

Les nématodes des plantes: Un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire

D.L. Coyne, J.M. Nicol et B. Claudius-Cole

Traduit par Patrick Quénéhervé



Le présent guide produit par l'Institut International d'Agriculture Tropicale (IITA) et *the International Maize and Wheat Improvement Center* (CIMMYT) fait partie de la stratégie du *Systemwide Program on Integrated Pest Management* (SP-IPM) pour améliorer la qualité et l'applicabilité de la recherche au contrôle des ravageurs. L'IITA, le CIMMYT et le SP-IPM sont soutenus par le *Consultative Group on International Agricultural Research* (CGIAR; www.cgiar.org). Le financement de la production du guide vient du Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale (CTA) et de Syngenta pour les éditions précédentes.

Le **SP-IPM** est un programme de partenariat mondial dont le rôle est d'unir les efforts des centres internationaux de recherche agricole et leurs partenaires et de guider ces efforts plus clairement vers les besoins des petits paysans des pays en voie de développement. Le programme s'intéresse aux domaines de la recherche qui envisagent de fournir des solutions aux problèmes vitaux pour le développement d'une agriculture durable mais dont l'impact est jusqu'ici limité – généralement dû aux cloisonnements des efforts entre différentes organisations, différentes régions du monde ou dû aux liens inadéquats entre chercheurs et paysans. Le SP-IPM espère atteindre des progrès rapides en supprimant ces contraintes, cassant les barrières de l'échange d'information, remplissant les gaps de la recherche quand nécessaire et développant des modèles effectifs de partenariats chercheurs–vulgarisateurs–paysans afin de promouvoir l'adoption des technologies d'IPM.

SP-IPM c/o IITA, PMB 5320, Ibadan, Nigeria OU

SP-IPM c/o IITA, Carolyn House, 26 Dingwall Road, Croydon, CR9 3EE, UK

www.spipm.cgiar.org

L'**IITA** est une organisation internationale de recherche pour le développement basée en Afrique, fondée en 1967 et gouvernée par un groupe d'administrateurs. Sa vision est d'être l'un des leaders parmi les partenaires Africains dans la recherche de solution pour la faim et la pauvreté. L'IITA possède plus de 100 chercheurs internationaux dans différentes stations à travers le continent Africain. Ce réseau de chercheurs se consacre à l'élaboration de technologies réduisant les risques des producteurs et consommateurs, augmentant la production locale et générant du bien être.

IITA, PMB 5320, Ibadan, Oyo State, Nigeria

www.iita.org

Le mandat du **CIMMYT** est d'agir comme catalyseur et leader dans le réseau mondial d'innovation sur le maïs et le blé au service des pauvres dans les pays en voie de développement. En se basant sur une science robuste et des partenariats effectifs, le CIMMYT crée, partage et utilise des connaissances et technologies visant à augmenter la sécurité alimentaire, améliorer la productivité et la rentabilité des paysans ainsi que la durabilité des ressources naturelles.

CIMMYT, AP 6-641, 06600 Mexico DF, Mexico

www.cimmyt.org

Le **CTA** a été créé en 1983 dans le cadre de la Convention de Lomé signée entre les États du groupe ACP (Afrique, Caraïbes, Pacifique) et les États membres de l'Union Européenne. Depuis 2000, le CTA opère dans le cadre de l'Accord de Cotonou ACP-UE. Le CTA a pour mission de développer et de fournir des produits et des services qui améliorent l'accès des pays ACP à l'information pour le développement agricole et rural. Le CTA a également pour mission de renforcer les capacités des pays ACP à acquérir, traiter, produire et diffuser de l'information pour le développement agricole et rural. Le CTA est financé par l'Union Européenne.

CTA, Postbus 380, 6700 AJ Wageningen, Pays-Bas

www.cta.int

Les nématodes des plantes: Un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire

D.L. Coyne, J.M. Nicol et B. Claudius-Cole

Traduit par Patrick Quénéhervé



partageons les connaissances au profit des communautés rurales
sharing knowledge, improving rural livelihoods

Remerciements

Les auteurs sont reconnaissants envers SP-IPM et CTA pour leur généreux soutien financier dans la production du présent guide. Les principaux bailleurs de SP-IPM qui ont contribué au développement et à la production du présent guide sont les gouvernements de Norvège, de Suisse et d'Italie. Nous reconnaissons également les contributions financières versées par CTA et Syngenta pour produire cette édition française.

Dr. Braima James (Coordinateur de SP-IPM) a donné l'impulsion et son soutien permanent dans la préparation du présent guide, qui, nous l'espérons, satisfera la demande de nos partenaires et sera utile à la sensibilisation et la résolution des problèmes nématologiques. Nous remercions Braima pour son soutien indéfectible.

Nous apprécions particulièrement les conseils et diverses contributions du Dr. John Bridge dans la préparation du présent guide.

Nos remerciements vont à Luma Al-Banna, John Bridge, Roger Cook, Don Dickson, Jon Eisenback, The Food and Environment Research Agency [Crown Copyright, UK], Georg Goergen, Dieter Heinicke, Sean Kelly, Sandra Mack, Mariette Marais, Alex McDonald, Hans Meerman, Edward Oyekanmi, Richard Plowright, Roger Rivoal, Richard Sikora, Paul Speijer, Hugh Wallwork, Esther van den Berg et Vivien Vanstone pour l'autorisation d'utiliser leurs images photographiques. Nous remercions aussi R. Esser pour nous avoir cédé une de ses illustrations, ainsi que Graham Stirling pour l'utilisation de ses figures et des références afférentes dans les annexes.

Nous remercions M. Duncan Scudamore et Mme Elif Sahin pour leur assistance dans l'édition du présent guide.

Notre remerciement spécial va à Patrick Quénéhervé (Directeur de Recherche IRD, France) qui a traduit le présent guide en français, ainsi qu'à Komi Fiaboe pour son assistance dans ladite traduction.

ISBN 978-131-348-x

© 2010 International Institute of Tropical Agriculture

Tous droits réservés. La maison d'édition encourage une utilisation équitable du présent guide tant qu'une citation correcte est faite. Aucune reproduction, photocopie ou transmission du présent guide n'est permise sans autorisation écrite préalable de la maison d'édition.

Réimprimé en 2010

Cita correcta:

Coyne, D.L., Nicol, J.M. et Claudius-Cole, B. 2010. *Les nématodes des plantes: Un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire*. Secrétariat SP-IPM, Institut International d'Agriculture Tropicale (IITA), Cotonou, Bénin.

Une version PDF du présent document est aussi disponible sur les sites internet de CIMMYT, IITA et SP-IPM.

Sommaire

Préface	v
Introduction	I
Biologie de base des nématodes phtyoparasites	3
Apparence et structure	3
Cycle biologique	3
Les types nématode	3
<i>Les endoparasites migrants</i>	7
<i>Les endoparasites sédentaires</i>	8
<i>Les ectoparasites</i>	9
Symptômes d'attaques de nématodes	II
Symptômes sur les parties aériennes	II
<i>Symptômes causés par les nématodes des parties aériennes</i>	II
<i>Symptômes causés par les nématodes des racines</i>	II
Symptômes sur parties souterraines	14
<i>Galles</i>	14
<i>Galles versus nodosités bactériennes</i>	18
<i>Raccourcissement du système racinaire</i>	19
<i>Lésions sur racines et tubercules</i>	19
<i>Pourriture des racines et tubercules</i>	21
<i>Crevasses et craquelures</i>	23
<i>Kystes ou 'racines perlées'</i>	24
Echantillonnage	25
Outils d'échantillonnage	25
Nombre d'échantillons	25
Schémas d'échantillonnage	26
Période d'échantillonnage	26
Collecte des échantillons de sol	27
Collecte des échantillons de racines	28
Collecte d'échantillons de parties aériennes	28
Soins à porter aux échantillons	28
Extraction des nématodes	31
Choix de la méthode d'extraction	31
Préparation des échantillons	32
Etiquetage	32
Extraction par la méthode de Baermann	34
Méthode par broyage des racines	40
Méthode par tamisage	42
Méthode par incubation	48

Observation directe des tissus végétaux	51
Manipulation, fixation et coloration des nématodes	53
Manipulation des nématodes	53
<i>La pêche aux nématodes</i>	53
<i>Envoi des nématodes pour identification</i>	55
<i>Services d'identification des nématodes</i>	57
Comment tuer les nématodes	57
Fixation des nématodes	58
Tuer et fixer à la fois	59
Préservation des nématodes sédentaires dans les racines ou tubercules	59
Coloration	60
<i>Masses d'oeufs de Meloidogyne</i>	60
Estimation de la densité de nématodes	61
Comptage des nématodes	61
Analyse des dégâts	63
Indexation des symptômes sur les plantes	63
Références et lectures conseillées	65
Annexe 1. Exemples de genres et d'espèces de nématodes parasites d'importance agricole mondiale	67
Annexe 2. Identification des principaux nématodes	72
Annexe 3. Tables d'indexation pour la mesure des dégâts dus aux nématodes	75
Nématode à galles (<i>Meloidogyne</i> spp.) sur manioc	75
Nématodes à galles sur carottes	77
Nématodes à galles sur laitues	78
Index de lésions sur racines de bananiers	79
Table d'indexation pour les nématodes à galles	81
Table d'indexation pour les nématodes à kystes sur le blé	82

Préface

Ce guide se veut une référence simple et facile à suivre afin d'identifier les problèmes dus aux nématodes parasites des plantes. Il fournit des instructions claires, largement illustrées, sur les procédures de collecte, et d'extraction des nématodes, aussi bien que sur leurs identifications et le diagnostic ultérieur. Ce manuel s'adresse en priorité aux techniciens et ingénieurs de terrains et de laboratoires, à tous les professionnels intéressés par les productions agricoles et la protection des plantes, particulièrement à tous ceux qui, dans certaines parties du monde, n'ont qu'un accès limité aux aides techniques et aux laboratoires bien équipés. Il a été écrit en réponse aux fréquentes demandes de collègues pour un guide pratique d'aide au diagnostic en nématologie. Ce guide devrait, espérons le, simplifier quelques aspects de la nématologie et aider à dissiper quelques mystères liés à ces ravageurs des cultures.

On entend fréquemment que les nématodes ne sont reconnus comme un problème en protection des plantes que lorsque qu'un nématologiste est présent, et que, sans la présence de ce nématologiste, il n'y aurait sans doute pas de problème. Paradoxalement les symptômes non spécifiques liés aux attaques de nématodes sont souvent attribués à diverses causes qui semblent plus ou moins évidentes. La réalité est qu'un grand nombre de contraintes se combinent sur une même culture, et il est nécessaire de quantifier toutes ces principales contraintes, sans oublier les nématodes. Toujours garder à l'esprit une éventuelle implication des nématodes, en relation avec les autres maladies et ravageurs, est un véritable défi. Un défi qui devrait bénéficier grandement d'une meilleure évaluation quantitative du problème lié aux nématodes à travers des procédures améliorées au laboratoire et lors des essais aux champs.

Les nématodes parasites des plantes sont toujours présents et susceptibles d'interférer avec la croissance des plantes et la production de la culture. Les nématodes représentent des contraintes significatives en agriculture de subsistance et peuvent être difficiles à contrôler. La détermination de l'importance d'une espèce particulière de nématode, d'une communauté de nématodes ou de la combinaison des nématodes avec un autre problème n'est jamais une tâche facile et l'est encore moins en conditions tropicales. Des espèces jusqu'alors non connues pour leur pathogénicité aux cultures sont découvertes continuellement, particulièrement lors d'adaptations à de nouvelles pratiques ou lors d'introduction de nouvelles cultures. La mise en oeuvre ou l'amélioration de techniques de diagnostic ou d'analyses en nématologie peut conduire à l'identification de nématodes comme responsables d'un problème présent depuis de nombreuses années, mais qui, par manque d'expertise locale, fut mal diagnostiqué..

Beaucoup reste à apprendre à propos des nématodes et des dommages qu'ils occasionnent aux cultures. Il y a par exemple un manque évident de données fiables sur la relation entre densité de nématodes et perte de récolte pour de nombreuses cultures et pour beaucoup d'espèces de nématodes. Dans beaucoup de pays en développement, ces données de base n'existent même pas. Il est cependant important que des efforts, aussi minimes soient-ils, soient portés à l'acquisition et à l'enregistrement de ces données de base dans le futur, à travers les publications émanant de sociétés savantes et de journaux régionaux ou internationaux.

Nous espérons que ce guide contribuera à une meilleure protection des végétaux, particulièrement là où l'expertise en nématologie est encore faible comme dans les pays en développement. L'étape initiale vers ce contrôle, passe par la reconnaissance des nématodes à travers une collection en relation avec les symptômes en collaboration avec un expert capable d'identifier les espèces en cause. Ce guide se veut être le support de cette première étape.

Danny Coyne – IITA Nematologist, Tanzania.

Julie Nicol – CIMMYT Int. Nematologist, Turkey.

Biodun Claudius-Cole – Nematologist, Department of Crop Protection and
Environmental Biology, University of Ibadan, Nigeria.

Introduction

Les nématodes sont des animaux vermiformes, les plus souvent microscopiques. On les retrouve dans pratiquement tous les milieux, à la fois sous forme de parasites ou d'organismes libres. Ils sont généralement très petits, mais certains peuvent atteindre plusieurs mètres de longueur. Ce guide s'intéresse spécifiquement aux nématodes parasites des plantes (ou phytoparasites), qui sont eux très petits, voire microscopiques, capables d'occasionner des dégâts significatifs aux plantes cultivées et sont extrêmement répandus (Annexe 1)

Parce qu'ils sont difficiles ou impossibles à observer au champ, et parce que leurs symptômes sont le plus généralement non spécifiques, les dommages que les nématodes infligent aux cultures sont le plus souvent attribués à d'autres causes plus visibles. Agriculteurs et chercheurs souvent sous-estiment leurs effets. Cependant, il est globalement reconnu que les nématodes phytoparasites réduisent la production agricole d'approximativement 11% (Agrios, 2005), soit une perte de récolte de plusieurs millions de tonnes chaque année.

L'importance des dégâts causés par les nématodes dépend d'un grand nombre de facteurs, comme leur nombre, la virulence de l'espèce ou de la souche, la résistance (capacité de la plante à réduire le développement de la population de nématodes) ou la tolérance (capacité de la plante à produire en dépit de l'attaque des nématodes) de la plante hôte. D'autres facteurs sont également aggravants comme le climat, la disponibilité en eau, le type de sol, la fertilité et la présence d'autres maladies et ravageurs. Cependant, bien que nous ayons déjà quelques connaissances sur les relations nématodes-plantes et facteurs associés, beaucoup reste à apprendre. Les seuils de nuisibilité des nématodes sur différentes cultures dans diverses régions du monde sont le plus souvent inconnus et le danger lié à la présence des nématodes demeure approximatif.

Ce n'est qu'une fois que les nématodes sont reconnus comme causes des dommages aux cultures, que des méthodes de contrôle peuvent être envisagées. Ces méthodes dépendent des espèces incriminées, de la culture et des systèmes de culture et des pratiques locales. Si les espèces sont identifiées, des pratiques culturelles spécifiques peuvent être appliquées comme l'utilisation de cultures ou de variétés résistantes. Cependant des options plus générales ou des combinaisons de celles-ci, comme les rotations, l'application de pesticides, la lutte biologique et des pratiques culturelles de prophylaxie sont le plus souvent appropriées.

Les objectifs de ce guide sont d'assister le lecteur afin :

- D'obtenir une connaissance de base en biologie des nématodes
- De reconnaître les différents groupes trophiques de nématodes
- D'identifier les symptômes de dégâts
- De collecter des échantillons en vue d'analyse nématologique
- De traiter les échantillons pour analyse
- De transférer les nématodes en vue d'identification spécifique.

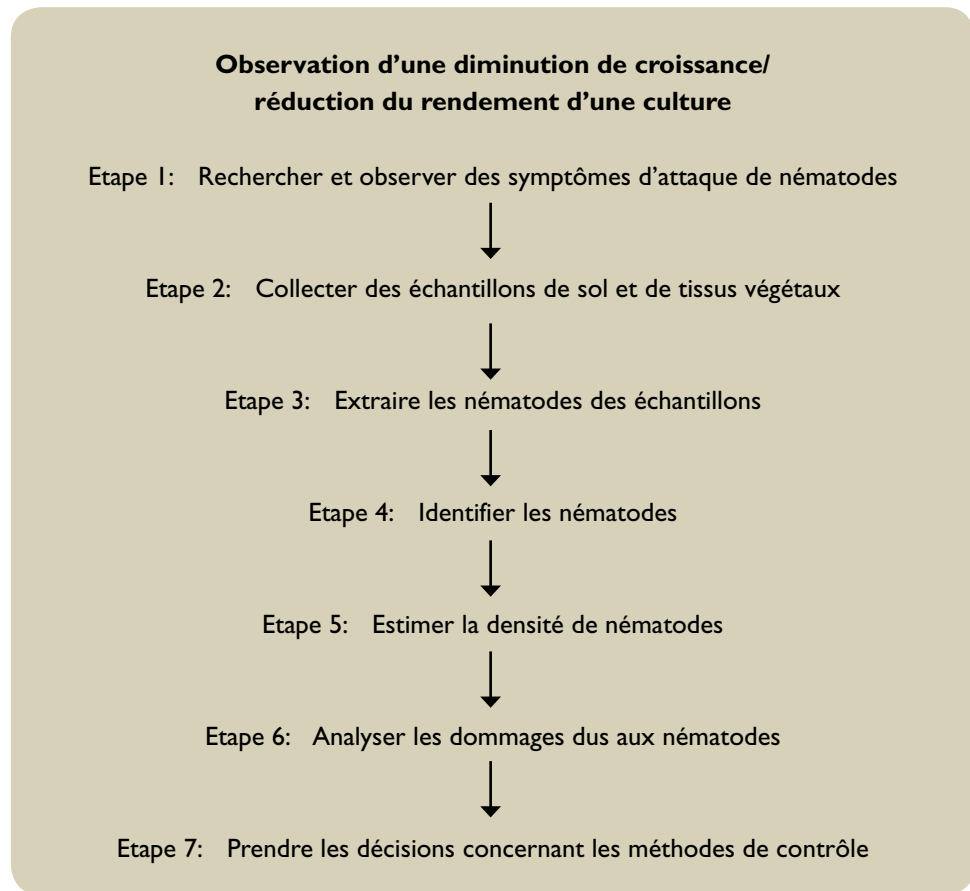


Figure 1. Les étapes dans la reconnaissance et le contrôle d'un problème phytosanitaire lié aux nématodes

La figure 1 montre les différentes étapes dans la reconnaissance et le contrôle d'un problème phytosanitaire lié aux nématodes. Ce guide donne les informations nécessaires afin de conduire les étapes 1 à 3. L'étape 4 peut également être réalisée, mais sans doute avec l'aide d'un spécialiste en nématologie. Les références et les lectures conseillées (page 65) contiennent quelques publications utiles afin de conduire les recherches en nématologie bien au-delà des tâches décrites dans ce guide.

Biologie de base des nématodes phytoparasites

Apparence et structure

Les nématodes phytoparasites sont le plus souvent des vers ronds en forme d'aiguille de taille variant de 0,25 à plus de 1 mm, certains atteignant 4 mm. Bien que généralement de forme effilée de la tête et à la queue, ils existent avec une très grande variabilité de formes et de tailles (Fig. 2). Chez quelques espèces, les femelles perdent leur forme effilée au fur et à mesure de leur croissance, jusqu'à devenir des femelles adultes élargies, en forme de poire, de citron, de rein ou sphériques.

Comme les autres animaux, les nématodes possèdent des systèmes circulatoire, respiratoire et digestif (Fig. 3). Les nématodes phytoparasites diffèrent des autres nématodes qui s'alimentent sur des bactéries et des champignons par la présence d'une structure spécialisée : le stylet (Fig. 3). Ce stylet est utilisé à la fois pour injecter des enzymes dans les cellules et les tissus végétaux des plantes et pour en extraire le contenu, d'une manière très semblable aux aphidés (pucerons) sur les plantes.

