

# La lutte biologique contre les Nématodes phytoparasites

- par Jean-Claude Cayrol, Caroline Djian-Caporalino et Elisabeth Panchaud-Mattei  
Laboratoire de Biologie des Invertébrés INRA, BP 2078, 06606 Antibes



- [1. Les Champignons prédateurs](#)
- [2. Les Champignons ovicides](#)
- [3. Les Champignons nématophages à spores adhésives](#)
- [4. Les endomycorhizes à vésicules et à arbuscules](#)
- [5. Les Bactéries antagonistes des Nématodes](#)
- [6. Les toxines de micro-organismes](#)
- [7. Les plantes nématocides et leurs "toxines"](#)
- [En conclusion](#)

[Les Nématodes, en bref](#)

[L'attaque d'un Nématode par un Hirsutella](#)

[Références bibliographiques](#)

Les Nématodes phytophages, à l'inverse des Nématodes zooparasites connus depuis toujours, sont passés longtemps inaperçus, et le sont souvent encore, en raison de leur taille microscopique et du fait qu'ils se trouvent toujours cachés dans le sol ou à l'intérieur des tissus végétaux. On a souvent couvert l'ignorance de leur présence par le terme général de "fatigue des sols"

Les problèmes phytosanitaires causés par ces ravageurs ont une incidence économique très importante à l'échelle mondiale, car ils s'attaquent aussi bien aux grandes cultures qu'aux cultures maraîchères, florales et fruitières. En Europe, ils sont responsables de dégâts atteignant 10% de la production céréalière et entraînent des diminutions de récoltes de 20 à 30% dans les vergers d'agrumes méditerranéens. Les dommages qu'ils provoquent aux USA représentent annuellement 6 milliards de dollars. Dans les régions tropicales et tempérées chaudes, très favorables à leur développement, ils constituent l'un des principaux ennemis des plantations et cultures de Caféier, Cotonnier, Bananier, Ananas, Maïs, Sorgho, etc., bases principales du développement de ces pays. Les espèces les plus répandues et causant les plus gros dégâts dans le monde appartiennent au genre *Meloidogyne* (Anguillule ou de Nématode à galles des racines).

En raison de leur extrême résistance, de leur grande variabilité physiologique et de leur vie souterraine, il est très difficile de combattre les Nématodes. Les pratiques culturales (utilisation de variétés résistantes, rotations, longues jachères, déforestation pour mise en culture de terres neuves, etc.) et les moyens physiques (solarisation, désinfection à la vapeur, inondation des sols infestés) ne peuvent être employés que dans des cas exceptionnels. Aussi, bien qu'une lutte intégrant ces différentes méthodes non-chimiques (1) soit très séduisante, la lutte chimique reste-t-elle, pour des raisons essentiellement d'ordre économique et de facilité de mise en oeuvre, la méthode la plus employée. Elle consiste, soit à désinfecter les sols chaque année avant plantation avec des produits fumigants ou précurseurs de fumigants, dangereux pour l'homme et l'environnement, soit à traiter sur culture en place avec des produits systémiques, véhiculés par la sève (carbamates et organophosphorés) pour des productions non comestibles ou à récolte tardive (2).

Ces produits de synthèse présentent tous de sérieux inconvénients :

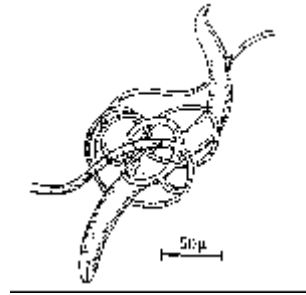
- ayant des spectres d'action très larges, ils perturbent les équilibres écologiques des milieux traités (compétitions entre ravageurs, action des hyperparasites, processus de biodégradation de la matière organique...);
- ils polluent l'environnement et les denrées alimentaires (accumulation de résidus dans les sols, les nappes phréatiques et les cultures traitées) : ainsi, santé animale et humaine sont concernées ;
- les résultats sont insuffisants : il faut répéter les traitements continuellement, ce qui entraîne également la sélection de résistances physiologiques des ravageurs à ces produits.

Pour les raisons qui viennent d'être évoquées, ces nématocides chimiques dangereux et polluants, sont progressivement mis à l'index dans certains pays (c'est le cas notamment de la Suisse, de l'Allemagne et des Pays-Bas) alors que les solutions de remplacement n'existent pas encore. Devant cette situation, les recherches sur la lutte biologique connaissent un regain d'intérêt et nous proposons ici un inventaire des principales voies d'études actuellement développées à l'échelle mondiale : Champignons prédateurs - qui piègent et capturent les Nématodes -, Champignons ovicides - qui tuent leurs oeufs -, Champignons à spores adhésives, endomycorhizes (Champignons vivant en symbiose avec les racines), Bactéries antagonistes, toxines produites par les microorganismes et les plantes.

**[R] 1. Les Champignons prédateurs**

Cette méthode de lutte repose sur un principe simple : l'existence dans le sol de Champignons qui ont la capacité de prendre au piège les Nématodes et de s'en nourrir.

C'est à la fin du XIXe siècle que les premiers d'entre eux ont été découverts et décrits. Ils diffèrent les uns des autres par leur mécanisme de piègeage : pièges en réseaux, en anneaux, boutons collants ou spires (fig. 1). Ces Champignons, présents naturellement dans le sol, n'y sont pas en assez grande quantité. De plus, ils sont spécifiques d'un très petit nombre d'espèces de Nématodes, phénomène dû à un mécanisme mis en évidence en 1979 par une nématologiste suédoise, Mme Nordbring-Hertz, basé sur une association entre un sucre sécrété par la cuticule du Nématode et une protéine (une lectine) émise par le Champignon. Depuis les années 40, de nombreux essais de lutte biologique au moyen de Champignons prédateurs ont été effectués, d'une part, dans le domaine de la prophylaxie vétérinaire où de bons résultats ont été obtenus contre les Strongles, et d'autre part, dans le domaine phytosanitaire, mais avec des résultats peu encourageants.



