

MINISTRE DU DEVELOPPEMENT RURAL
DE L'ENVIRONNEMENT

INSTITUT DE L'ECONOMIE RURALE

CENTRE REGIONAL DE RECHERCHES
AGRONOMIQUES
NIONO

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple - Un But - Une Foi
---oOo---

PROJET RIZ IRRIGUÉ - NIONO

Rapport de stage

Thème :

**Identification et méthode de diagnostic
des principales maladies du riz.**

(du 13/02/95 au 27/03/1995)
Bouaké, M'Bé

Association pour le développement de la riziculture
en Afrique de l'Ouest (ADRAO)

Unité de Phytopathologie

Présenté par :
Mamadou Ganamé
et
Ménidiou Dolo

Directeur de stage :
Dr Abdoul. Aziz Sy

SOMMAIRE

PREAMBULE	ii
I INTRODUCTION	1
II DEROULEMENT DU STAGE	1
A) Sur le terrain	2
A.1 Symptématique et évaluation de la pyriculariose	2
A.2 Symptomatologie et évaluation du RYMV	4
B) Au laboratoire	12
B1. Isolement et identification des agents cryptogamiques du riz ..	12
B2. Détection du RYMV dans les échantillons de riz.	14
III CONCLUSION GENERALE	24
Annexe 1 : Programme du stage	25
Annexe 2 : Liste des abréviations	28
Annexe 3 : Bibliographie	29

PREAMBULE

Nous ne saurons commencer ce présent rapport, sans au préalable manifester toute notre reconnaissance à l'équipe du Projet Riz Irrigué Niono (Programme de Collaboration, Mali, Pays-Bas), qui a entièrement financé ce stage. Qu'elle trouve là, l'expression de nos profondes gratitudees.

Par ailleurs, nos remerciements vont à l'endroit de la Direction de l'ADRAO, et plus particulièrement de Dr A. A. Sy et son équipe qui n'ont menagé aucun effort pour la réussite de ce stage.

I. INTRODUCTION

Actuellement la riziculture malienne est menacée par une forte propagation des maladies parasitaires qui causent une baisse de rendement. Face à ce fléau, la Recherche Agronomique qui a mandat de résoudre ces problèmes a initié des programmes pour trouver des variétés résistantes aux différentes maladies telles que la pyriculariose le RYMV (Rice Yellow Mottle Virus) et appréciées des populations. C'est dans le cadre de ces programmes que nous avons effectué un stage de formation du 13/02/95, au 27/03/1995 (6 semaines) au laboratoire de Phytopathologie de l'ADRAO à Bouaké (Cote d'Ivoire).

Ce stage avait pour thème : Identification et méthode de diagnostic des principales maladies du riz.

II. DEROULEMENT DU STAGE

Notre première journée à l'unité de la Phytopathologie, a été consacrée à la présentation des membres de la dite unité, et des responsables de la Direction par le Dr A. A. Sy.

Dans l'après-midi, une visite sommaire fut effectuée sur les essais au bas-fond et au plateau.

Dans l'ensemble le programme du ^{stage} ~~stage~~ comportait deux parties à savoir :

- le terrain : sur 3 essais cités ci-dessous
- et le laboratoire.

Les travaux de terrain se résumaient par les observations des différentes maladies dans les essais, leur incidence et leur sévérité sur le riz. Les échantillons issus de ces observations sont traités au laboratoire afin de confirmer la présence ou l'absence des agents pathogènes.

A. SUR LE TERRAIN

A.1. SYMPTOMATOLOGIE ET EVALUATION DE LA PYRICULARIOSE FOLIAIRE.

A.1.1 Définition.

La pyriculariose est une maladie cryptogamique, causée par un champignon qui affecte le riz à tous les stades de la croissance:

- stade végétatif de la plante (pyriculariose foliaire ; voir photo page 23)
- épiaison, floraison à la maturité (pyriculariose du cou de noeuds et de la panicule).

A.1.2 Symptômes.

Sur les feuilles, des taches ou lésions brunes apparaissent en petites taches blanchâtres ou jaunâtres, qui s'élargissent rapidement si les conditions sont favorables. Sur les variétés sensibles, les feuilles fortement attaquées se dessèchent et les plantes meurent. L'agent causal est *Pyricularia oryzae* cav. Les observations et les notations de la pyriculariose foliaire ont été effectuées sur la pépinière de criblage (Série 8).

A.1.3 Objectif de l'essai

L'objectif de cet essai est d'évaluer la résistance à la pyriculariose foliaire de 300 variétés sous pression de sélection artificielle.