Cycle biologique

Le cycle de développement des nématodes est typiquement divisé en 6 : le stade oeuf, 4 stades juvéniles et le stade adulte (Fig. 4). La durée de chacun de ces stades et du cycle biologique complet diffère selon les espèces et dépend de facteurs comme la température, la teneur en eau et la plante hôte. En conditions favorables sous les tropiques, de nombreuses espèces ont des cycles de développement très courts avec plusieurs générations par saison. Cela peut conduire à des développements très rapides de populations à partir de seulement un (auto-fertilisation) ou deux individus.

Par ailleurs, les nématodes peuvent survivre à des conditions défavorables comme la saison sèche ou les hivers froids. Certaines espèces survivent mieux à différents stades, par exemple les espèces du genre *Heterodera* survivent mieux sous formes d'oeufs à l'intérieur de kystes, le genre *Ditylenchus* au quatrième stade juvénile et le genre *Anguina* au second stade juvénile.

Les types nématode

Les nématodes phytoparasites peuvent être séparés en deux groupes, les nématodes des parties aériennes – ceux qui s'alimentent sur les parties aériennes des plantes – et les nématodes des parties racinaires – ceux qui s'alimentent sur les racines et tubercules souterrains.

Ils peuvent également être regroupés selon leur comportement alimentaire et leur mobilité en trois groupes principaux:

- Endoparasites migrants – des nématodes mobiles qui s'alimentent à l'intérieur des tissus racinaires des plantes.
- Endoparasites sédentaires – des nématodes qui, arrivés sur un site nourricier, cessent d'être mobiles et s'alimentent sur ce site nourricier.
- Ectoparasites – des nématodes qui s'alimentent à la surface des tissus racinaires des plantes.



Pratylenchus (filiforme) [JB]



Helicotylenchus (filiforme/ spirale) [GG]



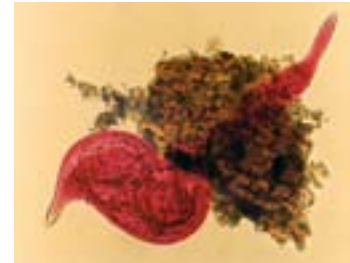
Discocriconemella (fuseau épaisi)



Nacobbus (arrondie/fuseau) [JB]



Achlysiella (fuseau épaisi) [JB]



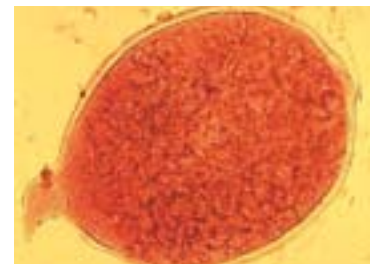
Tylenchulus (en forme de poire) [JB]



Rotylenchulus (réniforme) [JB]



Heterodera (forme de citron)



Meloidogyne (forme de gourde sphérique) [JB]



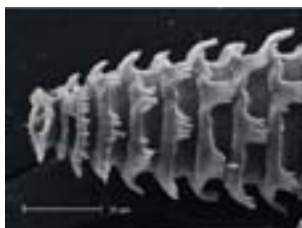
Scutellonema (filiforme/forme-C) [GG]



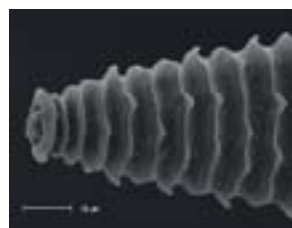
Criconeumatid (annelé)



Hirschmanniella (filiforme/ long) [JB]

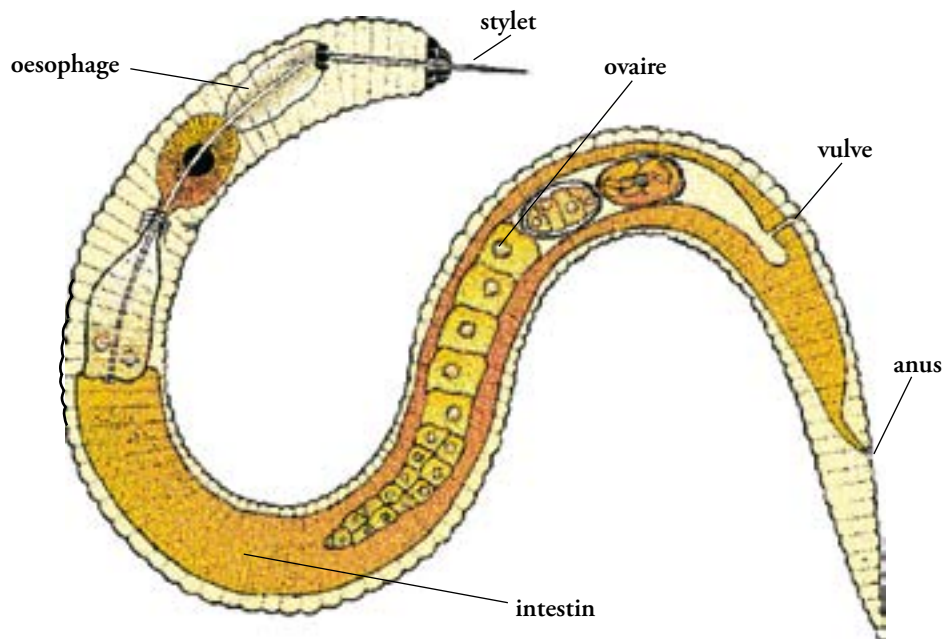


Ogma : structure de surface (frangé/ornementé) [EvB]

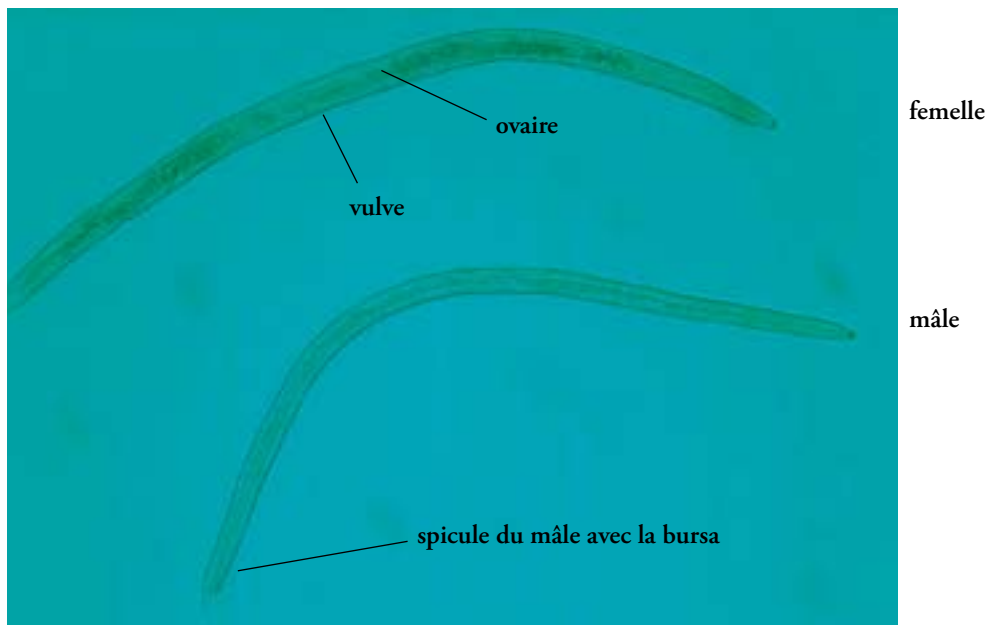


Tylenchulus apparence physique à l'extérieur de la racine (forme de poire) [EvB]

Figure 2. Diverses formes de nématodes, comme observées à travers le microscope.
(Photographies de J. Bridge [JB], G. Goergen [GG] ou E. van den Berg [EvB].)



Structure typique d'un nématode (d'après R. Esser).



Mâle et femelle de *Scutellonema*.

Figure 3. (Haut) Schéma de la structure d'un nématode comme observé à travers un microscope. (Bas) Exemple de nématodes mâle et femelle (*Scutellonema bradys*) vu au microscope avec indications des organes reproducteurs mâle (spicules) et femelle (vulve et ovaires). Il est à noter qu'il n'existe pas de mâles dans toutes les espèces. Une 'bursa' de protection est observée autour des spicules des mâles chez quelques espèces, comme ici, mais pas chez toutes les espèces.

(Photographie de H. Meerman.)

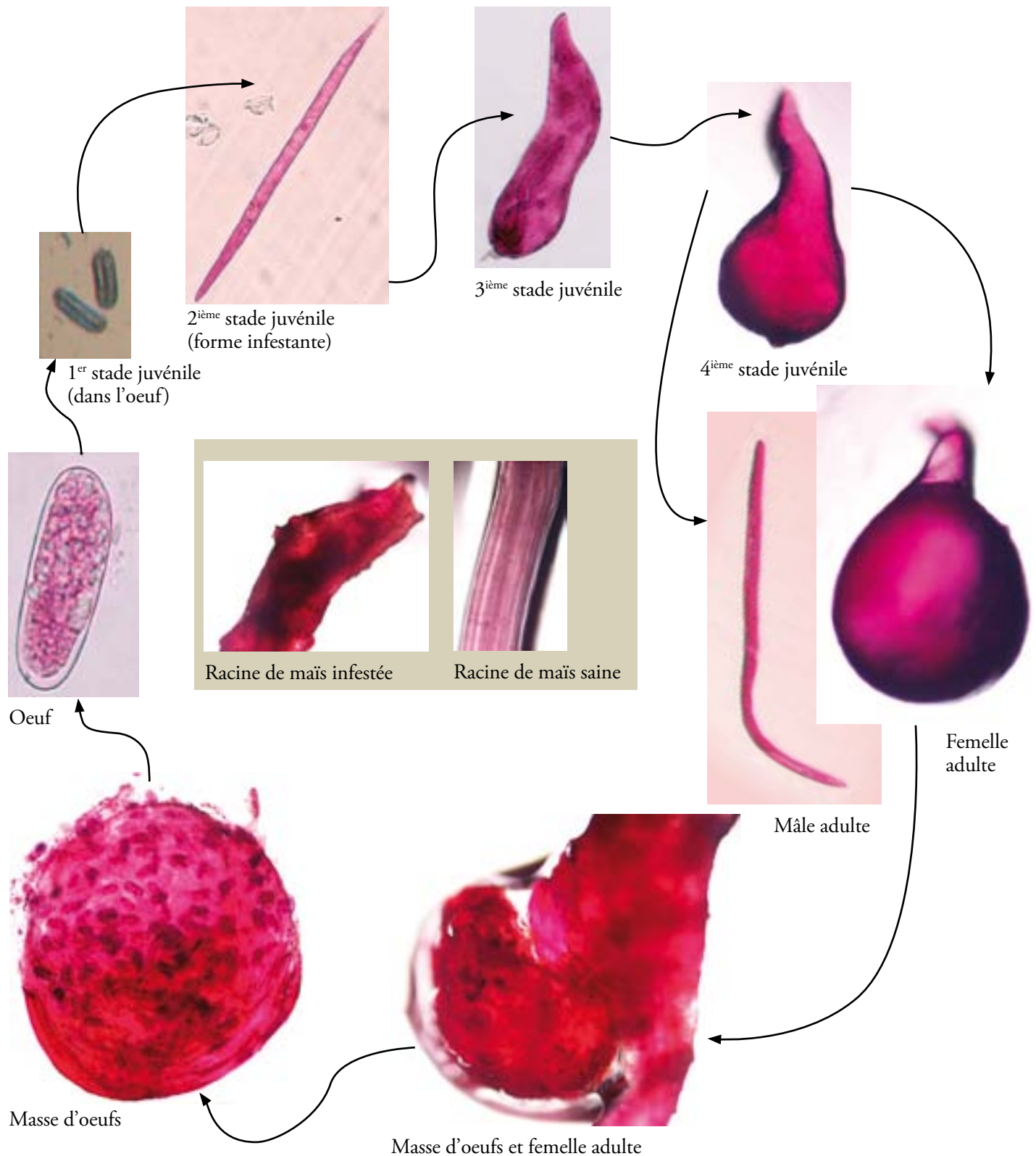
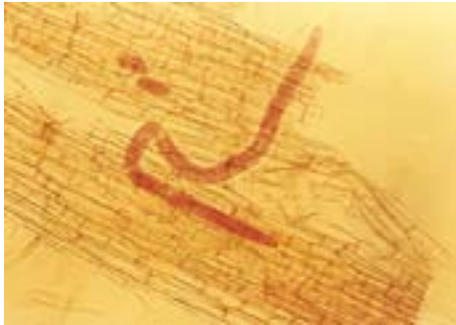


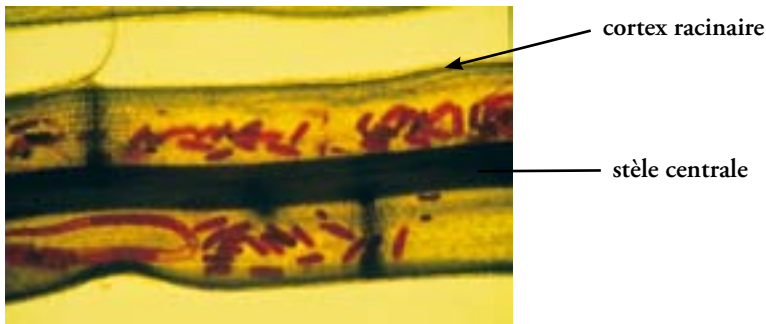
Figure 4. Cycle biologique d'un nématode. *Meloidogyne* est utilisé ici comme un exemple sur maïs, observé à travers le microscope. Tous les stades ne sont pas à la même échelle. Le cycle biologique d'un nématode endoparasite migrateur suit les mêmes étapes, cependant les femelles demeurent filiformes et ne produisent pas de masses d'oeufs. (Photographies de E. Oyekanmi.)

Les endoparasites migrants (Fig. 5)

Chez les nématodes endoparasites migrants, tous les stades sont mobiles à l'exception de l'oeuf. Les nématodes traversent les tissus végétaux de cellule en cellule, ou peuvent quitter les tissus végétaux à la recherche de nouvelles sources alimentaires. Au cours de leur migration et de leur alimentation, ces nématodes pondent des oeufs soit à l'intérieur du cortex racinaire soit dans le sol environnant les racines. Les cellules endommagées sécrètent des toxines qui peuvent tuer les cellules adjacentes, conduisant à la formation de petites taches ou de lésions nécrotiques. Des champignons et des bactéries, agents de pourriture secondaire des racines, sont souvent associés aux déplacements et aux points d'entrée créés par les nématodes endoparasites migrants.



Scutellonema bradys sur igname.



Hirschmanniella sur riz [JB].

Figure 5. Femelles et oeufs de nématodes endoparasites migrants colorés en rouge dans les tissus racinaires.

(Photographie de J. Bridge [JB].)

Les endoparasites sédentaires (Fig. 6)

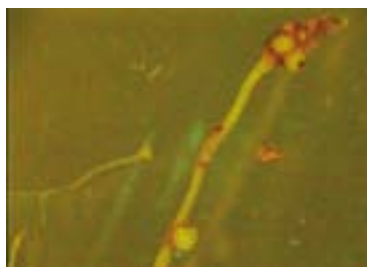
Les nématodes endoparasites sédentaires sont capables d'envahir les tissus végétaux dès l'éclosion du second stade juvénile – stade infestant vermiforme. Ils se déplacent dans le sol à la recherche de racines d'une plante hôte, traversent les tissus végétaux afin de trouver un site nourricier. Une fois le site trouvé, le juvénile s'y établit de manière permanente jusqu'à la fin de son cycle de développement en femelle adulte. Au fur et à mesure de son développement, son corps arrondi prend une forme sphérique, de citron, de rein ou ovoïde. Le nématode s'alimente sur un très petit nombre de cellules, régulées par le nématode lui-même à l'aide de substances de croissance. Certaines espèces (nématodes à kystes et nématodes à galles) conduisent à la formation de cellules géantes à l'intérieur des racines de la plante hôte.

Les mâles demeurent filiformes, se nourrissant à la surface des racines pour quelques jours, pendant lesquels ils peuvent ou non féconder les femelles avant de migrer à nouveau dans le sol pour y mourir.

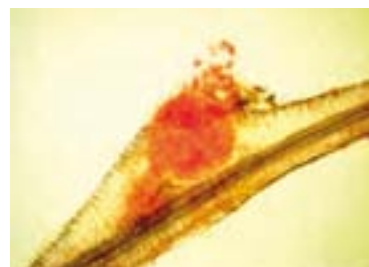
Les femelles de nématodes endoparasites sédentaires produisent généralement un très grand nombre d'oeufs, qui demeurent à l'intérieur de leurs corps (e.g. nématodes à kystes – *Heterodera* spp.) ou s'accumulent dans des masses d'oeufs (e.g. nématodes à galles – *Meloidogyne* spp.) rattachées à leurs corps. Quelques autres espèces sont sédentaires mais seulement semi-endoparasites, comme le nématode réniforme (*Rotylenchulus* spp.) et le nématode des citruses (*Tylenchulus semipenetrans*), nématodes qui sont partiellement intégrés dans les tissus racinaires.



Nématode à kystes (*Heterodera* spp.) faisant éclater le cortex racinaire du riz.



Nématode à galles (*Meloidogyne* spp.) émergeant d'une racine de maïs.



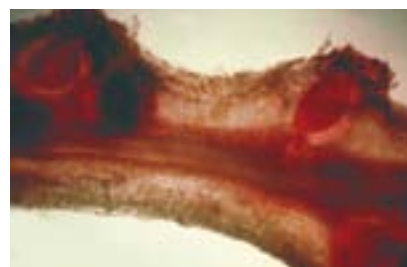
Nématode à galles (*Meloidogyne* spp.) dans une racine de courge avec une sortie extérieure des oeufs [JB].



Nématodes à kystes adultes sur céréales (*Heterodera filipjevi*).



Nématode réniforme (*Rotylenchulus* spp.) avec la tête enfoncée dans le cortex racinaire (semi-endoparasite) [JB].



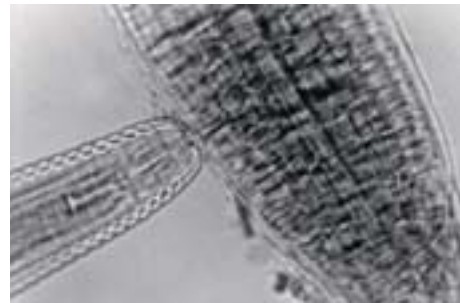
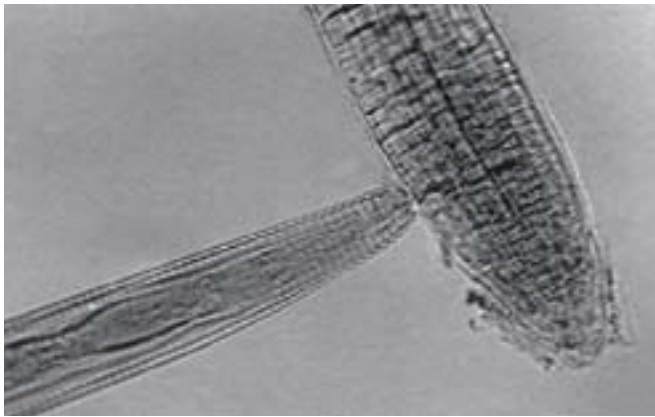
Nématodes à galles (*Meloidogyne* spp.) dans des racines de patate douce [JB].

Figure 6. Nématodes endoparasites.
(Photographies de J. Bridge [JB].)

Les ectoparasites (Fig. 7)

Les nématodes ectoparasites s'alimentent de manière externe, à la surface des plantes, généralement sur les poils absorbants ou le tissu cortical externe des racines. On les retrouve souvent en très grand nombre sans que cela soit un problème. Cependant, ils peuvent occasionner de sérieux dommages aux plantes souffrant de stress d'origine biotique ou abiotique (e.g. attaque fongique ou faible disponibilité en eau). Les exemples de nématodes ectoparasites sont : les nématodes 'annelés' (*Criconeimoides* spp.), les nématodes spiralés (*Helicotylenchus* spp.) et le nématode agent du bout blanc sur le riz (*Aphelenchoides besseyi*).

