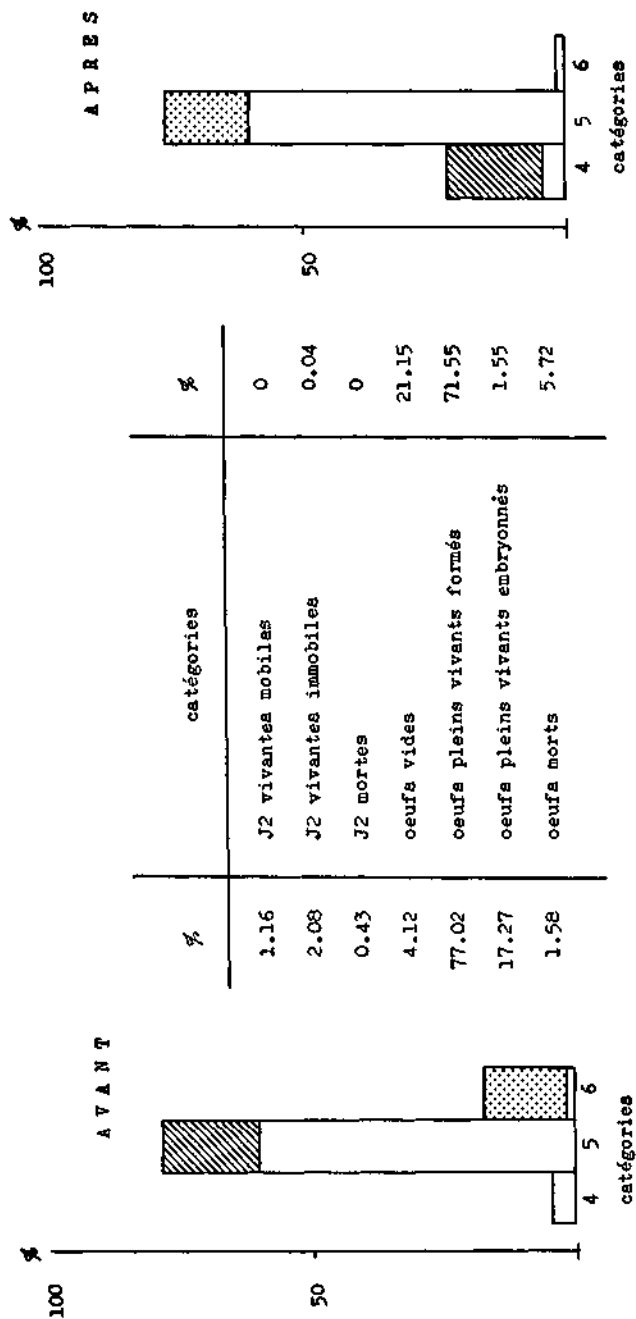
trifugé. La plantule est pesée (poids sec) et ultrabroyée afin de pouvoir décompter les stades endoracinaires. Les kystes parentaux (retenus dans les sachets en nylon) sont soumis au test au new blue R et leur contenu classé selon les sept catégories définies au chapitre précédent.

#### 4.1 Expérience effectuée avec les kystes

Résultats : L'analyse des kystes ayant servi d'inoculum démontre que 71.5 % de leur contenu est représenté par des oeufs pleins vivants renfermant un juvénile de deuxième stade (fig. 24) ; 21.15 % représentent des oeufs vides et les 6 % restant sont répartis dans trois catégories à savoir 5.72 % d'oeufs morts, 1.55 % d'oeufs pleins vivants embryonnés et 0.04 % de juvéniles vivants immobiles. Il est intéressant de comparer ces chiffres avec ceux figurant la répartition du contenu des kystes de la même population avant la mise en élevage. Nous constatons une augmentation du nombre d'oeufs vides ainsi qu'une diminution du nombre d'oeufs pleins embryonnés et d'oeufs pleins renfermant un juvénile de deuxième stade (fig. 25). Il semble donc que le développement des oeufs embryonnés se poursuive pendant la durée de l'élevage, ce qui induit une augmentation du nombre d'oeufs contenant un juvénile totalement formé. Cette augmentation compense ainsi la diminution due à l'éclosion partielle des oeufs contenant une  $J_2$  avant la mise en élevage, ce qui explique que le pourcentage de la catégorie 5 avant et après élevage soit presque identique. En d'autres termes, le pourcentage de la catégorie 5 (oeufs pleins vivants avec  $J_2$ ) après culture (71.55) correspond au pourcentage de la catégorie 5 avant culture (77.02) moins le pourcentage de la catégorie 4 (oeufs vides) après culture (21.15) auquel s'ajoute la différence entre les pourcentages de la catégorie 6 (oeufs pleins vivants embryonnés) avant et après culture ( $17.27 - 1.55 = 15.72$ ). Ces chiffres démontrent également que le 55.8 % du contenu des kystes se trouvent en diapause. Ce pourcentage correspond en effet au pourcentage du nombre de juvéniles formés, retenus dans le chorion de l'oeuf avant la mise en culture (77.02), moins le pourcentage du nombre d'oeufs vides après la mise en culture

Fig. 25. Comparaison du contenu moyen des Kystes de Heterodera carotae avant et après élevage

pendant 120 jours à 15°C



(21.15), donc en pourcentage d'osufs qui n'ont pas évolué durant les quatre mois de la durée expérimentale.

Nous constatons d'autre part à travers l'analyse d'une population produite en boîte quadricellulaire et engendrée à partir d'un seul kyste, que le nombre d'individus formés varie énormément d'une répétition à l'autre (Tableau 12). Le taux de multiplication qui correspond au rapport de la population finale sur la population initiale ( $P_f/P_i$ ), ou, en ce qui nous concerne, au nombre moyen de femelles blanches et brunes formées à partir d'un seul kyste, se situe à 11.5 avec un coefficient de variation de 162 %. En effet, sur vingt kystes étudiés, seuls six ont produit véritablement une nouvelle génération ( $P_f/P_i=35$ ). Cinq ont permis le développement de moins de dix individus alors que neuf ne semblent pas avoir été en phase active. Ainsi nous pouvons déduire de ces résultats que 45 % d'une population de première génération âgée de quatre mois se trouvent en diapause complète. Les 55 % restant se trouveraient en diapause partielle car une partie seulement du contenu des kystes a éclos et s'est développée alors que, comme il a été vu plus haut, l'autre partie représentant les 55.8 % se trouvent en diapause. Ceci est confirmé par la distribution des différents stades (à l'exception des juvéniles de deuxième stade) au sein de la population néoformée (Tableau 12). On remarque que le 97 % des individus se trouve sous forme de stades adultes et que les stades larvaires endoracinaires ne représentent que 3 %. Cette répartition démontre bien que l'infestation se déroule en plusieurs temps ou par vagues successives, sinon nous devrions rencontrer un pourcentage d'individus plus ou moins identique pour chaque stade. Lorsque nous prenons en considération les juvéniles de deuxième stade, la proportion d'adultes reste toujours bien supérieure, ce qui confirme notre hypothèse d'une infestation en plusieurs vagues, comme c'est le cas par exemple chez H. achactii (Caubel, comm. pers.). Cependant nous avons volontairement décidé de ne pas tenir compte des juvéniles de deuxième stade car la provenance de ces individus peut prêter à confusion. Les juvéniles proviennent en effet :

- soit des kystes parentaux (inoculum) et correspondent alors à des individus de première génération formant une deuxième vague d'infestation;

Tab. 12. Analyse d'une population âgée de quatre mois et produite à partir

d'un seul kyste en boîte quadricellulaire, sur carotte

répétitions	J2	J3	J4 ♀	J4 ♂	♂	kystes blancs	kystes bruns	total sans J2	total avec J2
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	17	-	2	1	3	9	-	15	32
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	15	-	-	-	-	47	2	49	64
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	1	1	8	-	10	10
12	75	-	-	-	1	45	1	47	122
13	28	1	1	-	1	25	-	28	56
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	1	-	-	-	-	1	-	1	2
16	3	-	1	-	4	46	13	64	67
17	12	-	-	-	1	4	-	5	17
18	24	-	1	-	1	18	3	23	47
19	1	-	-	-	2	3	-	5	6
20	10	-	-	-	1	5	-	6	16
total	186	1	5	2	15	211	19	253	439
moyenne	9.3	0.05	0.25	0.1	0.75	10.55	0.95	12.65	21.95
% sans J2		0.39	1.97	0.79	5.92	87.39	7.5		
% avec J2	42.36	0.22	1.13	0.45	3.41	48.06	4.32		

- soit des kystes ou des masses d'oeufs néoformées et appartenant donc à une deuxième génération. Il n'est pas impossible en effet, dans un élevage de quatre mois, que les individus néoformés commencent à éclore. Dans ce cas, nous comptabiliserons des juvéniles de deuxième génération en plus des stades  $J_2$  de première génération.

Ceci est confirmé par les données du tableau 13, où l'on constate, dans certains cas, que la totalité des individus formés et des juvéniles ( $J_2$ ) retrouvés dépasse le nombre d'oeufs vides enfermés dans le kyste parental.

La présence simultanée d'individus issus de ces deux origines par chevsuchement des générations est donc possible.

D'autre part, lorsque nous comparons le nombre d'oeufs vides et le nombre d'individus formés à partir du même kyste, nous remarquons une différence extrêmement importante. Cette perte moyenne est d'environ 58 % et concerne principalement les juvéniles de deuxième stade.

#### 4.2 Expérience effectuée avec les masses d'oeufs

Dans un deuxième temps nous nous sommes intéressés à la population produite en boîte quadricellulaire à partir d'une seule masse d'oeufs par cellule. Au moment de l'extraction, l'élevage était âgé de quatre mois et demi et la deuxième génération avait déjà débuté. C'est pourquoi nous n'avons pris en considération que les kystes bruns afin de comptabiliser avec certitude des individus de première génération. Nous constatons sur le tableau 14 que le taux de multiplication ( $Pf/Pi$ ) moyen est de 127.3 avec un coefficient de variation de 56.23 %. En effet, les 20 masses d'oeufs étudiées ont produit une nouvelle génération avec des variations qui pour être importantes d'une répétition à l'autre, n'en sont pas moins acceptables en regard de celles enregistrées dans les élevages inoculés avec un seul kyste. Ainsi il n'existe pas, contrairement à ce qui se passe avec les kystes, de dépense totale au sein des masses d'oeufs étudiées.

Malheureusement, à la fin de l'expérience nous n'avons pu retrouver les masses d'oeufs ayant servi d'inoculum, placées pourtant dans des sachets en nylon. Il n'a donc pas été possible

Tab. 13. Pertes enregistrées lors de l'extraction des juvéniles

de deuxième stade

répétitions (kyste)	osufs vides	individus formés et retrouvés	différence	perte %
1	2	0	2	100
2	7	0	7	100
3	?	0	?	?
4	0	0	0	0
5	60	0	60	100
6	125	32	93	74.4
7	0	0	0	0
8	?	0	?	?
9	197	64	133	67.51
10	4	0	4	100
11	44	10	34	77.27
12	114	122	+ 8	0
13	226	56	170	75.22
14	2	0	2	100
15	14	2	12	85.71
16	?	67	?	?
17	88	17	71	80.68
18	41	47	+ 6	0
19	9	6	3	33.33
20	16	16	0	0

‰ moyen de perte = 58.47

Tab. 14. Nombre de kystes néoformés à partir d'une  
seule masse d'oeufs comme inoculum

répétitions	kystes blancs	kystes bruns	total
1	14	163	177
2	46	70	116
3	18	169	187
4	22	195	217
5	19	38	57
6	16	81	97
7	58	72	130
8	21	123	144
9	81	101	182
10	97	98	195
11	162	209	371
12	27	52	79
13	72	78	150
14	98	239	337
15	191	39	230
16	170	307	477
17	68	164	232
18	33	115	148
19	13	80	93
20	63	153	216

moyenne kystes bruns :  $127.3 \pm 71.58$

coefficient de variation : 56.23 %

d'analyser l'évolution de leur contenu avant et après élevage. Cependant, nous avons vu, au chapitre 3, que le nombre moyen d'individus par masse d'oeufs de la même population est d'environ 411 ; étant donné que nous observons un nombre moyen de 127 individus formés (compte non tenu des femelles blanches, des mâles, des stades endoracinaires et des juvéniles éclos, perdus ou morts) nous pouvons estimer à environ 280 le nombre moyen maximum d'individus encore présents dans les masses d'oeufs après élevage. Par contre nous ne pouvons pas connaître le pourcentage d'oeufs morts ou vivants non plus que le pourcentage d'oeufs plains totalement développés ou peut-être encore embryonnés. Par conséquent, nous ne pouvons pas nous prononcer sur la présence éventuelle d'une diapause partielle au sein des masses d'oeufs. Notons enfin que le contenu des kystes correspond à la moitié environ de celui des masses d'oeufs ; nous aurions donc pu nous attendre à un taux de multiplication deux fois supérieur pour ces dernières. Or, même sous estimé, le rapport  $P_f/P_i$  rencontré dans les élevages réalisés à partir d'une masse d'oeufs est dix fois supérieur à celui enregistré dans les élevages réalisés à partir d'un kyste.

## 5. ETUDE DES MODALITES DE L'ECLOSION DES JUVENILES (J<sub>2</sub>)

Comme nous l'avons vu au point 4 de l'introduction, les modalités de l'éclosion peuvent, chez les nématodes à kystes du genre Heterodera, varier d'une espèce à l'autre. Selon notre troisième hypothèse de travail, il serait possible que les populations de H. carotae adaptées à nos conditions climatiques éclosent de manière quelque peu différente des populations méditerranéennes de cette même espèce. D'autre part, l'éclosion des œufs, qu'ils soient contenus dans les masses d'œufs ou dans les kystes, étant le point de départ d'une nouvelle génération, il nous a paru important d'étudier dans le détail cette phase du cycle biologique du nématode. Pour ce faire, nous avons abordé les modalités de l'éclosion des juvéniles contaminants (J<sub>2</sub>) sous cinq angles différents.

### 5.1 Influence des exsudats radiculaires spécifiques sur le taux d'éclosion du parasite

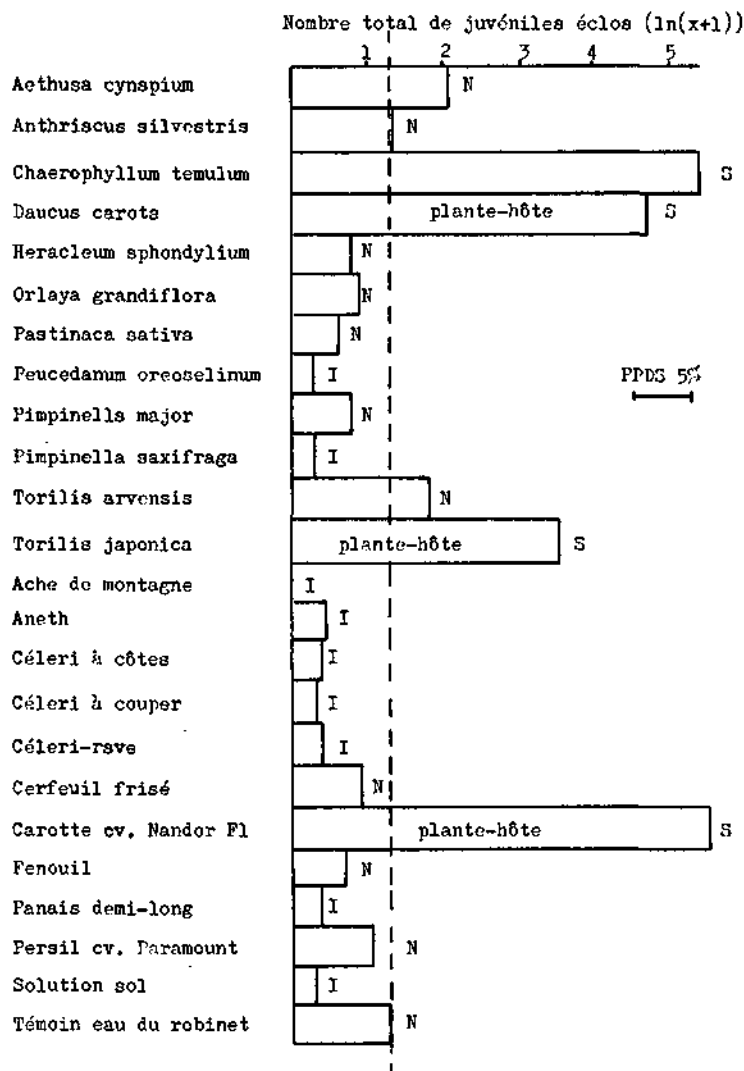
H. carotae semble appartenir au groupe d'espèces nécessitant l'apport d'exsudats radiculaires pour éclore. Cependant, exception faite de la carotte cultivée et de quatre ombellifères potagères testées par Winslow (1955), nous ne connaissons pas l'influence des exsudats radiculaires d'autres espèces végétales, plantes-hôtes ou non, sur le taux d'éclosion de ce parasite. C'est pourquoi nous avons décidé d'étudier les modalités de l'éclosion du nématode en relation avec différentes ombellifères sauvages communes dans le Valais et de quelques espèces potagères appartenant à la même famille.

Schéma expérimental : Cinq fois six kystes de H. carotae sont déposés sur un tamis à éclosion. Les exsudats de 12 espèces d'ombellifères sauvages et de 10 espèces d'ombellifères cultivées ont été testés et les résultats comparés à un double témoin : une "solution sol" (à partir de pots remplis de terreau sans culture d'ombellifères) et une "solution témoin" (eau du robinet). Les expériences se sont déroulées en cellule climatisée avec une alternance de température de 13 heures à 18°C et 11 heures à 12°C. Chaque semaine les solutions d'exsudats, le "so-

lution sol" et la solution témoin des tamis à éclosion sont renouvelées et les juvéniles éclos décomptés sous la loupe bino-  
culaire.

Résultats : Nous constatons que le taux d'éclosion de H. carotae est étroitement lié à la nature de l'exsudat radiculaire (Fig. 26). En effet, l'exsudat radiculaire de la carotte cultivée, cv. Nandor Fl, produit le taux d'éclosion le plus élevé. Se classent ensuite le cerfeuil penché (Chaerophyllum temulum), la carotte sauvage (Daucus carota), le torilis faux-cerfeuil (Torilis japonica), la petite cigüe (Aethusa cynapium) et le torilis des champs (T. arvensis). L'étude statistique au moyen du test de Duncan après transformation des données en  $\ln(x+1)$  démontre qu'il n'y a pas de différence significative entre le nombre de juvéniles éclos dans l'exsudat radiculaire du cerfeuil penché et celui de la carotte sauvage ou de la carotte cultivée d'une part ainsi qu'entre le nombre de juvéniles éclos dans l'exsudat radiculaire du torilis des champs et de la petite cigüe d'autre part. Il est intéressant de noter qu'aucune ombellifère cultivée, à l'exception de la carotte, ne provoque une éclosion importante. Nos résultats correspondent ainsi à ceux de Winslow (1955) qui a testé le panais, le cumin, le persil et le céleri. Le cas du cerfeuil penché, (Ch. temulum), ombellifère sauvage, est plus délicat à interpréter ; nous avons observé que cette espèce végétale ne permet pas la multiplication du nématode et qu'elle ne joue pas non plus le rôle de plante-piège ; cependant elle induit une éclosion aussi importante que celle produite par la carotte cultivée. Un phénomène identique est décrit pour H. schachtii dont l'éclosion est stimulée par certaines plantes hôtes (Hesperis matronalis, Coronopus squamatus) (Jonas, 1950). De même, l'éclosion de G. rostochiensis est positivement influencée par certains clones non hôtes de Solanum tuberosum ssp andigena (Williams, 1958). S'agissent des carottes sauvages ou cultivées ainsi que du torilis faux-cerfeuil, l'influence positive de leurs exsudats radiculaires sur l'éclosion des juvéniles de H. carotae semble logique car ces espèces se sont révélées être des plantes-hôtes. Pourtant il peut arriver qu'une plante-hôte ne favorise pas l'éclosion du nématode ; tel est le cas de la crucifère Coronopus squamatus et du nématode à kyste H. cruciferae (Winslow,

Fig. 26. Nombre total de juvéniles éclos à partir de kystes placés dans de l'exsudat radiculaire d'ombellifères sauvages et cultivées



S = exsudat radiculaire stimulateur

I = exsudat radiculaire inhibiteur

N = exsudat radiculaire neutre

x = moyenne de 5 répétitions avec 6 kystes par répétition

1955). A l'examen de la figure 26, on remarque que les exsudats de neuf espèces d'ombellifères provoquent une éclosion statistiquement identique à celle du témoin (N). D'autre part, seules les trois plantes-hôtes et le cerfeuil penché provoquent une éclosion nettement supérieure (écart significatif) au témoin (S). Enfin, pour huit espèces végétales et la "solution sol", on observe un niveau d'éclosion très inférieur (écart également significatif) à celui du témoin (1). Le rôle inhibiteur de certains exsudats radiculaires sur l'éclosion des nématodes a déjà été remarquée par Mägi (1970) cité par Clerke et Perry (1977). Selon ces auteurs, les exsudats radiculaires des ombellifères : Archangelica litoralis, Hercules sibiricum, Anthriscus silvestris, Pimpinella saxifraga, P. major peuvent diminuer d'environ 50 % le taux d'éclosion du nématode à kyste de la pomme de terre (Globodera rostochiensis).

On voit donc, dans notre étude, que les exsudats radiculaires d'espèces appartenant à la même famille botanique peuvent n'avoir aucune action, stimuler ou inhiber l'éclosion de H. carotae.

## 5.2 Éclosion différentielle des kystes et des masses d'œufs

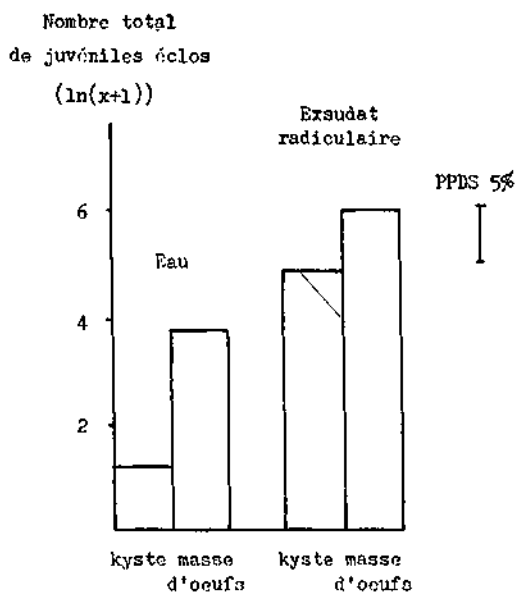
Nous avons vu au points 3 et 4 de la partie expérimentale que d'une part les masses d'œufs renferment, en moyenne, deux fois plus d'individus que les kystes et que, d'autre part, contrairement à ces derniers, il n'existe pas de diapause, si ce n'est éventuellement partielle, chez les masses d'œufs. Et, toujours selon notre troisième hypothèse de travail, il est possible que les modalités de l'éclosion diffèrent chez les kystes et les masses d'œufs correspondantes.

Schéma expérimental : Des kystes avec leur masse d'œufs ont été extraits de nos élevages en serre. Nous avons ensuite prélevés au hasard 100 kystes porteurs d'une masse d'œuf que nous avons déposés séparément sur un témoin à éclosion à raison de cinq fois dix kystes dans de l'exsudat radiculaire de crotte cultivée cv. Nandor fl et cinq fois dix kystes dans de l'eau du robinet. Nous avons procédé de manière identique avec les masses d'œufs correspondantes. Les conditions expérimentales sont les mêmes que celles décrites au point 5.1.

Résultats : Les histogrammes présentés à la figure 27 confirment très clairement l'action positive de l'exsudat radiculaire de la carotte cultivée sur l'éclosion des juvéniles infestants de H. carotae. L'analyse quantitative démontre que les masses d'oeufs placées dans de l'exsudat radiculaire livrent le plus grand nombre de juvéniles. En revanche, les masses d'oeufs déposées dans de l'eau du robinet fournissent un nombre nettement inférieur de juvéniles éclos. Le même phénomène s'observe pour les juvéniles issus des kystes, avec par contre un taux d'éclosion plus bas que chez les masses d'oeufs. L'analyse statistique par le test de Duncan montre qu'il existe une différence significative quant au nombre de juvéniles libérés entre masses d'oeufs et kystes. Etant donné que le contenu moyen d'une masse d'oeuf (411 individus) est approximativement le double de celui de son kyste parental (215 individus), on peut expliquer en partie l'énorme différence d'éclosion observée en chiffre absolu. Si toutefois nous tentons d'exprimer le niveau d'éclosion en pourcentage de juvéniles éclos par rapport au contenu moyen d'un kyste ou d'une masse d'oeuf, nous remarquons que l'éclosion des juvéniles à partir des masses d'oeufs demeure supérieure à celle des kystes (tableau 16, 1ère ligne). La dynamique de l'éclosion des juvéniles mérite également notre attention (fig. 28). Dans l'eau du robinet on observe que les juvéniles ne sortent pratiquement pas des kystes. Les masses d'oeufs par contre libèrent quelques individus durant les dix premiers jours. Placés dans de l'exsudat radiculaire, les kystes ne fournissent pas de juvéniles durant les 55 premiers jours puis libèrent ensuite un nombre moyen de juvéniles. Pour les masses d'oeuf, on assiste à une libération rapide de juvéniles durant les 20 premiers jours. A cette première phase d'éclosion fait suite une période d'environ 20 jours où l'éclosion stagne pour reprendre ensuite de manière très marquée durant 20 autres jours. Nous pouvons tirer trois remarques de ces courbes :

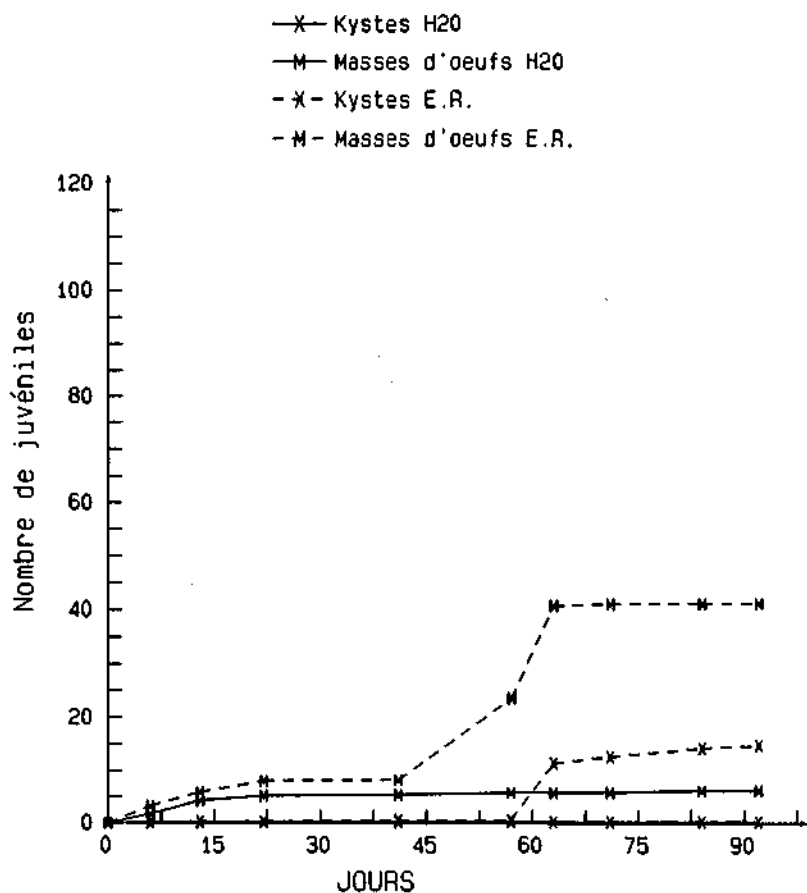
- a) les juvéniles contenus dans les kystes semblent être en diapause, laquelle pourrait être en partie levée après un contact d'environ deux mois avec de l'exsudat radiculaire de carotte.

Fig. 27. Nombre total de juvéniles éclos à partir de kystes et de leurs masses d'oeufs correspondantes placés dans de l'eau et de l'exsudat radiculaire de carottes cultivée cv. Nandor F1



x = moyenne de 5 répétitions avec 10 kystes ou masses d'oeufs par répétition.

Fig. 28. Moyenne cumulée de juvéniles éclos à partir de kystes et de leurs masses d'oeufs (M.O.) correspondantes placés dans de l'eau (H2O) et de l'exsudat radiculaire (E.R.).



- b) Les masses d'oeufs pourraient être soumises à une diapause partielle. En effet, une partie de leur contenu éclôt immédiatement, aussi bien dans de l'eau du robinet que dans l'exsudat radiculaire alors qu'une autre fraction nécessite, à la manière du contenu des kystes parentaux, une période d'incubation dans de l'exsudat radiculaire pour éclore de façon importante.
- c) Il ne semble pas que le délai d'attente de deux mois avant l'éclosion du contenu des kystes puisse être imputable à un développement embryonnaire non terminé. En effet, nous avons remarqué au point 3 que le contenu de kystes âgés de quatre mois se composait, pour environ 70 %, de juvéniles contaminants encore enfermés dans le chorion de l'oeuf. Par conséquent s'il n'existait pas de diapause, on pourrait s'attendre à un taux d'éclosion d'environ 70 %, ce qui est en contradiction avec nos propres observations.

