

Technique d'éradication d'*Aphelenchoides besseyi* (Nematoda : Aphelenchina) dans les semences de *Panicum maximum*

Georges MERNY*, Guy BILLARD et Robert PELLETIER

Laboratoire de Nématologie, ORSTOM, 70-74, route d'Aulnay, 93140 Bondy, France.

RÉSUMÉ

Un traitement thermique est décrit qui permet de purifier les semences de *Panicum maximum* infestées par *Aphelenchoides besseyi*. Ce traitement comprend plusieurs phases : *i*) mouillage rapide sous vide partiel, permettant d'atteindre le nématode, *ii*) prétrempage (16 h) réactivant le nématode en anhydrobiose; *iii*) traitement thermique proprement dit, par trempage dans l'eau chaude. Le meilleur résultat est obtenu avec une température de 55° pendant vingt minutes (la survie des nématodes est au maximum de 1‰). L'incidence du traitement sur la germinabilité des semences se révèle variable suivant les lots mais ne s'est pas accentuée pendant une période d'observation de six mois après traitement.

SUMMARY

Technique for eradication of Aphelenchoides besseyi (Nematoda : Aphelenchina) from seeds of Panicum maximum

A thermal treatment is described which allows the eradication of *Aphelenchoides besseyi* from seeds of *Panicum maximum*. The treatment comprises the following stages : *i*) a quick wetting of the seeds, under partial vacuum, which ensures contact with the nematode also; *ii*) a pre-soaking (16 h) which reactivates the nematode; *iii*) the thermal treatment itself, by soaking the seeds in hot water. The best results were obtained at 55° for 20 mn (survival of nematodes was at most 1‰). The adverse effect of the treatment germination on the seeds is variable depending on the origin of the seeds, but no increase has been noted during a six-month period of observation.

En décembre 1982, des lots de semences sélectionnées de *Panicum maximum*, provenant de Côte d'Ivoire et conservés au Centre ORSTOM de Bondy (France) étaient envoyés au Brésil où ils étaient retenus par les Services d'interception du CENARGEN, à Brasilia : on y avait en effet décelé la présence d'un nématode du genre *Aphelenchoides* dont certaines espèces constituent de très dangereux parasites pour certaines cultures.

Cette espèce était identifiée par M. Luc (ORSTOM/Muséum, Paris) à *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1941, agent du « white tip » du riz, détermination confirmée par D. J. Hooper (Rothamsted Exp. Stn, Harpenden, U. K.), spécialiste du genre. D. Hooper précisait en outre qu'*A. besseyi* avait déjà été observé en Australie sur *Panicum maximum* var. *trichoglupe* (Anon., 1974) et au Japon sur *P. sanguinale* (Yoshii & Yamamoto, 1951) ainsi que sur *P. crus-galli* var. *frumentaceum* et *P. bisulcatum* (Ino, 1971).

Au Brésil, *A. besseyi* est signalé pour la première fois sur fraiser (Monteiro, 1963), puis sur riz (Lordello, 1969); il est ensuite successivement observé sur cette dernière plante dans les États de São Paulo (Lordello, 1974), du Minas Geraes (Tanaka, Deslandes & Machado, 1976), de Bahia (Zem & Monteiro, 1977), du Centre Ouest (Huang, Cupertino & Martinelli, 1977) et enfin de Santa Caterina (Miura & Huang, 1978); dans ce même État, Lordello et Monteiro (1981) le signalent sur l'ail, auquel il ne semble d'ailleurs pas causer de dégâts.

Il pourrait donc sembler superflu de tenter d'empêcher l'entrée d'un parasite dans un pays où il existe déjà. En réalité, l'existence potentielle de races physiologiques (pathotypes) dont la virulence varie suivant l'hôte et les conditions du milieu doit être prise en considération car un pathotype donné, peu dangereux dans une certaine contrée et envers certaines plantes, pourra devenir un

* Adresse actuelle : 5, rue du Dibenn, Le-Lenn-en-Penerf, 56750 Damgan, France.

parasite grave dans un autre environnement. Le passage d'un parasite d'un continent à l'autre doit donc être évité dans toute la mesure du possible.

