

TABLE DES MATIERES

	Pages
GLOSSAIRE	
INTRODUCTON	1
PREMIERE PARTIE : ETUDES BIBLIOGRAPHIQUES	
I- SYSTEMATIQUE	3
II- DESCRIPTION BOTANIQUE	3
II.1- Variétés.....	3
II.2- Appareil végétatif	4
II.2.1- Racines	4
II.2.2- Tiges	5
II.2.3- Talles.....	6
II.2.4- Feuilles.....	7
II.3- Appareil reproducteur.....	8
II.3.1- Inflorescence	8
II.3.2- Epillets	9
II.3.3- Fleurs	9
II.3.4- Fruits	10
II.3.4.1- Le tégument	10
II.3.4.2- L'albumen	11
II.3.4.3- L'embryon	11
III- BIOLOGIE ET ECOLOGIE	12
III.1- Biologie.....	12
III.1.1- Phase de germination	12
III.1.2- Phase de croissance	13
III.1.3- Phase d'épiaison-floraison	13
III.1.4- Phase de maturation	14
III.2- Ecologie	15
III.2.1- Les conditions climatiques	15

III.2.1.1- La température	15
III.2.1.2- Besoin en eau.....	15
III.2.1.3- Humidité relative	16
III.2.1.4- Vent	16
III.2.1.5- Besoin en lumière	16
III.2.1.6- Besoin en altitude	16
III.2.2- Conditions édaphiques	17
III.2.3- Les écosystèmes	17
III.2.3.1- Les écosystèmes aquatiques	17
III.2.3.1.1- La riziculture irriguée	17
III.2.3.1.2- La riziculture inondée	18
III.2.3.2- L'écosystème terrestre	18
La riziculture pluviale	18
IV- LES BACTERIES RESPONSABLES DES MALADIES DE LA RIZICULTURE	19
DEUXIEME PARTIE : MATIERIELS ET METHODES	
I- MATERIELS	22
I.1- Matériels utilisés	22
I.1.1- Echantillons de semences	22
I.1.2- Milieu de culture	22
I.1.3- Substrat	22
II- METHODES	22
II.1- ISOLEMENT DES BACTERIES DES SEMENCES	22
II.1.1- Principe	22
II.1.2- Mode opératoire	23
II.1.2.1- Collecte des matériels végétaux	23
II.1.2.2- Isolement et purification des bactéries	23
II.1.2.3- Identification des souches bactériennes purifiées	23
II.1.2.4- Conservation	24
II.2- RECHERCHE DES BACTERIES DES PLANTULES MALADES DU RIZ ...	25
II.2.1- Principe	25
II.2.2- Mode opératoire	25
II.2.2.1- Germination	25
II.2.2.1.1- Prégermination des graines	25

II.2.2.1.2- Calcul du taux de germination	26
II.2.2.1.3- Mesure de la croissance des plantules	26
II.2.2.1.4- Analyses des données statistiques	27
II.2.2.1.5- Préparation du sol pour la culture	27
II.2.2.1.6- Mise en culture des plantules	27
II.2.2.2- Recherche des bactéries sur les plantules présentant des symptômes des maladies	27
II.2.2.2.1- Collecte et description des explants malades.....	27
II.2.2.2.2- Isolement et purification des bactéries émergentes des fragments présentant des symptômes	28
II.3- COMPARAISON DES SOUCHES BACTERIENNES DES SEMENCES ET CELLES DES PLANTULES	28
II.3.1- Principe	28
II.3.2- Mode opératoire.....	28
II.3.2.1- Ré-isolement des bactéries	28
II.3.2.2- Identification	29
TROISIEME PARTIE : RESULTAS ET INTERPRETATIONS	
I- BACTERIES ISOLEES DES SEMENCES	30
I.1- Expression des résultats	30
I.2- Nombre de souches bactériennes purifiées	30
I.3- Caractères morphologiques des colonies bactériennes pures	30
I.4- Résultats de la réaction de Gram avec une solution de KOH 3% et du test à l'état frais	34
II- ETUDES DES BACTERIES PRESENTES CHEZ LES PLANTULES MALADES	36
II.1- Etude de la croissance des plantules	36
II.1.1- Taux de germination des graines	36
II.1.2- Longueur de la racine séminale et de la feuille secondaire des plantules après 7jours de germination	37
II.1.2.1- Longueur de la racine séminale	37
II.1.2.2- Longueur de la feuille secondaire	38
II.2- Etude des bactéries présentes chez les plantules après l'apparition des symptômes.	39
II.2.1- Description des symptômes	39
II.2.2- Taux d'apparition des symptômes des maladies	39
II.2.3- Bactéries isolées des explants malades	42

II.2.3.1- Expression des résultats	42
II.2.3.2- Nombre de colonies bactériennes purifiées	42
II.2.3.3- Caractères morphologiques des colonies bactériennes pures	43
II.2.3.4- Résultats de la réaction de Gram avec une solution de KOH 3% et du test à l'état frais	46
III- COMPARAISON DES BACTERIES ISOLEES DES GRAINES ET CELLES ISOLEES DES PLANTULES	49
III.1- Liste des bactéries à étudier et à comparer	49
III.2- Caractères morphologiques des colonies bactériennes pures à comparer	49
III.3- Caractères microscopiques des bactéries étudiées	52
QUATRIEME PARTIE : DISCUSSIONS	55
CINQUIEME PARTIE : CONCLUSION ET PERSPECTIVES	58
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	60

GLOSSAIRE

Feuille sessile

Le pétiole peut être absent chez une plante, la feuille est alors dite sessile.

Graine caryopse

En botanique, le caryopse est un fruit sec simple indéhiscent dont la graine, appelée « amande », est intimement soudée au péricarpe par son tégument (à la différence de l'akène). Les fruits de toutes les plantes de la famille des graminées ou Poacées sont des caryopses.

Plantes autogames

Ce sont des plantes qui ont l'autofécondation comme mode naturel de reproduction, c'est-à-dire que la fécondation de la plante est réalisée par son propre pollen. Les fleurs sont hermaphrodites (organes mâles et femelles dans la même fleur). La maturité des gamètes est simultanée.

Riz de cargo

Le riz cargo, appelé aussi riz complet, est un riz à l'état brut décortiqué, c'est-à-dire que ses enveloppes extérieures ou glumelles adhérentes non comestibles sont enlevées.

