

MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT RURAL

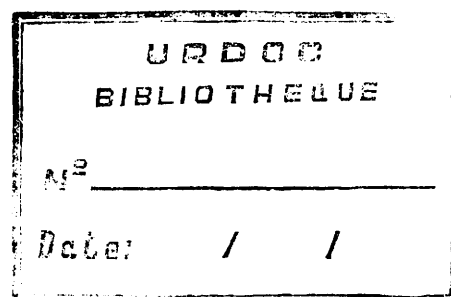
REPUBLIQUE DU MALI
UN PEUPLE- UN BUT - UNE FOI

INSTITUT D'ÉCONOMIE RURALE/DRA

CENTRE REGIONAL DE RECHERCHE
AGRONOMIQUE NIONO

STATION DE RECHERCHE AGRONOMIQUE

PROJET RIZ IRRIGUE



**RAPPORT DE MISSION
EFFECTUEE A MONTPELLIER (FRANCE)**

Du 17 Décembre 1993 au 25 Janvier 1994

INITIATION TECHNIQUE A LA VIROLOGIE

FINANCEMENT : MISSION FRANÇAISE DE COOPÉRATION

Par :
Abdoulaye HAMADOUN, Entomologiste

I. INTRODUCTION

Suivant l'ordre de mission N° 2145/SGG-RM du 17 décembre 1993, Dr Abdoulaye HAMADOUN, Entomologiste à la Station de Recherche Agronomique de Niono s'est rendu à Montpellier en France pour participer à un stage en Défense des Cultures.

Financé par la Mission Française de Coopération, ce stage s'inscrit dans le cadre de l'augmentation de la production et de la productivité de la riziculture à l'Office du Niger.

En effet, une maladie virale connue sous le nom de Panachure jaune du riz sévit dans les rizières depuis ces dernières années. L'accroissement des infestations au cours de la campagne agricole 1993 a entraîné des pertes énormes de rendement au niveau des paysans, situés en zone d'intensification.

La recherche de méthodes de lutte efficaces requiert une connaissance approfondie de la maladie et des facteurs de l'environnement favorables à sa propagation. Pour y parvenir, il est impérieux d'engager un programme de recherche cohérent, lequel nécessite cependant une formation complémentaire.

Ce stage s'inscrivant donc dans cette logique vise essentiellement à l'initiation aux techniques de virologie.

Accueilli par le Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), les travaux se sont déroulés dans les laboratoires de Phytopathologie et de Faunistique.

II. DEROULEMENT DES TRAVAUX

2-1. Revue Bibliographique sur la Panachure Jaune du Riz

2-1-1. Historique :

La virose de la panachure jaune du riz, en anglais Rice Yellow Mottle Virus (RYMV) a été décrite pour la première fois en 1970, au KENYA.

Sa présence en Afrique occidentale a été d'abord signalée au Nigéria et en Sierra Leone en 1976. Puis, elle a été observée en Côte d'Ivoire (1977), en Guinée Biseau (1978), au Ghana (1980), au Libéria (1982) et enfin au Niger, Burkina Faso et au Mali (sur le riz sauvage à rhizomes) en 1984.

En dehors du continent Africain, la panachure jaune du riz a été observée seulement à Madagascar en 1989.

Au Mali, les premiers symptômes observés sur le riz irrigué remontent à l'année 1991, en hivernage dans la zone du kouroumari (Office du Niger). Des tests sérologiques faits par l'équipe de recherche sur le riz inondé à Sikasso et le laboratoire de phytopathologie du CIRAD ont révélé successivement la présence du virus de la panachure jaune du riz. Ces observations ont été confirmées en 1993 par la mission d'appui de Monsieur NOTTEGHEM, Phytopathologiste du CIRAD.