A.1.4 Matériels biologiques

222 variétés du programme sont testées avec 5 témoins de sensibilité et 5 témoins de résistance. Un mélange infestant est constitué de 2 variétés sensibles, USEN et IR5, 50%

A.1.5 Méthodes

Les variétés à tester sont réparties en 6 bandes. Dans chaque bande, chacune des 5 variétés témoins de sensibilité/résistance sont d'abord randomisées et réparties au hasard par bande. Le dispositif expérimental est le suivant : une bande infestante semée en 3 lignes continues espacées de 10 cm et 10 cm entre ligne infestante et ligne test. La longueur des lignes test est de 50 cm semées perpendiculairement à la bande infestante en lignes continues, à un écartement de 10 cm à raison de quatre lignes par entrée. L'inoculation artificielle de la bande infestante a eu lieu 7 jours après semis, par broyat de feuilles infestées, disseminées entre les lignes infestantes au moment de leur émergence, en fin de journée et par temps calme. Tous les soirs après, l'arrosage à partir de 18h, les six bandes de la pépinière sont recouvertes par une toile plastique pour réhausser l'hygrométrie à plus de 93 à 96%.

A.1.6 Observations

Le cycle de notation est de 7 jours d'intervalle à compter du 21^e jour après l'inoculation. Nous avons eu à effectuer deux notations à savoir : la 3^e et une 4^e.

Les échantillons de feuilles infestées ont été prélevées sur deux variétés : B40 et TOG 6387 pour isoler au laboratoire le pathogène responsable des affections.

A.2. SYMPTOMATOLOGIE ET EVALUATION DU RYMV

A.2.1 Définition.

Communément appelé bigarure jaune du riz, la maladie est causée par un virus appelé Rice Yellow Mottle Virus (RYMV).

A.2.2 Symptômes.

Elle se manifeste par un jaunissement général et une marbrure des feuilles les plus jeunes. Cette maladie se rencontre plus généralement dans les écosystèmes de bas-fond et du sahel (zone irriguée) (Sy et al 1992). voir photo page 23.

A.2.3 Essai No.1 - Estimation des pertes dues au RYMV.

A.2.3.1 Objectif.

Estimer les pertes causées par le RYMV sous pression de sélection différenciée.

A.2.3.2 Matériels.

Les deux variétés Bouaké 189 et Moroberekan sélectionnées pour leur intérêt agronomique actuel, et suivant leur niveau différencié de sensibilité vis-à-vis du RYMV sont représentés par:

- 1 Bouaké 189 sensible
- 2 Moroberekan résistant

Source d'inoculum : Bouaké 189, naturellement infestée sous l'environnement considéré.

A.2.3.3 Méthode

Bande infestante : 3 lignes de Bouaké 189 répiqué en amont et en aval de chaque parcelle test à 10 cm x 10 cm, à trois brins par poquet. Les variétés à tester sont repiquées à un brin par poquet. L'inoculation ciblée a lieu 7 jours et 42 jours après transplantation. Le dispositif expérimental est un bloc complètement randomisé à quatre répétitions. Chaque parcelle élémentaire mesure 2,72 m x 2,51 m (soit 13 lignes de 2,72 m) à raison de 20 cm par ligne et par interplant.

N.B : Pour chaque environnement l'ensemble du dispositif sera implanté sous filet étanche et hors filet étanche (dans la nature). L'inoculation artificielle est exclusivement effectuée dans les parcelles désignées et sous filet étanche.

A.2.3.4 Préparation de l'inoculum

La solution est obtenue à partir de :

- 60g de feuilles virosées bien broyées
- 100ml d'eau distillée ou du tampon PBST
- 2ml de carborundum pour 1000ml d'inoculum

A.2.3.5 Principe d'inoculation.

Elle consiste à mettre en contact l'inoculum, aux jeunes plantes saines : frotter à la main les plants au moins deux fois pour assurer le contact du liquide aux jeunes plants.

A.2.3.6 Observations.

La première notation de la nécrose a été effectuée 2 semaines après l'inoculation, la deuxième notation 2 semaines après la première, la troisième, 4 semaines après la première, la

quatrième environ 50% floraison (personnaliser en fonction de chaque variété). Modalité de récolte suivant critère d'évaluation 1000 grains, panicules, parcelle).

Paramètres à mesurer

- proportion de plants malades par traitement, par répétition.
- impact sur le nombre de talles / poquet
- impact sur la hauteur moyenne de plants
- impact sur l'appareil floral
- paramètres rendement (panicules, 1000 grains, parcellaire)
- diagnostic sérologique à la demande.

A.2.4 Essai No.2 - Criblage des 15 variétés en provenance du mali.

A.2.4.1 Objectifs

Evaluer le profil de résistance / sensibilité de ses structures génétiques en provenance du Mali.

A.2.4.2 Matériels

15 variétés plus le témoin de résistance, Moroberekan.

A.2.4.3 Méthodes.

Pour chaque environnement l'ensemble du dispositif sera implanté sous filet étanche. L'inoculation artificielle des structures génétiques portera sur les lignes impaires de chaque structure qui sera effectuée à 7 jours après repiquage.