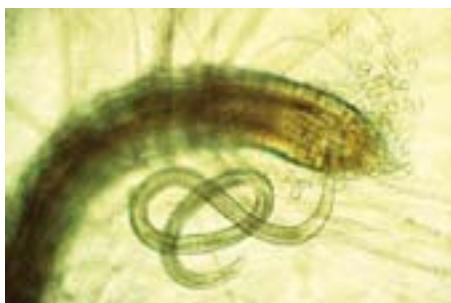
Il est également bien reconnu que certains nématodes ectoparasites sont des agents importants de transmissions de virus aux plantes (*Xiphinema* spp.; *Longidorus* spp.; *Trichodorus* et *Paratrichodorus* spp.).



Aulosphora s'alimentant sur une racine de riz avec un agrandissement sur la pénétration du stylet dans le tissu racinaire.



Discocriconemella avec un agrandissement de la tête [GG].



Tylenchorhynchus s'alimentant sur une extrémité de racine [JB].

Figure 7. Nématodes ectoparasites.
(Photographies de G. Goergen [GG] et J. Bridge [JB].)

Symptômes d'attaques de nématodes

Le plus grand défi lorsqu'il s'agit de reconnaître les nématodes comme responsables des dommages observés sur une culture tient au fait que la plupart d'entre eux ne produisent pas de symptômes spécifiques, faciles à identifier. En effet, les attaques de nématodes sont le plus souvent non spécifiques et facilement confondues avec des symptômes d'origine abiotique ou biotique. Par exemple, les symptômes de chlorose peuvent être dus à une déficience en azote mais aussi à la présence de nématodes, de la même manière une faible croissance peut être causée par un manque de fertilité du sol ou de stress hydrique mais également par la présence de nématodes.

Il est fortement recommandé de rechercher la présence de nématodes lorsque les cultures souffrent de pertes de récolte et montrent l'un ou l'autre des symptômes décrits plus bas. Des informations supplémentaires sur la plante, l'historique de la parcelle et les pratiques culturales, en complément des informations apportées par ce guide, devraient vous aider à la reconnaissance des possibles nématodes impliqués.

Les symptômes d'attaques de nématodes sont observables sur les parties aériennes comme sur les parties souterraines.

Symptômes sur les parties aériennes

Les symptômes sur les parties aériennes se divisent en deux catégories : ceux qui sont causés par des nématodes des parties aériennes qui attaquent le feuillage et ceux qui sont causés par des nématodes du sol attaquant les racines.

Symptômes causés par les nématodes des parties aériennes (Fig. 8)

Ce sont souvent des symptômes spécifiques associés à des nématodes plus aisés à diagnostiquer. Ils comprennent:

- Formation de galle, ou gonflement anormal des grains (e.g. *Anguina*) ou des feuilles (e.g. *Cynipanguina*)
- Des stries sur feuille, blanchissement et décoloration des feuilles (particulièrement sous climat tempéré) (e.g. *Aphelenchoides*)
- Epaississements, crevasses et croissance désorganisée des tissus (e.g. *Ditylenchus*)
- Nécrose interne de la tige, association avec un anneau rouge (*Bursaphelenchus cocophilus*)
- Nécrose de l'inflorescence
- Chlorose/brunissement des feuilles (aiguilles de pins), possible mort de l'arbre (*Bursaphelenchus xylophilus*).

Symptômes causés par les nématodes des racines (Fig. 9)

Les nématodes des racines sont la cause, à des degrés divers, de défauts de croissance des parties aériennes, mais ces symptômes ne sont généralement pas suffisants pour diagnostiquer un problème nématologique. La plupart de ces symptômes peuvent être le reflet ou confondus pour d'autres problèmes comme une alimentation insuffisante en eau ou une déficience de l'absorption minérale. Ils comprennent:



Déformation des épis d'orge et de blé en présence du nématode des épis *Anguina tritici* [RS].



Plissement/entortillement des feuilles de riz par *Ditylenchus angustus* [JB].



Maladie du bout blanc du riz causé par *Aphelenchoides besseyi* [JB].



Symptôme de l'anneau rouge (*Bursaphelenchus cocophilus*) dans un tronc de cocotier [JB].



Maladie d'Ufra sur riz causé par *Ditylenchus angustus* [JB].



Stries et décolorations en rayures sur feuille de bananier Ensete (*Musa*) causé par *Aphelenchoides* sp. [PS].



Pieds d'avoine sévèrement attaqués par le nématode des tiges, causant le développement clairsemé, le rabougrissement, la chlorose (gauche) et l'épaississement du plateau de tallage (droite) associé à une infestation par *Ditylenchus dipsaci* [HW].



Galle sur grain de blé causée par *Anguina tritici* (grain écrasé montrant l'émergence d'oeufs et de juvéniles) [JB].

Figure 8. Symptômes des parties aériennes causés par des nématodes attaquant le feuillage.
(Photographies de J. Bridge [JB], R. Sikora [RS], P. Speijer [PS] et H. Wallwork [HW].)



Chlorose et croissance réduite d'un pied de riz (gauche) en présence de *Heterodera sacchari*.



Chlorose en taches et défaut de croissance des feuilles basses de blé en présence *Heterodera* spp. [HW].



Floraison/maturité retardée et croissance réduite en tache sur des plants de pomme de terre atteints par le nématode à kyste [DH].



Réduction de densité et de feuillage sur riz irrigué en présence *Hirschmanniella* spp.



Réduction de la taille de bananiers plantains (à gauche) avec *Pratylenchus coffeae*.



Réduction du tallage et distribution en taches sur blé attaqué par le nématode agent de lésions (*Pratylenchus neglectus*) [RR et RC].



Dépérissement d'un citrus avec *Radopholus similis*.



Chute d'un plant de bananier causé par *Radopholus similis*.



Distribution en taches, nanisme et chlorose de pieds de maïs atteints par le nématode à galles (*Meloidogyne* spp.) [AM].

Figure 9. Symptômes sur parties aériennes occasionnés par des nématodes attaquant les racines.

(Photographies de R. Cook [RC], D. Heinicke [DH], A. McDonald [AM], R. Rivoal [RR] et H. Wallwork [HW].)

- Chlorose (jaunissement) ou toute autre coloration anormale du feuillage
- Croissance inégale et réduite
- Feuillage fin et peu fourni
- Symptômes liés au stress hydrique comme flétrissement de la plante ou enroulement des feuilles
- Mort de plantes pérennes ou ligneuses avec peu ou pas de nouvelles feuilles
- Réduction de la taille des fruits et des graines
- Faiblesse des récoltes.

D'autres symptômes peuvent suggérer une infestation par les nématodes:

- Mauvaise réponse à l'application des engrais
- Une tendance à réagir plus rapidement au stress hydrique que des plantes saines, des difficultés à reprendre après un flétrissement
- Peu ou pas de développement du feuillage au début de la nouvelle saison de croissance
- Problème important d'adventices (fort envahissement), dû à une moindre compétitivité des plantes infestées par les nématodes
- Plus grande susceptibilité aux maladies, en raison d'une moindre résistance des plantes infestées par les nématodes.

Symptômes sur parties souterraines

Ils sont dus aux nématodes et sont parfois suffisamment spécifiques pour autoriser le diagnostic d'un problème nématologique. L'arrachage des plantes ou le dégagement des racines est nécessaire pour observer les symptômes. Les symptômes comprennent:

- Formation de galles
- Racines raccourcies, épaissies, enflées à leurs extrémités
- Lésions sur les racines
- Nécroses sur les racines et les tubercules, pourrissement et mort des racines
- Crevasses sur racines et tubercules
- Présence de kystes ou de 'perles' sur les racines
- Racines déformées
- Architecture racinaire altérée.

Galles

Les galles racinaires sont la plupart du temps causées par les nématodes à galles (*Meloidogyne* spp.), bien que d'autres nématodes comme *Nacobbus aberrans* puisse aussi former des galles (Fig. 10). L'alimentation d'autres nématodes, comme *Xiphinema* spp., peut également conduire à la formation d'épaississements ou de galles moins définies, particulièrement à l'extrémité des racines.

Les galles varient considérablement selon l'espèce de *Meloidogyne*, la culture et le cultivar, et parfois sont observables sur racines et sur tubercules (Fig. 11). Les apparences les plus typiques comprennent:

- Petits épaississements bien individualisés en tête d'épingle
- Épaississements massifs de tissus végétaux déformés et coalescents
- Renflement des extrémités racinaires
- Renflements irréguliers tout au long de la racine
- Extrémités racinaires recourbées en forme d'hameçon
- Pas de forme visible d'épaississements racinaires autour du site où le nématode est fixé.



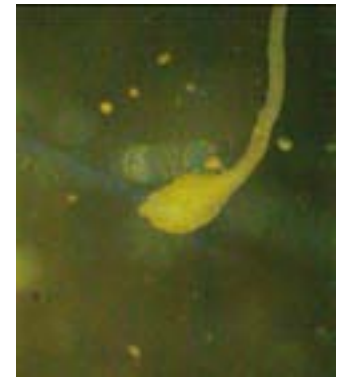
Galles sur racines de manioc causées par *Meloidogyne* spp.



Meloidogyne graminicola sur riz à l'origine de plantules naines et gallées [RP] et extrémités de racines en forme d'hameçons [JB].



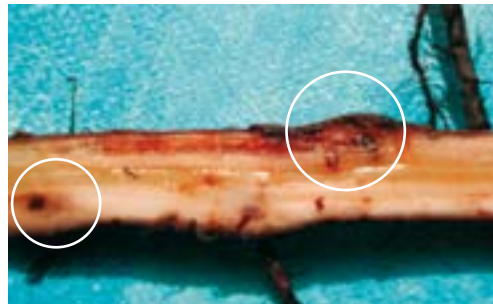
Déformation massive et regroupement de galles sur le système racinaire de légumes attaqués par *Meloidogyne* spp.



Epaississement terminal sur une racine de maïs attaquée par *Meloidogyne* spp.



Large déformations et galles sur racines d'arbre causées par *Meloidogyne* spp.



Déformation du système racinaire d'un bananier avec de nombreuses galles (gauche) et coupe longitudinale d'une racine montrant des femelles de *Meloidogyne* spp. profondément incluses dans le tissu cortical (droite).



Chapelet de galles en perles sur racines de laitue causé par *Meloidogyne* spp.



Déformation, présence de galles et galles terminales sur des racines de maïs avec *Meloidogyne* spp.



Galles sur racines de pomme de terre causées par *Nacobbus aberrans* [JB].

Figure 10. Galles sur racines et autres symptômes causés par le nématode à galle (*Meloidogyne* spp.) et *Nacobbus* sp.

(Photographies de J. Bridge [JB] et R. Plowright [RP].)

C'est une idée fausse très répandue de considérer que les plantes de la famille des Graminées (adventices et céréales) ne sont pas affectées par les nématodes à galles. En fait ces plantes sont également attaquées par les nématodes à galles, mais les galles sont souvent moins visibles. Cependant de petites galles sont facilement observables (Fig. 10).



Galles sur tubercule d'igname (*Dioscorea* spp.).



Coupe transversale d'un tubercule d'igname montrant une ornementation crénelée à la surface du tubercule ainsi que les femelles incluses dans les tissus du cortex.



Galles sur pomme de terre.



Galles sur betteraves.



Galles sur tubercules de manioc.

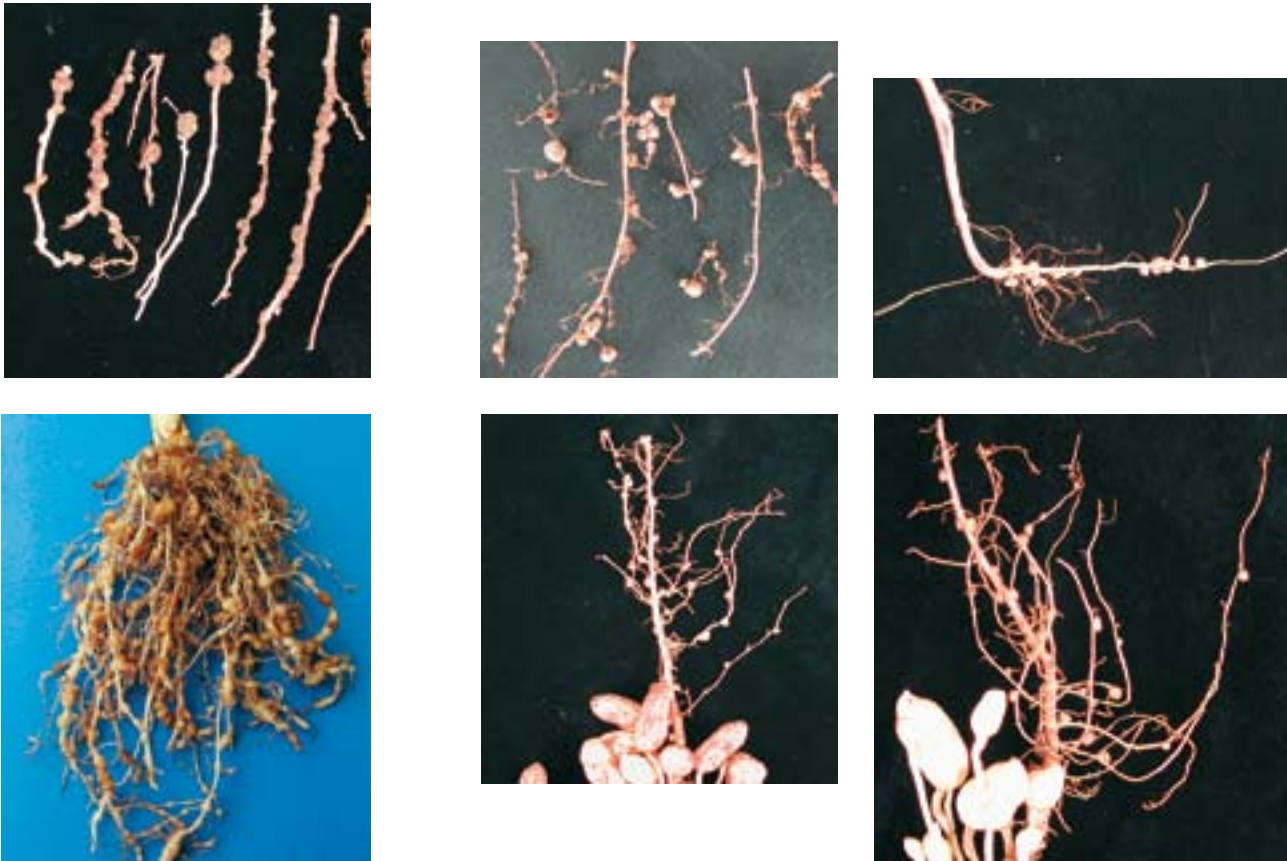


Galles sur carotte.

Figure 11. Galles sur les organes de réserve causées par les nématodes à galles (*Meloidogyne* spp.).

Galles versus nodosités bactériennes (Fig. 12)

D'autres gonflements de racines peuvent être causés par des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium*). On les appelle des nodules ou nodosités et ils sont fréquemment observés sur les racines des légumineuses. Ils se distinguent des galles par leur contenu et la manière dont ils sont rattachés à la racine. Les nodules frais contiendront un liquide laiteux de rose à brun tandis que les galles seront composées d'une matière crémeuse et gélatineuse, parfois solide. Les nodules sont faiblement



Nématodes à galles sur manioc et laitue (Deux images à gauche) en comparaison des nodules fixateurs d'azote (Images de droite) sur soja, haricot et arachide.



Symptômes similaires aux galles causés par la maladie de l'hernie du chou.

Figure 12. Galles sur racines causées par les nématodes en comparasion de symptômes similaires.

rattachés à la racine et peuvent être facilement détachés; les galles dues aux nématodes sont plus difficiles à enlever sans déchirer le tissu racinaire avoisinant.

Quelques maladies racinaires, telle que celle causée par le champignon des racines (*Plasmodiophora brassicae*), peuvent conduire à la déformation des racines d'une manière similaire à celle observée lors d'attaques de nématodes à galles. (Fig. 12).

Raccourcissement du système racinaire

L'activité des nématodes peut aussi être à l'origine d'un raccourcissement des racines, en conséquence la biomasse racinaire est grandement réduite ou montre une apparence boudinée (Fig. 13).



Nanisme et galles sur racines sur plantules de riz attaquées par *Meloidogyne graminicola* [RP].



Sévère dépérissement racinaire sur plantule d'olivier résultant de l'infestation par un nématode agent de lésions (*Pratylenchus* spp.).



Symptômes de racines raccourcies sur maïs on maïs, causés par *Paratrichodorus minor* [DD].

Figure 13. Raccourcissement de racines.

(Photographies de D. Dickson [DD] et R. Plowright [RP].)

Lésions sur racines et tubercules

Les racines et les tubercules peuvent montrer des surfaces de tissus morts (nécrosés) résultant de l'activité des nématodes (Figures 14 et 15). Au fur et à mesure que les nématodes s'alimentent et migrent à l'intérieur des tissus végétaux, ils détruisent des cellules et altèrent les fonctions cellulaires, causant ainsi la mort des tissus.



Très fortes lésions racinaires sur framboisier infesté par (*Pratylenchus vulnus*) [JB].



Symptômes de lésions racinaires (*Pratylenchus thornei*) sur blé.



Racines de maïs infestées par *Pratylenchus* (droite) comparées à des racines saines (gauche).



Racine de bananier montrant des lésions étendues (nécroses) en présence de *Radopholus similis*.

Figure 14. Symptômes de lésions sur racines.

(Photographies de J. Bridge [JB].)



Lésions internes et nécroses à la surface d'une igname infestée par le nématode de l'igname (*Scutellonema bradys*).



Lésions sur patate douce causées par *Scutellonema bradys*.



Lésions internes sur patate douce causées par le nématode à galles (*Meloidogyne incognita*) [JB].



Lésions sur patate douce causées par *Paratrichodorus* (tubercule du milieu) [MM].



Pourriture de la pomme de terre causée par *Ditylenchus dipsaci* [FERA].



Pourriture du tissu interne de la pomme de terre causée par *Ditylenchus destructor* [FERA].

Figure 15. Nécroses et lésions sur les organes de réserve.

(Photographies de The Food and Environment Research Agency [FERA], J. Bridge [JB] et M. Marais [MM].)

Pourriture des racines et tubercules

Les nématodes à eux seuls peuvent conduire à des pourritures de racines et de tubercules à travers des migrations importantes, entraînant des nécroses et la mort de tissus végétaux et de racines (Figures 16 et 17). Le nématode du bananier *Radopholus similis*, les nématodes agents de lésions *Pratylenchus* spp., le nématode de l'igname *Scutellonema bradys*, et *Hirschmanniella miticausa* sur le taro en sont des exemples. Fréquemment, des infestations bactériennes et fongiques se développent secondairement et contribuent au pourrissement. (Fig. 17).



Pourrissement, fissures (gauche) et sectionnement (droite) de racines de bananier en présence de *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus* et *Meloidogyne* spp.



Nécroses et réduction de la biomasse racinaire de patate douce en présence de *Scutellonema bradys*.

Figure 16. Pourrissement de racines causé par une infestation en nématodes.



Nécroses superficielles sur racines tubéreuses de manioc, causées par une infestation par un nématode à galles (*Meloidogyne* spp.), comparées à un tubercule sain sur la gauche.



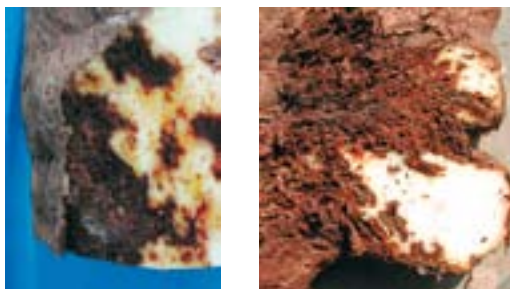
Racine tubéreuse de patate douce infestée par un nématode à galles (*Meloidogyne* spp.) [JB].