LISTE DES ABREVIATIONS

cal : calorie

CUD : Commission Universitaire pour le Développement

Fig : figure

FOFIFA : Foibem-pirenena momba ny Fikarohana ampiharina amin'ny Fampanandrosoana ny Ambanivohitra

IMRA : Institut Malgache de Recherches Appliquées

KOH : Hypochlorite de potassium

NA : Nutrient Agar

SEEDLAN : SEhatra-Ezaka-Doria-LANiera

VL : Vary Laniera

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE I : Autres maladies qui peuvent affecter la riziculture

ANNEXE II : Insectes ravageurs communs infestant le riz à différents stades de croissance en Afrique et en Asie

ANNEXE III : Composition chimique du riz

ANNEXE IV : Matériels et produits utilisés

ANNEXE V : Composition du milieu de culture

ANNEXE VI : Nombre des graines qui ont germé chaque jour pendant 72 h d'incubation

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1 : Les deux variétés d' <i>Oryza sativa</i>	4
Figure 2 : Racines du riz	5
Figure 3 : Tige et coupe longitudinale de la tige du riz	6
Figure 4 : Tallage du riz	6
Figure 5 : Les organes de la feuille du riz	7
Figure 6 : La panicule du riz	8
Figure 7 : L'épillet du riz	9
Figure 8 : Fleur d' <i>Oryza sativa</i>	10
Figure 9 : Grain de riz	11
Figure 10 : Section longitudinale du grain de riz	12
Figure 11 : Riziculture irriguée	17
Figure 12 : Riziculture inondée.....	18
Figure 13 : Riziculture pluviale.....	19
Figure 14 : Flétrissement bactérien des feuilles	20
Figure 15 : Maladie des stries bactériennes	21
Figure 16 : Pourriture de la gaine foliaire du riz	21
Figure 17 : Les différentes parties d'une jeune plantule du riz.....	26
Figure 18 : Taux d'infestation des plantules issues de la semence VL.....	41

Figure 19 : Taux d'infestation des plantules issues de la semence Fofifa X265	41
Figure 20 : Taux d'infestation des plantules issues de la semence Fofifa X263	42
Figure 21 : Photo des 7 bactéries identiques des plantules malades et des semences	54

LISTE DES TABLEAUX

Pages

Tableau 1 : Température de l'air de chaque étape de développement du plant de riz.....	15
Tableau 2 : Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des graines de la semence VL.....	31
Tableau 3: Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des graines de la semence Fofifa X265	32
Tableau 4: Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des graines de semence Fofifa X263	33
Tableau 5: Données microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées des graines de semence VL	34
Tableau 6 : Données microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées des graines de semence Fofifa X265.....	35
Tableau 7 : Données microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées des graines de semence Fofifa X263.....	35
Tableau 8 : Taux de germination des graines de chaque semence après 24h d'incubation ...	36
Tableau 9 : Taux de germination des graines de chaque semence après 48h d'incubation ...	36
Tableau 10: Taux de germination des graines de chaque semence après 72 h d'incubation .	37
Tableau 11: Résultats de la mesure de la racine séminale des plantules après 7 jours de germination.....	37
Tableau 12 : Résultats de la mesure de la feuille secondaire des plantules après 7 jours de germination.....	38
Tableau 13 : Les différents symptômes observés	39
Tableau 14 : Résultats du taux d'infestation des plantules durant 2 mois de culture	40
Tableau 15: Bactéries isolées des plantules présentant des symptômes	43
Tableau 16: Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des plantules présentant le symptôme <i>a</i>	44

Tableau 17: Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des plantules présentant le symptôme <i>b</i>	45
Tableau 18: Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des plantules présentant le symptôme <i>c</i>	45
Tableau 19: Caractères morphologiques des souches bactériennes isolées des plantules présentant le symptôme <i>d</i>	46
Tableau 20 : Caractères microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées du symptôme <i>a</i>	47
Tableau 21 : Caractères microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées du symptôme <i>b</i>	48
Tableau 22 : Caractères microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées du symptôme <i>c</i>	48
Tableau 23 : Caractères microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées du symptôme <i>d</i>	48
Tableau 24 : Colonies bactériennes identiques entre les souches isolées des semences et des plantules	49
Tableau 25 : Les différents caractères morphologiques des colonies bactériennes purifiées des plantules présentant des symptômes.	50
Tableau 26 : Les différents caractères morphologiques des colonies bactériennes purifiées des semences	51
Tableau 27 : Résultats du test à l'état frais et de la réaction de Gram des bactéries isolées des plantules.	52
Tableau 28 : Résultats du test à l'état frais et de la réaction de Gram des bactéries isolées des semences.....	53

INTRODUCTION

Le riz ou *Oryza sativa* ou « vary » est la première plante cultivée à Madagascar avant le maïs et le manioc [www.ilo.cornell.edu/images/th3.2.pdf]. Il joue un rôle primordial dans l'alimentation des malgaches [DABAT et FABRE, 2000] et les quantités nécessaires pour la consommation sont considérables, environ 140 kg de riz de cargo par tête d'habitant au cours de l'année 2000 [Annales FAO, 2004]. De ce fait, la riziculture est pratiquée dans toute l'île, à l'exception de l'extrême sud avec son climat aride. La vie quotidienne des malgaches repose essentiellement sur cette denrée qui est devenue un véritable pilier économique, social et religieux de toute la nation [BART et al, 2003 ; DABAT et FABRE, 2000]. Les rizières occupent près de 40% des surfaces cultivées de l'ensemble du pays, apportant deux à trois récoltes par an selon les variétés à Madagascar [BART et al, 2003] avec une production annuelle estimée à plus de 2 000 000 de tonnes de paddy [GAYDOU, 1995].

Mais malgré l'importance capitale et le rôle du riz dans la vie des malgaches, le secteur rizicole connaît des difficultés. Ces difficultés sont dues à de nombreux facteurs comme la pratique de culture traditionnelle (Tavy) [www.tefisaina.org], le manque de matériels de culture moderne, l'invasion des insectes nuisibles, l'insuffisance de la recherche orientée dans ce domaine et les problèmes phytosanitaires [ANDRIATSIMIALONA, 2004]. Concernant ces derniers, les maladies d'origine bactériennes, fongiques et virales occupent une place importante [SERE et NARCO, 1992]. Parmi les agents pathogènes responsables des maladies du riz, les bactéries sont les microorganismes les plus difficiles à contrôler et une grande partie est transmise par les graines [KANAGAYA, 1993]. Comme les études consacrées à ce problème sont rares à Madagascar, il est donc indispensable de se concentrer sur la question des maladies bactériennes transmises par la semence afin d'ouvrir une voie à l'étude des méthodes de contrôle.

Le présent travail est une contribution à l'étude des bactéries présentes pendant la phase post-récolte et la phase de germination chez *Oryza sativa*. Il entre dans le cadre de la mise à jour de la liste des agents pathogènes du riz transmis par les semences. C'est une collaboration entre l'Université d'Antananarivo, le département de Biotechnologie végétale et de la Biodiversité de l'Institut Malgache de Recherches Appliquées (IMRA) et le projet PIC financé par la Commission Universitaire pour le Développement (CUD).

Il a pour objectif principal d'étudier les bactéries présentes chez les semences de riz et comme objectifs spécifiques de comparer les bactéries isolées des graines des échantillons de chaque semence et des plantules malades issues de ces graines.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons adopté le plan suivant :

- études bibliographiques : généralités sur *Oryza sativa* et les maladies qui affectent la riziculture.
- matériels et méthodes utilisés et appliqués durant l'expérience.
- résultats et discussions.
- conclusions et perspectives.

PREMIERE PARTIE :
ETUDES
BIBLIOGRAPHIQUES

I- SYSTEMATIQUE

Le riz est une plante originaire d'Asie et d'Afrique. Il appartient à la famille des Poacées et au genre *Oryza* [ALLORGEL, 2003].