A.2.4.4 Dispositif.

Les 15 variétés sont réparties entre 3 casiers. Chaque variété est représentée par 3 lignes de 120cm espacée entre elle de 0,20cm. Le repiquage a lieu à 1 brin par poquet à un écartement de 0,20cm le 9/03/95.

A.2.4.5 Observations.

Notation Echelle de l'IRRI sur RYMV

- Première notation deux semaines après l'inoculation artificielle (ou dès apparition des tous premiers symptômes les cas échéants).
- Deuxième notation 2 semaines après la première notation.
- Troisième notation 1 semaine après la première notation.
- Quatrième notation à environ 50% floraison (personnaliser en fonction chaque variété).

Modalités de récolte : suivant critère évaluation (1000 grains panicules, parcelle).

Paramètres à mesurer :

- Proportion de plants malades/traitement/répétition
- Impact sur nombre de talles / poquet
- Impact sur hauteur moyen de plants
- Impact sur appareil floral
- Paramètres rendement (panicules, 1000 grains parcellaire).

Diagnostic sérologique : 2 semaines après l'inoculation faire un test ELISA pour tout le matériel à 14 jours d'intervalle pour le matériel jusqu'à la récolte.

A.2..5 Résultats.

Parmi les 3 essais cités ci-dessus, les résultats de la pépinière de criblage à la pyriculariose foliaire, et des observations à 7 jours après répiquage de l'essai estimation perte de rendement causé par le RYMV sont disponibles.

A.2.5.1 Pépinière de criblage à la pyriculariose foliaire.

Selon les observations effectuées au champ 33 variétés se sont révélées immunes à la maladie, ce sont :

