

O R S T O M

SERVICES SCIENTIFIQUES CENTRAUX

70-74 route d'Aulnay 93140 BONDY

Mise au point d'une méthode d'éradication d'Aphelenchoides besseyi
(Nematoda : Aphelenchoidea) dans les graines de Panicum maximum

Georges MERNY, Guy BILLARD et Robert PELLETIER

29 NOV. 1983

O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 3986 ex 1

Cote : B

B3986 ex 1

A la fin de l'année 1982, des lots de graines sélectionnées de Panicum maximum, provenant de Côte d'Ivoire et envoyées au Brésil par l'ORSTOM-Bondy où elles étaient conservées, étaient retenues par les Services d'interception du CENARGEN, à Brasilia, principalement parce qu'on y avait décelé la présence d'un nématode appartenant au genre Aphelenchoides, réputé pour comprendre certaines espèces très dangereuses pour les cultures.

M. Savidan, généticien de l'ORSTOM, responsable du programme Panicum au Brésil, ne parvenait pas à se débarrasser des parasites par les méthodes classiques (trempage dans l'eau chaude ou dans une solution de formol additionnée de mouillant ou mise en présence de vapeurs d'oxyde de propylène). Obligé de débarrasser les graines des nématodes une à une en les décortiquant avec des pinces fines sous la loupe binoculaire et en les lavant dans une solution diluée d'hypochlorite de soude, il faisait appel aux nématologistes de l'ORSTOM pour mettre au point une méthode de lutte plus rapide et pouvant être appliquée en grand.

Dès les premiers jours de janvier 1983, des exemplaires du parasite étaient envoyés au Dr D.J. Hooper (Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts., Angleterre) spécialiste du genre Aphelenchoides, qui les identifiait comme appartenant à l'espèce A. besseyi Christie, 1942, connue pour causer la maladie du " white tip " du riz qui occasionne de sérieuses pertes de rendement dans plusieurs parties du monde, notamment en Amérique du Nord et en Extrême-Orient. Le Dr Hooper attirait également notre attention sur le fait que cette espèce avait déjà été observée en association avec la même plante, en Australie, sur P. maximum var. trichoglume (Anon, 1974) ainsi que sur des plantes voisines: au Japon, Yoshii et Yamamoto (1950) l'observent sur P. sanguinale et Ino (1971) sur P. crus-galli var. frumentaceum et P. bisulcatum.

La présence d'A. besseyi au Brésil est connue depuis 1963, date à laquelle Monteiro le signale sur feuilles de fraisier et c'est en 1969 que Lordello l'y trouve, associé au riz. En 1974, le même auteur note qu'il a atteint l'Etat de Sao Paulo. Tanaka, Deslandes et Machado (1976) le signalent dans l'Etat de Minas Gerais et Zem et Monteiro (1977) dans celui de Bahia. La même année, Huang, Cupertino et Martinelli notent sa présence dans le Centre-Ouest. En 1978, Miura et Huang l'observent, associé au riz, dans l'Etat de Santa Catarina et c'est dans ce même Etat qu'en 1981 Lordello et Monteiro le retrouvent associé à l'ail auquel il ne semble d'ailleurs pas causer de dégâts.

Dans ces conditions, il pourrait sembler superflu de se donner du mal pour empêcher l'entrée d'un parasite dans un pays où il existe déjà. En réalité, chez de nombreux parasites, sinon chez tous, il existe des races physiologiques, appelées pathotypes, dont la virulence à l'égard de certains hôtes varie grandement de l'une à l'autre. Cette virulence peut également varier beaucoup suivant les

conditions du milieu et tel pathotype, médiocrement dangereux dans une certaine contrée, pourra le devenir terriblement dans une autre où les conditions sont plus propices à l'expression de ses potentialités pathogéniques. Dans ce cas, comme dans tous les autres, le passage d'un parasite d'un continent à l'autre doit donc être évité dans toute la mesure du possible.