A cet égard, nous confirmons cependant les résultats de Greco (1981) qui signale une diapause chez les kystes néoformés de H. carotae dans les conditions du sud de l'Italie. Par contre notre étude n'a pas permis de mettre en évidence des pourcentages d'éclosion aussi élevés que ceux obtenus par Greco. En ce qui concerne les masses d'oeufs, cet auteur démontre que leur éclosion est plus rapide et plus forte que celle des kystes, mais il ne semble pas qu'elles soient affectées d'une diapause, même partielle ; tout au plus est-il noté un arrêt d'éclosion lorsque la température extérieure dépasse 20°C. Les cinétiques et différences de l'éclosion des juvéniles issus des kystes et des masses d'oeufs correspondantes ont déjà été décrites par Merny (1966) chez Heterodere oryzae, nématode parasite du riz en Afrique tropicale. Il a été démontré ainsi que les masses d'oeufs libèrent des juvéniles en plus grand nombre que les kystes. Finalement, nous remarquons dans le tableau 16, 1<sup>ère</sup> ligne, que les pourcentages approximatifs d'éclosion sont très faibles. Nous pourrions supposer que la durée expérimentale a été trop courte et que les juvéniles sont libérés des kystes et des masses d'oeufs par étapes successives. Cette supposition confirmerait donc notre hypothèse des vagues d'infestations émise au point 4. Ainsi, concernant la dynamique d'éclosion en

plein sol, les masses d'oeufs de H. carotae agiraient en tant que potentiel infectieux à court et à moyen terme, tandis que les kystes joueraient le rôle de réservoir contagieux à long terme, en ne libérant les juvéniles que de manière modérée et échelonnée ; un tel schéma ressemble à celui décrit pour H. oryzae (Merny, 1966).

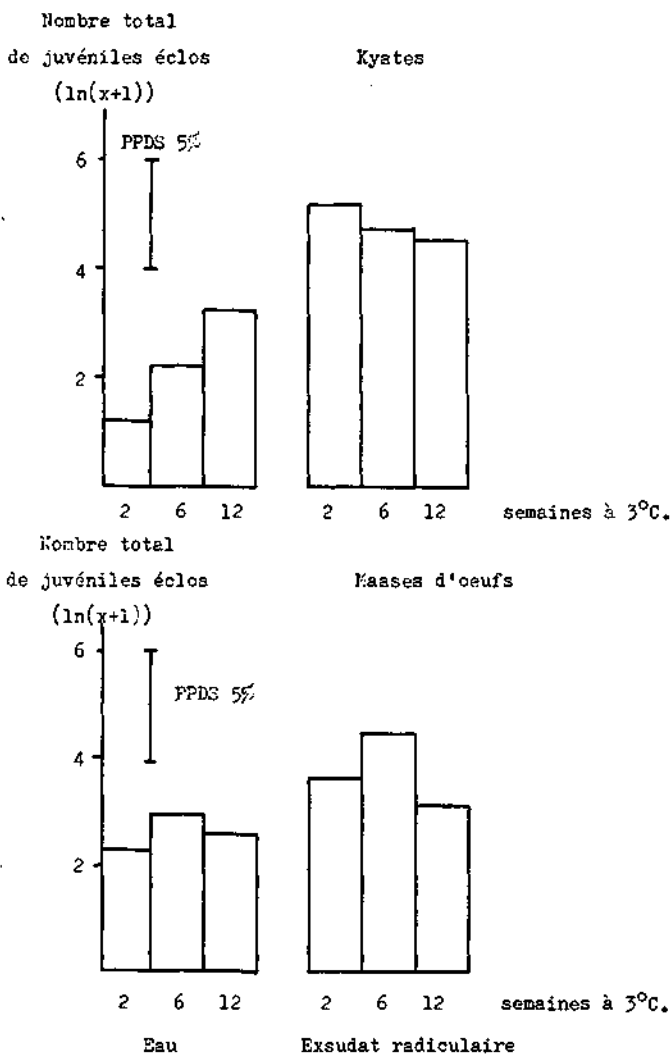
### 5.3 Influence d'un choc thermique de durée variable sur l'éclosion

A la suite des résultats obtenus au chapitre 5.2, il nous a semblé intéressant de tenter d'augmenter le pourcentage d'éclosion de H. carotae. Nous avons pensé qu'un choc thermique pourrait, comme pour d'autres espèces de nématodes tels que H. rostochiensis ou H. avenae (Shepherd et Cox, 1967; Banyer et Fisher, 1971 b; Rivoal, 1979 b), stimuler les juvéniles et permettre ainsi une éclosion plus importante et plus concentrée dans le temps.

Schéma expérimental : 180 kystes et 180 masses d'oeufs sont extraites de nos élevages en sarre et réparties en trois séries stockées respectivement durant 2, 6 et 12 semaines à 3°C, à l'obscurité dans une atmosphère saturée en humidité. Les séries sont ensuite mises à éclore dans de l'eau du robinet et dans de l'exsudat radiculaire de carotte cultivée, cv. Nandor F1 à raison de cinq kystes ou masses d'oeufs par répétition et six répétitions par procédé. L'expérience se déroule pendant trois mois dans les conditions citées au chapitre 5.1.

Résultats : Il ressort de cette expérience qu'un passage au froid stimula principalement l'éclosion des juvéniles issus des kystes placés dans de l'eau du robinet (Fig. 29). En revanche, pour les kystes déposés dans de l'exsudat radiculaire l'éclosion est diminuée. D'autre part, les masses d'oeufs ne semblent pas être influencées par un choc thermique, présentant tout au plus une légère diminution du nombre de juvéniles éclos dans les séries exposées à l'exsudat radiculaire. Ceci peut être également observé sur les figures 30 a, b, c où la moyenne cumulée des juvéniles éclos est exprimée en fonction du temps. On remarque un rapprochement des courbes (Fig. 30 a, c) qui résulte d'une diminution du nombre de juvéniles éclos à partir des mas-

Fig. 29. Nombre total de juvéniles éclos à partir de kystes et de leurs masses d'oeufs correspondantes après différentes périodes de stockage à 3° C.



x = moyenne de 6 répétitions avec 5 kystes ou masses d'oeufs par répétition

Fig. 30 a. Moyenne cumulée de juvéniles éclos dans de l'eau (H2O) et de l'exsudat radiculaire (E.R.) à partir de kystes et de leurs masses d'oeufs (M.O.) ayant séjourné 2 semaines à 3 oC.

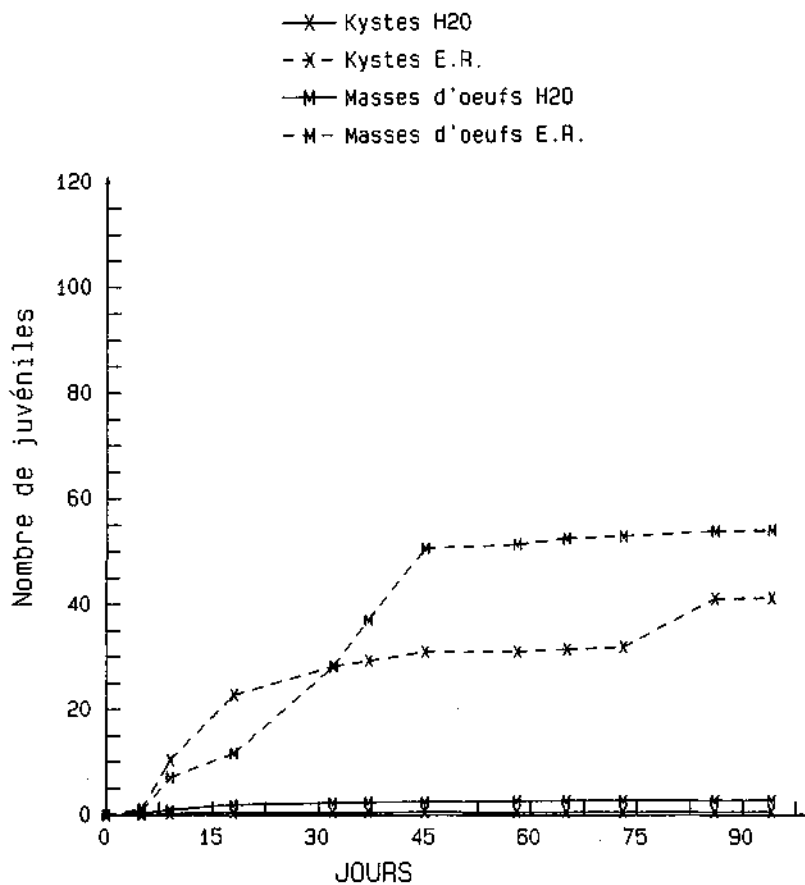


Fig. 30 b. Moyenne cumulée de juvéniles éclos dans de l'eau (H2O) et de l'exsudat radiculaire (E.R.) à partir de kystes et de leurs masses d'oeufs (M.O.) ayant séjourné 6 semaines à 3 oC.

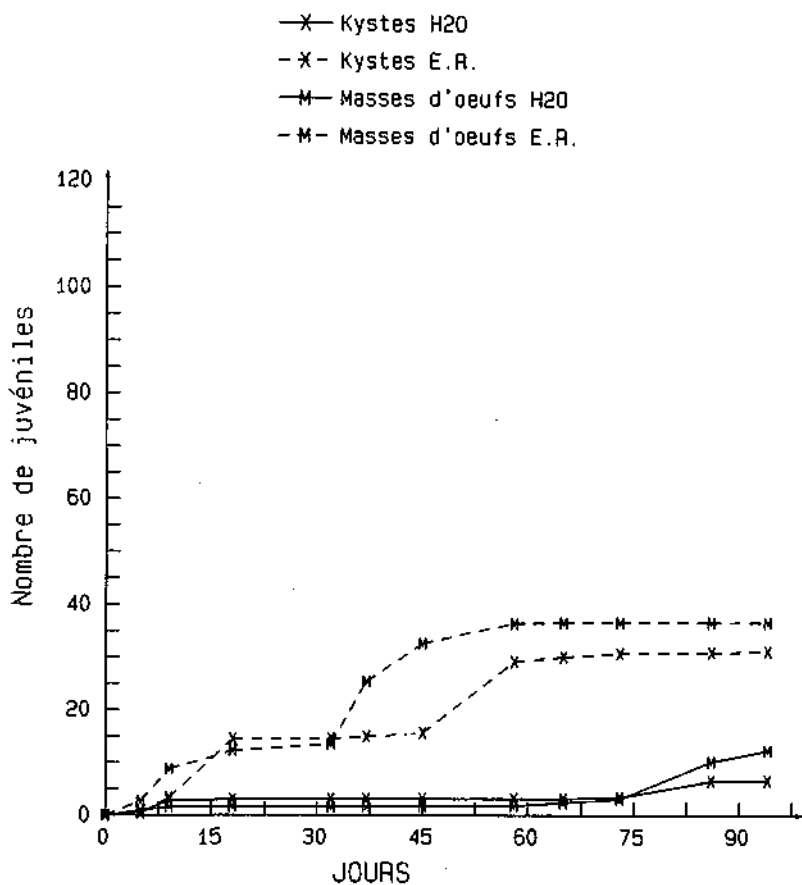
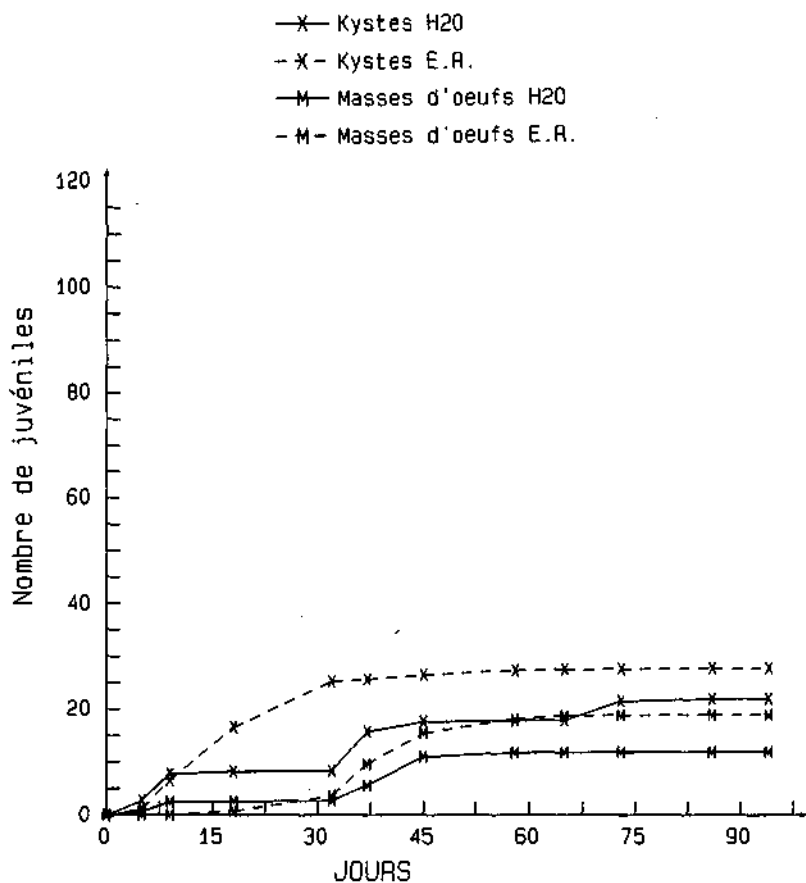


Fig. 30 c. Moyenne cumulée de juvéniles éclos dans de l'eau (H2O) et de l'exsudat radiculaire (E.R.) à partir de kystes et de leurs masses d'oeufs (M.O.) ayant séjourné 12 semaines à 3 oC.



des d'oeufs placés dans de l'exsudat radiculaire et, au contraire, d'une augmentation de la libération de juvéniles provenant des kystes et des masses d'oeufs placés dans de l'eau. Cette observation est confirmée par l'analyse statistique au moyen du test de Duncan. En effet, le nombre de traitements différant de manière significative diminue de la série ayant séjourné 2 semaines à 3°C à la série stockée 12 semaines à 3°C (Tableau 15 a, b, c). D'autre part l'analyse statistique démontre qu'il n'y a aucune différence significative entre toutes les séries considérées traitement par traitement (Tableau 15 d, e, f, g). Ceci signifie que la durée de stockage à 3°C n'influence que très légèrement l'éclosion. L'examen des chiffres du tableau 16 montre que les kystes et les masses d'oeufs placés dans de l'exsudat radiculaire présentent un pourcentage d'éclosion optimal dans les séries stockées 2 semaines à basse température. Cependant les variations du nombre de juvéniles éclos dans les différents traitements thermiques sont plus importantes pour les séries mises à éclore dans de l'eau du robinet. L'éclosion des juvéniles de M. carotae est donc en premier lieu influencée par l'apport d'exsudat radiculaire, cette action pouvant être accrue par un séjour au froid pendant 2 semaines. Ces trois premiers volets de l'étude des modalités d'éclosion des juvéniles de M. carotae ont fait l'objet d'une publication de l'auteur (Aubart, 1986).

Tab. 16. Pourcentage d'éclosion de kystes et masses d'oeufs avec ou sans

	stockage à basse température			
	Kystes		Masses d'oeufs	
	Eau	Exsudat radiculaire	Eau	Exsudat radiculaire
Sans stockage	0,14	7,08	1,63	10,59
Stockage à 3°C.				
2 semaines	0,3	19,61	0,72	13,86
6 semaines	3,16	14,83	3,16	9,4
12 semaines	10,47	13,21	3,06	4,85

Tab. 15. Nombre moyen de juvéniles éclos à partir d'un kyste (K) ou d'une masse d'oeufs (M.O.) placé dans de l'eau (H2O) ou de l'exsudat radiculaire (E.r.)

a) après 2 semaines à 3° C.

	M.O.H2O	K.E.r.	M.O.E.r.
	2.8	41.2	54.1
K.H2O			
0.6	n.s.	**	*
M.O.H2O			
2.8	—	**	n.s.
K.E.r.			
41.2		—	n.s.

b) après 6 semaines à 3° C.

	M.O.H2O	K.E.r.	M.O.E.r.
	12.4	31.2	36.7
K.H2O			
6.6	n.s.	*	*
M.O.H2O			
12.4	—	n.s.	n.s.
K.E.r.			
31.2		—	n.s.

c) après 12 semaines à 3° C.

	M.O.H2O	K.E.r.	M.O.E.r.
	11.9	27.8	18.9
K.H2O			
22	n.s.	n.s.	n.s.
M.O.H2O			
11.9	—	n.s.	n.s.
K.E.r.			
27.8		—	n.s.

d) kyste dans de l'eau

semaines à 3° C.	6	12
2	6.6	22
0.6	n.s.	n.s.
6		
6.6	—	n.s.

e) masse d'oeuf dans l'eau

semaines à 3° C.	6	12
2	12.4	11.9
2.8	n.s.	n.s.
6		
12.4	—	n.s.

f) kyste dans de l'exsudat radiculaire

semaines à 3° C.	6	12
2	31.2	27.8
41.2	n.s.	n.s.
6		
31.2	—	n.s.

g) masse d'oeuf dans de l'exsudat radiculaire

semaines à 3° C.	6	12
2	36.7	18.9
54.1	n.s.	n.s.
6		
36.7	—	n.s.

n.s. = différence non significative

\* = différence significative à P 0.05

\*\* = différence significative à P 0.01

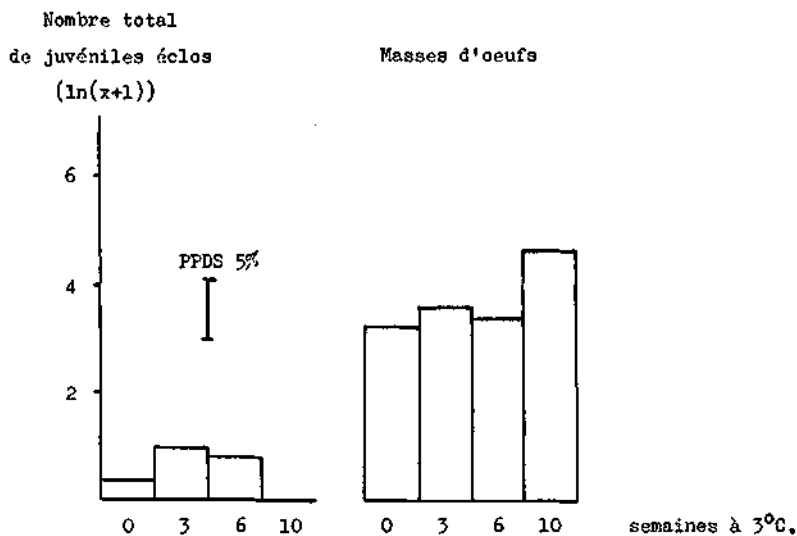
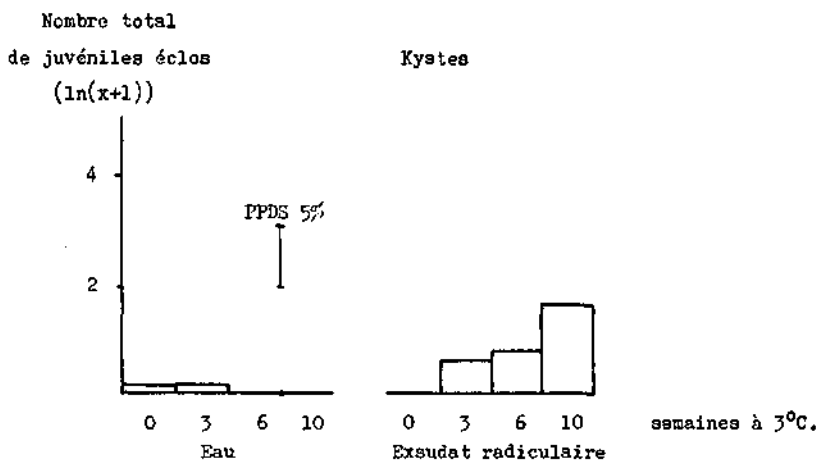
Etude avec des kystes et des masses d'oeufs de première génération.

Lors de l'expérience ci-dessus, l'âge des kystes et des masses d'oeufs utilisés se situait dans une fourchette de l'ordre de plusieurs mois, donc assez importante. Nous n'étions dès lors pas certains de travailler uniquement avec des individus de première génération. C'est pourquoi nous avons repris la même expérience, mais avec des kystes et des masses d'oeufs issus d'un élevage de quatre mois.

Schéma expérimental : Cinq répétitions sont réalisées soit dans de l'eau, soit dans de l'exsudat radiculaire de carotte, cv. Nandor Fl. Nous avons prévu un témoin n'ayant pas séjourné à basse température et trois traitements ayant passé 3, 6 et 10 semaines à 3°C à l'obscurité. Les conditions expérimentales sont identiques à celles des expériences précédentes concernant l'éclosion du nématode.

Résultats : La figure 31 montre qu'un stockage à basse température influence les traitements comportant de l'exsudat radiculaire. D'autre part, les masses d'oeufs placées dans de l'exsudat radiculaire libèrent davantage de juvéniles que les trois autres traitements. Du point de vue statistique nous enregistrons une différence significative entre le nombre de juvéniles éclos dans l'exsudat radiculaire à partir des kystes ou des masses d'oeufs ayant séjourné 10 semaines à 3°C et les séries témoins, de même qu'entre le nombre de juvéniles éclos dans l'exsudat radiculaire à partir des masses d'oeufs stockées 6 et 10 semaines à 3°C (Tableau 17). Si l'on compare le taux d'éclosion dans les traitements correspondant à une même période de stockage à basse température (Tableau 18), on observe une éclosion toujours supérieure chez les masses d'oeufs déposées dans de l'exsudat radiculaire et ceci pour les quatre traitements étudiés. Un passage à 3°C durant 10 semaines augmente le taux d'éclosion des kystes placés dans l'exsudat radiculaire, si bien que le nombre de juvéniles éclos soit supérieur (écart significatif) à celui enregistré pour les traitements comportant une éclosion dans l'eau. Les courbes de la figure 32 a, b, c, d mettent en évidence, une fois encore, l'éclosion bien supérieure

Fig. 31. Nombre total de juvéniles éclos à partir de kystes néoformés et de leurs masses d'oeufs correspondantes après différentes périodes de stockage à 3° C.



x = moyenne de 5 répétitions avec 1 kyste ou masse d'oeuf par répétition

Tab. 17. Nombre moyen de juvéniles éclos après différentes périodes  
de stockage à basse température

a) Kyste dans de l'eau

semaines à 3°C.	3	6	10
0	0.2	0	0
0,2	n.s.	n.s.	n.s.
3			
0,2	—	n.s.	n.s.
6			
0		—	n.s.

c) Kyste dans de l'exsudat radiculaire

semaines à 3°C.	3	6	10
0	1.6	8.8	10.6
0	n.s.	n.s.	*
3			
1.6	—	n.s.	n.s.
6			
8.8		—	n.s.

b) masse d'oeufs dans de l'eau

semaines à 3°C.	3	6	10
0	3.2	7	0
0,6	n.s.	n.s.	n.s.
3			
3,2	—	n.s.	n.s.
6			
7		—	n.s.

d) Masse d'oeufs dans de l'exsudat  
radiculaire

semaines à 3°C.	3	6	10
0	46.2	43.8	116.6
0	n.s.	n.s.	*
32.6			
3			
46.2	—	n.s.	n.s.
6			
43.8		—	*

n.s. = différence non significative

\* = différence significative à P 0,05

\*\* = différence significative à P 0,01

Tab. 18

Nombre moyen de juvéniles éclos à partir d'un kyste (K) ou d'une  
masse d'oeufs (M.O.) néoformé placé dans de l'eau (H2O) ou de  
l'exsudat radiculaire (E.r.)

a) Sans stockage à 3°C.

	M.O.H2O 0.6	K.E.r. 0	M.O.E.r. 32.6
K.H2O			
0.2	n.s.	n.s.	**
M.O.H2O			
0.6	—	n.s.	**
K.E.r.			
0		—	**

c) après 6 semaines à 3°C.

	M.O.H2O 7	K.E.r. 8.8	M.O.E.r. 43.8
K.H2O			
0	n.s.	n.s.	**
M.O.H2O			
7	—	n.s.	**
K.E.r.			
8.8		—	**

b) après 3 semaines à 3°C.

	M.O.H2O 3.2	K.E.r. 1.6	M.O.E.r. 46.2
K.H2O			
0.2	n.s.	n.s.	**
M.O.H2O			
3.2	—	n.s.	**
K.E.r.			
1.6		—	**

d) après 10 semaines à 3°C.

	M.O.H2O 0	K.E.r. 10.6	M.O.E.r. 116.6
K.H2O			
0	n.s.	**	**
M.O.H2O			
0	—	**	**
K.E.r.			
10.6		—	**

n.s. = différence non significative

\* = différence significative à P 0,05

\*\* = différence significative à P 0,01

Fig. 32 a. Moyenne cumulée de juvéniles éclos à partir de kystes néoformés et de leurs masses d'oeufs (M.O.) correspondantes dans de l'eau (H<sub>2</sub>O) et de l'exsudat radiculaire (E.R.).

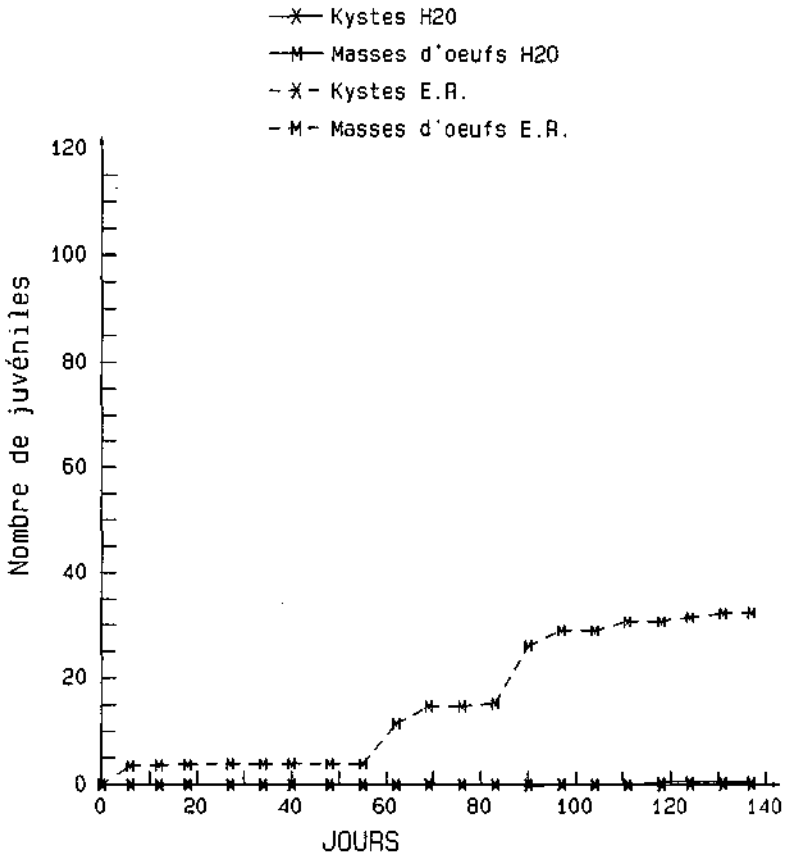


Fig. 32 b. Moyenne cumulée de juvéniles éclos dans de l'eau (H<sub>2</sub>O) et de l'exsudat radiculaire (E.A.) à partir de kystes néoformés et de leurs masses d'oeufs (M.O.) ayant séjourné 3 semaines  
à 30C.

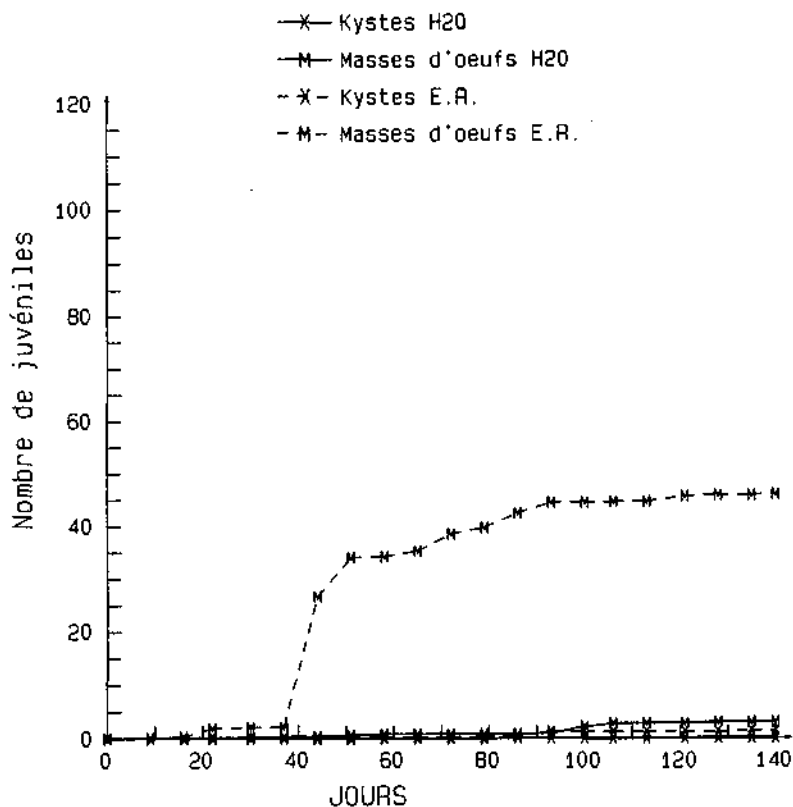


Fig. 32 c. Moyenne cumulée de juvéniles éclos dans de l'eau (H<sub>2</sub>O) et de l'exsudat radiculaire (E.R.) à partir de kystes néoformés et de leurs masses d'oeufs (M.O.) ayant séjourné 6 semaines  
à 3 °C.