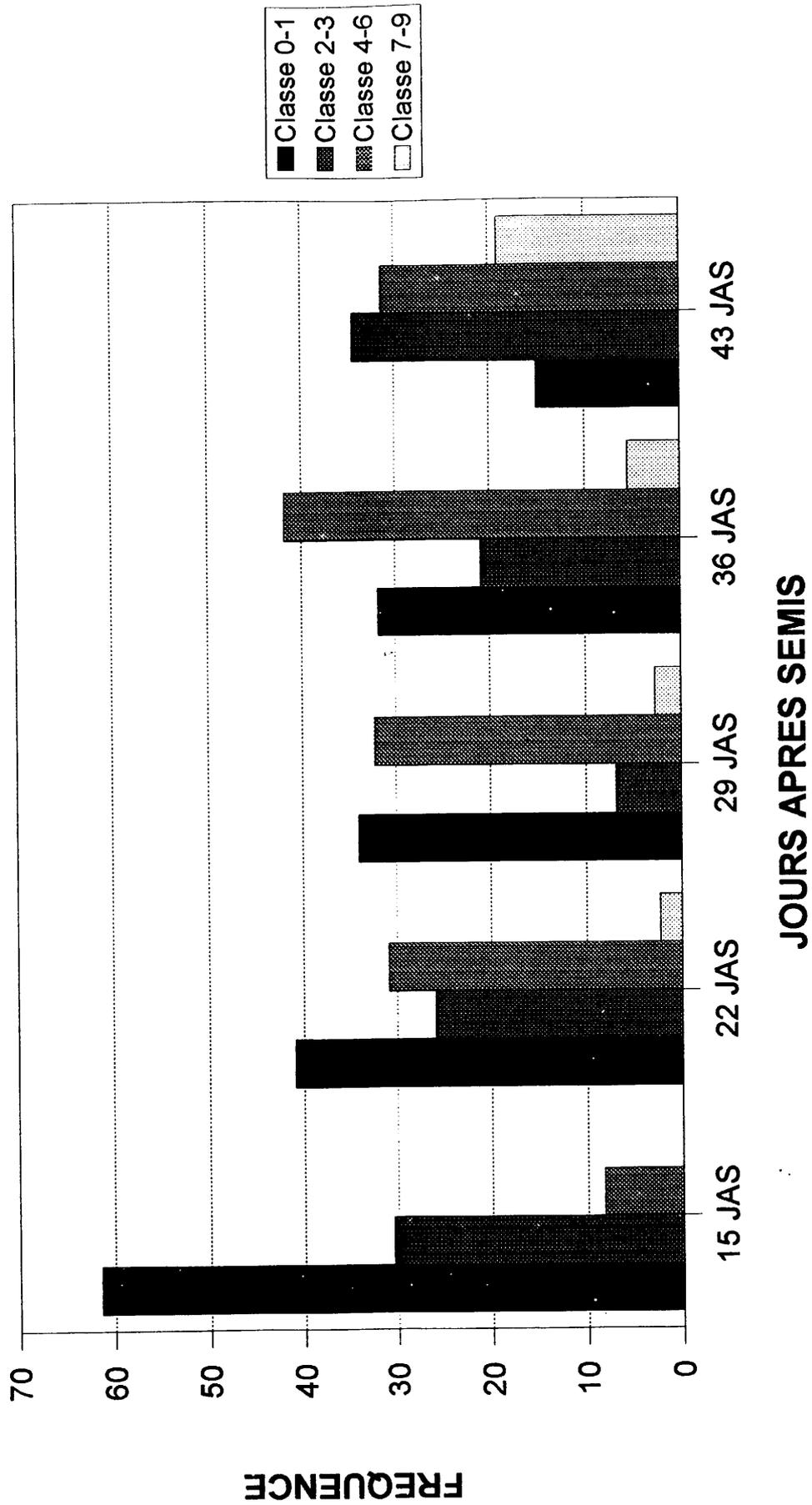
Liste des variétés immunes

1. WAR 115 1-2-4-2-9-B-B-4
2. WAR 89 4-Ag-1-B-B-B-3
3. WAR 100 3-2-1
4. WAR 27-28-1-3-1
5. IR 38837-11-2-2-2-1-2
6. WAR 89-4-A1-1-B-B
7. BW 278- 2-PN-166-28-KP-2
8. WAR 120-1-1-8-3-B-B-1
9. BG 400-1
10. WAR 115-1-2-5-2-2-B-B-1
11. IR 29723-16-3-3-2-2
12. WAR 115-1-2-4-2-8-B-B-2
13. WAR 89-3-A10-1-B-B-1
14. WAR 89-2A7-2-B-B-1
15. TEMBA YEQUETI
16. WAR 120-1-8-2-1-B-B-2
17. WAR 87-10-2- 3- 3

18. IR 22107-14-2-1
19. WAR 89-4-A2-3-B-B-1
20. WAR 89-3-A8-1-B-B-1
21. WAR 89-4-A9-1-B-B-B-1
22. WAR 102-1-3-1
23. WAR 115-1-2-4-2-7-B-B-1
24. KUATIK KUNDUR
25. WAR 100-2-11-1
26. WAR 72-2-1-1
27. IR 24632-145-2-2-2-3
28. WAR 115-1-1-2-3-B-B-1
29. BG 380-2
30. WAR 90-5-7-1-B-B-1
31. WAR 100-2-12-1
32. IR 21855 63-2-1-2-2-1
33. WAR 98-6-24-1

Fréquence de la pyriculariose en fonction de la sévérité.

Criblage accéléré No. 8 - Entrées : 220 - Mbé, 1995.



A.2.5.2 Essai estimation perte de rendement

Site	Variétés	Nombre JAR	Chlorose		Tallage	
			Incidence	Sévérité	Moyenne	Taux de réduction
M'bé	Bouaké 189	7	100	4.39	183	15.27 %
		non inoculé	0	1	216	
	Moroberek an	7	0	100	155	6.62 %
		non inoculé	0	1	166	

Pour le témoin sensible Bouaké 189, la sévérité de la chlorose est de 4,39 Inoculé à 7 AR, contre 1 pour le témoin résistant Moroberekan inoculé à 7 JAR.

Une réduction de talle a été observée au niveau de Bouaké 189 qui est 15.27%, tandis que pour Moroberekan elle est de 6.62%.

Les autres observations à 28, 42, 56 et 70 JAR seront faites et on calculera le taux de réduction du tallage, de l'exertion paniculaire, le remplissage de grain, le rendement et le poids de 1000 grains.

B AU LABORATOIRE

B.1. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES AGENTS CRYPTOGAMIQUES DU RIZ

B.1.1 Principe.

La technique d'isolement et d'identification des agents cryptogamiques du riz est basée sur la culture en milieu gélosé ou en chambre humide (papier filtre à 22°C pendant 7 jours, des agents pathogènes du riz.

B.1.2 Matériels et méthodes.

B.1.2.1 Matériel végétal.

Nous avons réalisé l'isolement et l'identification des agents pathogènes à partir des fragments de feuilles issues des variétés de riz : B40, TOG 6387, prélevés sur la pépinière de criblage No.8 et Moroberekan.

B.1.2.2 Méthode

*** Echantillonnage**

Les mains désinfectées à l'alcool entre deux prélèvements, nous avons prélevé des feuilles ayant des lésions sur B40, sur TOG 6387 et Moroberekan. Au laboratoire, à l'aide d'une scapel stérile, nous prélevons des fragments de tissus d'environ 0,5cm portant des lésions.

*** Ensemencement**

La surface de ces fragments de tissus est désinfectée à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium (Naocl) à 1% pendant 3mn. Ces fragments sont transférés sur :

- papier filtre en boîte de pétri (chambre humide)
- et milieu de culture (PDA : patate dextrose agar)

* Incubation

Nous avons incubé les différentes boîtes de pétri à 22°C pendant 7 jours.