Classification botanique d'*Oryza sativa*

Règne	: PLANTAE
Sous-règne	: TRACHEOBIONTA
Division	: MAGNOLIOPHYTA
Classe	: LILIOPSIDA
Sous-classe	: COMMELINIDAE
Ordre	: CYPERALES
Famille	: POACEES
Genre	: <i>Oryza</i>
Espèce	: <i>sativa</i>
Non vernaculaire	: Riz, Vary

II- DESCRIPTION BOTANIQUE

II.1- Variétés

Parmi une vingtaine d'espèces de riz existant au sein du genre *Oryza*, deux sont cultivées : *Oryza sativa*, mondialement répandues et *Oryza glaberrima* [ANGLADETTE, 1996]. Deux types d'*Oryza sativa* sont à distinguer : la variété *japonica* (fig. 1), au feuillage vert foncé et à la dernière feuille retombante, donne un riz collant à la cuisson et des grains arrondis, paille courte. Tandis que la variété *indica* (fig. 1), a une dernière feuille plus dressée et donne un riz sec à la cuisson, des grains allongés et des tiges de grande taille [www.afd.be/~plant-ch/riz/connais/AGriz.htm].

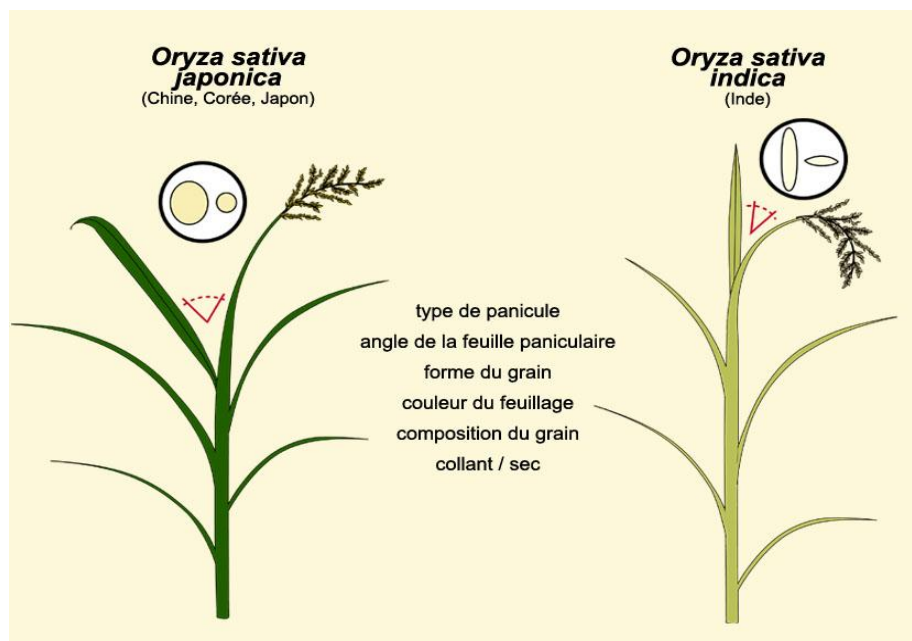


Figure 1 : Les deux variétés d'*Oryza sativa*

Source : www.rizsativa.htm

II.2- Appareil végétatif

Le riz est une plante herbacée annuelle, monocotylédone et autogame [COURTOIS, 1998].

II.2.1- Racines

Les racines ont un système fasciculé et elles sont constituées de racines secondaires et de leurs poils absorbants. La première racine, appelée radicule, a une vie éphémère et elle est rapidement remplacée par des racines secondaires. Ces dernières apparaissent au cours de la croissance de la plante [www.agriculture.gov.mg/pdf/ameliore.pdf]. Elles prennent naissance sur les premiers bourgeons (nœuds) de la base de la tige et peuvent se développer sur des nœuds supérieurs en formant de véritables racines adventives. En effet, un pied de riz comprend environ 2000 racines (fig. 2), dont chacune porte 10 à 30 radicelles. Ces dernières portent elles-mêmes de très nombreux poils absorbants [www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/AGriz.htm].



Figure 2 : Racines du riz

Source : www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/AGriz.htm

II.2.2- Tiges

La tige a une forme cylindrique creuse et elle est constituée par une alternance de nœuds et d'entre nœuds [VERGARA et ARRAUDEAU, 1992] (fig. 3). Sa coloration varie suivant les variétés et aussi suivant le stade de végétation [www.prota.org]. Son rôle principal est de pouvoir émettre, en cours de végétation, des tiges secondaires ou thalles [www.maep.gov.mg/filtecrizamel.htm]. La première ébauche de la tige est la tigelle [ANGLADETTE, 1996]. Elle est entourée par un fourreau de couleur pâle, le coléoptile. A maturité, la hauteur de la tige se mesure du niveau du sol, c'est-à-dire du collet, à l'extrémité des panicules [ANGLADETTE, 1996 ; www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/AGriz.htm].

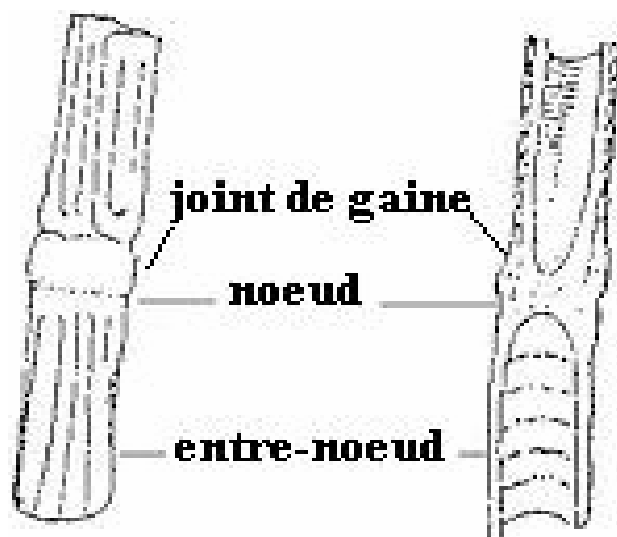


Figure 3: Tige et coupe longitudinale de la tige du riz

Source : VERGARA, 1992

II.2.3- Talles

A la partie inférieure de la tige primaire, et à la base de chaque feuille, se trouve un bourgeon qui, normalement, donne naissance à une tige secondaire, ou talle (fig.4). Les bourgeons de ce talle donnent ensuite naissance à des tiges tertiaires, quaternaires, etc. C'est l'ensemble de ces talles qui constitue, à partir d'un seul plant, la touffe de riz [LACHARME, 2001 ; VALLOIS, 1996].

Le repiquage des plantules fournit le maximum de tiges fertiles et favorise l'abondance du tallage, facteur primordial de haut rendement. Les plantes trop vieilles limitent le nombre de talles donc sont moins productives [www.agriculture.gov.mg/pdf/intensive.pdf].