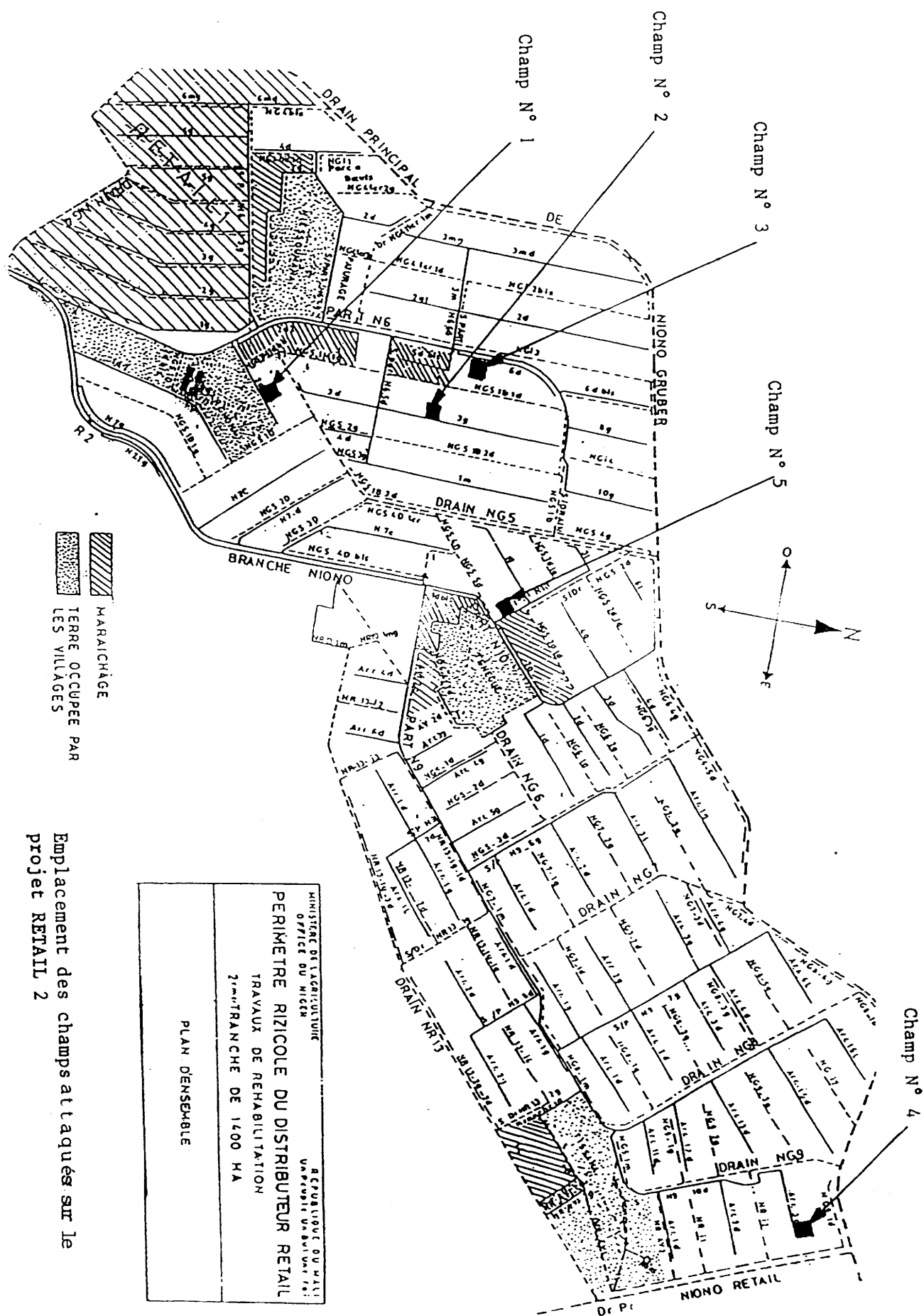
2-1-2. Importance économique

Le RYMV est le seul virus du riz connu en Afrique et qui soit largement répandu, avec une incidence économique non négligeable. Il affecte tous les types de riziculture pluvial, irrigué, de mangrove, de bas fond et d'immersion profonde.

