

Isoestérases chez le nématode *Heterodera avenae*. I — Polymorphisme chez différentes races françaises

Jean-Baptiste BERGÉ *, Antoine DALMASSO *
Françoise PERSON **, Roger RIVOAL ** et Dominique THOMAS *

* INRA Station de Recherches sur les Nématodes, 123 boulevard Francis Meilland, 06602 Antibes, France.
** INRA Laboratoire de Nématologie, Domaine de la Motte au Vicomte, B.P. 29, 35650 Le Rheu, France.

RÉSUMÉ

Il existe chez *Heterodera avenae* au moins deux loci codant pour des estérases. Par analogie avec les résultats déjà connus chez *Meloidogyne* ils ont été appelés « est. β » et « est. b ». Dans le système de gel utilisé les estérases β peuvent être difficilement étudiées. Il semblerait néanmoins qu'il y ait trois allèles : β 0,70, β 1,0 et β^- . Par contre, les résultats obtenus pour les estérases b peuvent être plus convenablement interprétés. Parmi les populations étudiées il y aurait au moins six allèles appartenant à ce locus : b 0,60 — b 0,70 — b 0,90 — b 1,0 — b 1,1 et b 1,2.

La comparaison de quatre populations d'*H. avenae* appartenant à quatre races, définies par leurs agressivités vis-à-vis des céréales, a montré que les souches étaient différentes, soit par la présence d'un allèle particulier, soit par les fréquences alléliques. Cette observation, qui demande à être confirmée sur plusieurs populations de chaque race, est discutée dans le cadre de la variabilité génétique et des capacités d'adaptation.

La variabilité génétique est donc plus élevée chez cette espèce à reproduction amphimictique que chez les espèces à reproduction parthénogénétique obligatoire ou facultative appartenant au genre voisin des *Meloidogyne*.

SUMMARY

Isoesterases in the nematode Heterodera avenae. I — Polymorphism in several French races

Four strains of *Heterodera avenae* were studied for their esterase polymorphism. In electrophoresis carried in 7% acrylamide at pH 8 (Tris HCl 0.1 M) 0,4 mm thick, two groups of non specific esterases have been identified ; they appeared to belong to two loci, β and b, according to their electrophoretic mobilities, their substrate affinities and their allelic distribution. The β locus showed three allelic forms : β 0,70 — β 1,0 — β^- but need to be studied in other electrophoretic conditions. In the locus b, six distinct alleles may be detected : b 0,60 — b 0,70 — b 0,90 — b 1,0 — b 1,1 and b 1,2. Allelic frequencies are reported for the four strains but more specially for two of them Fr₁ and Fr₄.

These strains were found different from each other either by some alleles or by allelic frequencies.

It clearly appeared that genetic polymorphism is more important in *H. avenae* than in *Meloidogyne* sp. referring to non specific esterases.

Le polymorphisme biochimique, qui permet de quantifier la diversité génétique chez un ensemble d'individus (voir Dickinson & Sullivan, 1975 et Lewontin, 1976, pour revues générales) est encore peu étudié chez les nématodes. Il a surtout été étudié par électrophorèse chez les *Meloidogyne* (Dickson, Huisingsh & Sasser, 1971 ; Hussey, Sasser & Huisingsh, 1972) et dans une moindre mesure chez *Heterodera rostochiensis* (Trudgill & Carpenter, 1971 ; Franco, 1979) et

chez *Ditylenchus dipsaci* (Hussey & Krusberg, 1971), dans l'intention de caractériser les espèces et les races sur des bases autres que morphologiques. Dans tous les cas précités, l'analyse a porté sur des broyats obtenus à partir de nombreux individus. Mais l'application de ces résultats à des études de routine n'est guère possible à cause des hétérogénéités qui existent dans les populations naturelles (mélange d'espèces) et de la variation de la fréquence des différents allèles

codant pour ces protéines. Ces deux paramètres introduisent des variations aléatoires au sein des électrophorétochromes.