MATERIEL ET METHODES

Dans la graine de Panicum, le nématode est en état d'anhydrobiose entre les glumes et les glumelles. Dans cet état, il est difficile à atteindre: il est relativement moins sensible à la chaleur qu'un nématode actif et, les glumes et les glumelles se révélant très hydrophobes, il est difficile à mouiller ; même si la graine est plongée dans l'eau, il demeure dans un film d'air qui le protège. Ceci explique les échecs des premiers essais de destruction du parasite par la chaleur et d'extraction du parasite par la méthode classique du trempage des graines : les nématodes, non-mouillés, ne pouvaient être ni tués ni extraits. La première opération consistera donc à mouiller le nématode. Celui-ci reviendra à l'état de vie active au cours d'un pré-trempage de plusieurs heures après quoi il sera possible d'appliquer le traitement par la chaleur.

MOUILLAGE

Les graines sont agitées, pendant deux minutes, dans un erlenmeyer contenant environ 100 ml d'eau additionnée de quelques gouttes d'un savon liquide (tee-pol par exemple).

Elles sont ensuite rincées et placées dans la même quantité d'eau, à l'intérieur d'une fiole à vide reliée à une trompe à eau. Au bout d'une minute environ, des bulles d'air se sont formées sur les graines, elles sont retenues par les pilosités des téguments. Les graines, ainsi allégées, remontent à la surface. Quand elles sont toutes remontées, on ouvre brusquement la fiole à vide et elles retombent dans le fond. On refait alors le vide etc....L'opération est répétée cinq ou six fois, ce qui dure entre cinq et dix minutes. L'eau a, alors, pénétré dans tous les interstices entre les glumes et les glumelles et atteint tous les nématodes qui s'y trouvent. Le mélange de graines et d'eau est alors transféré dans un autre récipient, erlenmeyer ou becher, où va s'opérer le pré-trempage.

PRETREMPEGE

Il a pour but de réhumidifier le nématode et de l'amener à l'état de vie active. Dans le traitement du riz contre ce même parasite, le temps de prétrempage est de seize heures. C'est celui qui a été adopté pour tous les essais.

TRAITEMENT

Les graines sont placées dans un récipient cylindrique en verre de 25 mm de diamètre et 35 mm de hauteur, ouvert aux deux extrémités. 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. Les tubes sont alors 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 séjours des graines dans ce bain ont varié entre cinq et quarante minutes.

Le traitement sous vide des graines en ordre dispersé est difficile; beaucoup se collent aux parois de la fiole à vide et on ne peut être assuré que le traitement a été bien appliqué. Pour le dernier essai, les graines ont été, dès avant le début des opérations, placées dans le récipient cylindrique fermé aux deux bouts par un tissu léger. C'est à l'intérieur de ce récipient que leur ont été appliqué le mouillage, le prétrempage et le traitement par la chaleur. Elles sont ainsi restées groupées et les traitements ont été homogènes.

OBSERVATIONS

Elles étaient effectuées sur des lots de 100 graines.

SURVIE DES NEMATODES

Aussitôt après le traitement, les graines sont placées, sous une fine couche d'eau, sur un tamis à mailles de 250 μ m placé dans une boîte de Pétri. Au bout de trois ou quatre jours, les nématodes présents dans l'eau sont recueillis dans un tube à essai. On les laisse sédimenter dans le fond du tube; l'eau sur-nageante est aspirée 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. C'est dans ce culot, transféré dans une lame à compter à fond quadrillé, que sont dénombrés les nématodes à l'aide d'une loupe binoculaire. Il faut noter qu'Aphelenchoides besseyi n'est pas la seule espèce recueillie de cette façon. On trouve fréquemment en mélange des nématodes non-phytoparasites et l'observateur doit être attentif pour ne pas commettre d'erreur.

GERMINABILITE DES GRAINES

Les graines 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 Pétri et mises à l'étuve à 30°.

On observe le pourcentage de graines ayant germé au bout de quatre jours.

DETERMINATION DU TEMPS DE TRAITEMENT

On a adopté, provisoirement, l'une des températures auxquelles sont faits couramment les traitements appliqués au riz : 51°. Les temps essayés ont été de 5, 10, 20 et 40 minutes. L'essai était effectué avec des graines provenant du lot n° K 238, pour lequel, des essais préliminaires avaient montré que chaque graine contenait, en moyenne, deux Aphelenchoides environ.