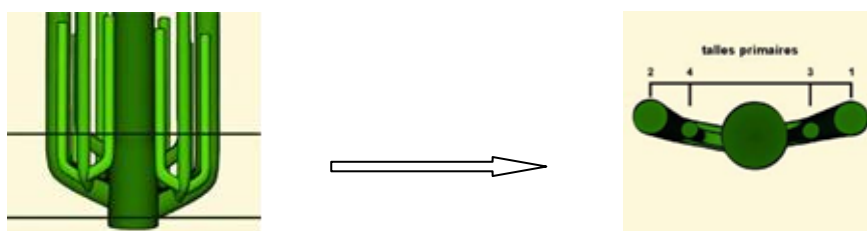


Figure 4 : Tallage du riz

Source : www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/veg-tal-riz.htm

II.2.4- Feuilles

Les feuilles sont alternes, sessiles et de couleur verte plus ou moins foncé. Elles peuvent atteindre 30 cm à 1 m de long avec une largeur compris entre 8 à 15 mm suivant les variétés [www.maep.gov.mg/filtecrizamel.htm]. Elles sont formées de deux parties :

- la gaine foliaire qui est la partie partant de l'entre nœud et entoure la tige jusqu'au niveau du limbe. Elle est fendue sur toute la longueur et couvre plusieurs nœuds (fig. 5).
- le limbe foliaire qui est long, étroit (8 à 25 mm) et est plus ou moins pubescent [ANGLADETTE, 1996 ; LACHARME, 2001].

A la jonction de la gaine et du limbe foliaire, il existe deux pièces membranaires dont l'une est la ligule bifide (10 à 15 cm de long) et l'autre est l'auricule (2 à 4 mm de long) [www.maep.gov.mg/filtecluv.htm]. La dernière feuille, appelée aussi feuille paniculaire, située au sommet d'une tige fertile, est un limbe court et plus large que les autres feuilles [www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/AGriz.htm].

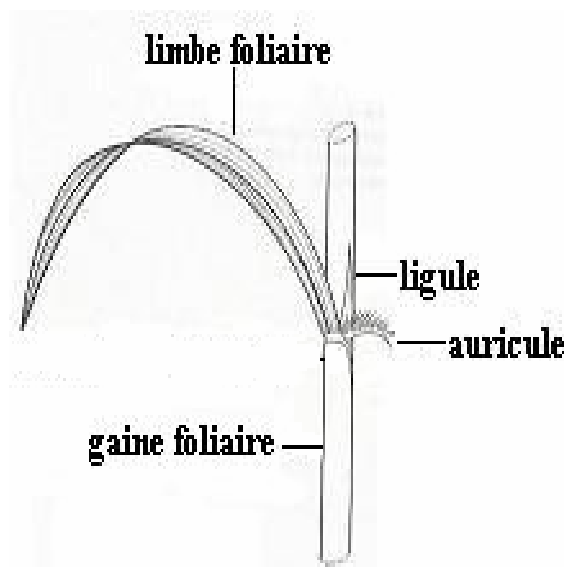


Figure 5: Les organes de la feuille du riz

Source : VERGARA, 1992

II.3- Appareil reproducteur

II.3.1- Inflorescence

L'inflorescence est formée par une panicule rameuse plus incurvée à maturité et mesure environ 10 à 40 cm de long [ANGLADETTE, 1996]. Elle émerge sur une tige fertile au niveau de l'articulation du limbe et de la gaine foliaire de la dernière feuille dite "feuille paniculaire"[www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/fl-fr-riz.htm].

La panicule, plus ou moins érigée, compacte, selon les variétés, est composée d'un pédoncule prolongé par un rachis aux nœuds plus ou moins rapprochés (fig. 6). Le rachis porte des ramifications qui sont des racèmes ramifiés eux-mêmes en racémules d'ordres supérieurs. Les racèmes portent des épillets pédicellés uniflores, c'est-à-dire composés d'une seule fleur chacun. Chaque fleur est protégée par de petites pièces florales : les glumes et les glumelles [www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/fl-fr-riz.htm].

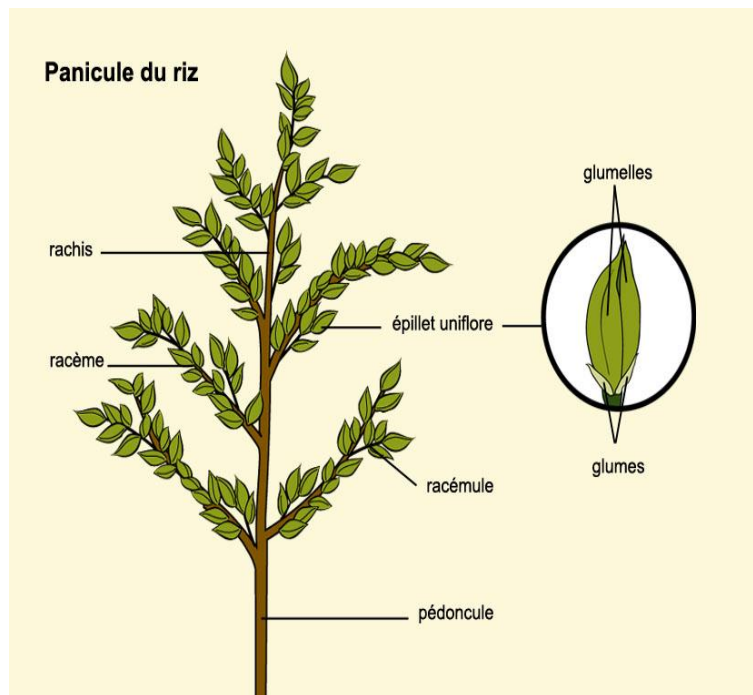


Figure 6: La panicule du riz

Source: www.rizpanicule.htm

II.3.2- Epillets

L'épillet est l'unité basale de l'inflorescence, communément appelé grain de paddy [www.ebeninois.com/file/50462]. Les épillets sont portés par des ramifications secondaires par groupes de 2 à 7. Chaque épillet est uniflore, c'est-à-dire qu'il n'est composé que d'une seule fleur et est porté par un pédicelle. Il présente à sa base deux petites bractées, les glumes, surmontées de deux grandes bractées refermées l'une sur l'autre, les glumelles : une glumelle inférieure (la lemma) et une glumelle supérieure (la paléa) (fig. 7). Ces dernières, portant 5 nervures dont la nervure centrale surtout chez la lemma, peuvent se prolonger par une aristation dont la taille et la forme sont des caractères variétaux [VERGARA et ARRAUDEAU, 1992 ; www.afd.be/~plant-ch/riz/sexualit/ep-fl-riz.htm].