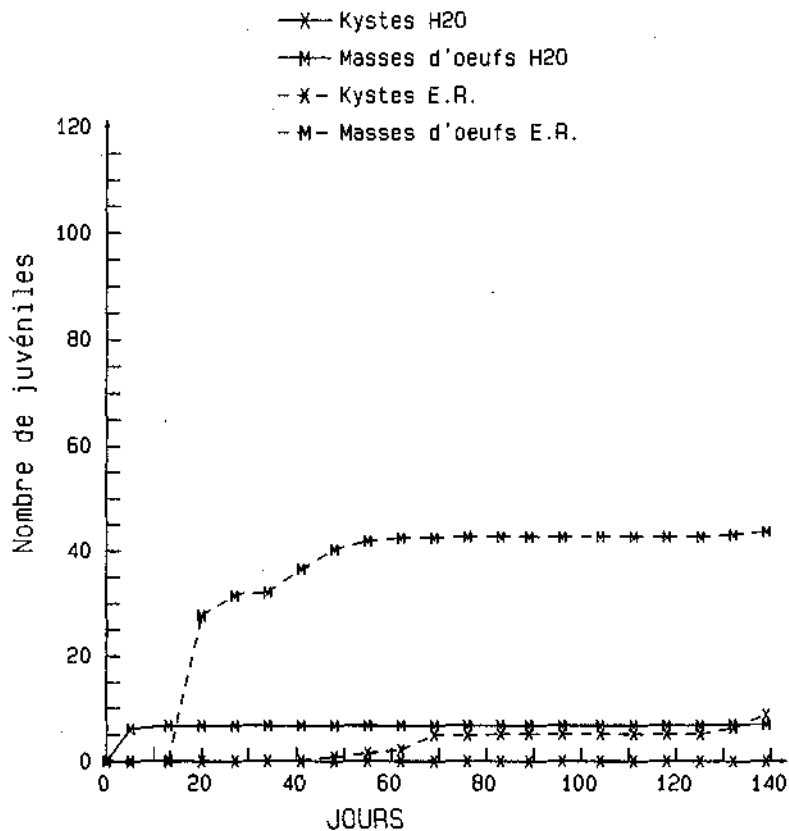
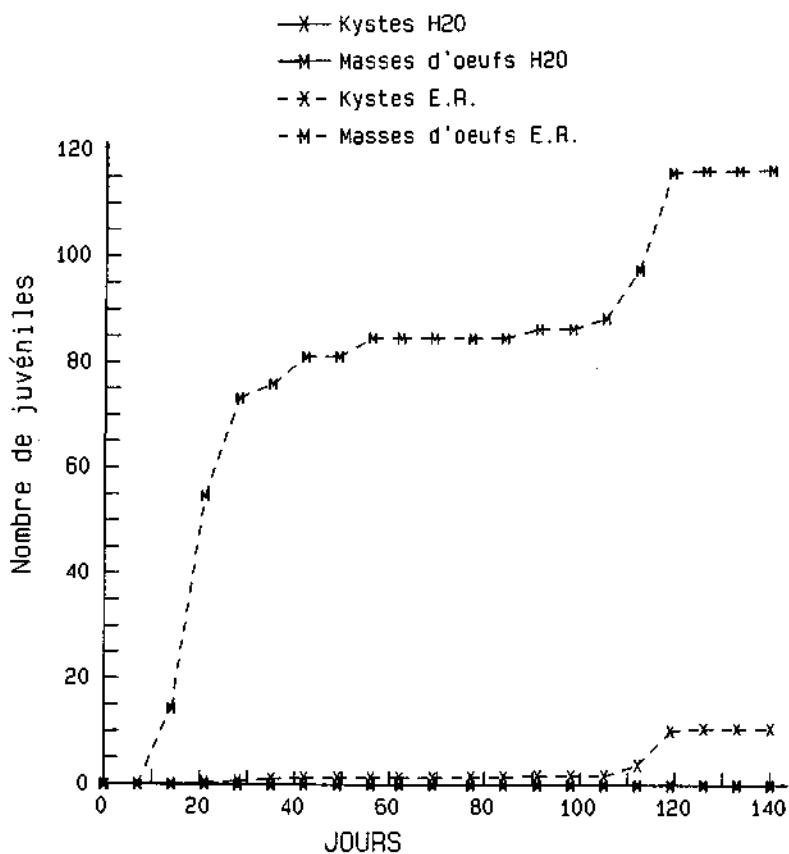


Fig. 32 d. Moyenne cumulée de juvéniles éclos dans de l'eau (H2O) et de l'exsudat radiculaire (E.R.) à partir de kystes néoformés et de leurs masses d'oeufs (M.O.) ayant séjourné 10 semaines  
à 3 oC.



des juvéniles issus des masses d'oeufs. L'évolution des courbes en fonction de la durée de stockage à basse température conduit à deux remarques :

Premièrement, chez le témoin (sans stockage à basse température) le début de l'éclosion n'intervient qu'après environ 60 jours ; ce laps de temps correspond à celui observé précédemment (au chapitre 5.2) ; plus la période passée à 3°C est longue, plus cet écart diminue ; notons d'ailleurs que ce décalage enregistré entre la mise en place de l'expérience et le début de l'éclosion correspond plus ou moins à la durée du stockage à basse température. Deuxièmement, cette diminution du temps de latence avant l'éclosion s'accompagne d'une augmentation du nombre total de juvéniles éclos. Ceci signifie, comme nous l'avons vu au chapitre 5.2 qu'une partie du contenu des masses d'oeufs nécessite une période "d'incubation" d'environ 60 jours et que cette période serait totalement indépendante d'un traitement thermique à basse température. Remarquons encore que les masses d'oeufs sont capables de supporter une température de 3°C pendant 4 mois, ce qui correspond plus ou moins aux conditions hivernales. Un tel traitement permet d'ailleurs d'obtenir une quantité plus importante de juvéniles. Il est intéressant de comparer les pourcentages d'éclosion exprimés au tableau 16 avec ceux figurés au tableau 19. Dans une population néoformée (Tableau 19), le contenu des masses d'oeufs placées dans de l'exsudat radiculaire montre un taux d'éclosion plus élevé que celui des kyates, et, en règle générale, la période passée à basse température provoque une augmentation de l'éclosion alors que dans l'eau, avec ou sans traitement thermique, l'éclosion est nulle. Chez une population plus âgée (Tableau 16) on assiste au phénomène contraire : dans l'exsudat radiculaire, d'une part les kyates libèrent davantage de juvéniles que les masses d'oeufs et d'autre part le nombre total diminue en fonction de la durée de stockage à basse température alors qu'il augmente pour les séries déposées dans de l'eau.

Tab. 19. Pourcentage d'éclosion à partir de kystes et masses d'oeufs néoformés  
avec ou sans stockage à basse température.

	Kystes		Masses d'oeufs	
	Eau	Exsudat radiculaire	Eau	Exsudat radiculaire
Sans stockage	0.09	0	0.11	7.93
Stockage à 3°C.				
3 semaines	0.09	0.74	0.77	11.24
6 semaines	0	4.09	1.70	10.65
10 semaines	0	4.93	0	28.36

Ainsi les premières vagues d'éclosion relativement importantes apparaissent chez les masses d'oeufs en contact avec de l'exsudat radiculaire et âgées de six mois (quatre mois et 60 jours). Par la suite l'éclosion à partir des masses d'oeufs diminue progressivement. Cette vague sera suivie par la libération des juvéniles à partir des kystes plus âgés, en contact également avec de l'exsudat radiculaire, ou simplement dans de l'eau, après avoir subi une période de 12 semaines à 3°C.

#### 5.4 Influence de différentes températures constantes sur l'éclosion de *H. carotae*

Les expériences effectuées sur l'éclosion du parasite se sont toujours déroulées jusqu'ici avec des variations de température afin d'approcher au mieux les conditions naturelles. Nous avons trouvé intéressant de tester également l'influence de diverses températures constantes. Nous désirions d'autre part connaître l'influence sur le taux d'éclosion du nombre de kystes par répétition.

Schéma expérimental : Nous prélevons des kystes bruns à partir d'un élevage en serre âgé de quatre mois et demi. Un kyste (traitement A) ou six kystes (traitement B) sont placés par tamis à éclosion. Trois températures sont utilisées à savoir 10°C, 15°C et 25°C. Après cinq mois la moitié des kystes du traitement B, mis à éclore à 25°C, a été déplacé à 15°C afin de tester l'influence éventuelle d'un passage préalable à haute température. L'expérience se déroule dans de l'exsudat radiculaire renouvelé toute les semaines.

Résultats : Lorsque nous étudions les résultats après cinq mois d'expérimentation nous constatons (Tableau 20 a, b) que l'éclosion la plus importante a lieu à 15°C. Cette température provoque une éclosion supérieure (écart significatif) à celle de la série placée à 25°C. Par contre il n'y a pas de différence significative entre les séries placées à 15°C et à 10°C. Les mêmes remarques s'appliquent aux traitements comprenant 1 ou 6 kystes par répétition. D'autre part nous remarquons (Tableau 21) qu'il n'y a pas de différence significative entre le nombre de juvéniles éclos dans le traitement A (1 kyste par répétition) et le traitement B (6 kystes par répétition), ceci pour les trois températures étudiées.

Tab. 21. Différence entre le nombre moyen de juvéniles éclos à partir de 1 ou 6 kystes par répétition

	10°C.	15°C.	25°C.
après 5 mois	n.s.	n.s.	n.s.
après 8 mois	n.s.	n.s.	n.s.

n.s. = différence non significative

\* = différence significative à P 0.05

\*\* = différence significative à P 0.01

Lorsque nous procédons à la même analyse après huit mois d'expérimentation, nous observons pour le traitement A (Tableau 20 c) un résultat identique à celui enregistré après cinq mois. Par

Tab. 20. Nombre moyen de juvéniles éclos à partir de kystes placés dans de l'exsudat radiculaire à des températures différentes.

Après 5 mois d'expérimentation

a) 1 kyste par répétition

	15°C.	25°C.
	109.4	7.4
10°C.	n.s.	n.s.
29.6		
15°C.	—	*
109.4		

b) 6 kystes par répétition

	15°C.	25°C.
	36.6	12.36
10°C.	n.s.	n.s.
22.3		
15°C.	—	*
36.6		

Après 8 mois d'expérimentation

c) 1 kyste par répétition

	15°C.	25°C.
	149.20	45.20
10°C.	n.s.	n.s.
99.80		
15°C.	—	*
149.20		

d) 6 kystes par répétition

	15°C.	25°C.
	71.33	35.23
10°C.	n.s.	*
70.67		
15°C.	—	*
71.33		

e)	15°C.	25°C.
	71.33	35.23
25°C.-		
15°C.	**	n.s.
31.90		

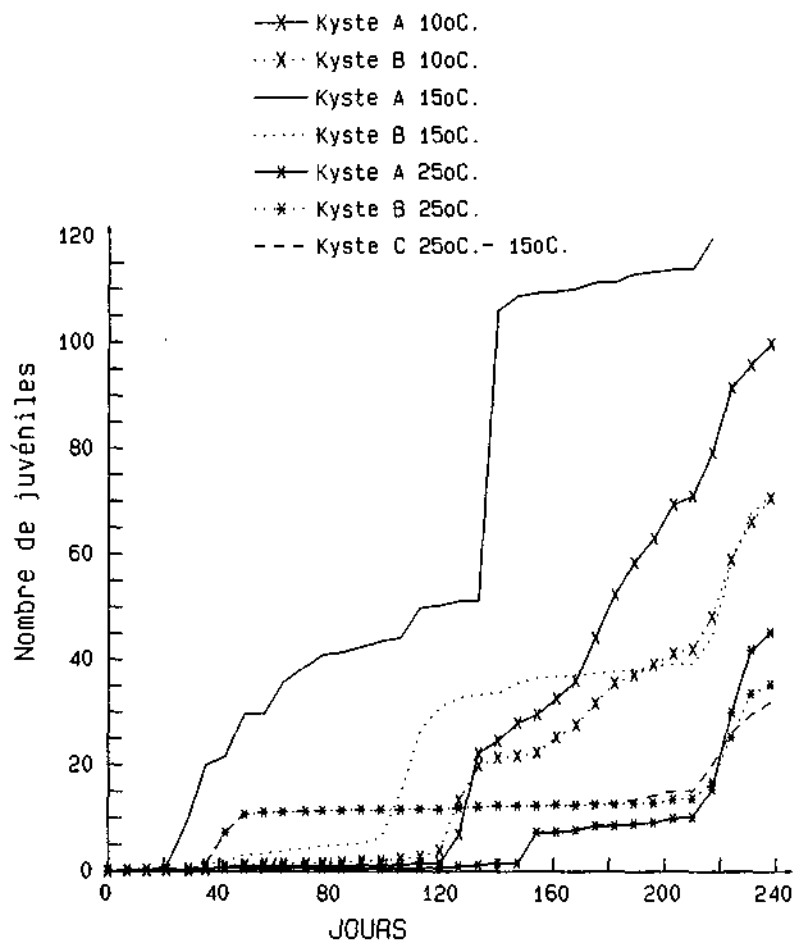
contra pour le traitement B (Tableau 20 d) il apparaît une différence significative entre le nombre de juvéniles éclos à 10°C et à 25°C. Notons également qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements A et B pour les trois températures (Tableau 21). Relevons enfin que le nombre de juvéniles éclos à 15°C est bien supérieur (écart significatif) à celui libéré dans la série placée 5 mois à 20°C puis 3 mois à 15°C. Le nombre de juvéniles éclos dans cette série est d'ailleurs moins important, mais de manière non significative, que le nombre d'individus libérés à 25°C (Tableau 20 e). Les courbes de la figure 33 confirment ces résultats. Nous remarquons par ailleurs que l'éclosion s'effectue par palier, comme nous l'avions déjà observé lors des expériences précédentes. D'autre part ces courbes démontrent, exception faite des kystes déposés à 15°C, que l'éclosion à partir des kystes est relativement tardive ce qui confirme également les résultats obtenus lors des expériences précédentes.

A la fin de cette expérience nous avons récupéré les kystes et les avons soumis au test du new blue R. Puis nous avons procédé au comptage de leur contenu, effectué comme précédemment (cf. point 3.). Ainsi est confirmé le fait que le traitement A induit une meilleure éclosion que le traitement B (Tableau 22). Ceci peut s'expliquer par la compétition individuelle provoquant une diminution plus rapide de l'O<sub>2</sub> dissout dans la solution d'exsudat radiculaire et, de ce fait, une baisse de la vitelité des juvéniles. Selon Ellenby (1946) les métabolites excrétés par les juvéniles inhibent l'éclosion des oeufs dans les kystes. Le même effet de groupe a été également démontré chez les masses d'oeufs de H. oryzae (Revarsat, 1971). Il ne faut pas exclure non plus le risque plus élevé de contamination des kystes par un champignon nématophage qui se propagerait ainsi aux autres kystes de la même répétition. C'est la raison pour laquelle nous nous sommes également intéressés au pourcentage de mortalité par traitement. Le tableau 23 nous indique que la mortalité la plus importante apparaît en général dans les traitements B, à l'exception de la série déposée à 15°C, ce qui ce qui confirmerait en partie nos hypothèses. D'autre part il n'apparaît pas possible de déduire de ces faits une règle générale suivant laquelle à un pourcentage d'éclosion faible correspondrait un pourcenta-

Fig. 33. Moyenne cumulée de juvéniles éclos à différentes températures

dans de l'exsudat radiculaire à partir de 1 (A) ou 6 (B)

kystes par répétition.



Tab. 22. Moyenne des pourcentages réels d'éclosion avec écart-type et

coefficient de variation

procédé	après 5 mois	cv %	après 8 mois	cv %
A 10°C.	14.77±15.93	107.87	46.57±30.97	66.50
B 10°C.	9.42±4.51	47.93	29.19±10.38	35.57
A 15°C.	26.39±15.72	55.40	49.33±9.98	20.23
B 15°C.	14.36±6.81	47.42	27.85±8.95	32.15
A 25°C.	2.7±3.6	133.69	20.83±12.31	59.11
B 25°C.	4.89±5.46	111.72	15.39±7.06	45.89
C 25°C.-15°C.			10.09±6.75	66.96

A = 1 kyste par répétition

B = 6 kystes par répétition

Tab. 23. Pourcentage de mortalité du contenu des kystes ayant séjourné

à différentes températures

répétition	10°C.		15°C.		25°C.		25°C.- 15°C.
	A	B	A	B	A	B	
1	78.26	42.16	27.97	27.20	9.67	25.53	40.39
2	14.28	26.43	88.23	24.19	9.76	6.74	33.33
3	1.29	33.22	18.99	34.21	7.83	17.62	51.51
4	3.25	42.85	22.72	25.61	12.45	22.61	42.98
5	16.11	36.16	81.19	16.32	12.17	14.93	32.77
moyennes	22.63±	36.16±	47.82±	25.50±	10.37±	17.48±	40.19±
écart-type	31.77	6.78	33.91	6.41	1.92	7.29	7.71
cv %	140.34	18.75	70.92	25.16	18.58	41.73	19.19

ge de mortalité élevé. En effet, nous constatons que le traitement A de la série placée à 15°C montre le meilleur pourcentage d'éclosion (49.33 %) de même que le "meilleur" pourcentage de mortalité (47.82 %). Notons encore qu'après 8 mois d'expérimentation nous enregistrons au mieux à peine 50 % d'éclosion et qu'il n'y a en moyenne que 30 % de mortalité. Ceci démontre une fois encore, que l'éclosion à partir des kystes a lieu de manière échelonnée et modérée, car après 8 mois d'expérimentation 20 % environ du contenu des kystes, âgés alors d'une année, est encore sous forme de juvéniles enfermés dans le chorion de l'oeuf et prêts à éclore. Enfin nous remarquons (Tableau 24) que les pourcentages d'éclosion réels ne diffèrent guère des pourcentages estimés à partir d'un contenu moyen de 215 individus par kyste. Ainsi les pourcentages d'éclosions exprimés aux tableaux 16 et 19 ne doivent pas être très loin de la réalité.

Tab. 24. Comparaison des pourcentages d'éclosion réels et estimés à partir d'un contenu moyen de 215 individus par kyste

procédé	% réel écart-type	cv. %	% estimé écart-type	cv. %
A 10°C.	46.57 ±30.97	66.50	46.22 ±28.20	61.01
B 10°C.	29.19 ±10.38	35.17	32.56 ±13.21	40.73
A 15°C.	49.33 ±9.98	20.23	47.55 ±21.62	45.47
B 15°C.	27.85 ±8.95	32.15	33.18 ±8.80	26.52
A 25°C.	20.83 ±12.31	59.11	21.01 ±7.19	34.24
B 25°C.	15.39 ±7.06	45.89	15.97 ±8.48	53.11
25°C.- 15°C.	10.09 ±6.75	66.96	10.93 ±8.49	77.67

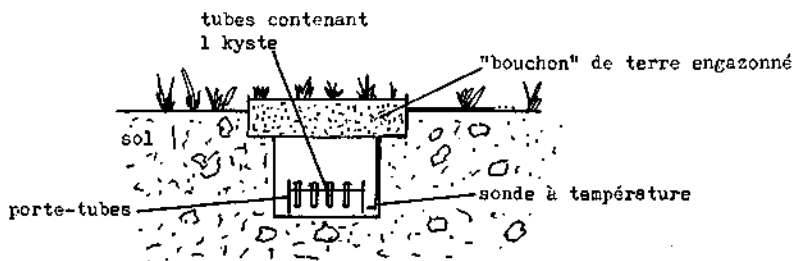
A = 1 kyste par répétition

B = 6 kystes par répétition

### 5.5 Éclosion en pleine terre

En parallèle aux expériences menées en laboratoire, nous avons entrepris une étude de l'éclosion des juvéniles à partir de kystes de H. carotae déposés en pleine terre et soumis de ce fait aux variations naturelles de température. Cette expérience menée pendant une année et demi devait permettre de mettre en évidence un cycle d'éclosion du nématode, à la manière de ceux observés par Rivoal (1978) chez différentes races de H. avenae. Schéma expérimental : deux fois dix kystes âgés de sept mois sont déposés individuellement au fond de petits tubes de verre rempli soit de 0.5 ml d'exsudat radiculaire de carotte cv. Nandor Fl, soit de 0.5 ml d'eau du robinet. Nous avons également étudié l'éclosion des juvéniles issus de kystes néoformés âgés à peine de quatre mois et déposés également au fond de petits tubes de verre contenant 0.5 ml d'eau du robinet. Ces différentes séries sont placées sur un porte-tubes en treillis métallique au fond d'une fosse de 20 cm de profondeur creusée en plein champ et recouverte d'un "bouchon" de 10 cm de terre en partie enherbée (Fig. 34).

Fig. 34. Schéma du dispositif expérimental permettant l'étude  
de l'éclosion en pleine terre



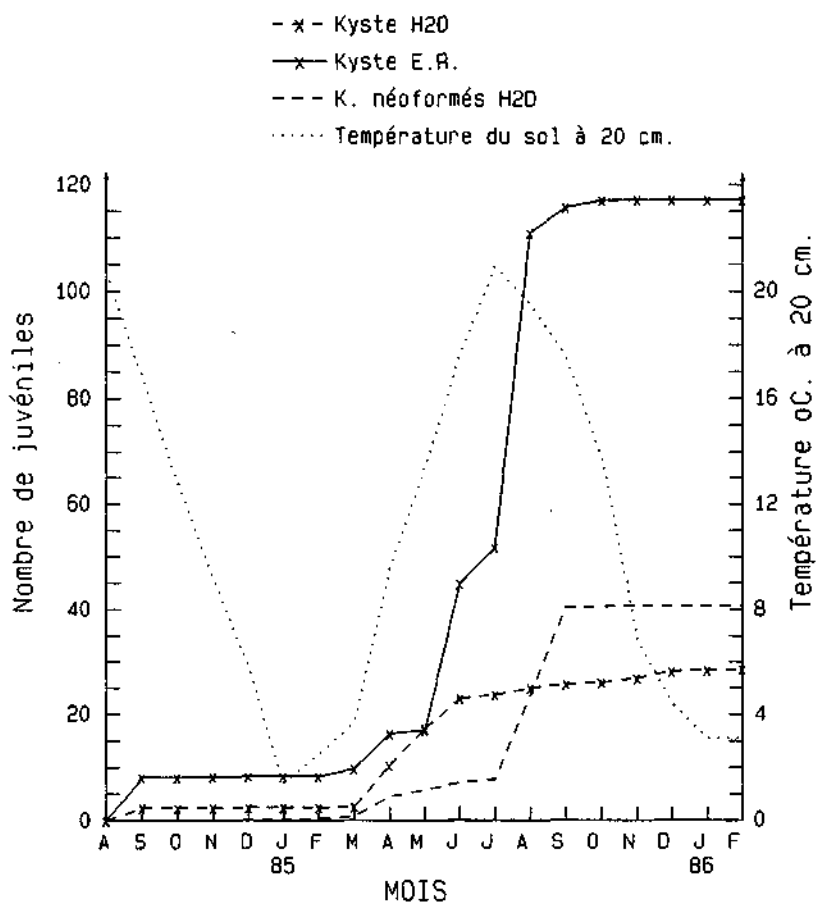
Les températures au fond de la fosse sont relevées par l'intermédiaire d'une sonde reliée à un enregistreur de type "Speedo-max". Par la suite nous avons utilisé les valeurs relevées par la station automatique de météorologie de Changins car la sonde enregistrant la température à 20 cm de profondeur se trouve à quelques mètres de notre essais. D'autre part les températures moyennes relevées durant plus de deux mois dans la fosse ne sont que de 0.2°C plus élevées que celles enregistrées en pleine terre par la station automatique. Les solutions des tubes sont renouvelées chaque semaine et les juvéniles éclos comptés sous la loupe binoculaire.

Résultats : les résultats sont exprimés en moyenne cumulée de juvéniles éclos par kyste et par mois (Fig. 35). Il ressort de ce graphique que l'éclosion ne débute pas avant le mois de mars et ceci pour les trois séries étudiées. Les kystes âgés de sept mois et placés dans de l'exsudat radiculaire libèrent un grand nombre de juvéniles entre les mois de juin et d'août. Les kystes provenant de la même population, mais placés dans de l'eau, sont le siège d'une éclosion modérée ceci entre les mois d'avril et de juin. En ce qui concerne les kystes néoformés par contre, l'éclosion n'apparaît qu'au mois d'août. Ces courbes nous suggèrent quelques remarques :

- a) des kystes d'âges différents commencent à éclore à peu près au même moment, ce qui traduit une dépendance des mécanismes déclencheurs de l'éclosion vis à vis des conditions extérieures, dans notre cas la température ;
- b) les kystes âgés ou néoformés ne libèrent pas l'ensemble de leurs juvéniles en une année. Nous enregistrons au mieux une éclosion de l'ordre de 50 % (par rapport à un contenu moyen de 215 individus par kyste) pour les kystes âgés de sept mois alors que pour des kystes néoformés le nombre de juvéniles éclos atteint environ 20 % et ceci alors qu'ils sont âgés d'une année et deux mois ;
- c) les kystes n'éclosent pas ou très peu durant l'année de leur formation.

Ainsi cette expérience confirme les résultats obtenus en laboratoire à savoir que les kystes possèdent une diapause quasi totale pendant les premiers mois qui suivent leur formation. D'autre

Fig. 35. Moyenne cumulée de juvéniles éclos en pleine terre à partir de kystes agés de 7 mois et placés dans de l'eau (H2O) et de l'exsudat radiculaire (E.R.) et à partir de kystes agés de 4 mois (néoformés).



part, lorsque cette diapause est levée (tout au moins en partie), l'éclosion est plus forte dans de l'exsudat radiculaire que dans de l'eau et n'est que très légèrement influencée par un séjour à basse température. Les kystes représentent donc de ce fait un potentiel infectieux à retardement. Nous constatons, à partir de ces trois dernières expériences conduites avec un kyste ou une masse d'oeufs par répétition, une énorme variation des taux d'éclosion par individus. Reversat (1975) estime que cette variation, rencontrée également chez H. oryzae, provient en partie de la fécondité qui elle dépend de facteurs génétiques et trophiques (Brun, 1966).

### 5.6 Influence d'un stockage à basse température sur l'éclosion et le taux de multiplication du nématode

Afin de compléter les informations obtenues par les expériences concernant les modalités d'éclosion de H. carotae, nous avons mis en élevage des kystes et des masses d'oeufs ayant séjournés à basse température. En effet, il n'est pas impossible que les conditions dans les tamis à éclosion puissent nuire quelque peu au parasite (asphyxie, milieu liquide, champignons). Alors que mis en élevage, nous devrions assister selon l'hypothèse où les juvéniles issus des kystes et des masses d'oeufs seraient stimulés par un choc thermique, à des variations du nombre d'individus néoformés en fonction de la durée de stockage à basse température. Nous pensons également par cette expérience créer des conditions plus proches de l'environnement naturel.

Schéma expérimental : 450 masses d'oeufs ont été prélevées à partir d'une population extraite de nos élevages en serre âgées de quatre mois et demi. Les séries étudiées consistent en neuf périodes différentes de stockage à 0°C à l'obscurité (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 et 16 semaines). Dix masses d'oeufs sont utilisées par répétition et nous effectuons cinq répétitions par série. Après le passage à basse température, les différentes séries sont mises à éclore dans de l'eau du robinet à 20°C durant une semaine afin d'observer une évolution possible des modalités d'éclosion sur un court laps de temps. Ensuite les juvéniles éclos et les masses d'oeufs sont utilisés comme inoculum pour la mise en route d'un élevage en serre (les conditions

d'élevage ainsi que les techniques d'extraction ont été énoncées au chapitre matériel et méthodes). Etant donné que nous nous intéressons à la population néoformée totale, nous avons procédé deux mois et demi après le début de l'élevage à des extractions mixtes ainsi qu'à des ultrabroyages d'échantillons de la masse racinaire. Nous avons travaillé selon le même schéma expérimental avec des kystes âgés pendant de sept mois.

Résultats : le tableau 25 indique le nombre moyen de juvéniles éclos et d'individus néoformés par kyste ou masse d'oeufs pour les différentes séries. Nous remarquons que l'éclosion est extrêmement faible, et ceci pour toutes les périodes de mise à basse température. D'autre part, les coefficients de variation très élevés démontrent une très grande hétérogénéité entre les répétitions. En ce qui concerne les masses d'oeufs, le nombre de juvéniles éclos n'est guère plus important que pour les kystes, exception faite de la série ayant séjourné 16 semaines à 0°C, qui permet la libération d'environ 20 juvéniles. Notons cependant que les coefficients de variations sont en général bien inférieurs à ceux observés précédemment et traduisent donc une relative homogénéité de l'éclosion.