Pour pallier ces variations, on a mis au point une méthode permettant d'obtenir des zymogrammes à partir d'une seule femelle de *Meloidogyne*, par une miniaturisation de la technique et l'amélioration des conditions d'extraction des enzymes (Bergé & Dalmasso, 1976 ; Dalmasso & Bergé, 1978). Ces techniques sont appliquées ici à *Heterodera avenae* afin d'obtenir une première appréciation sur la diversité génétique des populations naturelles des quatre principales races françaises de ce nématode dont l'appartenance, pour au moins deux d'entre elles, à la même espèce a été récemment vérifiée par des croisements réciproques (Person & Rivoal, 1979). A l'opposé des *Meloidogyne*, étudiés précédemment, qui se reproduisent surtout par parthénogenèse facultative ou obligatoire, *H. avenae* est une espèce amphimictique : il était intéressant de voir si ces modes de reproduction introduisent des différences notables au niveau du polymorphisme génétique de ces deux genres voisins.

Matériel et méthode

L'étude porte sur quatre populations d'origines géographiques différentes et déjà caractérisées pour leur comportement parasitaire vis-à-vis des céréales : Fr₁, Villasavary (Aude) ; Fr₂, Vivonne (Vienne) ; Fr₃, Argetan (Orne) ; Fr₄, Nuisement-sur-Cooles (Marne), (Rivoal, 1975, 1977). Ces populations ont été maintenues à Rennes pendant plusieurs années en conditions contrôlées d'élevage (Rivoal *et al.*, 1978). Les *Heterodera* destinés à l'examen par électrophorèse ont été élevés sur jeunes plantules de blé (cv. Hardi) en milieu gélosé (Mugniery & Person, 1976). Chaque jeune femelle gravide a été broyée séparément dans une solution de saccharose à 20% (Janati, 1979).

L'électrophorèse est réalisée suivant la méthode d'Ornstein et Davis (1964) mais sur plaques avec des gels à 7% d'acrylamide à pH 8 (Tris Hcl 0.1 M). Les plaques de 8 × 8 cm et de 0,4 mm d'épaisseur permettent de révéler les iso-estérases avec l'extrait provenant d'un seul individu. Le tampon cuve est le Tris-

Glycine 5 mM pH 8.3. Après le dépôt des échantillons sur un gel spacer, un courant de 40 V est appliqué pendant quinze minutes (concentration), puis de 130 V pendant environ deux heures, soit 5 mA par plaque. Les gels sont ensuite dégagés des plaques et les isoestérases révélées avec l' α naphthyl acétate (Dickson, Huisinck & Sasser, 1971). La migration des protéines dans le gel est évaluée en pourcentage de migration par rapport à l'une d'elles (ex. : pour la protéine 1,0 prise comme référence, la bande située à 0,70 témoigne d'une migration plus lente et inversement pour celle trouvée à 1,20).

Résultats

ISOESTÉRASES DES POPULATIONS FR₁ ET FR₄

On observe, pour les individus de Fr₁ et Fr₄, deux groupes de bandes (Fig. 1) : β 0,70— β 1,0 et b0,70—b0,90—b1,0—b1,10—b1,20, que l'on suppose pour trois raisons, appartenir à deux loci différents, β et b, codant pour la synthèse d'estérases :

— La spécificité du substrat : les estérases du locus β ne sont pas actives sur le naphthyl- β -acétate mais donnent des bandes avec le naphthyl- α -acétate. Les estérases du locus b hydrolysent indifféremment ces deux substrats.