**Figure 1. Nématode capturé dans le réseau engluant d'un Champignon prédateur**

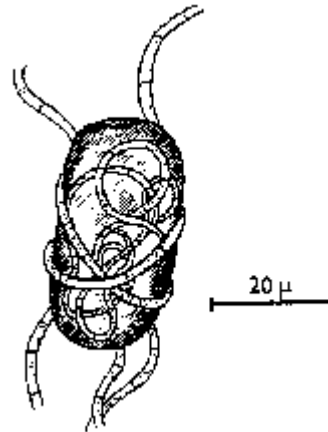
C'est en 1976 que le laboratoire de Nématologie de l'INRA d'Antibes s'est lancé dans l'étude de ces Champignons nématophages, comme moyen de lutte biologique contre les Nématodes à galles du genre *Meloidogyne*. De nombreux Champignons ont été essayés, en vue de sélectionner celui capable de piéger rapidement les larves infestantes des Nématodes mais aussi de se développer sans trop de problèmes dans nos sols et sous nos climats. *Arthrobotrys irregularis*, un Hyphomycète, fut choisi. Des expérimentations en laboratoire et au champ ont confirmé son efficacité, montrant par ailleurs sa préférence pour des sols de pH variant entre 6 et 8, l'effet néfaste d'une salinité excessive et sa résistance à des températures proches de  $-10^{\circ}$  comme de  $35^{\circ}\text{C}$ , sa croissance optimale étant obtenue à  $25^{\circ}\text{C}$ . Un brevet fut déposé en 1978 (Cayrol et al.) et sa commercialisation a pu débuter en 1983, une fois les épreuves d'homologation et de toxicologie passées avec succès. La production du S350 (nom commercial de la préparation à base d'*A. irregularis*) fut confiée à un laboratoire fabriquant du Erreur! Source du renvoi introuvable. de Champignon. Produit sur un milieu à base de seigle cuit, substrat habituellement utilisé pour l'obtention du mycélium du Champignon de couche, le S350 devait être conditionné en petites quantités (2 kg environ) de manière à éviter son échauffement. Le produit était soumis à certaines règles : produit Erreur! Source du renvoi introuvable. (stérile) et contenant 106 propagules/g, dose d'application au champ de 1,4 t/ha. Son utilisation par l'agriculteur était relativement facile, car celui-ci pouvait utiliser un épandeur d'engrais pour le traitement, suivi d'un griffage pour enfouir le grain. Cette spécialité commerciale, un produit vivant contenant 60% d'humidité, devait être distribuée et conservée jusqu'à l'épandage sans rompre la chaîne du froid. Cela entraînait des problèmes aussi bien au niveau de la distribution que de la conservation en chambre froide chez les agriculteurs. Les exigences de l'auxiliaire (pH, salinité, quantités de matière organique, nombre et pouvoir compétitif des antagonistes) ne lui permettaient pas de s'implanter aussi bien dans tous les types de sols. Faute de moyens techniques pour apprécier ces phénomènes, les premiers utilisateurs de ce moyen de lutte connurent des échecs. Des études sur la résistance du Champignon à la dessiccation ont permis d'arriver à une nouvelle formulation du produit de base. Le milieu de culture reste le même mais le produit fini, déshydraté grâce à un flux d'air (à une température de 25 à  $30^{\circ}\text{C}$ ), a une teneur en eau de 6 à 10%. Cette nouvelle formulation, nommée T350, permet un transport et un entreposage faciles, sans contraintes exagérées. Pour que ce traitement puisse être appliqué non seulement dans le cadre de l'agriculture biologique mais aussi dans celui de la lutte intégrée - qui associe aussi harmonieusement que possible des interventions de divers types, y compris des applications de pesticides -, nous avons testé l'action des traitements chimiques les plus courants (fongicides et herbicides), de manière à pouvoir orienter le choix de l'utilisateur d'*A. irregularis*. Mais déjà de nouvelles souches et espèces de Champignons sont à l'étude : il s'agit de trouver des auxiliaires plus performants et efficaces dans d'autres types de sol que ceux qui correspondent aux exigences d'*Arthrobotrys irregularis*. On évalue également l'action de ces souches sur d'autres Nématodes que les *Meloidogyne*, pour être en mesure de répondre, dans un avenir proche, à l'interdiction de l'utilisation des nématicides chimiques sur la plupart des cultures.

## **[R] 2. Les Champignons ovicides**

Ces Champignons ont la propriété de tuer les oeufs des Nématodes. A l'intérieur de ces derniers, on peut trouver de nombreuses espèces de Champignons (Tribe, 1980) (fig. 3) ; beaucoup d'entre eux vivent en saprophytes, envahissant secondairement des oeufs déjà morts. Seuls de véritables parasites sont à retenir en vue d'être utilisés comme agent de lutte biologique. Parmi eux, *Paecilomyces lilacinus* et *Verticillium chlamydosporium* ont fait l'objet d'études approfondies.

### ***Paecilomyces lilacinus***

Les filaments de *P. lilacinus* percent la coque de l'oeuf grâce à des enzymes appropriées, puis pénètrent à l'intérieur et parasitent l'embryon. Cette espèce a été éprouvée au Pérou par Jatala et al. (1979) sur Pomme de terre attaquée par *Meloidogyne incognita* et par *Globodera pallida*. Des essais en plein champ ont montré que l'apport de Champignon dans le sol réduisait davantage le nombre de galles de *Meloidogyne* que des traitements nématocides classiques.



**Figure 3. Oeuf de Nématode parasité par un Champignon ovicide**

Une expérimentation en pots, conduite à l'INRA d'Antibes pendant 11 mois sur 3 cultures successives de Tomate infestées par *Meloidogyne arenaria* (Gomes Carneiro et Cayrol, 1991), a montré le Champignon régresse fortement dans le sol au cours du temps sous l'effet de la compétition exercée par les autres micro-organismes. Cette pression est typique de chaque situation et conduit finalement à l'installation du Champignon à un niveau d'équilibre propre à chaque sol. Pour que l'efficacité nématocide du Champignon soit correcte, il est nécessaire que sa densité s'établisse à 106 propagules/g de sol. Dans ces conditions, on observe un taux de parasitisme des oeufs voisin de 50%. Il semble que *P. lilacinus* soit mieux adapté aux conditions tropicales (températures élevées et pH acides) qu'aux conditions des pays tempérés, à preuve les résultats meilleurs obtenus au Pérou. Aussi cet agent biologique est-il désormais "fabriqué", aux Philippines, par BIO-AC Technologies, sous le nom de BIOACT. Son emploi est conseillé sur un grand nombre de cultures (Pomme de terre, cultures légumières, Bananier, Caféier, Agrumes, Canne à sucre, Papayer, Vigne, Fraisier et Soja), pour lutter contre *Meloidogyne*, *Globodera*, *Tylenchulus*, *Radopholus*, *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Tylenchorynchus*, *Trichodorus*, *Rotylenchus* et *Hoplolaimus*, soit une vaste gamme de Nématodes phytoparasites. Le Champignon est cultivé sur un support nutritif, qui est ensuite déshydraté et broyé en poudre. L'application se fait soit par incorporation directe de la poudre dans le sol, soit par arrosage avec une suspension aqueuse préparée à partir de cette poudre.

### ***Verticillium chlamydosporium***

Signalé depuis déjà longtemps comme ennemi des oeufs d'*Heterodera*, c'est un parasite facultatif, capable de proliférer dans le sol même en l'absence de Nématodes. Les filaments pénètrent dans les oeufs en perforant la coque puis détruisent les embryons. Il s'attaque aussi bien aux oeufs d'*Heterodera* qu'à ceux de *Meloidogyne*.

Une propriété intéressante de ce Champignon réside dans son aptitude à former de nombreuses chlamydo-spores lorsqu'il se trouve placé en conditions défavorables (sécheresse, malnutrition). Ces chlamydo-spores, qui se présentent sous forme de mûres constituées de 5 à 20 cellules accolées entre elles, se conservent longtemps sans aucune précaution et peuvent germer une fois remises dans un sol humide. Elles apparaissent donc comme un moyen idéal de production industrielle du Champignon en tant qu'agent de lutte biologique.