Pourrissement interne sur tubercule d'igname causé par une infection fongique, probablement secondaire à une attaque par le nématode de l'igname *Scutellonema bradys*.



Maladie de Miti-miti sur taro causée par *Hirschmanniella miticausa* [JB].



Pourriture sèche sur igname causée par le nématode de l'igname (*Scutellonema bradys*).

Figure 17. Pourrissement sur tubercules suite à une infestation par les nématodes. (Photographies de J. Bridge [JB].)

Crevasses et craquelures

Parfois les racines et les tubercules montrent une surface crevassée et craquelée après une attaque de nématodes (Fig. 18). Ce symptôme est souvent attribué à tort à un stress hydrique ou nutritionnel durant la croissance. Des craquelures sont souvent observées sur les patates douces, causées par le nématode réniforme (*Rotylenchulus reniformis*). Le nématode de l'igname (*Scutellonema bradys*) occasionne le même symptôme sur igname.



Fissures et crevasses à la surface d'un tubercule d'igname (gauche) causées par *Scutellonema bradys*.



Crevasses sur patate douce en présence de *Rotylenchulus* spp.

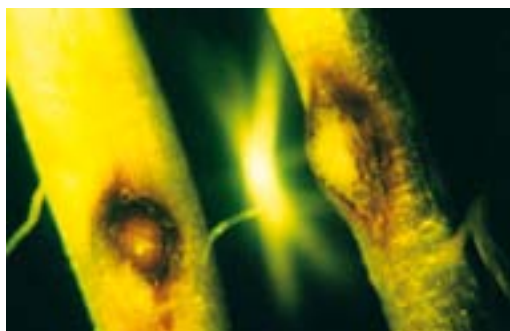


Craquelures de surface sur tubercule de pomme de terre causées par *Scutellonema bradys*.

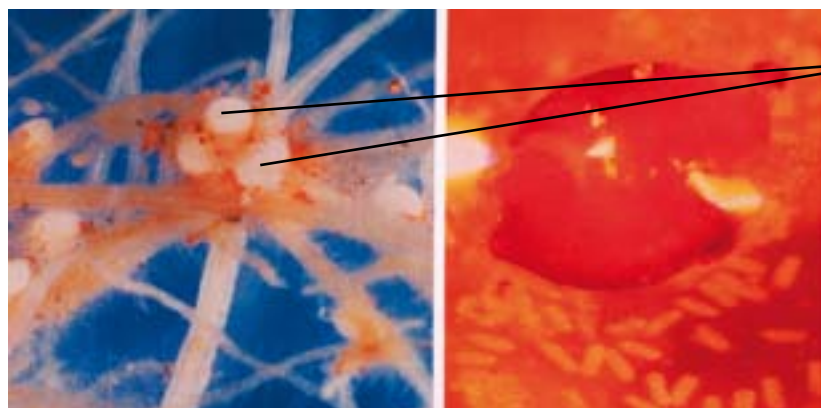
Figure 18. Symptômes de crevasses sur tubercules.

Kystes ou 'racines perlées' (Fig. 19)

Les nématodes à kystes (e.g. *Heterodera* and *Globodera* spp.) sont souvent observés à l'œil nu sur les racines de leur plante hôte, une fois le système racinaire débarrassé du sol adhérent. Les jeunes femelles adultes sont visibles sous la forme de très petites têtes d'épingles blanches, donnant une apparence perlée aux racines lorsqu'elles sont nombreuses. Au fur et à mesure de la maturation des femelles, les kystes, qui contiennent plusieurs centaines d'œufs, durcissent et se colorent en brun ou noir.



Kyste brun et femelle blanche d'*Heterodera oryzaicola* inclus dans les tissus d'une racine de riz [RP].



Femelles blanches

Femelles blanches d'*Heterodera avenae*, le nématode à kystes des céréales, chacune de la taille d'une tête d'épingle, responsable de l'aspect perlé des racines de blé (gauche) avant maturation en kystes bruns, remplis d'œufs [HW].



Racines de pomme de terre avec des femelles blanches de *Globodera rostochiensis* attachées tout au long de la surface des racines et leur donnant cette apparence 'perlée' [JB].

Figure 19. Kystes ou 'racines perlées'.

(Photographies de J. Bridge [JB], R. Plowright [RP] et H. Wallwork [HW].)

Echantillonnage

Après avoir observé les symptômes d'une possible infestation par les nématodes, l'étape suivante consiste à collecter des échantillons de sol et de racines des plantes infestées. Ces échantillons sont à porter au laboratoire pour analyse, afin de déterminer quels nématodes sont présents et à quelle densité.

Les spécificités locales suivantes ont des implications sur la méthode d'échantillonnage et doivent être prises en considération à cette étape:

- Distribution agrégée des nématodes en raison du système racinaire de la plante hôte et du comportement saisonnier des nématodes
- Type de culture et historique
- Surfaces plantées de différentes variétés
- Teneur en eau du sol
- Compaction du sol
- Type de sol
- Température et changements saisonniers.

Outils d'échantillonnage

Les outils et accessoires les plus utiles afin d'échantillonner, quelques-uns sont montrés sur la figure 20, comprennent une pelle-bêche, une truelle à main, un tournevis, une gouge, des couteaux (pour couper les racines), des ciseaux, des sachets en polyéthylène et des étiquettes. La gouge pour le sol doit avoir une lame de 20–30 cm en longueur et de 20–25 mm de diamètre, cylindrique ou semi cylindrique. La terre se détache plus facilement des gougues semi cylindriques. Des marqueurs permanents pour écrire sur le sachet, un stylo et un carnet sont également nécessaires pour noter les informations.



Figure 20. Un assortiment d'outils pour l'échantillonnage des nématodes.

Nombre d'échantillons

Il est préférable de collecter assez d'échantillons afin d'assurer une représentativité suffisante de la distribution des nématodes dans le champ. Plus grand sera le nombre de sous-échantillons (prises) combinés pour former l'échantillon composite pour chaque champ, plus précise sera l'estimation. Un équilibre entre temps et ressources disponibles est cependant nécessaire.

La procédure d'échantillonnage et le nombre d'échantillons collectés doivent couvrir la variabilité due aux nématodes et à leur agrégation. Pour une surface de 0.5 à 1 hectare, l'échantillonnage

doit comprendre entre 10 (minimum) et 50 sous-échantillons. La combinaison de ces sous-échantillons conduit à un échantillon composite représentatif de la surface de champ échantillonnée. Le rassemblement de ces sous-échantillons aide à préserver les nématodes en maintenant une température et une humidité adéquates.

Schémas d'échantillonnage

Les nématodes sont rarement distribués de manière régulière dans un champ, en conséquence l'échantillonnage doit s'effectuer en plusieurs parties du champ. Il peut être intéressant, à titre de comparaison de collecter séparément des échantillons des zones de bonne et de mauvaise croissances. Maintenir une procédure d'échantillonnage constante en termes de collecte et de couverture au cours d'une enquête faunistique ou d'une expérimentation doit permettre des comparaisons significatives entre champs, parcelles, traitements, etc.

Les schémas d'échantillonnage peuvent être aléatoires ou systématiques (Fig. 21). L'échantillonnage aléatoires ne prend pas en compte la nature agrégée de la distribution des nématodes et n'est seulement représentatif que pour des petites surfaces. L'échantillonnage systématique est une voie plus structurée dans la collecte des échantillons qui prend en compte le champ dans sa globalité et la distribution agrégée des nématodes.

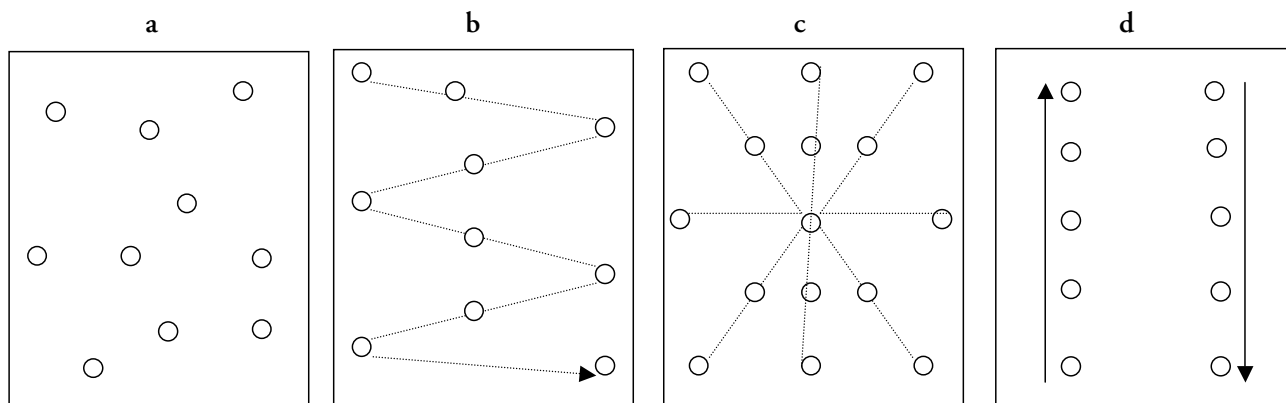


Figure 21. Schémas d'échantillonnage des nématodes. (a) Échantillonnage aléatoire; (b–d) Échantillonnage systématique.

Période d'échantillonnage

La période optimale d'échantillonnage varie selon les plantes cultivées et est fonction des stades de développement de la plante et des objectifs de l'échantillonnage (diagnostic ou prévisionnel). L'échantillonnage prévisionnel (pas dans l'objet de ce guide) est souvent réalisé tôt dans la saison, durant ou juste avant la plantation ou à la fin de la culture précédente afin de déterminer le nombre de nématodes présents (densité).

Beaucoup d'espèces de nématodes se multiplient abondamment pendant la période de croissance des plantes et diminuent durant la mauvaise saison (saison sèche); c'est plus facile à observer avec des cultures annuelles plutôt qu'avec des plantes pérennes ou des arbres. D'une manière idéale, les échantillons devraient être préférentiellement collectés au milieu de la période de croissance ou à la récolte en vue d'établir le diagnostic. Les plantes pérennes peuvent être échantillonnées pendant la saison pluvieuse ou la période de croissance végétative afin d'identifier le problème.

Collecte des échantillons de sol

D'une manière générale, il est recommandé d'éviter de collecter des échantillons de sol trop sec ou trop humide. Cependant, lorsque les cultures sont normalement cultivées en conditions très humide (riz inondé) ou très sèche (sisal), les échantillons de sol doivent être collectés dans ces conditions particulières.

Il est préférable de diviser les très grandes surfaces (supérieures à 1 hectare) en parcelles élémentaires d'1 hectare pour l'échantillonnage. Prendre ensuite de 10 à 50 sous-échantillons et les rassembler pour former un échantillon composite de 1 à 2 kg. Prélever le sous-échantillon au niveau de la zone racinaire à l'aide d'une truelle, d'une gouge, d'une pelle ou de tout autre instrument adaptée à la plante échantillonnée. Prendre soin d'ensacher, d'**étiqueter** et de refermer hermétiquement le sachet contenant l'échantillon (Fig. 22).



Prendre soin d'échantillonner entre les rangs.



Une fois que la gouge est pleine, la retirer délicatement du sol.



L'échantillon doit représenter une section diagonale de la surface du sol (0 cm) jusqu'à 20–30 cm en dessous.



Les échantillons peuvent être collectés avec une pelle à main ou tout autre outil si une gouge n'est pas disponible.



Placer la gouge au dessus d'un large plateau rigide (préférentiellement en plastique).



Avec un instrument adapté et rigide, récupérer **tout** le contenu de la gouge sur le plateau. **Prendre soin d'éliminer tout les résidus de sol adhérents à la gouge avant de prendre un autre échantillon.**



Placer les échantillons dans des sachets en plastique épais bien fermés avec un lien. Libeller clairement l'étiquette cartonnée avec un **crayon à papier** (pas un stylo à bille qui s'efface).



Ou, encore plus simple, marquer les informations à l'extérieur du sachet avec un épais marqueur indélébile permanent.

Figure 22. Collecte et ensachage des échantillons.

Collecte des échantillons de racines

Les racines doivent être collectées au même moment et au même emplacement que les échantillons de sol. En général les racines sont placées dans le même sachet que le sol, afin d'aider à préserver les racines.

En fonction de plantes, un prélèvement de 25 à 100 g de racines suffit, mais une quantité moindre peut être collectée lorsque les racines sont fines comme pour le riz, et une quantité plus importante lorsque les racines sont grosses ou charnues comme pour les bananiers ou les arbres. Quand les racines fines et grosses sont en mélange, comme pour le bananier, il est suggéré de les échantillonner séparément.

Il faut éviter de prélever des échantillons sur des plantes mortes ou en état de sénescence avancée, parce que les nématodes ont déjà souvent quitté ces plantes pour d'autres sources de nourriture. Lorsque les plantes sont de petite taille, l'ensemble du système racinaire peut être considéré comme le sous-échantillon. Il faut prélever la plante entière et son système racinaire à l'aide d'une pelle-bêche ou d'une truelle ou pelle à main, afin de soulever un bloc de sol contenant les racines sans les briser et déposer ce bloc sur le sol. Après avoir délicatement secoué et retiré la plus grande partie de la terre adhérente, on peut alors prélever les racines avec un couteau ou des ciseaux.

Collecte d'échantillons de parties aériennes

Feuille, tige, graine ou toute autre partie aérienne doivent être collectées si des symptômes sont observés ou si l'on suspecte la présence de nématodes. Encore une fois, il est important de sélectionner des plantes malades afin de faire une étude comparative avec des plantes saines.

Soins à porter aux échantillons

Utiliser de solides sachets en plastique et les **étiqueter** clairement et systématiquement. Des étiquettes en plastiques, écrites au marqueur indélébile permanent ou au crayon, peuvent être placées dans les sachets d'échantillons (Fig. 22) ou de manière alternative, le numéro d'échantillon et les informations peuvent être écrites directement à l'extérieur du sachet en plastique avec un marqueur indélébile permanent. Il est recommandé d'attacher les étiquettes en papier à l'extérieur des sachets avec un lien ou une ficelle. Si vous utilisez des étiquettes en papier, il est préférable d'écrire au crayon à papier plutôt qu'avec un stylo à bille ou à encre (qui s'effacera ou deviendra illisible avec l'humidité). Toujours se souvenir qu'une étiquette en papier se détériore très vite en condition humide.

Notez quand c'est possible:

- La plante et son cultivar
- La date de plantation
- Le nom de l'agriculteur
- Le lieu (et les coordonnées GPS quand c'est possible)
- Un numéro de référence (de parcelle ou de traitement) dans le cadre d'une expérimentation
- Le précédent cultural

Les nématodes sont **très fragiles et périssables**, et il est important de leur apporter les soins appropriés pour les conserver dans de bonnes conditions. Les échantillons **NE DOIVENT PAS** rester exposés au soleil directement ou dans un véhicule fermé au soleil. Ils ne doivent pas non plus attendre trop longtemps avant d'être traités au laboratoire.

Après échantillonnage, les échantillons devraient être placés dans une glacière (un conteneur thermorésistant; Fig. 23), ou emballés dans des boîtes en carton solide et placés au frais à l'ombre. S'il est impossible de procéder aux analyses immédiatement, les échantillons peuvent être conservés dans un réfrigérateur (approximativement 10°C) jusqu'à 2 semaines. Cependant, la survie des nématodes décroît avec le temps et les nématodes des régions chaudes peuvent souffrir du froid.



Figure 23. Glacière transportable pour la conservation des échantillons.

Extraction des nématodes

L'étape suivante consiste à extraire les nématodes des échantillons. Cette extraction doit être réalisée le plus vite possible après la collecte des échantillons pour éviter leur détérioration dans le temps.

Il existe quatre techniques de base qui sont expliquées dans ce guide:

- Extraction par la méthode de Baermann
- Méthode par broyage de racines ou de feuilles
- Méthode par tamisage
- Méthode par incubation.

Trois autres méthodes– l'élutriation, la méthode de Fenwick et la méthode par centrifugation-flottaison – nécessitent des équipements spécialisés et ne sont pas décrites dans ce guide. Les détails sur ces méthodes peuvent être retrouvés dans les publications listées en références et dans les lectures conseillées. Il est également possible dans certains cas d'examiner les nématodes directement à partir des tissus végétaux.

Choix de la méthode d'extraction

Le choix de la méthode d'extraction dépend des conditions techniques et matérielles disponibles, du type d'échantillon et des espèces de nématodes présents. Quelques méthodes d'extraction sont plus adaptées à certaines espèces de nématodes tandis que d'autres sont plus générales. Ce guide donne les détails des méthodes principales, qui comprend la méthode de Baermann, la plus utile dans les conditions les plus rudimentaires. Cette méthode donne une estimation fiable des nématodes présents dans le sol, les racines, les graines et les tissus végétaux tout en étant facilement répétable.

Le tableau 1 montre quelle méthode est mieux adaptée pour différents types de nématodes (sédentaires ou migrateurs) dans des échantillons de sol, de racines ou de feuilles.

Tableau 1. Choix de la méthode d'extraction en fonction des différents types de nématodes et d'échantillons.

	Echantillon de sol		Echantillon de racine/feuille	
	Nématodes sédentaires	Nématodes migrateurs	Nématodes sédentaires	Nématodes migrateurs
Baermann (p. 34)		×		×
Tamisage (p. 42)	×	×		
Broyage (p. 40)			×	×
Incubation (p. 48)			×	×

Si le nématode recherché est connu – tel que dans les parcelles d’une expérimentation – il est possible d’identifier précisément quel matériel doit être échantillonné et comment doivent être extraits les nématodes (sol, racine, tubercule, feuille, etc.). Si vous ne le savez pas, sol et racines doivent être analysés afin de rechercher les nématodes sédentaires.

Préparation des échantillons

Les sols secs doivent être bien mélangés avant la prise des sous-échantillons pour analyse. Brisez les mottes et éliminez les pierres, les racines et autres débris de végétaux. Passez le sol sec à travers un tamis à grosse maille d’approximativement 1–2 mm (Fig. 26, étape 1), récupérez le dans un conteneur adapté afin de le mélanger. Prélevez un sous échantillon à l’aide d’un bécet ou de tout autre conteneur de volume connu (Fig. 26, étape 2); un volume de 100 ml de sol est couramment utilisé. De chaque échantillon composite provenant du champ, deux sous échantillons de 100 ml devraient être analysés afin d’en prendre la moyenne.

Pour les sols très humides, comme les sols de rizières inondées, de petites parties ou agrégats de sol doivent être prélevés dans différentes zones de l’échantillon composite ou à la base des racines. Le volume est alors mesuré par le déplacement de l’eau afin d’obtenir des échantillons de même taille (Fig. 29, étapes 1 et 2). Remplir le bécet d’eau à un volume précis (ex. 200 ml) et compléter le volume nécessaire avec l’échantillon de sol, par exemple passer de 200 à 300 ml mesure 100 ml de sol. Pratiquez alors la méthode d’extraction des nématodes par tamisage.

Les racines doivent être séparées du sol adhérent en les secouant légèrement, ou par un passage sous l’eau du robinet ou après trempage. Séchez les racines avec un papier absorbant puis découpez les et procédez selon la méthode d’extraction choisie.

