

## Résumé

La recherche de caféiers résistants constitue l'axe central de la protection contre les nématodes en Amérique centrale. Des approches taxinomiques nouvelles ont révélé une importante biodiversité au sein des genres *Meloidogyne* et *Pratylenchus*. Des résistances aux espèces présentes de ces deux genres ont pu être détectées chez *Coffea canephora*. Utilisé comme porte-greffe, ce matériel assure une protection efficace des plantations de *C. arabica*. Ces résistances incomplètes à déterminisme polygénique sont difficilement contournables. Comme leur expression dépend néanmoins de l'état physiologique de la plante, leur exploitation durable requiert une gestion agronomique optimale des caféières.

## Abstract

Developing resistant coffee varieties is the cornerstone of nematode control in Central America. New taxonomic approaches have revealed the significant biodiversity of the genera *Meloidogyne* and *Pratylenchus*. Resistance to the species of these two genera found in the region has been detected in *Coffea canephora*. When used as a rootstock, this material provides effective protection for *C. arabica* plantations. These polygenically determined types of resistance are difficult to overcome, but as its expression depends on the physiological condition of the plant, its sustainable use calls for optimum agronomic management of coffee plantations.

## Resumen

La búsqueda de cafetos resistentes constituye el eje central del control de nematodos en América Central. Nuevos enfoques taxonómicos revelaron una importante biodiversidad dentro de los géneros *Meloidogyne* y *Pratylenchus*. Se detectaron en *Coffea canephora* resistencias a las presentes especies de ambos géneros de nematodos. Utilizado como porta-injerto, *C. canephora* permite un manejo eficiente de estos parásitos en los cafetales de *C. arabica*. Es difícil que estas resistencias incompletas con determinismo genético poligénico puedan romperse. Sin embargo, ya que su expresión depende del estado fisiológico de la planta, el uso duradero de estas resistencias requiere de un manejo agronómico óptimo.

# Protection intégrée des caféières d'Amérique centrale contre les nématodes



Villain L.<sup>1</sup>, Baujard P.<sup>2</sup>, Anzueto F.<sup>3</sup>,  
Hernández A.<sup>4</sup>, Sarah J.L.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Cirad-cp, c/o Ilica/Promecafe, 1a av. 8-00 Zona 9,  
Guatemala Ciudad, Guatemala

<sup>2</sup>Ird, laboratoire de nématologie, BP 1386, Dakar, Sénégal  
Promecafe, 5a Calle 0-50 Zona 14, Guatemala Ciudad, Guatemala

<sup>4</sup>Fundación Procafe, av. Manuel Gallardo, Frente a Residencial Monte Sión, Santa Tecla,  
La Libertad, Salvador

<sup>5</sup>Cirad-amis, TA 40/02, avenue Agropolis, 34398 Montpellier Cedex 5, France

Les nématodes sont responsables de très importants dommages dans les caféières de la plupart des pays d'Amérique latine (Campos *et al.*, 1990). En Amérique centrale, à l'exception du Honduras où un parasitisme important des caféiers par les nématodes n'est signalé que dans une zone réduite, frontalière avec le Nicaragua, tous les autres pays de la région sont confrontés à une infestation généralisée de la plupart de leurs régions productrices de café par ces parasites (Villain *et al.*, 1999). En outre, la plupart des variétés actuellement cultivées de *Coffea arabica*, espèce majoritairement implantée dans l'isthme, sont sensibles à un grand nombre de nématodes phytoparasites présents dans cette région (Hernández, 1997 ; Bertrand *et al.*, 1999 ; Villain *et al.*, 1999 ; Villain *et al.*, 2000). On a donc affaire à une contrainte phytosanitaire de première importance économique pour la caféiculture d'Amérique centrale. Pour cette culture pérenne, aux pertes de production occasionnées par les attaques de nématodes il faut ajouter les coûts élevés de replantation afin de maintenir une densité optimale de plantation dans

les caféières où la mortalité des plants infestés est parfois élevée. Les nématodes ne constituent pas un problème récent dans les zones traditionnelles de culture de *C. arabica*, parfois implantées depuis plus d'un siècle. Dès 1898, Zimmermann observe à Java la quasi-destruction de plantations de *C. arabica*, à la suite des attaques de nématodes appartenant à l'espèce qu'il décrit comme *Pratylenchus coffeae*. En 1935, Alvarado fait état de graves dégâts occasionnés par des attaques de *Pratylenchus* et de *Meloidogyne* sp dans des plantations de caféiers Arabica du Guatemala. Cependant, du fait de leur habitat tellurique, de leur taille submicroscopique, ainsi que de l'absence de symptômes caractéristiques au niveau des organes aériens, la présence des nématodes phytoparasites n'est souvent pas soupçonnée. De ce fait, l'importance économique du parasitisme des caféiers par les nématodes est longtemps restée sous-estimée. Toutefois, la prise de conscience de l'importance de l'impact des nématodes dans le processus d'intensification de la caféiculture ont conduit à développer une coopération

régionale entre les institutions membres de l'Iica/Promecafé (Programa Cooperativo para la Protección y Modernización de la Caficultura en Centroamérica, República Dominicana y Jamaica), le Cirad et l'Ird pour établir des stratégies de protection intégrée contre les nématodes des caféiers.

## Une contrainte phytosanitaire difficile à détecter et à évaluer

### Une symptomatologie atypique

Les dommages causés aux racines par les nématodes entraînent des dysfonctionnements de la nutrition minérale et des relations hydriques de la plante (Wilcox-Lee et Loria, 1987). Ces perturbations physiologiques se traduisent par un ralentissement de la croissance et une chlorose du feuillage qui peut évoluer vers un dépérissement plus ou moins rapide de la plante. Ces symptômes se manifestent progressivement dans le temps et apparaissent souvent sous forme de foyers plus ou moins diffus. Face à ces symptômes atypiques, les agriculteurs et les vulgarisateurs ont souvent tendance à incriminer des facteurs édaphiques tels que des carences ou toxicités minérales, des pH trop faibles ou bien des déficits hydriques. Lorsque des dépérissements de caféiers confirment la présence de nématodes, il est souvent trop tard pour intervenir avec des méthodes curatives, ces symptômes étant l'expression d'un système racinaire déjà largement détruit. Même au niveau racinaire, la reconnaissance des symptômes n'est pas toujours facile, notamment dans le cas d'attaques de *Pratylenchus* spp. (nématodes des lésions des racines) qui se traduisent par des nécroses non caractéristiques du cortex racinaire. Les symptômes liés aux attaques de *Meloidogyne* spp. (nématodes à galles des racines) sont généralement plus facilement reconnaissables du fait de la production caractéristique de galles pour certaines espèces ou de symptômes spectaculaires pour d'autres. Cela explique en partie que ce dernier genre soit rendu responsable de la majorité des problèmes de parasitisme tellurique.

### Nécessité, utilité et limites du diagnostic nématologique

La difficulté d'identifier les symptômes occasionnés par les nématodes rend donc nécessaire le diagnostic nématologique (Sarah, 1996). Dans les pépinières, le diagnostic nématologique est indispensable afin de s'assurer de ne pas disséminer les

populations de nématodes phytoparasites, en particulier des espèces et des pathotypes particulièrement pathogènes pour les caféiers. Ces mesures prophylactiques revêtent une importance toute particulière vu que les principaux facteurs de dissémination des nématodes sont liés au transport de matériel végétal ou de sol et que les populations de ces parasites peuvent difficilement être éradiquées une fois installées au champ. Dans les plantations, le diagnostic nématologique est un outil de décision important. Toutefois, son objectif n'est pas d'informer sur la nécessité ou non d'appliquer des méthodes de lutte chimiques curatives, peu efficaces et qui nécessitent une continuité des traitements, sous peine de voir les niveaux de populations de ces parasites augmenter à nouveau et dépasser leur seuil de nocuité économique<sup>1</sup> (Campos *et al.*, 1990 ; Villain *et al.*, 1999). De plus, il n'est pas possible de définir des seuils de nocuité économique standard car ils dépendent d'un grand nombre de facteurs biotiques et abiotiques locaux (Sarah, 1996). Il faut notamment tenir compte de la grande variabilité du pouvoir pathogène entre les différentes espèces de nématodes parasitant les caféiers. De plus, on trouve des peuplements complexes, comme c'est souvent le cas en milieu tropical (Luc et Reversat, 1985), avec différents genres et espèces parasitant en même temps les caféiers. Comment pondérer les niveaux de populations de chacune des espèces présentes ? Par ailleurs, d'autres pathogènes telluriques secondaires (champignons ou bactéries) peuvent être associés aux attaques de nématodes et contribuer au degré de gravité des dégâts observés. C'est le cas par exemple, au Costa Rica, de l'association entre *Fusarium oxysporum* et *Meloidogyne arabicida* qui entraîne le développement du syndrome localement nommé « corchosis » ou « corky root disease » (dilatations liégeuses des racines) (Bertrand *et al.*, 2000a). Le degré de sensibilité de la plante peut varier selon son génotype, son âge et le fait qu'elle soit greffée ou non. L'incidence des nématodes sur les caféiers va dépendre également des conditions édaphiques, surtout de la fertilité des sols, et de la durée et l'intensité des périodes de déficit hydrique, principal stress d'origine climatique dans la plupart des régions de production de café en Amérique latine (Sarah, 1996). L'évaluation des niveaux de populations est délicate du fait de la dispersion agrégative des nématodes qui implique des méthodologies d'échantillonnage très précises et parfois

contraignantes (Sarah, 1991 ; Cilas *et al.*, 1993). Le niveau de population observé va également dépendre de l'époque d'échantillonnage puisque les populations de nématodes fluctuent en fonction des rythmes phénologiques des caféiers en interaction avec les alternances climatiques saisonnières. C'est le cas pour *Pratylenchus* spp. (Villain, 2000) et pour *Meloidogyne* spp. (Huang *et al.*, 1984 ; Toledo et Sierra, 1999). Enfin, les méthodes et matériels d'extraction utilisés varient beaucoup d'un laboratoire à l'autre, or ils peuvent influencer sur les niveaux de populations détectés. Cela rend difficiles les comparaisons de données.

Le diagnostic nématologique doit donc être considéré comme un outil permettant principalement de confirmer ou d'infirmer la présence des nématodes. Il devrait être systématique dans les pépinières, les vieilles caféières à rénover, les nouvelles plantations, ou chaque fois qu'apparaît un syndrome de dépérissement des caféiers. S'il permet dans la plupart des cas d'identifier les genres présents, il devrait également permettre d'identifier les espèces, voire les pathotypes. Cependant l'identification au niveau spécifique et infraspécifique (pathotype) requiert souvent l'utilisation d'outils dont peu de laboratoires de diagnostic sont équipés, pour des analyses enzymatiques et moléculaires, des observations en microscopie électronique à balayage ou des analyses biologiques de nocuité. Ces identifications sont pourtant nécessaires au choix des stratégies de lutte à mettre en œuvre, en particulier celui du matériel génétique à utiliser. Cela passe par la mise au point de techniques de diagnostic plus faciles à mettre en œuvre et la réalisation systématique d'enquêtes nématologiques permettant d'inventorier les différents espèces et pathotypes.

## Particularités de la caféiculture d'Amérique centrale

### Un système de monoculture favorable aux nématodes

La caractéristique principale de la caféiculture en Amérique centrale est son mode monoculturel sur de vastes zones, implanté à la fin du siècle dernier sans qu'il y ait eu

1. Niveau de population du parasite à partir duquel les pertes économiques qu'il provoque sont supérieures au coût de la lutte contre ce même parasite.

généralement de rotations culturales. Ce mode de culture a pu favoriser, sur le long terme, le développement et la dissémination de populations de nématodes bien adaptées à cette plante hôte.

#### Des agro-écosystèmes sensibles rendant délicates certaines interventions phytosanitaires

En Amérique centrale, la culture de l'Arabica est implantée essentiellement en zones de montagne soumises à des climats caractérisés par des précipitations de forte intensité mais aussi des périodes de déficit hydrique très marquées. Les agro-écosystèmes sont fragiles, en particulier au niveau édaphique : les sols, fréquemment de nature volcanique, présentent des processus de minéralisation de la matière organique très lents, une texture sableuse favorisant l'infiltration des eaux et, par conséquent, le déplacement de la plupart des nématodes, et une sensibilité aux phénomènes d'érosion. L'impact des parasites telluriques tels les nématodes est donc souvent exacerbé. De par leur implantation entre 800 et 1 600 m d'altitude dans les bassins versants agricoles, les caféières jouent également un rôle important dans le cycle de l'eau. Elles constituent des zones importantes de ruissellement d'eaux superficielles, mais surtout d'infiltration d'eaux souterraines, en particulier sur les sols andiques filtrants. L'utilisation de nématicides à fortes toxicité et solubilité dans l'eau peut donc constituer une source importante de contamination des eaux de surface et des nappes phréatiques.