Différentes souches de *V. chlamydosporium* ont été collectées et sélectionnées en Angleterre, non seulement pour leur aptitude à former de nombreuses chlamydo-spores, mais aussi pour leur aptitude à s'installer dans tous les sols et dans toutes les conditions et aussi pour leur résistance à la pression de sélection exercée par les autres micro-organismes du sol. La plus performante d'entre elles (souche CMI : CC334168) a fait l'objet d'un dépôt de brevet (Kerry & Deleij, 1991) pour son utilisation comme agent de lutte biologique contre les *Meloidogyne*.

Le Champignon est cultivé à 25°C sur un mélange constitué pour moitié de sable et de farine de Blé ou d'Orge. Le milieu de culture est agité vigoureusement pendant 5 jours puis laissé au repos. Au bout de 2 à 3 semaines, les cultures contiennent un maximum de chlamydo-spores qui sont récupérées par tamisage et lavage. Ce sont ces chlamydo-spores que l'agriculteur incorporera dans le sol de ses champs.

En fait, *V. chlamydosporium*, s'il apparaît comme un agent de lutte séduisant, ne permet en aucun cas de combattre de fortes attaques. Son aptitude parasitaire limitée aux premiers stades de l'embryogenèse du Nématode - qui, au delà, acquiert une coque résistante (Cayrol *et al.*, 1981 ; Irving et Kerry, 1986) - explique que nous n'ayons jamais obtenu plus de 43% de parasitisme dans les meilleures conditions, ce qui pourrait juste suffire pour maîtriser l'évolution d'une population limitée.

Il y a donc lieu pour l'instant de rester très prudent sur les possibilités d'emploi des Champignons ovicides comme agents de lutte biologique, et ceci d'autant plus qu'ils ne sont pas spécifiques et détruisent sans distinction les Nématodes nuisibles comme les Nématodes utiles (notamment les espèces libres associées aux Bactéries de la nitrification). En outre, les spores de résistance (chlamydospores) dont l'emploi est préconisé chez *V. chlamydosporium* peuvent fort bien résister à des températures élevées (Barron, 1977), ce qui peut présenter des risques graves de parasitisme chez les animaux à sang chaud et notamment chez l'Homme. Pour cela, l'usage de ce Champignon sera irrévocablement interdit par les commissions de contrôle médical participant à l'homologation du produit.

### **[R] 3. Les Champignons nématophages à spores adhésives**

Les Nématodes peuvent être parasités par des Champignons à spores adhésives appartenant à plusieurs classes : Oomycètes, Zygomycètes, Deutéromycètes, Basidiomycètes et Hyphomycètes.

Parmi les Oomycètes, on trouve *Catenaria anguillulae*, *Myzocyttium lenticulare* et *M. anomalum* qui forment des zoospores biflagellées, capables de se diriger vers les Nématodes et de se fixer sur leur cuticule en s'y enkystant. Ensuite, ces spores germent et pénètrent dans le corps de la proie où elles produisent un thalle infectieux qui donne naissance à des zoosporanges globuleux.

L'espèce de Zygomycètes la plus fréquente est *Meristacrum asterospermum*. Elle possède des conidies sphériques qui se collent sur le corps du Nématode. Après avoir produit un filament germinatif qui s'enfonce dans l'hôte, le Champignon y développe un thalle boursoufflé, puis germe en donnant de nouveaux conidiophores.

Chez les Deutéromycètes, on rencontre assez fréquemment *Meria coniospora*, dont les spores en forme de massue se fixent sur la cuticule de l'hôte par leur extrémité antérieure. Comme chez les Champignons précités, la spore produit une hyphé qui s'enfonce dans l'hôte puis génère un mycelium dense qui envahit le corps de la proie et fructifie sous forme de conidiophores sortant de la dépouille parasitée.

Les Basidiomycètes parasites des Nématodes sont représentés par l'espèce *Nematoctonus leiosporus*, qui possède aussi des spores adhésives en forme de bâtonnets se fixant sur la cuticule du Nématode par une de leurs extrémités et produisant un mycelium parasite qui envahit le corps de l'hôte.

Tous ces Champignons pourraient *a priori* devenir des agents de lutte biologique intéressants contre les Nématodes, compte tenu notamment de leur grande ubiquité et de leur polyphagie. Ils sont hélas des parasites obligatoires et toutes les tentatives faites pour les cultiver sur divers milieux synthétiques ont échoué, ce qui rend leur utilisation pratiquement impossible.

En revanche, des Hyphomycètes à spores adhésives, du genre *Hirsutella*, se cultivent aisément sur plusieurs milieux artificiels. Le parasitisme des Nématodes par les *Hirsutella* a été décrit pour la première fois par Sturhan et Schneider (1980) puis par Jaffee et Zehr (1982) et par Castet (1982). Il est résumé dans l'encadré ci-après. Beaucoup de travaux leur ont été consacrés depuis, dans le monde entier, mais aucune application industrielle n'est encore au point à ce jour.

### **[R] 4. Les endomycorhizes à vésicules et à arbuscules**

Les mycorhizes sont des Champignons associés aux racines des végétaux. Certaines protègent la plante contre les Nématodes. Leur emploi en lutte biologique est à l'étude.

Les endomycorhizes à arbuscules et vésicules (*vesicular-arbuscular mycorrhizae*) forment une association symbiotique avec les racines des plantes. Elles ont une gamme d'hôtes très large comportant des plantes sauvages et des plantes cultivées. Ce sont des *Endogonaceae*, possédant un double réseau mycélien : un réseau externe dans le sol et un réseau interne dans les tissus de la racine-hôte (fig. 5).

Le réseau mycélien externe s'étend largement dans la rhizosphère et va exploiter un vaste volume de sol, assurant ainsi une nutrition abondante des racines-hôtes. Le potentiel assimilatif de la plante, aussi bien en ce qui concerne l'eau que les éléments nutritifs, se trouve ainsi fortement accru. Si le phosphore est vraisemblablement l'ion le plus concerné par l'appui symbiotique des endomycorhizes, d'autres éléments tels que le soufre, le cuivre, le potassium et le zinc sont également beaucoup mieux assimilés par les plantes mycorhizées. Le réseau mycélien interne se développe dans le cortex des racines où il forme des arbuscules et des vésicules. Les arbuscules sont des structures d'échange entre la plante et le Champignon tandis que les vésicules sont plutôt considérées comme des organes de réserve.

Comme la plupart des espèces de Nématodes phytophages vivent dans les racines, on conçoit qu'il existe une interaction constante entre elles et les mycorhizes. Cette interaction peut revêtir plusieurs aspects : compétition trophique intra-racinaire, plante rendue plus résistante grâce à l'amélioration nutritionnelle que lui confère la symbiose mycorhizienne, masquage du pouvoir attractif exercé par les racines vis-à-vis des Nématodes. Parmi les quelques travaux qui ont été effectués par les nématologistes pour préciser l'influence des mycorhizes, nous signalerons ici les

plus significatifs, qui concernent à la fois plusieurs espèces de Nématodes, plusieurs espèces de mycorhizes et aussi plusieurs types de cultures (Cayrol, 1991, 1992).