En ce qui concerne les populations néoformées à partir de kystes, le nombre le plus important d'individus de première génération s'observe dans la série témoin, n'ayant pas subi de choc thermique. Cependant, le nombre d'individus formés à partir de kystes ayant séjourné 16 semaines à 0°C, bien que légèrement inférieur, ne diffère pas significativement de la population issue de la série témoin. Remarquons enfin que les kystes des séries C et D produisent une population moins importante (écart significatif à P 0.01) que les autres séries. Nous n'avons pas trouvé d'explication à cette variation. Le phénomène contraire s'observe chez les populations issues des masses d'oeufs. La série D renferme un nombre d'individus plus élevé que toutes les autres séries (écart significatif) à l'exception des séries B et E. Nous n'enregistrons pas non plus de différence entre la population néoformée de la série témoin et la population issue des masses d'oeufs ayant séjourné 16 semaines à 0°C. Ainsi, il ressort de cette expérience qu'un passage à basse température n'influence en rien le nombre d'individus néoformés à partir de kystes ou de masses d'oeufs. Il faut relever tout de même que

Tab. 25. Moyenne, écart-type et coefficient de variation du nombre de juvéniles éclos dans de l'eau après une semaine à 20°C à partir de kystes et de masses d'œufs ayant séjourné de 0 à 16 semaines à 0°C ainsi que du nombre d'individus néoformés après deux mois et demi d'élevage à partir des mêmes kystes et masses d'œufs.

		masses d'œufs.									
a) kystes		A	B	C	D	E	F	G	H	I	
série	semaines à 0°C	0	2	4	6	8	10	12	14	16	
Nombre de J2 éclos		0.54 ±	0.6 ±	0.02 ±	0.12 ±	0.24 ±	0.06 ±	0.08 ±	3.14 ±	1.34 ±	
	cv %	1.15	0.48	0.04	0.21	0.27	0.08	0.10	6.26	2.99	
Population néoformée		213.40	81.14	223.60	180.66	116.36	149.07	136.93	199.45	223.60	
	cv %	37.34 ±	35.6 ±	11.32 ±	12.9 ±	26.02 ±	31.04 ±	23.08 ±	31.54 ±	32.46 ±	
		17.34	14.68	10.84	6.27	8.97	9.68	9.30	10.78	5.22	
		46.45	41.24	95.78	48.63	34.41	31.20	40.29	34.18	16.08	
b) masses d'œufs											
Nombre de J2 éclos		1.20 ±	0.4 ±	0.2 ±	1.22 ±	0.6 ±	0.86 ±	8.04 ±	1.00 ±	19.78 ±	
	cv %	1.00	0.21	0.1	0.77	0.38	0.80	10.44	0.78	15.29	
Population néoformée		84.16	53.03	50	63.33	64.54	93.24	129.9	78.42	77.32	
	cv %	32.58 ±	38.10 ±	30.22 ±	56.32 ±	42.76 ±	23.64 ±	35.20 ±	33.32 ±	26.34 ±	
		16.91	8.93	9.46	27.54	15.19	8.82	11.55	6.77	12.17	
		58.04	23.55	31.31	48.90	35.52	37.32	32.81	20.31	46.21	

les juvéniles contenus dans les masses d'oeufs supportent très bien un passage de quatre mois à 0°C comme ce fut le cas avec une température de 3°C (point 5.3). Quant à la composition des populations néoformées à partir de kystes (Tableau 26), nous observons en rapport avec le temps passé à basse température un léger décalage en direction des stades juvéniles du pourcentage des différents stades. Ceci peut s'expliquer soit par un retard de l'éclosion soit par une diminution de la vitalité des juvéniles infestants qui ont alors besoin d'un temps plus long pour pénétrer dans les racines. Nous n'observons aucune réaction de ce type dans la composition des populations issues des masses d'oeufs (Tableau 27). Au contraire, les pourcentages des différents stades sont étonnamment constants pour les neuf séries. Notons également l'apparition de quelques kystes bruns néoformés après déjà deux mois et demi. Cette particularité démontre que la durée du cycle de M. carotae est plus rapide lorsque l'on utilise des masses d'oeufs plutôt que des kystes comme inoculum, ce qui s'explique en grande partie par l'éclosion plus rapide des masses d'oeufs.

En prenant en considération uniquement les femelles blanches et les kystes néoformés, nous remarquons que le taux de multiplication ( $Pf/Pi$ ) des élevages inoculés avec les kystes est de 12.97 6.81 avec un coefficient de variation de 52.49 %. Ce taux de multiplication est tout à fait semblable à celui exprimé au point 4. Par contre, le taux de multiplication des élevages inoculés avec les masses d'oeufs (26.77 7.79 ; coefficient de variation = 29.11 %) est nettement plus faible que celui enregistré également au point 4. Ceci n'est pas en relation avec le stockage à basse température car la série témoin montre un taux de multiplication de 30.4 % seulement. Ce "mauvais" résultat peut s'expliquer de deux façons :

- a) en utilisant 10 masses d'oeufs (4110 individus) par pot de 220 cc, il est possible que nous ayons atteint un seuil critique d'infestation ; et ainsi, en raison de la compétition, le nombre de femelles néoformées décroîtrait au profit des mâles ; ou bien la mortalité serait-elle plus importante ;
- b) il n'est pas impossible que les masses d'oeufs soient plus sensibles que les kystes aux conditions existantes dans les tiges à éclosions ; la semaine passée dans de l'eau à 20°C

**Tab. 26.** Pourcentage des différents stades d'une population formée après deux mois et demi à partir de kystes ayant séjourné de 0 à 16 semaines à 0°C.

stade	semaines à 0°C								
	0	2	4	6	8	10	12	14	16
J2	0	0	0	0	0.23	0.64	0.08	0.38	1.72
J3	0.96	0.56	1.06	2.32	1.68	2.12	1.38	4.24	7.57
J4 femelle	6.26	7.30	9.18	8.68	14.72	22.68	12.30	29.23	41.28
J4 mâle	6.58	5.39	1.94	11	24.69	15.59	21.92	26.31	30.43
mâle	27.15	16.46	25.26	20.62	13.03	8.5	13.34	5.07	3.69
femelle blanche	59.02	70.28	62.54	57.36	45.62	50.45	50.95	34.74	15.28
kyste brun	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Tab. 27.** Pourcentage des différents stades d'une population formée après deux mois et demi à partir de masses d'oeufs ayant séjourné de 0 à 16 semaines à 0°C.

stade	semaines à 0°C								
	0	2	4	6	8	10	12	14	16
J2	0	0.36	0.19	0.03	0.04	0.08	0.05	0	0
J3	0.06	0.47	0.72	0.88	2.15	0.84	0.34	0	0.75
J4 femelle	2.33	4.72	11.51	6.67	6.31	4.65	4.31	4.50	3.94
J4 mâle	0	2.67	8.73	2.30	2.19	1.60	1.81	1.02	1.97
mâle	4.29	7.97	1.58	15.80	18.98	21.48	29.88	12.90	12.60
femelle blanche	92.75	83.67	62.93	74.21	70.25	71.31	63.35	81.57	79.80
kyste brun	0.55	0.15	0	0.07	0.04	0	0.22	0	0.91

eurent ainsi provoqué la mort d'un certain nombre d'individus par masse d'oeufs.

## 6. ETUDE DU NOMBRE DE GENERATIONS ANNUELLES

La cerotte est une culture à longue période végétative qui se déroule sur environ 5 mois ; c'est pourquoi certains auteurs (Stelter, 1969; Ambrogioni, 1971) émettent l'hypothèse d'une deuxième génération se développant principalement à partir des masses d'oeufs. Cette hypothèse mérite d'être vérifiée car elle expliquerait, en partie, l'accroissement remarquablement rapide des populations du nématode. D'autre part, il nous paraît important dans l'hypothèse d'une deuxième génération, de savoir si cette dernière est issue des masses d'oeufs ou si les kystes parentaux peuvent également y contribuer.

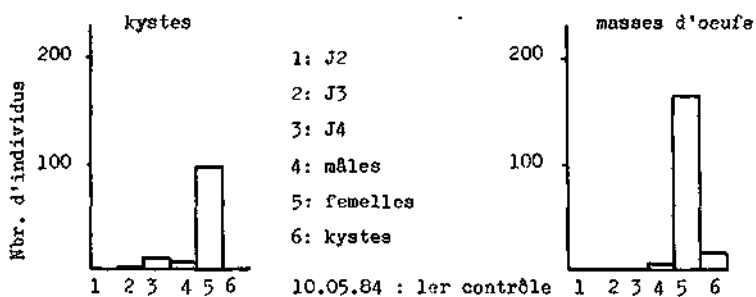
Schéma expérimental : Des kystes et des masses d'oeufs âgés de quatre mois et demi sont mis en élevage à raison de six individus par répétition et cinq répétitions par élevage. Trois mois plus tard nous prélevons trois pots dans lesquels nous extrayons et comptons la population néoformée totale (extraction mixte et ultrabroyage). Un mois plus tard nous procédons de même pour les deux derniers pots. Ensuite un nouvel élevage est initié à partir des kystes bruns et des masses d'oeufs néoformés, et ainsi de suite pendant plus d'une année.

Résultats : En conditions d'élevage en serre, la majorité des individus d'une population néoformée âgés de trois mois se trouve sous forme de femelles blanches. La présence de  $J_4$  dans les populations issues des kystes traduit un certain retard de développement par rapport aux populations issues des masses d'oeufs chez lesquelles des kystes néoformés apparaissent déjà (fig. 36). Quatre mois après la mise en route de l'élevage, nous observons une apparition importante d'individus aux stades  $J_2$ ,  $J_3$  et aussi  $J_4$ , ceci principalement dans les populations issues des masses d'oeufs. Cette nouvelle génération peut avoir deux origines :

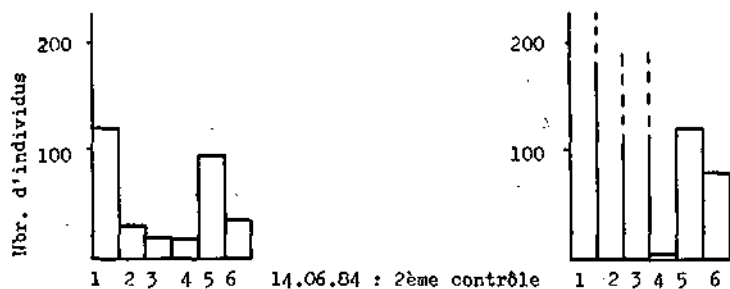
- elle provient des kystes et des masses d'oeufs servant d'inoculum ; dans ce cas nous nous trouvons en face d'une deuxième

Fig. 36. Mise en évidence de plusieurs générations annuelles

10.02.84 : mise en route de l'élevage

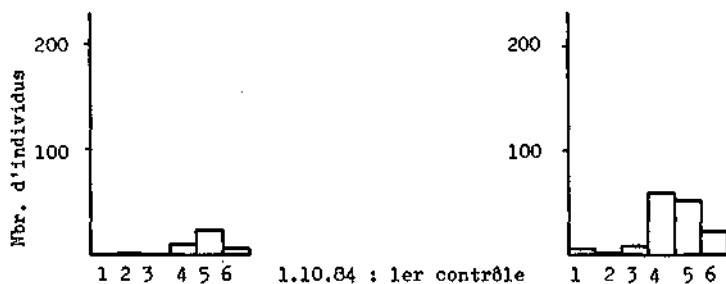


10.05.84 : 1er contrôle

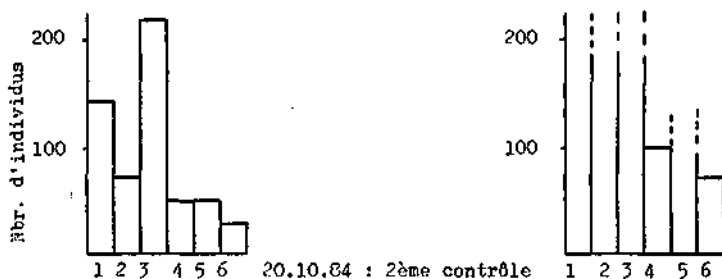


14.06.84 : 2ème contrôle

15.06.84 : mise en route du 2ème élevage à partir de kystes et masses d'oeufs néoformés provenant de la population extraite le 14.06.84



1.10.84 : 1er contrôle



20.10.84 : 2ème contrôle

vague d'infestation ne concernant toujours que des individus de première génération.

- les kystes, et plus certainement les masses d'oeufs, néoformés ont commencé à éclore ; dans cette hypothèse les individus seraient des représentants de la deuxième génération.

Afin de trancher entre ces deux possibilités, nous avons dans un premier temps mis en route un élevage à partir de kystes et de masses d'oeufs néoformés. Lors du premier contrôle de ce deuxième élevage (Fig. 36 ; 1.10.84) nous observons la formation d'une nouvelle génération. Il faut préciser cependant que cette population est quantitativement bien inférieure à celle du premier élevage (10.05.84). Par contre lors du second contrôle (20.10.84) nous assistons à nouveau à une explosion du nombre d'individus aux stades juvéniles ( $J_2$ ,  $J_3$  et  $J_4$ ). Nous avons ensuite remis en route un troisième élevage à partir des kystes et des masses d'oeufs néoformés provenant de la population extraite le 20.10.84. Quatre mois plus tard nous enregistrons à nouveau la formation d'une nouvelle génération et ainsi de suite si bien qu'à la date du 11.11.85 nous avons initié la sixième génération. Cette expérience prouve que H. cerotae est capable de reformer une nouvelle génération tout les trois à quatre mois à partir des kystes comme des masses d'oeufs, et ceci sans arrêt tant que les conditions nécessaires (plante-hôte, température, humidité etc ...) sont réalisées. Dans un deuxième temps nous nous sommes intéressés au "devenir" des kystes ayant formé la nouvelle génération. Lors de l'extraction du premier contrôle, nous avons soigneusement récupéré les sachets en nylon servant d'inoculum. Après avoir contrôlé sous la loupe binoculaire que les six kystes s'y trouvaient toujours, nous les avons réutilisés pour inoculer un nouvel élevage. Les chiffres exprimés au tableau 28 représentent le nombre moyen d'individus (trois répétitions) par stades lors des différentes dates de prélèvement ; nous remarquons que des kystes âgés de quatre mois en date du 25.10.84 produisent trois mois plus tard une nouvelle génération qui ne contient plus de stades  $J_2$  et  $J_3$ . Trois mois plus tard, nous assistons à la formation, à partir des mêmes kystes, d'une nouvelle génération quantitativement plus importante que la précédente (Tableau 28). L'opération est répétée et trois mois plus tard nous ne recueillons plus que quelques indi-

Tab. 28. Population totale formée après quatre élevages successifs à partir

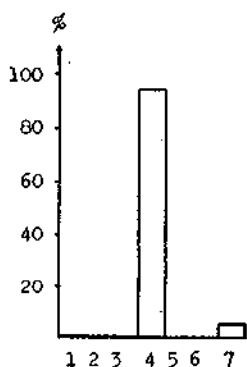
du même inoculum contenant six kystes.

(moyenne de trois répétitions)

date	J4	mâles	femelles	kystes	total
28.01.85	80	32.66	81	0.33	194
29.04.85	7.66	60	204.33	22.33	294.33
26.07.85	0.33	1.66	0.33	0	2.33
31.10.85	0	0	0	0	0

Fig. 37. Etat du contenu des kystes utilisés comme inoculum après quatre

élevages successifs.



catégories	%
1: J2 vivants mobiles	0.39
2: J2 vivants immobiles	0.06
3: J2 morts	0.02
4: oeufs vides	94.47
5: oeufs pleins vivants formés	0
6: oeufs pleins vivants embryonnés	0
7: oeufs morts	5.09

vidua. Enfin, lors de l'extraction du quatrième élevage, aucune nouvelle génération n'est observée. Nous avons ensuite récupéré les kystes et les avons soumis au test du new blue R. La figure 37 démontre que 94.5 % de leur contenu se trouve sous forme d'œufs vides et que la mortalité dans les kystes ne représente que 5 %. Ces résultats confirment la présence de plusieurs vagues d'infestations dont la plus importante, la deuxième, provient de kystes âgés de dix mois. Notons encore que le taux de multiplication total par kyste après ces quatre élevages successifs se situe à 51.38. Bien que ce chiffre soit plus élevé que celui obtenu au point 4, il nous paraît tout de même relativement faible lorsque nous tenons compte d'un contenu moyen de 215 individus par kyste et d'un taux de mortalité, dans notre expérience, de 5 %. Nous pensons qu'une perte importante doit correspondre aux juvéniles ( $J_2$ ) qui ne pénètrent pas dans les racines : comme nous l'avons vu précédemment, en effet ces stades mobiles dans le sol sont très difficilement récupérables par nos méthodes d'extraction.

## 7. ETUDE DE LA DUREE DE VIE DES JUVENILES INFESTANTS

Nous avons remarqué, lors des expériences précédentes, qu'une partie des juvéniles ayant éclos ne pénètre probablement pas dans les racines de la plante-hôte. Ces individus doivent périr assez rapidement comme c'est le cas pour les juvéniles infestants de H. oryzae (Merny, 1966). Cependant, étant donné que H. carotae est soumis à des conditions climatiques et édaphiques bien différentes, il nous a semblé intéressant d'étudier la durée de vie dans le sol des juvéniles en absence de plante-hôte.

Schéma expérimental : 30 pots en argile (100 cc) remplis d'un mélange de terre pour l'élevage du nématode ont été inoculés chacun avec 80 juvéniles éclos depuis 48 h au plus. A des temps différents, nous avons planté cinq graines prégermées de carotte cv. Nandor F1 par pot. Nous avons ainsi réalisé six séries (0, 2, 4, 8, 16 et 32 semaines sans plante-hôte). L'élevage est maintenu pendant trois mois après la mise en place de la plante-hôte puis nous procédons à l'extraction des populations (métho-

des mixtes et ultrabroyage) afin de tenter de récupérer une partie des juvéniles qui ne se seraient pas développés.

Résultats : Nous avons pris en considération uniquement les femelles adultes (kystes et femelles blanches) car les juvéniles extraits peuvent provenir en partie des masses d'oeufs néoformées et de ce fait ne pas appartenir à l'inoculum de départ. Les résultats sont exprimés à la figure 38. Nous y remarquons que le nombre de femelles néoformées décroît relativement lentement. Si l'on considère que 20 femelles développées à partir de 80 juvéniles correspondent à 100 % d'infestation, nous constatons après 12 semaines (trois mois) sans plante-hôte que le pouvoir infestant des juvéniles libres dans le sol est encore de 50 % ; après huit mois sans plante-hôte, nous observons encore 25 % d'infestation. Les juvéniles de H. carotae apparaissent dès lors beaucoup plus résistants que ceux de H. gryzse dont le pouvoir infestant n'excède pas 30 jours. Précisons aussi que cette expérience s'est déroulée en serre, donc à une température moyenne de 15°C. Il n'est pas impossible qu'en conditions naturelles le pouvoir infestant des juvéniles libres dans le sol décroisse encore moins rapidement étant donné que la période sans plante-hôte correspond à l'hiver, saison durant laquelle l'activité métabolique est ralentie par les basses températures.

## 8. INFLUENCE DE L'AGE DE LA CAROTTE SUR LA MULTIPLICATION DU PARASITE

H. carotae est capable de produire plusieurs générations sur la même culture, donc d'attaquer des plantes d'âges différents. D'autre part, les juvéniles libres dans le sol représentent un potentiel infectieux non négligeable. C'est pourquoi il nous a paru utile de préciser la relation existant entre la croissance de la plante-hôte et la multiplication du parasite. En effet, il n'est pas impossible qu'une jeune pousse de carotte soit beaucoup plus sensible à une attaque du nématode et que, de ce fait, les conséquences au niveau agronomique d'une première vague d'infestation soient beaucoup plus importantes que celles d'une seconde.

Fig. 38. Durée du pouvoir infestant d'un inoculum de 80 juvéniles  
dans un sol sans plante-hôte.

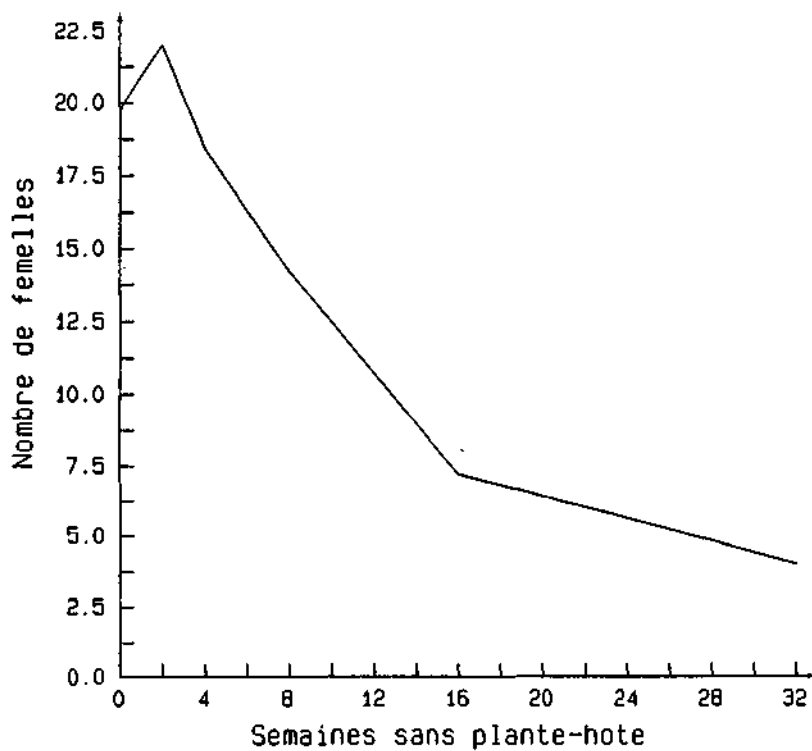
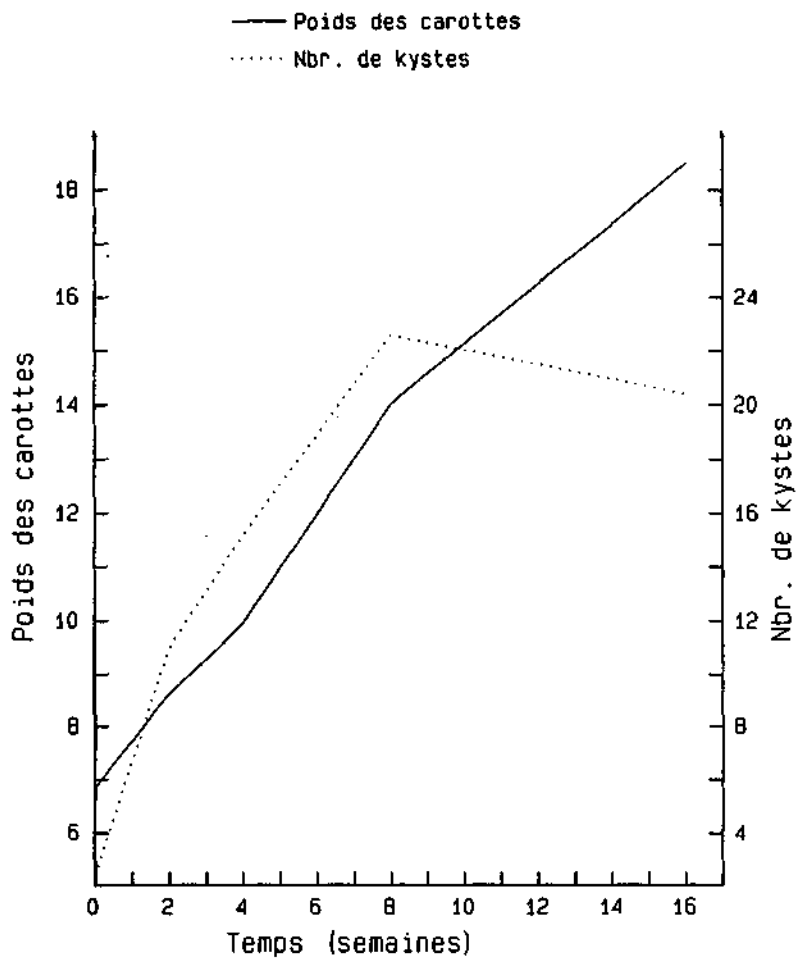


Schéma expérimental : Nous plantons dans 30 pots de 100 cc trois graines de carotte cv. Nandor F1 par pot. Nous effectuons six séries : cinq séries auxquelles nous inoculons, par pot, 100 juvéniles âgées au plus de 48 h et contenant trois carottes semées depuis 0, 1, 2, 4 et 8 semaines et une série témoin sans inoculation. Quatre mois après l'inoculation nous procédons à une extraction au moyen du décanteur à contre-courant, comptons les kystes néoformés et pesons les carottes.

Résultats : L'augmentation du nombre de kystes néoformés est en relation étroite avec l'accroissement de la plante-hôte (Fig. 39). Lorsque la masse racinaire est petite, le nombre de kystes formés est faible. De manière identique, plus la carotte croît, plus la population de H. carotae augmente. Le palier que nous observons à partir de 8 semaines n'est certainement pas le reflet d'une résistance quelconque de la plante-hôte à partir d'un certain âge. Cette stagnation du nombre de kystes formés s'explique par le fait que nous avons utilisés un inoculum de 100 juvéniles et que ces 20 kystes formés représentent environ 100 % d'infestation. Précisons également que la carotte ne semble pas affectée par le parasite, même à un jeune stade végétatif, car le poids moyen des plantes de la série témoin (7.88 gr) correspond tout à fait au poids moyen des plantes qui ont été inoculées en même temps qu'elles étaient semées (7.09 gr). Lorsque l'inoculation a lieu sur des carottes âgées d'une semaine, nous observons un poids supérieur (8.63 gr) correspondant à la semaine supplémentaire pendant laquelle la plante a poussé. La différence entre le nombre de kystes formés lorsque l'inoculation a lieu sur de jeunes plantules et lorsque l'inoculation a lieu sur des plantes âgées de deux mois est significative à  $P < 0.01$ . Ces résultats nous conduisent à quelques remarques :

- a) avec un inoculum de 100 juvéniles la carotte continue de croître indépendamment de l'âge auquel elle a été attaquée;
- b) le faible nombre de kystes formés lorsque l'infestation a lieu sur de jeunes plantules serait peut-être le reflet, selon la classification des relations plante-parasite de Dropkin et Nelson (1960) (cf. Fig. 5) d'une certaine résistance de la carotte à un jeune stade végétatif. La plante continue de pousser normalement alors que le parasite ne se

Fig. 39. Influence du poids des carottes sur le nombre de kystes  
formés.



multiplie pas ou très faiblement. Cette hypothèse pourrait s'expliquer par le phénomène d'inversion du quotient sexuel en cas d'inoculum très important. En effet, lorsque nous inoculons des juvéniles à de jeunes plantules deux possibilités sont envisageables :

la majorité des individus trouve un site alimentaire, ce qui représente, au regard de la faible taille de la radice une infestation très importante ; de cette forte attaque résulte un nombre très élevé de mâles par rapport à celui des femelles ;

un nombre important de juvéniles ne peuvent trouver un site alimentaire et n'arrivent donc pas à se développer.

- c) Il faut souligner que dans le cas de la première hypothèse où la majorité des juvéniles trouve de quoi s'alimenter, le poids de la carotte n'en serait pas diminué.

L'augmentation du taux de multiplication du parasite en fonction de l'âge de la plante-hôte a également été décrit chez G. rostockiensis lors d'essais menés en plein champ (Mugniery, 1976). Reveret et Merny (1973) ont observé une augmentation de la pénétration des juvéniles de H. oryzae en fonction de l'âge des plantules de riz. Ces auteurs émettent deux hypothèses quant à l'influence du vieillissement de la plante, donc de l'augmentation du nombre et de la longueur des racines.

- Ils admettent la présence de sites alimentaires préférentiels sur les racines dont la quantité augmente en fonction de l'accroissement de la rhizosphère.
- Ils considèrent que le déplacement effectué par les juvéniles pour trouver une racine diminue lorsque la densité de la racine augmente.

Les deux hypothèses sont d'ailleurs compatibles.

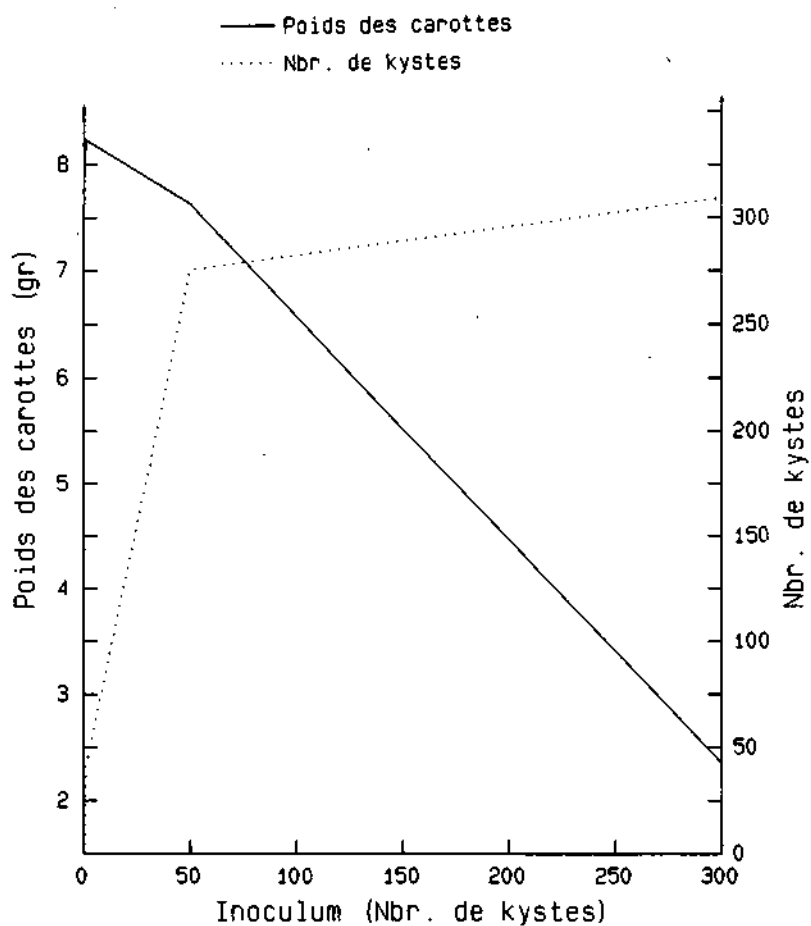
## 9. EVOLUTION DU TAUX DE MULTIPLICATION EN FONCTION DE LA VALEUR DE L'INOCULUM

Lors de l'expérience précédente, en utilisant un inoculum de 100 juvéniles par pot (1 juvénile par gr de sol) nous n'avons pas été en mesure de mettre en évidence une différence du poids des carottes entre la série témoin et les séries inoculées. Nous n'avons pas non plus observé de différence dans le poids des carottes en fonction de leurs âges au moment de l'infestation. Il pourrait donc être supposé que cette culture ne souffre pas des attaques de H. carotae ; or les problèmes agro-économiques existent. Nous pensons donc que le phénomène observé est dû à l'importance de l'inoculum. C'est pourquoi il nous a paru indispensable d'étudier expérimentalement l'évolution du poids de la plante-hôte et celle du nombre de kystes néoformés en fonction d'un inoculum croissant.