Les symptômes de cette maladie sont l'apparition de tâches jaunes sur les feuilles de riz, des nécroses, un rabougrissement des plants, une sortie partielle de la panicule et une absence de formation de graine.

Dans les cas très sévères, les plantes meurent. Le virus peut causer jusqu'à 100% de perte.

A l'office du Niger, la maladie a débuté par des tâches isolées dans les champs de riz. Au Retail les sites de Sassagodji (N4) et Coloni (N1) ont connu les premières infestations en 1991. la maladie s'est étendue en 1992 à Sagnona (N6) et Niéssoumana (N6 bis) en s'attaquant à des superficies plus importantes. Cette année encore, elle se confirme dans les sites de N4 et N6 pour ensuite reconquérir le N10 (Ténégué) (voir carte du périmètre Retail 2). L'incidence de ces attaques a atteint par endroit (N6) un anéantissement total de la récolte sur des superficies de plus en plus grandes.



Emplacement des champs attaqués sur le
projet RETAIL 2

MINISTRE DE L'AGRICULTURE
OFFICE DU NIGER
PERIMETRE RIZICOLE DU DISTRIBUTEUR RETAIL
TRAVAUX DE REHABILITATION
2ème TRANCHE DE 1400 HA
PLAN D'ENSEMBLE

Champ N° 1 : Casier N6 village de Sagnona. Essai variétal RD/IER. Epidémies en petites tâches de 1 à 500 m². Pertes dues au RYMV dans les champs paysans représentant 1/2 ha.

Champ N° 2 : Casier N6 Village de Sagnona. Essai variétal RD/IER. Fortes épidémies dans les champs voisins de l'essai en grandes étendues de 2.000 à 3.000 m².
Pertes d'environ 1 ha.

Champ N° 3 : Casier N6. Village de Sagnona. Très forte attaque, des parcelles sont entièrement stériles et desséchées. Pertes d'environ 2 ha.

Champ N° 4 : Casier N9. Champ cultivé avec variété : 40-16-44 (IR 36 x Gambiaka).
Pas d'attaque de RYMV dans toute cette zone. Deux maladies sont responsables de dégâts sur ce cultivar. le faux charbon ou charbon vert (*Ustilaginoidea virens*) qui est spectaculaire mais fait moins de 1/100 de dégâts. Le flétrissement bactérien (*Xanthomonas oryzae*) qui n'a fait que de faibles pertes mais reste potentiellement une maladie grave. La variété 40-16-44 ne doit pas être diffusée sans une évaluation plus approfondie des risques que représentent ces 2 maladies dans les conditions de culture de l'Office du Niger.

Champ N° 5 : Casier N10 du projet RETAIL.

Importante attaque ayant entraîné des pertes d'environ 1/2 ha.

Les plants de la variété BG 90-2 sont très bien venus, cependant ils sont stériles et desséchés mais ne portent pas de symptôme. Démarrage de nombreuses repousses portant d'importants symptômes de RYMV.

NB : Données recueillies au cours de la mission de J. L. NOTTEGHEM.

2.2. Manipulations Techniques

Ces opérations ont regroupé les techniques d'identifications de la maladie, d'inoculation artificielle et de transmission du virus aux plants. Elles ont été exécutées à l'Unité de Recherche " Phytopathologie Malherbologie et au laboratoire de faunistique et de taxonomie.

2-2-1 Unité de Recherche " Phytopathologie Malherbologie

Comme son nom l'indique, cette unité regroupe la Phytopathologie et la Malherbologie. Elle vise essentiellement à l'étude des agents pathogènes des plantes (champignons, virus et bactéries) et des adventices, de manière à disposer de méthodes de lutte efficaces contre ces nuisibles.

La plupart des recherches sur les cultures annuelles (riz, canne à sucre, maïs, arachide) sont orientées vers des méthodes de lutte intégrée associant soit des pratiques culturales et des cultivars résistants contre les agents pathogènes, soit des pratiques culturales et des désherbages chimiques contre les mauvaises herbes.