Une expérimentation classique, effectuée aux Etats-Unis sur Tabac, a montré que le nombre de femelles d'*Heterodera solanacearum* est réduit de 35% sur les plants mycorhizés par *Endogona gigantea*. En Allemagne, l'endomycorhize *Glomus mosseae*, inoculé à la Tomate, réduit les attaques de *Meloidogyne incognita* de 17%, tandisqu'elle diminue les dommages dûs à *Rotylenchulus reniformis* de 40% sur Concombre, Haricot et Melon. La même espèce associée à des *Citrus* permet une réduction appréciable (environ 50%) des dégâts de *Tylenchulus semipenetrans*. Sur Tomate mycorhizée avec un autre *Glomus* (*Glomus fasciculatus*), les populations de Nématodes parasites régressent de 59% tandis que *G. etunicatus*, utilisé sur *Citrus*, abaisse de moitié le nombre des *Radopholus similis*. On a montré par ailleurs qu'une mycorhization à l'aide d'un complexe de 4 espèces (*Glomus fasciculatus*, *G. mosseae*, *G. tenue* et *Gigaspora margarita*), sur Tomate et Trèfle blanc parasités par *Meloidogyne hapla*, permet des augmentations de rendement de 56% et 64%, respectivement.

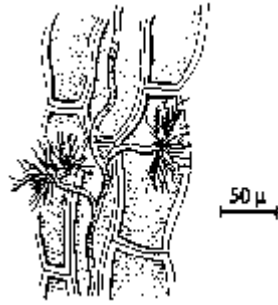


Figure 5. Arbuscules mycorhiziens dans les cellules de l'hôte végétal

Ces quelques essais illustrent parfaitement l'effet bénéfique de la mycorhization sur plusieurs cultures et vis-à-vis de plusieurs Nématodes phytophages. Mais on sait encore peu de choses du mode d'action des endomycorhizes sur les Nématodes. Une meilleure nutrition des plantes symbiotiques pourrait accroître leur résistance à l'égard des parasites, d'autres facteurs, liés à un antagonisme intraracinaire direct, pouvant être également impliqués dans l'effet nématocide. Les mycorhizes n'ont aucun effet répulsif vis-à-vis des Nématodes (Sikora et Schönbeck, 1975). Pour le reste, il s'agit d'hypothèses à vérifier.

Quand les recherches seront plus avancées et qu'on possédera, notamment, une meilleure compréhension des relations plante-hôte/Champignon (LeTacon, 1991), on pourra envisager d'utiliser les endomycorhizes de la même façon que l'on utilise le *Rhizobium* pour inoculer certaines Légumineuses.

## [R] 5. Les Bactéries antagonistes des Nématodes

Un certain nombre de Bactéries sécrètent des métabolites toxiques pour les Nématodes ; on les évoquera plus loin, au chapitre consacré aux toxines produites par les micro-organismes.

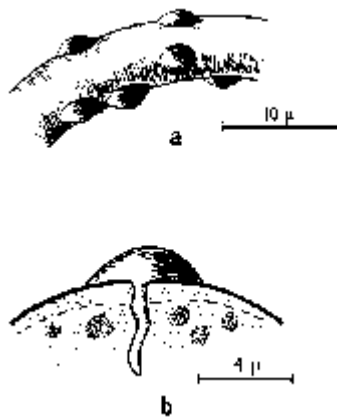


Figure 6. *Pasteuria penetrans*

a : spores bactériennes collées sur la cuticule du Nématode ; b : filament germinatif perforant la cuticule et s'enfonçant dans le corps de l'hôte.

Une seule Bactérie parasite de Nématodes, *Pasteuria penetrans* (3), est étudiée de façon approfondie par les nématologistes. Ses endospores, disséminées dans le sol, se fixent sur la cuticule des Nématodes quand ceux-ci les effleurent en se déplaçant dans la terre (fig. 6a). L'adhésion des endospores sur l'épiderme des Nématodes serait due à une interaction du type lectines-sucres. Le nombre d'endospores collées sur un Nématode peut varier de 2 ou 3 à une cinquantaine.

Le Nématode ne paraît pas affecté par ces spores adhésives, sauf si elles sont très nombreuses, auquel cas il devient

léthargique et peut mourir. En général, les Nématodes parasités parviennent à pénétrer dans les racines de la plante-hôte et les endospores fixées ne commencent à germer que 8 jours plus tard.

La spore produit un tube germinatif (fig. 6b) qui perfore la cuticule du Nématode grâce à des enzymes appropriées et arrive jusqu'à sa cavité générale (pseudocoelome) ; là, le tube germinatif se ramifie en une structure filamenteuse, grossièrement sphérique, qui constitue le thalle et qui s'élargit peu à peu pour se répandre en tous sens dans le corps du Nématode-hôte. La septation de ce thalle donne naissance à des spores qui remplissent le corps du Nématode. Celui-ci devient une sorte de conteneur, un "sac à spores". (pouvant en renfermer jusqu'à 2 millions) où tous les organes sont détruits. Ainsi, la reproduction des femelles est complètement arrêtée, par destruction de l'appareil génital. L'animal parasité éclate sous la pression des spores et les libère, disséminées dans le sol et prêtes à se fixer sur d'autres Nématodes. Le cycle est bouclé. Si aucun Nématode n'accroche immédiatement les spores, celles-ci peuvent rester viables dans le sol pendant plusieurs mois.

La répartition géographique de *P. penetrans* est très ubiquiste. On signale sa présence dans toutes les régions du globe. De même, elle se rencontre sur la plupart des espèces de Nématodes. Toutefois il s'avère que le parasitisme de *P. penetrans* est très spécifique, ce qui conduit à penser qu'il en existe de nombreuses souches, inféodées chacune à des espèces de Nématodes précises. Des spores de *Pasteuria penetrans* issues de *Pratylenchus penetrans* sont tout à fait incapables de parasiter les 10 autres espèces de *Pratylenchus* connues, et, à plus forte raison, tout autre genre de Nématode. Pour Sayre *et al.* (1991), il s'agirait d'espèces différentes de *Pasteuria*.

Cette spécificité très étroite, qui exige de sélectionner la bonne souche de *P. penetrans*, voire la bonne espèce de *Pasteuria* adaptée au Nématode cible, est un obstacle à l'utilisation pratique de cette Bactérie. Elle est en outre un parasite obligatoire, ce qui a interdit, jusqu'à ce jour, de la produire massivement sur milieu synthétique.

*P. penetrans* présente aussi plusieurs avantages : d'abord son efficacité parasitaire remarquable, qui permet de réduire les populations de Nématodes de plus de 80%, ensuite ses endospores sont d'une résistance exceptionnelle qui permet leur stockage pendant très longtemps sans aucun problème particulier. Aussi les travaux sur *Pasteuria penetrans* se multiplient-ils dans le monde entier et on peut penser que, d'ici peu, cette Bactérie deviendra un agent de lutte biologique fiable et parfaitement maîtrisé.

## [R] 6. Les toxines de micro-organismes

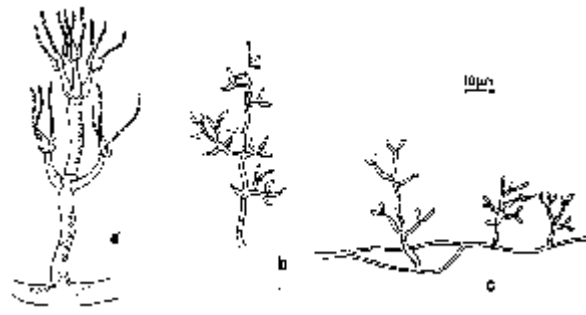


Figure 7. Champignons produisant des toxines nématicides

a: *Paecilomyces lilacinus* ; b: *Trichoderma longibrachium* ; c: *Fusarium roseum* var. *arthrosporioides*.