#### L'intensification de la caféiculture et ses effets sur les populations de nématodes et leur incidence

Pour ces agro-écosystèmes fragiles, l'intensification de la caféiculture en Amérique centrale depuis le début des années 70, n'a pas été sans conséquences sur l'incidence des attaques de nématodes. L'un des changements importants dans les pratiques culturales a été la diminution ou suppression de l'ombrage qui a permis d'augmenter la productivité des caféiers mais les a rendu plus sensibles aux attaques de nématodes. Du fait de certaines de leurs particularités physiologiques, l'équilibre nutritionnel des caféiers Arabica en relation avec l'exposition au soleil est très important. En effet, les caféiers, dont la floraison est beaucoup plus importante en plein soleil, présentent la singularité, parmi les plantes ligneuses pérennes, de ne pas posséder de mécanisme leur permettant de purger l'excès de

charge en fruits en fonction de leurs ressources en hydrates de carbone et en minéraux (Cannell, 1985). Tout événement limitant la nutrition, tel que le dépérissement racinaire occasionné par les attaques de nématodes, et intervenant durant la période de remplissage des grains, peut donc avoir des conséquences graves sur le devenir des caféiers. De fait, des études de fluctuations de populations de *Pratylenchus* réalisées au Guatemala montrent que des pics de population de grande amplitude apparaissent au début de la période de remplissage des grains — en juin-juillet, début de saison des pluies — aboutissant à une destruction rapide et importante des racines absorbantes (Villain *et al.*, 2000). La suppression des arbres d'ombrage a d'autres répercussions négatives puisqu'ils ont une fonction régulatrice des facteurs climatiques tels que les déficits hydriques et les températures diurnes élevées, en particulier dans les régions où la saison sèche est marquée, créant ainsi un microclimat favorable aux caféiers (Willson, 1985 ; Beer *et al.*, 1998). En outre, l'apport de matière organique par ces arbres d'ombrage, du fait de la chute des feuilles mais surtout de la taille réalisée en fin de saison sèche, contribue à l'amélioration de la fertilité des sols. Ces effets multiples de l'ombrage peuvent donc avoir une influence sur la tolérance globale aux différents stress d'origine abiotique (agressions climatiques, carences minérales) ou biotiques, telles les attaques de nématodes, et sur le degré de sensibilité ou de résistance du matériel végétal considéré. La formation de litière plus abondante dans les caféières sous ombrage peut également avoir des effets dépressifs sur certaines populations de nématodes phytoparasites en favorisant le développement d'une microfaune et d'une microflore antagonistes (Sayre, 1971 ; Norton, 1978 ; Stirling, 1991). Au Guatemala, dans une région où la saison sèche est bien marquée, les niveaux de populations de *Pratylenchus* sp. dans les racines de portegreffes *C. canephora*, partiellement résistants à ce nématode, sont négativement corrélés avec l'indice d'ombrage des parcelles (Villain *et al.*, 2000). Aucun effet significatif de l'ombrage n'a été observé sur les niveaux de populations de *Pratylenchus* sp. dans les racines de caféiers Arabica de pied franc, probablement du fait d'une sensibilité aiguë de ces plants masquant tout effet positif de l'ombrage. Des études doivent être engagées afin d'évaluer et de préciser l'impact des pratiques culturales sur l'expression globale des facteurs de résistance aux nématodes.

L'intensification de la caféiculture a eu également recours à de nouvelles variétés de port bas, avec tout d'abord le Caturra et le Catuai puis, beaucoup plus tard et de façon plus discrète, avec les Catimor et Sarchimor (Bertrand *et al.*, 1999). La haute productivité de ces variétés est cependant apparemment en relation avec une moindre tolérance de ce matériel génétique aux attaques de nématodes car la création variétale n'avait alors pas pris en compte le caractère de résistance aux nématodes dans les schémas de sélection, au contraire de la résistance à la rouille orangée (*Hemileia vastatrix*) considérée lors de son introduction en Amérique latine comme un fléau pour sa caféiculture (Bertrand *et al.*, 1999). En outre, l'intensification des fertilisations azotées, requise par ces variétés très exigeantes au plan nutritionnel et plantées à haute densité, a souvent provoqué une acidification des sols engendrant des déséquilibres nutritionnels de la plante (Bornemiza *et al.*, 1999) et augmentant ainsi l'incidence des attaques de nématodes. Par ailleurs, l'augmentation des densités de plantation a pu favoriser une dissémination plus rapide des nématodes à partir des foyers d'infestation, les systèmes racinaires des caféiers s'interpénétrant alors très rapidement au cours de leur croissance.

### Pourquoi une protection intégrée contre les nématodes ?

#### Les limites de la lutte chimique

Dans ces systèmes intensifs de production, les traitements nématicides constituent une méthode de lutte encore largement employée, souvent de façon peu ou mal raisonnée. Leur usage se heurte cependant à un certain nombre d'obstacles. Le coût élevé des nématicides rend ces produits souvent inutilisables par les petits producteurs. Pour les grandes et moyennes exploitations, les crises aiguës et successives du marché international du café, en particulier depuis la suspension des quotas d'exportation, ont obligé ces producteurs à réduire et optimiser leurs coûts de production. Cela s'est traduit, au moment des conjonctures économiques les plus critiques telles que celle que traverse actuellement ce secteur agricole, par une réduction ou une suppression des traitements nématicides sans pour autant appliquer d'autres techniques de lutte. Même les traitements préventifs des pépinières, pourtant indispensables dans

de nombreux cas, ont souvent souffert de ces crises. D'un point de vue écologique, leurs caractéristiques de biocides généraux et leur forte toxicité font que les nématicides peuvent avoir un impact négatif sur l'activité biologique des sols. De plus, les conditions édaphiques, topographiques et climatiques qui caractérisent la plupart des zones de production de café augmentent les risques de pollution par les nématicides. Par ailleurs, diverses études ont montré que les nématicides actuellement utilisés en plantation ont une faible efficacité contre les nématodes dans les plantations établies (figure 1) (Campos *et al.*, 1990). Villain *et al.* (2000) ont montré l'inefficacité des traitements nématicides — 2 fois 1 à 2 g de terbufos par an et par plant selon leur âge — pour protéger des caféiers Arabica de pied franc contre des attaques de *Pratylenchus* sp. Ces auteurs ont, en revanche, mis en évidence une augmentation de la production de plants greffés sur *C. canephora* d'environ 10 % grâce à ces traitements nématicides. La justification économique de ces applications dépend alors du coût du nématicide employé, du coût de la main-d'œuvre et du prix de vente du café. L'efficacité des traitements nématicides pourrait peut-être être améliorée par une augmentation des fréquences d'application et des doses appliquées par plante, en particulier en tenant compte de l'âge de la plante afin d'adapter les doses à la taille croissante du système racinaire qui doit être protégé dans sa totalité. Cette intensification des applications de nématicides semble cependant peu envisageable, leurs modalités d'application actuelles étant déjà peu compatibles avec les contraintes économiques et écologiques évoquées précédemment. Il faut donc considérer leur usage comme un outil de protection limité à l'assainissement des substrats de pépinières, en attendant le développement d'autres méthodes efficaces et économiques permettant d'éviter la contamination des pépinières.

#### Les méthodes alternatives : leurs complémentarités et les difficultés de leur mise en œuvre

Ces différentes contraintes ainsi que la faible efficacité des nématicides au champ rendent la recherche de méthodes de lutte alternatives indispensable à l'exploitation durable de *C. arabica* dans les systèmes de production intensifiés d'Amérique centrale. Dans le cadre de ce schéma de développement, impulsé par la coopération entre le Cirad, l'Ird et Promecafé, la sélection de matériel génétique présentant des résis-

tances aux différents nématodes présents dans cette région a été privilégiée comme base de développement d'une protection intégrée contre ces parasites (Bertrand *et al.*, 1999 ; Villain *et al.*, 1999). Cette recherche de résistances requiert une bonne connaissance des espèces ou pathotypes présents sur les caféiers.

Les méthodes de lutte culturales et biologiques contre les nématodes restent encore très peu utilisées pour la culture du caféier. Il convient cependant d'investir pour étudier leurs possibilités d'application aux caféières. L'usage de jachères ou de rotations culturales recourant notamment à des plantes à propriétés nématicides ou inductrices d'effets suppressifs sur les populations de nématodes phytoparasites est couramment employé sur d'autres cultures tropicales (Sarah, 1996) et leur application aux caféières est à étudier. La lutte biologique par utilisation de micro-organismes antagonistes tels que des bactéries (*Pasteuria penetrans*), des champignons, des nématodes prédateurs ou autres, est une voie à explorer. La plupart de ces organismes ont cependant un certain niveau de spécificité antagoniste, parasitaire ou prédatrice vis-à-vis des nématodes phytoparasites (Stirling, 1991) à mettre en parallèle avec la diversité de la faune nématologique. Il faudrait donc probablement envisager l'emploi simultané de différents agents biologiques aux antagonismes complémentaires en fonction des espèces et pathotypes de nématodes phytoparasites présents. Toutes les tentatives de contrôle biologique des populations de nématodes phytoparasites menées dans le monde sont restées vaines. De nombreuses études de toutes ces voies sont encore nécessaires pour leur mise en œuvre (Sikora *et al.*, 2000).

### Biodiversité du complexe nématologique des caféiers d'Amérique centrale

L'inventaire et la caractérisation biologique de la biodiversité de la faune nématologique parasite des caféiers constituent donc une priorité de recherche en vue d'élaborer des méthodes de lutte adaptées aux peuplements de nématodes présents sur les caféiers. Les nématodes sont souvent appréhendés par les producteurs ou les vulgarisateurs comme un seul et même problème phytosanitaire bien que ceux occa-

sionnant le plus de dommages sur les caféiers d'Amérique centrale soient généralement considérés comme appartenant à deux genres : *Meloidogyne* spp. ou nématodes à galles et *Pratylenchus* spp. ou nématodes des lésions (Campos *et al.*, 1990 ; Villain *et al.*, 1999). Tous deux sont endoparasites, au moins une partie de leur cycle se déroule dans les racines de la plante hôte, mais leurs caractéristiques biologiques sont très différentes. Les connaissances sur les populations de nématodes phytoparasites associées aux caféières de cette région restent très embryonnaires, rares étant les prospections réalisées jusqu'à présent. Les nématodes à galles sont dits sédentaires puisque les néonates (juvéniles de deuxième stade) constituent l'unique stade libre et infestant. Ces nématodes développent avec leur hôte des relations chimiques fines par sécrétion de toxines spécifiques qui induisent chez la plante la formation de sites nutritifs, typiques des galles, indispensables au développement de ces parasites. Il en résulte des niveaux élevés de spécificité dans les relations hôte-parasite. Les nématodes des lésions sont des endoparasites migrants. Tous les stades, des néonates aux adultes, sont libres et susceptibles de migrer dans les racines, ou bien d'en sortir pour migrer dans le sol vers d'autres racines. Le parasitisme de ces nématodes se limite en général au parenchyme cortical des racines. Malgré la relative simplicité de ce parasitisme de nombreuses études ont montré l'existence de spécificités dans les relations hôte-parasite entre différentes espèces, ou entre populations d'une même espèce chez les *Pratylenchus*. Il apparaît donc entre ces deux genres de nématodes phytoparasites des différences biologiques fondamentales qui sont lourdes de conséquences dans le choix des stratégies de protection alternatives à la lutte chimique.

La biodiversité est complexifiée lorsque l'on considère non plus seulement les genres mais toutes les espèces susceptibles de parasiter les caféiers. Cette diversité interspécifique est cependant difficile à appréhender, que ce soit pour les nématodes à galles ou pour les nématodes des lésions. La caractérisation des nématodes, restée trop longtemps fondée sur des critères uniquement morphologiques souvent très variables au niveau spécifique, a pu conduire à des identifications erronées. Cela s'est également soldé soit par la description de nouveaux taxons sans fondements biologiques, soit par une sous-estimation de la diversité des peuplements. Les



études taxinomiques basées sur les observations morpho-anatomiques classiques ne faisaient état, jusqu'au début des années 90, que d'un faible nombre d'espèces de nématodes ayant une importance économique pour la caféiculture en Amérique centrale : *P. coffeae*, *M. incognita* et *M. exigua* (Villain *et al.*, 1999). Depuis, l'emploi d'outils plus performants tel que la microscopie électronique à balayage, l'analyse enzymatique, les études moléculaires ainsi que les études biologiques ont permis de mettre en évidence une biodiversité jusqu'alors insoupçonnée de la nématofaune parasitant les caféiers dans cette région.