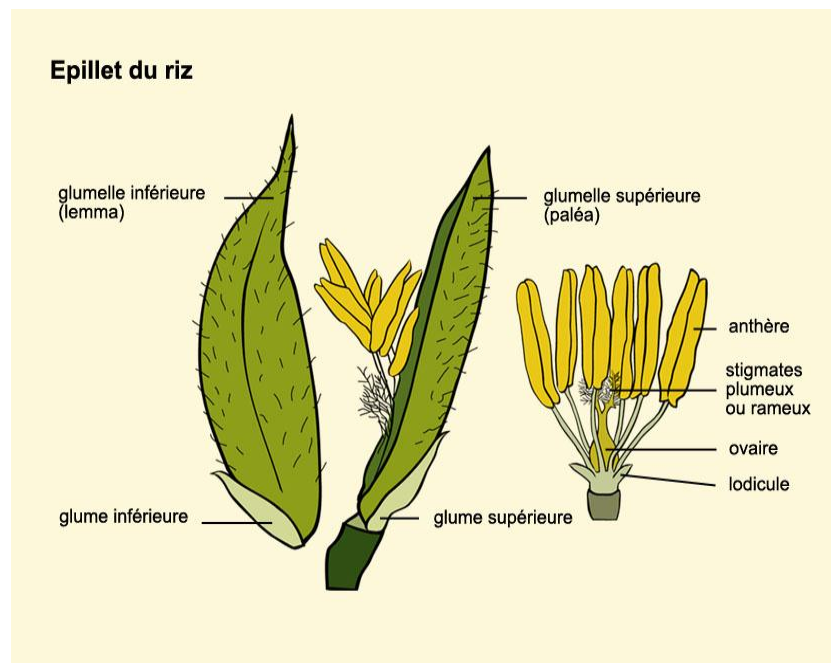


Figure 7: L'épillet du riz

Source: www.rizepillet.htm

II.3.3- Fleurs

Après ablation des glumes et des glumelles, on peut observer le gynécée entouré par l'androcée. Du centre vers l'extérieur, on découvre : l'ovaire, contenant un seul ovule et surmonté de deux styles aux stigmates plumeux, six étamines portant les six anthères bilobées et, à la base, un périanthe réduit à deux petits organes incolores qu'on appelle les lodicules et

dont le gonflement, à l'anthèse, provoque l'ouverture des glumelles [HUBERT, 1970 ; www.afd.be/~plant-ch/riz/sexualit/ep-fl-riz.htm] (fig. 8).



Figure 8 : Fleur *d'Oryza sativa*

Source : www.afd.be/~plant-ch/riz/sexualit/ep-fl-riz.htm

II.3.4- Fruits

Les fruits sont des paddy qui sont un ensemble de graines de riz, enveloppés par la glume et la glumelle [LACHARME, 2001]. Ils ont environ 4 à 14 mm de long, 2 à 4 mm de large et de couleur blanche jaunâtre, plus ou moins rouge ou noire. Une panicule peut contenir environ 0,9 à 3,6 g de grain de paddy [ANGLADETTE, 1996 ; VERGARA et ARRAUDEAU, 1992].

Les graines sont des caryopses composées de 3 parties (fig. 10) : le tégument, l'albumen et l'embryon.

II.3.4.1- Le tégument

C'est un péricarpe mince de couleur variable, riche en vitamines, qui enveloppe l'albumen et l'embryon. Les téguments donnent le son [www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/gerrizhtm.htm].

II.3.4.2- L'albumen

C'est la partie comestible du riz constituée par des cellules amidonneuses opaques ou translucides ; de couleur blanche suivant les variétés. Les grains, à un stade de développement non complet, donnent les grains verts. Ces grains verts se trouvent à la base de la panicule et sur les talles les plus tardifs [www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/gerrizhtm.htm].

II.3.4.3- L'embryon

Il est situé sous la glumelle inférieure, à la base de l'albumen et contient déjà tous les organes différenciés de la future plante. Le site occupé par l'embryon est repérable par le méplat (M) entouré par le péricarpe (P) (fig. 9) [www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/gerrizhtm.htm].

L'embryon est en forme d'une racicule surmontée d'une gaine (coléorhize), d'une gemmule surmontée aussi d'une gaine (coléoptile), et entre les deux il y a un axe hypocotyle court. Sa dimension et sa forme est variable avec environ 3,5 à 8,5 mm de long et 1,5 à 3,5 mm de large. Son poids est d'environ 77 % à 82 % du paddy [www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/gerrizhtm.htm].