Étiquetage

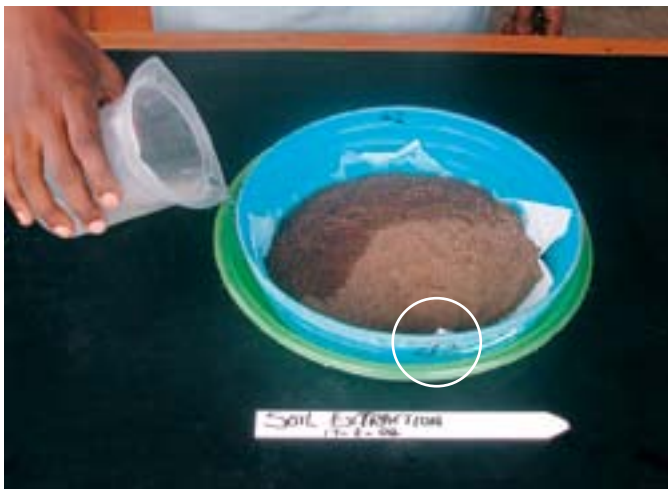
Il est important d’être **clair, précis et constant** lors de l’étiquetage des échantillons (Fig. 24). Les différents conteneurs doivent être marqués à l’aide de marqueurs indélébiles permanents. Utilisez des étiquettes qui puissent suivre l’échantillon tout au long des étapes de l’extraction. **Assurez vous que tous les échantillons soient correctement étiquetés à tout moment.**



Étiquetage des échantillons avec étiquettes de papier et crayon.



Étiquetage des échantillons avec un marqueur indélébile permanent.



Étiquetage d'une extraction type Baermann avec une étiquette plastique de suivi et une numérotation permanente sur le tamis.



Étiquetage d'un récipient avec une numérotation permanente (marqueur ou crayon gras).



Crayon gras.

Figure 24. Matériels et exemples d'étiquetage.

Extraction par la méthode de Baermann

Cette méthode (ou ses adaptations) est souvent appelée méthode modifiée de Baermann, méthode des assiettes, ou méthode des plateaux de Whitehead.

Avantages:

- Un équipement spécialisé n'est pas nécessaire
- Une méthode facile à adapter en fonction des circonstances et des matériels
- Une méthode qui extrait un grand nombre de nématodes mobiles
- Une technique simple.

Inconvénients:

- Les nématodes de grande taille, lents et peu mobiles ne sont pas aussi bien extraits
- Les extractions sont parfois sales (particulièrement lorsque la teneur en argile du sol est élevée) et par conséquent difficiles à compter
- La proportion de nématodes extraits peut varier avec la température, occasionnant des variations supplémentaires entre échantillons extraits à des périodes différentes
- L'extraction maximale prend 3–4 jours.

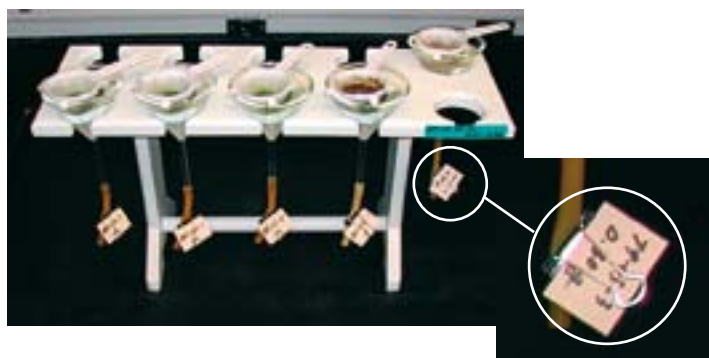
Équipement

- Un tamis (ou passoire de ménage) à maille grossière (Fig. 25)
- Un plateau/assiette/soucoupe de taille légèrement supérieure au tamis
- Du tissu de papier
- Des bécards ou autres conteneurs pour préparer les échantillons
- Une pissette d'eau
- Un marqueur indélébile
- Des couteaux, des ciseaux
- Une balance
- Un espace de travail large et dégagé.

La plupart de ces matériels peuvent être achetés directement ou fabriqués facilement à partir de matériels déjà existants (Fig. 25). Les entonnoirs seront supportés par une étagère ou un portoir avec à leur base un tube en caoutchouc ou plastique fermé par une pince (Fig. 25, haut) ou une toile moustiquaire attachée à une section de tuyau de plomberie en PVC de ~10 cm à ~15 cm de diamètre peut être utilisée pour fabriquer les tamis (Fig. 25, milieu). Il est **très important** que la base du tamis soit légèrement surélevée (~2 mm) par rapport au fond de l'assiette/plateau/soucoupe utilisée, grâce par exemple à trois ou quatre petits 'pieds' collés à la base des tamis (Fig. 25, bas). Si cela n'est pas fait, les nématodes ne peuvent pas migrer facilement dans l'eau.

Méthode

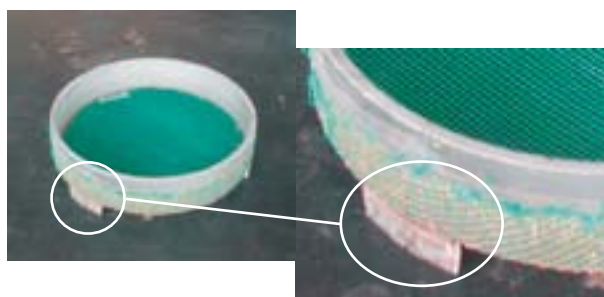
Il est très important de s'assurer d'un bon et permanent **étiquetage** de tous les récipients utilisés pour chaque échantillon car il est très facile de faire des erreurs. Les extractions de sol et de racines doivent être étiquetées séparément.



Exemple de la méthode d'extraction sur entonnoirs avec les tubes en caoutchouc fermés à la pince et étiquetés à la base.



Exemples de différents types de tamis et de soucoupes. Le modèle à gauche est constitué d'un tamis fait à main à partir de toile moustiquaire attachée à une section de tuyau d'évacuation en PVC. Il est très important de surélever légèrement le tamis.



Tamis fait main à partir de toile moustiquaire et de tuyau d'évacuation en PVC, surélevé sur cales afin de faciliter la migration des nématodes dans l'eau.

Figure 25. Les différentes façons d'extraire les nématodes d'un échantillon.

Pour les échantillons de sol:

Enlevez les racines de l'échantillon et placez les dans un plateau différent. **Étiquetez.**

A l'aide d'un tamis à grosse maille, enlevez les cailloux et débris divers et brisez les mottes de terre (Fig. 26, étape 1).

Dans un récipient en plastique (bassine, seau) mélangez l'échantillon de sol.

Prélevez un volume de sol (e.g. 100 ml) (Fig. 26, étape 2).

Placez un filtre en papier, (nappe en papier, mouchoir en papier) sur le tamis placé sur le plateau/soucoupe en plastique en s'assurant que la base du tamis est entièrement recouverte par le filtre (Fig. 26, étape 3). **Étiquetez.**

Placez le volume de sol sur le papier-filtre et le tamis. Il est important que le sol ne déborde pas le papier filtre – ces débordements entraînent le salissement des solutions d'extraction (Fig. 26, étape 4).

Rajoutez de l'eau aux plateaux/soucoupes d'extraction (Fig. 26, étape 5). Prendre soin de verser délicatement l'eau dans les soucoupes et non sur le papier-filtre ou le sol (entre le bord de la soucoupe et le tamis). Ajoutez la quantité d'eau nécessaire pour humidifier mais non couvrir l'échantillon de sol ou de tissus végétaux et pour éviter le dessèchement. Les échantillons de sol nécessitent plus d'eau que les échantillons de racines. Si nécessaire vous pouvez toujours rajouter de l'eau plus tard.

Laissez (de préférence à l'obscurité) au calme pendant une période définie (48 heures si possible) (Fig. 26, étape 6) en rajoutant de l'eau si nécessaire. Les nématodes du sol ou des tissus végétaux traverseront le filtre de papier pour se retrouver dans l'eau au fond du plateau/soucoupe.

Après la période d'extraction, récupérez l'excès d'eau provenant du tamis et du sol dans la solution d'extraction (Fig. 26, étape 7).

Retirez le tamis et jetez le sol et les tissus végétaux.

Versez l'eau de la soucoupe dans un bécher **étiqueté** (ou une tasse), en utilisant une pissette pour rinser la soucoupe. (Fig. 26, étapes 8 et 9). Laissez les solutions décanter (Fig. 26, étape 10).

Afin de compter les nématodes dans la solution d'extraction, réduisez le volume en versant délicatement ou en siphonnant l'excès d'eau (attention de ne pas perdre nématodes et culots de sédimentation), ou en passant la solution d'extraction à travers un tamis de très petites mailles (e.g. 20–30 μm) (Fig. 26, étape 11). Récupérez les nématodes de ce tamis à l'aide d'une pissette dans un bécher (ou tube) avant comptage ou afin de les conserver pour expédition ou comptage ultérieur (Fig. 26, étapes 12 et 13).



1. Tamisage grossier de l'échantillon pour enlever les plus gros débris et les mottes de terre.



2. Mesure standardisée d'un certain volume d'échantillon, e.g. 100 ml.



3. Etalement du filtre de cellulose sur le tamis ou panier.

Figure 26 – continue sur la page opposée



4. Placer le sol sur le filtre de cellulose en s'assurant que le sol ne déborde pas en dehors du filtre.



5. Verser l'eau avec précaution dans la soucoupe, uniquement dans l'espace compris entre le tamis et la soucoupe.



6. Conserver les échantillons en extraction pendant 2 jours en vérifiant que les échantillons soient toujours humides et ne séchent pas avec l'évaporation.



7. Egoutter le tamis avec précaution, le retirer de la soucoupe et jeter sol et filtre.



8. Verser la suspension contenant les nématodes dans un béccher/tasse étiqueté.



9. Rincer abondamment la soucoupe dans le béccher.



10. Laisser les échantillons reposer quelques heures ou une nuit.



11. Réduire le volume de la suspension par décantation ou en passant cette suspension sur un tamis à petites mailles (i.e. 28 μm) afin de la concentrer dans un béccher avant l'observation des nématodes.



12. L'échantillon peut être conservé dans un tube pour une observation ultérieure.



13. Si l'échantillon doit être expédié pour analyse, les nématodes, après décantation, doivent être transférés depuis le fond du large tube vers un tube plus petit à l'aide d'une pipette.

Figure 26. Méthode d'extraction par Baermann pour les échantillons de sol.

Pour les échantillons de racines:

Les racines peuvent parfois être divisées en différentes catégories, telles que les grosses racines ligneuses et les fines racines. Il peut être utile d'extraire séparément les nématodes de chacune de ces catégories, car si la structure tissulaire des racines varie, les nématodes peuvent aussi varier en termes d'espèces et de quantité. L'efficacité de l'extraction peut également varier, avec une extraction plus lente à partir de grosses racines.

Secouez légèrement les racines ou tubercules afin de retirer la terre ou rincez-les sous un robinet d'eau puis séchez-les légèrement avec un papier absorbant. Pelez les tubercules avec précaution à l'aide d'un couteau ou d'un épluche légume.

Découpez les racines (ou la peau du tubercule) de manière fine avec un couteau ou des ciseaux et placez les dans une soucoupe **étiquetée** (Fig. 27, étape 1). Mélangez les racines ou tissus végétaux avec soins.

Retirez et pesez un sous-échantillon (e.g. 5 g) de racines découpées à l'aide d'une balance (Fig. 27, étape 2).

Placez le sous-échantillon pesé sur le papier-filtre à l'intérieur du tamis **étiqueté** (Fig. 27, étape 3).

Suivre le reste de la procédure comme pour l'extraction de sol au-dessus (Fig. 26, étapes 5–13)

Ou bien:

Utilisez la méthode de broyage des racines pour les racines les plus dures (Fig. 28, pages 40–41), puis suivre le reste de la procédure de Baermann (Fig. 26, étapes 5–13)

Si vous comptez expédier les nématodes pour identification ou comptage, il est nécessaire de les fixer suivant le protocole en pages 57–60.



1. Coupez les racines et/ou les pelures de tubercules et placez-les dans un récipient étiqueté.



2. Pesez un sous échantillon (aliquote).



3. Placez ce sous échantillon sur le tamis pour extraction.

Puis suivez les étapes 5–13 de la figure 26.

Figure 27. Méthode d'extraction par Baermann pour les échantillons de racines.

Méthode par broyage des racines

Cette méthode est également connue comme méthode d'extraction par broyage et incubation.

Avantage:

- Un équipement spécialisé n'est pas nécessaire.

Inconvénient:

- La durée du broyage est critique, – elle doit être suffisante pour permettre aux nématodes de quitter facilement les tissus végétaux sans que ces nématodes ne soient trop endommagés.

Équipement

- Béchers
- Couteaux/ciseaux
- Pissette d'eau
- Marqueur indélébile permanent
- Balance
- Mixeur de ménage

Méthode

Coupez les racines ou la peau des tubercules en petits morceaux (Fig. 28, étapes 1 et 2). Mélangez les tissus végétaux avec soins.

Pesez un sous-échantillon (Fig. 28, étape 3). Placez le dans le bol du mixeur avec juste assez d'eau pour couvrir les lames.

Mixez les fines racines et les pelures de tubercules pendant deux périodes de 5 secondes et les racines plus grosses pendant deux périodes de 10 secondes, avec une brève période de décantation entre les deux (Fig. 28, étape 4).

Versez la suspension de racines broyées et d'eau dans un bécher, rincez le bécher de tout débris végétaux à l'aide d'une pissette d'eau (Fig. 28, étape 5).

Versez avec précaution la suspension de racines broyées et d'eau sur le papier-filtre (Fig. 28, étape 6) et suivez la méthode d'extraction de Baermann (Fig. 26, étape 5 et suivantes).

Les racines peuvent être colorées avant broyage pour améliorer la visibilité des nématodes après extraction (voir page 60).



1. Après lavage des tubercules, pelez-les finement avec un couteau ou un épluche-légume.



2. Coupez grossièrement les pelures ou les racines à l'aide d'une paire de ciseaux ou d'un couteau.



3. Pesez un sous échantillon (aliquote).



4. Broyez les racines/pelures à l'aide d'un mixer.



5. Versez la suspension dans un bécher étiqueté, rincez le bol du mixer.



6. Versez cette suspension délicatement sur le filtre de cellulose placé sur le tamis comme pour la méthode d'extraction de Baermann.

Puis suivez les étapes 5–13 de la figure 26.

Figure 28. Méthode par broyage de racines.

Méthode par tamisage

Avantages:

- Bonne extraction de tous les types de nématodes
- Meilleure extraction des nématodes de grande taille, lents et peu mobiles
- Utilisable pour l'extraction des nématodes sur sols humides
- Utilisable pour l'extraction des kystes.

Inconvénients:

- Les nématodes peuvent sédimenter avec des particules de sol si le sol est mal dispersé
- Les nématodes sont facilement endommagés.
- Nécessite un équipement légèrement plus spécialisé.

Équipement

Pour les nématodes libres du sol:

- Béchers et seaux
- Marqueur indélébile permanent
- Tamis métalliques de 20 cm de diamètre à maille de : 2 mm, 90 μm (ou 53 μm) et 38 μm
- Équipement d'extraction de Baermann

Pour l'extraction des kystes (e.g. *Heterodera*):

En plus des matériels cités plus haut

- Tamis métalliques de 20 cm de diamètre à maille de: 2 mm, 250 μm , 150 μm
- Entonnoirs
- Papier-filtre (type Kleenex®)

Si l'on ne sait rien de la présence de nématodes à kystes, tout le matériel doit être utilisé.

Méthode

Pour les nématodes mobiles du sol:

Remplir un seau avec 6 litres d'eau. Tracer la ligne d'eau à l'intérieur du seau avec un marqueur afin d'avoir un même volume d'eau entre échantillons (Fig. 29, étape 3).

Placer un sous échantillon de sol sec tamisé et mélangé, ou de sol humide de volume connu mesuré par déplacement d'eau dans un bécher (Fig. 29, étapes 1 et 2) dans le seau (Fig. 29, étape 4).

Mélanger énergiquement à la main (Fig. 29, étape 5). Laisser sédimenter pour 30 secondes les particules les plus grosses (Fig. 29, étape 6).

Verser délicatement les 3/4 de la partie supérieure de l'eau du seau à travers la colonne de tamis: utilisez un tamis de 2 mm pour écarter les plus gros débris, ou simplement les deux tamis de 90 μm et 38 μm pour collecter les nématodes s'il n'y a pas de gros débris (Fig. 29, étape 7). Ceci nécessite deux personnes. S'assurer que l'eau ne déborde pas les tamis ni qu'elle ne s'échappe entre les tamis lorsque vous versez l'eau du seau, ce qui occasionnerait une perte importante de nématodes. Verser lentement et frapper légèrement les bords et le dessous des tamis si nécessaire pour faciliter le passage de l'eau à travers les tamis.

Remplir de nouveau le seau jusqu'à la ligne (Fig. 29, étape 8) et répéter la procédure une à deux fois (Fig. 29, étapes 5–7).

Rinser le contenu des tamis de 90 et 38 μm à l'intérieur d'un bécher **étiqueté** en vous assurant que les tamis soient correctement nettoyés (Fig. 29, étapes 9–11) par un léger lavage du dessous.

Laisser les bécjers reposer pendant 2–3 heures afin de permettre aux nématodes de sédimenter au fond. Si nécessaire verser l'excès d'eau délicatement.



1. Mesurez un volume précis d'eau dans un bécher, e.g. 200 ml.



2. Mesurez le volume des agrégats de sol provenant de chaque partie de l'échantillon par le volume d'eau déplacé.



3. Remplir du volume d'eau défini par la marque à l'intérieur du seau.



4. Versez le volume d'échantillon de sol préalablement mesuré dans le seau.



5. Mélangez vigoureusement.



6. Laissez le sol décanter pendant 30 secondes.

7. Versez les $\frac{3}{4}$ de la suspension à travers la colonne de tamis (de 90 et 38 μm) avec le tamis de 90 μm au dessus.



8. Remplir de nouveau le seau et répétez les étapes 5, 6 et 7.



9. Concentrez les suspensions sur le tamis en rinçant **délicatement** le tamis avec un jet d'eau, principalement sur l'arrière.



10. S'assurez que les tamis soient proprement lavés par l'arrière et que tous les débris et les nématodes soient bien concentrés sur la partie basse de la surface du tamis.



11. Rincez délicatement les débris et les nématodes des tamis de 90 et 38 μm à l'intérieur d'un bécher étiqueté.

Figure 29. Extraction de nématodes du sol par la méthode de tamisage.

Les suspensions obtenues peuvent alors suivre la procédure de Baermann (Fig. 26, étapes 3–13, page 37).

Pour la collecte des kystes:

Laisser sécher l'échantillon à l'air avant extraction (Fig. 30, étape 1).

Remplir un seau avec 6 litres d'eau. Tracer la ligne d'eau à l'intérieur du seau avec un marqueur afin d'avoir un même volume d'eau entre échantillons (Fig. 30, étape 2)

Placer le sous-échantillon de sol mesuré dans le seau (Fig. 30, étape 3).

Mélanger énergiquement le contenu du seau à la main, puis laisser sédimenter pour 60 secondes. Les kystes devraient flotter à la surface (Fig. 30, étapes 4 et 5).

Verser lentement la 1/2 supérieure de l'eau du seau à travers la colonne de tamis: 2 mm pour écarter les débris, 250 μ m et 150 μ m pour collecter les kystes (Fig. 30, étape 6).

Rinser le contenu des tamis de 250 et 150 μ m à l'intérieur d'un béccher étiqueté

(Fig. 30, étapes 7 et 8).

Remplir le seau jusqu'à la ligne et répéter la procédure au moins une fois (étapes 4–8), en rassemblant le contenu des tamis dans un même béccher. Répéter la procédure aussi souvent que nécessaire jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de kystes dans le seau.

Préparer et **étiqueter** un morceau de papier-filtre (filtre à lait, à café, serviette en papier etc.) pour un entonnoir (i.e. dans un objet conique) sur un portoir ou un béccher (Fig. 30, étape 10).

Verser le contenu du béccher à travers le papier filtre sur l'entonnoir (Fig. 30, étapes 11 et 12). Laisser l'eau s'écouler.

Enlever délicatement le papier-filtre de l'entonnoir et placez-le sur un plateau afin de procéder à une observation directe sous le microscope (Fig. 30, étape 13). Ouvrir légèrement le papier-filtre, disperser le contenu sur la surface du papier avant l'observation au microscope.