— Chaque groupe de bandes se comporte comme si sa synthèse était dirigée par un locus d'un individu diploïde (c'est le cas pour *Heterodera avenae* où $2n = 18$ chromosomes). En effet, chez chaque individu et pour chacun des deux groupes on observe soit une bande, ce qui correspond à des individus homozygotes, soit deux bandes, ce qui correspond à des individus hétérozygotes. L'hypothèse d'un seul locus codant pour l'ensemble des isoestérases est impossible puisqu'il existe des individus présentant au maximum quatre bandes, alors que théoriquement chez ce nématode diploïde on ne peut avoir au maximum que deux allèles (deux bandes) pour un locus, ce qui n'est pas le cas. Par ailleurs, les bandes surnuméraires ne sont pas non plus des bandes hybrides provenant de molécules parentes polymériques, car elles n'existent pas, chaque fois que, chez le même individu, on observe les deux molécules considérées. L'hypothèse d'un nombre de loci supé-

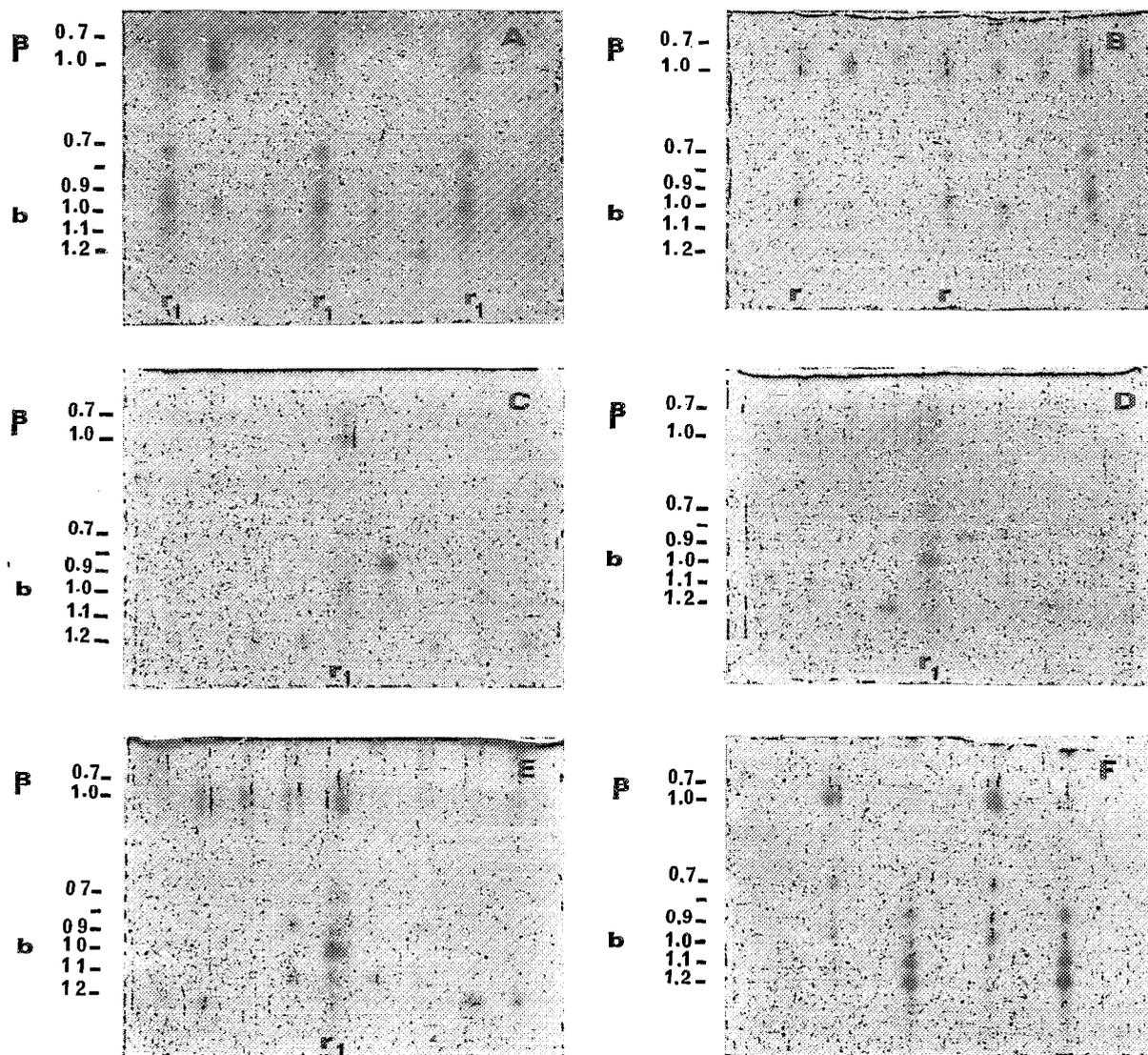


Fig.1. Isoestérases d'*H. avenae* — Gels acrylamide 7% pH 8. r_1 = référence : équivalent à deux femelles prélevées dans un broyat de 100 femelles Fr_1 . A, B : races Fr_1 ; C, D, E : race Fr_4 ; F : comparaison des références Fr_1 (r_1) et Fr_4 (r_4). Les différences dans l'intensité des bandes résultent surtout des différences dans les fréquences des allèles des deux populations.

Isoesterases of H. avenae — 7% acrylamid pH 8. r_1 = references : equivalent to two females from a 100 female homogenate. A, B : race Fr_1 ; C, D, E : race Fr_4 ; F : comparison between r_1 (Fr_1 reference) and r_4 (Fr_4 reference). The differences of the intensities of the respective allele essentially results from the differences in the allele frequencies of the populations.

rieur à deux est très improbable, car elle impliquerait que, pour un locus homozygote, les autres loci du même groupe aient, soit des allèles nuls, soit des protéines ayant la même mobilité électrophorétique.

— La troisième raison est que sur le gel, les

bandes de chaque groupe se localisent à deux niveaux distincts. Les bandes du groupe β se situent en haut du gel, les bandes du groupe b dans la partie inférieure du gel. Elles se distinguent également par des différences dans l'intensité de leur coloration.