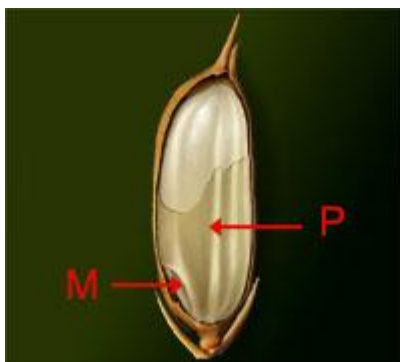


Figure 9 : Grain de riz

Source : www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/gerrizhtm.htm

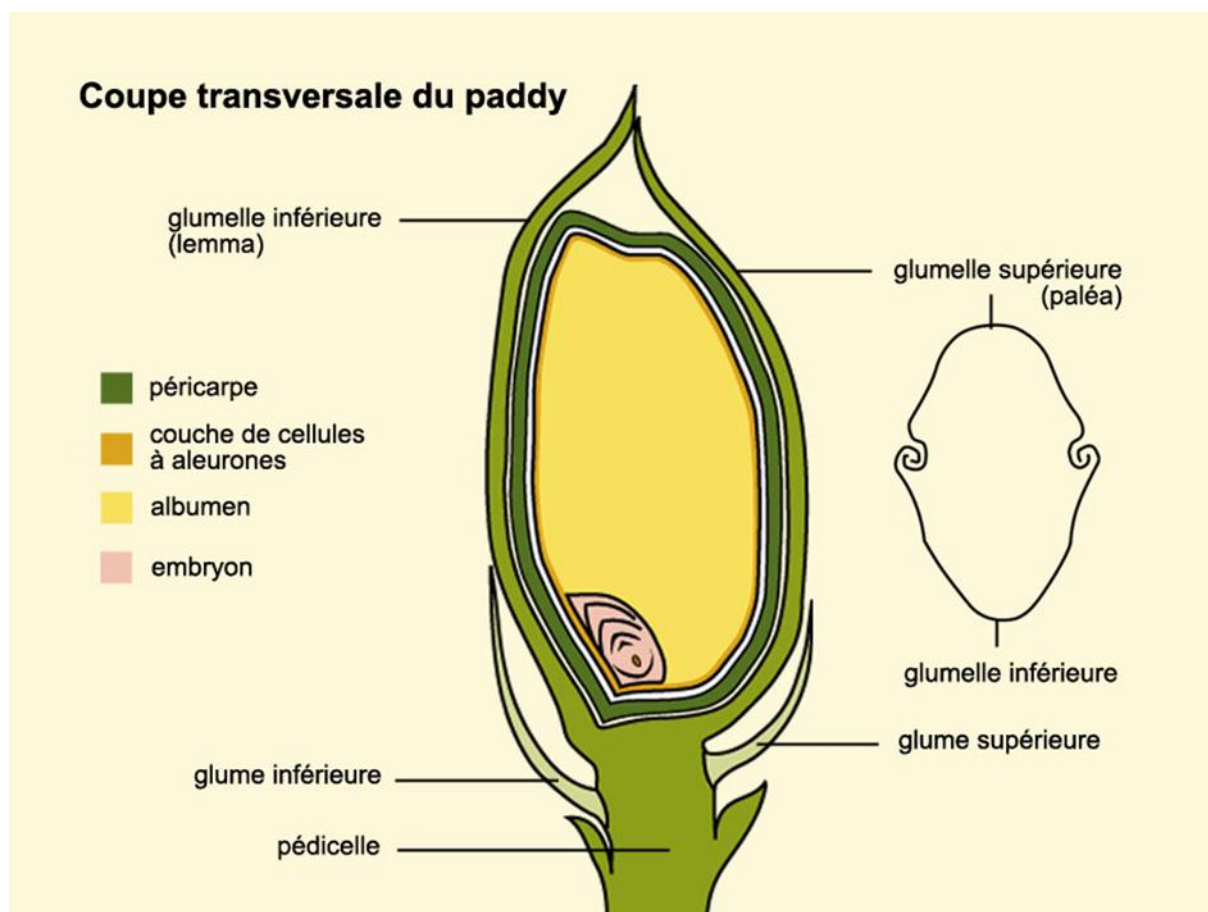


Figure 10 : Section longitudinale du grain de riz

Source : www.rizfruit.htm

III- BIOLOGIE ET ECOLOGIE

III.1- Biologie

La phase végétative de la plante peut durer en moyenne 4 mois selon les variétés [VALLOIS, 1996]. Elle est composée de 4 phases.

III.1.1- Phase de germination

C'est la germination immédiate des grains en dormance [www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/gerrizhtm.htm]. L'embryon, à l'état de vie latente pendant toute la durée du stockage du grain, germe dès qu'il rencontre une humidité suffisante. Pour que les graines germent, il faut une température optimum de 30 à 35°C et qu'ils renferment au moins 50% de

leur poids en eau [www.maep.gov.mg/filtecrizamel.htm]. Les grains de riz peuvent germer sous l'eau. On estime également qu'il n'y a pas de possibilité de germination à des températures moyennes inférieures à 13°C. La rapidité de développement de la tigelle dépend essentiellement de la température. La qualité de germination d'une bonne semence est caractérisée par sa faculté et son énergie germinative [ANGLADETTE, 1996 ; VERGARA et ARRAUDEAU, 1992].

Le développement d'un plant de riz, entre le début de la germination et la phase de tallage, suit, pour des mêmes conditions de milieu, une croissance très régulière en poids et en taille. Quand les conditions sont satisfaites, la racine apparaît en 24 h puis, lors du 2^{ème} jour, la tigelle commence à poindre [BART et al, 2003]. Vers le 5^{ème} jour, la première feuille apparaît. Vers le 10^{ème} jour le collet émet de nouvelles racines. Puis la tige et les racines croissent en longueur. C'est la taille et le diamètre au collet qui déterminent, au stade pépinière, le moment de la date de transplantation [LACHARME, 2001 ; ANGLADETTE, 1996].

III.1.2- Phase de croissance

C'est la période où le riz a la possibilité d'émettre des tiges secondaires et tertiaires donnant naissance à autant de panicules [LACHARME, 2001]. Le tallage commence une quinzaine de jours après le semis et se poursuit jusqu'à la floraison. C'est pendant cette phase que le riz est le plus sensible aux soins culturaux, notamment aux sarclages et aux apports d'engrais azotés en couverture [VERGARA et ARRAUDEAU, 1992].

Au moment du repiquage, la tige primaire, issue de l'embryon, disparaît presque totalement. Seuls survivent les nœuds de la base d'où partiront de nouvelles talles. L'émission de ces talles est lente au début et devient de plus en plus rapide [BART et al, 2003]. Chaque nouvelle tige produit de nouvelles talles. L'importance du tallage est fonction de la variété, de la richesse du sol, de la température, de l'éclairement et du nombre de brins par touffe [LACHARME, 2001]. Environ 50 à 60 jours après le repiquage, les touffes couvrent totalement les espaces entre les plants si les écartements sont normaux [ANGLADETTE, 1996].

III.1.3- Phase d'épiaison-floraison

La phase d'épiaison - floraison est une des plus critiques dans la vie de la plante. De mauvaises conditions de culture ou de milieu peuvent provoquer un avortement partiel ou

total de la panicule. Elle débute 2 à 5 semaines après le tallage [www.maep.gov.mg/filtecrizamel.htm].

La phase est composée de différents signes, entre autres :

- le renflement de la partie supérieure de la tige qui forme un ventre,
- l'émergence de la panicule de la feuille paniculaire après quelques jours,
- l'inflorescence sur les tiges les plus vieilles qui est la montaison,
- l'ouverture des glumelles (fleurs) durant deux heures au maximum et apparition des étamines à l'extérieur (la floraison),
- la pollinisation ou la fécondation qui ne se fait que par beau temps sans vent.

Dix jours après la fécondation, les grains sont formés [ANGLADETTE, 1996 ; www.maep.gov.mg/filtecrizamel.htm].

III.1.4- Phase de maturation

La phase de maturation a lieu 20 à 40 jours après la floraison si les conditions climatiques sont favorables [www.maep.gov.mg/filtecrizamel.htm]. Bien écartés de la feuille paniculaire toujours dressée et fonctionnelle, les grains mûrissent : d'abord laiteux, ils deviendront pâteux puis mûrs. Les dernières feuilles et surtout les feuilles paniculaires, qui ont concentré des réserves d'hydrates de carbone qu'elles transfèrent ensuite à la panicule, contribuent au remplissage du grain, d'où un champ de riz mûrit pendant un mois ou deux après sa floraison [www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/gerrizhtm.htm].

Les signes de maturation

Après la fécondation, le caryopse prend rapidement sa forme définitive, alors que sa texture est encore laiteuse puis pâteuse et enfin dure, consistante et craquante au moment de la pleine maturité. Les variétés hâtives mûrissent plus vite que les variétés à cycle long. La maturité se fait progressivement du haut vers le bas de la panicule : les grains de l'extrémité supérieure de la panicule mûrissent en premier. L'état de maturité se définit par l'état de dureté du grain aux différents étages de la panicule [www.maep.gov.mg/filtecrizamel.htm].

III.2- Ecologie

La culture du riz est extrêmement diversifiée. Il est cultivé depuis la latitude 40° Sud, en Argentine, jusqu'à 53° Nord, en Chine, du niveau de la mer jusqu'à 1.500 m et plus d'altitude [RATSIMBA, 2005].

III.2.1- Les conditions climatiques

III.2.1.1- La température

Les variations de température de l'air favorable à chaque étape de développement du plant de riz sont données par le tableau 1.

Tableau 1: Température de l'air de chaque étape de développement du plant de riz.

Etape de développement	Température Minimum (°C)	Température Optimum (°C)	Température Maximum (°C)
Germination	14 - 16	30 - 35	42
Tallage	16 - 18	28 - 30	40
Floraison	22	27 - 29	40
Maturation	-	25	40

Source : [CIRAD-GRET, 2002]

Une réduction de la température est particulièrement néfaste lors de la germination et de l'initiation paniculaire. En culture aquatique, la température de l'eau est importante. Le minimum est de 13-14 °C, l'optimum de 30-34 °C et le maximum de 38-40 °C [CIRAD-GRET, 2002].