#### Cas des nématodes à galles

Les outils taxinomiques classiques, en particulier l'observation des plaques périnéales (motifs cuticulaires présents chez la femelle autour de l'anus, observables au microscope optique), se sont révélés insuffisants pour identifier de manière fiable les espèces de *Meloidogyne* du fait de leur grande variabilité intraspécifique. Les études des systèmes isoenzymatiques (protéines spécifiques), en particulier des estérases maintenant couramment appliquées pour les identifications des espèces du genre *Meloidogyne*, ont permis de mettre en évidence une importante diversité interspécifique des nématodes à galles parasitant les caféiers en Amérique centrale (Hernández, 1997). La présence de *M. exigua* a pu être confirmée au Honduras, au Nicaragua et au Costa Rica. L'étude enzymatique de l'espèce *M. arabicida*, décrite par López et Salazar (1989) selon des critères uniquement morphologiques, a permis de mettre en évidence un profil original (Hernández, 1997), confirmant ainsi la validité de cette espèce. Sa distribution semble encore restreinte à une zone du Costa Rica. La présence de *Meloidogyne arenaria*, espèce jusqu'alors mentionnée une seule fois sur *C. canephora* en Jamaïque, a été mise en évidence au Salvador (Campos *et al.*, 1990). La détection de *M. hapla* dans une région septentrionale du Guatemala, en altitude, constitue également une nouvelle donnée pour la région, cette espèce n'ayant été auparavant observée sur caféiers qu'au Brésil, en Tanzanie, en République démocratique du Congo et en Inde (Campos *et al.*, 1990). Cette espèce, plutôt adaptée aux climats tempérés, a également été récemment détectée sur caféiers dans des zones d'altitude du Salvador, d'après l'observation de plaques périnéales. De nouveaux profils enzymatiques ont également été révélés. Au Guatemala, il s'agirait principalement d'une

espèce dominante morphologiquement proche de *M. incognita* — espèce d'ailleurs considérée comme la plus commune dans ce pays (Chitwood et Berger, 1960) — mais présentant un profil enzymatique original (Anzueto, 1993 ; Hernández, 1997) ; il pourrait s'agir d'une nouvelle espèce au même titre que l'espèce *M. paranaensis* décrite au Brésil et qui a été confondue très longtemps avec *M. incognita* du fait de leur ressemblance morphologique (Carneiro *et al.*, 1996). Au Salvador deux nouveaux profils enzymatiques ont été mis en évidence ; là encore, l'identification spécifique de ces deux biotypes reste à réaliser (Hernández, 1997).

Cette diversité de nématodes à galles parasitant les caféiers en Amérique centrale se traduit également par une importante variabilité du pouvoir pathogène sur *C. arabica*. Aucun dégât important au champ n'a pu être associé à la présence de *M. exigua* dans les plantations agronomiquement bien conduites d'Amérique centrale, cela malgré une forte capacité parasitaire observée en conditions contrôlées au laboratoire sur *C. arabica* (Hernández, 1997). *M. arenaria* montre, en conditions contrôlées d'inoculation, une capacité reproductive importante, similaire à celle de *M. exigua* sur les différentes variétés ou lignées semi-spontanées de *C. arabica* (Hernández, 1997). Cette espèce devrait donc être considérée comme un parasite majeur sur caféiers bien qu'il n'y ait pas de données concernant sa nocuité au champ. Les populations de *Meloidogyne* sp. du Guatemala ont un très fort pouvoir pathogène sur tous les cultivars d'Arabica (Anzueto, 1993 ; Hernández, 1997). Les symptômes se traduisent par la formation d'expansions liégeuses — subérisation extrême du cortex radulaire — sur toutes les racines lignifiées et même au niveau du pivot, allant jusqu'à une destruction totale du système radulaire. Ce syndrome, communément appelé « corchosis », a été observé avec la même gravité lors des attaques de *M. arabicida* au Costa Rica, pouvant entraîner la destruction de plantations entières (Lopez et Salazar, 1989 ; Bertrand *et al.*, 2000a). Ce syndrome a aussi été observé dans d'autres régions lors d'attaques de *M. konaensis* à Hawaii (Eisenback *et al.*, 1994), de *M. paranaensis* au Brésil (Carneiro *et al.*, 1996) ainsi que de populations identifiées comme *M. incognita* au Mexique (Castillo *et al.*, 1995). L'une des deux espèces non identifiées du Salvador présente également une forte nocuité au champ, occasionnant une morta-

lité importante dans les plantations de *C. arabica*. La nocuité au champ de *M. hapla* sur *C. arabica* semble élevée (Hernández, communication personnelle).

#### Cas des nématodes des lésions

*Pratylenchus coffeae*, initialement décrit sur des caféiers à Java par Zimmermann (1898), est l'espèce du genre la plus citée sur ces arbres et on lui attribue d'importants dégâts en pépinières et en plantations (Campos *et al.*, 1990 ; Villain, 2000). Bridge *et al.* (1997) avancement l'hypothèse que ce nématode pourrait avoir la même origine géographique que les bananiers et plantains, c'est-à-dire les îles du Pacifique et les pays limitrophes d'Asie, à partir desquels il aurait été disséminé à travers le monde par le transport de matériel. Plus tard, deux nouvelles espèces morphologiquement proches de *P. coffeae* ont été décrites sur caféiers au Panama (*P. panamaensis*, Siddiqi *et al.*, 1991) et au Costa Rica (*P. gutierrezii*, Golden *et al.*, 1992). Leur pouvoir pathogène sur caféiers n'est cependant pas connu. L'identification, selon des critères morphologiques classiques, d'une population de *Pratylenchus* prélevée sur caféiers au Guatemala a ensuite conduit à des résultats contradictoires entre les laboratoires consultés : *P. coffeae*, *P. loosi* ou *P. gutierrezii* (Villain, 2000). Cet exemple illustre bien la difficulté qu'il y a à identifier les espèces de ce genre sténomorphique (Luc, 1987).

Une étude a donc été entreprise pour caractériser des populations de *Pratylenchus* collectées sur caféiers et sur divers sites géographiques du Guatemala présentant des conditions agro-écologiques variées. Cette caractérisation s'est faite selon une approche intégrée utilisant quatre types de recherche. Des études morphologiques ont utilisé la microscopie électronique à balayage pour observer les caractères stables au niveau intraspécifique et discriminants entre espèces (Corbett et Clark, 1983 ; Baujard *et al.*, 1990). Des études biologiques du mode de reproduction, de l'interfécondité des populations entre elles, de la capacité reproductive *in vitro* en fonction de la température, de la dynamique de pénétration, ainsi que de capacité reproductive et du pouvoir pathogène sur *Coffea* spp. (photo 1) ont aussi été réalisées. Des études de fluctuations saisonnières de populations en caféières et des études de nocuité au champ ont en outre été conduites. Enfin, des études moléculaires (Hervé, 1997 ; Villain *et al.*, 1998 ; Villain, 2000 ; Villain *et al.*, 2000) ont complété les informations obtenues.



Photo 1.

*Coffea arabica* âgés de 8 mois avec de gauche à droite : plant témoin ; plants infestés à l'âge de 2 mois avec : 1) un isolat de *Pratylenchus* sp.1 (similaire à *P. coffeae sensu lato*) ; 2 et 3) deux isolats de *Pratylenchus* sp.2 (différente de *P. coffeae sensu lato*). / Eight month aged *Coffea arabica* with from left to right: control plant ; plants infested on two month aged with: 1) one isolate of *Pratylenchus* sp.1 (closed to *P. coffeae sensu lato*) ; 2 and 3) two isolates of *Pratylenchus* sp.2 (different from *P. coffeae sensu lato*).

nues pour ces populations de *Pratylenchus*. Ces travaux ont mis en évidence une biodiversité entre ces populations à mode de reproduction amphimictique (sexuée) obligatoire avec la différenciation de deux groupes isolés sur les plans reproductif, morphologique, biologique et moléculaire.

Trois populations du Guatemala, interfécondes et similaires sur le plan morphologique et selon les paramètres biologiques étudiés, appartiendraient à une même espèce, autre que *P. coffeae* ou *P. loosi* (Villain *et al.*, 1998). L'une de ces trois populations présente des caractéristiques biologiques *in vitro* semblables et une grande similitude génomique avec une population prélevée sur caféiers au Salvador (Hervé, 1997) et une proximité génétique (séquence D2/D3 de l'ADNr) ainsi qu'une importante similitude morphologique avec une population prélevée sur caféiers au Costa Rica (Duncan *et al.*, 1999), population qui s'est révélée par ailleurs génétiquement éloignée des topotypes<sup>2</sup> de *P. gutierrezii*. Il pourrait donc s'agir d'une espèce nouvelle ou bien d'une espèce déjà décrite mais non mentionnée sur caféiers. Deux de ces populations du Guatemala ont montré une capacité reproductrice et un pouvoir pathogène élevés sur *C. arabica* cv. Catuai, en conditions d'inoculations contrôlées (photo 1) (Villain *et al.*, 1998 ; Villain, 2000) en accord avec la forte nocuité au champ observée pour certaines de ces populations (Villain, 2000 ; Villain *et al.*, 2000). Si ces différentes populations du Guatemala, du Salvador et du Costa Rica

appartenaient effectivement à une seule et même espèce de *Pratylenchus*, celle-ci serait probablement largement distribuée en Amérique centrale. Selon les études de fluctuations de populations au champ, il semble de plus que cette espèce soit bien adaptée à une large gamme d'altitudes, de 450 à 1 200 m, donc à la plupart des conditions climatiques des diverses zones de culture de l'Arabica en Amérique centrale.

Par ailleurs, deux autres populations se sont montrées très similaires morphologiquement avec une capacité reproductrice et un optimum thermique *in vivo* semblables. Ces deux populations sont isolées sur le plan reproductif et leur pouvoir pathogène sur *C. arabica* est très différent (Villain *et al.*, 1998). L'une, collectée à basse altitude (400 m) en limite de la plaine côtière du Pacifique et sur porte-greffes *C. canephora*, présente une très forte capacité parasitaire et un très fort pouvoir pathogène sur *C. arabica* (photo 1). L'autre, originaire d'une région septentrionale et collectée sur caféiers Arabica à une altitude de 1 200 m, est très peu pathogène sur *C. arabica*. Leurs caractéristiques morphologiques et biologiques coïncident avec celles mentionnées pour *P. coffeae sensu lato*. Il pourrait s'agir de deux espèces jumelles<sup>3</sup>.

La clarification du statut taxinomique des populations de *Pratylenchus* qui parasitent les caféiers nécessite la révision des espèces déjà décrites et morphologiquement proches en les caractérisant au niveau morphologique, biologique et moléculaire. Un grand nombre d'identifications précédentes des nématodes des lésions parasitant les caféiers, et même certaines descriptions d'espèces morphologiquement proches de *P. coffeae*, voire de lui-même — d'après Baujard, la localité type de ce taxon n'a jamais été précisément identifiée — doivent être remises en question. Pour les espèces amphimictiques, des études d'interfécondité devront alors être réalisées entre populations collectées et topotypes des espèces décrites, en appliquant le concept biologique d'espèce<sup>4</sup>. Le pouvoir pathogène variable mais tout de même élevé pour la plupart des populations étudiées montre l'importance qu'il faut prêter aux nématodes des lésions, souvent considérés en caféiculture comme secondaires par rapport aux nématodes à galles.

#### Nécessité d'enquêtes au niveau régional

La diversité observée sur un nombre restreint de populations appartenant aux deux genres *Meloidogyne* et *Pratylenchus*

oblige à mener, au niveau régional, des enquêtes représentatives de toutes les zones de production de café afin de faire l'inventaire complet des espèces et pathotypes parasites du caféier et d'établir leur répartition géographique. A cette fin, de nouveaux projets communs ont été mis en place par le Cirad, l'Ird et l'Inra. Ils visent à compléter l'inventaire et la cartographie des espèces de *Meloidogyne* et *Pratylenchus*, caractériser ces espèces et pathotypes, en particulier pour leur pouvoir pathogène sur *Coffea* spp., et identifier des outils de diagnostic taxinomiques fiables et utilisables pour les études de routine.

### Perspectives de protection intégrée contre le complexe nématologique parasite des caféiers

Face à cette biodiversité des nématodes pathogènes des caféiers d'Amérique centrale, il devient plus complexe à mettre en place la lutte génétique au niveau régional du fait de la nécessité de trouver des génotypes présentant des résistances aux multiples espèces et pathotypes présents dans la région.