L'hypothèse de deux loci n'est donc pas en contradiction avec ce que l'on observe. Il reste à en faire la démonstration par des croisements.

Ceci étant postulé, le locus β doit exister au moins sous trois formes alléliques possibles : deux allèles codant pour des estérases de Ef 0,70 et 1,0 et un « allèle nul » (pas de bandes), β^- (Fig. 1).

Le locus b possède au moins cinq formes alléliques : les allèles codant pour les estérases de Ef 0,70—0,90—1,0—1,10 et 1,20. Les fréquences de ces allèles sont données au tableau 1.

Tableau 1

Fréquences alléliques des populations Fr₁ et Fr₄
d'*Heterodera avenae* pour le locus b
(en supposant qu'il n'y ait pas d'allèle nul caché)
Allelic frequencies of locus b in populations Fr₁ and Fr₄
of *Heterodera avenae*
(it is supposed that no hidden nul allele is present)

Allèles	0,70	0,90	1,0	1,10	1,20
Fr ₁	0,205	0,115	0,6	0,05	0,03
Fr ₄	0	0,28	0,065	0,285	0,37

Analyse du locus β

Pour ce locus il est souvent difficile d'interpréter les résultats, car l'électrophorèse sépare mal les estérases β 0,70 et β 1,0 chez Fr₁. Chez Fr₄ la distinction des bandes β est encore plus difficile : on observe à ce niveau une traînée non interprétable et très souvent l'absence de toute bande correspondant vraisemblablement à un génotype β^-/β^- (homozygote pour un allèle nul). Ainsi, moins de la moitié des individus de Fr₁ (43%) sont homozygotes β^- . Chez Fr₄, par contre, la fréquence de ce génotype homozygote est plus élevée (66%). Certains individus de Fr₁ ont une estérase β 1,0 très active ; ce qui n'a pas encore été expliqué.

Analyse du locus b

Le locus b présente cinq bandes chez Fr₁ : b 0,70—b0,90—b1,0—b1,10 et b1,20. Chez Fr₄ aucun individu ne possède l'estérase b 0,70.

L'allèle le plus fréquent chez Fr₁ est b 1,0 et le plus rare est b 1,20. La majorité des individus sont, soit homozygotes b 1,0/1,0, soit hétéro-

zygotes b 1,0/x, x étant un des quatre allèles de ce locus. L'allèle b 1,20 n'a été trouvé qu'à l'état hétérozygote, associé à l'allèle le plus fréquent après b 1,0 ; il est donc relativement rare.