Il convenait donc de mettre au point un traitement permettant l'éradication d'*A. besseyi* des semences de *P. maximum*, sans léser la faculté germinative de celles-ci. Les variétés sélectionnées par les généticiens de l'ORSTOM, et multipliées en Côte d'Ivoire, sont en effet demandées dans le monde entier en raison de leurs excellentes qualités fourragères.

Mise au point du traitement

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans la semence de *P. maximum*, le nématode, en état d'anhydrobiose, est localisé entre les glumes et les glumelles. Cet état et cette localisation le rendent difficile à atteindre. Il est en effet moins sensible à la chaleur qu'un nématode actif et les glumes et les glumelles se révélant très hydrophobes il ne peut être réhumidifié : en effet, même si la semence est plongée dans l'eau, le nématode demeure dans un film d'air qui le protège.

La première opération consistera donc à réhumidifier le nématode au cours d'un pré-trempe de plusieurs heures; il reviendra alors à l'état de vie active, après quoi il sera possible d'appliquer le traitement par la chaleur.

Le traitement des semences en ordre dispersé est difficile; beaucoup se collent aux parois de la fiole à vide (cf. infra) et on ne peut être assuré que le traitement a été bien appliqué. Les semences ont donc été placées dans un récipient (= microplaine) qui permet de les grouper et rend les traitements plus homogènes.

Ces microplines consistent en un récipient cylindrique en verre de 25 mm de diamètre et 35 mm de hauteur, ouvert aux deux extrémités (Fig. 1, A). A chaque extrémité, le bord est recourbé en collerette vers l'extérieur et le tube est fermé par un tissu léger maintenu en place par un élastique.

Mouillage et dégazage (Fig. 1 B-D)

Les microplines sont doucement agitées, pendant deux minutes, dans un Erlenmeyer contenant environ 100 ml d'eau additionnée de quelques gouttes d'un mouillant (savon liquide par exemple). Ils sont ensuite rincés et placés, dans la même quantité d'eau, à l'intérieur d'une fiole à vide reliée à une trompe à eau. Après une minute environ, des bulles d'air se forment sur les semences et sont retenues par les poils présents sur les téguments. Les semences ainsi allégées entraînent les microplines à la surface. Lorsque ceux-ci sont tous remontés, on ouvre brusquement la fiole à vide et ils retombent dans le fond. Le vide est alors refait et l'opération répétée cinq ou six fois (cinq à dix minutes). L'eau a pénétré à ce moment dans tous les interstices entre glumes et glumelles et atteint tous les nématodes qui s'y trouvent. Les

microplines sont alors transférés dans un Becher où va s'opérer le pré-trempe.

Pré-trempe (Fig. 1 G)

Il a pour but de réhumidifier le nématode et de l'amener à l'état de vie active. Dans le traitement des semences de riz contre ce même nématode le temps de pré-trempe est de seize heures. C'est celui qui a été adopté pour nos essais.

Traitement thermique (Fig. 1 H)

Les microplines sont immergés dans un bain thermostaté au 1/10 de degré près à l'aide d'un dispositif chauffant électrique muni d'une hélice qui brasse l'eau et assure l'homogénéité thermique du bain. Les temps de séjour des semences dans ce bain ont varié entre cinq et quarante minutes.

Observations

Elles étaient effectuées sur cinq lots de 100 semences, et ont porté sur la survie des nématodes aux traitements et sur les effets de ceux-ci sur la germinabilité des semences.

Observation sur la survie des nématodes. Aussitôt après le traitement, les semences sont mises, sous une fine couche d'eau, sur un tamis à mailles de 250 µm placé dans une boîte de Petri. Après trois ou quatre jours, les nématodes présents dans l'eau sont recueillis dans un tube à essai. On les laisse sédimenter puis une partie de l'eau est aspirée en surface à l'aide d'un tube relié à une trompe à vide et le volume total de l'eau ramené à un peu moins de 5 ml. Ce culot est transféré dans une lame de comptage à fond quadrillé et les nématodes sont dénombrés sous la loupe binoculaire. Il faut noter qu'outre *A. besseyi* on recueille de cette façon certains nématodes non phytoparasites. L'observateur doit donc être vigilant.