Schéma expérimental : trois graines de carotte prégermées sont semées par pot de 220 cc. La première série (cinq répétitions par série) n'a pas été inoculée (témoin). Trois autres séries sont inoculées avec 1, 50 et 300 kystes par pot, ce qui correspond, à raison de 215 individus par kyste, à un inoculum de 1, 50 et 300 juvéniles par gramme de sol. Quatre mois plus tard, nous procédons à l'extraction des populations au moyen du décanteur à contre-courant, nous comptons les femelles blanches ainsi que les kystes néoformés et nous pesons les carottes.

Résultats : L'évolution du poids des carottes et du nombre de kystes néoformés en fonction de la valeur de l'inoculum est illustré à la figure 40. Nous remarquons que le poids des carottes chuta très rapidement à partir d'un inoculum dépassant 50 kystes par 220 cc alors que le nombre de kystes néoformés augmente au contraire de manière spectaculaire jusqu'à un inoculum de 50 kystes puis se stabilise entre 250 et 300 individus néoformés pour un inoculum passant de 50 à 300 kystes par 220 cc. Ces courbes permettent d'estimer le seuil de tolérance de la carotte à 1 kyste par 220 cc de sol (1 juvénile par gramme de sol) car tout inoculum dépassant ce chiffre provoque une chute de poids de la plante-hôte. Le seuil de tolérance observé dans notre étude est quelque peu supérieur à celui estimé par les

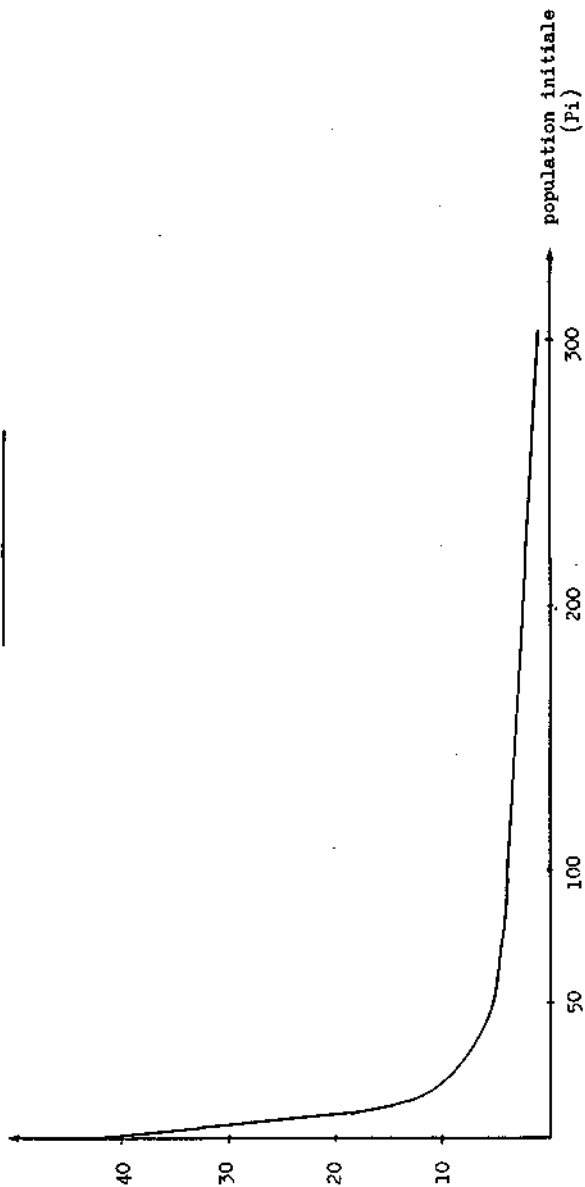
Fig. 40. Evolution du poids des carottes et du nombre de kystes néoformés en fonction de l'augmentation de l'inoculum.



travaux italiens. Ambrogioni et Palmisano (1976) définissent le seuil de tolérance de H. carotae à 0.19 oeufs par cc de sol alors que Greco et Brandonisio (1980) le situent à 0.8 oeufs par cc de sol. Cela peut s'expliquer par les conditions optimales régnant dans les serres où sont conduits nos élevages (arrosage, engrais, température etc.) qui permettent à la carotte de compenser en partie les dommages causés par le parasite. C'est probablement également pour cette raison que nous n'observons pas de différence significative entre la diminution du poids des carottes des séries inoculées avec 1 ou 50 kystes. D'autre part, nous observons (Fig. 41) que le taux de multiplication de H. carotae chute également très rapidement entre un inoculum de 1 et 50 kystes, puis décroît progressivement jusqu'à un inoculum de 300 kystes par 220 cc. Notons cependant que le taux de multiplication ne descend jamais en dessous de 1 ce qui signifie que même en présence d'une infestation extrêmement forte (300 kystes / 220 cc ou 300 juvéniles / gr de sol), les populations de ce nématode ne diminuent pas, même si la production de carottes devient, à ce stade, problématique.

taux de multiplication  $P_f / P_i$  densité d'inoculum

Fig. 41. Evolution du taux de multiplication ( $P_f/P_i$ ) en fonction de différentes



nombre de kystes par 220 cc de sol = nombre de juvéniles par gr de sol

## 10. OBSERVATION SUR L'ÉVOLUTION DU QUOTIENT SEXUEL DE M. CAROTAE ÉLEVÉ EN BOÎTE DE PETRI

### 10.1 Influence du cultivar de carotte

Nous avons vu dans l'introduction que les phénomènes de résistance aux nématodes peuvent s'exprimer de différentes façons ; il peut en effet se produire un blocage de l'évolution du parasite dans les tissus de la planta-hôte, mais cette dernière peut également induire la formation d'un nombre plus important de mâles que de femelles. D'autre part, bien que des études en plein champ n'aient pas permis de caractériser des cultivars résistants à H. carotae (Graco et Lamberti, 1977 d; Grece et Brandonisio, 1982) il nous a semblé intéressant d'étudier de manière plus précise les relations entre le nématode et différents cultivars commerciaux de carottes.

Schéma expérimental : On inocule en boîte de Petri 5 juvéniles âgés d'une semaine à trois cultivars de carottes cultivées (Nandor F1, Tiptop, Touchon) et à une souche de carotte sauvage. Les conditions d'élevage sont décrites au chapitre matériel et méthodes. Nous effectuons 15 répétitions par plante testée. Un mois plus tard nous disséquons les racines et déterminons sous la loupe binoculaire le nombre de femelles, de mâles et d'individus bloqués à un stade J<sub>2</sub> ou J<sub>3</sub>. Nous comptons également les animaux manquant, n'ayant pas pénétrés ou étant perdus. Les résultats sont analysés au moyen du test 2I de l'analyse de l'information (Arbonnier, 1966).

Résultats : Le pourcentage moyen de pénétration équivaut à 63 % avec un minimum chez la carotte sauvage et un maximum chez le cultivar Touchon. Le test 2I nous indique cependant qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents cultivars de carottes cultivées et la carotte sauvage (2I = 2.10 pour 3 ddl). Ce résultat concorde tout à fait avec ceux obtenus par les chercheurs italiens cités plus haut. Par contre, lorsque nous analysons le nombre d'individus bloqués et le nombre d'individus s'étant développés dans les racines, nous constatons une différence hautement significative d'un cultivar à l'autre (2I = 12.50 pour 3 ddl). Nous remarquons au tableau 29 que les culti-

Tab. 29. Influence de la variété de carotte sur la pénétration, le développement et le quotient sexuel de *H. carotae*.

variété	carotte sauvage	Handor F1	Tiptop	Touchon
effectif total	70	75	75	75
inoculum	5	5	5	5
J2 non pénétrés	29	30	25	24
J2-J3 bloqués	9	18	12	5
mâles	19	11	9	14
femelles	13	16	29	32
pénétration %	58,57	60	66,66	68
blocage %	21,95	40	24	9,80
quotient sexuel	1,461	0,687	0,310	0,437
<b>Limite du quotient sexuel</b>				
minimum	0,372	0,171	0,136	0,229
maximum	4,384	3,687	1,566	1,343

vars Nandor Fl et Tiptop possèdent le plus grand nombre de juvéniles bloqués. La répartition du quotient sexuel est plus délicate à interpréter. Lorsque l'on analyse ensemble les quatre séries testées, nous trouvons une différence significative à 5 % de la répartition des sexes des juvéniles développés ( $21 = 10.68$  pour 3 ddl) alors qu'au seuil 1 % l'hypothèse nulle est acceptée. Nous constatons par ailleurs (Tableau 29) que seule la carotte sauvage induit un quotient sexuel supérieur à 1. Nous avons donc, dans un deuxième temps, analysés uniquement le quotient sexuel relatif aux trois carottes cultivées, ce qui nous a permis de constater qu'il n'existe pas de différence significative sur ce point entre ces trois cultivars ( $21 = 1.93$  pour 2 ddl). Le cultivar de carotte n'influence donc en rien la pénétration des juvéniles. Par contre l'évolution de ces juvéniles dans les tissus végétaux semble dépendre de la nature du cultivar. Mais il n'est pas pour autant possible de tirer une corrélation entre un pourcentage de blocage élevé et un quotient sexuel élevé ou inversement. Si tel était le cas, cela témoignerait de l'existence d'une prédétermination sexuelle des juvéniles. D'autre part, le nombre d'animaux étudiés ne nous permet pas de trancher avec certitude la question du déterminisme du sexe car les limites des quotients sexuels sont beaucoup trop étendues, de larges recouvrements existant. Néanmoins, étant donné que nous n'observons pas de pénétration différentielle de juvéniles sexuellement prédéterminés et que les différences relatives au blocage ne sont pas en rapport avec l'évolution du quotient sexuel, nous pouvons, comme pour Globodera rostochiensis (Mugniery et Fayat, 1984), admettre que le déterminisme du sexe est chez H. carotae très probablement épigénétique. Cette expérience permet donc d'observer que parmi les trois cultivars de carottes étudiées, il n'y a pas de phénomène de résistance ni par induction d'un nombre supplémentaire de mâles, ni par blocage des individus car 40 % de juvéniles "piégés" ne suffisent pas à diminuer la population du nématode, surtout dans le cas où le quotient sexuel exprime une prédominance des femelles.

## 10.2 Influence du niveau d'infestation

Dans le but de cerner de manière plus précise le problème du déterminisme du sexe chez H. carotae, nous avons établi une expérience où seul le niveau d'infestation varie.

Schéma expérimental : Nous infestons en boîte de Petri des plantules de carottes cv. Nandor F1 avec des juvéniles éclos depuis 1 semaine en série croissante (1, 3, 5 et 10 juvéniles par racine). Un mois plus tard nous procédons de même manière que lors de l'expérience précédente.

Résultats : Il existe pour les différents taux d'infestation une différence significative du nombre d'individus ayant pénétré dans les racines ( $2I = 18.52$  pour 3 ddl). Nous constatons aussi, sans pouvoir l'expliquer, que les séries inoculées avec 1 et 10 juvéniles par racine montrent un meilleur pourcentage de pénétration que celles inoculées avec 3 et 5 juvéniles (Tableau 30). D'autre part, le nombre d'individus bloqués ne semble pas dépendre de la densité de l'inoculum ( $2I = 1.72$  pour 3 ddl). Le test  $2I$  indique que le quotient sexuel est hautement dépendant de l'inoculum ( $2I = 15.05$  pour 3 ddl). Comme nous ne connaissons pas la proportion de mâles et de femelles de la population initiale, nous admettons que le quotient sexuel original est de 1. Ainsi, pour l'inoculum "1 juvénile par racine", lorsque l'on prend en considération le nombre de femelles formées, cette hypothèse est vérifiée par le test de  $\chi^2$  ; cela signifie donc que tous les individus bloqués et n'ayant pas pénétré sont des mâles. Par contre cette même hypothèse appliquée aux inoculums 3, 5 et 10 juvéniles par racine n'est pas confirmée par le test de  $\chi^2$ . De même, lorsque l'on compare les pourcentages de pénétration des inoculums 3 et 10 juvéniles, il apparaît que l'augmentation de la pénétration est en relation avec celle du nombre de mâles formés. On pourrait donc en déduire que les juvéniles sont sexuellement prédéterminés et que, pour des raisons encore inconnues, les juvéniles mâles attaquent plus volontiers la carotte lorsque la population est élevée. Ces remarques et contradictions nous font opter, comme précédemment pour un déterminisme sexuel de caractère épigénique chez H. carotae. Ceci d'autant plus que lors d'une expérience parallèle, où nous avons

Tab. 30. Influence de quatre niveaux d'infestation différents sur le  
comportement de H. carotae

inoculum	1	3	5	10
effectif total	205	252	255	231
J2 non pénétrés	61	91	79	44
J2-J3 bloqués	5	5	10	9
mâles	37	61	63	85
femelles	102	95	103	93
pénétration %	70.24	63.88	69.01	80.95
blocage %	3.5	3.10	5.68	4.81
quotient sexuel	0.362	0.642	0.611	0.913
Limite du quotient sexuel				
minimum	0.220	0.319	0.528	0.582
maximum	1.009	1.652	1.475	1.483

inoculé 1, 10 et 30 juvéniles à des plantules de carottes, le quotient sexuel est apparu à nouveau hautement dépendant du niveau d'infestation ( $2I = 46.42$  pour 2 ddl). Il en est de même avec le nombre des juvéniles bloqués ( $2I = 9.33$  pour 2 ddl) alors que le nombre d'individus ayant pénétré dans les racines ne diffère de manière significative que pour un seuil situé entre  $P 0.05$  et  $P 0.01$ . Remarquons enfin que si, dans la série inoculée avec 30 juvéniles, tous les individus bloqués étaient femelles (Tableau 31) cela ne serait cependant pas suffisant pour compenser le nombre croissant de mâles formés. Cette augmentation du quotient sexuel ne se comprend que, si par une compétition intraspécifique, limitant d'ailleurs le développement, était favorisée la formation de juvéniles de sexe mâle plutôt que femelle.

### 10.3 Evolution différentielle des juvéniles issus des kystes ou des masses d'oeufs

L'expérience relatée mise à étudier l'influence de différents taux d'infestation sur la pénétration, le développement et le sexe des juvéniles de M. carotae issus soit de kystes soit de masses d'oeufs. En effet, dans les expériences précédentes les juvéniles étaient utilisés sans tenir compte de leur origine. La méthode appliquée ici est identique à celle décrite précédemment.

Résultats : Le taux de pénétration moyen des juvéniles issus des kystes (Tableau 32) est de 65.46 %, le test  $2I$  indiquant qu'il n'y a aucune influence de la densité de l'inoculum sur la pénétration des juvéniles dans les racines. Il en est de même avec le nombre d'individus bloqués dont le pourcentage moyen est de 16.86 %. Le quotient sexuel s'accroît légèrement en fonction de l'augmentation du niveau d'infestation sans pour autant que cette dépendance soit assurée statistiquement ( $2I = 2.5$  pour 3 ddl). Pour les juvéniles issus des masses d'oeufs (Tableau 33) les résultats sont très semblables ; cependant les pourcentages de pénétration (67.14 %) et de blocage (17.55 %) sont légèrement supérieurs. Le test  $2I$  indique à nouveau que ces deux paramètres ne dépendent pas du niveau d'infestation. Par contre en ce qui concerne le quotient sexuel, le nombre de mâles chute de manière

Tab. 31. Influence de trois niveaux d'infection différents sur le  
comportement de juvéniles de *H. carotae*

inoculum	1	10	30
effectif total	20	200	300
J2 non pénétrés	3	40	83
J2-J3 bloqués	3	40	83
mâles	4	83	126
femelles	10	37	8
pénétration %	85	80	72.3
blocage %	17.64	25	38.24
quotient sexuel	0.400	2.243	15.75
Limite du quotient sexuel			
minimum	0.25	0.70	0.72
maximum	1	4.40	36.5

Tab. 32. Influence de quatre niveaux d'infestation différents sur le  
comportement de juvéniles issus de kystes de H. carotae.

inoculum	1	3	5	10
effectif total	131	132	130	150
J2 non pénétrés	38	54	41	55
J2-J3 bloqués	20	14	9	17
mâles	28	27	40	37
femelles	45	37	40	41
pénétration %	70.99	59.09	68.46	63.33
blocage %	21.5	17.94	10.11	17.89
quotient sexuel	0.622	0.729	1	0.902
Limite du quotient sexuel				
minimum	0.271	0.257	0.444	0.327
maximum	1.911	2.567	2.25	2.658

Tab. 33. Influence de quatre niveaux d'infestation différents sur le comportement de juvéniles issus de masses d'oeufs de *H. carotae*

inoculum	1	3	5	10
effectif total	126	126	130	130
J2 non pénétrés	41	49	40	38
J2-J3 bloqués	13	11	18	19
mâles	26	26	7	23
femelles	46	40	65	50
pénétration %	67.46	61.11	69.23	70.76
blocage %	15.29	14.28	20	20.65
quotient sexuel	0.565	0.650	0.107	0.460
Limite du quotient sexuel				
minimum	0.260	0.260	0.050	0.214
maximum	1.739	2.150	1	1.600

re inexplicable dans la série où l'inoculum est de 5 juvéniles. Si l'on fait exception de cette série il n'existe pas de différence significative globale ( $21 = 0.96$  pour 2 ddl) dans la répartition des sexes des juvéniles développés.

Ces résultats nous suggèrent deux remarques. Premièrement nous constatons qu'il n'y a pas de différence dans le comportement des juvéniles issus des kystes ou des masses d'oeufs lors d'infestations avec des inoculums croissants ; cependant le quotient sexuel observé lors de l'infestation avec des juvéniles issus de masses d'oeufs est très légèrement inférieur à celui obtenu à partir de juvéniles issus de kystes. Nous pourrions donc penser que le déterminisme du sexe favoriserait les femelles dans le cas des juvéniles issus des masses d'oeufs, et donc que le caractère épigénique du déterminisme dépendrait de l'origine des individus... Deuxièmement, les résultats obtenus ici ne correspondent pas exactement avec ceux obtenus lors des expériences précédentes, car l'augmentation de la densité d'inoculum n'influence pas ou peu le quotient sexuel. Ceci démontre la très grande hétérogénéité des populations de H. carotae. Le fait que, pour cette population, un inoculum de 10 juvéniles par racine ne favorise pas ou très légèrement le développement des mâles ne signifie pas pour autant que le déterminisme du sexe ne soit pas de caractère épigénique.

Il est intéressant, au terme de ces expériences concernant l'évolution du quotient sexuel de H. carotae en fonction de divers facteurs, de préciser quelque peu les modalités du déterminisme du sexe chez les nématodes. Les connaissances actuelles des mécanismes chromosomiques qui déterminent le sexe des nématodes phytoparasites sont très sommaires (Triantaphyllou, 1971). Chez les espèces gonochoriques le déterminisme du sexe semble être du type XX (femelle) - XO (mâle). Cependant, aujourd'hui encore il n'est pas possible de reconnaître avec certitude la présence de chromosomes sexuels, si bien qu'un déterminisme de type XX - XY avec des chromosomes sexuels indistinguables des autoosomes n'est pas exclu (Triantaphyllou, 1973). Lors d'une étude cytologique de quelques espèces du genre Heterodera, Cotten (1965) observe les chromosomes de H. carotae. Seul le stade métaphase I permet la visualisation des paires de chromosomes dont la taille minuscule se situe aux alentours de 1  $\mu$ m. Cet auteur n'a d'ail-

leurs pas réussi à déterminer le nombre chromosomique de H. csrotae. Cependant la majorité des espèces amphimictiques comme H. avense, H. schachtii, G. rostochiensis, H. cruciferae, H. goettingiana possèdent un nombre chromosomique diploïde  $2n=18$ . Selon Triantaphyllou (1973), les espèces diploïdes à amphimixie obligatoire doivent posséder, pour assurer la perpétuation de l'espèce, un solide mécanisme génétique de déterminisme du sexe qui assurera un développement plus ou moins égal de mâles et de femelles à chaque génération. Pourtant l'influence de l'environnement sur l'évolution du quotient sexuel de H. carotas est évidente. Ceci implique donc que tous les juvéniles sont identiques quant aux facteurs génétiques déterminant le sexe, ou que les différences génétiques sont assez faibles pour que l'expression phénotypique puisse être davantage influencée par des facteurs extérieurs que par des facteurs génétiques.

## 0. DISCUSSION

### 1. CONSIDERATIONS SUR LA SPECIFICITE PARASITAIRE EN PHYTONEMATOLOGIE

Il est généralement admis actuellement que les nématodes phytoparasites ont évolué à partir d'espèces libres dans le sol (Siddiqui, 1980). Le mode de parasitisme traduisant l'intimité de la relation plante-parasite permet de répartir les nématodes phytoparasites en différents groupes. Les ectoparasites tels que les Longidoridae, par exemple, ne pénètrent pas à l'intérieur des tissus ; ils s'alimentent en perforant les cellules grâce à leur stylet. La salive injectée lors de cette opération peut induire d'importants dommages aux tissus, provoquant même la mort des cellules, ce qui obligera le nématode à rechercher un autre site alimentaire. Ainsi ce genre de relation assez superficielle s'accompagne fréquemment d'un éventail assez large de plantes-hôtes. Les endoparasites migrants tels les Ditylenchus, les Prstylenchus, les Radopholus, les Hirschmanniella par exemple, pénètrent à l'intérieur des tissus de la plante-hôte en produisant des cavités qui seront autant d'ouvertures possibles pour des agents pathogènes (champignons, bactéries). La salive et les produits d'excrétion de ces espèces provoquent également des nécroses dans les tissus de la plante lesquelles vont à nouveau obliger le parasite à se déplacer pour pouvoir continuer de s'alimenter. La relation plante-parasite, bien que plus étroite, est encore de caractère peu évolué. Les endoparasites sédentaires tels les Heterodera et les Meloidogyne pénètrent à l'intérieur des tissus de la plante-hôte et "élaborent" un site nutritionnel qu'ils ne vont plus quitter durant tout leur développement. Il est évident que dans ce cas, l'induction d'une nécrose serait fatale au parasite. Or nous constatons que ces espèces possèdent dans leur salive des substances de type hormonal (auxines), qui, au contraire, provoquent chez la plante-hôte la formation d'un tissu nourricier, les cellules de transfert, sous forme de syncytium ou de cellules géantes multinucléées ou possédant un seul noyau géant. La relation plante-parasite devient à ce niveau très évoluée. Le développement d'un

tel complexe de relations chimiques, enzymatiques ou même génétiques (Jones, 1974) entre le nématode et la plante est le résultat d'une co-évolution hôte-parasite qui a amené ce dernier à une dépendance toujours plus étroite face à son ou ses hôte(s). Les Meloidogyne possèdent en effet un des plus larges éventails d'hôtes connus. Par contre, chez les Heterodera exclusivement, un degré élevé de spécificité parasitaire apparaît être la conséquence d'une relation planta-parasite extrêmement intime, effectuée au détriment du caractère polyphage.

Tel est le cas de H. carotae qui, comme nous l'avons vu lors de l'étude de la qualité d'hôte de diverses ombellifères sauvages et cultivées, ne parasite que quatre espèces botaniques appartenant à deux genres d'une même famille. Ce caractère est d'une très grande importance. En effet, de manière générale, la présence et la survie d'un parasite ne dépend pas uniquement de ses propres exigences biologiques, mais également de sa niche écologique qui, par définition, est en parasitologie un autre organisme. Ainsi plus la relation hôte-parasite est étroite, plus la répartition de ce dernier dépendra de la distribution de sa ou ses plantes-hôtes.

Dans le cas de H. carotae, il convient de se rappeler que le torilis faux carfeuil est apparu comme excellente planta-hôte. Cependant on remarque (Tableau 7) que cette ombellifère n'est pas très répandue. Ainsi son rôle en tant que réservoir naturel du parasite n'est de loin pas aussi important que celui de la cerotte sauvage. La répartition de celle-ci par contre est très vaste, car bien qu'elle préfère en général les stations sèches sur sol maigre, on la trouve également dans des anciennes prairies naturelles et sur les bords de route.

### 1.1 Conséquences au niveau agronomique

Un degré élevé de spécificité parasitaire peut avoir, au niveau agronomique, deux conséquences, l'une positive, l'autre négative. En ce qui concerne la première, nous avons remarqué dans notre étude qu'aucune autre ombellifère potagère à part la cerotte, ne permettait le développement de H. carotae. Cette particularité n'est pas sans intérêt pour le cultivateur qui peut envisager en toute quiétude une rotation culturale tant recom-

mandées faisant intervenir, si nécessaire, d'autres ombellifères sans risquer de multiplier le nématode. D'autre part, en l'absence de plante-hôte, les populations de nématodes vont progressivement diminuer. Cette chute des populations correspond d'une part à la mortalité des oeufs non éclos et d'autre part au taux d'éclosion naturel du nématode dont les juvéniles infectants meurent en l'absence de plante-hôte. Ces réductions annuelles des populations ont été spécialement étudiées chez les nématodes à kystes de la pomme de terre, Globodera rostochiensis et G. pallida, contre lesquels des mesures très strictes interdisent la culture de plant de pomme de terre en terrain contaminé, ne saurait-ce que par un seul kyste, ont été prises. Cette réduction annuelle est estimée à 50 % par Oostenbrink (1950) mais des études plus récentes démontrent que la baisse réelle des populations n'est que de 18-20 % (Stone et al., 1973; Mugniery et Belandras, 1984). Selon Mugniery (1982 a) chaque population régionale constitue un écotype particulier caractérisé par un taux d'éclosion, une agressivité et un taux de multiplication propres. Toutefois, même en prenant en considération ces variations régionales nous pouvons estimer à 20-30 ans la durée nécessaire à l'éradication totale. En ce qui concerne H. csrotze la seule étude concernant l'effet de la rotation culturale fait état d'une chute des populations de 49 % pour une année sans carottes et de 45 % pour deux ans sans carottes (Ambrogioni et Palmisano, 1976). Ces chiffres nous paraissent élevés car suivant nos observations le taux de mortalité du contenu des kystes après une ou plusieurs générations est de 5.7 % auxquels vient s'ajouter le taux d'éclosion des kystes en l'absence de plante-hôte, soit environ 10.5 %. Aussi chez H. csrotze estimons-nous à un maximum de 20 % la diminution possible des populations en une année sans culture de carottes. De toute manière nous constatons que la diminution naturelle des populations n'est pas suffisamment rapide et importante pour satisfaire aux exigences agronomiques. Cependant, plus la complexité des relations hôte-parasite augmente, plus les phénomènes de résistance deviennent fréquents (Rohde, 1972). Un type élaboré de relation plante-parasite permet donc d'envisager des mesures de lutte intégrée faisant intervenir des cultivars résistants ou des plantes-pièges. L'utilisation de cultivars résistants est spécialement

pratique dans le cas de lignées végétatives pures comme la pomme de terre. Les cultures céréalières ont de leur côté fait l'objet de nombreuses études au niveau génétique si bien qu'actuellement le cultivateur possède un vaste choix de cultivars résistants à M. avenae (Rivoal, 1979 a; Rivoal et al., 1980). L'introduction sur le marché de crucifères résistantes à M. schachtii permet également d'envisager une rotation culturale plus aisée (Müller, 1978; Müller et von Kries, 1981; Heijbroek, 1982). Ce n'est malheureusement pas le cas pour M. carotae contre lequel aucun cultivar de carottes résistantes n'est connu à ce jour. De même, aucune des ombellifères cultivées n'agissant comme plante-piège, la perspective d'utilisation d'autres ombellifères dans la lutte contre M. carotae paraît difficile à envisager. Notons cependant que le grand boucage (Pimpinella major), exceptionnellement parasité dans notre étude expérimentale, pourrait être considéré comme plante-piège car aucune femelle néoformée n'a été découverte lors de l'analyse au moyen du biotest. Malheureusement le taux de pénétration des juvéniles infestants établi en boîte de Petri est beaucoup trop faible pour contribuer véritablement à une réduction des populations naturelles (seulement 3 % d'individus piégés). Par contre, à l'inverse du torilis faux-cerfeuil, le grand boucage est très répandu (Tableau 7) si bien que cette espèce pourrait servir en milieu de prairie à maintenir un certain équilibre des populations de M. carotae. D'autre part, la carotte étant une culture à longue période végétative, il n'est pas possible économiquement de l'utiliser comme plante-piège en procédant à un arrachage précoce avant que le parasite n'ait eu le temps de se multiplier, à la manière de certains cultivars de pomme de terre utilisés dans la lutte contre G. rostochiensis et G. pallida (Mugnier, 1978 a, b). Nous constatons donc que les avantages de la spécificité parasitaire au niveau agronomique, bien connus pour certaines espèces de nématodes, ne sont pas applicables dans la lutte contre M. carotae.

L'aspect négatif de cette évolution est principalement la persistance à long terme du parasite en terrain contaminé. En effet, le développement de la spécificité parasitaire ne s'est pas effectué sans un développement complémentaire de mécanismes permettant au nématode de surmonter les désavantages de sa spé-

cialisation. Nous allons débattre de ces différents moyens dans le chapitre suivant.