Par contre, chez Fr₄, l'allèle le plus fréquent est b 1,20. Il se comporte comme l'allèle le plus fréquent b 1,0 de Fr₁, tantôt homozygote, tantôt hétérozygote, avec l'un quelconque des autres allèles.

Les bandes du locus b ont souvent une faible intensité, aussi bien chez Fr₄ que chez Fr₁, leur coloration relative est accrue quand les gels sont déshydratés après passage dans un bain de méthanol ($\frac{1}{2}$ H₂O/ $\frac{1}{2}$ méthanol).

On peut noter des différences d'intensité entre les bandes du locus b, chez certains individus hétérozygotes de Fr₁ en particulier. Il y a aussi dans 1 à 2% des individus analysés présence de bandes surnuméraires de faible intensité : une bande sous β 1,0, une bande ou deux au-dessous de b 1,0, semblant correspondre aux allèles b 1,10 ou b 1,20. Dans le cas d'hétérozygotes b 0,70/1,0 on a aussi exceptionnellement une bande entre ces deux allèles et une sous b 1,0.

ISOESTÉRASES DES POPULATIONS Fr₂ ET Fr₃

Seuls dix-sept individus de Fr₂ et douze de Fr₃ ont pu être analysés. Il n'est donc pas possible de comparer et d'interpréter les fréquences des bandes.

Les individus Fr₂ ne possèdent pas b 1,20 ; par ce caractère ils ont des zymogrammes qui se rapprochent de ceux de la population Fr₁ qui n'a pas de bande b 1,20. Par contre, sur les dix-sept individus étudiés aucun ne possède de bande b 0,70, ce qui est aussi une des caractéristiques de Fr₄. L'estérase b 0,60, qui est la plus fréquente chez Fr₂ (65%) est absente chez toutes les autres populations.

Pour le locus β , il semble y avoir une forte proportion d'« allèles nuls » et de phénotypes homozygotes β nul/nul. Mais les autres bandes sont très faibles et le risque d'erreur à l'observation est élevé.

Les différents zymogrammes relevés pour Fr₂ sont donnés à la figure 2.

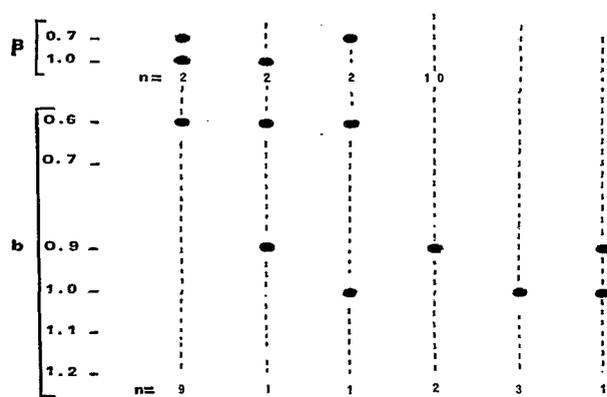


Fig. 2. Relevés des différents zymogrammes de Fr₂; n = nombre d'individus présentant le phénotype correspondant.

Different zymograms from Fr₂ populations; n = number of individuals showing this phenotype.

Tout comme Fr₄ et Fr₂, la population de Fr₃ ne semble pas avoir d'estérase b 0,70 et de nombreux individus présentent la bande b 1,20 : dix individus sur douze. La plupart des individus semblent être, soit homozygotes b 1,20/1,20, soit hétérozygotes b 1,20/x.

Un seul individu présente une bande au locus β, les autres seraient homozygotes β nul/nul, comme dans la population Fr₄.