Observations sur la germinabilité des semences. Les semences sont mises à sécher en étuve à 35° pendant 24 h, puis sur papier filtre à la température ambiante pendant une semaine. Elles sont alors placées sur papier filtre humide en boîte de Petri et mises à l'étuve à 30°. On observe le pourcentage de semences ayant germé après quatre jours.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Elle a eu pour but de tester l'effet du temps de traitement à température fixe. On a adopté, provisoirement, l'une des températures auxquelles sont faits couramment les traitements appliqués aux semences de riz : 51°. Les temps essayés ont été de 5, 10, 20 et 40 mn. L'essai était effectué avec des semences provenant du lot n° K 238, pour lequel des essais préliminaires avaient montré que chaque semence contenait en moyenne deux *Aphelenchoides*.

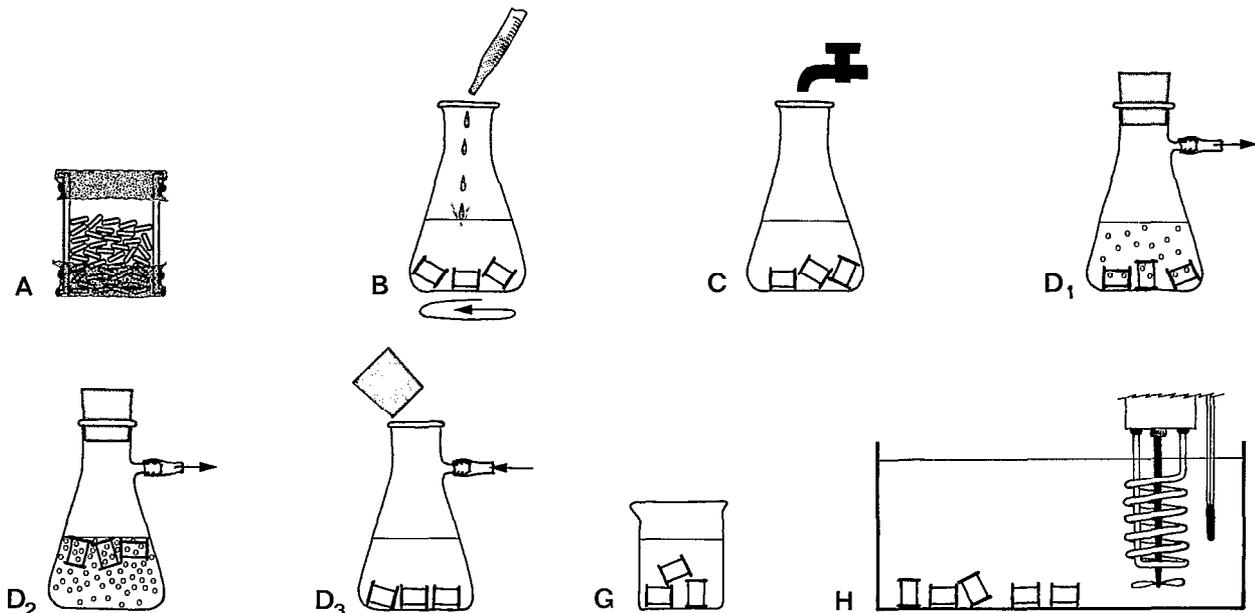


Fig. 1. Traitement des semences de *Panicum maximum* pour l'éradication d'*Aphelenchoides besseyi*. A : microplene contenant les semences. B : mouillage (eau et quelques gouttes de mouillant; agitation pendant 2 mn). C : rinçage. D : dégazage. D 1 : mise sous vide : les bulles d'air commencent à se dégager (1 mn). D 2 : les microplines contenant les semences montent à la surface. D 3 : rupture du vide : les microplines descendent au fond (l'opération D est répétée cinq à six fois; durée totale : 10 mn). G : prêtrempage (16 h). H : traitement thermique dans un bain thermostaté (55° pendant 20 mn).