Ou bien:

Laisser le papier sécher sur l'entonnoir, avant de le retirer et de le conserver, pour une observation ou un comptage ultérieur. (Fig. 30, étape 14).



1. Séchez l'échantillon de sol à l'air libre dans une soucoupe.



2. Remplir du volume d'eau défini par la marque à l'intérieur du seau



3. Versez le volume d'échantillon de sol sec préalablement mesuré dans le seau.



4. Mélangez vigoureusement.



5. Laissez le sol décanter pendant 60 secondes.



6. Versez lentement la moitié de la suspension à travers la colonne de tamis de 2 mm, 250 et 150 µm.



7. Rincez et concentrez les contenus des 2 derniers tamis, avec un rinçage arrière si nécessaire.



Figure 30 – continue sur page suivante



8. A l'aide d'une pissette, récupérez les refus des tamis de 250 and 150 μm à l'intérieur d'un bécher.



9. Remplir de nouveau le seau jusqu'à la ligne d'eau et répétez les étapes 4–8.



10. Pliez en quatre un morceau de papier filtre ou de tissu de cellulose, puis ouvrez le en forme de cône et placez le sur l'entonnoir dans un bécher ou sur un portoir.



11. Versez la solution d'extraction sur le papier-filtre.



12. Laisser l'eau s'écouler à travers le papier-filtre.



13. Placer le filtre de papier avec les kystes et les débris organiques dans une soucoupe avec un peu d'eau au fond avant une observation immédiate de la présence des kystes.

ou bien



14. Laisser les filtres et extraits sécher sur l'entonnoir pour une observation ultérieure.

Figure 30. Extraction des nématodes à kystes par tamisage du sol.

Les kystes extraits d'échantillons séchés à l'air flotteront à la surface, mais si les conditions ne permettent pas un séchage de l'échantillon, les kystes peuvent être extraits des échantillons de sol frais. Beaucoup de kystes devraient flotter encore, mais pas les plus lourds ni les plus jeunes kystes, et une réduction du temps de décantation sera peut-être nécessaire avant le passage sur tamis.

Les kystes peuvent alors être collectés sur le papier filtre directement sous la loupe binoculaire à l'aide d'un pinceau fin. La détermination de la quantité de kystes dans un sol est utile, mais il peut être aussi nécessaire de quantifier le nombre d'oeufs présents, en écrasant les kystes pour libérer les oeufs. (voir les références et lectures complémentaires).

Méthode par incubation

Cette méthode est aussi appelée méthode d'incubation des racines en sachets plastiques ou bocaux.

Avantage:

- Ne nécessite pas d'équipement spécialisé.

Inconvénients:

- Faible rendement de l'extraction
- Les nématodes sont souvent en mauvais état en raison du manque d'oxygène.

Équipement

Sachets en plastiques, bocaux, flacons ou vaisselle similaire.

Méthode

Couper les tissus végétaux finement et mélanger les (Fig. 31, étape 1).

Peser un sous-échantillon.

Placer le dans un sachet plastique fermé et **étiqueté** ou dans tout autre contenant fermé (non métallique) avec une petite quantité d'eau (10–20 ml) (Fig. 31, étape 2).

Les nématodes éclosent des oeufs ou migrent en dehors des tissus végétaux dans l'eau sur une période de 2 à 7 jours.

Retirer l'eau régulièrement (e.g. chaque jour) du conteneur, ce qui contribue à la survie des nématodes, et rassembler ces suspensions dans un même béccher étiqueté pour chacun des échantillons (Fig. 31, étape 3).

Remplacer l'eau après chaque prélèvement, couvrir et répéter la procédure sur une période de 2–7 jours (Fig. 31, étape 4).

Réduire ou concentrer la suspension d'extraction pour chaque échantillon, observer directement ou conserver pour un usage ultérieur en suivant les étapes 11–13 de la figure 26.



1. Couper les racines et peser un sous échantillon.



2. Placer l'échantillon de racines pesées dans un bocal, une fiole conique ou un sachet en plastique pour une période de 2–7 jours. Prendre soin de ne pas fermer hermétiquement le récipient.



3. Chaque jour, agitez le récipient et versez délicatement la suspension dans un bécher, en laissant le matériel végétal dans le récipient.



4. Remplacez le volume récupéré par de l'eau fraîche.



5. Concentrez le volume de la suspension après décantation ou en passant cette suspension sur un tamis à petites mailles (i.e. 28 μm) dans un bécher avant l'observation des nématodes. Puis suivez la figure 26, étapes 12 et 13.

Figure 31. Méthode d'extraction par incubation.

Observation directe des tissus végétaux

Les tissus végétaux peuvent être observés directement pour s'assurer de la présence de nématodes sous une loupe binoculaire, par exemple avant d'envoyer ce matériel pour expertise. Les femelles adultes sédentaires, qui sont incluses dans les racines (voir figures 10 et 11) peuvent également être extraites des tissus végétaux et observées pour identification. Quand les échantillons doivent être envoyés ailleurs pour identification spécifique, le matériel végétal (avec des galles) doit être envoyé au taxonomiste, fixé dans une solution de lactoglycérol. L'observation directe est également utile pour la mise en évidence et l'observation des nématodes des tissus foliaires et des semences (voir Fig. 8), et pour la collecte individuellement de certaines espèces de nématodes afin de préparer une collection de lames, etc.

Pour l'observation directe à partir de matériel végétal:

Laver les tissus végétaux sous un courant modéré d'eau ou rincer les racines dans un récipient avec de l'eau pendant quelques minutes pour éliminer la terre et les débris adhérents, en prenant soin de ne pas déplacer les nématodes ectoparasites se nourrissant ou fixés à la surface des racines.

Coupez les tissus végétaux en pièces de ~2 cm avec une paire de ciseaux ou un couteau.

Placer les tissus végétaux dans le fond d'une boîte de Pétri avec un peu d'eau (Fig. 32).

Pour une observation immédiate, déchirez les tissus végétaux à l'aide d'aiguilles montées et de pinces pour libérer les nématodes des tissus. Cette méthode convient aux nématodes endoparasites sédentaires (Fig. 32).

Si les tissus végétaux contiennent des nématodes endoparasites migrateurs, il peut être utile de laisser reposer la boîte de Pétri une nuit ou plus. Les nématodes migreront en dehors des tissus végétaux dans l'eau.

Les nématodes peuvent alors être récupérés pour identification ou fixés (et colorés) et/ou expédiés pour identification ultérieure.



Déchirement des gaines foliaires.



Enlèvement de l'enveloppe extérieure des grains pour libérer les nématodes.

Figure 32. Examen direct de matériel végétal dans l'eau.

Manipulation, fixation et coloration des nématodes

Différentes techniques sont adaptées à la manipulation et à l'identification des nématodes. Elles sont décrites dans cette section.

Manipulation des nématodes

En raison de leur taille microscopique, les nématodes sont difficiles à manipuler, particulièrement par les débutants. Il est presque toujours nécessaire de les manipuler dans un milieu fluide, de l'eau la plupart du temps. L'utilisation d'une loupe binoculaire au lieu d'un microscope est également conseillée. Les nématodes doivent être prélevés ou 'pêchés' individuellement lorsqu'il s'agit d'établir des cultures pures ou de préparer des lames pour identification. En cultures pures, des ensembles d'individus peuvent être transférés à l'aide d'une pipette en verre (voir Fig. 35). En rétrécissant suffisamment l'ouverture de la pipette de verre à la flamme à l'aide d'un bec Bunsen, il est même possible de transférer les nématodes individuellement.

La pêche aux nématodes

Pour une identification précise des nématodes, il est souvent nécessaire de 'pêcher' individuellement les nématodes à partir de la suspension d'extraction et de les disposer sur une lame de verre (Fig. 33). C'est difficile mais cela devient plus facile avec un peu de pratique. Les nématodes sont translucides et parfois difficiles à observer, une loupe binoculaire avec un éclairage par dessous (diascopie) est nécessaire. (Fig. 34). Si l'on pêche les nématodes à partir des tissus ou de la surface racinaire, un éclairage complémentaire par dessus (épiscopie) peut être utile.



Figure 33. Pêche aux nématodes à l'aide d'une canne en bambou sous une loupe binoculaire.

Différents instruments peuvent être utilisés pour la pêche aux nématodes, par exemple une aiguille d'entomologiste, une écharde de bambou, un cil, une soie de porc ou un poil de pinceau collé sur une aiguille montée, un cure-dent ou une plume (Fig. 35).

Verser à l'aide d'une pipette un peu de la suspension de nématodes (ou des tissus végétaux infestés) dans une boîte de Pétri, une plaque de comptage ou de verre. Garder une suspension de faible épaisseur.

Placer sous la loupe binoculaire au plus faible grossissement.

Bouger légèrement la suspension de manière à rassembler les nématodes au centre de la plaque de comptage.

Choisir un nématode et le remonter doucement à la surface avec l'instrument de pêche.

Ajuster la mise au point de la loupe de manière à garder le nématode en vue tandis que vous vous apprêtez à le soulever de la suspension aqueuse.

En tenant l'instrument en dessous du nématode, vous le soulevez hors de l'eau d'une légère 'pichenette'. Le nématode habituellement reste 'accroché' à l'extrémité de l'instrument.

Vous déposez la pointe de l'instrument délicatement dans une goutte d'eau sur une lame, une salière en verre ou tout autre récipient adapté avec de l'eau.

Pour observer les nématodes sur une lame de microscope, il est préférable de les 'détendre' brièvement à la chaleur sur une plaque chauffante (pas trop chaud).

Placer des cales en fibres de verre sur les bords de la goutte avant de déposer une lamelle.

Regarder à travers le microscope.



Utilisation d'une loupe binoculaire avec un éclairage par le fond (diascopie).



Utilisation d'un microscope avec un éclairage par le fond (diascopie).

Figure 34. Matériels optiques utilisés pour la manipulation des nématodes.



Figure 35. Exemples d'instruments de pêche aux nématodes: une canne en bambou; une pipette en verre effilée à la chaleur; une aiguille montée avec un cil collé.

Envoi des nématodes pour identification

Si, après échantillonnage et extraction, les nématodes peuvent être identifiés immédiatement au niveau du genre et dénombrés, cela donne une indication rapide sur les groupes de nématodes présents et les potentialités de dommages aux cultures. Cependant, si cette expertise n'est pas possible, ou si les nématodes nécessitent une identification au niveau de l'espèce, les échantillons de nématodes doivent être envoyés pour identification à un spécialiste en taxonomie.

Avant l'envoi, les nématodes doivent être tués (voir section suivante) et fixés, particulièrement s'ils doivent sortir du pays d'origine. Les nématodes peuvent être envoyés vivants s'il y a un accord préalable avec le laboratoire de destination ou s'ils sont expédiés à l'intérieur d'un même pays. Parfois, sol et/ou tissus végétaux peuvent également être envoyés, mais il y a lieu de respecter les procédures de quarantaines des pays destinataires.

Les nématodes doivent être envoyés dans de petits tubes (Fig. 36) et emballés avec précaution dans des conteneurs bien isolés pour le transport jusqu'au laboratoire. Les tubes doivent être **lisiblement étiquetés** avec un nombre ou un code. Ces nombres ou ces codes doivent être enregistrés sur des feuilles séparées (une pour accompagner les échantillons et l'autre classée) avec tous les détails concernant l'échantillon à conserver jusqu'au retour de l'identification.



Exemples de tubes et flacons pour la conservation ou l'expédition des nématodes.



Petits tubes utilisables pour l'expédition des échantillons de nématodes.



Utilisation d'une salière en verre pour la fixation des nématodes par pipetage de quelques gouttes d'une solution de formaldéhyde.



Transfert des nématodes dans un microtube pour conservation ou expédition.

Figure 36. Conservation des nématodes avant expédition.

Services d'identification des nématodes

De nombreux taxonomistes dans différents laboratoires à travers le monde sont capables d'identifier avec précision les nématodes. Cependant très peu d'entre eux offrent un service d'identification en routine, particulièrement au niveau de l'espèce. Les centres qui offrent ce service sont:

Plant Disease and Diagnostic Services
CABI Bioscience UK
Bakeham Lane
Egham
Surrey TW20 9TY, UK
Tel: +44 (0)1784 470111

Biosystematics
ARC-PPRI
P/Bag X134
Pretoria 0001, Republic of South Africa
Tel: +27 (0)12 356 9830

Nematology
Department of Plant Protection
Faculty of Agriculture
University of Jordan
Amman 11942, Jordan
Tel: +962 (0)6 535 5000–3004

Central Science Laboratory
Sand Hutton
York
YO4 1LZ, UK
Tel: +44 (0)1904 462000

Laboratório de Nematologia
(*Meloidogyne* spp., *Bursaphelenchus xylophilus*)
IMAR-CMA
Departamento de Zoologia
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Universidade de Coimbra
3004-517 Coimbra, Portugal
Tel: +351 239855760

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
(*Meloidogyne* spp.)
Parque Estação Biológica - PqEB
Av. W5 Norte
Caixa Postal 02372 CEP 70770-900,
Brasília - DF, Brasil
Tel: +55 (61) 3403660/34484930

Laboratório de Nematologia da ESALQ
Setor de Zoologia
Av. Pádua Dias, 11
Caixa Postal 9
13418-900 Piracicaba - SP, Brasil
Tel: +55 (19) 34294338/34294269

Avant d'envoyer des échantillons pour identification, il est indispensable de prendre contact avec ces centres et de voir avec eux dans quelle mesure ils sont disposés à traiter vos échantillons et quelle est la meilleure façon de les fixer et de les transporter.

Sur demande, des conseils généraux et pratiques peuvent être prodigués par les différents laboratoires de nématologie à travers le monde. Des informations peuvent également être recherchées auprès des sociétés de nématologie, listées en fin d'ouvrage.

Comment tuer les nématodes

Il est important de tuer les nématodes rapidement, car chaque espèce possède une forme cadavérique (habitus) particulière qui aide à l'identification quand les nématodes sont tués correctement. Une chaleur modérée (55–65°C) est la meilleure façon de tuer les nématodes sans les vider de leur contenu. Si la température est trop élevée, l'intérieur du corps est cuit et détruit et rend l'identification difficile. Les nématodes peuvent être soit tués et fixés successivement ou tués et fixés en une procédure unique.

Une méthode simple et efficace pour tuer les nématodes consiste à ajouter un volume égal d'eau bouillante à la suspension de nématodes. Si la totalité du contenu doit être expédiée, il peut être intéressant de réduire le volume de façon à ne remplir que la moitié du tube. Il peut être également plus facile de tuer et de fixer les nématodes dans un tube plus grand avant d'en réduire le volume pour un tube plus petit (Fig. 36), ou de prélever les nématodes au fond du tube (Fig. 26, étape 13) avec une pipette afin de les transférer dans les tubes pour le transport.

Les nématodes peuvent également être tués en plongeant le tube avec la suspension de nématodes dans une eau proche de l'ébullition pour 1 à 2 minutes, mais cela peut prendre du temps pour un grand nombre d'échantillons. Cela peut être aussi compliqué à mettre en oeuvre, notamment pour s'assurer que le tube d'échantillon ne se renverse pas et que les nématodes ne soient pas perdus.

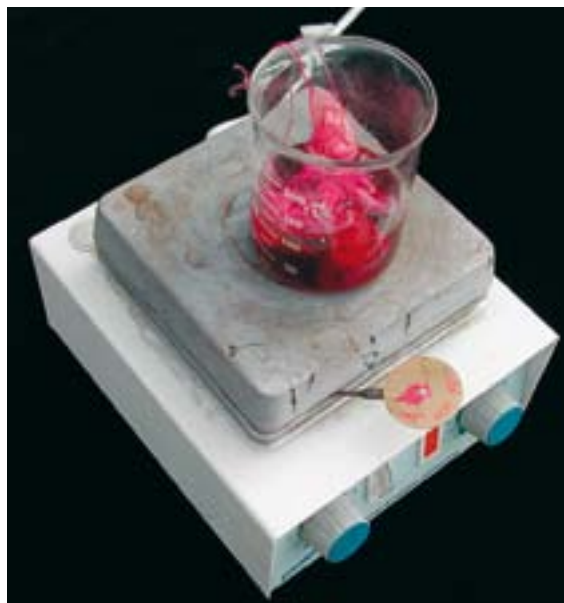
Fixation des nématodes

La plus simple méthode pour la fixation des nématodes est l'ajout de quelques gouttes de formaldéhyde dans des échantillons de nématodes fraîchement tués à la chaleur. Deux à trois gouttes dans un tube de 7ml de suspension de nématodes sont suffisantes (Fig. 37); des échantillons plus importants en nécessiteront plus. C'est une méthode rapide et facile pour préserver temporairement de la détérioration des échantillons durant le transport et la conservation avant identification, cependant cette méthode ne permet pas une conservation de bonne qualité sur le long terme, avec des difficultés d'identification, particulièrement si celle-ci n'est pas immédiate.

Prendre soin de suivre toutes les consignes de sécurité avec le formaldéhyde qui est un produit dangereux pour la santé.



Pipetage de la solution de formaldéhyde dans une suspension de nématodes dans un tube de 7 ml afin de fixer l'échantillon.



Coloration des tissus végétaux dans une solution de lactoglycérol-fuchsine acide sur une plaque chauffante.

Figure 37. Fixation et coloration des nématodes.

Tuer et fixer à la fois

Chauffer la solution de fixation jusqu'à ébullition dans un tube à essai ou dans un bécher immergé dans de l'eau bouillante.

Verser un volume égal de la solution de fixation à la suspension de nématodes (i.e. 2 ml solution de fixation pour 2 ml de suspension = 4 ml).

Ou:

Rassembler les nématodes dans une salière en verre dans une goutte d'eau et ajouter 2–3 ml de solution de fixation avec une pipette

Les solutions de fixation les plus utilisées sont:

TAF

Triethanolamine	2 ml
Formaline (formaldéhyde à 40%)	7 ml
Eau distillée	91 ml

La solution de fixation reste stable pour une très longue période et les nématodes gardent une apparence proche de leur vivant car ils ne se dessèchent pas.

FA 4:1

Formaline (formaldéhyde à 40%)	10 ml
Acide Acétique glacial (acide propionique)	1 ml
Eau distillée	89 ml

Dans le FA 4:1 les nématodes conservent leur structure interne bien qu'ils puissent se décolorer avec le temps.

Formaline Glycerol

Formaline (formaldéhyde à 40%)	10 ml
Glycérol	1 ml
Eau distillée	89 ml

Cette solution a aussi l'avantage de préserver les nématodes du dessèchement même si les tubes ne sont pas correctement fermés. Encore une fois, prendre des précautions pendant l'utilisation de ces solutions qui sont dangereuses pour la santé.

Préservation des nématodes sédentaires dans les racines ou tubercules

Les femelles de nématodes sédentaires sont nécessaires à l'identification des espèces. Il est donc important de conserver et de bien fixer les tissus végétaux contenant ces nématodes à envoyer pour l'identification. Un petit sous-échantillon de tissu végétal infesté, placé dans un récipient contenant du lactophenol ou du lactoglycérol peut être suffisant. Une coloration avant la fixation peut également aider à l'identification.

Le lactophénol peut être acheté directement, ou fabriqué en mélangeant à volume égal, glycérol, acide lactique et eau distillée (lactoglycérol) et en rajoutant une petite quantité (1%) de phénol. Le **phénol est très toxique**, il est donc conseillé d'utiliser préférentiellement le lactoglycérol, bien que ce dernier ne préserve pas les échantillons pour aussi longtemps.

Coloration

L'observation des nématodes à l'intérieur des tissus végétaux peut être facilitée par des colorations appropriées, qui colorent les nématodes tandis que les tissus restent relativement incolores (e.g. voir Fig. 5). Les racines épaisses et charnues doivent être émincées finement avant coloration pour permettre une transmission suffisante de la lumière après blanchiment.

Colorez dans le lactoglycérol + 0.1% bleu coton ou 0.05–0.1% fuchsine acide, puis décolorez dans un bécher contenant une solution à volume égal de glycérol et d'eau distillée + quelques gouttes d'acide lactique. La décoloration est plus efficace quand elle s'effectue sur plusieurs jours.