Dirigé par Mr NOTTEGHEM, l'unité de recherche regroupe 14 chercheurs, répartis dans les domaines suivants:

- laboratoire de phytopathologie
- laboratoire de phytovirologie
- laboratoire de malherbologie
- phytopharmacie

Les recherches sont de plus en plus menées à Montpellier et dans les Départements d'Outre Mer.

Quelques programmes sont cependant conduits en Côte d'Ivoire et au Burkina Faso pour les maladies et au Cameroun pour les mauvaises herbes.

Les activités menées au sein de l'équipe de recherche lors de notre séjour ont porté sur :

- le diagnostic de la mosaïque jaune du riz;
- les techniques d'inoculation artificielle;
- diagnostic de la panachure jaune du riz

La méthode de détection utilisée a été le test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) indirect sur membrane de nitrocellulose.

C'est une technique immunoenzymatique de détection de virus.

En effet, le complexe antigène anticorps marqué par une enzyme est révélé par l'addition d'un substrat spécifique qui est hydrolysé par l'enzyme et produit ainsi une couleur visible à l'oeil ou quantifiable au moyen d'un spectrophotomètre.

Pour réaliser cette technique, nous sommes passés par plusieurs étapes:

a) Fixation des antigènes

Les antigènes sont issus de feuilles de riz desséchées et conservées au congélateur. Ces feuilles, elles mêmes proviennent de plants attaqués par des souches virales de Madagascar, du Burkina Faso et du Mali.

La préparation de l'inoculum débute par un broyage des feuilles (découpées en petits morceaux) dans du tampon phosphaté. Puis à l'aide d'un tissu de mousseline, on filtre l'extrait et la phase liquide constitue l'inoculum.

L'inoculum est déposé sur une membrane de nitrocellulose par légère touche de coton tige imbibé. Après 5 minutes de séchage, on procède au blocage des sites non occupés en immergeant la membrane dans du tampon PBS Tween contenant 5% de lait écrémé et cela pendant 45 minutes.

b) Addition de l'anticorps spécifique

Sortie de cette incubation, la membrane de nitrocellulose est mise à tremper dans du sérum anti Rice yellow mottle virus au bout de 2 heures.

c) Addition du conjugué:

Le conjugué est marqué à la phosphatase alcaline. Il est déversé dans une boîte où la membrane de nitrocellulose sera transférée pour une durée d'incubation à nouveau de 2 heures.

d) Addition de substrat.

La membrane est ensuite remise en incubation dans du substrat pendant 15 à 60 jours. Les réactions positives apparaissent sous forme de tâches violettes plus ou moins intenses tandis que les témoins sains restent verts . On arrête la réaction en rinçant la membrane à l'eau courante.

A chacune de ces étapes les molécules qui n'ont pas réagi sont éliminées par des lavages successifs dans du tampon PBS additionné de Tween 20.

La lecture de la coloration finale se fait à l'oeil nu.

- Techniques d'inoculation artificielle.

Pour réaliser ces techniques, nous avons disposé de l'inoculum (préparé, comme ci-dessus décrit, à partir de feuilles malades) et de jeunes plants de riz saints cultivés en serre.

L'inoculation se fait aux 3^e et 4^e feuilles de chaque plante âgée de 19 jours après semis. La technique d'inoculation consiste à frotter avec les doigts les feuilles de riz préalablement mouillées avec l'inoculum et saupoudrées avec du carborundum. Le rôle de ce carborundum est de provoquer des blessures fines aux feuilles afin de permettre la pénétration de l'inoculum.

Généralement les premiers symptômes de la panachure jaune du riz apparaissent 8 jours après inoculation.