III.2.1.2- Besoin en eau

La production rizicole est conditionnée totalement par la pluviométrie, lorsqu'il s'agit de culture sèche. Pour ce type de culture, le riz a besoin de 160 à 300 mm d'eau par mois

pendant toute la durée du cycle. Cependant, pour une culture irriguée le volume d'eau nécessaire est de 12.000 à 20.000 m³/ha pour maintenir le sol submergé pendant toute la durée du cycle du riz [ANGLADETTE, 1996]. Durant la période d'exploitation, les phases critiques en eau sont le tallage, l'épiaison, la montaison et la maturation. Les besoins en eau sont en corrélation avec la nature du sol : sur sols argilo-limoneux, on peut cultiver le riz avec seulement 800 à 1000 mm d'eau [www.maep.gov.mg/filtecrizpluv.htm].

III.2.1.3- Humidité relative

L'humidité relative de l'air a une grande influence sur la végétation; plus elle est élevée, plus on assiste au développement de maladies cryptogamiques. La floraison du riz nécessite 70 à 80% d'humidité. En culture irriguée, une sécheresse atmosphérique peut être un facteur accroissant le rendement. La floraison exige 70 à 80 % d'hygrométrie [ANGLADETTE, 1996].

III.2.1.4- Vent

Le plant de riz nécessite un vent léger pour accélérer la transpiration mais il n'aime pas les vents trop forts qui peuvent déraciner les jeunes plants après repiquage ou provoquer la verse [ANGLADETTE, 1996].

III.2.1.5- Besoin en lumière

Le riz demande beaucoup de lumière. Le photopériodisme a une forte influence sur la durée du cycle et le rendement. La période favorable de culture correspond à des durées de longueur du jour élevées. Les rendements les plus élevés sont obtenus à 400 cal / j / cm² [RAMAHANDRY, 2003].

III.2.1.6- Besoin en altitude

Le riz pousse aussi bien au niveau de la mer qu'en altitude (1800 m à Madagascar) pourvu que les conditions précédentes, concernant surtout la chaleur et l'eau, soient satisfaites [www.maep.gov.mg/filtecrizpluv.htm].

III.2.2- Conditions édaphiques

Le riz préfère les sols à texture fine avec 40 à 60 % d'argile et de pH 7 à 9. Le sol idéal pour une culture sèche doit être riche, meuble, limoneux ou limono-argileux, tandis qu'en culture aquatique le sol doit être plus argileux (50%) alluvionnaires, argiles noires tropicales, ferrallitique et organique. La présence de sulfures ou de sulfates est défavorable pour la riziculture [ANGLADETTE, 1996].

III.2.3- Les écosystèmes

III.2.3.1- Les écosystèmes aquatiques

La riziculture aquatique englobe toute culture de riz qui se pratique en sols de rizière sous une lame d'eau durant tout le cycle cultural. Les écosystèmes aquatiques représentent 88% des superficies totales en culture de riz [CIRAD-GRET, 2002]. La riziculture aquatique se subdivise en deux sous-types :

III.2.3.1.1- La riziculture irriguée

On assiste à une parfaite maîtrise de l'eau car les dates d'arrivée et de retrait ainsi que la hauteur de la lame d'eau sont maîtrisées (fig. 11). Elle représente 55% des superficies rizicoles mondiales [COURTOIS, 1998].



Figure 11 : Riziculture irriguée

Source : COURTOIS, 1998

III.2.3.1.2- La riziculture inondée

C'est une riziculture sans maîtrise d'eau car on ne se soucie ni des dates d'arrivée et de retrait, ni de la hauteur de la lame d'eau (fig. 12). Dans ce cas, le système de culture le plus répandu est le semi direct et on utilise des variétés rustiques qui sont bien adaptées au régime hydrique [COURTOIS, 1998].



Figure 12 : Riziculture inondée

Source : COURTOIS, 1998

III.2.3.2- L'écosystème terrestre

La riziculture pluviale

La riziculture pluviale désigne toute culture de riz pratiquée sur sol exondé d'un versant ou de la partie sommitale des collines et dont l'alimentation hydrique est totalement assurée par la pluviométrie (fig. 13). Ce système représente 12% des superficies rizicoles mondiales [COURTOIS, 1998].



Figure 13 : Riziculture pluviale

Source : COURTOIS, 1998

IV- LES BACTERIES RESPONSABLES DES MALADIES DE LA RIZICULTURE

Les bactéries peuvent provoquer des dégâts importants comme la mort des jeunes plantules et la réduction du rendement qui peut aller jusqu'à 50 %. Quelques bactéries responsables sont recensées.

- *Xanthomonas campestris* pv.*oryzae* qui est à l'origine du flétrissement bactérien des feuilles. Les pertes de rendement, dans les champs gravement contaminés, se situent entre 20 et 30 % et peuvent atteindre 50 % [ROBERT et PAMELA , 1992]. Les symptômes sont suffisamment caractéristiques pour être reconnus à l'œil nu. Bien que présente dans la culture, la maladie peut d'abord passer inaperçue (absence de symptômes) puis, former de petites nécroses sur les feuilles [AGRAWAL et al, 1994].

Sur les plantules, le flétrissement apparaît tout d'abord comme une petite tache mouillée, à la périphérie des feuilles inférieures pleinement développées. Avec l'extension des taches, les feuilles jaunissent, sèchent et se fanent. Sur le limbe, les lésions apparaissent en général sur les bords, à partir de la pointe, et s'agrandissent avec un contour ondulé, puis deviennent jaunes et sèches. Les zones voisines des parties saines sont trempées [BORO, 2002] (fig. 14).

Dans les champs très contaminés, les grains peuvent être également atteints et la maladie se manifeste sur les glumes par des taches de couleur altérée entourées d'une marge mouillée. Sous les tropiques, on rencontre deux autres types de symptômes: le kresek, ou le dessèchement des feuilles et des plants entiers; et l'apparition de feuilles d'un jaune pâle à un stade ultérieur de croissance [SOMDA et al, 2004 ; SERE et NARCO, 1992].