SURVIE DES NEMATODES

Jusqu'à 20 mn, la survie des nématodes diminue rapidement quand le temps de traitement augmente (Fig. 1A), la courbe affectant la forme d'un S inversé. Entre 20mn et 40mn il n'y a pratiquement pas de différence dans la survie des nématodes. En fait, la faible proportion des 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 minutes. C'est le temps qui a été retenu pour les essais ultérieurs.

GERMINABILITE DES GRAINES

Il est assez surprenant de constater que loin de diminuer comme on s'y attendait, la germinabilité des graines augmente, entre 5 et 20 minutes, 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.

DETERMINATION DE LA TEMPERATURE DE TRAITEMENT

Dans l'expérience précédente, un traitement presque satisfaisant était obtenu en maintenant les graines 20 mn à 51°, deux nématodes seulement ayant survécu dans cent graines qui, au départ, en contenaient environ 200. Ce résultat est cependant insuffisant si, dans un but de protection phyto-sanitaire, on doit procéder à une véritable éradication. On a donc, en maintenant les mêmes temps de prétrempage et de traitement, augmenté la température. Les températures de 51, 52, 53 et 55° ont été essayées.

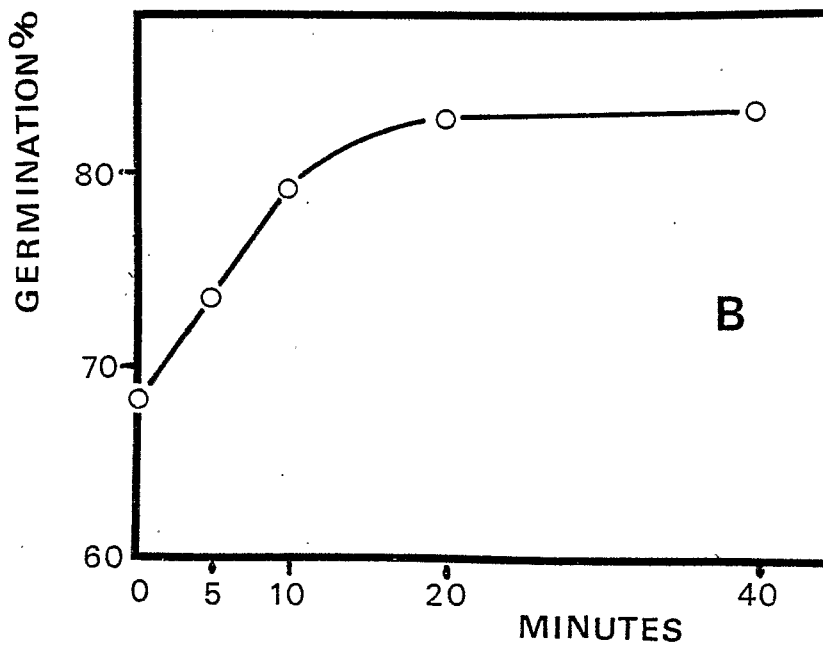
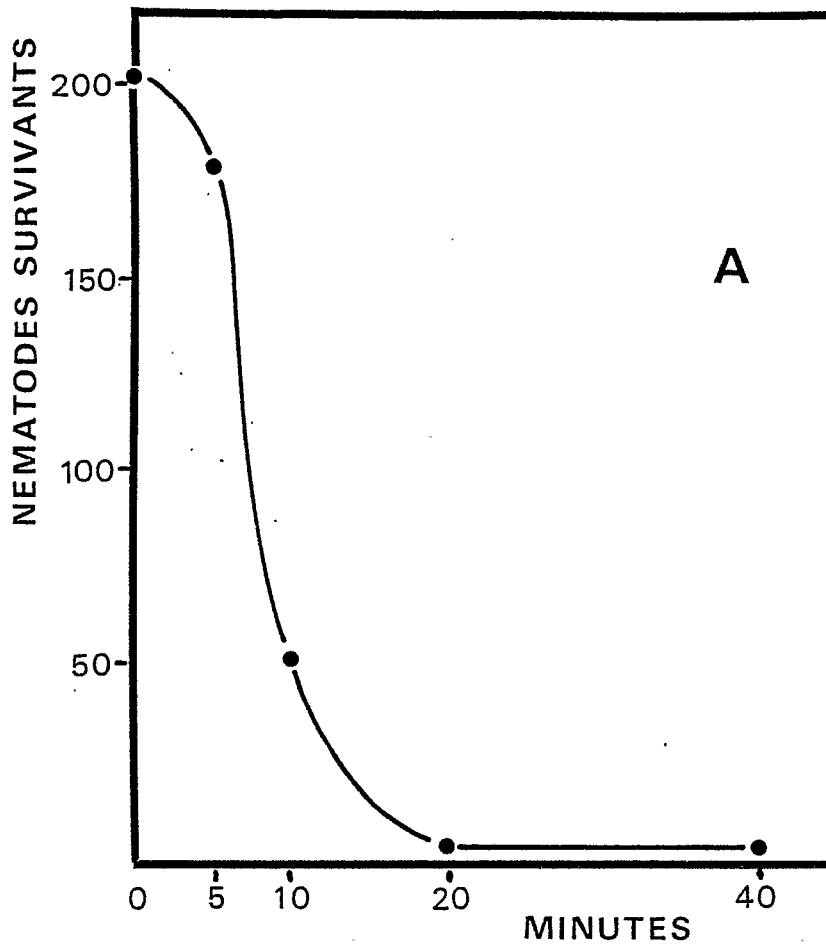