Lavez délicatement le matériel végétal de tout reste de sol ou débris et séchez-le dans un papier absorbant.

Coupez ou tranchez les plus grosses racines ou tubercules en petits morceaux.

Placez les dans une pièce de tissu mousseline, attachez les coins avec un lien de coton et **étiquetez** clairement chaque 'sachet' de mousseline.

Portez la solution de coloration à ébullition dans un bécher sur une plaque chauffante.

Placez les sachets de mousseline dans la solution de coloration bouillante pour approximativement

3 minutes, en fonction de l'épaisseur des racines. Utilisez un bécher profond à moitié rempli de la solution de coloration car il risque de déborder quand les tissus végétaux seront ajoutés (Fig. 37).

Enlevez les sachets de mousseline et rincez sous l'eau du robinet.

Placez les sachets de mousseline dans la solution de blanchiment et laissez une nuit ou plus.

Observez sous le microscope. Placez les racines côte à côte sur une lame de microscope et écrasez les délicatement à l'aide d'une autre lame posée par dessus afin d'observer les nématodes colorés. Les nématodes seront colorés en rouge avec la fuchsine acide ou en bleu avec le bleu coton.

Masses d'oeufs de *Meloidogyne*

Le colorant Phloxine B colore la matrice gélatineuse qui entoure les masses d'oeufs de *Meloidogyne*. En augmentant la visibilité de ces masses d'oeufs, cette coloration permet un comptage plus rapide des masses d'oeufs/femelles adultes présentes. Les oeufs demeurent viables après coloration. La solution est fabriquée en ajoutant 15 mg (une très petite quantité) de Phloxine B à 1 litre d'eau.

Placez les racines lavées dans un plateau ou une soucoupe (blanche de préférence) contenant la solution de Phloxine B et laissez agir de 15 à 20 minutes. Comptez les masses d'oeufs colorés en rouge.

Estimation de la densité de nématodes

Une fois que les nématodes ont été extraits du sol ou des tissus végétaux, ils doivent être identifiés et dénombrés. C'est ce qui rend possible leur association ou leur potentialité à causer des dommages.

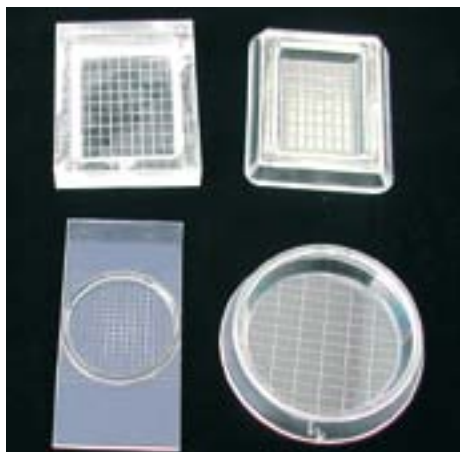
Ce guide n'est pas un guide d'identification des nématodes parasites des plantes; pour cela voir les lectures conseillées en pages 65. (Une très basique description des nématodes parasites des plantes les plus communs est donnée en Annexe 2). L'estimation de la densité en nématodes ne doit être envisagée que les nématodes sont correctement identifiés. Si cette capacité et ce savoir-faire ne sont pas disponibles, il est conseillé d'envoyer les échantillons à un expert (voir page 57).

Comptage des nématodes

Les nématodes extraits peuvent être observés et dénombrés à l'aide d'une loupe binoculaire ou d'un microscope (Fig. 34); l'accès aux deux serait idéal. Une bonne qualité d'éclairage par le fond (diascopie) est essentielle. Un grossissement de 40x est recommandé (i.e. un objectif 4x combiné à un oculaire 10x), mais un microscope peut également être utilisé (i.e. avec un objectif 10x), ce qui peut s'avérer utile lorsque les nématodes sont en mauvais état ou difficiles à identifier. Les loupes binoculaires permettent une meilleure manoeuvrabilité et mise au point, particulièrement lorsque les échantillons sont sales. Les nématodes qui ne peuvent pas être identifiés dans la plaque de comptage, doivent être pêchés à la main (Fig. 33) et montés sur une lame de verre pour une identification à un plus fort grossissement sous le microscope.

Différentes formes de plaques de comptage existent, mais simplement il est nécessaire de disposer d'un fond de boîte en plastique transparente au fond de laquelle est gravée une grille (Fig. 38). Cela peut être facilement préparé en gravant délicatement le dessous d'une petite boîte de Pétri. Une petite plaque rectangulaire ouverte d'approximativement 5 ml de contenance est toujours utile; cela permet également de déplacer les nématodes ou les débris dans la plaque et de pêcher les nématodes pour une identification à un plus fort grossissement (Fig. 33). Des parois internes en légère pente peuvent aider à minimiser la distorsion optique causée par le ménisque, tandis qu'un léger relief de la grille peut réduire les mouvements de nématodes entre les lignes.

Les échantillons qui ont déjà été concentrés à 5 ml peuvent être comptés dans leur totalité, mais si la densité en nématodes est élevée ou si l'échantillon est sale, une proportion de l'échantillon (un aliquote) peut être comptée après dilution avec de l'eau. Cependant, des précautions doivent être prises afin de s'assurer de la représentativité de l'aliquote par rapport à l'échantillon total en mélangeant bien l'échantillon avant la prise de l'aliquote.



Quelques plaques de comptage.



Quelques pipettes .



Compteurs à main simple et multiple.

Figure 38. Instruments de comptage.

Extraire les nématodes d'un poids connu de tissus végétaux ou d'un volume de sol en utilisant l'une des méthodes décrites précédemment.

Concentrer la suspension d'extraction à un volume précis à l'aide d'une éprouvette ou d'un tube gradué (e.g. 10 ml).

Secouer et mélanger la suspension juste avant de prélever les aliquotes.

Utiliser une pipette à gros diamètre, pour éviter qu'elle ne se bouche avec des débris. L'extrémité des pipettes peut être coupée si elle est trop étroite.

Déposer l'aliquote délicatement dans la plaque de comptage en évitant les projections.

S'il y a peu de nématodes, comptez les tous dans le volume total de la suspension.

Si la densité de nématodes est élevée, comptez les nématodes à partir d'un aliquote (e.g. 1 ou 2 ml). La dilution de la suspension peut s'avérer nécessaire pour faciliter le comptage, par exemple en doublant le volume.

Comptez tous les nématodes dans la plaque de comptage de manière systématique en suivant la grille sur la plaque. Parfois les nématodes peuvent flotter à la surface, mais l'ajout de quelques gouttes de savon liquide peut résoudre le problème.

Utilisez un compteur à main (encore mieux, un compteur à main multiple; Fig. 38) afin de compter les différentes espèces de nématodes, ou utilisez le système Romain de numérotation écrite, si les compteurs ne sont pas disponibles.

Reversez l'aliquote dans la suspension après comptage.

Répétez le comptage sur 2 à 3 aliquotes par échantillon et puis calculez la moyenne par échantillon.

Le nombre moyen de nématodes, calculé à partir des aliquotes, doit être multiplié par le volume total de la suspension pour avoir une estimation du nombre total de nématodes dans les tissus végétaux ou le sol échantillonné (e.g. par 100 ml de sol ou 5 g de racine).

Analyse des dégâts

Indexation des symptômes sur les plantes

Les dégâts de nématodes peuvent être évalués au moment de l'échantillonnage au champ. La quantité de racines endommagées peut être estimée visuellement (en pourcentage) en utilisant une procédure d'indexation (Annexe 3). D'utiles estimations de dégâts peuvent être réalisées pour les nématodes à galles en particulier, mais aussi pour d'autres nématodes. L'estimation des dommages est très souvent bien reliée aux pertes de récoltes.

L'indexation des dégâts liés aux nématodes donne une première indication des dommages. Quand les équipements de base et l'expertise ne sont pas disponibles, ce peut être le seul moyen d'estimation. Cette indexation des dégâts peut également être utile lorsqu'il s'agit d'identifier des résistances ou des tolérances aux nématodes dans des expérimentations de criblages variétaux.

Le nombre d'observations peut aller de une à deux, jusqu'à 25 ou plus, en fonction du type de culture, de la surface, mais aussi selon que l'agriculteur accepte de prendre un risque plus ou moins élevé dans l'estimation des dommages. Une personne ou aussi peu de personnes que possible doivent conduire cette indexation dans un souci de cohérence. L'utilisation de tables d'indexations auxquelles se référer est conseillée pour la même raison.

Certains jugements peuvent s'avérer nécessaire lorsqu'il s'agit d'estimer les dommages, par exemple les plantes qui présentent des attaques très fortes par les nématodes à galles peuvent avoir très peu de racines à observer et peu de galles restantes. L'indice de galle apparaît minimal, mais en fait les dommages dus aux nématodes sont très élevés. Il faut aussi se souvenir que la réponse aux attaques de nématodes, en particulier les nématodes à galles, varie selon les plantes et les variétés. Différentes espèces de nématodes occasionnent aussi différents symptômes, par exemple, une attaque par *Meloidogyne hapla* résultera souvent par un aspect perlé des galles (comme sur la laitue dans l'annexe 3), tandis que *Meloidogyne incognita* occasionnera des galles massives et une fusion racinaire (Annexe 3).

Les tables d'indexations de l'annexe 3 donnent des exemples et une base sur laquelle construire d'autres tables pour d'autres nématodes et d'autres circonstances. Les tables mesurent les dégâts sur une échelle de 1 à 5, afin d'équilibrer vitesse d'indexation et précision. Si vous disposez de plus de temps, une indexation sur une échelle de 1 à 10 devrait vous donner une estimation plus précise des dégâts.

Références et lectures conseillées

- Agrios, G.N. (2005). *Plant Pathology*, 5th edn. Academic Press, USA. 922 pp.
- Bridge, J. and Page, S.L.J. (1980). Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart. *Tropical Pest Management* 26: 296–298.
- Brown, R.H. and Kerry, B.R. (1987). *Principles and Practice of Nematode Control in Crops*. Academic Press, Sydney. 447 pp.
- Evans, D., Trudgill, D.L. and Webster, J.M. (1993). *Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture*. CAB International, Wallingford. 648 pp.
- Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J. (2005). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*, 2nd edn. CAB International, Wallingford. 871 pp.
- Mai, W.F. and Mullin, P.G. (1996). *Plant Parasitic Nematodes. A Pictorial Key to Genera*, 5th edn. Comstock, London and Cornell University, Ithaca. 276 pp.
- Moens, M. and Perry, R. (2006). *Plant Nematology*. CAB International, Wallingford. 447 pp.
- Perry, R., Moens, M. and Starr, J. (2010). *Root-knot Nematodes*. CAB International, Wallingford, UK. 488 pp.
- Southey, J.F. (1986). *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes*. Ref. Book 402. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Commercial Colour Press, London. 202 pp.
- Speijer, P.R. and De Waele, D. (1997). *Screening of Musa Germplasm for Resistance and Tolerance to Nematodes*. INIBAP Technical Guidelines 1. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier. 47 pp.
- Stirling, G.R., Nicol, J. and Reay, F. (1999). *Advisory Services for Nematode Pests – Operational Guidelines*. Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC Publication No. 99/41. 111 pp.
- Waller, J.M., Lenné, J.M. and Waller, S.J. (2002). *Plant Pathologist's Handbook*, 3rd edn. CAB International, Wallingford. 516 pp.
- Wallwork, H. (2000). *Cereal Root and Crown Diseases*. Grains Research Development Corporation Publications, Canberra, Australia. 58 pp.
- Whitehead, A.G. (1997). *Plant Nematode Control*. CAB International, Wallingford. 400 pp.
- Zuckerman, B.M., Mai, W.F. and Krusberg, L.R. (eds) (1990). *Plant Nematology Laboratory Manual*. University of Massachusetts Agricultural Experiment Station, Massachusetts. 252 pp.

Annexe I.

Exemples de genres et d'espèces de nématodes parasites d'importance agricole mondiale

Nématodes et symptômes	Principales cultures affectées	Distribution géographique
<i>Achlysiella</i> Nécroses des racines <i>Achlysiella williamsi</i>	Canne à sucre	Australasie
<i>Anguina</i> Galles sur grains et feuilles, déformation des feuilles <i>A. tritici</i>	Céréales et pâturages Céréales de climat tempéré, principalement blé	Tempérée: mondiale Tempérée: Chine, Europe de l'est, Inde, Afrique du nord, Ouest Asiatique
<i>Aphasmatylenchus</i> Faible développement des racines, chlorose <i>Aphasmatylenchus straturatus</i>	Arachide	Tropicale: Afrique de l'ouest
<i>Aphelenchoides</i> Nécroses et déformation des feuilles et grains, destruction du mycelium fongique <i>A. arachidis</i> (nématode de l'arachide) <i>A. besseyi</i> (maladie du bout blanc) <i>A. fragariae</i> <i>A. ritzemabosi</i> (nématode des feuilles) <i>A. composticola</i> (nématode des champignons)	Arachide Riz Framboisier Chrysanthème Champignons de couche	Tropicale: Afrique de l'ouest Tropicale: régions productrices de riz Tempérée: Europe, Amérique du nord, Japon Tempérée: Europe, Amérique du nord et du sud, Afrique de l'est et du sud, Australie Régions productrices de champignons de couche
<i>Belonolaimus</i> Nécroses des racines, chlorose, flétrissement <i>B. longicaudatus</i>	Maïs doux, légumes, arachide, citrus, cotonnier	Subtropicale: sud-est des USA
<i>Bursaphelenchus</i> Chlorose et mort des arbres <i>B. xylophilus</i> (nématode du pin) <i>B. cocophilus</i> (nématode de l'anneau rouge) Nécrose (anneau rouge) du pied et de l'inflorescence, chute des fruits	Pin Cocotier, palmier à huile	Tempérée: Chine, Coré, Amérique du nord, Taiwan, Europe (Portugal) Amérique centrale et du sud, Caraïbe
<i>Criconemella</i> Chlorose, nécroses des racines et des gousses, flétrissement <i>C. onoensis</i> <i>C. ornata</i> <i>C. xenoplax</i>	Riz Arachide Arbres fruitiers	Tempérée et tropicale Tropicale: USA, Afrique de l'ouest, Amérique du sud et centrale Subtropicale: USA Subtropicale: USA

Nématodes et symptômes	Principales cultures affectées	Distribution géographique
<i>Ditylenchus</i> (nématode des tiges et bulbes) Lésions des tiges et des feuilles, déformation des fleurs et du feuillage, pourriture des bulbes et des tubercules <i>D. africanus</i> (nématode de l'arachide) <i>D. angustus</i> <i>D. dipsaci</i> <i>D. myceliophagus</i>	Arachide Riz Haricots, oignons de tulipes et autres plantes à bulbes, céréales Champignons de couche	Subtropicale: Afrique du sud Tropicale: Bangladesh, Inde, Birmanie, Vietnam Europe, Amérique du nord et du sud, Est de l'Australie Tempérée: Régions productrices de champignons de couche
<i>Helicotylenchus</i> (nématodes spiralés) Nécroses des racines <i>H. multicinctus</i>	Très répandu sur beaucoup de cultures Bananiers et plantains	Tempérée et tropicale: ubiquiste Tropicale/subtropicale: Régions productrices de bananes
<i>Hemicriconemoides</i> Destruction des racines, chlorose, mort des rameaux <i>H. mangiferae</i>	Arbres fruitiers	Subtropicale: Asie du sud-est, Afrique, Amérique centrale et du sud, Caraïbe
<i>Heterodera</i> (nématode à kystes) Kystes sur racines, faible croissance racinaire, chlorose, flétrissement <i>H. avenae</i> (nématode à kystes des céréales) <i>H. cajani</i> <i>H. ciceri</i> <i>H. filipjevi</i> <i>H. glycines</i> (nématode à kystes du soja) <i>H. latipons</i> <i>H. mani</i> <i>H. oryzae</i> (nématode à kystes du riz) <i>H. sacchari</i> (nématode à kystes de la canne à sucre) <i>H. schachtii</i> (nématode à kystes de la betterave) <i>H. zae</i> (nématode à kystes du maïs)	Céréales à petits grains (blé, orge, avoine) Pois Cajan Pois chiche, lentilles Céréales à petits grains (blé, orge, avoine) Soja, haricots Céréales à petits grains (blé, orge, avoine) Céréales à petits grains (blé, orge, avoine) Riz Canne à sucre, riz Betteraves, choux et brassicées Maïs	Monde: Asie du centre ouest, Afrique du nord, Nord de l'Europe, Chine, Inde, Australie, nord-ouest des USA Inde Méditerranée Asie du centre ouest, Inde, Chine, Europe du nord Subtropicale: Amérique du nord et du sud, Japon, Chine Asia occidental Asia occidental Tropicale: Inde, Bangladesh Tropicale: Afrique de l'ouest, Inde Tempérée/subtropicale: Europe, Amérique du nord, Afrique de l'ouest et du sud, Australie Tropicale: Inde

Nématodes et symptômes	Principales cultures affectées	Distribution géographique
<i>Hirschmanniella</i> (nématodes du riz et maladie de mitimiti) Lésions racinaires et pourriture du tubercule (maladie de mitimiti) <i>H. gracilis</i> <i>H. imamuri</i> <i>H. oryzae</i> <i>H. spinicaudata</i>	Riz Riz Riz Riz	Tropicale Tropicale Tropicale: Afrique de l'ouest, Amérique du sud et du nord, Sud et Sud-est asiatique Tropicale: Afrique, Amérique du sud et du nord
<i>Hoplolaimus</i> Nécroses des racines <i>H. columbus</i> <i>H. pararobustus</i> <i>H. seinhorsti</i>	Coton Banancier Coton, légumes	Tropicale: USA, Egypte Tropicale: Afrique Tropicale: Afrique, Asie du sud, Amérique du sud
<i>Longidorus</i> Galles à l'extrémité des racines. Transmission de virus <i>L. elongatus</i>	Framboisier, betterave à sucre	Tempérée: Europe, Canada
<i>Meloidogyne</i> (nématode à galles) Galles des racines et des tubercules, chlorose, flétrissement <i>M. acronea</i> <i>M. africana</i> <i>M. arenaria</i> <i>M. artiellia</i> <i>M. chitwoodi</i> <i>M. coffeicola</i> <i>M. exigua</i> <i>M. graminicola</i> <i>M. hapla</i> <i>M. incognita</i> <i>M. javanica</i> <i>M. oryzae</i> <i>M. mayaguensis</i> <i>M. naasi</i>	Coton, sorgho Caféier Arachide Blé, orge et légumes Pomme de terre, betterave à sucre, céréales Caféier Caféier Riz Chrysanthème, légumes, clou de girofle Légumes, coton, tabac, très large gamme d'hôtes Légumes, coton, tabac, très large gamme d'hôtes Riz Légumes, papayer, très large gamme d'hôte Blé, orge	Tropicale: Afrique du sud Tropicale: Afrique Tropicale: mondiale Méditerranée: Italie, France, Grèce et Espagne, Ouest Asiatique, Israël et Ouest de la Sibérie Tempérée: Amérique du nord, Mexique, Afrique du sud, Europe Tropicale: Amérique du sud Tropicale: Amérique du sud Tropicale: Sud et Sud-est asiatique Tempérée/subtropicale: mondiale Tropicale: mondiale Tropicale: mondiale Tropicale: Asie du sud Tropicale: mondiale Europe du nord, Nouvelle Zélande, Chili, USA, Iran et ex-URSS