#### Sources de résistance aux nématodes à galles d'Amérique centrale chez *Coffea* spp.

Certains cultivars des Catimor et Sarchimor sont résistants à *M. exigua* (Bertrand *et al.*, 1999). Au sein de l'espèce *C. arabica*, des niveaux de résistance aux populations de *Meloidogyne* sp. du Guatemala intéressants ont été observés chez certaines lignées semi-spontanées d'origine éthiopienne (Anzueto, 1993 ; Hernández, 1997). En revanche, celles-ci ne présentent pas de grand intérêt vis-à-vis de *M. exigua*, *M. arenaria* ou des deux espèces du Salvador à profils esterasiques nouveaux (Hernández, 1997). Ces lignées éthiopiennes présentent donc un intérêt comme source de résistance à au moins certaines populations de *Meloidogyne*. Elles seraient à utiliser dans les programmes d'amélioration actuels, tant pour la création d'hybrides F1 Arabica

2. Individus collectés sur le lieu d'origine de la population type de l'espèce.

3. Populations naturelles morphologiquement similaires ou identiques et manifestant un isolement reproductif.

4. Les espèces sont des groupes de populations naturelles interfécondes, isolées du point de vue reproductif des autres groupes équivalents.

que pour la création de porte-greffes Arabusta par croisement interspécifique avec certains clones de *C. canephora* porteurs également de gènes de résistances aux nématodes (Bertrand *et al.*, 1999). Au Guatemala, où la pratique du greffage est pratiquée depuis plus de trente ans, les observations empiriques au champ ont mis en évidence la sensibilité à l'espèce de *Meloidogyne* présente dans ce pays de la plupart des porte-greffes *C. canephora* utilisés (Villain *et al.*, 1999). Des études ont en effet montré que la plupart des clones provenant de la collection du Catie étaient sensibles à ces populations de nématodes (Anzueto, 1993). Deux clones ont cependant un bon niveau de résistance aux populations de *Meloidogyne* sp. du Guatemala (photo 2) mais aussi à l'une des deux espèces non identifiées détectées au Salvador (Bertrand *et al.*, 2000b). Ces deux clones de *C. canephora* ont permis par croisement (espèce allogame) la création de la variété hybride Nemaya (Bertrand *et al.*, 1999). Il semble que chez *C. arabica* les résistances aux *Meloidogyne* soient gouvernées par un ou deux gènes alors que dans le cas de *C. canephora*, la base génétique de ces résistances serait beaucoup plus complexe avec un déterminisme probablement polygénique (Bertrand *et al.*, 2000b et 2000c).

#### Sources de résistance aux nématodes des lésions d'Amérique centrale chez *Coffea* spp.

Le greffage sur *C. canephora* (photo 3), pratique maintenant largement diffusée au Guatemala dans les zones infestées par *Pratylenchus*, permet de lutter efficacement contre ces nématodes, même dans le cas de porte-greffes non sélectionnés

(figure 1 ; photo 4) (Villain *et al.*, 2000). Cette pratique a été mise en application dans ce pays, il y a plus de trente ans, sans que la résistance de *C. canephora* aux *Pratylenchus* ait été alors démontrée, mais en argumentant plutôt des phénomènes de tolérance (Schieber, 1966 ; Reyna, 1968). Des études récentes ont tout de même permis de montrer qu'il existe réellement des facteurs de résistance à *Pratylenchus* spp. chez *C. canephora* (Villain, 2000 ; Villain *et al.*, 2000). Au stade préinfectieux, une faible attractivité de *C. canephora* cv. Nemaya pour deux populations de *Pratylenchus* du Guatemala appartenant à deux espèces différentes a pu être observée. Toutefois, aucune structure histologique susceptible d'empêcher ou de freiner la pénétration des nématodes n'a été décelée. Aux stades post-infectieux, des facteurs de résistance ont également été observés chez une descendance libre de l'un des parents du cv. Nemaya vis-à-vis d'une population de *Pratylenchus* du Guatemala. Ces résultats sont à mettre en relation avec la présence abondante de polyphénols dans les racines de plantules du cv. Nemaya et non dans les racines du cv. Catuai (Villain, 2000). La présence, en l'absence de nématodes, de nombreuses cellules de stockage de composés phénoliques dans les racines du cv. Nemaya indique qu'il s'agit probablement de mécanismes de défense de type constitutif, c'est-à-dire qui ne nécessitent pas d'être induits par les attaques du parasite. Une corrélation entre le niveau de résistance à *P. coffeae* de différents clones de *C. canephora* et leur concentration en polyphénols a d'ailleurs été observée en Indonésie (Toruan-Mathius *et al.*, 1995). L'importante variabilité de cette résistance



Photo 3. Pépinière de plants Arabica récemment greffés au stade cotylédonaire sur *Coffea canephora* (« petit soldat » et « papillon »). Nursery of Arabica plants recently grafted at cotyledonary stage onto *Coffea canephora* ("soldier" and "butterfly").

observée par ces auteurs entre différents clones de *C. canephora*, certains s'avérant très sensibles, ainsi que l'importante variabilité génétique révélée chez *C. canephora* (Leroy, 1993) conduisent à considérer la résistance aux *Pratylenchus* spp. comme un critère indispensable de sélection dans les programmes de création de porte-greffes chez *C. canephora*. Il convient cependant de déterminer avec précision la nature des facteurs de résistance et leur niveau de spécificité vis-à-vis des différents espèces et pathotypes de *Pratylenchus* présents dans la région. Si les principaux facteurs de résistance aux *Pratylenchus* sont liés au métabolisme phénolique, on peut espérer que le niveau de spécificité de cette résistance soit faible (Dalmasso *et al.*, 1992). Ces facteurs confèreraient ainsi à la plante un niveau de résistance acceptable aux différents espèces et pathotypes de *Pratylenchus*, de même que la faible attractivité du cv. Nemaya pour deux espèces différentes de *Pratylenchus*. La pratique du greffage sur *C. canephora* apparaît donc comme une méthode efficace et déjà utilisable pour lutter contre les nématodes des lésions comme le recommandaient déjà Schieber (1966) et Reyna (1968) au Guatemala, ainsi que Palanichamy (1973) en Indonésie.

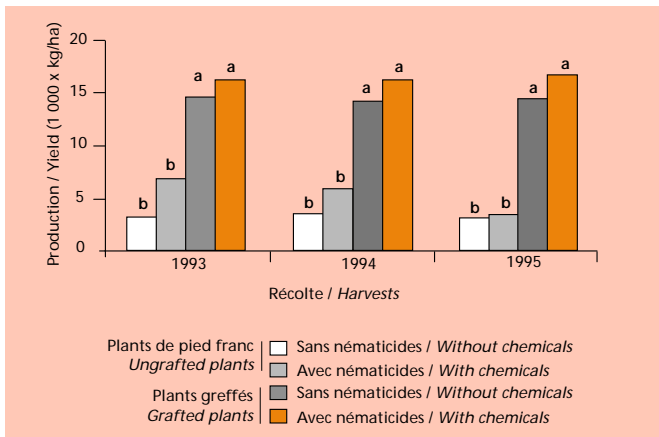
#### Complexité des solutions génétiques pour lutter contre les peuplements de nématodes phytoparasites

Les résultats de la recherche de résistances aux nématodes chez *Coffea* spp. montrent que la lutte génétique est une voie prometteuse pour lutter contre les nématodes. L'obtention d'une solution universelle semble cependant complexe du fait de la grande diversité biologique inter- et peut-être intraspécifique au sein de la communauté de nématodes parasitant les caféiers en Amérique centrale. Il apparaît



Photo 2. Variabilité du statut d'hôte chez *Coffea canephora* vis-à-vis d'une population de *Meloidogyne* sp. du Guatemala : descendance de croisements, avec un des clones parents résistants du cv. Nemaya (à gauche) et de deux clones sensibles (à droite). Variability of host status in *Coffea canephora* for a population of *Meloidogyne* sp. from Guatemala: progenies of crossing, with one of the resistant parent clone of cv. Nemaya (left) and of two susceptible clones (right).





**Figure 1.** Production de café cerise de *Coffea arabica* cv. Caturra infesté par *Pratylenchus* sp. et sous ombrage, selon le mode de lutte employé, dans le sud-ouest du Guatemala. / *Coffee berry yields of shaded Coffea arabica* cv. Caturra infested by *Pratylenchus* sp. according to the management course in Southwest Guatemala.



**Photo 4.** *Coffea arabica* cv. Caturra infesté par *Pratylenchus* sp. au Guatemala, sans traitement nématocide : caféiers de pied franc au premier plan et greffés sur *C. canephora* au second plan. / *Coffea arabica* cv. Caturra infested by *Pratylenchus* sp. in Guatemala, without chemical treatment: ungrafted plants in the foreground and grafted plant onto *Coffea canephora* in the second plane.

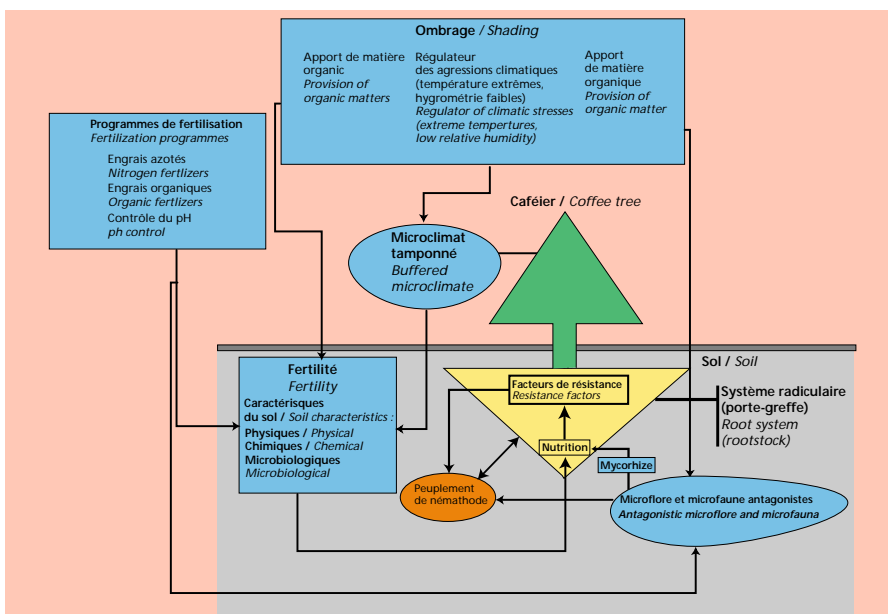
que *C. canephora* constitue actuellement la base génétique permettant le plus rapidement d'obtenir, par greffage, du matériel résistant à un grand nombre de populations de nématodes appartenant aux genres *Pratylenchus* et *Meloidogyne*. Cela est sans doute à mettre en relation avec les résistances incomplètes à déterminisme polygénique observées chez *C. canephora* (Bertrand *et al.*, 2000b). On peut s'attendre à ce que les probabilités d'observer une érosion de ce type de résistance soient beaucoup plus faibles que dans le cas de résistances monogéniques. Le support polygénique des résistances

incomplètes (Nelson, 1978 ; Parlevliet, 1979) augmente la probabilité de voir leur expression globale dépendre de l'environnement (Rapilly, 1991). Des déficits nutritionnels chez *Camellia sinensis* et chez des porte-greffes *Prunus avium* réduisent leurs niveaux de résistance partielle respective à *P. loosi* (Gnanapragasam, 1982) et à *P. penetrans* (Melakeberhan *et al.*, 1997). Il est donc fondamental de conduire les plantations selon un itinéraire technique qui permette de créer l'agro-écosystème le plus favorable au matériel végétal, afin d'optimiser l'expression des facteurs de résistance et éventuellement d'élever

son niveau de tolérance global (figure 2). Il s'agirait principalement de réaliser des fertilisations minérales raisonnées selon le diagnostic sol, de contrôler le pH du sol, d'apporter des amendements organiques et d'utiliser de façon rationnelle les arbres d'ombrage.

#### Gestion durable des résistances aux nématodes

Pour les génotypes Arabica présentant des résistances à certaines populations de *Meloidogyne* — les hybrides F1 récemment créés et en phase de validation au champ (Bertrand *et al.*, 1999) ou certaines lignées de Catimor — les résultats préliminaires sur l'héritabilité de leurs facteurs de résistance semblent indiquer une base génétique gouvernée par seulement un ou deux gènes (Bertrand *et al.*, 2000b). Les risques d'érosion de ces résistances monogéniques ou oligogéniques peuvent être importants, surtout dans le cas de monoculture de la caféiculture d'Amérique centrale. Il apparaît donc impératif de ne pas soumettre ce matériel génétique à de trop fortes pressions parasitaires. Dans le cas des porte-greffes *C. canephora* présentant des facteurs de résistance incomplète à déterminisme polygénique complexe, les risques d'érosion de la résistance sont moindres. Toutefois, du fait du caractère partiel de ces résistances, il convient également de ne pas les exposer à des niveaux de populations de nématodes trop élevés, tout particulièrement durant la phase initiale de croissance. On devra alors avoir recours à des méthodes de lutte non chimique afin de maintenir durablement les



**Figure 2.** Schéma de la gestion durable du matériel végétal à résistance incomplète aux nématodes dans les caféières. / *Diagram of sustainable management of germplasm with partial resistance to nematodes in coffee plantations.*



populations de nématodes phytoparasites à des niveaux acceptables, en prenant en compte tout le cortège d'espèces pathogènes pour les caféiers. Il est pour cela nécessaire d'évaluer en plantations des méthodes alternatives d'assainissement des sols, avant et en début de plantation, afin de limiter les pressions parasitaires au champ.