Fig.1. Résultats du traitement de 100 graines de Panicum maximum à 51° pendant 5, 10, 20 et 40 minutes - A: Nombre de nématodes survivants - B: Pouvoir germinatif des graines.

Tableau 1

Survie des nématodes en fonction de la température

	TEMPERATURE				
	Témoins	51°	52°	53°	55°
51	1	0	0	0	0
134	0	0	0	0	0
228	1	0	25	0	
281	0	1	5	0	
158	1	0	0	1	
Somme	852	3	1	30	1
Moyenne	170	0,6	0,2	6	0,2

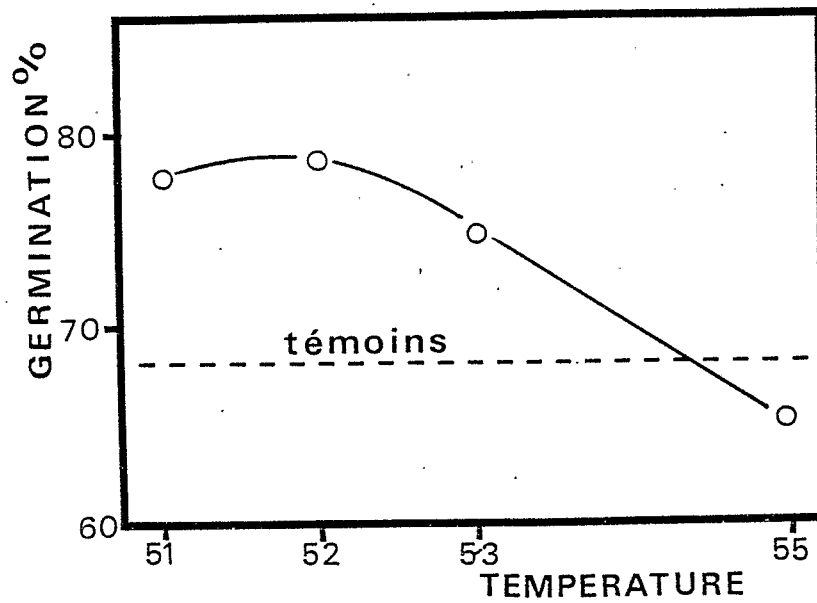


Fig. 2. Pouvoir germinatif des graines de P. maximum traitées à différentes températures.

SURVIE DES NEMATODES

Le détail des résultats obtenus est donné au tableau 1. L'infestation, chez les témoins, était un peu inférieure à celle de 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 à 53°, une proportion anormalement élevée de nématodes ont survécu. Il est probable qu'il s'agit de défauts dans l'application du traitement. Les résultats obtenus à cette température ne seront 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.

GERMINABILITE DES GRAINES

Les résultats sont donnés à la figure 2. L'effet stimulant du traitement à 51° est confirmé; il subsiste à 52°. Au-dessus de cette température, il diminue et, à 55° la faculté germinative des graines devient légèrement inférieure à celle des témoins.