Les différents zymogrammes relevés pour Fr₃ sont donnés à la figure 3

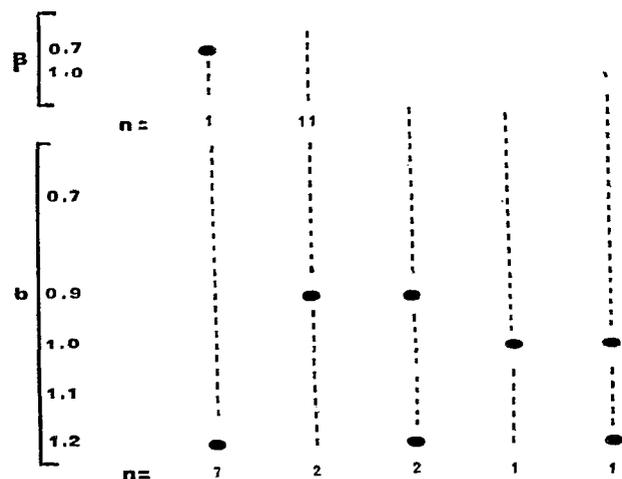


Fig. 3. Relevés des différents zymogrammes de Fr₃; n = nombre d'individus présentant le phénotype correspondant.

Different zymograms from Fr₃ populations; n = number of individuals showing this phenotype.

Les électrophorétogrammes des individus des populations Fr₂ et Fr₃ présentent des bandes d'intensité très faible et difficilement visibles.

Les femelles ont été prélevées, âgées de 38 à 45 jours pour Fr₂, et 45 jours pour Fr₃, date à laquelle elles semblaient de maturité équivalente à celle des femelles de Fr₁ et Fr₄ au moment de la capture (femelle de 35-40 jours pour Fr₁ et 55-60 jours pour Fr₄).

Cette faible intensité des bandes peut s'expliquer, soit par le fait que les femelles de Fr₂ et Fr₃ ont été broyées trop jeunes, ou que les femelles de Fr₂ et Fr₃ contiennent moins de protéines ou des estérases moins actives que les femelles de Fr₁ et Fr₄.

DISCUSSION

Chez *H. avenae* il existe au moins deux loci β et b codant pour les estérases : avec trois allèles pour le locus β et quatre, cinq ou six selon les populations pour le locus b. Cette hypothèse, étayée par plusieurs indices, devrait être confirmée par des croisements.

L'électrophorèse sépare mal les allèles du locus β. Pour améliorer l'étude de ce locus, il faudrait modifier le pH du gel (8) et la concentration (7%), et trouver une combinaison pH-concentration mieux adaptée. Le cas du locus β, au moins chez Fr₁, rappelle celui des groupes sanguins du système ABO, mais les fréquences que l'on peut relever pour ce locus sont faussées et le nombre d'homozygotes β 0,70/0,70 ou β 1,0/1,0 est surestimé. Les seuls génotypes que l'on peut indiquer (Tab. 2) sont β⁻/β⁻ et β 0,70/β 1, les phénotypes β 0,70 et β 1,0 peuvent être respectivement attribués aux génotypes β 0,70/β 0,70 ou β 0,70/β⁻ et à β 1,0/β 1,0 ou β 1,0/β⁻. En effet, un hétérozygote β x/nul aura le même phénotype que l'homozygote β x/x. Seule une différence d'intensité des bandes pourrait aider à identifier ces deux génotypes. Ainsi, l'estimation des fréquences génotypiques des hétérozygotes β nul/0,70 et β nul/1,0 reste aléatoire. Cependant, on peut noter que les individus de la population Fr₄ ont un génotype β⁻/β⁻ plus fréquent que ceux de Fr₁. De plus chez Fr₄, le locus β quand il n'est pas homozygote β⁻/β⁻ n'est visible qu'à l'état de trainée qui empêche toute interprétation sur le phénotype. On retien-

dra que les bandes du locus β ont parfois des intensités très différentes et que l'allèle β 1,0 paraît régulièrement très actif. On peut supposer que cette estérase est, soit effectivement plus active vis-à-vis du substrat, soit présente en quantité plus importante, notamment à l'état homozygote β 1,0/1,0. Les différences d'intensité entre les homozygotes pour ce locus peuvent s'expliquer du fait que l'allèle nul, associé à un des deux autres allèles, diminue de moitié la quantité d'estérases codées par un de ces deux allèles. On aura donc une bande d'intensité à moitié plus faible que celle d'un véritable homozygote.