## Conclusion

Qu'il s'agisse de l'utilisation de matériel résistant ou de celle d'antagonistes, les stratégies de lutte employées doivent tenir compte de la complexité des peuplements de nématodes phytoparasites. En ne luttant que contre un genre ou une espèce particulière considérée comme la plus importante, on risque de modifier la structure des populations et de voir surgir des attaques importantes d'espèces considérées auparavant comme secondaires, comme cela a déjà été constaté sur d'autres cultures tropicales (Luc et Reversat, 1985). Des relations de compétition ont pu être mises en évidence entre nématodes des lésions et nématodes à galles sur caféiers, au Guatemala (Cilas *et al.*, 1993) et au Costa Rica (Bertrand *et al.*, 1998). Une stratégie de protection uniquement dirigée

contre l'un ou l'autre type de nématodes pourrait donc favoriser le développement des populations du genre non visé. Cela suppose donc de se livrer à des enquêtes approfondies sur les faunes de nématodes associées aux caféiers ainsi qu'à une évaluation de la nocuité potentielle de tous les nématodes phytoparasites identifiés, comme cela a été réalisé pour les cultures sahéliennes (Baujard, 1994). Il est même nécessaire de considérer non seulement les nématodes phytoparasites mais le complexe pathogène tellurique dans son ensemble. D'autres pathogènes peuvent intervenir dans les dépérissements des caféiers tel que le cas déjà évoqué de l'interaction entre *M. arabicida* et *Fusarium oxysporum*. De nombreux autres cas de complexes pathogènes entre nématodes et champignons telluriques ont été observés sur diverses autres cultures (Powell, 1971). Ce genre d'interactions entre divers bioagresseurs mérite une grande attention. L'expérience acquise sur la protection intégrée contre les nématodes des caféiers en Amérique centrale, où la biodiversité importante de ces parasites engendre des situations parasitaires complexes, permettra sans doute de contribuer à apporter des solutions dans d'autres parties du monde où la culture du caféier Arabica revêt une

grande importance économique : en Afrique de l'Est, en Asie du Sud-Est ainsi qu'en Amérique du Sud, en particulier au Brésil où une importante diversité de nématodes a également été observée sur caféiers (Campos *et al.*, 1990 ; Carneiro et Almeida, 2000). ■

Nous dédions cet article à notre très regretté confrère et ami Pierre Baujard qui nous a quitté peu après la rédaction de cet article. Eminent nématologiste, reconnu par la communauté scientifique internationale, il avait apporté une vision moderne à la taxinomie par son approche intégrée de cette science. Il était en particulier connu pour ses importants travaux de caractérisation de la faune nématologique des zones sahéliennes. Bien que récemment amené à travailler sur les nématodes des caféiers, ses idées nouvelles et originales ont eu une influence décisive dans l'orientation des nos travaux en particulier concernant le genre *Pratylenchus* encore insuffisamment étudié.

## Bibliographie / References

- Alvarado J.A., 1935. Tratado de caficultura práctica. Guatemala Ciudad, Guatemala, Tipografía Nacional.
- Anzueto F., 1993. Etude de la résistance du caféier (*Coffea* sp.) à *Meloidogyne* sp. et *Pratylenchus* sp. Thèse de doctorat. Ensar, Rennes, France, 123 p.
- Baujard P., 1994. Nématocides, nématodes phytoparasites et rendements des cultures pluviales dans la zone sahélienne de l'Afrique de l'Ouest. *Afro-Asian J. Nematol.* 4 : 129-146.
- Baujard P., Mounport D., Martiny B., 1990. Etude au microscope électronique à balayage de quatre espèces du genre *Pratylenchus* Filip'ev, 1936 (Nemata : Pratylenchidae). *Rev. Nématol.* 13 (2) : 203-210.
- Beer J., Muschler R., Kass D., Somarriba E., 1998. Shade management in coffee and cacao plantations. *Agrofor. Syst.* 38 : 139-164.
- Bertrand B., Cilas C., Hervé G., Anthony F., Etienne H., Villain L., 1998. Relations entre les populations de deux espèces de nématodes, *Meloidogyne exigua* et *Pratylenchus* sp., dans les racines de *Coffea arabica* au Costa Rica. *Plant. Rech. Dév.* 5 (4) : 279-286.
- Bertrand B., Aguilar G., Santacreo R., Anzueto F., 1999. El mejoramiento genético en América Central. *Irr. Desafios de la caficultura en Centroamérica*, B. Bertrand et B. Rapidel éd., San José, Costa Rica, Icca-Promecafé, p. 407-456.
- Bertrand B., Nuñez C., Sarah J.L., 2000a. Disease complex in coffee involving *Meloidogyne arabicida* and *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathol.* 49: 383-388.
- Bertrand B., Peña-Duran M.X., Anzueto F., Cilas C., Etienne H., Anthony F., Eskes A., 2000b. Genetic study of *Coffea canephora* coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita* nematodes in Guatemala and *Meloidogyne* sp. nematodes in El Salvador for selection of rootstock varieties in Central America. *Euphytica* 113 : 79-86.
- Bertrand B., Topart P., Araya A., Avendaño J., Graziosi G., Lashermes P., Anthony F., 2000c. Estudio genético de la resistencia del café a *Meloidogyne exigua* en Costa Rica. *Irr. Mejoramiento sostenible del café Arábica por los recursos genéticos, asistido por los marcadores moleculares, con énfasis en la resistencia a los nematodos*, Turrialba, Costa Rica, 29-30 août 2000. Turrialba, Costa Rica, Catie-Ird, p. 69-70.
- Bornemiza E., Collinet J., Segura A., 1999. Los suelos cafetaleros de América Central y su fertilización. *Irr. Desafios de la caficultura en Centroamérica*, B. Bertrand et B. Rapidel éd., San José, Costa Rica, Icca-Promecafé, p. 407-456.
- Bridge J., Fogain R., Speijer P., 1997. Parasites et ravageurs des *Musa* : fiche technique n°2. Les nématodes parasites des bananiers, *P. coffeae* (Zimmermann, 1898) Filip. et Schu. Stek., 1941; P. goodeyi Sher et Allen, 1953. Montpellier, France, Inibap, 4 p.
- Campos V.P., Sivapalan P., Gnanapragasam N.C., 1990. Nematode parasites of coffee, cocoa and tea. In: *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, M. Luc, R. A. Sikora et J. Bridge éd., Wallingford, Royaume-Uni, CAB International, p. 387-430.
- Cannell M.G.R. 1985. Physiology of the coffee crop. *Irr. Coffee : botany, biochemistry and production of beans and beverage*, M. N. Clifford et K. C. Willson éd., New York, Etats-Unis, Croom Helm, p. 108-134.
- Carneiro R.M.D.G., Carneiro R.G., Abrantes I.M.O., Santos M.S.N., Almeida S.A., 1996. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata : Meloidogynidae) a root-knot nematode paraziting coffee from Brazil. *J. Nematol.* 28 : 177-189.
- Carneiro R.M.D.G., Almeida M.R.A., 2000. Distribution of *Meloidogyne* spp. on coffee in Brazil:

- Identification, caracterización and intraspecific variability. *In: Mejoramiento sostenible del café Arábica por los recursos genéticos, asistido por los marcadores moleculares, con énfasis en la resistencia a los nematodos*, Turrialba, Costa Rica, 29-30 août 2000. Turrialba, Costa Rica, Catie-Ird, p. 43-48.
- Castillo G., Hernández E., Teliz D., Nieto D., Obregón E., Castillo H., Ruiz R., 1995. La corchosis en Veracruz, Mexico. *In: XV Simposio sobre caficultura latinoamericana*, Xalapa, Veracruz, Mexique, 21-24 juillet, Tegucigalpa, Honduras, Iica-Promecafé 2 : 11 p.
- Chitwood B.G., Berger C., 1960. Nemic parasites of coffee in Guatemala. *Phytopathology* 50 : 631.
- Cilas C., Villain L., Licardie D., 1993. Etude de la répartition de *Pratylenchus* sp. dans une plantation de caféiers au Guatemala. *In: Quinzième colloque scientifique international sur le café*, Montpellier, France, 6-11 juin 1993. Paris, France, Asic, p. 843-847.
- Corbett D.C.M., Clark S.A., 1983. Surface features in the taxonomy of *Pratylenchus* species. *Rev. Nématol.* 6: 21-43.
- Dalmasso A., Castagnone-Sereno P., Abad P., 1992. Seminar: Tolerance and resistance of plants to nematodes - knowledge, needs and prospects. *Nematologica* 38 : 466-472.
- Duncan L.W., Inserra R.N., Thomas W.K., Dunn D., Mustika I., Frisse L.M., Mendes M.L., Morris K., Kaplan D.T., 1999. Molecular and morphological analysis of isolates of *Pratylenchus coffeae* and closely related species. *Nematropica* 29: 61-80.
- Eisenback J.D., Bernard E.C., Schmitt D.P., 1994. Description of the kona coffee root-knot nematode, *Meloidogyne konaensis* n. sp. *J. Nematol.* 17 (1) : 6-20.
- Gnanapragasam N.C., 1982. Effect of potassium fertilization and of soil temperature on the incidence and pathogenicity of the root-lesion nematode, *Pratylenchus loosi* Loof, on tea (*Camellia sinensis* L.). *Tea Q.* 51 (4) : 169-174.
- Golden A.M., Lopez R., Vilchez H., 1992. Description of *Pratylenchus gutierrezii* n. sp. (Nematoda : Pratylenchida) from coffee in Costa Rica. *J. Nematol.* 24 (2) : 298-304.
- Hernández A., 1997. Etude de la variabilité intra et interspécifique des nématodes du genre *Meloidogyne* parasites des caféiers en Amérique centrale. Thèse de doctorat, université de Montpellier II, Sciences et techniques du Languedoc, Montpellier, France, 102 p.
- Hervé G., 1997. Caractérisation biologique et moléculaire de populations de nématodes phytoparasites dans les plantations de caféiers d'Amérique centrale. Rapport de Dea, Ensar, Rennes, France, 36 p.
- Huang S.P., De Souza P.E., Campos V.P., 1984. Seasonal variation of a *Meloidogyne exigua* population in a coffee plantation. *J. Nematol.* 16 (1) : 115-117.
- Leroy T., 1993. Diversité, paramètres génétiques et amélioration par sélection récurrente réciproque du caféier. Thèse de doctorat, Ensar, Rennes, France, 147 p.
- Lopez R., Salazar L., 1989. *Meloidogyne arabicida* n. sp. (Nematoda : Heteroderidae) nativo de Costa Rica : un nuevo y serio patógeno del café. *Turrialba* 39 (3) : 313-323.
- Luc M., Reversat G., 1985. Possibilités et limites des solutions génétiques aux affections provoquées par les nématodes sur les cultures tropicales. *In: Création de variétés résistantes aux nématodes des cultures : intérêt, possibilités et limites*, Paris, France, 15 et 22 mai 1985. Paris, France, C. R. Séances Acad. Agric. Fr. 71 (7) : 781-791.
- Luc M., 1987. A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. *Rev. Nématol.* 10 (2) : 203-218.
- Melakeberhan H., Bird G., Rebecca G., 1997. Impact of plant nutrition on *Pratylenchus penetrans* infection of *Prunus avium* rootstock. *J. Nematol.* 29 (3) : 381-388.
- Nelson R.R., 1978. Genetics of horizontal resistance to plant disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 16 : 359-378.
- Norton D.C., 1978. Ecology of plant-parasitic nematodes. New York, Etats-Unis, Wiley Interscience, 268 p.
- Palanichamy L., 1973. Nematode problem of coffee in India. *Indian Coffee* 37 : 99-100.
- Parlevliet J.E., 1979. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annu. Rev. Phytopathol.* 17: 203-22.
- Powell N.T., 1971. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. *Annual Review of Phytopathology* 9: 253-274.
- Rapilly F., 1991. L'épidémiologie en pathologie végétale. Paris, France, Inra, 317 p.
- Reyna E.H., 1968. La técnica de injerto hipocotiledonar del café para el control de nematodos. *Café* 17 (1) : 5-11.
- Sarah J.L., 1991. Estimation of nematode infestation in banana. *Fruits* 45 (6) : 643-646.
- Sarah J.L., 1996. Les nématodes phytoparasites, une composante de la fertilité du milieu. In: Fertilité de milieu et stratégies paysannes sous les tropiques humides, actes du séminaire, J. Pichot, N. Sibelet et J.J. Lacoëuilhe éd., Montpellier, France, Cirad-sar, p. 180-188.
- Sayre R.M., 1971. Biotic influences in soil environment. *In: Plant parasitic nematodes, 1: Morphology, anatomy, taxonomy and ecology*, B. M. Zuckerman, W. F. Mai et R. A. Rohde éd., Londres, Royaume-Uni, Academic Press, p. 235-256.
- Schieber E., 1966. Nematodos que atacan al café en Guatemala, su distribución, sintomatología y control. *Turrialba* 16 (2) : 30-135.
- Siddiqi M.R., Dabur K.R., Bajaj H.K., 1991. Descriptions of three new species of *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae). *Nematol. Mediterr.* 19 : 1-7.
- Sikora R.A., Oka Y., Sharon E., Kok C.J., Keren-Zur M., 2000. Achievements and research requirements for the integration of biocontrol into farming systems. *Nematology* 2 (7) : 737-738.
- Stirling G.R., 1991. Biological control of plant parasitic nematodes, progress, problems and prospects. Wallingford, Royaume-Uni, CAB International, 282 p.
- Toledo J.C., Sierra S., 1999. Fluctuación poblacional del nematodo *Meloidogyne* en la zona central de Guatemala. *In: Investigaciones y descubrimientos sobre el cultivo del café*. Guatemala Ciudad, Guatemala, Anacafe, p. 277-280.
- Toruan-Mathius N., Pancoro A., Sudarmadji D., Mawardi S., Hutabarat T., 1995. Root characteristics and molecular polymorphisms associated with resistance to *Pratylenchus coffeae* in Robusta coffee. *Menara Perk.* 63 (2) : 43-51.
- Villain L., 2000. Caractérisation et bioécologie du complexe parasitaire du genre *Pratylenchus* (Nemata : Pratylenchidae) présent sur caféiers (*Coffea* spp.) au Guatemala. Thèse de doctorat, Ensar, Rennes, France, 182 p.
- Villain L., Baujard P., Molina A., Pignolet L., Sarah J.L., 1998. Morphological and biological characterization of three *Pratylenchus* spp. populations parasiting coffee trees in Guatemala. *In: 24th international symposium of the european society of nematologist*, Dundee, Ecosse, Royaume-Uni, 4-9, août 1998, *Nematologica* 44 (5) : 600-601.
- Villain B., Anzueto F., Hernandez A., Sarah J.L., 1999. Los nematodos parásitos del café. *In: Desafíos de la caficultura en Centroamérica*, B. Bertrand et B. Rapidel éd., San José, Costa Rica, Ica-Promecafé, p. 327-368.
- Villain L., Molina A., Sierra S., Decazy B., Sarah J.L., 2000. Effect of grafting and nematicide treatments on damage by root-lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) to *Coffea arabica* L. in Guatemala. *Nematropica* 30 (1) : 87-100.
- Wilcox-Lee D., Loria R., 1987. Effects of nematode parasitism on plant-water relations. *In: Vistas on nematology: a commemoration of the twenty-fifth anniversary of the society of nematologists*, J. A. Veech et D. W. Dickson éd., Hyattsville, Maryland, Etats-Unis, Society of Nematologists, p. 260-266.
- Willson K.C., 1985. Cultural methods. *In: Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage*, M. N. Clifford et K. C. Willson éd., New York, USA, Croom Helm, p. 157-207.
- Zimmermann A., 1898. De nematoden der koffiewortels. Batavia (=Jakarta, Indonesia) and S'Gravenhage, La Hague, Pays Bas, G. Kolf et Co., coll. Mededeelingen uit's lands pantentuin 27.