Nématodes et symptômes	Principales cultures affectées	Distribution géographique
<i>Nacobbus</i> (faux nématode à galles) Galles sur racines <i>N. aberrans</i>	Légumes, pomme de terre, betterave à sucre	Tempérée/subtropicale: Amérique du nord, sud et centrale, Europe (en serres)
<i>Paralongidorus</i> Galles à l'extrémité des racines. Transmission de virus <i>P. australis</i>	Riz	Subtropicale: Australie
<i>Paratrichodorus</i> Racines rabougries et noires. Transmission de virus <i>P. minor</i>	Légumes	Tempérée/subtropicale: Europe, USA
<i>Pratylenchus</i> (nématode de lésions) Nécroses des racines, tronc et tubercules <i>P. brachyurus</i> <i>P. coffeae</i> <i>P. goodeyi</i> <i>P. loosi</i> <i>P. neglectus</i> <i>P. penetrans</i> <i>P. thornei</i> <i>P. zeae</i>	Arachide, ananas, manioc Banancier, igname, caféier, citrus, plantes à épices, Très large gamme d'hôtes Banancier Théier Pomme de terre, légumes, céréales à petits grains (blé, orge, avoine) Arbres fruitiers et à amandes, légumes, petits fruits, fleurs Céréales à petits grains (blé, orge, avoine) Maïs, riz de plateau	Tropicale: mondiale Tropicale: mondiale Subtropicale: Afrique de l'est et de l'ouest, Iles Canaries Subtropicale: Asie du sud et de l'ouest Australie, Afrique du nord, USA, Canada Tempérée: mondiale Australie, Ouest Asiatique, Asie, Afrique du nord, Israël, Mexique, USA Tropicale: Asie du sud et de l'ouest, Afrique
<i>Radopholus</i> Nécroses des racines et tubercules, pourriture et sectionnement des racines, chute des plants <i>R. citri</i> <i>R. similis</i> (nématode du banancier) <i>R. nativus</i>	Citrus Banancier, citrus, racines et tubercules, cocotier, théier, poivrier et autres épices Céréales et légumes à graines	Tropicale: Indonésie Tropicale: mondiale Tempérée: Australie
<i>Rotylenchulus</i> (nématode réniforme) Faible croissance racinaire, chlorose, nanisme <i>R. parvus</i> <i>R. reniformis</i> <i>R. variabilis</i>	Pois cajan, patate douce Ananas, légumes Patate douce	Tropicale: Afrique Tropicale: mondiale Tropicale: Afrique

Nématodes et symptômes	Principales cultures affectées	Distribution géographique
<i>Rotylenchus</i> Mauvaise croissance <i>R. robustus</i>	Légumes, plantules d'arbres	Tempérée: Europe, Amérique du nord, Inde
<i>Scutellonema</i> Pourriture sèche des tubercules, mauvaise croissance racinaire <i>S. bradys</i> (nématode de l'igname) <i>S. cavenessi</i>	Igname, manioc Arachide	Principalement en Afrique et sous les tropiques Tropicale: Afrique de l'ouest, Caraïbe Tropicale: Afrique de l'ouest
<i>Trichodorus</i> Racines rabougries et noires. Transmission de virus <i>T. primitivus</i> <i>T. viruliferus</i>	Betterave à sucre, pomme de terre	Tempérée/subtropicale: Europe, Amérique du nord
<i>Trophotylenchulus</i> Réduction de croissance racinaire <i>T. obscurus</i>	Caféier	Tropicale: Afrique
<i>Tylenchorhynchus</i> Raccourcissement des racines	Céréales, légumes	Tempérée et tropicale
<i>Tylenchulus</i> Mauvaise croissance racinaire, lent dépérissement des arbres <i>T. semipenetrans</i> (nématode des citrus)	Citrus	Subtropicale/tropicale: régions productrices de citrus
<i>Xiphinema</i> Galles à l'extrémité des racines. Transmission de virus <i>X. americanum</i> <i>X. diversicaudatum</i> <i>X. index</i>	Arbres, vigne, Rosiers, vigne, petits fruitiers Vigne, fruitiers, rosiers	Tempérée/subtropicale: mondiale Tempérée: Europe, Amérique du nord, Australie, Nouvelle Zélande Tempérée: Europe, Amérique du sud, Méditerranée, Afrique du sud, Est de l'Australie

Adapté du tableau 13.1 de J. Bridge et T.D. Williams, Plant parasitic nematodes, pp.140–162, *in* Waller et al. (2002) (avec l'autorisation de CABI Publishing).

Annexe 2.

Identification des principaux nématodes

Ce guide n'est pas un guide de taxonomie des nématodes phytoparasites, pour cela voir la partie consacrée aux références et lectures conseillées. Une description très basique des principaux nématodes phytoparasites est cependant donnée plus bas. La figure 39 montre les principales différences entre nématodes phytoparasites et nématodes libres.

Meloidogyne – nématode à galles

La femelle adulte est en forme de poire ou sphéroïde avec un cou allongé tandis que les mâles restent vermiformes.

Les juvéniles et les femelles sont endoparasites et occasionnent les galles.

Le stylet est fin avec des boutons basaux.

Les oeufs sont pondus dans une matrice gélatineuse.

Pratylenchus – nématode agent de lésion

Nématode vermiforme.

Femelle avec un seul ovaire.

Relativement fort, tête aplatie et queue arrondie.

Région labiale plate avec un stylet bien visible de 14–19 µm de longueur avec des boutons basaux épais.

Cause de lésions sur les racines des plantes.

Endoparasite migrateur, tous les stades sont infectieux.

Heterodera – nématode à kystes

Femelle adulte en forme de citron devenant un kyste à maturité.

Femelle semi-endoparasite avec seulement la partie antérieure du corps enfoncée dans les tissus végétaux.

Oeufs retenus à l'intérieur du kyste mais parfois aussi dans une masse gélatineuse.

Stylet des juvéniles bien visible avec des boutons basaux épais.

Helicotylenchus – nématode spiralé

Région labiale haute, arrondie et conique.

Nématode généralement enroulé en spirale ou en forme de C.

Femelle avec 2 ovaires et une queue incurvée dorsalement.

Ce sont des nématodes semi-endoparasites ou ectoparasites, généralement retrouvés dans le sol.

Scutellonema

Même description de base que *Helicotylenchus*, mais:

Le stylet est plus court et les boutons basaux sont plus forts.

La forme relâchée est droite ou en C ouvert.

Ce sont des nématodes le plus souvent ectoparasites.

Xiphinema* et *Longidorus

Très long nématodes

Le stylet à la forme d'une longue aiguille avec des boutons basaux épais.

La forme relâchée est droite le plus souvent.

Ce sont des nématodes ectoparasites.

Nématodes parasites de plantes:

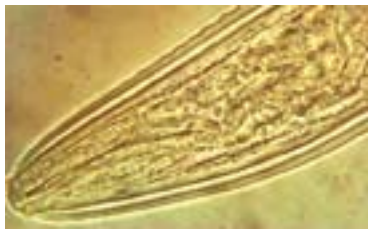
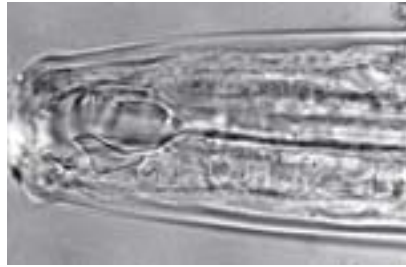
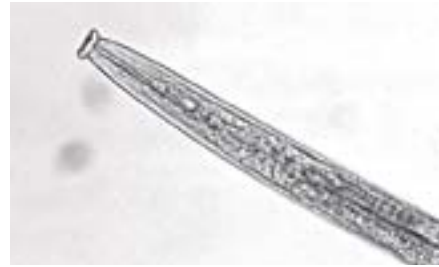
*Paratrichodorus* [JB]*Heterodera* [JB]*Scutellonema* [JB]*Hemicriconemoides* [JB]*Hemicycliophora* [JB]*Hoplolaimus* [JB]*Tylenchorhynchus* [JB]*Plectus* [JB]*Meloidogyne* tête de juvénile [SM]*Xiphinema* [LA-B]*Filenchus* [LA-B]*Meloidogyne* partie antérieure de la tête [LA-B]*Xiphinema* [SM]*Helicotylenchus* [SM]*Longidorus* partie antérieure de la tête [LA-B]*Pratylenchus* [SK]

Figure 39 – continue sur page suivante

Nématodes libres:



Mononchus [JB]



Discolaimus [JB]

Figure 39. Comparaison de la région antérieure des nématodes parasites des plantes et des nématodes libres.

(Photographies de J. Bridge [JB], S. Mack [SM], L. Al-Banna [LA-B] et S. Kelly [SK].)

Annexe 3.

Tables d'indexation pour la mesure des dégâts dus aux nématodes

Nématode à galles (*Meloidogyne* spp.) sur manioc

A utiliser à la fois sur racines et tubercules pour une estimation à la récolte ou sur racines en cours de végétation.

Racines de Manioc



1. Pas de galles, racines nourricières intactes.



2. Au moins une galle observée.



3. Galles nombreuses, environ 50% des racines affectées.



4. Galles nombreuses, la plupart des racines affectées.



5. Galles nombreuses sur toutes les racines, nécroses, racines nourricières fortement gallées ou détruites.

Tubercules de Manioc



1. Pas de galle, tubercules et racines nourricières sains.



2. Au moins une galle sur les racines.



3. Galles évidentes sur les racines, moins de racines nourricières, réduction de la taille des tubercules.



4. Galles nombreuses, racines nécrosées, réduction de la taille des tubercules.



5. Galles sévères sur la plupart des racines, racines nourricières absentes, peu de tubercules.

Nématodes à galles sur carottes



1. Pas de galle.



2. Peu de galles.



3. Galles modérément importantes.



4. Galles assez importantes



5. Galles très importantes.

Nématodes à galles sur laitues



1. Pas de galle.



2. Quelques galles.



3. Galles modérément importantes.



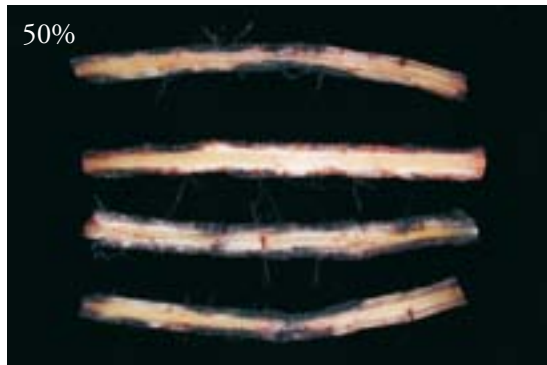
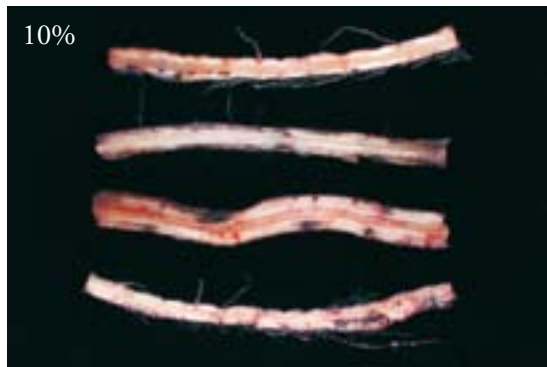
4. Galles assez importantes.



5. Galles sévères.

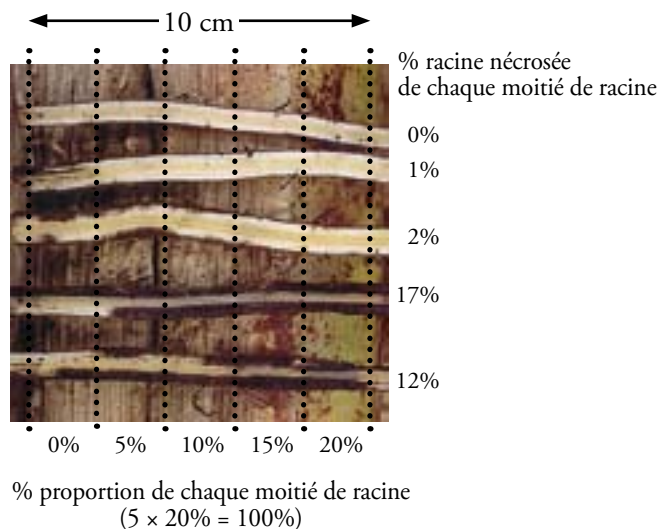
Index de lésions sur racines de bananiers

Adapté de Paul Speijer et Dirk De Waele (1997).



Indexation sur *Musa*

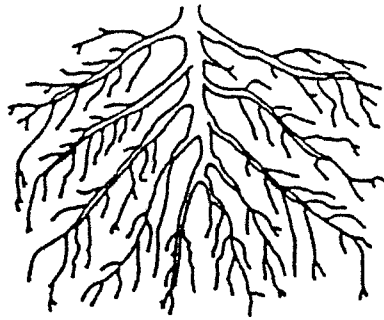
Exemple de notation de cinq moitiés de racines en pourcentage de racines nécrosées en présence de nématodes endoparasites migrateurs (D'après Paul Speijer et Dirk De Waele, 1997).



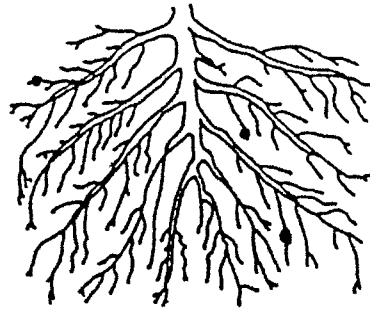
Choisir au hasard 5 racines fonctionnelles par bananier. Chacune d'au moins 10 cm de longueur. Couper chaque racine dans le sens de la longueur et écartier une des moitiés. Noter l'autre moitié sur le pourcentage de cortex racinaire présentant des nécroses. Chaque racine contribue pour 20% de l'échantillon total ce qui donne 100% pour les 5 racines. Si la moitié de la racine est nécrosée alors comptez 10%. S'il n'y a pas de nécrose comptez 0% (voir la figure ci-dessus). Une fois que vous avez indexé chaque racine parmi 20, additionnez les 5 pourcentages pour avoir le pourcentage total de nécroses pour l'ensemble de l'échantillon.

Table d'indexation pour les nématodes à galles

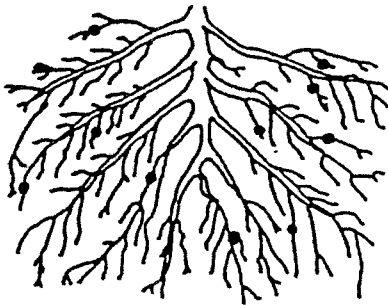
D'après John Bridge et Sam Page (1980)



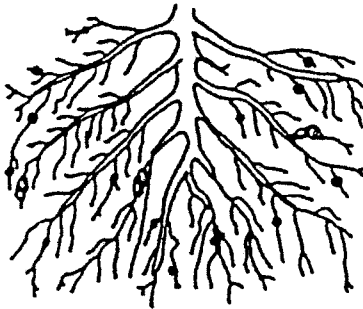
0 – Pas de galle sur les racines.



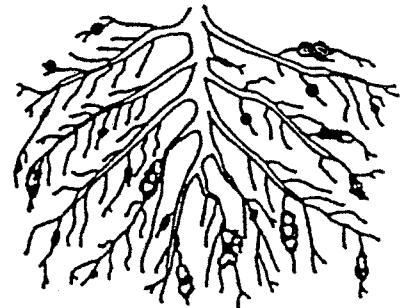
1 – Quelques galles, difficiles à voir.



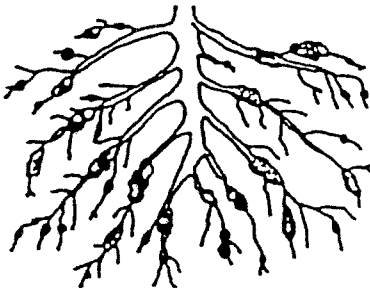
2 – Quelques galles, bien visibles, racines principales saines.



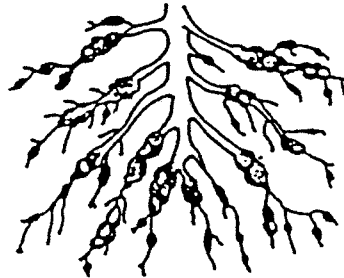
3 – Quelques grosses galles, bien visibles, racines principales saines.



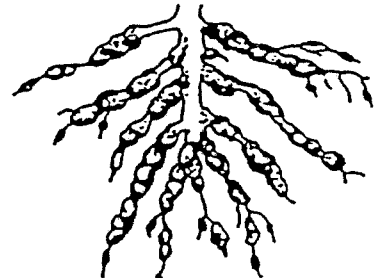
4 – La présence de grosses galles prédomine mais les racines principales restent saines.



5 – 50% des racines sont affectées. Quelques galles sur les racines principales. Réduction du système racinaire.



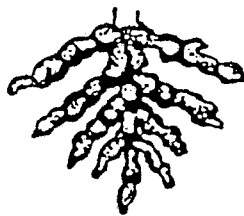
6 – Galles sur les racines principales.



7 – Majorité des racines principales avec des galles.



8 – Toutes les racines avec des galles, y compris la racine pivot, peu de racines saines visibles.



9 – Toutes les racines sévèrement gallées, généralement la plante meure.



10 – Toutes les racines sévèrement gallées, plus de système racinaire, généralement plante morte.

Table d'indexation pour les nématodes à kystes sur le blé

Adapté de A.D. Rovira dans Brown and Kerry (1987).



1 – Pas de dommage,
racines saines.



2 – Dommages
superficiels.



3 – Dommages
légers.



4 – Dommages
modérés.



5 – Dommages
sévéres.

Réseaux utiles et organisations

Afro-Asian Society of Nematologists

(<http://www.ifns.org/membership/aasn.html>)

Australasian Association of Nematologists

(<http://nematologists.org.au>)

Brazilian Nematological Society

(http://www.ciagri.usp.br/~sbn/sbn_i.htm)

Cereal Nematodo Network

Chinese Society of Plant Nematologists

(<http://www.ifns.org/membership/cspn.html>)

Nematology Initiative in East and Southern Africa

Egyptian Society of Agricultural Nematology

(<http://www.ifns.org/membership/esan.html>)

European Society of Nematologists

(<http://esn.boku.ac.a>)

International Federation of Nematology Societies

(<http://www.ifns.org/>)

Japanese Nematological Society

(<http://www.ifns.org/membership/jns.html>)

Nematological Society of India

(<http://www.ifns.org/membership/nsi.html>)

Nematological Society of Southern Africa

(<http://www.ifns.org/membership/nssa.html>)

Organization of Nematologists for Tropical America

(<http://www.ontaweb.org>)

Society for Invertebrate Pathology

(<http://www.sipweb.org/>)

Society of Nematologists

(<http://www.nematologists.org>)

West and Central African Nematology Network

Crédits:

Photographies: Toutes les photographies des auteurs ou autrement créditées.

Edition, design, mise en page et révision: Green Ink Publishing Services Ltd, UK (www.greenink.co.uk)

Imprimeur: Pragati Offset Pvt. Ltd, India (www.pragati.com)

Les nématodes parasites des plantes sont toujours présents dans les parcelles des agriculteurs, mais les dommages qu'ils occasionnent sont souvent attribués à d'autres ravageurs ou maladies ou problèmes liés à la culture. En particulier dans les pays en voie de développement, où les ressources et les facilités d'investigations sont rares, il est souvent difficile d'identifier et de quantifier le problème des nématodes.

Ce guide a pour objectif d'aider à surmonter ces limitations en fournissant une référence facile à suivre pour identifier les problèmes dus aux nématodes. Ce guide fournit des instructions claires, avec de nombreuses illustrations, sur les procédures de collecte d'échantillons et d'extraction des nématodes, aussi bien que des informations sur des identifications approfondies et une aide au diagnostic. Ce manuel est destiné aux techniciens, aux agriculteurs, aux agents des services agricoles et à tous ceux qui sont intéressés par la production agricole et la protection des cultures, particulièrement dans ces parties du monde où l'accès à une expertise et à des laboratoires reste limitée. Ce guide, espérons le, devrait simplifier certains aspects de la nématologie et faciliter la compréhension de ce problème phytosanitaire souvent mystérieux.

D.L. Coyne, J.M. Nicol et B. Claudius-Cole

Les nématodes des plantes : Un guide pratique