Treatment of seeds of Panicum maximum for the eradication of Aphelenchoides besseyi. A : microplene containing the seeds. B : wetting (water and some drops of surfactant; stirring during 2 mn). C : rinsing. D : removal of air. D 1 : placing under vacuum : air bubbles begin to be given off (1 mn). D 2 : the microplines containing the seeds come to the surface. D 3 : stopping the vacuum : the microplines go down to the bottom (the operation D is repeated five or six times; total duration : 10 mn). G : presoaking (16 h). H : thermal treatment in a thermostated bath (55° during 20 mn).

Jusqu'à 20 mn, la survie des nématodes diminue rapidement quand le temps de traitement augmente (Fig. 2 A) la courbe affectant la forme d'un S inversé. Entre 20 mn et 40 mn et il n'y a pas de différences dans la survie des nématodes. En fait, la faible proportion de parasites qui survit aux deux temps de traitement est composée des individus qui résisteront à 51° quel que soit le temps de traitement. Il n'y a donc pas lieu d'augmenter celui-ci au-delà de 20 mn. C'est le temps qui a été retenu pour les essais ultérieurs.

Il est assez surprenant de constater (Fig. 2 B) que, loin de diminuer comme on s'y attendait, la germinabilité des semences augmente, entre 5 et 20 mn, avec le temps pendant lequel elles sont maintenues à 51°. Entre 20 et 40 mn, la germinabilité n'augmente pas mais se maintient. Il est probable qu'il existe un temps à partir duquel la faculté germinative diminuerait mais il n'a pas été atteint dans cette expérience et le rechercher ne présente pas d'intérêt.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

Elle a eu pour but de déterminer la température optimale de traitement pendant un temps fixe de 20 mn. Dans l'expérience précédente, un traitement presque satisfaisant était obtenu en maintenant les semences 20 mn à 51°, deux nématodes seulement ayant survécu dans cent semences qui, au départ, en contenaient environ 200. Ce résultat est cependant insuffisant si, dans un but de protection phytosanitaire, on doit procéder à une véritable éradication. On a donc, en maintenant les mêmes temps de prêtrempage et de traitement, augmenté la température : 51, 52, 53 et 55° ont été essayés.

Le détail des résultats obtenus est donné au tableau 1. L'infestation chez les témoins était un peu inférieure à celle observée dans l'essai précédent (170 contre 202 pour 100 graines) et le traitement à 51° plus efficace (0,3 % de survivants contre 1 %). Dans deux des cinq lots traités

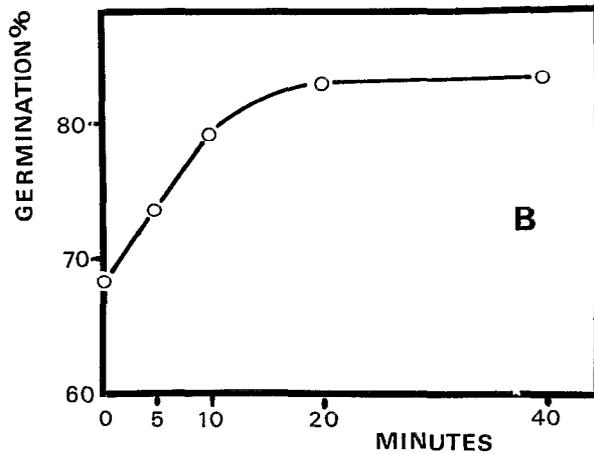
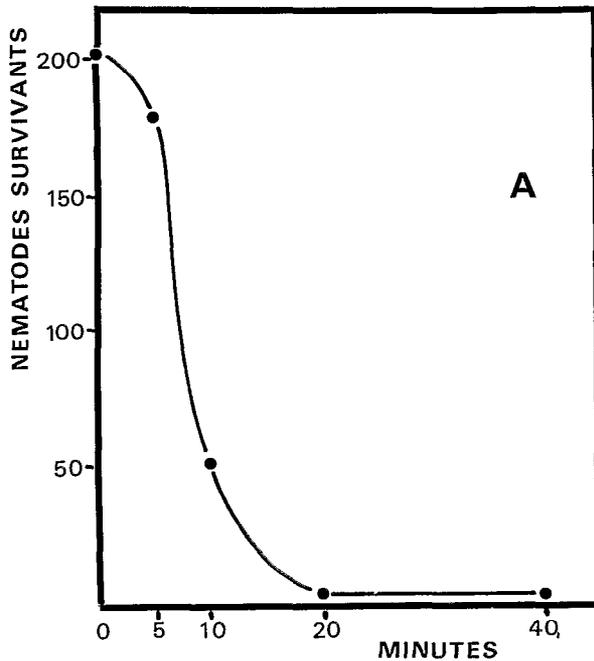