Tableau 2

Fréquences des génotypes observées pour les loci β et b dans les deux populations d'*Heterodera avenae* Woll. Fr_1 et Fr_4

*Genotype frequencies of esterase β and b loci in two populations Fr_1 and Fr_4 of *Heterodera avenae**

Génotypes du locus β	Population Fr_1	Population Fr_4
0,70/0,70 ou 0,70/nul	10	} trainée 24
1,0/1,0 ou 1,0/nul	13	
0,70/1,0	34	
nul/nul	43	
Génotypes du locus b	Population Fr_1	Population Fr_4
0,70/0,70	8	0
0,90/0,90	1	11
1,0 /1,0	38	1
1,10/1,10	0	11
1,20/1,20	0	21
0,70/0,90	6	0
0,70/1,0	17	0
0,70/1,10	1	0
0,70/1,20	1	0
0,90/1,0	14	6
0,90/1,10	1	15
0,90/1,20	0	13
1,0 /1,10	8	3
1,0 /1,20	5	2
1,10/1,20	0	17
Nombre d'homozygotes	47	44
Nombre d'hétérozygotes	53	56

Les quelques bandes surnuméraires trouvées pour un locus b ne semblent pas être des bandes hybrides, car elles ne sont pas chaque fois présentes et ne se trouvent pas pour la plupart dans une position médiane par rapport aux bandes des estérases qui leur auraient donné naissance. Rappelons que les bandes hybrides se constituent à partir d'hétéropolymères (deux ou plusieurs polypeptides différents forment la protéine). Les bandes que nous observons peuvent être plutôt des formes de dégradation de la molécule qui garderait une partie de l'activité. Il est possible qu'elles soient également dues à des artefacts non déterminés, peut-être embryons de phénotypes différents se développant dans une femelle plus âgée.

Conclusion

Cette étude a permis d'établir l'existence d'une variabilité biochimique probablement très importante au sein de l'espèce *H. avenae*, variabilité déjà constatée par Rivoal (1977, 1978, 1979) au cours de ses études sur la biologie, l'agressivité et les conditions d'éclosion des différentes races, ainsi que par divers autres chercheurs étrangers.

Les techniques d'élevage des différentes souches d'*H. avenae* semblent avoir conservé, au niveau génétique, même après parfois cinq années d'élevage, un certain polymorphisme enzymatique. La comparaison avec des populations naturelles permettrait de savoir dans quelle mesure les techniques d'élevage ont atténué cette variabilité.

D'après nos résultats la variabilité ne se situe pas seulement au sein de l'espèce entre les différentes races biologiques, mais probablement aussi à l'intérieur de chaque race. L'analyse des estérases conduit à envisager un polymorphisme important pour les deux loci : chaque locus est représenté par plus de deux allèles par population, ce qui contraste avec les données recueillies chez les *Meloidogyne* (Dalmaso & Bergé, 1978).

Par ailleurs, la diversité génétique qui est vraisemblablement liée aux capacités d'adaptation ou d'évolution des espèces et qui peut être appréhendée plus commodément par la variabilité moléculaire que par d'autres moyens, pourrait permettre de vérifier la relation entre le

polymorphisme biochimique et la tenue des variétés résistantes. En effet, avec un fort degré de polymorphisme, comme c'est le cas dans l'espèce et les différentes races d'*H. avenae*, la population a davantage de chances de s'adapter à un environnement qui change en lui devenant plus favorable (passage en monoculture) ou au contraire défavorable (utilisation de variétés résistantes). Une telle étude devra être complétée par l'analyse du polymorphisme sur des enzymes autres que les estérasas, de façon à fournir un échantillon d'enzymes plus large. On sait (cf. *Meloidogyne*) que d'autres enzymes présentent moins de variabilité. Si tel était le cas pour les gènes liés à l'agressivité, on comprendrait alors qu'en dépit de potentialités biologiques élevées, les races d'*H. avenae* soient relativement inféodées à leurs hôtes et que la résistance variétale leur soit difficile à surmonter.