## 2. STRATEGIES DE SURVIE

Pour la compréhension du texte nous voulons dans un premier temps préciser les notions de dormance, diapause et quiescence. Nous nous rapportons à l'article de Evans et Parry (1976) concernant les modalités de survie chez les nématodes. Le terme dormance définit tout état en métabolisme ralenti. La diapause par contre est un arrêt de développement initié soit de manière spontanée par des facteurs endogènes, soit induit par les conditions extérieures. La levée de la diapause n'est possible qu'après un certain temps minimum, soit de manière spontanée en fonction de facteurs endogènes, soit par une stimulation exogène. Au contraire, la quiescence est un arrêt de développement initié uniquement par l'apparition de facteurs environnants défavorables. Sa levée ne dépend par conséquent que du retour à des conditions favorables. Ainsi la survie en l'absence de plante-hôte de nématodes oligophages comme H. carotae dépend principalement de deux conditions. Premièrement, le parasite doit économiser ses réserves énergétiques afin de prolonger sa durée de vie, ce qui explique la nécessité d'une dormance dont nous verrons plus tard si elle est de type diapause ou quiescence. Deuxièmement, la stimulation des juvéniles lors de l'éclosion, de la recherche d'une racine et de la pénétration ne doit provenir que de la plante-hôte (exsudat radiculaire) ou de conditions favorisant la présence de cette plante-hôte (augmentation printanière de la température du sol).

### 2.1 Rôle des masses d'oeufs

Nous avons vu lors des expériences concernant l'éclosion de H. carotae que les masses d'oeufs libèrent davantage de juvéniles que les kystes et que cette libération s'effectue de manière plus rapide. Le fait que tous les oeufs n'éclosent pas dès que les conditions nécessaires (température, exsudat radiculaire) sont réunies et que le temps minimum avant la seconde phase

d'éclosion soit totalement indépendant d'un choc thermique témoigne bien de la présence d'une diapause affectant une certaine proportion des oeufs. Ceci est connu pour les masses d'oeufs de Meloidogyne incognita (de Guiren, 1975; 1979 b) bien que chez cette espèce la diapause se manifeste alors que les oeufs sont encore à un stade non différencié tandis que chez M. carotae elle intéresse les juvéniles infestants ( $J_2$ ) enfermés dans le chorion de l'oeuf. La diapause d'une partie du contenu des masses d'oeufs de M. carotae se rapproche davantage de celle observée par Ogunfowora et Evans (1977) chez Meloidogyne nassi. Le taux d'éclosion des oeufs de cette espèce varie entre 38 et 57 % mais une période de refroidissement permet d'obtenir 90 % d'éclosion. De même les jeunes masses d'oeufs de M. carotae supportant un passage à basse température et sont de plus stimulées par un tel traitement. Par contre dans les sols saturés d'eau les juvéniles de M. incognita montrent une quiescence due à l'anoxie (de Guiren, 1979 a; 1980) ; plus cette anoxie est forte, plus l'éclosion est retardée et diminuée (de Guiren et Demaree, 1978). Ainsi le faible taux de multiplication des masses d'oeufs observé lors de l'expérience concernant l'influence d'un stockage à basse température sur l'éclosion et le taux de multiplication du nématode (Tableau 25), par rapport à celui rencontré lors des élevages en boîte quadricellulaire s'expliquerait d'une part par une quiescence due aux conditions anoxiques induites durant la semaine passée à 20°C dans de l'eau, et d'autre part par la forte compétition entre individus, compétition due à la densité de l'inoculum. Relevons encore que nous n'avons pas observé, lors de cette expérience, d'augmentation du pourcentage d'oeufs en diapause comme ce fut le cas avec les oeufs de M. incognita (de Guiren, 1980). Ainsi la production de masses d'oeufs permet à M. carotae d'utiliser le plus rapidement possible la présence de conditions optimales pour son développement et d'assurer de cette manière, et avec d'autant plus de chance, sa multiplication. Par leur résistance aux basses températures, les juvéniles infestants contenus dans les masses d'oeufs peuvent également jouer un rôle dans la conservation de l'espèce d'une année à l'autre. Ce double rôle de réinfestation rapide et de conservation de l'espèce en l'absence de culture de plante-hôte est également démontré par les masses d'oeufs de M.

oryzae (Merny, 1966). La masse gélatineuse permet aussi de conserver une certaine humidité autour des oeufs, empêchant ainsi une déshydratation trop rapide en cas de sécheresse.

## 2.2 Rôle des kystes

Il ressort de la partie expérimentale que les kystes nécessitent de manière identique aux masses d'oeufs, la présence d'exsudat radiculaire de carotte pour éclore. Cependant, même lorsque les conditions optimales sont réunies (température, exsudat radiculaire), les kystes néoformés ne libèrent pas de juvéniles avant une période d'environ quatre mois après la mise en route de l'expérience. Les premières éclosions apparaissent ainsi chez des kystes âgés d'environ huit à neuf mois. Ce délai d'éclosion n'est pas imputable à la lenteur de la diffusion de l'exsudat radiculaire car Forrest et Perry (1980) ont démontré qu'une période de stimulation très courte suffit à provoquer une augmentation du taux d'éclosion de G. rostochiensis. Nos résultats suggèrent donc plutôt la présence d'une diapause qui ne serait d'ailleurs pas influencée par un stockage à basse température. Un tel traitement permet pourtant d'augmenter le taux d'éclosion des juvéniles de H. avenae (Williams et al., 1977; Rivoel, 1979 b). Cette diapause n'est pas non plus levée par un passage à haute température comme c'est le cas pour G. rostochiensis ou H. cruciferae (Shepherd et Cox, 1967). La température optimale pour l'éclosion des kystes de H. carotae se situe à 15°C, ce qui correspond à celle observée pour H. avenae (Banner et Fisher, 1971 a). Nous constatons en outre qu'une température constante provoque une éclosion plus rapide et plus importante. Ce résultat contredit en partie ceux obtenus par Bishop (1955) avec G. rostochiensis. Cependant Rode (1971) ne remarque pas de différence entre le nombre de juvéniles éclos à température constante ou alternée. Les variations journalières de température dans le sol sont d'ailleurs très faibles et n'ont donc pas une grande influence sur l'éclosion des nématodes. L'éclosion en pleine terre des kystes de H. carotae est étroitement liée à l'augmentation printanière de la température du sol. L'éclosion cesse à partir du mois d'août environ, lorsque la température du sol à 20 cm de profondeur commence à baisser. Il est intéressant de

noter que ce cycle d'éclosion diffère passablement de celui décrit par Greco (1981) pour M. carotae en Italie. Cet auteur a montré que l'éclosion débute à partir du mois d'août ou septembre, ce qui correspond à une diminution de la température, et qu'elle se poursuit durant tout l'hiver jusqu'au mois de mars lorsque les températures se situent entre 15°C et 10°C. Ainsi l'éclosion des kystes de M. carotae en climat méditerranéen correspond aux périodes automnale et hivernale alors que sous nos conditions climatiques cette phase active correspond à des périodes printanières et pré-estivale. Nous constatons cependant que sous les deux climats l'éclosion des kystes de M. carotae est fortement diminuée si les températures dépassent 20°C. Cette adaptation est une preuve évidente de la synchronisation de la vie du parasite avec celles de son hôte et correspond tout à fait avec les variations de comportement enregistrées pour les races Fri et Fr4 de M. avenae (Rivosi, 1978, 1979 b). Il faut se rappeler qu'en Italie du sud la culture de carotte a lieu de septembre à février alors que chez nous elle a lieu d'avril à octobre. Une adaptation au cycle vital de l'hôte existe chez plusieurs espèces de nématodes à kyste avec forme de dormance hivernale (Shepherd, 1962 b; Shepherd et Clarke, 1971). La réalisation de micro-élevages en boîte quadricellulaire nous a permis de mettre en évidence chez M. carotae une diapause totale pour 45 % de la population étudiée alors que les 55 % restants sont soumis à une diapause partielle. Cette caractéristique est également connue chez M. avenae où la race Fri (méridionale) ne libère dans les meilleurs des cas que 60 % des juvéniles (Rivosi, 1979 b; 1983 b). La présence d'une diapause partielle, donc d'individus capables de donner une nouvelle génération après trois à quatre mois contredit les résultats obtenus lors des expériences concernant l'éclosion du parasite. Ceci s'explique par les conditions extrêmes des tamis à éclosion. Preuve en est les 47 % de mortalité enregistrés à la fin de l'étude de l'influence d'une température constante sur le taux d'éclosion des kystes de M. carotae en comparaison des 5 % observés après quatre élevages successifs en petits pots. Un tel phénomène semble connu car Shepherd (1963) décrit également des différences entre les taux d'éclosions observés in vitro et ceux obtenus in vivo.

La diapause de H. carotas doit être d'origine endogène car elle existe chez des kystes élevés en serre à différentes époques et en dehors des conditions édaphiques saisonnières. Ce n'est pas le cas de G. rostochiensis où la diapause est induite par les conditions du sol à la fin de l'été (Cunningham, 1960). Shepherd et Cox (1967) proposent dans ce cas de parler de "diapause facultative" car des kystes prélevés en plein champ pendant le mois de juin présentent un excellent taux d'éclosion. Les kystes jouent donc un rôle primordial dans la survie de l'espèce. Cette enveloppe cuticulaire modifiée protège les oeufs contre les prédateurs et les conditions extérieures défavorables. La présence d'une barrière supplémentaire permet une déshydratation progressive des oeufs de C. rostochiensis qui peuvent ainsi aisément être conservés à basse température pour des expériences de laboratoire. De manière générale, le pourcentage de survie des nématodes à la dessiccation est d'autant plus élevé que la déshydratation est plus progressive (Demeure et al., 1979). D'autres travaux ont par ailleurs démontré que la répartition de H. avenae en Australie s'effectue grâce à la dispersion par les vents des kystes desséchés (Mesgher, 1982). Comme nous l'avons vu lors de l'introduction, le kyste permet également d'échelonner la libération des juvéniles car ces derniers sont obligés de se frayer un passage les uns après les autres à travers soit les fenêtres vulvaires, soit la partie antérieure fréquemment déchirée. Ceci explique que des kystes préalablement écrasés libèrent les juvéniles plus rapidement et en plus grand nombre que des kystes intacts (Ellenby, 1956). Mais le rôle le plus important des kystes est assurément le maintien à long terme d'un stock infectieux grâce à certaines caractéristiques biologiques. Ainsi la présence d'une diapause totale garantit un potentiel infectieux pour les années à venir. D'autre part la diapause partielle permet le renouvellement des populations tout en économisant le stock des juvéniles contaminants car elle ne permet pas un taux d'éclosion de 100 %. Les kystes jouent donc le rôle de réservoir à long terme en libérant les juvéniles de manière modérée et échelonnée.

### 2.3 Rôle des juvéniles libres dans le sol.

Lorsque l'on s'intéresse aux différentes méthodes utilisées par H. carotae pour assurer sa survie en absence de plante-hôte il ne faut pas oublier le rôle tenu par les juvéniles ( $J_2$ ) éclos. Nous avons remarqué que ce stade mobile est capable de vivre pendant huit mois et peut-être plus sans support alimentaire. Après une telle période nous observons cependant 75 % de mortalité, mais les individus recaptés peuvent produire une nouvelle génération. La survie des juvéniles dans le sol en absence de plants-hôte a également été étudiée chez H. schachtii (Golden et Shafer, 1960). Ces auteurs montrent que les juvéniles supportent très bien six mois sans plante-hôte ; à partir de sept mois les populations chutent rapidement mais réensemencent cependant à produire quelques kystes, même après une année sans bettesaves. Tant pour H. carotae que pour H. schachtii, la perte du pouvoir infectant des juvéniles libres dans le sol est en relation avec l'utilisation de leurs réserves alimentaires. La rapidité avec laquelle les lipides sont brûlés dépend bien évidemment de l'activité métabolique des individus. C'est pourquoi en climat tropical la survie des juvéniles de H. oryzae n'excède pas trente jours (Merny, 1966) alors que sous nos latitudes le potentiel infectieux des stades libres dans le sol diminue certainement plus lentement en hiver qu'en été. D'autre part, ces réserves lipidiques dépendent également de l'âge des juvéniles. Pour des individus en dormance à l'intérieur des kystes de G. rostochiensis, l'utilisation des réserves lipidiques est de 50 % en sept ans et demi, alors qu'une fois éclos les juvéniles brûlent le 50 % de leurs réserves en 36 jours (Storey, 1984). La mobilité et, par conséquent le pouvoir infectant des juvéniles dans le sol, dépend donc de la quantité de leurs réserves lipidiques qui dépendent elles-mêmes du temps passé en dormance. Nous constatons en conclusion que les juvéniles de H. carotae, libres dans le sol participent également au maintien d'un stock infectieux d'une année à l'autre.

### 3. CONSEQUENCES AU NIVEAU AGRONOMIQUE DE LA PERSISTANCE DU NEMATODE DANS UN SOL CONTAMINE

Nous avons vu dans le chapitre précédent que les moyens de survie ne manquent pas chez H. carotae. Ils peuvent être d'ordre anatomique (kyete, masse d'oeufs) pour protéger les oeufs des facteurs extérieurs défavorables et échelonner les éclosions, ou d'ordre physiologique (diapause totale et partielle, durée de vie des juvéniles, modalité d'éclosion) pour maintenir un stock infectieux suffisant à long et moyen terme. Mais la caractéristique la plus importante, et qui semble d'ailleurs uniquement liée au genre Heterodera sensu lato (Shepherd et Clarke, 1971), est l'étroite dépendance de l'éclosion vis à vis de l'exsudat radiculaire de la plante-hôte. Le développement de ces différentes stratégies de survie permet une baisse naturelle très faible seulement des populations. Aussi un champ infesté ne reste malheureusement pour longtemps. Dès lors, en l'absence de cultivars résistants ou de plantes-pièges, nous pouvons envisager deux voies pour diminuer les populations de H. carotae dans le sol. Premièrement, une éclosion printanière forcée en l'absence de plante-hôte permettrait d'augmenter le nombre de juvéniles libres dans le sol qui disparaîtraient en une année environ, faute de n'avoir pu s'alimenter. Malheureusement nous ne connaissons pas d'ombellifère cultivée provoquant l'éclosion des juvéniles mais ne multipliant pas le parasite comme c'est le cas pour H. schachtii (Caubel et Cheubst, 1985). La seule plante non hôte qui permet une libération de juvéniles tout aussi importante que la carotte est le cerfeuil penché (Cherophyllum temulum). Mais, du point de vue agro-économique, il est difficile d'envisager la culture d'une ombellifère sauvage.

Deuxièmement, la présence d'exsudats radiculaires inhibiteurs permettrait de bloquer l'éclosion du nématode comme c'est le cas avec G. rostochiensis en présence d'exsudat radiculaire de moutarde (Forrest et Farrer, 1983). Nous avons vu que plusieurs ombellifères inhibent également l'éclosion de cette espèce. Par contre les ombellifères qualifiées dans notre travail d'inhibitrices de l'éclosion de H. carotae ne le sont que par comparaison à la solution témoin (eau du robinet) et non à la solution

de sol. Cela signifie que la présence de ces espèces botaniques ne provoquerait pas une éclosion plus faible qu'en l'absence totale de culture. Notons enfin que l'utilisation de cultivars résistants, bien que pratique pour le cultivateur, ne permet pas toujours d'assainir les sols. En général ces plantes ne provoquent pas une éclosion plus faible (Turner et Stone, 1981) si bien que parmi les juvéniles éclos quelques uns peuvent tout de même se développer en femelle, ce qui serait impossible en présence de plantes-pièges. De toute manière, vouloir bloquer l'éclosion du nématode ne fait en définitive que reporter le problème...

Ainsi, en l'absence de plantes non sensibles mais provoquant l'éclosion des juvéniles, de même qu'en l'absence de cultivars résistants à M. carotae, et dans l'impossibilité de pratiquer actuellement une culture piège, le seul moyen de lutte, mis à part la lutte chimique, reste la rotation culturale.

#### 4. CONSIDERATIONS SUR LES NOTIONS D'EQUILIBRE DES POPULATIONS ET DE SEUIL DE TOLERANCE

Les prélèvements de sol effectués dans la rhizosphère des carottes sauvages ont démontré que le niveau des populations de M. carotae est très faible, en condition naturelle. En effet, bien que la carotte (Daucus carota) soit répandue, elle pousse rarement de manière très dense. D'autre part, nous avons vu que le quotient sexuel de M. carotae en présence de la carotte sauvage est légèrement supérieur à 1, ce qui signifie qu'en général le nombre de mâles formés est plus élevé que celui des femelles. Ces différentes raisons permettent aux populations d'être en équilibre à un seuil relativement bas. Nous insistons ici sur le fait que la notion de seuil d'équilibre se rapporte, dans notre travail, aux populations de M. carotae et se caractérise par une stabilité du nombre d'individus formés d'une génération à l'autre. Cette notion est tout à fait différente de la densité d'équilibre exposée par Ambrogioni et Palmisano (1976) qui exprime la densité de l'inoculum à partir de laquelle la production de carotte ne diminue plus. En culture les conditions sont différentes. Premièrement la densité de la plante-hôte est beaucoup

plus importante. Le parasite évolue dans la rhizosphère d'une monoculture sans que l'on ne connaisse bien les conséquences sur les équilibres biologiques du sol. Il n'est pas exclu que des effets antagonistes (prois-prédsteur, hyperparasitisme) existent en conditions naturelles et contribuent à maintenir les populations de H. csrotse à une densité relativement faible, mais soient fortement amoindri dans les zones cultivées. Deuxièmement, l'amélioration progressive de la qualité des carottes (meilleure croissance, plus grande vigueur, résistance éventuelle à certaines maladies, stimulation par les engrais) profite avant tout au parasite dont le nombre augmentera proportionnellement au développement de sa plante-hôte. Troisièmement, nous avons remarqué que les carottes cultivées induisent un quotient sexuel de H. carotae inférieur à 1 ; le développement des mâles diminue donc au profit de celui des femelles dont le nombre augmentera plus rapidement que dans les conditions naturelles. Ainsi, dans un milieu "perturbé", les populations de H. carotae se trouvent à un seuil beaucoup plus élevé que dans un milieu présirial. Nous l'avons estimé, à travers un élevage en serre de carottes cultivées, à 50 kystes par 220 cc mais cette valeur peut varier selon les conditions trophiques et l'environnement. Pour comprendre la dynamique des populations de ce nématode, imaginons l'évolution dans le temps de l'infestation d'un champ. Prenons comme hypothèse de départ une parcelle située en milieu naturel contenant une population relativement faible de H. carotae. Cette prairie est mise en culture pour la première fois. Au printemps, à l'époque des semis, l'exsudat radiculaire des nombreuses jeunes plantules et l'augmentation des températures du sol stimulent les juvéniles à l'intérieur des quelques kystes présents. La première infestation est relativement faible car les juvéniles libres dans le sol et les masses d'oeufs trop âgées et en nombre restreint ne participent pas ou peu à cette phase. Étant donné le faible inoculum, la carotte cultivée favorise le développement de femelles qui produisent chacune une moyenne de 600 individus. Il est intéressant de remarquer que le mode de vie du parasite influence, au niveau énergétique, son potentiel reproducteur (Ferris, 1982). Ainsi pour des nématodes endoparasites sédentaires, la majorité de l'énergie emmagasinée par la prise de nourriture est utilisée dans la production des oeufs,

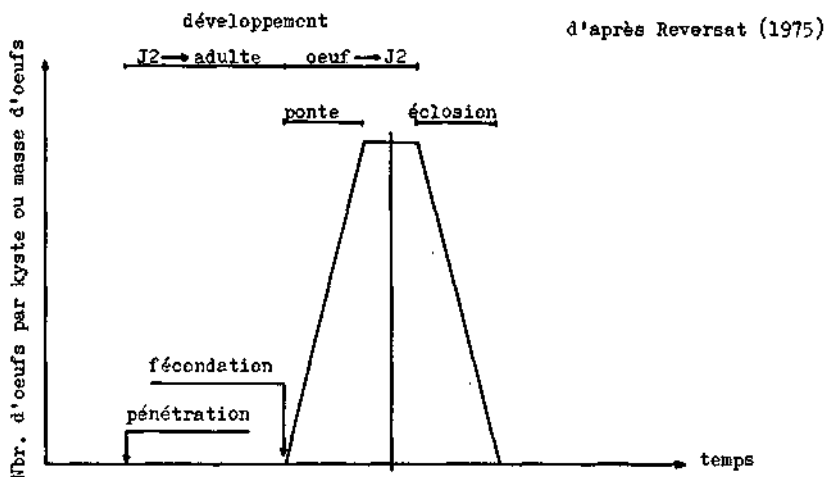
alors que pour des nématodes migrateurs, la recherche de nouveaux sites alimentaires et la mobilité nécessitent une dépense d'énergie plus élevée, ceci au détriment de la production d'œufs. Trois à quatre mois plus tard les masses d'œufs néoformées vont éclore et donner sur la culture en place une deuxième génération plus importante que la première. En effet, à ce stade les racines de la plante-hôte sont nombreuses, bien développées et favorisent, comme nous l'avons constaté dans notre travail, le développement du parasite. Précisons que la deuxième génération est issue principalement des masses d'œufs car l'éclosion des juvéniles à partir des kystes est stoppée depuis le mois d'août lorsque les températures dans le sol diminuent. D'autre part les kystes néoformés se trouvent essentiellement en diapause. Les juvéniles et les masses d'œufs issus de la deuxième génération de même que les kystes de première et deuxième génération vont passer l'hiver. Si, toujours selon notre hypothèse, le cultivateur replante de la carotte sur la même parcelle, nous allons assister au printemps suivant à une infestation massive. Les masses d'œufs stimulées par un passage à basse température vont libérer davantage de juvéniles auxquelles viendront s'ajouter ceux issus des kystes ainsi que les juvéniles éclos en automne qui ont passé l'hiver sous forme libre dans le sol. Il est évident qu'une telle infestation ne sera pas sans répercussions au niveau agronomique. Il faut se rappeler également qu'en présence d'un inoculum élevé, le quotient sexuel du parasite va augmenter. Ainsi les populations vont progressivement se stabiliser grâce au développement d'un nombre supplémentaire de mâles. Il semblerait par ailleurs que l'éclosion à partir des kystes et des masses d'œufs soit diminuée par un effet de groupe (Ellenby, 1946; Reversat, 1971) si bien que la deuxième infestation sera en partie affaiblie. D'autre part, il est connu que le taux de multiplication est toujours dépendant du niveau d'infestation du sol avant culture (Caubel et al., 1975) si bien qu'à de fortes populations correspondent des taux de multiplications faibles et inversement. Les populations de H. carotae vont donc atteindre un équilibre, mais à un seuil beaucoup plus élevé que dans les conditions naturelles. Il est vrai que ce schéma très théorique de la dynamique des populations en zones cultivées ne reflète peut-être pas

exactement la réalité. Nous avons volontiers fondé notre hypothèse sur un développement synchronisé des femelles à la suite d'une pénétration groupée des juvéniles. Cependant nous avons remarqué lors d'expériences menées en boîtes de Petri que la vitesse de pénétration des juvéniles varie énormément d'un individu à l'autre. D'importantes variations de la pénétration ont également été observées chez H. oryzae par Reversat et Meryn (1973). D'autre part, les taux d'éclosions diffèrent beaucoup selon les individus, ce qui s'explique en partie par une différence de fécondité (Reversat, 1975). Nous nous trouverions par conséquent en présence d'un développement non synchronisé suite à des pénétrations étalées dans le temps. (Fig. 42). Ces différents modèles ont d'ailleurs déjà été décrits par Reversat (1975) chez H. oryzae. Dans les deux cas, les mêmes mécanismes régissent la dynamique des populations du parasite. Le modèle d'un développement désynchronisé reflétant certainement mieux la réalité est spécialement important lorsque l'on prélève du matériel en plein champ. Nous constatons à la figure 42 B qu'à un temps donné le contenu en oeufs des masses d'oeufs ou des kystes varie énormément en fonction de leur stade variable de développement. D'autre part, la diapause partielle provoque par suite d'éclosions échelonnées des différences dans le contenu des kystes selon qu'ils sont néoformés ou âgés d'une ou plusieurs années. C'est la raison pour laquelle il est très délicat de vouloir travailler en laboratoire avec du matériel prélevé en plein champ.

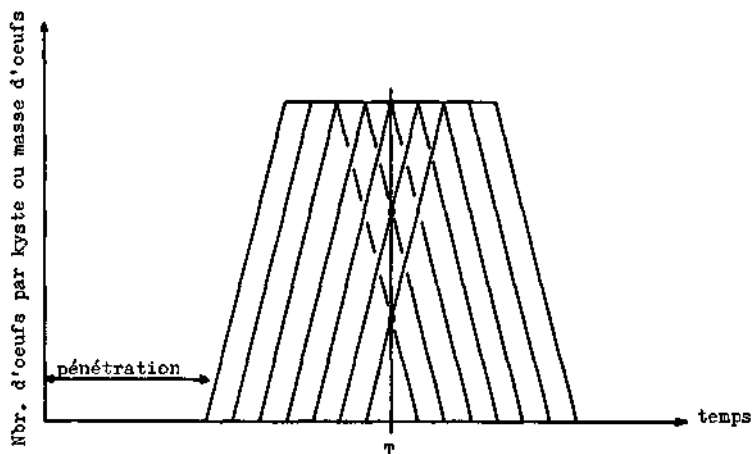
Ce schéma de la dynamique des populations en zones cultivées ne saurait être complet sans la prise en considération des conséquences de l'introduction du cultivateur dans ce système. En effet, sous l'influence du travail du sol par les machines, on passe d'une répartition des populations de type agrégatif (foyers dans milieu prairial) à une répartition plus dispersée de type binomial négatif (McSorley, 1982).

Dans un deuxième temps il nous faut tenter de définir un niveau de population acceptable pour le cultivateur. Pour ce faire nous avons recours à la notion de seuil de tolérance. Il peut être de deux natures selon que l'on s'intéresse aux conséquences agro-économiques ou aux conséquences biologiques. Nous définissons le seuil de tolérance agronomique comme étant le nombre

Fig. 42. Modèles théoriques des variations du contenu en oeufs de kystes ou masses d'oeufs d'*Heterodera carotae* en fonction du temps



A : Hypothèse d'un développement synchronisé des femelles à la suite d'une pénétration groupée des juvéniles.



B : Hypothèse d'un développement non synchronisé des femelles à la suite d'une pénétration des juvéniles étalée dans le temps.

← → valeurs individuelles du contenu en oeufs des kystes ou masses d'oeufs prélevés au temps T.

maximum de nématodes par unité de volume de sol qui ne provoque pas une baisse de la rentabilité de la production. Cette notion bien que "scientifique" peut évoluer en fonction de conditions économiques (le seuil de tolérance agronomique est inversement proportionnel au prix de la lutte chimique). Par contre le seuil de tolérance biologique correspond au nombre de parasites à partir duquel les dégâts causés à la plante-hôte ne permettent plus un taux de multiplication supérieur à 1. Or ce seuil apparaît très élevé pour H. carotae car à une densité d'inoculum de 300 kystes par 220 cc de sol qui provoque une perte de poids des carottes d'environ 70 %, le taux de multiplication est de 1.03 ; les populations ne diminuent donc pas. Nous comprenons dès lors que le seuil de tolérance biologique ne soit d'aucune utilité pour le cultivateur.



## E. CONCLUSION

L'étude de la biologie de H. carotae démontre que ce parasite a atteint un degré de spécialisation très élevé. Ce németode s'alimente sur une gamme restreinte de plantes-hôtes. En contrepartie il s'est développé plusieurs méthodes lui permettant d'assurer la perpétuation de l'espèce. Les juvéniles par exemple, ne sont libérés qu'en présence d'exsudat radiculaire de la plante-hôte. Il est d'ailleurs logique pour la survie de l'espèce qu'un parasite possédant une gamme d'hôte étroite nécessite l'apport d'exsudat radiculaire spécifique pour éclore. A l'opposé, un ravageur polyphage pourra se contenter d'éclore dans de l'eau, le risque de mourir de faim par la suite étant presque nul. La spécialisation du parasite n'empêche pas une adaptation au milieu assez remarquable, preuve en étant l'éclosion printanière sous nos conditions climatiques, et post estivale en climat méditerranéen. La présence de diapuses totale et partielle ainsi que la mortalité naturelle échelonnée participent au maintien à long terme d'un potentiel infectieux. La capacité de produire plusieurs générations annuelles et surtout le taux de multiplication très élevé à partir des masses d'oeufs permettant un renouvellement très rapide des populations, donc une augmentation et une prolongation du potentiel infectieux. Du point de vue agronomique nous avons vu qu'il n'existe pas actuellement de cultivars de carottes résistantes à H. carotae. Nos expériences n'ont pas révélé de réaction d'hyper-sensibilité des jeunes plantules : par contre les populations du parasite augmentent au profit de l'accroissement de la plante-hôte.