# Integrated protection of coffee plantings in Central America against nematodes

Villain L.<sup>1</sup>, Baujard P.<sup>2</sup>, Anzueto F.<sup>3</sup>, Hernández A.<sup>4</sup>, Sarah J.L.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>CIRAD-CP c/o IICA/Promecafe, 1a av. 8-00 Zona 9, Guatemala Ciudad, Guatemala

<sup>2</sup>IRD, laboratoire de nématologie, BP 1386, Dakar, Senegal

<sup>3</sup>Anacafe, 5a Calle 0-50 Zona 14, Guatemala Ciudad, Guatemala

<sup>4</sup>Fundación Procafe, av. Manuel Gallardo, Frente a Residencial Monte Sión, Santa Tecla, La Libertad, El Salvador

<sup>5</sup>CIRAD-AMIS, TA 40/02, avenue Agropolis, 34398 Montpellier Cedex 5, France

Nematodes cause considerable damage in coffee plantings in most Latin American countries (Campos *et al.*, 1990). In Central America, except in Honduras, where significant nematode attacks have only been observed in a small area on the border with Nicaragua, all the other countries have seen widespread infestation by the parasite of most of their coffee producing regions (Villain *et al.*, 1999). Moreover, most of the current varieties of *Coffea arabica*, the most common species in the isthmus, are susceptible to a large number of plant nematodes found in the region (Hernández, 1997; Bertrand *et al.*, 1999; Villain *et al.*, 1999; Villain *et al.*, 2000). This is therefore a phytosanitary constraint of significant economic importance for coffee growing in Central America. For this tree crop, the yield losses caused by nematodes are compounded by the cost of replanting so as to maintain an optimum planting density in coffee plantings in which mortality rates among infested trees are sometimes high. Nematodes are not a recent problem in traditional *C. arabica* growing zones, which were sometimes planted over a century ago. As early as 1898, Zimmermann observed the almost total destruction of *C. arabica* plantings in Java, following attacks by nematodes belonging to a species that he described as *Pratylenchus coffeae*. In 1935, Alvarado observed severe damage caused by *Pratylenchus* and *Meloidogyne* sp. attacks in Arabica coffee plantings in Guatemala. However, given that they live in the soil, are sub-microscopic in size and do not cause any characteristic symptoms on the aerial parts of coffee trees, plant nematodes are often not suspected. As a result, the economic impact of nematode attacks on coffee trees was underestimated for a long time. However, increasing awareness of the impact of nematodes on the intensification of coffee growing has led to the establishment of regional cooperation between members of IICA/Promecafe (Programa Cooperativo para la Protección y Modernización de la Caficultura en Centroamérica, República Dominicana y Jamaica), CIRAD and IRD with a view to develop-

ping integrated control strategies against coffee nematodes.

## A phytosanitary constraint that is difficult to detect and evaluate

### Atypical symptoms

The root damage caused by nematodes leads to plant mineral nutrition and water supply malfunctions (Wilcox-Lee and Loria, 1987). These physiological disturbances result in slower growth and in leaf chlorosis, which can in turn lead on to the more or less rapid dieback of the plant. These symptoms appear gradually, often in the form of more or less diffuse foci. When faced with these atypical symptoms, growers and extension workers often suspect soil-based factors such as mineral deficiencies or toxicity, low pH or a water deficit. By the time coffee tree dieback confirms the presence of nematodes, it is often too late to intervene with curative methods, since these symptoms prove that the root system has already been largely destroyed. Even at root level, it is not always easy to recognize the symptoms, particularly in the case of *Pratylenchus* spp. (root lesion nematode) attacks, which cause non-characteristic necrosis of the root cortex. The symptoms linked to *Meloidogyne* spp. (root knot nematode) attacks are generally easier to recognize, since some species cause galls and others more spectacular symptoms. This partly explains why this genus is held responsible for most soil-based parasite problems.

### Necessity, use and limitations of nematode diagnoses

The difficulty of identifying the symptoms caused by nematodes means that nematode diagnoses are required (Sarah, 1996). Nematode diagnoses are essential in nurseries to ensure that plant nematode populations are not disseminated, especially species and pathotypes that are a particular threat on coffee. These preventive measures are particularly important in that nematodes are primarily disseminated through

planting material or soil transport and it is difficult to eradicate nematode populations once they are in the field. Nematode diagnoses are an important decision support tool in the field. However, they are not intended to indicate whether or not to apply curative chemical treatments, which are largely ineffective and have to be maintained, otherwise population levels are likely to rise again and exceed the economic damage threshold<sup>1</sup> (Campos *et al.*, 1990; Villain *et al.*, 1999). Moreover, it is impossible to define a standard economic damage threshold, since thresholds are governed by a large number of local biotic and abiotic factors (Sarah, 1996). In particular, the substantial variations in pathogenicity between the different nematode species that affect coffee have to be taken into account. Furthermore, populations are complex, as is often the case in the tropics (Luc and Reversat, 1985), with different genera and species attacking coffee trees at the same time. How can the weight of the population levels of each species be determined? Moreover, other secondary soil-based parasites (fungi or bacteria) may be associated with nematode attacks and exacerbate the damage caused. This is the case in Costa Rica, for instance, with the *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne arabicida* combination, which triggers the development of a syndrome known locally as “corchosis” or “corky root disease” (corky swellings on the roots) (Bertrand *et al.*, 2000a). The degree of susceptibility of a plant can vary depending on its genotype, age, and whether or not it is a grafted plant. The impact of nematodes on coffee trees also depends on soil conditions, particularly fertility, and on the length and severity of water stress, the main type of climatic stress in most coffee producing regions of Latin America (Sarah, 1996). It is difficult to assess population levels as nematodes are usually found in scatte-

1. The parasite population level above which the economic losses caused are higher than the cost of controlling the parasite.



red clusters, which means using very precise and sometimes complex sampling methods (Sarah, 1991; Cilas *et al.*, 1993). The population levels observed also depend on the time of sampling, since nematode population levels vary according to coffee tree phenological patterns in connection with seasonal climatic variations. This is the case for both *Pratylenchus* spp. (Villain, 2000) and *Meloidogyne* spp. (Huang *et al.*, 1984; Toledo and Sierra, 1999). Lastly, the extraction methods and equipment used vary considerably from one laboratory to another, which can affect the population levels detected, making it difficult to compare data.

Nematode diagnoses should therefore be seen as a tool that either confirms or disproves the presence of nematodes. It should be used systematically in nurseries, old coffee plantings due for renewal, new plantings, and every time coffee tree dieback occurs. In most cases it can identify the genera present, and it should also enable identification of the species or even pathotypes. However, identification on a species and below-species (pathotype) level often calls for tools that very few laboratories have, for enzymatic and molecular analyses, observations under a scanning electron microscope or biological analyses of pathogenicity. However, this identification is crucial in choosing control strategies, particularly the type of planting material to be used. This means that it is important to develop easier-to-use diagnostic techniques and to conduct systematic nematode surveys so as to inventory the different species and pathotypes.

### Specificities of coffee growing in Central America

#### A monoculture system favouring nematodes

The main characteristic of coffee growing in Central America is that there are large areas of coffee monoculture plantings established at the end of the last century, and there have not generally been any crop rotations. In the long term, this method has favoured the development and dissemination of nematode populations well adapted to their host plant.

#### Sensitive agro-ecosystems, making certain phytosanitary operations difficult

In Central America, Arabica is primarily grown in highland areas with climates characterized by heavy rains but also very marked water deficits. The agro-ecosystems are fragile, particularly in terms of the soils, which are often of volcanic origin and have very slow organic matter mineralization rates, a sandy texture favouring water infiltration and thus movement of most nematode species, and high susceptibility to erosion.

This often exacerbates the impact of soil-based parasites such as nematodes. Given that they are set up between 800 and 1 600 m above sea level in agricultural catchment areas, coffee plantings also play a major role in the water cycle. They are major zones of surface water runoff, but above all of underground water infiltration, particularly on filtering andic soils. Using highly toxic, water-soluble nematicides can therefore lead to severe contamination of the surface water and water table.

#### Intensification of coffee growing and its effects on nematode populations and their impact

For these fragile ecosystems the intensification of coffee growing in Central America since the early 1970s has had significant consequences for the impact of nematode attacks. One of the main changes in cropping practices has been the reduction in or elimination of shading, which has increased coffee tree productivity but has also made them more susceptible to nematode attacks. Arabica coffee trees have certain physiological specificities, and their nutritional balance in relation to their exposure to sunlight is extremely important. In effect, coffee trees flower much more in full sunlight, and are unusual among woody tree crops in that they do not have a mechanism enabling them to rid themselves of excess fruits in line with their carbohydrate and mineral resources (Cannell, 1985). Any event that restricts nutrition, such as root decay caused by nematode attacks during the cherry filling period, can therefore have serious consequences for the future of the coffee trees. In fact, studies of *Pratylenchus* population fluctuations in Guatemala showed that there are major population peaks at the start of cherry filling—in June–July, at the start of the rainy season—, leading to the rapid, large-scale destruction of absorbing roots (Villain *et al.*, 2000). Eliminating shade trees also has other adverse effects, since the trees help to regulate climatic factors such as water deficits and high diurnal temperatures, particularly in regions with a marked dry season, thus creating a microclimate that favours coffee trees (Willson, 1985; Beer *et al.*, 1998). Moreover, the organic matter supplied by shade trees through their fallen leaves and also the branches pruned at the end of the dry season helps to improve soil fertility. These many effects of shading can thus affect overall tolerance of stresses of various origins—abiotic, such as climatic hazards or mineral deficiencies, and biotic, such as nematode attacks—and the degree of susceptibility or resistance of the planting material considered. The formation of more abundant litter in shaded coffee plantings may also have a depressive effect on certain plant nematode populations by encouraging the development

of an antagonistic microfauna and microflora (Sayre, 1971; Norton, 1978; Stirling, 1991). In Guatemala, in a region with a marked dry season, *Pratylenchus* sp. population levels in the roots of *C. canephora* rootstocks, which are partially resistant to the nematode, proved to be negatively correlated to the degree of shade in the plots (Villain *et al.*, 2000). Shading apparently does not have any significant effect on *Pratylenchus* sp. population levels in the roots of ungrafted Arabica coffee trees, probably because the acute susceptibility of such plants masks any positive effect of shading. Further studies are to be done to evaluate and pinpoint the impact of cropping practices on the overall expression of nematode resistance factors.