Les spécialistes des affections des plantes cultivées désignent par toxine une substance non-enzymatique, de faible poids moléculaire, produite par un micro-organisme et nocive à faible concentration. L'originalité des toxines "nématicides" réside dans leur activité, qui se manifeste par contact et non par ingestion, ce qui les distingue par exemple des mycotoxines insecticides, telles que les destruxines. Mais ce terme de nématicide est souvent employé au sens large pour désigner des substances nématicides (répulsives), nématicides (perturbant la reconnaissance de sa plante-hôte par le Nématode, ou bloquant le développement de l'oeuf ou de la larve, ou paralysant l'animal temporairement) et nématicides *sensu stricto* (ovicides, larvicides ou létales pour tous les stades).

Très peu de travaux font état de telles substances pour lutter contre des Nématodes phytoparasites.

Certains antibiotiques produits par des Bactéries du genre *Bacillus* et *Pseudomonas* ou par des Actinomycètes des genres *Actinomadura* et *Streptomyces*, de même que la toxine thermostable de *Bacillus thuringiensis*, ont une certaine efficacité *in vitro*. Une avermectine (l'abamectine B1), lactone pentacyclique produite par *Streptomyces avermitilis*, connue pour ses propriétés insecticides et acaricides et commercialisée sous le nom de Vertimec, possède également des propriétés larvicides et ovicides intéressantes vis à vis de *Meloidogyne* sp. (Cayrol *et al.*, sous presse) ; cette molécule, efficace en traitement du sol, est rapidement dégradée mais un des métabolites produit par une avermectine voisine (AVM B2) pourrait être nématicide pendant 2 mois (Putter *et al.*, 1981).

La recherche de toxines nématicides chez les Champignons a seulement consisté jusqu'à présent à tester l'effet nématicide *in vitro* de quelques filtrats de cultures (FC) (travaux principalement indiens). C'est le cas des FC de diverses espèces de Champignons du sol : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Penicillium*, et de quelques espèces de Champignons nématicides : *Arthrobotrys*, *Nematoctonus*, *Dactylaria*, *Curvularia*. La toxicité de ces FC se manifeste, soit par une paralysie des larves de *Meloidogyne* après 1 à 2 jours d'immersion, soit, après 1 à 6 jours, par l'inhibition de l'éclosion des oeufs. Cianco *et al.* (1988) ont isolé et identifié 2 hétérocycles à

soufre (fusarénone et moniliformine), produits par *Fusarium spp.* et actifs vis-à-vis de *Meloidogyne sp.*

De même, lors de recherches réalisées au laboratoire de nématologie de l'INRA d'Antibes sur *Paecilomyces lilacinus* (cf. ci-dessus) (fig. 7a), il a été mis en évidence que cette espèce pouvait également agir sur les larves de stade II de *Meloidogyne* et d'*Heterodera* par l'intermédiaire d'une toxine paralysante (Cayrol *et al.*, 1989), purifiée et identifiée par Djian *et al.* (1990) : il s'agit d'un petit acide gras volatil, produit abondamment durant la croissance du Champignon sur milieu liquide. L'effet paralysant de cette toxine active sur les larves pourrait s'ajouter à l'action parasitaire "mécanique". du Champignon sur les oeufs, ce qui augmenterait l'effet global du Champignon. Cette molécule agit de façon spécifique sur les espèces de Nématodes phytophages parasites des racines des plantes : *Meloidogyne spp.* et *Heterodera spp.*, mais aussi *Pratylenchus penetrans* (parasite des plantes en pépinière), *Helicotylenchus multicinctus* et *Radopholus similis* (graves parasites des bananeraies en Afrique). Les espèces parasites des parties aériennes (genres *Aphelenchoides* et *Ditylenchus*), les espèces mycophages et saprophages, constituant une part importante de la microfaune utile du sol, ne sont pas atteintes.

Le même type d'activité et la même molécule ont été retrouvés dans les filtrats de cultures d'autres Champignons : *Trichoderma longibrachiatum* (Djian, 1989) et *Fusarium roseum* var. *arthrosporioides* Messian & Cassini (Cayrol & Djian, 1990) (fig. 7b et 7c). Une étude structure moléculaire / activité nématocide a permis de découvrir des molécules dérivées à activité nématocide décuplée mais conservant toujours le même spectre d'efficacité (Djian, 1989, Djian *et al.*, 1989). Elles ont fait l'objet d'un brevet INRA (contrat SOCOTRA-CORALYNE, groupe Tropical Green). Les premiers résultats des essais dans le sol réalisés avec quelques unes des molécules sur tomates sensibles infestées par *Meloidogyne sp.* (Djian *et al.*, 1989, Pellerin, 1991) montrent une réduction importante du taux de pénétration des larves de *Meloidogyne sp.* dans les racines de tomate. L'étude du mode d'action d'une de ces molécules sur les Nématodes suggère qu'elle pénètre par un transport actif et est accumulée dans les Nématodes. Erreur! Source du renvoi introuvable. alors que les espèces "sensibles", qui ne l'accumulent pas, relarguent rapidement des produits de sa métabolisation.

L'exploitation de ces différents travaux sur les toxines produites par des micro-organismes, c'est-à-dire la mise en évidence de nouvelles molécules nématocides, devrait permettre de déboucher sur la production industrielle de pesticides plus performants et surtout plus spécifiques.

## [R] 7. Les plantes nématocides et leurs "toxines"

Chez les Algues, les Spongiaires et les Coraux, on connaît encore peu d'espèces à vertu nématocide : seul l'extrait aqueux de *Spateoglossum schroedi* (algue utilisée comme amendement organique) semble efficace contre *Meloidogyne sp.*, de même que les extraits aqueux de *Phormidium tenue* (Algue bleu-vert d'eaux thermales) et lipidique d'*Asterionella japonica* (Diatomé) testés *in vitro* vis-à-vis de larves de *Meloidogyne sp.*

La production de substances nématocides par des végétaux supérieurs est, en revanche, connue depuis très longtemps. Les données acquises sur le terrain par les nématologistes de l'ORSTOM (Office de recherche scientifique et technique en coopération) et au cours d'enquêtes ethnobotaniques démontrent l'efficacité de certains végétaux introduits traditionnellement (par des ethnies africaines ou des populations d'Asie et d'Amérique du Sud) dans les assolements, en culture intercalaires ou sous forme de broyats, pour lutter de façon empirique contre des Nématodes phytoparasites. A l'heure actuelle, plus de 200 espèces de plantes, appartenant à 80 familles différentes, sont étudiées pour leurs propriétés nématocides (publications principalement indiennes, japonaises et brésiliennes).