* Observations

Au moyen d'un microscope stéréoscopique et microscope composé, nous avons obtenu sur :

- B40 : *Pyricularia oryzae* (pyriculariose)
Bipolaris oryzae (helminthosporiose)
Curvularia et cladosporium (voir photo page 21 et 22)
- TOG 6387 : *Pyricularia oryzae*
cladosporium (voir photo page 21 et 22)
- Moroberekan: *Alternaria padwicki* (stackburn)
cladosporium (voir photo page 21 et 23)

* Repiquage

A partir des cultures en chambre humide, nous avons repiqué isolement chaque champignon observé sur PDA (potato dextrose agar).

* Purification

Les champignons obtenus sont purifiés par repiquage successif sur PDA jusqu'à l'obtention de l'espèce pure.

Conclusion.

- B40 : Variété sensible (présence abondante de *pyricularia oryzae*, de *bipolaris oryzae*, *curvularia* et *chadosporitum*)
- TOG 6387 : Variété résistante (présence de *pyricularia oryzae*)
- Moroberekan: Variété résistante (absence de *pyricularia oryzae*)

B.2. DETECTION DU RYMV DANS LES ECHANTILLONS DE RIZ .

Nous avons réalisé une étude comparative basée sur la sensibilité du test de double diffusion (gel d'agarose) et le test ELISA : à partir de 24 variétés de riz prélevées sur l'essai perte de rendement.

B.2.1 Test de double diffusion d'Onchterlony (Gel d'agarose)

B.2.1.1 Principe

Le principe est basé sur la double diffusion indépendante de l'anticorps soluble et/ou des particules antigéniques sur le milieu gélosé, et lorsque ces réactifs se rencontrent il y a formation de lignes de précipitations.

B.2.1.2 Matériel et méthode.

Matériel végétal

Les échantillons ont été prélevés dans l'essai estimation de perte de rendement causé par la RYMV.

Nous avons réalisé ce test à partir des échantillons cités ci-après en 4 répétitions.

- Bouaké 189 inoculé à 7 JAR
- Bouaké 189 inoculé à 42 JAR
- ~~Moroberekan~~ ^{Bouaké 189} non inoculé
- Moroberekan inoculé à 7 JAR
- Moroberekan inoculé à 42 JAR
- Moroberekan non inoculé

Méthodes.

Une quantité de 0,4 g de feuille prélevé est broyé en présence de 4ml de tampon PBST, l'extrait obtenu est centrifugé à 8000 tours/minute pendant 10 mn à 4°C.

*** Dépot :**

Les puits préalablement creusés sur milieu gélosé à l'aide d'un templet et d'un aspirateur reçoivent :

- 10 μ l d'anticorps dans le puits central
- 10 μ l d'extrait dans les puits adjacents disposés en rosette autour du puits central.

*** Incubation :**

Elle a lieu à une température ambiante environ 25°C pendant 24 à 48 heures.

*** Lecture :**

On observe à la lumière des boîtes de pétri :

- s'il y a formation de lignes blanchâtres de précipitations dans la gel, cela indique une réaction positive, donc présence de particules virales.
- en absence de lignes blanchâtres de précipitations dans le gel, nous avons une réaction négative, cela indique une absence de particules.
- aspects de lignes de précipitations (fusion, formation d'éperons ou croisement) permet également de déterminer, si les précipitations virales sont identiques, liées sérologiquement, ou différentes.

* Résultat (voir tableau page 19).

B.2.1.3 Méthodes de préparation de milieu de culture de gel d'agarose.

Ce milieu s'obtient en mélangeant l'agarose, NaCl et l'eau distillée.

- dissoudre ce mélange en chauffant au microonde pendant 3 à 5mn dès apparition d'ébullition.
- autoclaver à 121 °C pendant 15mn.
- ajouter le NaN₃ au milieu d'agarose à 45 °C dans les boîtes de pétri et laisser solidifier à la température ambiante et conserver à 4 °C.

Formule de gel d'agarose :

- Agarose 15g
 - NaN₃ (azide de sodim) 1g
 - NaCl (chlorure de sodium) 8,5g
 - eau distillée (H₂O) 1000ml
- PH à 7.0 - 8.0

B.2.2 Test sérologique ELISA (Enzyme linked immunosorbent ASSAY)

B.2.2.1 Introduction.

Ce test permet une détection rapide des virus. Il se présente sous trois variantes :

ACP ELISA indirect (antigène coating plate)

DAS ELISA direct (double antibody sandwich)

DAS ELISA indirect

B.2.2.2 Principe ACP ELISA

B.2.2.2.1 Matériel et Méthode

Ce test comporte plusieurs méthodes, chacune séparée par une période d'incubation et un lavage.