CONCLUSION

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

TRAITEMENT D'UN PREMIER LOT DE 52 NUMÉROS

Des modifications ont été apportées dans les techniques de traitement et d'observation : les graines, dès avant le mouillage, étaient enfermées dans le récipient cylindrique fermé aux deux extrémités par un tissu fin; à la fin du traitement, toutes les graines étaient séchées à l'étuve à 35° pendant 24 h et maintenues sèches pendant un mois. A ce moment, avant l'expédition, 100 graines étaient prélevées dans chaque numéro; elles étaient alors à nouveau mouillées par la méthode habituelle et mises sur tamis pour en extraire les

Tableau 2

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

N°	Témoin	Traité	N°	Témoin	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

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 numéro à l'autre. Aucun nématode n'a été trouvé dans douze numéros, par contre plus de deux parasites par graine ont été trouvés dans dix numéros, l'infestation culminant dans le n° T9 avec une moyenne de 6,4 parasites par graine.

Le traitement a fourni une éradication pratiquement totale, les quelques parasites extraits d'un numéro n'ayant pas survécu après leur sortie des graines. Ce traitement s'est donc montré plus efficace qu'à l'essai précédent, au cours duquel un parasite pour mille avait survécu. Cette amélioration est probablement due au fait qu'à la différence de l'essai précédent les graines sur lesquelles la survie des nématodes était observée n'étaient pas mises immédiatement dans l'eau sur tamis mais subissaient un dessêchement d'un mois avant d'être remouillées et placées sur tamis. Ainsi, les rares nématodes qui avaient résisté au traitement, et dont on peut penser qu'ils en étaient quand même plus ou moins affectés, devaient, quelques heures après leur ré-hydratation, 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.

CONCLUSIONS

1°) Pour être atteint par un traitement, A. besseyi subsistant en anhydrobiose entre les glumes et les glumelles des graines de P. maximum doit préalablement être ré-humidifié en lavant la graine avec un savon liquide et en faisant pénétrer l'eau entre les organes végétaux par des alternatives de vide et de retour à la pression normale.

2°) Avant d'être sensible au traitement, le nématode doit être préalablement ramené à l'état de vie active par un pré-trempage de 16 h.

3°) Un traitement efficace par la chaleur peut être obtenu en appliquant, pendant 20 mn, une température comprise entre 52 et 55°. Pour obtenir une éradication pratiquement totale en gardant une bonne marge de sécurité, la température de 55° est préférable.

4°) Jusqu'à 53°, le traitement n'affecte pas le pouvoir germinatif des graines mais, au contraire, semble le stimuler. A 55°, le pouvoir germinatif est pratiquement le même que chez les témoins.

5°) Il est probable que les nématodes ayant échappé au traitement par la chaleur sont tués par un retour brutal à l'anhydrobiose peu de temps après leur reviviscence.

6°) Les parcelles de multiplication d'Adiopodoumé devant servir à la production de graines destinées à être envoyées dans le monde entier, il serait bon d'envisager de traiter systématiquement les graines qui y sont semées.

Les auteurs remercient B. SOUCHAUD pour son aide dans les comptages.

RÉFÉRENCES

- ANNUAL REPORT 1973-74, QUEENSLAND DEPARTMENT OF PRIMARY INDUSTRIES (1974). 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). Nematoide ataca o alho em Santa Catarina. Revta Agric. Piracicaba, 56: 22.
- MIURA, L. & HUANG, C.S. (1978). Nematoide de " ponta branca " do arroz : ocorrência e distribuição em Santa Catarina, Brazil. EMPASC-EMBRAPA, Univ. Brasilia, IV + 8 p.
- MONTEIRO, A.R. (1963). Nematoides em folha de morangueiro (nota previa). Rvta Agric. Sao 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, " Senchû shingare Byô.
II Hibernation of Aphelenchoides oryzae. J. Fac. Agric. Kyushu Univ., 9:
223-233.

ZEM, A.C. & MONTEIRO, A.R. (1977). Bahia : o nematoide da " ponta branca "
também ocorre em sementes de arroz. Rvta Agric. Piracicaba, 52: 81-82