Ces végétaux peuvent nuire aux Nématodes de différentes manières. Les substances actives peuvent être exsudées des racines et agir soit en inhibant la pénétration des larves dans les racines - cas du Sésame *Sesamum orientale* (Pedaliaceae) -, soit en inhibant l'éclosion des oeufs - cas de *Eragrostis curvula* (Poaceae) -, soit en empoisonnant les Nématodes - cas de la Pervenche de Madagascar *Catharanthus roseus* (Apocynaceae) ou de l'Asperge *Asparagus officinalis* (Liliaceae). Elles peuvent aussi être synthétisées en réaction à l'infestation (ces substances sont alors des phytoalexines) et inhiber le développement des larves cas de dérivés du gossypol, de l'aldéhyde terpénoïque du Cotonnier *Gossypium hirsutum* var. Auburn 623 (Malvaceae) -, ou être déjà présentes dans les tissus au niveau des tiges, feuilles, fleurs, graines ou racines et agir soit en empoisonnant la larve dès sa pénétration dans la plante cas de l'Arachide *Arachis hypogaea* (Fabaceae) -, soit en bloquant son développement et sa multiplication - cas du Ricin *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) ou du Tagetes des parfumeurs *Tagetes minuta* (Asteraceae).

Certaines de ces plantes sont introduites dans les rotations en précédent cultural, comme engrais verts nématocides ou en association avec la culture sensible ; ce sont surtout des Fabaceae - Noix de cajou *Cajanus cajan*, Crotalaire *Crotalaria spp.* (fig. 8), *Stylosanthes gracilis* -, mais aussi des Asteraceae - *Tagetes spp.* (fig. 8), Cosmos *Cosmos bipinnatus* -, des Poaceae Panicums *Brachyaria spp.* et *Panicum maximum*, *Eragrostis chloromelas* -, et des Brassicaceae - Moutarde blanche *Sinapis alba* (var. Emergo) et *Radis Raphanus sativus* (var. Pegletta, Stobolt et Nemex -.

De nombreuses pratiques indigènes, en Afrique, en Inde, aux Philippines et en Amérique du Sud les utilisent également sous forme de préparations à base de broyats ou d'extraits qui sont incorporés aux sols cultivés et peuvent servir d'amendements organiques nématocides : racines d'une Euphorbe *Euphorbia hirta* (Euphorbiaceae), tiges de *Vernonia polyanthes* (Asteraceae), feuilles de Pervenche de Madagascar, de *Leucoena leucocephala* (Fabaceae),

feuilles composées d'un *Datura metel* (*Solanaceae*), fleurs de *Tagetes spp.* (*Asteraceae*), graines (tourteaux) de Lilas des Indes ou Margousier ou Neem *Azadirachta indica* (*Meliaceae*), de *Quassia Hanhoa undulata* et *H. klaineana* (*Simarubaceae*).

L'analyse des substances produites lors de la décomposition de ces matières organiques dans les sols a permis d'identifier, en dernière phase de décomposition, outre les éléments N, P, K qui stimulent l'activité des parasites ou prédateurs naturels des Nématodes, différents acides gras volatils (AGV) à propriétés nématocides. L'effet nématocide de ces AGV s'ajouterait à celui des molécules contenues dans les tissus des plantes et libérées dans le sol après broyage, macération ou extraction.

Certains travaux sommaires, au Brésil mais surtout en Inde, ont consisté à tester *in vitro* les extraits aqueux, alcooliques et lipidiques des différents tissus de ces espèces nématocides sur les oeufs et larves de divers Nématodes, principalement *Meloidogyne sp.* Des investigations plus poussées (en Californie et au Japon notamment) ont déjà permis l'isolement et la caractérisation d'un certain nombre de principes actifs. Les structures chimiques de ces substances nématocides s'étendent très largement à diverses familles de molécules (Djian, sous presse)

- polyacétylènes isolés des extraits benzéniques du Carthame *Carthamus tinctorius* (*Asteraceae*) ou des extraits méthanoliques de racines d'*Erigeron Erigeron phyladelphicus* (*Asteraceae*) et d'Angélique *Angelica pubescens* (*Umbelliferaceae*);

- acides, esters carboxyliques et acides gras : acide asparagique extrait des racines, feuilles et tiges d'Asperge, di-n-butyl succinate extrait de l'Arachide, acides myristique et palmitique des racines de l'Iris du Japon *Iris japonica* (*Iridaceae*) ou oléique, linoléique, palmitique et stéarique dans l'huile d'un *Cyperus*, *Cyperus esculentus* (*Cyperaceae*), et *Lawsonia alba* (*Lythraceae*);

- acides aminés : dans les exsudats racinaires du Sésame et du Gombo *Abelmoschus esculentus* (*Malvaceae*), et protéines : lectine isolée de *Canavalia ensiformis* (*Fabaceae*) et du *Mucuna Stizolobium* (*Mucuna*) *deeringiana* (*Fabaceae*), protéine glycosylée dans les extraits aqueux de feuilles de Mouron *Anagallis arvensis* (*Primulaceae*);

- composés aromatiques : saponine extraite du Lierre *Hedera helix* (*Araliaceae*), pyrocatechol dans l'exsudat racinaire d'*Eragrostis curvula* (*Poaceae*);

- hétérocycles à oxygène, azote ou soufre : dérivés du bithienyl et de l'alpha-terthienyl des extraits d'Oeillet d'Inde *Tagetes patula*, d'Oeillet d'Inde mexicain *T. tenuifolia* et de Rose d'Inde *T. erecta* (*Asteraceae*), quassinoides des Quassias;

- alcaloïdes : éclipatine dans les extraits aqueux de l'Eclipta *Eclipta alba* (*Asteraceae*), sanguinarine, chélérythrine et bocconine extraits des racines du Macleya *Bocconia cordata* (*Papaveraceae*), dérivés cytisine et anagyrine des racines du Sophora *Sophora flavescens* (*Fabaceae*), pyrolizidine, dérivé de l'ornithine, chez la Crotalaire;

- terpénoïdes : odoracine et odratine, diterpènes extraits des racines de Daphné du Japon *Daphne odora* (*Thymelaceae*), nimbine et azadirachtine, triterpènes (limonoïdes) extraits des graines du Lilas des Indes, lactone terpénoïque extraite des feuilles et fleurs d'Armoise amère ou Absinthe *Artemisia maritima* (*Asteraceae*).

Il a été mis en évidence par Munakata (1979) que la plupart de ces substances naturelles nématocides peuvent avoir une activité systémique (le principe actif est transporté par la sève dans tous les organes de la plante), sont décomposables et non polluantes. Elles peuvent être utilisées comme base pour la synthèse de nouveaux nématocides ou dans la recherche de gènes de résistance aux Nématodes pour la création de nouvelles variétés.

Ne sont actuellement commercialisés que le *Tagetes* des parfumeurs sous le nom de Nemanon, utilisé en culture intercalaire pour lutter contre *Pratylenchus*, *Tylenchorynchus* et *Meloidogyne spp.*; Moutarde blanche et Radis (var. Pegletta, Stobolt et Nemex), utilisés comme engrais vert pour lutter contre *Heterodera schachtii*; des Crotalaires utilisées au Brésil comme engrais vert pour lutter contre *Meloidogyne spp.* Des études sont en cours sur les modalités d'utilisation des extraits du Lilas des Indes (nimbine et azadirachtine) en enrobage des semences, qui s'avèrent prometteurs pour lutter contre *Meloidogyne sp.* et d'autres Nématodes phytoparasites.