Fig. 2. Résultats du traitement de 100 semences de *Panicum maximum* à 51° pendant 5, 10, 20 et 40 mn. — A : nombre de nématodes survivants. — B : pouvoir germinatif des graines.

Results of the treatment of 100 seeds of *Panicum maximum* at 51° for, 5, 10, 20 and 40 mn. — 1 : number of surviving nematodes. — B : germinating capability of the seeds.

à 53°, une proportion anormalement élevée de nématodes a survécu. Il est probable qu'il s'agit de défauts dans l'application du traitement. Les résultats obtenus

Tableau 1

Survie des nématodes en fonction de la température.
Survival of the nematodes according to the temperature.

	Température				
	Témoins	51°	52°	53°	55°
	51	1	0	0	0
	134	0	0	0	0
	228	1	0	25	0
	281	0	1	5	0
	158	1	0	0	1
Somme	352	3	1	30	1
Moyenne	170	0,6	0,2	6	0,2

Tableau 2

Résultats du traitement de 52 lots de semences de *Panicum maximum*. Nombre de nématodes survivants.

Results of the treatment of 52 parcels of seeds of *Panicum maximum*. Number of surviving nematodes.

N°	Témoins	Traité	N°	Témoins	Traité
T3	11	0	T74	42	0
T6	280	0	T80	64	22**
T7	260	0	T83	5*	0
T9	640	0	T84	4	0
T11	36	0	T88	2	0
T13	315	0	T89	1	0
T17	455	0	T92	0	0
T18	56	0	T97	285	0
T21	5*	0	T98	420	0
T23	27	0	T104	0	0
T24	0	0	T106	0	0
T25	0	0	T108	78	0
T27	0	0	T109	0	0
T29	0	0	T110	29	0
T45	26	0	T115	440	0
T46	205	0	T116	71	0
T56	6	0	K17	3	0
T57	33	0	K25	67	0
T61	7	0	K31	215	0
T62	43	0	K48	109	0
T64	2	0	K51	1	0
T65	0	0	K54	8	0
T67	3	0	K55	24	0
T69	0	0	K62	5	0
T71	29	0	K71	0	0
T72	0	0	KK15	1	0

* = inertes; ** = morts.

à cette température ne seront donc pas pris en considération. Les résultats obtenus à 52° et 55° représentent une amélioration par rapport à ceux du traitement à 51° puisque seul un nématode sur 1 000 a survécu.

L'effet stimulant du traitement à 51° est confirmé (Fig. 3) et il subsiste à 52°; il diminue ensuite et à 55°, la germinabilité des semences traitées devenant légèrement inférieure à celle des témoins.