The intensification of coffee growing also involved using new dwarf varieties, firstly Caturra and Catuai and then, much later on and less extensively, Catimor and Sarchimor (Bertrand *et al.*, 1999). However, the high productivity of these varieties is apparently combined with lower tolerance of nematodes, since the breeding schemes used for varietal creation at the time did not take account of the nematode resistance character, unlike resistance to leaf rust (*Hemileia vastatrix*), which was considered a threat to coffee growing at the time of its introduction into Latin America (Bertrand *et al.*, 1999). Furthermore, the increased nitrogen fertilization required by these varieties that are highly demanding in terms of nutrition and are planted at high densities has often resulted in soil acidification, leading to plant nutritional imbalances (Bornemiza *et al.*, 1999) and consequently increasing the incidence of nematode attacks. Moreover, increasing planting densities may have favoured the more rapid spread of nematodes from infestation foci, since coffee tree roots in such plantings rapidly become entangled as they grow.

#### Why use integrated control against nematodes?

##### The limitations of chemical control

In these intensive production systems, nematicide treatments are still widely used, but rarely in a very rational way. However, there are many obstacles to their use. The high cost of nematicides often makes them inaccessible to small-scale growers, while in large and medium-sized plantations, the recent series of marked crises on the international coffee market, particularly since the suspension of export quotas, has forced producers to cut and optimize their production costs. At the time of the most critical economic situations, such as the one in which the sector currently finds itself, this has often resulted in a reduction in or the halting of nematicide treatments, without adopting an alternative control

strategy. Even preventive techniques in the nursery, which are essential in many cases, have often suffered the effects of such crises. From an ecological point of view, the fact that they are blanket biocides and are highly toxic means that nematicides may have an adverse effect on soil biological activity. Moreover, the soil, topographic and climatic conditions that characterize most coffee production zones increase the risks of pollution by nematicides. Furthermore, various studies have shown that the nematicides currently used are not very effective against nematodes in established plantations (figure 1) (Campos *et al.*, 1990). Villain *et al.* (2000) demonstrated the inefficacy of nematicide treatments—twice 1 to 2 g of terbufos per plant per year depending on plant age—at protecting ungrafted Arabica plants against *Pratylenchus* sp. attacks. The same authors did, on the other hand, observe an increase in production of around 10% on grafted *C. canephora* plants following nematicide treatments. Whether these applications are economically justified depends on the cost of the nematicide used, labour costs and coffee sales prices. The efficacy of nematicide treatments could perhaps be improved by increasing the application frequency and the doses applied per plant, particularly by taking account of the age of the plant in order to adapt doses to the growing root system, which needs to be protected in its entirety. However, it is unlikely that it will be possible to intensify nematicide applications any further, since current application techniques are already largely incompatible with the economic and ecological constraints mentioned above. They should therefore be seen as a protective tool for use in purifying nursery substrates, pending the development of other effective and economical methods for preventing nursery contamination.

#### Alternative methods: complementarity and difficulty of application

These various constraints and the low field efficacy of nematicides make it essential to develop alternative control methods if *C. arabica* is to be grown sustainably in the intensified production systems of Central America. Breeding planting material resistant to the different nematodes found in the region has been chosen as the preferred basis for developing integrated control of such parasites under the development scheme fostered by cooperation between CIRAD, IRD and Promecafe (Bertrand *et al.*, 1999; Villain *et al.*, 1999). The search for resistance requires in-depth knowledge of the species or pathotypes found on coffee.

Neither cultural nor biological nematode control methods have yet been widely used on coffee. However, it would be worth investing in a study of the possibilities. Fallow or crop rota-

tions, particularly including plants with nematocidal properties or that suppress plant nematode populations, are commonly used on other tropical crops (Sarah, 1996), and it would be worth studying their application on coffee. It would also be worth looking into biological control by antagonistic microorganisms such as bacteria (*Pasteuria penetrans*), fungi, predatory nematodes or other means. However, most of these organisms have a degree of antagonistic, parasitic or predatory specificity with respect to plant nematodes (Stirling, 1991), reflecting the range of nematode species. It will therefore probably be necessary to use a mixture of biological agents with complementary types of antagonism, depending on the plant nematode species and pathotypes at a given site. So far, all the attempts at biological control of plant nematode populations worldwide have failed, and numerous studies of all the possibilities will no doubt be required before such a strategy can successfully be adopted (Sikora *et al.*, 2000).

#### Biodiversity of the nematode complex on coffee in Central America

An inventory and biological characterization of the biodiversity of the nematodes that affect coffee is therefore a priority for research aimed at developing control methods adapted to the nematode communities found on coffee. Producers and extension workers often see nematodes as a single phytosanitary problem, although those that cause the most damage on coffee in Central America are generally considered to belong to two genera: *Meloidogyne* spp. or root knot nematodes and *Pratylenchus* spp. or root lesion nematodes (Campos *et al.*, 1990; Villain *et al.*, 1999). Both are endoparasites—at least part of the cycle takes place in the roots of the host plant—, but their biological characteristics are very different. Very little is yet known about the plant nematode populations on coffee in the region, since very few surveys have yet been carried out. Root knot nematodes are said to be sedentary, since second-instar juveniles are the only free-moving, infesting form. These nematodes develop chemical relations with their host by secreting specific toxins that induce the formation by the plant of galls on which they feed, and which are essential to the development of the parasite. As a result, there is a high degree of host-parasite specificity. Root lesion nematodes, on the other hand, are migratory endoparasites. Every form, from second-instar juveniles to adults, is free-moving and may either settle in the roots or leave them and move through the soil to other roots. These nematodes generally only attack the root cortex. Despite the relative simplicity of this type of parasitism, numerous studies have shown the specificity of host-para-

site relations for different species, and even for different populations of the same species in the case of *Pratylenchus*. There are thus fundamental biological differences between the two species that have significant consequences for the choice of alternatives to chemical control.

Biodiversity is thus a complex issue when studying not only the genera but all the species likely to affect coffee. However, this interspecific diversity is difficult to assess, for both root knot and root lesion nematodes. Nematode characterization, which was for too long based on solely morphological criteria, which often vary significantly at species level, sometimes led to incorrect identifications. It also resulted either in the description of new taxons that were not biologically warranted, or in underestimation of the diversity of populations. Until the early 1990s, taxonomic studies based on conventional morpho-anatomical observations had detected only a small number of nematode species that had an economic impact on coffee in central America: *P. coffeae*, *M. incognita* and *M. exigua* (Villain *et al.*, 1999). Since then, more effective techniques such as scanning electron microscopy, enzymatic analyses, molecular studies and biological studies have demonstrated the previously unsuspected biodiversity of the nematodes found on coffee in the region.

#### Case of root knot nematodes

Conventional taxonomic tools, particularly observing perineal patterns (the cuticular patterns around the anus of females that can be seen under an optical microscope), proved insufficient for a reliable identification of *Meloidogyne* species, due to their significant intraspecific variability. Studies of isoenzyme systems (specific proteins), particularly of esterases, which are now commonly used to identify species of the genus *Meloidogyne*, have revealed significant interspecific diversity among the root knot nematodes found on coffee in central America (Hernández, 1997). The existence of *M. exigua* has been confirmed in Honduras, Nicaragua and Costa Rica. An enzymatic study of the species *M. arabicida*, described by López and Salazar (1989) according to morphological criteria alone, revealed an original profile (Hernández, 1997), thus confirming the validity of the species. Its distribution is still apparently limited to one zone in Costa Rica. *Meloidogyne arenaria*, a species that had previously only been mentioned once, on *C. canephora* in Jamaica, has now been detected in El Salvador (Campos *et al.*, 1990). The detection of *M. hapla* in an upland area of northern Guatemala is also a new development in the region, since the species had only previously been observed on coffee in Brazil, Tanzania, the Democratic Republic of the Congo and India (Campos *et al.*, 1990).

The species, which is better suited to temperate climates, was also recently detected on coffee trees in upland areas of El Salvador, based on observations of perineal patterns. New enzymatic profiles were also revealed. In Guatemala, the dominant species is apparently morphologically similar to *M. incognita*—which, moreover, is considered to be the most common in the country (Chitwood and Berger, 1960)—but with an original enzymatic profile (Anzueto, 1993; Hernández, 1997); it may be a new species, like the species *M. paranaensis* described in Brazil, which was long confused with *M. incognita* due to their morphological similarity (Carneiro *et al.*, 1996). In El Salvador, two new enzymatic profiles have been revealed; again, the species of these two biotypes has yet to be determined (Hernández, 1997).

This range of root knot nematodes found on coffee in Central America also results in substantial variability of their pathogenicity on *C. arabica*. No significant field damage has yet been associated with *M. exigua* in the agronomically well managed plantations of Central America, despite the high parasite pressure seen on *C. arabica* under controlled laboratory conditions (Hernández, 1997). Under controlled inoculation conditions, *M. arenaria* has shown a high reproduction capacity, similar to that of *M. exigua*, on the different varieties or semi-wild lines of *C. arabica* (Hernández, 1997). This species should therefore be considered a major parasite on coffee, although there are no data on the danger it poses in the field. The *Meloidogyne* sp. populations of Guatemala are highly pathogenic on all Arabica cultivars (Anzueto, 1993; Hernández, 1997). The symptoms take the form of corky swellings—extreme suberization of the root cortex—on all woody roots, even on the top root, sometimes resulting in the total destruction of the root system. The syndrome, which is commonly known as corchosis, has also been seen to a similar degree in connection with *M. arabicida* attacks in Costa Rica, sometimes destroying entire plantations (Lopez and Salazar, 1989; Bertrand *et al.*, 2000a). The syndrome has also been observed in other regions, in connection with attacks by *M. konaensis* in Hawaii (Eisenback *et al.*, 1994), *M. paranaensis* in Brazil (Carneiro *et al.*, 1996), and populations identified as *M. incognita* in Mexico (Castillo *et al.*, 1995). One of the unidentified species seen in El Salvador is also highly aggressive in the field, causing considerable mortality in *C. arabica* plantations. The degree of field damage caused by *M. hapla* on *C. arabica* also seems to be high (Hernández, personal communication).

#### Case of root lesion nematodes

*Pratylenchus coffeae*, which was initially described on coffee in Java by Zimmermann (1898), is

the species of the genus most commonly seen on coffee, and is held to cause significant damage in nurseries and plantations (Campos *et al.*, 1990; Villain, 2000). Bridge *et al.* (1997) suggested that this nematode may have the same geographical origin as banana and plantain, ie the Pacific islands and neighbouring Asian countries, from which it may have been spread worldwide through plant material transfers. Two new species morphologically similar to *P. coffeae* were subsequently described on coffee in Panama (*P. paranaensis*, Siddiqi *et al.*, 1991) and Costa Rica (*P. gutierrezii*, Golden *et al.*, 1992). However, their pathogenicity on coffee is not known. The identification, based on conventional morphological criteria, of a *Pratylenchus* population collected on coffee trees in Guatemala has since produced contradictory results depending on the laboratories consulted: *P. coffeae*, *P. loosi* or *P. gutierrezii* (Villain, 2000). This example clearly demonstrates the difficulty of identifying species of this stenomorphic genus (Luc, 1987).

A study was therefore undertaken to characterize *Pratylenchus* populations collected on coffee trees at various geographical sites in Guatemala with varying agro-ecological conditions. Characterization was based on an integrated approach involving four types of research. Morphological studies used scanning electron microscopes to observe stable characters on an intraspecific level and those that discriminate between species (Corbett and Clark, 1983; Baujard *et al.*, 1990). Biological studies were also conducted of the mode of reproduction, the reproductive compatibilities of the different populations with each other, *in vitro* reproduction capacity depending on temperature, penetration patterns, and reproduction capacity and pathogenicity on *Coffea* spp. (photo 1). Studies were also conducted of seasonal population fluctuations in coffee plantations and the threat posed in the field. Lastly, molecular studies (Hervé, 1997; Villain *et al.*, 1998; Villain, 2000; Villain *et al.*, 2000) supplemented the information obtained on these *Pratylenchus* populations. This work revealed biodiversity among the populations, whose mode of reproduction was systematically amphimictic (sexual), with a differentiation between two groups that differed in reproductive, morphological, biological and molecular terms.