Au laboratoire de l'INRA d'Antibes, on étudie le mode d'activité des Crotalaires et des Oeillet d'Inde (*Tagetes spp.*) (Panchaud, 1990, Jeuffrault, 1991) à vertu nématocide en vue d'une exploitation biochimique ultérieure. De tels travaux se multiplient en Inde, au Japon et en Amérique et intéressent de nombreux pays où ces Nématodes prolifèrent et causent d'importants dommages. Une collaboration avec les centres ORSTOM d'Antibes, du Sénégal et de Nouméa est également engagée sur l'étude des propriétés nématocides de nouvelles plantes, la plupart originaires des pays tropicaux, pour une synergie des compétences dans le développement de ce programme de recherche sur les SNAN (substances naturelles à activité nématocide).

## [R] En conclusion

Cet inventaire des moyens biologiques, déjà développés ou en cours d'étude, permet d'envisager l'avenir avec optimisme et d'éviter les vues "catastrophistes". selon lesquelles la disparition - par interdiction - des nématocides chimiques va conduire à de fortes diminutions des récoltes.

Toutefois, pour parvenir à maintenir une bonne situation, un certain nombre de conceptions nouvelles doivent être adoptées.

Tout d'abord, il semble opportun de développer au maximum la recherche sur les procédés "alternatifs". de lutte, qui devront impérativement être employés, du fait de la disparition de tout autre moyen de lutte. A ce propos, les



recherches poursuivies à l'INRA dans ce domaine ont une certaine Erreur! Source du renvoi introuvable., avantage qu'il serait dommage de ne pas mettre à profit, alors que des laboratoires partout dans le monde s'y investissent et risquent de nous concurrencer.

Ensuite, au niveau de l'application, il serait souhaitable que les industriels comprennent que la mise au point des découvertes de laboratoire exige un prédéveloppement long et onéreux et qu'il acceptent d'y participer plus activement sans chercher seulement à en tirer des profit immédiats.

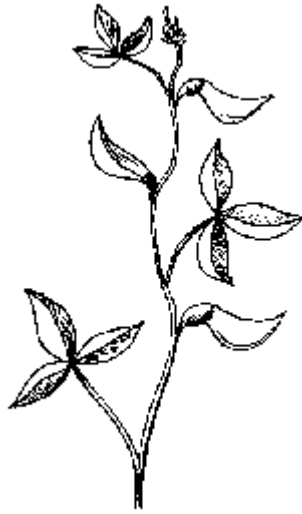


Figure 7. *Crotalaria* sp.



Figure 8. *Tagetes* sp.

Enfin, les vulgarisateurs, en contact direct avec le monde agricole, devraient favoriser un changement des mentalités et montrer que les problèmes nématologiques ne seront pas résolus par l'adoption d'une seule méthode, mais bel et bien par l'association de tous les moyens disponibles utilisés conjointement : assolements, variétés résistantes, Champignons nématophages, plantes mycorhizées, plantes nématicides, etc.

Cet ensemble de mesures "douces". pourra seul remplacer l'efficacité brutale et destructrice que procurent les nématicides chimiques. Espérons qu'à une époque où l'environnement semble concerner de plus en plus d'individus, notre modeste "charte". entrera en application.



[R] Les dessins de cet article sont de J.-C. Cayrol

---

## [R] Les Nématodes, en bref

Les Nématodes (ou Némathelminthes) - les anciens "vers ronds" - forment un groupe zoologique homogène par leurs caractères anatomiques et morphologiques mais très diversifié par leurs modes de vie. Beaucoup vivent en parasites

des animaux, en particuliers les Strongles, Ankylostomes et autres *Ascaris* sont des ennemis de l'homme et des animaux domestiques bien connus. D'autres peuplent le sol ; parmi eux, ceux qui se nourrissent de végétaux - les Nématodes phytoparasites - intéressent les phytiatres (spécialistes de la protection des plantes, zoologistes en France, phytopathologistes au USA...).

Un Nématode est un animal vermiforme, très simple, constitué *grosso modo* d'un tube externe cuticule enveloppant 2 tubes internes superposés : le tube digestif et le tractus génital (mâle ou femelle). Les Nématodes phytoparasites possèdent, à la partie antérieure du tube digestif, un stylet perforant (fig. 2 ci-dessous) suivi d'un canal oesophagien (c) aboutissant à un bulbe musculéux (b) pompe aspirante et refoulante. La plante une fois perforée par le stylet, des enzymes digestifs produits par les glandes salivaires (g) y sont injectés par cette pompe, laquelle, ensuite, aspire le produit de la digestion le déverse dans l'intestin (i). Les dégâts directs sont avant tout un affaiblissement de la plante, parfois des déformations, décolorations, galles, etc. ; Les dégâts indirects consistent en l'aggravation de maladies à Champignons et en la transmission de maladies à virus.

Les Nématodes phytoparasites appartiennent à deux ordres, les Dorylaimides et les Tylenchides. leur détermination au niveau de l'espèce, est du ressort d'un spécialiste. Considérant leur mode de vie par rapport à la plante, on distingue les Nématodes des racines - dont tout le cycle a lieu dans le sol, certains étant mobiles à tous les stades, parasites externes (*Tylenchus*) ou internes (*Pratylenchus*), d'autres sédentaires : Nématodes à kystes (*Heterodera*, *Globodera*), des Nématodes à galles (*Meloidogyne*, etc.) et des Nématodes des parties aériennes, moins nombreux (*Ditylenchus*, *Aphelenchoides*).



Figure 2. Schéma de l'extrémité antérieure d'un Nématode

### [R] L'attaque d'un Nématode par un *Hirsutella*

On peut différencier 4 étapes dans l'évolution du parasitisme :

- D'abord une phase de fixation des conidies sur l'épiderme du Nématode-hôte. Il semble que cette adhérence s'effectue préférentiellement sur la tête de l'animal. Un point important est la spécificité ; il apparaît en effet qu'il existe plusieurs souches d'*Hirsutella rhossihensis* inféodées chacune à des espèces de Nématodes particulières. Ceci pourrait être imputable à une liaison du type lectine-sucre entre le corps du Nématode et la spore. Il apparaît aussi que les espèces d'*Hirsutella* parasites d'Insectes ou d'Acariens ne se fixent jamais sur les Nématodes (Casted, 1982).

On peut trouver des Nématodes couverts d'une centaine de spores ou bien des individus porteurs d'une seule spore. Cayrol et Frankowski (1986) ont montré que, dans tous les cas, le Nématode finira par mourir parasité.

- La deuxième phase du parasitisme est la phase de germination. La spore développe un filament germinatif qui pénètre l'hôte et se ramifie dans le corps de l'hôte.

- Au cours de la troisième étape, un développement mycélien intense parasite totalement le corps du Nématode-hôte dont tous les organes sont digérés et lysés.

- Enfin, le mycélium parasitaire se met à fructifier en formant des phialides qui sortent de la dépouille et qui libèrent des conidies dans le sol, prêtes à se coller sur d'autres Nématodes.