2.2.2. *Laboratoire de Faunistique et de Taxonomie:*

Le laboratoire de Faunistique et Taxonomie est créé en 1976 au sein du centre de Recherche de Montpellier, alors Groupement d'Etudes et de Recherches pour le Développement de l'Agronomie Tropicale. Après une période d'accumulation de matériel et de connaissances en taxonomie, son fonctionnement a été effectif au début des années 1980 et s'est même diversifié à partir de 1986.

Les objectifs assignés au laboratoire sont l'appui technique aux chercheurs en zone tropicale, la recherche dans des domaines spécifiques comme la biosystématique ou la biodiversité des insectes tels que les hyménoptères parasites.

Dans le cadre de l'appui technique, le laboratoire effectue des identifications d'insectes d'intérêt agricole, médical ou vétérinaire. En outre, il assure la formation de cadres, techniciens et étudiants français et étrangers dans les techniques de reconnaissances des insectes.

Au sein de ce laboratoire, il a été surtout traité de l'aspect transmission de la maladie par les insectes. A partir d'une bibliographie de base faite depuis le laboratoire d'accueil, il nous a été possible de situer les principaux vecteurs dans la famille des Chrysomelidae. Ainsi, l'accent a porté surtout sur les sous-familles existantes dans la collection de ce laboratoire. Plusieurs spécimens ont été observés à la loupe binoculaire, et ce en vue de préciser les caractères distinctifs. Quelques sous-familles ont cependant retenu notre attention. Il s'agit notamment de :

- Hispininae avec les genres Thrichispa et Dactylispa en provenance de la Côte d'Ivoire, du Burkina Faso et du Kenya.
- Galerucinae avec les genres Sesselia et Monolepta. Ces deux genres ont été observés au Kenya tandis que au Sénégal, il n'a été fait allusion que du second.
- Alticinae avec le genre Chaetocnema en provenance du Cameroun et du Sénégal.

En marge de ces travaux menés sur la collection, il a été passé en revue certaines techniques de base relatives à la capture, au conditionnement et à l'expédition des insectes pour lesquels le laboratoire est disponible à effectuer les déterminations. Toutefois, il est à noter que les identifications sont payantes en application des dispositions nouvelles du CIRAD.

III. CONCLUSIONS ET SUGGESTIONS

Au cours de ce stage, il a été possible de nous initier aux techniques de virologie et de rassembler une bibliographie générale sur la panachure jaune du riz.

La connaissance des techniques d'identification de la maladie permettra de mieux situer les aires d'infestation et d'en préciser les zones à risque. A cet effet, il sera procédé à des diagnostics précoces notamment au niveau des pépinières. Les travaux menés en plein champ seront étendus à plusieurs zones écologiques de l'Office du Niger de manière à disposer d'importantes données épidémiologiques. Au cours de ces travaux les observations visuelles (symptômes) seront renforcées par des tests sérologiques.

Avec la disponibilité du KIT fourni par le laboratoire de Phytopathologie du CIRAD, il sera possible de réaliser ces tests de diagnostic sur place et en un temps très court.

La maîtrise des techniques d'inoculation artificielle conduira à l'initiation d'un programme de recherche variétale. En collaboration avec les sélectionneurs du programme national, de l'ADRAO et de l'IITA, il sera mené des travaux devant aboutir à des variétés tolérantes ou résistantes à l'attaque de la panachure jaune du riz.

Les informations de base relatives à la transmission de la maladie orienteront nos recherches des insectes vecteurs. Ainsi, il sera associé aux chasses périodiques menées en rizières, des techniques de piégeages et d'élevages d'insectes. Ces investigations doivent déboucher d'une part sur le recensement des insectes vecteurs potentiels et d'autre part la constitution de données nécessaires à la compréhension des mécanismes de transmission de la maladie.

Parallèlement à ces travaux de base, l'équipe de la recherche Développement sera constamment appuyée dans ses différentes activités menées en milieu paysan.

La disponibilité du personnel chargé de l'encadrement a permis d'assimiler la plupart de ces techniques dans le temps imparti. Toutefois, il est à signaler la brièveté de ce temps eu égard à l'importance des thèmes abordés.