Cette revue des principales caractéristiques biologiques de H. carotae nous rappelle l'aspect persistant et le potentiel reproducteur très élevé de ce parasite. La nécessité de trouver un moyen de lutte qui permette une protection rentable de la carotte apparaît dès lors évident. Actuellement, en Valais la lutte chimique est couramment utilisée (désinfection du sol au moyen d'un granulé type Baasamide). Cependant cette technique possède également ses points faibles. Premièrement, l'incorporation de pesticides dans le sol est de plus en plus combattue par les protecteurs de l'environnement. Deuxièmement, cette pratique

permet de rentabiliser la culture de carottes mais ne produit pas un assainissement du terrain. En effet, la diminution des populations engendrée par le produit nématicide provoque une libération d'autant plus importante de juvéniles lors de la deuxième génération car, comme nous l'avons vu, le taux de multiplication est inversement proportionnel à la population initiale. Ainsi, après une culture de carottes rendue possible par l'apport d'un pesticide, les populations de H. carotae se trouveront à un niveau tout aussi élevé qu'avant le traitement. Des expériences concernant la lutte biologique par l'introduction d'un champignon prédateur dans le sol, menées par la Station Fédérale de Recherches Agronomique de Changins, n'ont malheureusement pas donné de résultats réellement encourageants (Vellotton, comm. pers.). Pour cette raison, seule la rotation à long terme en terrain contaminé (une culture de carottes tous les 4 à 5 ans) peut abaisser, en partie, le niveau des populations par la baisse de la mortalité naturelle du nématode. Malheureusement cette voie biologique d'assainissement des sols infestés est lente. Elle ne peut donc entièrement satisfaire aux contraintes économiques des cultivateurs obligés à produire pour couvrir leurs propres besoins.

Grâce aux connaissances plus précises de la biologie de H. carotae, nous pouvons cependant envisager certaines lignes directrices pour des recherches futures concernant l'amélioration de la production en terrain contaminé. Trois points méritent d'être approfondis. Premièrement, il serait souhaitable de découvrir un cultivar de carottes résistant à H. carotae ; ceci signifierait un travail de recherche de longue haleine au niveau génétique. L'étude génétique des relations plante-parasite semble être la clé de voûte de la lutte intégrée en nématologie. L'hypothèse suivant laquelle à un gène de résistance chez l'hôte correspond de manière spécifique un gène de virulence chez le parasite (Sidhu, 1975) démontre l'intimité de la liaison hôte-parasite. La connaissance de ces mécanismes génétiques favoriserait le développement de cultivars résistants et ainsi le contrôle à long terme des pertes économiques causées par H. carotae. Il faut d'ailleurs se rappeler que la carotte sauvage induit un quotient sexuel supérieur à 1. Ainsi, par des recombinaisons génétiques avec des sous-espèces sauvages, le sélection-

neur pourrait peut-être développer, à la manière des clones résistants chez la pomme de terre, des cultivars de carotte résistants ou tout au moins plus tolérants à H. carotae. Ceci d'autant plus qu'il a été mis en évidence des phénomènes de résistance de la carotte sauvage D. carota esp. hispanicus contre le nématode Meloidogyne hapla (Frese, 1983). Pour l'instant il est prévu dans le cadre de la Station Fédérale de Changins de tester en plein champ plusieurs cultivars de carottes surtout précoces dont les réactions vis à vis de H. carotae ne sont pas encore connues. Deuxièmement, il faut absolument rechercher une méthode qui permette d'augmenter la mortalité naturelle du ravageur. Une pré-culture de carottes détruite 60 jours après semis par un herbicide systémique permettrait de piéger une partie des juvéniles libres dans le sol et de provoquer l'éclosion des kystes et des masses d'oeufs. Ce genre d'essais est actuellement mené par la section de nématologie de la Station de Changins. Pour augmenter l'efficacité de cette technique il conviendrait de ne pas cultiver de carottes pendant l'année suivant la culture-piège. Ainsi les juvéniles éclos et n'ayant pas pénétré dans la plante-hôte durant les 60 jours disparaîtront d'ici l'année suivante. Il faudrait également étudier plus précieusement en plein champ l'influence de l'exsudat radiculaire du cerfeuil penché sur l'éclosion du nématode. Nous pourrions par exemple envisager un arrosage printannier par cet exsudat d'une zone infectée, ce qui provoquera une éclosion massive des juvéniles qui disparaîtront en l'absence de plante-hôte. Troisièmement, nous avons estimé dans notre travail que la mortalité naturelle de H. carotae provoque une baisse annuelle des populations d'environ 20 %. Cette mortalité naturelle à long terme mériterait d'être précisée en plein champ afin de connaître l'impact réel de la rotation culturale recommandée. L'idéal serait donc de pouvoir définir en fonction d'un hypothétique cultivar de carottes résistant, un niveau d'infestation pour lequel les populations se trouveraient en équilibre à long terme sans pour autant provoquer de dommages économiquement trop importants. En conclusion, il nous faut apprendre à vivre avec le ravageur car son éradication totale semble hors de question. Cette attitude est une règle générale en parasitologie. Les maladies tropicales, telles la malaria par exemple, bien que fortement com-

battues ne seront jamais totalement anéanties. C'est pourquoi elles incitent l'habitant à une certaine prudence et à développer un mode de vie adapté à la présence du parasite. Il devrait en être de même au plan agronomique et nous espérons que le cultivateur comprendra qu'il doit absolument, dans la mesure de ses possibilités, adapter son mode de culture à la présence de tel ou tel parasite.

## F. RESUME

1. Le nématode à kyste Heterodera carotae provoque des dégâts aux cultures de carottes dans l'Europe entière. Les travaux publiés laissent tous supposer une grande spécialisation de ce parasite qui s'alimente principalement sur la carotte sauvage et cultivée (Daucus carota). La lutte chimique combinée à la rotation des cultures constitue actuellement la meilleure formule de lutte. Le but de ce travail consiste à approfondir les connaissances de la biologie de H. carotae dont les femelles se caractérisent par la production d'une importante masse gélatineuse dans laquelle sont pondus une partie des oeufs. Notre étude permettra ainsi de mieux évaluer les techniques de lutte et d'envisager peut-être l'introduction de méthodes dites "douces" comme la lutte intégrée.

2. Les principaux résultats obtenus se résumant ainsi :

- Un inventaire botanique effectué en Valais (Suisse) dans six stations a permis de recenser 16 espèces d'ombellifères sauvages. L'étude de la qualité d'hôte de ces diverses espèces ainsi que 9 espèces potagères a démontré que seuls la carotte sauvage et cultivée (Daucus carota), le torilis faux-cerfeuil (Torilis japonica) et le torilis des champs (T. arvensis) permettant la multiplication de H. carotae. Cependant, ces deux torilis n'étant pas très fréquents, leur rôle en qualité de réservoir naturel n'apparaît pas primordial.
- L'étude des modalités d'éclosion du parasite démontre que la libération des juvéniles à partir des kystes ou des masses d'oeufs est très nettement favorisée par l'exsudat radiculaire de la carotte sauvage et cultivée et du cerfeuil. L'éclosion à température optimale de 15°C apparaît proportionnellement plus importante chez les masses d'oeufs que chez les kystes.
- Ces derniers subissent une diapause totale ou partielle car l'ensemble ou une partie seulement de leur contenu n'est pas en mesure d'éclore et de se développer lorsque toutes les conditions nécessaires sont requises. Chez les kystes comme

chez les masses d'œufs, l'éclosion des juvéniles contaminants se déroule par paliers successifs ce qui tend à confirmer la présence d'une diapause partielle. Un stockage des kystes à basse ou haute température ne suffit pas à éliminer la diapause. Par contre, les juvéniles contenus dans les masses d'œufs néoformées supportent et paraissent stimulés par un passage à basse température d'une durée de 4 mois environ.

- En conditions de laboratoire, H. carotae produit une nouvelle génération tous les trois à quatre mois. La nouvelle génération issue des masses d'œufs est numériquement plus importante que celle en provenance des kystes.
- Le potentiel infectieux des juvéniles contaminants ( $J_2$ ) diminue relativement lentement. Après 8 mois sans plante-hôte il se situe encore à un taux de 25 % de pénétrations réussies.
- En travaillant avec différentes densités d'inoculum nous avons estimé le seuil de tolérance "agronomique" (nombre maximum d'individus qui ne provoque pas de baisse de production) à 1 juvénile par gr de sol. La diminution du taux de multiplication (rapport  $Pf/Pi$ ) est proportionnelle à l'augmentation de la population initiale. Néanmoins, à une densité d'inoculum ( $Pi$ ) de 300 juvéniles par gr de sol, provoquant une perte de 70 % du poids des carottes, le taux de multiplication du parasite reste encore supérieur à 1.
- À un niveau de population proche du seuil de tolérance "agronomique", les jeunes plantules de carottes ne présentent pas de réaction d'hyperaenabilité (croissance bloquée, plantules dépérissantes) mais un chevelu racinaire très dense. Par contre, les populations du ravageur augmentent au prorata du développement végétatif de l'hôte.
- Enfin, nos expériences menées en boîte de Patri démontrent que le quotient sexuel de H. carotae varie selon les conditions du milieu (plante-hôte, densité d'inoculum). Ainsi, les carottes cultivées favorisent davantage l'apparition du phénotype femelle que la carotte sauvage. D'autre part, l'augmentation de la population initiale (inoculum) induit le développement d'un nombre supérieur de mâles.

3. Au niveau biologique notre travail démontre la très haute spécificité parasitaire de H. carotae. Cette spécialisation nécessite chez le nématode le développement de stratégies de survie. Ainsi la perpétuation de l'espèce est liée à certaines caractéristiques morphologiques (kyste, masse d'œuf) et physiologiques (besoin d'exsudat radiculaire spécifique pour éclore et envahir la plante). D'autre part, l'existence d'une diapause totale ou partielle et d'un taux de multiplication très élevé à partir des masses d'œuf contribuent également au maintien de l'espèce.

Sur le plan agronomique, ces différentes caractéristiques biologiques se traduisent par la persistance élevée du ravageur dans les terrains contaminés. L'absence de rotation équilibrée en culture maraîchère ou pire encore, la monoculture de carottes provoquent rapidement une explosion des populations du parasite. L'absence de cultivars commerciaux de carottes résistantes et de plantes-pièges, ainsi que la longue période végétative de cette culture ne permettent pas d'envisager dans un proche avenir une solution valable de lutte intégrée. D'autre part, les résultats négatifs obtenus dans les essais de lutte biologique avec le champignon Royal 350 condamnant le cultivateur à pratiquer malheureusement la lutte chimique en terrain infesté par H. carotae. Finalement, grâce à la gamma d'hôtes très étroite de H. carotae, seule la rotation culturale à long terme peut abaisser le niveau des populations par la baisse de la mortalité naturelle. Cependant des contraintes d'ordre économique ne permettent pas toujours au cultivateur d'appliquer cette stratégie de lutte.



## ZUSAMMENFASSUNG

1. Der Zysten-Nematode Heterodera carotae verursacht in ganz Europa Schäden an Karottenkulturen. Aus den veröffentlichten Arbeiten entsteht die Vermutung, dass sich der Schädling zur Ernährung hauptsächlich auf die wilde und kultivierte Karotte (Daucus carota) spezialisiert hat. Eine Kombination von chemischer Bekämpfung mit einer geeigneten Fruchtwechselfolge stellt gegenwärtig das beste Bekämpfungsverfahren dar. Das Ziel dieser Arbeit besteht darin, die Kenntnisse über die Biologie von H. carotae zu vertiefen. Die Weibchen dieses Nematoden zeichnen sich durch die Produktion einer grossen gelatinösen Masse aus, in welche ein Teil der Eier abgelegt werden. Unsere Untersuchung soll es erlauben, die Bekämpfungsmassnahmen besser zu bewerten und eventuelle Alternativmethoden, wie die integrierte Bekämpfung, ins Auge zu fassen.

2. Die hauptsächlich angefallenen Resultate lassen sich wie folgt zusammenfassen :

- Eine botanische Erhebung an sechs Standorten im Wallis (Schweiz) erbrachte 16 wilde Umbelliferenarten. Es wurde gezeigt, dass sich von diesen und zusätzlich 9 Gemüsearten nur die wilde und kultivierte Karotte (Daucus carota), die gemeine Borstenholde (Torilis japonica) und die Feld-Borstanholde (T. arvensis) als Wirt zur Vermehrung von H. carotae eignen. Die beiden Borstenholden sind jedoch nicht sehr häufig, sodass sie allem Anschein nach als natürliches Reservoir eine untergeordnete Rolle spielen.
- Die Untersuchung der Schlupfeigenheiten des Schädlings zeigt, dass die Freisetzung der Junglarven aus den Zysten oder Eimassen eindeutig durch die Absonderung von Stoffen aus den wilden und kultivierten Karotten - sowie Kerbelwurzeln begünstigt wird. Der Schlupf bei Optimaltemperatur von 15 °C scheint bei den Eimassen proportional stärker zu sein als bei den Zysten.
- Die Zysten sind einer vollständigen oder partiellen Diapause unterworfen, da sich der Gesamt- oder nur ein Teilinhalt

nicht entwickelt, auch wenn alle notwendigen Bedingungen zum Schlupf erfüllt sind. Sowohl bei den Zysten als auch bei den Eimassen schlüpfen die virulenten Junglarven schubweise, was für eine partielle Diapause spricht. Um diese zu brechen, genügt es nicht, Zysten bei tiefer oder hoher Temperatur zu lagern. Hingegen ertragen Junglarven, welche in neugebildeten Eimassen enthalten sind, einen Aufenthalt von ungefähr 4 Monaten bei niedriger Temperatur: ja, sie scheinen durch diese Behandlung sogar stimuliert zu werden.

- Unter Laborbedingungen bringt H. carotae alle drei bis vier Monate eine neue Generation hervor. Die Abkömmlinge aus den Eimassen sind zahlreicher als diejenigen aus den Zysten.
- Das Inhaftationspotential der virulenten Junglarven ( $J_2$ ) nimmt relativ langsam ab. Es beträgt nach 8 Monaten ohne Wirtspflanze immer noch 25 %.
- Die agronomische Toleranzschwelle, welche die Maximalzahl an Individuen darstellt, ohne dass ein Ertragaverlust eintritt, beträgt 1 Junglarve pro g Erde. Es ist dies eine Schätzung, welche auf Arbeiten mit verschiedenen Inokulumdichten beruht. Der Vermehrungsgrad (Verhältnis Pf/Pi) nimmt proportional zur Zunahme der Ausgangspopulation ab. Immerhin bleibt er noch grösser als 1, auch wenn die Inokulumdichte ( $P_i$ ) 300 Junglarven pro g Erde beträgt, was einen Ernteverlust an Karotten von 70 % nach sich zieht.
- Nähert sich die Population der agronomischen Toleranzschwelle, so weisen die jungen Karottenpflanzen keine Hypersensibilitätsreaktion (Wachstum blockiert, absterbende Pflänzchen) auf. Die Schädlingspopulationen steigen jedoch im Verhältnis zur vegetativen Wirtsentwicklung.
- Schließlich zeigen unsere Versuche in Petriochalen, dass das Geschlechterverhältnis von H. carotae je nach Umweltbedingungen variiert (Wirtspflanze, Inokulumdichte). So begünstigen kultivierte Karotten den weiblichen Phänotyp mehr als die Wildkarotte. Hingegen induziert eine Zunahme der Ausgangspopulation (Inokulum) die Entwicklung einer grösseren Zahl Männchen.

3. Unsere Arbeit zeigt die stark ausgebildete Spezifität von H. cerotae. Diese Spezialisierung hat es nötig gemacht, dass der Nematode Überlebensstrategien entwickelte. Die Fortdauer der Art ist demnach an gewisse morphologische (Zyste, Eimasse) und physiologische Eigenheiten gebunden (Schlupf und Befall der Pflanze nur beim Auftreten von spezifischen von den Wurzeln abgesonderten Stoffen). Eine vollständige und partielle Diapause und eine sehr hohe Vermehrungsrate der Eimassen tragen zur Erhaltung der Art bei.

Agronomisch gesehen bedeuten diese Eigenschaften, dass der Schädling in befallenen Boden eine hohe Persistenz aufweist. Das Fehlen einer ausgewogenen Fruchtfolge im Gemüsebau oder noch schlimmer eine Karottenmonokultur ruft sehr schnell eine explosionsartige Vermehrung des Schädlings hervor.

Es gibt keine resistenten Handelskarottensorten und Fangpflanzen und der Anbau dauert lange. Es ist deshalb im jetzigen Zeitpunkt nicht möglich, eine wirksame integrierte Bekämpfung ins Auge zu fassen. Die biologischen Bekämpfungsversuche sind zudem negativ ausgefallen, sodass dem Gemüsebauern nur die chemische Bekämpfung übrigbleibt.

Denk dem engen Wirtsspektrum von H. cerotae könnte man durch eine weite Fruchtfolge die Populationsdichten allmählich senken, da denn eine natürliche Mortalität zum Zuge kommt. Diese Bekämpfungsstrategie kann jedoch aus wirtschaftlichen Gründen nicht immer angewendet werden.



## SUMMARY

1. The carrot cyst nematode, Heterodera carotae, damages carrot crops in the whole of Europe. According to the work done so far, this parasite seems to be very specific to the wild and cultivated carrots (Daucus carota). Chemical sprays and crop rotation are the best methods of controlling this nematode. The aim of this work is to improve the knowledge of H. carotae's biology; the females of this species are characterized by the production of an important gelatinous mass filled with a part of the eggs. This study should help us to find a better technique in controlling this nematode and, perhaps to introduce the use of integrated pest control.

2. The most important results follow :

- During a botanical survey carried out in six stations in the Valais (Switzerland), 16 wild umbelliferae were discovered. The study of the host-plant quality of these diverse species as well as nine cultivated species demonstrated that only the wild and cultivated carrot (Daucus carota) and two Torilis (T. japonica and T. arvensis) permitted the multiplication of H. carotae. However, since the two Torilis are not very common, their role as a natural reservoir does not appear important.
- The study of H. carotae hatching modalities shows that the release of juveniles depends on the nature of the root diffusates. The host-plant root diffusates (wild and cultivated carrot and two Torilis sp.) as well as the chervil (Chaerophyllum temulum) cause a stimulating effect on the hatching rate. The optimum hatching temperature is 15°C. More juveniles hatch from the egg masses than from the cysts.
- The juveniles inside the cysts have a total or partial diapause because within required optimal conditions, only the whole or part of the cyst content is not able to hatch. For both, cysts and egg masses, the hatching rate of the juveniles goes by steps which confirms a partial diapause. A period of chilling or warming does not allow to break this diapause.

However, the total number of juveniles hatching from the newly formed egg masses was higher in masses kept about 4 months at a low temperature.

- In laboratory conditions, H. carotae produces a new generation every 3 or 4 months. The new generation coming from egg masses is numerically higher than the one coming from the cysts.
- The infectious potential of juveniles ( $J_2$ ) decreases slowly. After 8 months without any host-plant the rate is still about 25 %.
- Working with different densities of inoculum, we have estimated the agronomic threshold (maximum number of parasites without loss of crops) at 1 juvenile per gr of soil. The decrease of the multiplication rate is proportional to the initial population growth. Nevertheless at a density of 300 juveniles per gr of soil inducing a loss of 70 % of the weight of carrots, the multiplication rate is still above 1.
- Around the agronomic threshold, the young plants of carrots do not present any growth problems. The parasite's population increases according to the host growth.
- Working in Petri dishes we observe that the sex ratio of H. carotae varies according to environmental conditions (host-plant, inoculum density). The phenotype female is more common on cultivated carrots than on wild ones. On the other hand, increasing the inoculum density results in an increase in the proportion of juveniles developing into males whereas the proportion of females decreases.

3. Concerning the biological aspect, our study shows the high parasitic specificity of H. carotae. This feature implies some survival strategies such, for example, morphological (cyst, egg mass) or physiological (need of specific root diffusate for hatching and taking over the plant) characteristics. Moreover, a total or partial diapause and a high rate of multiplication especially from the egg masses contribute to the maintenance of the species.

In agronomy, these biological features appear by the persistence of a high population level in the contaminated fields. Without crop rotation, the culture of carrots every year at the same

place quickly induces an explosion of the parasite population. As we actually do not have any trap plants or any resistant varieties, and since the growing period of the carrot is long, a valuable integrated control is not available. The bad results from the biological controls oblige the grower to use chemical sprays. Finally, since H. carotae needs very few host species, the crop rotation during a long period is the only way to keep the population at a relatively low level by means of the natural mortality of the juveniles. Unfortunately, for economic reasons the grower cannot always use this method of control.



## G. BIBLIOGRAPHIE

- AMBROGIONI, L. (1969): Due casi di infestazioni miata da nematodi dei gen. Heterodera e Meloidogyne. Redia, 51: 159-168.
- AMBROGIONI, L. (1971): Osservazioni morfologiche e biologiche su Heterodera carotae, Jones 1950. Redia : 241-258.
- AMBROGIONI, L. & PALMISANO, A. M. (1976): Effetto di avvicendamenti culturali su Heterodera carotae (Nematoda: Heteroderidae) a sulla produzione di carota in terreno infestato. Redia, 59: 355-367.
- AMBROGIONI, L. & PALMISANO, A. M. (1979): Nematodi del genere Heterodera su coltura ortensi e ornamentali in Italia. Estratto dal volume: "Atti giornate nematologiche". Edizioni pappegello-Firenza.
- AMBROGIONI, L. & PORCINAI, G. M. (1972): Studio ultrastrutturistico delle cellule giganti prodotte da Heterodera carotae Jones 1950 (Nematoda: Heteroderidae) in radici di carota. Redia, 53: 437-448.
- ANDERSON, R. C. (1984): The origins of zooparasitic nematodes. Canadian Journal of Zoology, 62(3): 317-328.
- ANDERSSON, S. & NYBERG, A. (1964): Växtajukdomer och skadeejur i Skåne och Halland under vegetationaperioden 1963. Växtskyddsnotiser, 28: 59-66.
- Anonyme (1966): Rep. Min. for Agric. 1964/65 Dublin Stationery Office, 1966.
- Anonyme (1969): Annual Rep. on Res. and Techn. Work 1968. Min. of Agric. Northern Ireland. H. M. Stationery Office, Belfast, p.17.
- Anonyme (1975): Occurrence and control of parasitic nematodes in carrot fields. Cyprus Agric. Res. Inst. Ann. Rep. 1974, Nicosia, 46-47.
- ARBONNIER, P. (1966): L'analyse de l'information. Aperçu théorique et application à la loi multinomiale. Ann. Sci. Forest., 23: 950-1009.
- ATKINSON, H. J. & BALLANTYNE, A. J. (1977 a): Changes in the oxygen consumption of cyst of Globodera rostochiensis associated with the hatching of juveniles. Ann. appl. Biol., 87: 159-166.

- ATKINSON, H. J. & BALLANTYNE, A. J. (1977 b): Changes in the adenine nucleotide content of cyat of Globodera rostochiensis associated with the hatching of juveniles. Ann. appl. Biol., 87: 167-174.
- ATKINSON, H. J. & BALLANTYNE, A. J. (1979): Evidence for the involvement in the hatching of Globodera rostochiensis. Ann. appl. Biol., 93: 191-198.
- ATKINSON, H. J. & TAYLOR, J. D. (1980 a): Evidence for a calcium binding site on the eggshell of Globodera rostochiensis with a role in hatching. Ann. appl. Biol., 96: 307-315.
- ATKINSON, H. J., TAYLOR, J. D. & BALLANTYNE, A. J. (1980 b): The uptake of calcium prior to the hatching of the second-stage juvenile of Globodera rostochiensis. Ann. appl. Biol., 94: 103-109.
- AUBERT, V. (1985): Biologia du nématode Heterodera carotae de la carotte. Première partie: Etude de la qualité d'hôte de diverses ombellifères sauvages et cultivées. Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic., 17(5): 293-296.
- AUBERT, V. (1986): Biologie du nématode Heterodera carotae de la carotte. Seconde partie: Etude des modalités d'éclosion chez les larves contaminantes. Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic., 18(1): 25-31
- BALDWIN, J. G., TUC, H. & BELL, A. H. (1983): Contribution to the study of the genus Pretylenchoides Winslow (Nematoda : Tylenchida). Revue Nématol., 6: 111-125.
- BANYER, R. J. & FISHER, J. M. (1971 a): Effect of temperature on hatching of eggs of Heterodera avenae. Nematologica, 17: 519-534.
- BANYER, R. J. & FISHER, J. M. (1971 b): Seasonal variation in hatching of eggs of Heterodera avenae. Nematologica, 17: 225-236.
- BAUNACKE, W. E. (1922): Untersuchungen zur Biologie und Bekämpfung des Rübenneematoden Heterodera schachtii Schmidt. Arb. Biol. Abt. Land-Forstwirt. Berlin, 11: 185-288.
- BARRON, G. L. (1977): The nematode-destroying fungi. Topics in Mycobiology No 1. Canadian Biological Publications Ltd.

- BECHERER, A. (1956): Florae Vallesiacae Supplementum. Supplement zu Henri Jaccarde Catalogue de la flore valaisanne. Mémoires de la Société Helvétique des Sciences Naturelles. Vol. 81.
- BERDON BRIZUELA, R. & MERNY, G. (1964): Biologie d'Heterodera oryzae Luc & Berdon, 1961. I Cycle du parasite et réactions histologiques de l'hôte. Rev. Path. Vég. Entom. Agric. de France, 43(1): 43-53.
- BINZ, A. & THOMMEN, E. (1976): Flore de la Suisse. Editions du Griffon, Neuchâtel, (Suisse).
- BISHOP, D. (1955): The emergence of larvae of Heterodera roatchiensis under conditions of constant and alternating temperature. Ann. appl. Biol., 43(4): 525-532.
- BRUN, J. (1966): Influence des conditions de milieu sur la fécondité de Ceenorhabditis elegans à différentes températures. Nematologica, 12: 539-556.
- BRZESKI, M. W. (1970): Plant parasitic nematodes associated with carrot in Poland. Roczniki Nauk Rolniczych seria E 1 : 93-102.
- CAUBEL, G. (1977): Les nématodes de la carotte. Invulfec p. 23-31.
- CAUBEL, G. (1982): Les nématodes de la betterave. Info Betterave, 41 (mai-juin): 10-15.
- CAUBEL, G. & CHAUBET, B. (1985): Eclosion et multiplication de Heterodera schachtii Schmidt en présence de colza ou de radis fourragers. Agronomie, 5(5): 463-466.
- CAUBEL, G., HUGNIERY, D. & RIVOAL, R. (1975): Lutte intégrée en culture de pommes de terre et de céréales : cas des nématodes. Sciences agronomiques Rennes.
- CAYROL, J. C. (1983): Lutte biologique contre les Meloidogyne au moyen d'Arthrobotrys irregularis. Revue Nématol., 6(2): 265-273.
- CLARKE, A. J. & HENNESSY, J. (1981): Calcium inhibitors and the hatching of Globodera roatchiensis. Nematologica, 27: 190-198.
- CLARKE, A. J. & HENNESSY, J. (1983): The role of calcium in the hatching of Globodera roatchiensis. Revue Nématol., 6(2): 247-255.

- CLARKE, A. J. & PERRY, R. N. (1977): Hatching of cyst-nematode. *Nematologica*, 23: 350-368.
- CLARKE, A. J. & SHEPHERD, A. M. (1966): Inorganic ions and the hatching of Heterodera. *Ann. appl. Biol.*, 58(3): 497-508.
- CLARKE, A. J. & SHEPHERD, A. M. (1967): Flavenic acid as a hatching agent for Heterodera cruciferae Franklin and other cyst nematodes. *Nature*, 213(5074): 419-420.
- CLARKE, A. J. & SHEPHERD, A. M. (1968): Hatching agents for the potato cyst-nematode, Heterodera rostochiensis Woll. *Ann. appl. Biol.*, 61: 139-149.
- CLARKE, A. J. & WIDDOWSON, E. (1966): The hatching factor of the potato-root eelworm. *Biochem. J.*, 98: 862-868.
- COOPER, A. B. (1955): A preliminary key to british species of Heterodera for use in soil examination. In: *Soil Zoology*. D.K. Mc.E.Kevan (Ed), Butterworths Science Publication.
- COTTEN, J. (1965): Cytological investigations in the genus Heterodera. *Nematologica*, 11: 337-342.
- CRUMP, D. H. & KERRY, B. R. (1983): Possibilities for biological control of beet cyst-nematode with parasitic fungi. Aspects of Applied Biology 2: Pests, Diseases, Weeds and Weed Beet in sugar beet. 59-64.
- CUNNINGHAM, P. C. (1960): An investigation of winter dormancy in Heterodera rostochiensis. The Scientific Proceedings of the Royal Dublin Society. Serie B, vol. 1(1): 1-4.
- CURTIS, G. J. (1965): An improved method of hatching larvae of cyst forming nematodes. *Nematologica*, 11: 213-217.
- DAJOZ, R. (1978): Précis d'Ecologia. 3 ème édition. Geuthier - Villers. 500 p.
- DECKER, H. (1968): Neues über das Auftreten pflanzenparasitärer Nematoden in den Deutschen Republik und den angrenzenden Ländern. *Nachrichtenbl. für den Deutsch. Pflanzenschutz*. Berlin, 22: 137-140.
- DE GUIRAN, G. (1975): Diapause partielle au sein des pontes de Meloidogyne incognita, nématode phytoparasite. *Ann. Phytopathol.*, 7: 340-341.
- DE GUIRAN, G. (1979 a): Survie des nématodes dans les sols secs et saturés d'eau : Oeufs et larves de Meloidogyne incognita. *Revue Nématol.*, 2(1): 65-77.