Figure 4. *Hirsutella*

- a : spores adhésives sur la cuticule d'un Nématode ;  
b : filaments parasitaires envahissant le corps de l'hôte

## [R] Notes

- (1) Voir, dans le Courrier de la cellule Environnement n°15, p.43, l'encadré2. [VU]  
(2) Les caractéristiques chimiques, techniques et toxicologiques des matières actives et des spécialités nématicides sont répertoriées dans le Guide Phytosanitaire de l'ACTA, remis à jour chaque année (ACTA, 149, rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12), ainsi que sur la base de données télématiques 3617 AGRITOX. [VU]  
(3) Longtemps considéré comme un Protozoaire sous le nom de *Dusboscquia penetrans*, ce parasite n'a été définitivement classé comme Bactérie (*Pasteuria penetrans*) qu'en 1985 par Sayre et Starr en raison de sa similitude avec l'espèce *Pasteuria ramosa* décrite par Metchnikoff en 1888. [VU]

## [R] Références bibliographiques

- Barron G.L., 1977. The nematode-destroying fungi. *Topics in Microbiology*, 1, Canadian Biological publications Ltd.  
Castet R., 1982. *Contribution à l'étude des Champignons du genre Hirsutella (Hyphomycètes) parasites de Nématodes*. Mémoire DAA ENSFA Rennes, 30 pp.  
Cayrol J.C., 1978. Agent nématophage, brevet INRA n°7817624 France & CEE.  
Cayrol J.C., 1991. Propriétés nématicides de endomycorhizes à vésicules et arbuscules. *PHM, Rev. Hort.*, 321, 33-42.  
Cayrol J.C., Djian C., 1990. Etude de la toxicité de *Fusarium roseum* var. *arthrosporioides* pour le Nématode *Meloidogyne arenaria*. *C.R. Acad. Agri.* présenté par M. Ritter.  
Cayrol J.C., Djian C., Pijarowski L., 1989. Study of the nematocidal properties of the culture filtrate of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus*. *Rev. Nematol.* 12 (4), 331-336.  
Cayrol J.C., Djian C., Frankowski J.P., 1992. Efficacy of Avermectins for the control of root-knot nematodes. *Nematologica* (sous presse)  
Cayrol J.C., Frankowski J.P., 1986. Influence of the number of parasitizing conidia of *Hirsutella rhossiliensis* on the mortality of *Ditylenchus dipsaci*. *Revue Nématol.*, 9, 411-412.  
Cayrol J.C., Velasquez-Dominguez M., Levaux P., 1981. Etude préliminaire sur les possibilités d'utilisation des Champignons parasites comme agents de lutte biologique. *Bull. OEPP*, 12(4), 497-503.  
Cianco A., Logrieco A., Lamberti F., Bottalico A., 1988. Nematicidal effects of some *Fusarium* toxins. *Nematol. Med.* 16, 137-138.  
Djian C., 1989. *Etude de nouvelles molécules nématicides spécifiques*. Rapport DEA Parasitologie USTL Montpellier, 30 pp.  
Djian C., 1992. Etat actuel des connaissances sur les substances nématicides produites par des micro-organismes et des végétaux supérieurs. *Actes du IIIe Symposium sur les substances naturelles d'intérêt biologique*, Editions du CNRS. (sous presse)  
Djian C., Cayrol J.C., Ponchet M., 1989. Produits nématicides. *Brevet INRA n° 8911212 France, OAPI, n° 90402315.7 Europe, n° 071569438 USA*.  
Djian C., Pijarowski L., Ponchet M., Arpin N., Favre-Bonvin J., 1990. Acetic acid, a selective nematocidal metabolite from culture filtrates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson and *Trichoderma longibrachiatum* Rifai. *Nematologica*, 37.  
Gomes Carneiro R.M.D., Cayrol J.C., 1991. Relationship between inoculum density of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus* and control of *Meloidogyne arenaria*. *Revue Nematol.*, 14 4), 629-634.  
Irving F., Kerry B.R., 1986. Variation between strains of the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* Goddard. II Factors affecting parasitism of cyst-nematode eggs. *Nematologica*, 32, 474-485.  
Jaffe B.A., Zehr E.I., 1982. Parasitism of the nematode *Crinemella xenoplax* by the fungus *Hirsutella rhossiliensis*. *Phytopathol.*, 72, 1378-1381.  
Jatala P., Kaltenbach R. & Bocangel M., 1979. Biological control of *Meloidogyne incognita acrita* and *Globodera pallida* on potatoes. *J. Nematol.*, 11, 303.  
Jeuffraut E., 1991. *Etude des modalités d'utilisation en culture dérobée de Tagetes minuta*, plante nématicide. Mémoire DAA ENSA Montpellier, 30 pp.  
Kerry B.R., DeLeij F., 1991. New nematocidal strain of *Verticillium chlamydosporium* for control of *Meloidogyne spp.*, well maintained in soil without damage to plants. *Brevet Agric Genetics Co. n° WO9101642*  
LeTacon F., 1991. L'arbre en relation, Partenaires et adversaires, La forêt et le bois, Recherches. *Les Dossiers INRA*, 5, 34-37  
Munakata K., 1979. Nematocidal Natural Products. In D.L. Whitehead & W.S. Bowers : *Natural products for innovative pest management*. Pergamon Press Oxford.  
Nordbrink-Hertz B., Mattiasson B.O., 1979. Action of a nematode trapping fungus shows lectin-mediated host microorganism interaction. *Nature Lond.* 281.  
Panchaud-Mattei E., 1990. *Etude de biotoxines nématicides*. Rapport DEA, Univ. Aix-Marseille III, 28 pp.  
Pellerin B., 1991. *Etudes préliminaires sur le comportement dans le sol de nouvelles molécules nématicides (Brevet INRA n° 8911212)*. Mémoire DAA ENSA Montpellier, 30 pp.  
Putter J.G., MacConnel F.A., Preiser F.A., Haidri A.A., Ristish S.S., Dybas R.A. (1981). Avermectins : novel insecticides, acaricides and nematocides from a soil microorganism. *Experientia*, 37, 963-964.  
Sayre R.M., Wergin W.P., Sturhan D., 1991. Comparison of the fine structure of *Pasteuria sp.* from *Heterodera glycines* with a related bacterium parasitizing *Heterodera goettingiana*. *Nematologica*, 36, 390.  
Sayre R.M., Starr M.P., 1985. *Pasteuria penetrans* (ex Thorne 1940) nom. rev., comb. n., sp. n., a mycelial and endospore-forming bacterium parasitic in plant-parasitic nematodes. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 52, 149.  
Sayre R.M., Starr M.P., 1988. Bacterial diseases and antagonisms of nematodes. In G.O. Poinar & H.B. Jansson. *Disease of Nematodes*, 1, CRC Press Inc, Florida, 69-101.  
Sikora R.A., Schonbeck F., 1975. *Biological and Genetic Control*, Reports of the VII International Plant Protection Congress, Moscou, 158-166.

- Sturhan D., Schneider R., 1980. *Hirsutella heteroderae*, ein neuer Nematoden parasitärer Pilz, *Phytopathol.*, Z, 99, 105-115.
- Tribe H.T., 1980. Prospects for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Parasitology*, 81, 619-639.