RÉFÉRENCES

- BERGÉ, J.B. & DALMASSO, A. (1976). Variations génétiques associées à un double mode de reproduction parthénogénétique et amphimictique chez le nématode *Meloidogyne hapla*. *C.r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, Sér. D, 282 : 2087-2090.
- DALMASSO, A. & BERGÉ, J.B. (1978). Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp. : Application to the taxonomy of *Meloidogyne*. *J. Nematol.* 10 : 323-332.
- DICKINSON, W. J. & SULLIVAN, D.T. (1975). *Gene - enzyme systems in Drosophila results and problems in cell differentiation*. Berlin, Springer Verlag, 163 p.
- DICKSON, D.W., HUISINGH, D. & SASSER, J.N. (1971). Dehydrogenases and alkaline phosphatases and esterases for chimotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera* and *Aphelenchus*. *J. Nematol.*, 3 : 1-16.
- FRANGO, J. (1979). Disc electrophoresis of female proteins of British and Peruvian potato cyst nematode populations, *Globodera* spp. *Nematologica*, 25 : 32-35.
- HUSSEY, R.S. & KRUSBERG, L.R. (1971). Disc electrophoresis patterns of enzymes and soluble proteins of *Ditylenchus dipsaci* and *D. trifomis*. *J. Nematol.*, 3 : 79-84.
- HUSSEY, R.S., SASSER, J.N. & HUISINGH, D. (1972). Disc electrophoresis studies of soluble proteins and enzymes of *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. *J. Nematol.*, 4 : 183-189.
- JANATI, A. (1979). *Contribution à l'étude des estérasas chez les Meloidogyne (Nematoda, Tylenchida)*. Thèse Univ. Sci. Tech. Languedoc : 84 p.
- LEWONTIN, R.C. (1974). *The genetic basis of evolution change*. Columbia Univ. Press, 346 p.
- MUGNIERY, D. & PERSON, F. (1976). Méthode d'élevage de quelques nématodes à kystes du genre *Heterodera*. *Sci. Agron. Rennes* : 217-220.
- ORNSTEIN, L. & DAVIS, B.J. (1964). Disc electrophoresis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121 : 321-349, 404-427.
- PERSON, F. & RIVOAL, R. (1979). Hybridation entre les races Fr₁ et Fr₄ d'*Heterodera avenae* Wollenweber en France et étude du comportement d'agressivité des descendants F₁. *Revue Nématol.*, 2 : 177-183.
- RIVOAL, R. (1975). Le nématode à kystes des céréales, *Heterodera avenae* (Woll.) en France et les causes de sa variabilité. *C.r. hebd. Séanc. Acad. Agric. Fr.*, 12 : 959-970.
- RIVOAL, R. (1977). Identification des races biologiques du nématode à kystes des céréales. *Heterodera avenae* Woll., en France. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 9 : 261-272.
- RIVOAL, R. (1978). Biologie d'*Heterodera avenae* Wollenweber en France. I. Différences dans les cycles d'éclosion et de développement de deux races Fr₁ et Fr₄. *Revue Nématol.*, 1 : 171-179.
- RIVOAL, R. (1979). Biologie d'*Heterodera avenae* Wollenweber en France. II. Etude des différences dans les conditions thermiques d'éclosion des races Fr₁ et Fr₄. *Revue Nématol.*, 2 : 233-248.
- RIVOAL, R., PERSON, F., CAUBEL, G. & SCOTTO LA MASSESE, C. (1978). Méthodes d'évaluation de la résistance des céréales au développement des nématodes : *Ditylenchus dipsaci*, *Heterodera avenae* et *Pratylenchus* spp. *Ann. Amélior. Pl.*, 28 : 371-394.
- TRUDGILL, D.L. & CARPENTER, J.M. (1971). Disc electrophoresis of proteins of *Heterodera* species and pathotypes of *Heterodera rostochiensis*. *Ann. appl. Biol.*, 69 : 35-41.

Accepté pour publication le 3 octobre 1980.