Matériel végétal

- Bouaké inoculé à 7 JAR
- Bouaké inoculé à 42 JAR
- Bouaké non inoculé
- Moroberekan inoculé à 7 JAR
- Moroberekan inoculé à 42 JAR
- Moroberekan non inoculé

N.B : Ce test a été réalisé à partir des échantillons prélevés dans l'essai perte de rendement causé par le RYMV, citées ci-dessus en quatre répétitions.

Méthode

* Broyage et centrifugation :

Une quantité de 0,4g de feuille prélevée est broyée en présence de 4ml de tampon PBST. L'extrait obtenu est centrifugé à 8000 tours par minute pendant 10mn à 4°C.

* Sensibilisation de la plaquette :

100 μ l de l'extrait est transféré dans une plaquette contenant 96 alvéoles ou puits. Pour rendre la solution homogène, elle est subie à un agitateur avant la mise dans les alvéoles. On utilise le tampon PBST pour les alvéoles périphériques à la dose de 100 μ l. La plaquette est recouverte de papier parafilm.

* Saturation:

Elle se fait avec un tampon de saturation à la dose de 150 μ l par alvéole afin de bloquer les particules virales sur les parois des alvéoles.

* Addition de l'anticorps

L'anticorps dilué à 1/10000 au PBST est mis dans les alvéoles à la dose de 100ul.

* Addition du conjugué

Ajouter 100ul de conjugué dilué au 1/10 000 dans chaque puits au PBST.

* Addition de substrat ou révélateur

Le tampon est à la dose de 10ml pour deux tablettes de P. nitrophenil phosphate (PNPP) à 5mg attribué à tous les puits. Remplir les puits avec 100ul de cette solution de substrat.

* Résultat (voir tableau à la page suivante).

DATE :

ELISA CONCENTRATIONS		GEL D'AGAROSE CONCENTRATIONS	
Extrait antigénique	Anticorps	Extrait antigénique	Anticorps
1/10	1/10.000	1/10	1/10

REFERENCES		NUMEROS ECHANTILLONS	RESULTATS		AGAR
Boîte de Petri Gel d'Agarose	Plaque ELISA		ELISA		
			Valeur D.O	Résultat	
I - 1		CP		+	+++
I - 2	2 BC	I - 1 BKE7	2.038	+	++
I - 3	2 DE	I - 2 MORO	0.035	-	-
I - 4	2 FG	I - 3 BKE 42	0.091	-	-
I - 5	3 BC	I - 4 MORO7	0.097	-	-
I - 6	3 DE	I - 5 BKE 42	0.88	-	-
I - 7	3 FG	I - 6 MORO 42	0.085	-	-
I - 8	4 BC	II - 1 BKE 42	0.109	-	-
I - 9	4 DE	II - 2 BKE	0.108	-	-
I - 10	4 FG	II - 3 MORO 42	0.99	-	-
I - 11	5 BC	II - 4 BKE 7	2.230	+	++
I - 12	5 DE	II - 5 MORO 7	0.109	-	-
II - 1		CP		+	++
II - 2	5 FG	II - 6 MORO	0.096	-	-
II - 3	8 BC	III - 1 BKE 7	2.527	+	++
II - 4	8 DE	III - 2 BKE 42	0.88	-	-
II - 5	8 FG	III - 3 BKE 42	0.100	-	-
II - 6	9 BC	III - 4 MORO 42	0.105	-	-
II - 7	9 DE	III - 5 MORO	0.101	-	-
II - 8	9 FG	III - 6 MORO 7	0.104	-	-
II - 9	10 BC	IV - 1 BKE 7	2.504	+	++
II - 10	10 DE	IV - 2 MORO	0.112	-	-
II - 11	10 FG	IV - 3 MORO 7	0.390	+	-
II - 12	11 BC	IV - 4 BKE 42	0.101	-	-
III - 1		CP		+	+++
III - 2	11 DE	IV - 5 MORO 42	0.102	-	-
III - 3	11 FG	IV - 6 BKE	0.081	-	-
		CN	0,087		

CP = Contrôle positif ; CN = Contrôle négatif.

*** Lecture :**

La lecture est faite au laboratoire à l'aide d'un appareil spectrophotomètre. Toute valeur supérieure ou égale ou double de la moyenne des contrôles négatifs est considérée comme positive.

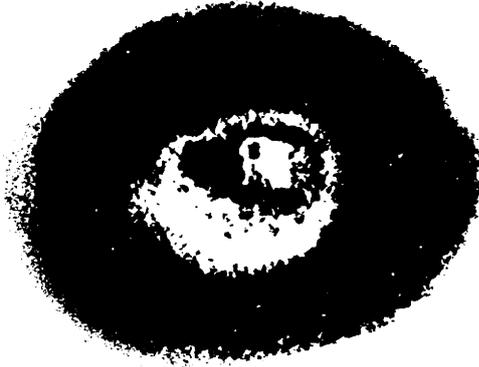
Conclusion :

Les résultats des deux méthodes nous permet de tirer les conclusions suivantes.