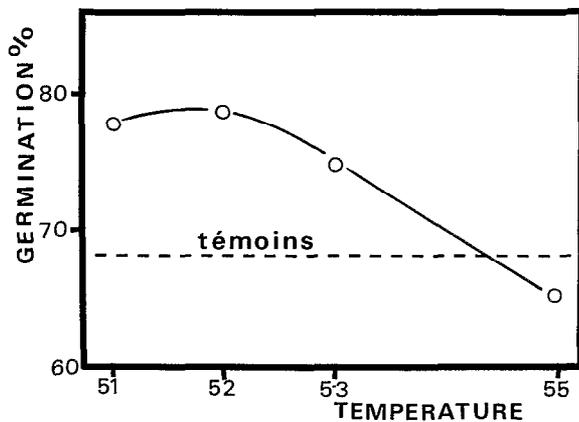


Fig. 3. Germinabilité des semences de *P. maximum* traitées à différentes températures pendant 20 mn.

Germinating capability of the seeds of Panicum maximum treated at various temperatures for 20 mn.

CONCLUSION

Un traitement des semences de *P. maximum* à 55° pendant 20 mn, précédé d'un mouillage soigneux et d'un prétrempage de 16 h, assure la destruction de la presque totalité des *A. besseyi* présents. Il ne s'agit cependant pas d'une éradication totale puisqu'un nématode sur 1 000 peut survivre. La faculté germinative des semences ayant subi ce traitement est, à peu de chose près, égale à celle des semences témoins. Une augmentation de la température de traitement risquerait cependant de la diminuer fortement. Cette méthode a été mise à l'épreuve dans un premier traitement opérationnel de 52 lots de semences expédiés à Dakar, en mai 1983.

Traitement opérationnel

Le traitement décrit ci-dessus (55°, 20 mn) a été appliqué à 52 lots de semences correspondant à diverses obtentions. A la fin de ce traitement, les semences étaient séchées à l'étuve à 35° pendant 24 h et maintenues sèches pendant un mois. A ce moment, avant l'expédition, 100 semences étaient prélevées dans cha-

que lot; elles étaient alors à nouveau mouillées par la méthode habituelle et mises sur tamis pour en extraire les nématodes éventuellement survivants.

Les résultats sont donnés au tableau 2. Il faut d'abord remarquer que l'infestation, dans les témoins, est très inégale d'un lot à l'autre. Aucun nématode n'a été trouvé dans douze lots, par contre plus de deux parasites par semence ont été trouvés dans dix lots, l'infestation culminant dans le n° T 9 avec une moyenne de 6,4 parasites par semence.

Ce traitement aboutit en fait à une éradication pratiquement totale, les quelques nématodes extraits n'ayant pas survécu après leur sortie des semences. Ce traitement s'est donc montré plus efficace que lors de l'essai précédent au cours duquel un parasite sur mille avait survécu. Cette amélioration est probablement due au fait qu'à la différence de l'essai précédent les semences pour lesquelles la survie des nématodes était observée n'étaient pas mises immédiatement dans l'eau mais subissaient un dessèchement d'un mois avant d'être réhumidifiées. Ainsi, les rares nématodes qui avaient résisté au traitement, et dont on peut penser qu'ils étaient quand même plus ou moins affectés, devaient quelques heures après leur réhydratation subir une nouvelle mise en anhydrobiose et une nouvelle reviviscence un mois après. Il n'est pas étonnant qu'aucun n'ait pu résister à pareil traitement.

Germinabilité des semences traitées

Les observations de la germinabilité des semences après les traitements ne portaient que sur l'effet immédiat des traitements. Il restait possible que les mécanismes physiologiques déclenchés par la chaleur, et aboutissant à une baisse légère de la germinabilité, continuent à fonctionner au cours des mois suivants, risquant, à long terme, d'amener la germinabilité des semences à un niveau très bas, ou même nul.

Des lots de graines d'origines différentes ont été traités le 30 novembre 1983 à 54°. Après séchage, ils ont été placés en chambre froide (4°) où sont normalement conservées ces semences. Périodiquement, au cours des six mois suivants, trois échantillons de 100 semences ont été prélevés par lot, mouillés et mis à germer sur papier filtre humide, en boîte de Pétri.