Three populations from Guatemala that mated and were similar in terms of morphology and the biological parameters studied apparently belonged to the same species, which is apparently neither *P. coffeae* nor *P. loosi* (Villain *et al.*, 1998). One of the three populations had *in vitro* biological characteristics and a genome very similar to those of a population collected on coffee in El Salvador (Hervé, 1997), and was

genetically close (rDNA sequence D2/D3) and highly morphologically similar to a population collected on coffee in Costa Rica (Duncan *et al.*, 1999), which proved to be genetically distant from the topotypes<sup>2</sup> of *P. gutierrezii*. It may therefore be a new species, but could also be a species that has already been described but not previously seen on coffee. Two of the Guatemala populations had a high reproduction capacity and pathogenicity on *C. arabica* cv. Catuai under controlled inoculation conditions (photo 1) (Villain *et al.*, 1998; Villain, 2000), which tallied with the major threat posed by some of the populations in the field (Villain, 2000; Villain *et al.*, 2000). If these different populations from Guatemala, El Salvador and Costa Rica did belong to a single *Pratylenchus* species, it would probably be widely distributed throughout Central America. Moreover, according to the studies of population fluctuations in the field, the species would seem to be well suited to a wide range of altitudes, from 450 to 1 200 m, hence to most climatic conditions in the different Arabica growing zones of Central America.

Moreover, two other populations proved to be very morphologically similar, with a similar reproduction capacity and *in vivo* optimum temperature. However, they were isolated in terms of reproduction and their pathogenicity on *C. arabica* was very different (Villain *et al.*, 1998). One, which was collected at a lowland site (400 m) on the edge of the pacific coastal plain, on *C. canephora* rootstocks, showed a very high parasitic capacity and pathogenicity on *C. arabica* (photo 1). The other, which originated from a northern region and was collected from Arabica coffee trees at a height of 1 200 m above sea level, was only very slightly pathogenic on *C. arabica*. Their morphological and biological characteristics coincided with those mentioned for *P. coffeae sensu lato*. They may be twin species<sup>3</sup>.

Clarifying the taxonomic status of the *Pratylenchus* populations found on coffee means revising the species already described that are morphologically similar, by characterizing them on a morphological, biological and molecular level. A large number of existing identifications of root lesion nematodes found on coffee, and some descriptions of species morphologically similar to *P. coffeae*, and even *P. coffeae* itself—according to Baujard, the typical site for this taxon has never been precisely identified—need to be revised. For amphimictic species, studies need to be conducted of inter-fertility between collected populations

2. Individuals collected at the site of origin of the typical population of the species.

3. Morphologically similar or identical but reproductively isolated natural populations.

4. Species are groups of inter-fertilized natural populations, which are isolated from equivalent groups from a reproductive point of view.



and the topotypes of the species described, applying the biological concept of species<sup>4</sup>. The variable but still high pathogenicity of most of the populations studied is proof of the importance of root lesion nematodes, which are often seen in the coffee sector as less serious than root knot nematodes.

#### Necessity of regional surveys

The diversity observed within even a limited number of populations from the genera *Meloidogyne* and *Pratylenchus* calls for regional surveys representative of all the coffee production zones, so as to compile a comprehensive inventory of the species and pathotypes found on coffee and determine their geographical distribution. To this end, CIRAD, IRD and INRA have launched new joint projects aimed at completing the inventory and mapping of *Meloidogyne* and *Pratylenchus* species, characterizing those species and pathotypes, particularly concerning their pathogenicity on *Coffea* spp., and identifying reliable taxonomic diagnosis tools suitable for routine use.

#### Prospects for integrated control of the nematode complex affecting coffee

This biodiversity of nematode species on coffee in Central America complicates genetic control on a regional level, since it is crucial to find genotypes with resistance to the many species and pathotypes found in the region.

#### Sources of resistance to Central American root knot nematodes in *Coffea* spp.

Certain Catimor and Sarchimor cultivars are resistant to *M. exigua* (Bertrand *et al.*, 1999). Within the species *C. arabica*, promising levels of resistance to the *Meloidogyne* sp. populations found in Guatemala have been observed in certain semi-wild lines of Ethiopian origin (Anzueto, 1993; Hernández, 1997). However, they are not of much use with respect to *M. exigua*, *M. arenaria* or the two species from El Salvador with new esterase profiles (Hernández, 1997). These Ethiopian lines could therefore be worthwhile sources of resistance to at least some *Meloidogyne* populations, and could be used in the current breeding programmes, to create both Arabica F1 hybrids and Arabusta rootstocks, by inter-specific crossing with certain *C. canephora* clones that also have nematode resistance genes (Bertrand *et al.*, 1999). In Guatemala, where grafting has been practised for over 30 years, empirical observations in the field have revealed susceptibility to the *Meloidogyne* species found in the country in most of the *C. canephora* rootstocks used (Villain *et al.*, 1999). Studies have in fact shown

that most of the clones from the CATIE collection are susceptible to these nematode populations (Anzueto, 1993). However, two clones have a high level of resistance to the *Meloidogyne* sp. populations found in Guatemala (photo 2), and also to one of the two unidentified species detected in El Salvador (Bertrand *et al.*, 2000b). These two *C. canephora* clones have been crossed (the species is allogamous) to produce the Nemaya hybrid variety (Bertrand *et al.*, 1999). It would seem that in *C. arabica*, resistance to *Meloidogyne* is governed by one or two genes, while in *C. canephora*, the genetic basis of this resistance is apparently much more complex: its determinism is probably polygenic (Bertrand *et al.*, 2000b and 2000c).

#### Sources of resistance to Central American root lesion nematodes in *Coffea* spp.

Grafting onto *C. canephora* (photo 3), a practice that is now widely used in Guatemala in zones infested with *Pratylenchus*, ensures effective control of these nematodes, even when using non-selected rootstocks (figure 1; photo 4) (Villain *et al.*, 2000). The practice was introduced in the country over 30 years ago, before *C. canephora* resistance to *Pratylenchus* was demonstrated, based more on the idea that *C. canephora* was at least tolerant (Schieber, 1966; Reyna, 1968). Recent studies have nevertheless shown that there are real *Pratylenchus* spp. resistance factors in *C. canephora* (Villain, 2000; Villain *et al.*, 2000). At the pre-infectious stage, *C. canephora* cv. Nemaya was seen to be largely unattractive to two Guatemalan *Pratylenchus* populations from two different species. However, no histological structure likely to prevent or hinder penetration by nematodes has ever been detected. At the post-infectious stage, resistance factors have also been observed in an open-pollinated progeny of one of the parents of cv. Nemaya with respect to a Guatemalan *Pratylenchus* population. These results can be linked to the abundance of polyphenols in the roots of cv. Nemaya seedlings, which is not seen in cv. Catuai (Villain, 2000). The presence of numerous phenolic compound storage cells in the roots of cv. Nemaya, even in the absence of nematodes, suggests that the defence mechanisms in question are probably constitutive, ie do not need to be induced by parasite attacks. Moreover, a correlation has been observed in Indonesia between the level of resistance to *P. coffeae* of different *C. canephora* clones and their polyphenol concentration (Toruan-Mathius *et al.*, 1995). The substantial variability of the resistance observed by these authors among different *C. canephora*

clones, with some being highly susceptible, and the high genetic variability seen in *C. canephora* (Leroy, 1993) suggest that resistance to *Pratylenchus* spp. should be seen as an essential selection criterion in *C. canephora* rootstock development programmes. However, it is important to determine precisely the type of resistance factors present and their degree of specificity to the different *Pratylenchus* species and pathotypes in the region. If the main *Pratylenchus* resistance factors are linked to the phenolic metabolism, it is to be hoped that this resistance is not very specific (Dalmasso *et al.*, 1992). These factors would thus provide the plant with an acceptable level of resistance to the different *Pratylenchus* species and pathotypes, like the low attractiveness of the Nemaya cultivar to two different *Pratylenchus* species. Grafting onto *C. canephora* thus looks like an effective, ready-to-use way of controlling root lesion nematodes, as recommended by Schieber (1966) and Reyna (1968) in Guatemala and Palanichamy (1973) in Indonesia.

Complexity of the genetic solutions for controlling plant nematode populations  
The results of research into nematode resistance in *Coffea* spp. show that genetic control is a promising possibility. However, it will apparently be difficult to obtain a universal solution, due to the substantial inter- and perhaps intra-specific diversity of the nematodes found on coffee in Central America. Apparently, grafting onto *C. canephora* is currently the fastest way of creating material resistant to a large number of populations from the genera *Pratylenchus* and *Meloidogyne*. This is no doubt linked to the polygenically determined partial resistance seen in *C. canephora* (Bertrand *et al.*, 2000b). We can assume that this type of resistance is much less likely to be eroded than monogenic resistance. The polygenic nature of such partial resistance (Nelson, 1978; Parlevliet, 1979) increases the probability of its overall expression being determined by the environment (Rapilly, 1991). For instance, nutritional deficiencies in *Camellia sinensis* and *Prunus avium* rootstocks reduce their respective levels of partial resistance to *P. loosi* (Gnanapragasam, 1982) and *P. penetrans* (Melakeberhan *et al.*, 1997). It is thus crucial to manage plantations according to a crop management sequences that creates an agro-ecosystem as favourable as possible to the planting material used, so as to optimize the expression of resistance factors and possibly to increase its overall level of tolerance (figure 2). The main thing is to ensure rational fertilizer applications based on soil diagnoses, to control soil pH, to apply organic amendments and to make rational use of shade trees.

### Sustainable management of nematode resistance

For the Arabica genotypes with resistance to certain *Meloidogyne* populations—the F1 hybrids created recently and currently being field-tested (Bertrand *et al.*, 1999) or certain Catimor lines—the preliminary results on the inheritability of resistance factors apparently suggest a genetic basis governed by just one or two genes (Bertrand *et al.*, 2000b). There may be a high risk of erosion of this monogenic or oligogenic resistance, particularly in the case of the coffee monoculture systems of Central America. It is thus essential not to subject this genetic material to too much parasite pressure. In the case of *C. canephora* rootstocks, with their complex polygenically determined partial resistance, there is less risk of erosion of resistance. However, given the partial nature of this resistance, it is also important not to expose such material to excessive nematode population levels, particularly during initial growth. Non-chemical control methods therefore need to be used to keep plant nematode populations at an acceptable level in the long term, taking account of the whole range of species that attack coffee. To this end, it is essential to carry out field evaluations of alternative soil cleaning methods, before and at the time of planting, so as to limit parasite pressure in the field.

### Conclusion

Whether it is decided to use resistant material or antagonists, the control strategies adopted need to take account of the complexity of plant nematode communities. Controlling just one genus or particular species seen as the most important runs the risk of modifying the population structure and triggering major attacks of species previously seen as secondary, as has already been seen with other tropical crops (Luc and Reversat, 1985). Competition has been observed between root lesion nematodes and root knot nematodes on coffee in Guatemala (Cilas *et al.*, 1993) and Costa Rica (Bertrand *et al.*, 1998). A protection strategy aimed at just one or other type of nematode could thus trigger the development of populations of the genus not targeted. This therefore means conducting comprehensive surveys of the nematode fauna associated with coffee, and evaluating the potential threat posed by all the plant nematodes identified, as was done for crops in the Sahel (Baujard, 1994). It is even necessary to consider not only plant nematodes but the soil parasite complex as a whole. Other pathogens may be involved in coffee dieback, as seen in the case of the interaction between *M. arabicida* and *Fusarium oxysporum*. Numerous other cases of pathogen complexes involving nematodes and soil fungi have been seen on other crops (Powell, 1971). This type of interaction between bio-aggressors would be worth studying in more detail. The experience acquired of integrated

control of coffee nematodes in Central America, where the substantial biodiversity of these parasites leads to complex parasite situations, should almost certainly help to provide solutions for other parts of the world, where Arabica coffee production is highly economically important: in East Africa, Southeast Asia and South America, particularly Brazil, where substantial diversity has also been observed among the nematodes found on coffee (Campos *et al.*, 1990; Carneiro and Almeida, 2000). ■

This article is dedicated to our colleague and friend Pierre Baujard, who died shortly after it was written. Pierre was an eminent nematologist, recognized by the international scientific community, and had shed new light on taxonomy through his integrated approach to the science. He was particularly well known for his major work on characterizing the nematodes found in Sahelian areas. Although he had only recently begun to work on coffee nematodes, his new and original ideas had a decisive influence on our work on the genus *Pratylenchus* in particular, on which so much work remained to be done.