- Tous les échantillons positifs au test Elisa, le sont également au gel d'agarose sauf Moroberekan inoculé à 7 jours après semis avec une D.O de 0.390. Cette D.O de 0.390 est supérieure à la D.O. 0.174 qui constitue la D.O à partir de laquelle tout échantillon analysé au cours de ce test est considéré positif. Cela illustre bien la grande sensibilité du test ELISA par rapport au test du gel d'Agarose.

- Pour le test ELISA la dilution de l'anticorps est de 1/10000 tandis que celui du gel d'agarose est de 1/10. Le test ELISA économise moins d'anticorps que le gel d'Agarose par sa méthode est plus pratique nécessitant moins de matériels et permet d'apprécier la variabilité des isolats.

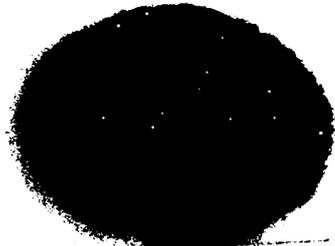
5451 (99-03-11)



Pyricularia oryzae
(LAB. PHYTO. ADRAO)



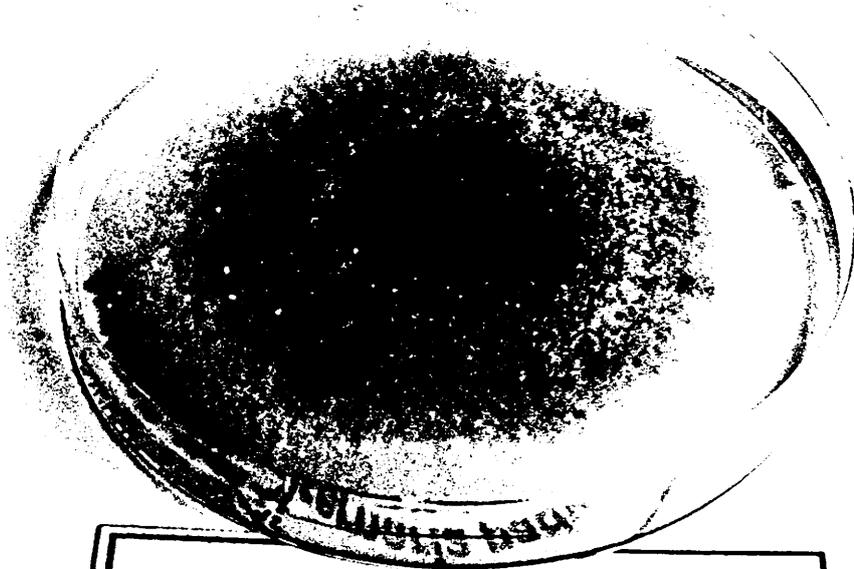
Bipolaris oryzae
(LAB. PHYTO. ADRAO)



Curvularia
(LAB. PHYTO. ADRAO)



Cladosporium
(LAB. PHYTO. ADRAO)



Alternaria padwickii
(LAB. PHYTO. ADRAO)



III. CONCLUSION GÉNÉRALE.

Ce stage de 6 semaines d'un intérêt capital pour notre Programme National s'est déroulé dans de bonnes conditions. En effet il nous a permis non seulement d'appréhender certains problèmes de la riziculture mais aussi et surtout de pratiquer des techniques de laboratoire permettant une meilleure connaissance des agents pathogènes responsables des maladies telles que (la pyriculariose et le RYMV). Ces deux maladies constituant une contrainte majeure au développement de la riziculture malienne, l'acquisition de ces informations est un élément essentiel pour la mise au point d'une stratégie de lutte efficace.

Vu l'importance capitale de ce stage la durée de 6 semaines nous paraît insuffisante pour cerner tous les problèmes en la matière. De telle formation nécessite la conduite totale d'un programme de Recherche de l'implantation des essais jusqu'à l'obtention des résultats. En attendant de disposer d'une unité de virologie et de spécialiste, il est souhaitable qu'il ait une étroite collaboration entre le service de l'Unité de phytopathologie de l'ADRAO et le Programme riz irrigué (visite des essais formation des techniciens, assistance technique).