Trois lots ont été choisis pour leur germinabilité différente et leur sensibilité différente au traitement :

- T 7 : germinabilité forte; faible sensibilité au traitement
- T 97 : germinabilité moyenne; faible sensibilité au traitement
- T 115 : germinabilité moyenne; forte sensibilité au traitement

Les résultats sont donnés au tableau 3. Tout au long de cette période, chez le lot T 7, la germinabilité se maintient à un niveau très élevé tant chez les traités que

Tableau 3

Évolution de la germinabilité des semences de *Panicum maximum* (pourcentage de semences ayant germé) au cours des six mois qui suivent le traitement à 54°.

Evolution of the germinating capability of the seeds of Panicum maximum (percentage of germinating seeds) during a six-month period following the 54° treatment.

Lot	Traitement	Dates				
		8/12	31/12	9/2	9/3	30/5
T 7	Témoin	93	92	93	95	—
	Traité	86	78	85	83	83
T 97	Témoin	64	52	60	46	—
	Traité	56	47	63	64	66
T 115	Témoin	68	44	53	42	60
	Traité	8	11	26	12	12

chez les témoins et la sensibilité au traitement reste faible. Chez T 97 on observe une fluctuation de faible amplitude mais la germinabilité reste moyenne et montre même chez les traités une certaine tendance à augmenter pendant les derniers mois. Chez T 115, à quelques variations près, la germinabilité reste moyenne chez les témoins. Par contre chez les traités, elle est très faible au moment du traitement, augmente sensiblement pendant les trois mois qui suivent et diminue ensuite. Elle reste toujours très inférieure à celle observée chez les témoins mais n'a pas augmenté avec le temps et reste suffisante pour que le lot puisse être multiplié à la réception.

On peut donc conclure que l'effet des traitements sur la germinabilité des semences est très variable d'un lot à l'autre mais ne s'accroît pas au cours des six mois suivant le traitement.

Accepté pour publication le 8 avril 1985.

RÉFÉRENCES

- ANONYME (1974), *Annual Report 1973-1974*, Queensland Dep. Primary Ind., Brisbane, 64 p.
- HUANG, C. S., CUPERTINO, F. P. & MARTINELLI, N. M. (1977). Incidence of white-tip nematode, *Aphelenchoides besseyi*, in stored rice seed from Central-West Brazil. *Pest Art. News Summ.*, 23 : 65-67.
- INO, M. (1971). On the water dissemination of *Aphelenchoides besseyi*. III. Nematode infestation of weeds and disease occurrence in a heavily infested area. *Proc. Kanto-Tosan Pl. Prot. Soc.*, n° 8 : 123.
- LORDELLO, L. G. E. (1969). Ocorrência do nematoide *Aphelenchoides besseyi* em arroz no Brazil. *Revta Agric., São Paulo*, 44 : 129-131.
- LORDELLO, L. G. E. (1974). A « ponta branca » do arroz atinge São Paulo. *Revta Agric., Piracicaba*, 49 : 184.
- LORDELLO, L. G. E. & MONTEIRO, A. R. (1981). Nematode ataca o alho em Santa Catarina. *Revta Agric., Piracicaba*, 56 : 22.
- MIURA, L. & HUANG, C. S. (1978). Nematode de « ponta branca » do arroz : ocorrência e distribuição em Santa Catarina, Brazil. EMPASC-EMBRAPA, Univ. Brasília, IV + 8 p.
- MONTEIRO, A. R. (1963). Nematoides em folha de morango (nota previa). *Revta Agric., São Paulo*, 38 : 196.
- TANAKA, M. A. de S., DESLANDES J. A. & MACHADO J. da C. (1976). Ocorrência da ponta branca do arroz em Minas Gerais. *Fitopatol. Brasil*, 2 : 173-174.
- YOSHII, H. & YAMAMOTO S. (1950). A rice nematode disease, « Senchū shingare Byō ». II Hibernation of *Aphelenchoides oryzae*. *J. Fac. Agric. Kyushu Univ.*, 9 : 223-233.
- ZEM, A. C. & MONTEIRO A. R. (1977). O nematoide da « ponta branca » também ocorre em sementes de arroz. *Revta Agric., Piracicaba*, 52 : 81-82.