- DE GUIRAN, G. (1979 b): A necessary diapause in root-knot nematodes. Observations on its distribution and inheritance in Meloidogyne incognita. Revue Nématol., 2(2): 223-231.
- DE GUIRAN, G. (1980): Facteur induisant chez Meloidogyne incognita un blocage du développement des oeufs considéré comme une diapause. Revue Nématol., 3(1): 61-69.
- DE GUIRAN, G. (1983): Nématodes, les ennemis invisibles. Edition le littorale, Béziers.
- DE GUIRAN, G. & DEMEURE, Y. (1978): Influence du potentiel hydrique des sols sur les masses d'oeufs de Meloidogyne incognita (Nematode: Meloidogynidae). Revue Nématol., 1(2): 119-134.
- DEMEURE, Y., FRECKMANN, D. W. & VAN GUNDY, S. D. (1979): In vitro response of four species of nematodes to desiccation and discussion of this end related phenomena. Revue Nématol., 2(2): 203-210.
- DROPKIN, V. H. & NELSON, P. E. (1960): The histopathology of root-knot nematode infections in soybeans. Phytopathology, 50: 442-447.
- EKANAYAKE, H. M. R. K. & DI VITO, M. (1984): Influence of root leachates and temperatures on eggs hatch of Meloidogyne species. Nematol. Medit., 12: 119-127.
- ELLENBY, C. (1946): Nature of the cyst wall of the potato-root eelworm Heterodera rostochiensis Wollenweber and its permeability to water. Nature, London 157: 302-302.
- ELLENBY, C. (1955): The permeability to the hatching factor of the cyst wall of the potato-root eelworm Heterodera rostochiensis Wollenweber. Ann. appl. Biol., 43(1): 12-18.
- ELLENBY, C. (1956): The cyst of the potato-root eelworm (Heterodera rostochiensis Wollenweber) as a hatching unit. Ann. appl. Biol., 44(1): 1-15.
- ENDO, B. Y. (1978): Feeding plug formation in soybean roots infected with soybean cyst nematode. Phytopathology, 68: 1022-1031.
- EVANS, A. A. F. & PERRY, R. N. (1976): Survival strategies in nematodes. In: The organization of Nematodes, edited by Neil A. Croll.

- FENWICK, O. W. (1949): Investigations on the emergence of larvae from cysts of the potato-root eelworm Heterodera roostchienaia. 1. Technique and variability. Journal of Helminthology 23: 157-170.
- FENWICK, D. W. & REID, E. (1953): Seasonal fluctuations in the degree of hatching from cysts of the potato-root eelworm. Nature (4340) janvier : 47.
- FERRIS, H. (1982): The role of nematodes as primary consumers. In: Nematodes in Soil Ecosystem. Edited by G. Freckmann, University of Texas Press, Austin 206 p.
- FERRON, J. & MIMAUD, J. (1971): Résultats des essais de produits antiparasitaires effectués en 1968 et 1969 par le service de la protection des végétaux. Phytoma 225: 32-38.
- FORREST, J. M. S. & FARRER, L. A. (1983): The response of eggs of the white potato cyst nematode Globodera pallida to diffusate from potato and mustard roots. Ann. appl. Biol., 103: 283-289.
- FORREST, J. M. S. & PERRY, R. N. (1980): Hatching of Globodera pallida eggs after brief exposures to potato root diffusate. Nematologica, 26: 130-132.
- FOX, J. A. & KEREKES, M. G. (1969): Hatching response of some Heterodera species to sodium hypochlorite. Journal of Nematology, 1(1): 8.
- FRESE, L. (1983): Resistenz der Wildmöhre Oaucus carota ssp. hispanicus gegen den Wurzelgallennematoden Meloidogyne hapla. Gartenbauwissenschaften, 48(6): 259-265.
- GOFFART, H. (1960): Die Taxonomische Bewertung morphologisch - anatomischer Merkmale bei den Zysten der Gattung Heterodera (Nematoda). Mitt. Biol. Bundesanst. Land und Forstw. Berlin - Dahlem, 99: 24-51.
- GOLDEN, A. M. & SHAFER, T. (1960): Survival of emerged larvae of the sugar-beet nematode (Heterodera achachtii) in water and soil. Nematologica, 5: 32-36.
- GRAY, M. F. (1984): Ecology of nematophagous fungi: Methods of collection, isolation and maintenance of predatory and endoparasitic fungi. Mycopathologia, 86: 143-153.
- GRECO, M. (1981): Hatching of Heterodera carotae and H. a-venae. Nematologica, 27: 366-371.

- GRECO, N. & BRANDONISIO, A. (1980): Relationship between Heterodera carotae and carrot yield. *Nematologica*, 26(4): 497-500.
- GRECO, N. & BRANDONISIO, A. (1982): Comportamento di cultivar di carote in presenza di infestazioni di Heterodera carotae. *Redia*, 65: 111-113.
- GRECO, N. & LAMBERTI, F. (1977 a): Ulteriori saggi di lotta chimica contro Heterodera carotae in Puglia. *Informatore fitopatologica*, 27(11): 15-18.
- GRECO, N. & LAMBERTI, F. (1977 b): Confronto di nematocidi nella lotta contro Heterodera carotae. *Nematologica Mediterranea*, 5(1): 1-9.
- GRECO, N. & LAMBERTI, F. (1977 c): Ricerca delle dosi ottimali di alcuni nematocidi per la lotta contro Heterodera carotae. *Nematologica mediterranea*, 5(1): 25-30.
- GRECO, N. & LAMBERTI, F. (1977 d): Suscettibilità di varietà di carota agli attacchi di Heterodera carotae. *Nematologica mediterranea*, 5(1): 103-107.
- GRECO, N., LAMBERTI, F. & BRANDONISIO, A. (1976 a): Il dichloropropene - dichloropropano nella lotta contro Heterodera carotae. *Nematologica mediterranea*, 4(1): 103-105.
- GRECO, N., LAMBERTI, F. & BRANDONISIO, A. (1976 b): La lotta chimica contro Heterodera carotae in Puglia. *Nematologica mediterranea*, 4(2): 133-137.
- GRECO, N., LAMBERTI, F. & INSERRA, R. (1974): Prove di lotta chimica contro Heterodera carotae Jones in Puglia. *Nematologica mediterranea*, 2(1): 13-20.
- GREEN, C. D. (1975): The vulval cone and associated structures of some cyst nematodes (Genus Heterodera). *Nematologica*, 21: 134-144.
- GUILLAUMIN, D. (1980): La pratique du microscope électronique à balayage en biologie. *Technique de Laboratoire 3*. Masson, Paris.
- GUY, R. (1979): Observation sur la dormance et la germination des semences de fenouil. *Revue Suisse Agric.*, 11(3): 131-133.
- HANDSCHIN, G. (1971): Untersuchung von nematoden mit dem Raater Elektronenmikroskop. *Revue Suisse de Zoologie*, 78: 575-579.

- HARRANGER, J. (1972): Les nématodes des cultures maraichères. *Phytoma*, 24: 13-22.
- HARTWIG, E. G. (1981): Breeding productive soybean cultivars resistant to the soybean cyst-nematode for the southern United States. *Plant Disease*, 65: 303-305.
- HEIJBROEK, W. (1982): The influence of resistant cruciferous green manure crops on beet cyst nematodes. *Nederl. Inat. rapport. Suikerprod.*, 8: 20.
- HESLING, J. J. (1982): Cyst Nematodes: Morphology and Identification of Heterodera, Globodera and Punctodera. In: *Plant Nematology*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London, Her Majesty's Stationery Office. 440 p.
- INSERRA, R. N., GRIFFIN, C. D. & SISSON, O. V. (1983): Effects on temperature and root leachates on embryogenic development and hatching of Heloidogyne chitwoodi and M. hapla. *Journal of Nematology*, 15(1): 123-127.
- JACCARD, H. (1895): Catalogue de la Flora Valaisanne. Nouveaux Mémoires de la Société Helvétique des Sciences Naturelles. Vol. 34.
- JAKOBSEN, J. (1979): Heterodera carotae - En cystedannende nematodart på gulrødder. *Plantesygdomme i Danmark 1976*, Lyngby, 1979 s. 35.
- JATALA, P. (1975): Efficiency of potassium permanganate in differentiating between live and dead nematodes. *Ann. appl. Biol.*, 80: 109-113.
- JAVOR, I. (1968): Növényi paraziták fonalférgek feldeletesének és kytatásának hazai eredményei. *Növényredekem*, 4: 225-228.
- JONES, F. G. W. (1950 a): A new species of root eelworm attacking carrots. *Nature*, 165(4185): 81.
- JONES, F. G. W. (1950 b): Observations on the beet eelworm and other cyst-forming species of Heterodera. *Ann. appl. Biol.*, 37: 407-440.
- JONES, F. G. W. (1974): Host parasite relationships of potato cyst nematodes: a speculation arising from the gene for gene hypothesis. *Nematologica*, 20: 437-443.
- KERMARREC, A. & BERGE, J. B. (1972): Méthodes d'estimation des populations de nématodes des sols et des racines. *Bull. Soc. Ecol.*, 3: 151-169.

- KERRY, B. R. (1984): Nematophagous fungi and the regulation of nematode population in soil. Helminthological Abstracts, Serie B, Plant Nematology, 53(1): 1-14.
- KERRY, B. R. & CRUMP, D. H. (1982): The importance of nematophagous fungi in the management of cyst nematode populations. Nematologica, 28: 155.
- KIR'JANQVA, E. S. (1963): Sbor i diagnoz kornevych nematod osmejstra Heteroderidae (Skarbilovic, 1947) Thorne, 1949. Metody issledovanija Nematod, sel'skochoz. rastenij. poary i nasakomyh. Izd. AN. SSSR, Moskva / Leningrad : 6-32.
- KNYPL, J. J. & JANAS, K. M. (1975): Synthesis of RNA and protein, with ribonuclease activity, in carrot roots infested with Meloidogyne hapla Chitw. Physiological Plant Pathology, 7(3): 213-220.
- KOSHY, P. K. & SWARUP, G. (1971): Factors affecting emergence of larvae from cysts of Heterodera cajani Koshy, 1967. Indian J. Nematology, 1: 209-219.
- LAMBERTI, F. (1971 a): Nematode-induced abnormalities of carrot in southern Italy. Plant disease reporter, 55(2): 111-113.
- LAMBERTI, F. (1971 b): Observations on the cyst-wall patterns of four species of Heterodera. Nematologica, 17: 428-430.
- LAMBERTI, F., GRECO, N., INSERRA, R. & BRANDONISIO, A. (1974): Esperienze con dichloropropene - dichloropropano nella lotta contro Heterodera carotae. Nematologica Mediterranea, 2(1): 21-27.
- LAMBERTI, F., INSERRA, R., BLEVE ZACHEO, T. & GRECO, N. (1973): The effect of Heterodera carotae Jones on carrot growth and trials to control the nematode. Halmintologia Brasileira, 14: 343-355.
- LAMBERTI, F., WALLER, J. M. & VAN DER GRAAFF, N. A (1983): Durable resistance in crops. Plenum Publishing Corporation.
- LUC, M., TAYLOR, D. P. & CADET, P. (1978): Description of a new tropical Heteroderidae, Hylonema ivorensis, n. sp., and a new look on the family Heteroderidae (Nematoda: Tylenchida). Revue Nématol., 1(1): 73-86.
- LEE, D. L. & ATKINSON, H. J. (1976): 6.2 Hatching. 125 - 132 p. In: Physiology of nematodes. II Ed. The Macmillan press LTD. London 215 p.

- MAGI, E. A. (1970): Effect of plant root exudates on hatching of Heterodera rosethensis. Mater 7<sup>go</sup> Pribalt. Soveshch. Zaatch. Rast. Part 1 : 88-91.
- MATHEWS, H. P. J. (1970): Morphology of the nettle cyst nematode Heterodera urticae Cooper, 1955. Nematologica, 16: 503-510.
- MATHEWS, H. J. P. (1975): Heterodera carotae. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Set 5, No 61.
- MCCLINTOCK, D. & FITTER, R. S. R. (1964): Guide des plantes à fleurs de l'Europe occidentale. Adaptation française par S. et C. Favarger. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel (Suisse).
- MCSORLEY, R. (1982): Simulated sampling strategies for nematodes distributed according to a negative binomial model. Journal of Nematology, 14(4): 517-522.
- MEAGHER, J. W. (1970): Seasonal fluctuations in numbers of larvae of the cereal cyst-nematode (Heterodera avenae) and of Pratylenchus minyus and Iylenchurhynchus brevidens in soil. Nematologica, 16: 333-347.
- MEAGHER, J.W. (1982): The effect of environment on survival and hatching of Heterodera avenae. Bull. OEPP, 12(4): 361-366.
- MERNY, G. (1966): Biologie d'Heterodera oryzae Luc & Bertin 1961. II Rôle des masses d'œufs dans la dynamique des populations et la conservation de l'espèce. Ann. Epiphyties, 17(4): 445-449.
- MERNY, G. & LUC, M. (1969): Les techniques d'échantillonnage des peuplements de nématodes dans le sol. In: Lamotte, R & Bourelrière, F. Problèmes d'écologie. Masson & Cie., Paris, 237-272.
- MORIARTY, F. (1963): A nylon sieve for hatching Heterodera larvae. Nematologica, 9: 157-158.
- MORIARTY, F. (1964): The efficacy of chrysoïdin, new blue R and phloxine B for determining the variability of beet eelworm, Heterodera schachtii, Schm. Nematologica, 10: 644-646.
- MUGNIERY, D. (1976): Etablissement d'un modèle de dynamique de population d'Heterodera pallida Stone : Applications à un cas pratique de lutte intégrée. Ann. Zool. Ecol. Anim., 8(3): 315-329.

- MUGNIERY, D. (1978 a): Vitesse de développement, en fonction de la température, de Globodera rostochiensis et G. pallida (Nematode: Heteroderidae). Revue Nématol., 1(1): 3-12.
- MUGNIERY, D. (1978 b): Lutte culturale contre les nématodes à kystes de la pomme de terre Globodera rostochiensis (Wollenweber) et G. pallida (Stone) et perspective de lutte intégrée. Ann. Zool. Ecol. Anim., 10(2): 187-203.
- MUGNIERY, D. (1982 a): Diversités régionales d'application de lutte intégrée en culture de pomme de terre en fonction de la variabilité des populations de nématodes à kystes. Agronomie, 2(7): 629-640.
- MUGNIERY, D. (1982 b): Influence de l'hôte sur le développement et l'expression du sexe chez un nématode phytoparasite à déterminisme sexuel épigénétique, Globodera pallida Stone. C.R. Acad. Sc. Paris, 294 (4 janvier 1982) série III: 49-52.
- MUGNIERY, D. (1985): Résistance des Solanacées à Globodera et influence de certains facteurs sur les résultats des tests de résistance. Bull. GEPP / EPPU, 15: 199-206.
- MUGNIERY, D. & BALANDRAS, C. (1984): Examen des possibilités d'éradication du nématode à kystes, Globodera pallida Stone. Agronomie, 4(8): 773-778.
- MUGNIERY, D. & FAYET, G. (1984): Détermination du sexe de Globodera rostochiensis Woll. et influence des niveaux d'infestation sur la pénétration, le développement et le sexe de ce nématode. Revue Nématol., 7(3): 233-238.
- MUGNIERY, D. & PERSON, F. (1976): Méthode d'élevage de quelques nématodes à kystes du genre Heterodera. Sciences agronomiques, Rennes : 217-220.
- MULLER, J. (1978): L'élevage monoxénique d'Heterodera schachtli sur crucifères et son application pour la sélection des plantes résistantes. Revue Nématol., 1(1): 47-52.
- MULLER, J. & VON KRIES, A. (1981): Zum Stand der Resistenzzüchtung gegen Heterodera schachtli beim Ölrettich. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig), 33: 122.
- MULVEY, R. M. (1972): Identification of Heterodera cysts by terminal and cone top structures. Canadian Journal of Zoology, 50(10): 1277-1292.

- MULVEY, R. H. (1974): Cone-top morphology of the white females and cysts of the genus Heterodera (subgenus Heterodera), a cyst-forming nematode. Canadian Journal of Zoology, 52(1): 77-81.
- MULVEY, R. H. & STONE, A. R. (1976): Description of Punctodera matadorensis n. gen. n. sp. (Nematoda: Heteroderinae) from Saskatchewan with lists of species and generic diagnoses of Globodera (n. rank), Heterodera, and Serieodera. Canadian Journal of Zoology, 54: 772-785.
- OGUNFOWORA, A. O. & EVANS, A. A. F. (1977): Factors affecting the hatch of eggs of Meioidoqyne nassii, an example of diapause in a second stage larvae. Nematologica, 23: 137-146.
- OKADA, T. (1972): Hatching inhibitory factor in the cyst contents of the soybean cyst nematode, Heterodera glycines Ichinohe (Tylenchida: Heteroderidae). Appl. Ent. Zool., 7(3): 99-102.
- OKADA, T. (1974): Effects of hatching stimulants obtained from the cyst contents of Heterodera species (Tylenchida: Heteroderidae) on the hatching of other species. Appl. Ent. Zool., 9(1): 49-51.
- OOSTENBRINK, M. (1950): Het aardappelcystje (Heterodera rostochiensis, Wollenweber) een gersarlijke parasiet voor de eenzijdige aardappelcultuur. Meded. Plantzkd. Dienst, 115: 230.
- OOSTENBRINK, M. (1955): Nematologische Waarnemingen. IV. Heterodera carotae Jones, 1950 op peen, Daucus carota L. PO Wageningen, Versl. en Meded. Nr. 127 Jaarboek 1954/55. 238-242.
- OSBORNE, P. (1971): New or uncommon plant diseases and pests. Plant Pathology, 20(3): 148.
- ODUNET, R. (1968): Le nématode de la carotte. Phytoma, 20 (198): 33-36.
- ODUNET, R., CHERBLANC, G., SCHNEIDER, J. & DELOUSTAL, J. (1962): Quatre années d'essais de traitement contre le nématode de la carotte. Phytoma, 14(135): 11-15.
- PELOILLE, M. (1981): Les Hyphomycètes prédateurs de Nématodes: phénomène de prédation, écologie, utilisation en lutte biologique. Agronomie, 1(4): 331-337.

- PERRY, R. N. & CLARKE, A. J. (1981): Hatching mechanisms of nematodes. *Parasitology*, **83**: 435-449.
- PERSON-DEDRYVER, F. (1983): Durable resistance of barley cultivars to the nematode Heterodera avenae. In: Durable resistance in crops. Edited by F. Lamberti, J.M. Waller and N.A. van der Graaff. Plenum Publishing Cooperation, 1983.
- PHILIS, J. (1976): Occurrence and control of nematodes affecting carrot crops in Cyprus. *Nematologica Mediterranea*, **4**(1): 7-12.
- PORCINAI, C. M. & AMBROGIONI, L. (1979): Ulteriori osservazioni sulla ultrastruttura delle cellule giganti indotta da Heterodera carotae Jones, 1950 su radici di carota. Estratto dal volume: "Atti giornate Nematologiche". Firenze.
- RASKI, D. J. (1950): The life history and morphology of the sugar beet nematode, Heterodera schachtii Schmidt. *Phytopathology*, **40**: 135-152.
- REVERSAT, G. (1971): Contribution à l'étude de la biologie d'un nématode phytoparasite: Heterodera oryzae. Thèse présentée à l'Université Claude Bernard de Lyon.
- REVERSAT, G. (1975): Influence d'une inhibition préalable par la pression osmotique sur l'éclosion des masses d'oeufs du nématode Heterodera oryzae. Cahier ORSTOM. série biologique, **10**(3): 189-206.
- REVERSAT, G. (1981): Potassium permanganate as a hatching agent for Heterodera sacchari. *Revue Nématol.*, **4**(1): 174-176.
- REVERSAT, G. & MERNY, G. (1973): Influence de quelques facteurs sur la pénétration du nématode Heterodera oryzae dans les racines du riz. Cahier ORSTOM. série biologique, **21**: 111-119.
- RITTER, M. (1961): Importance et actualité du problème des nématodes en France. In: Les nématodes. Journées d'études et d'information C.N.R.A. Versailles 16-17 XI 1961.
- RIVOAL, R. (1974): Observations de caractères morphologiques de quelques espèces d'Heterodera au microscope électronique à balayage. Sciences agronomiques Rennes, 43-47.
- RIVOAL, R. (1978): Biologie d'Heterodera avenae Wollenweber en France. I Différences dans les cycles d'éclosion et de développement des deux races Fr1 et Fr4. *Revue Nématol.*, **1**(2): 171-179.

- RIVOAL, R. (1979 a): Céréales: Nématodes et variétés résistantes. Cultivar, avril 1979, 69-73.
- RIVOAL, R. (1979 b): Biologie d'Heterodera avenae Wollenweber en France. II Etude des différences dans les conditions thermiques d'éclosion des races Frl et Fr4. Revue Nématol., 2(2): 233-248.
- RIVOAL, R. (1982): Caractérisation de deux écotypes d'Heterodera avenae en France par leurs cycles et conditions thermiques d'éclosions. Bull. OEPP, 12(4): 353-359.
- RIVOAL, R. (1983 a): Rotations céréalières intensives et nématodes. Journées d'études, 16-17 mai 1983.
- RIVOAL, R. (1983 b): Biologie d'Heterodera avenae Wollenweber en France. III Evolution des diapauses des races Frl et Fr4 au cours de plusieurs années consécutives; influence de la température. Revue Nématol., 6(2): 157-164.
- RIVOAL, R., CAUBEL, G. & PERSON, F. (1980): Les nématodes dans les assolements céréaliers. Phytoma, mai, 26-29.
- RIVOAL, R., PERSON, F., CAUBEL, G. & SCOTTO LA MASSESE, C. (1978): Méthodes d'évaluation de la résistance des céréales au développement des nématodes: Ditylenchus dipsaci, H. avenae, Pratylenchus sp. Ann. Amélior. Plantes, 28(1): 31-54.
- ROBINSON, R. W. (1954): Seed germination problems in the umbelliferae. The botanical review, 20(9): 531-549.
- RODE, H. (1971): Der Einfluss verschiedener Temperaturen und Wechsell reize auf das Schlüpfen von Larven des Kartoffelnematoden. Pedobiologie, 11: 143-158.
- ROHDE, R. A. (1972): Expression of resistance in plants to nematodes. Annual Review of Phytopathology, 10: 233-254.
- ROVIRA, A. D. (1969): Plant-root exudates. Botanical Review, 35: 35-57.
- ROVIRA, A. D. & SIMON, A. (1982): Integrated control of Heterodera avenae. Bull. OEPP, 12(4): 517-523.
- SCOTTO LA MASSESE, C. & ROUSSEL, P. (1975): Action du carbofuran et du phénamiphos sur le taux de multiplication d'Heterodera roetchiensis et sur les rendements d'une culture précoce de pomme de terre. Phytat. Phytopharm., 24: 25-36.

- SCOTTO LA MASSESE, C. & CUANY, A. (1977): Recolonisation nématologique des sols traités à l'égard de quelques substances nématocides. *Phytopharm.*, 26: 313-322.
- SEINHORST, J. W. (1959): A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. *Nematologica*, 4: 67-69.
- SEINHORST, J. W. (1966): Killing nematodes for taxonomic study with hot FA 4:1. *Nematologica*, 12: 178.
- SHEPHERD, A. M. (1959): Increasing the rate of larval emergence from cysts in hatching tests with beet seedworm, *Heterodera schachtii*. *Nematologica*, 4: 161-164.
- SHEPHERD, A. M. (1962 a): New blue R, a stain that differentiates between living and dead nematodes. *Nematologica*, 8: 201-208.
- SHEPHERD, A. M. (1962 b): The emergence of larvae from cysts in the genus *Heterodera*. Tech. Comm. No 32. Commonw. Bur. Helminth. St. Albans, Herts. 90 p.
- SHEPHERD, A. M. (1963): The emergence of larvae of *Heterodera goettingiana* in vitro and a comparison between field populations of *H. goettingiana* and *H. rostochiensis* Woll. *Nematologica*, 9: 143-151.
- SHEPHERD, A. M. & CLARKE, A. J. (1971): Hatching of plant parasitic nematodes. In: *Plant Parasitic Nematodes*. Eds. Zuckermann, B.M., Mai, W.F., Rohda, R.A. Vol.11 272-287. New-York Academic. 345 p.
- SHEPHERD, A. M. & COX, P. M. (1967): Observations on periodicity of hatching of eggs of the potato cyst nematode, *Heterodera rostochiensis* Woll. *Ann. appl. Biol.*, 60: 143-150.
- SIDDQUI, M. R. (1980): The origin and phylogeny of the Nematoda orders Tylenchida Thorne, 1949 and Aphelenchida N.ord. *Helminthological Abstracts, Serie B, Plant Nematology*, 49(4): 143-170.
- SIDHU, G. S. (1975): Gene-for-gene relationships in plant parasitic systems. *Sci. Prog., Oxf.*, 62: 467-485.
- STELTER, H. (1969): Zur Biologie des Möhrannematoden, *Heterodera carotae* Jones, 1950. *Biol. Zbl.*, 88: 365-371.

- STELTER, H. (1984): Die Arten der Unterfamilie Heteroderinae (Nematoda: Heteroderinae) und ihre Verbreitung. Berlin, 1984. Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der Deutschen Demokratischen Republik.
- STONE, A. R. (1975): Head morphology of second-stage juveniles of some Heteroderidae (Nematoda: Tylenchoidea). *Nematologica*, 21: 81-88.
- STONE, A. R. (1977): Recent developments and some problems in the taxonomy of cyst-nematodes, with a classification of the Heteroderoidea. *Nematologica*, 23: 273-288.
- STONE, L. E. W., WEBLEY, D. P., LEWIS, S. & EVANS, E.G. (1973): The persistence of potato cyst eelworm (Heterodera pallida Stone) under different non-host regimes. *Plant Pathol.*, 22: 181-183.
- STOREY, R. M. J. (1984): The relationship between neutral lipid reserves and infectivity for hatched and dormant juveniles of Globodera spp. *Ann. appl. Biol.*, 104: 511-520.
- STURHAN, D. (1960): Das Möhrennematode, Heterodera carotae in Deutschland. *Zeitschrift Pflanzenkrankheiten*, 67(9): 543-544.
- STURHAN, D. (1971): Biological races. In: *Plant Parasitic Nematodes*. Eds. Zuckermann, B.M., Hal, W.F., Rohde, R.A. Vol. II 51-72. New-York Academic. 345 p.
- SWARUP, G., SETHI, C. L. & GILL, J. S. (1964): Some records of plant parasitic nematodes in India. *Current Science Bangalore*, 33(19): 593.
- TAYLOR, A. L. (1957): Heterodera taxonomy. Proceedings of the S-19 workshop in phytonematology. University of Tennessee, 1-6 july.
- TRIANAPHYLLOU, A. C. (1971): Genetics and cytology. In: *Plant Parasitic Nematodes*. Eds. Zuckermann, B.M., Hal, W.F., Rohde, R.A. Vol. II 1-34. New-York Academic. 345 p.
- TRIANAPHYLLOU, A. C. (1973): Environmental sex differentiation of nematodes in relation to pest management. *Annual Review of Phytopathology*, 11: 441-462.
- TRIFFIT, M. J. (1931): On the occurrence of Heterodera radicola associated with Heterodera schachtii as a field parasite in Britain. *Journal of Helminthology*, 9(4): 205-208.

- TURNER, S. J. & STONE, A. R. (1981): Hatching of potato-cyst nematodes (Globodera rostochiensis, G. pallida) in root exudates of solanum vernei hybrida. Nematologica, 27: 315-318.
- VALLOTTON, R. (1980): Le nématode à kyste Heterodera carotae un nouveau ravageur de la carotte en Suisse romande. Le Maraîcher, 43(11/12): 259-261.
- VALLOTTON, R. & PERRIER, J. J. (1977): Extraction des kystes et des nématodes libres par un décanteur à contre-courant. Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic., 9: 261-266.
- VALLOTTON, R. & VEZ, A. (1981): Essais de lutte contre le nématode à kyste des céréales (Heterodera avenae) par la rotation de cultures, la désinfection chimique du sol et l'utilisation de variétés résistantes. Revue Suisse Agric., 13(4): 171-180.
- VIGLIERCHIO, O. R. (1961): A simplified technique for hatching tests of Heterodera schachtii. Phytopathology, 51: 330-332.
- VOVLAS, N. (1978): Studio istopatologico di radici di carote infestate da Heterodera carotae e Heloidoqyne javanica. Informatori fitopatologici, 28(7): 25-29.
- WEBSTER, R. H. (1979): Growing weeds from seeds and other propagules for experimental purposes. Weed Research Organization. Technical report No 56.
- WIDDOWSON, E. (1958): Observation on the coIIection and storage of potato root diffusate. Nematologica, 3: 173-178.
- WIESER, W. (1953): On the structure of the cyst wall in four species of Heterodera Schmidt. Statens Växtskyddsanstalt Meddelande, 65: 1-15.
- WILLIAMS, T. D. (1956): The resistance of potatoes to root eelworm. Nematologica, 1: 88-93.
- WILLIAMS, T. D. (1958): Potatoes resistant to root eelworm. Proc. Linn. Soc. London, 169: 93-104.
- WILLIAMS, T. D., BEANE, J. & WISOEN, D. (1977): Rep. Rothamsted Exp. Stn. for 1976, 204.
- WILSON, E. H. (1969): Cyst markings in two species of Heterodera. Nematologica, 15: 162.
- WINSLOW, R. D. (1954): Provisional lists of host plants of some root eelworms (Heterodera sp.). Ann. appl. Biol., 41(4): 591-605.

- WINSLOW, R. D. (1955): The hatching responsaa of eome root eelworm of the genus Hetarodera. Ann. appl. Biol. 43(1): 19-36.
- WINSLOW, R. D. (1956): Seasonal verietione in the hatching reeponees of the potato-root eelworm, Haterodera rostochlensis Wollenweber, and related speciaa. Journal of Halminthology, 30: 157-164.
- WOUTS, W. M. & WEISCHER, B. (1977): Eine klassifizierung von fünfzehn in Weatauropa häufigen Arten dar Heteroderinae auf Grund von Larvenmerkmalen. Nematologica, 23: 289-310.