ANNEXE 1 : Programme de stage Pathologie

1 - Symptomatologie, Evaluation de la Relation Hôte x Parasite

1.1. Les échelles de notation

- Echelle standard IRRI (1975) pour la pyriculariose (1)
- Echelle modifiée de Castano et Zaini (Sy 1992) (2)
- Echelle standard de l'IRRI pour l'évaluation du RYMV (3)

1.2. Notation de la pyriculariose foliaire (pépinière de criblage série No.8). (3 bis)

1.3. Observation des symptômes des différentes maladies au champ (plateau, sélection, adventices)

- Description des symptômes (4)
- Prélèvement des échantillons (5)
- Préparation et incubation des échantillons en chambre humide (6)

1.4. Test d'inoculation artificielle de la marbrure (essais pertes de rendement) (7)

2. Description macroscopique/microscopique, isolement purification de *P.oryzae*.

- Observations macro et microscopiques de *Pyricularia oryzae* (cF. point 6) (8)
- Préparation des milieux de cultures, stérilisation, conservation (9)
- Mise en culture sur substrat stérile (10)
- Description de *P. Oryzae* et autres agents cryptogamiques éventuels (11).
- Inoculation et contrôle des symptômes (12)
- Notation de la pyriculariose foliaire (pépinière de criblage)
- Symptomatologie induite par RYMV au champ (14)

- Prélèvement des échantillons atteints de marbrure (15)
 - Préparation des échantillons atteints de marbrure (15)
 - Préparation des extraits de jus de plantes virosées pour le test du gel d'agarose (16).
3. Criblage de 15 variétés de riz en provenance du Mali pour leur résistance/sensibilité au virus de RYMV sous la pression de l'inoculation artificielle.
4. Diagnostic sérologique de la marbrure
- Première notation du RYMV (perte de rendement (17)
 - Principe du test sérologique (gel d'Agarose ; Elisa) (18)
 - Préparation des échantillons sains et malades pour le test sur gel d'Agarose (19).
 - Réalisation pratique du test sur gel d'Agarose (20)
 - Interprétation des résultats du test de gel d'Agarose (21).
5. Exploitation en champ paysan
- Observation des symptômes des différentes maladies du riz au champs paysans (22)
 - Prélèvement des échantillons (23)
 - Incubation des organes malades en champ humide (24).
 - Observations macro et microscopiques des agents pathogènes saprophytes (25)
 - Purification des agents (26)
 - Identification des agents (27)
 - Test Elisa avec des échantillons des champs paysans
6. Etude Comparative des Affections de type Biotique et Abiotique

- Observation des symptômes des différentes maladies du riz au bas-fond IDESSA, champs paysans, Continua (30)
- Prélèvement des échantillons (31)
- Deuxième notation du RYMV (estimation des pertes dues au RYMV (33).

7) Gestion de données, Elaboration du rapport de stage,
Séminaire restreint

- Préparation des données recueillies de la 8e pépinière de criblage pour le classement des variétés en variétés résistantes/sensibles (34)
- Préparation des données recueillies de l'essai estimation des pertes dues au RYMV : calcul de l'incidence et de la sévérité (35)
- Exposé des stagiaires (36)
- Conclusion sur le stage (37).

ANNEXE 2 :

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADRAO:	Association pour le Développement de la Riziculture en Afrique de l'Ouest
ACP:	Antigène Coated plate
DAS:	Double Antibody Sandwich
D.O.	Densité optique
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
IDESSA:	Institut des savanes (Côte d'Ivoire)
IRRI:	Institut International de Recherche du riz
JAR:	Jour après repiquage
PBST:	Phosphate Biffered Saline Tween
PDA:	Potato Dextrose Agar
PNPP:	Pénitrophenil phosphate
RYMV:	Rice Yellow Mottle Virus.
TMRH:	Taux moyen de réduction de hauteur

ANNEXE 3 :

BIBLIOGRAPHIE

Rapport annuel 1991 ADRAO

Rapport annuel 1992 ADRAO

Affection parasitaire du riz en Afrique de l'Ouest (Abdoul Aziz Sy)

Protocoles des essais

- Criblage sous pression de sélection artificielle élevée VIII
- Estimation des pertes engendrées par RYMV
- Criblage de 15 variétés de riz pour leur résistance sensibilité au virus du RYMV sous la pression de l'inoculation artificielle (Prestation pour IER Mali, Echelles de notation)
Echelle standard de l'IRRI (1967)
Echelle de notation de pourcentage foliaire malade (P. S.F.M) de pyriculariose. Echelle d'appréciation des relations hôtes x parasites. Echelle modifiée de Castano et Zaini (Sy 1992). Pyriculariose foliaire).
Scale for measurement of % disease leaf area
(from Notteghem).
- Rapport de stage en virologie au CRAF Kamboise Ouaga Burkina Faso 23 au 2 Août 1995 (K. Zai).
- Rapport de stage (Koffi S. Akator): Méthode de diagnostic des maladies dues au virus par les tests sérologiques (test d'Elisa, et test d'immunodiffusion en Gel d'Agarose).
IBADAN Nigeria.
- Les maladies du riz transmises par les semences et tests phytosanitaires (P.C. Agarwal, C. Nieves Mortensen et S.B. Mathur).

- Mémoire de fin d'étude (diplôme d'Agronomie Approfondie D.A.A.) option protection des végétaux.

Thèmes : Pépinières Africaine d'évaluation et de criblage pour la résistance au virus de la mosaïque jaune du riz (Sylla Youssouf).

- Rice diseases.