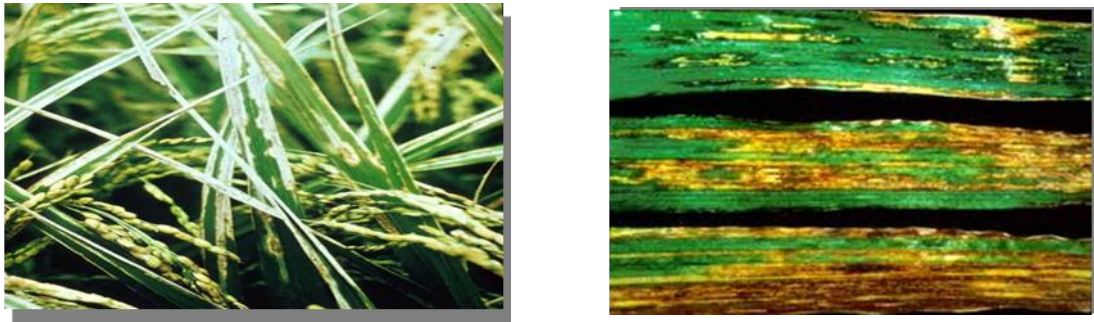


Figure 14 : Flétrissement bactérien des feuilles

Source : Plant pathology, 1997

- *Xanthomonas campestris* **pv.** *oryzicola* est responsable de la maladie des stries bactériennes [VALES et RAZAFINDRAKOTO, 1996]. Les températures élevées sont propices à sa propagation. Les pertes enregistrées varient entre 8,3 et 17,1 % pendant les saisons des pluies, et entre 1,5 et 5,9 % pendant les saisons sèches. Les premiers symptômes apparaissent entre les nervures des jeunes feuilles sous forme de stries courtes de 0,5 à 1 mm de large et de 3 à 5 mm de long de couleur vert sombre avec un aspect translucide humide. Les stries sont longitudinales mais peuvent s'étendre latéralement [SERE et NARCO, 1992]. Des gouttelettes jaunes se forment, correspondant à des exsudats bactériens qui apparaissent à la surface des lésions linéaires dans des conditions humides (fig. 15). Les feuilles se dessèchent en virant au blanc grisâtre. Les parties blanchies sont envahies par des saprophytes [VALES et RAZAFINDRAKOTO, 1996].



Figure 15 : Maladie des stries bactériennes

Source : Cliché DODELYSb

- *Pseudomonas fuscovaginae* provoque la pourriture de la gaine foliaire du riz. La maladie est favorisée par des températures basses (14 à 20°C) et par une humidité élevée [ROBERT et PAMELA, 1992]. Elle peut engendrer des pertes de plus de 50%. Elle se manifeste par des lésions d'aspect huileux sur les feuilles de base des jeunes plants. Les taches se nécrosent en s'agrandissant et forment de larges zones de couleur brun gris (fig. 16). Une forte attaque à ce stade peut provoquer la mort des jeunes plants [LEE e al, 2003]. Mais le stade le plus sensible est la formation des panicules pendant laquelle des stries anguleuses d'aspect huileux et de couleur brun foncé sur les gaines foliaire et paniculaires apparaissent. Les stries s'agrandissent et prennent une forme irrégulière. Les lésions peuvent atteindre 20 cm de longueur. La maladie entraîne une mauvaise émergence des panicules [SERE et NARCO, 1992].

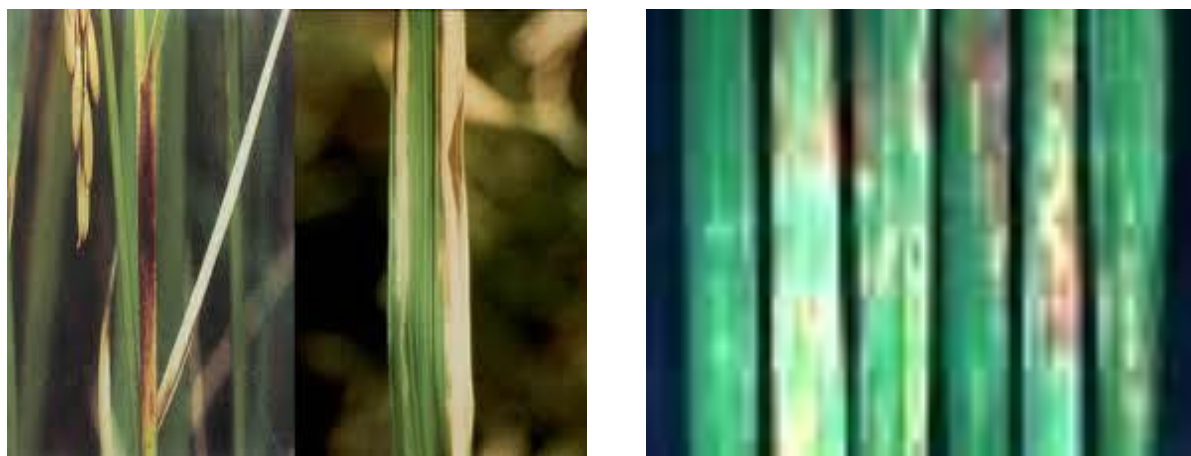


Figure 16 : Pourriture de la gaine foliaire du riz

Source : Plant pathology, 1997

DEUXIEME PARTIE :
MATERIELS ET
METHODES

I- MATERIELS

I.1- Matériels utilisés

I.1.1- Echantillons de semences

Trois échantillons de semences de variétés de riz à savoir : Fofifa X263, Fofifa X265 et VL (Vary Laniera) sont testés durant l'expérience.

I.1.2- Milieu de culture

Le milieu Nutrient Agar (NA) est utilisé pour l'isolement et la conservation des bactéries.

La composition de ce milieu de culture se trouvent à l'annexe V.

I.1.3- Substrat

Un sol destiné à la riziculture, mélangé à du sable et des mousses, est utilisé pour l'expérience.

II- METHODES

La méthodologie est divisée en trois étapes.

II.1- ISOLEMENT DES BACTERIES DES SEMENCES

Cette étape relate la collecte des matériels végétaux, l'isolement, la purification des microorganismes isolés, l'identification préliminaire et la conservation des souches.

Cette étape a pour but d'isoler les bactéries qui sont présentes chez les semences de riz.

II.1.1- Principe

La plupart des bactéries responsables des maladies du riz est transmise par la semence. Il existe différentes manière pour isoler les microbes présentes en surface des graines du riz.

Celle que nous avons adoptée est le dépôt direct des graines coupées en petites morceaux sur des milieux de culture solides. Les bactéries obtenues sont ensuite transférées sur un nouveau milieu de culture, c'est la purification.

La purification des bactéries est basée sur la technique d'isolement par épuisement et chaque microbe vivant (dite revivifiable) donne, en se multipliant, des colonies visibles à l'œil nu, après incubation dans un milieu gélosé favorable.

II.1.2- Mode opératoire

II.1.2.1- Collecte des matériels végétaux

Les semences que nous avons utilisées proviennent du SEEDLAN (SEhatra- Ezaka-Doria- LANiera), un producteur local de semences situé dans le Lemak'i Laniera. Chaque échantillon est mis dans des sachets stériles en plastique, fermés hermétiquement pour éviter toute contamination avec le milieu extérieur.

II.1.2.2- Isolement et purification des bactéries

Les graines sont coupées en petits morceaux et déposées sur des milieux de culture gélosés (NA) en raison de 5 morceaux par boîte de 90 mm à raison de 4 boîtes par échantillons. Les boîtes sont incubées à température ambiante pendant 24 à 48 h. Une observation est effectuée tous les jours. Chaque type de colonies émergent des explants est prélevé à l'aide d'une pipette préalablement stérilisée à la flamme d'un bec Bunsen, et dilué dans quelques microlitres d'eau distillée stérile. La suspension bactérienne ainsi obtenue est prélevée à l'aide de la boucle de la pipette, etensemencée sur le milieu de culture pour la purification en faisant des stries serrées partant d'un bout à l'autre de la boîte. Les boîtes sont incubées à température ambiante pendant 24 à 48 h.

D'autres repiquages sont nécessaires quand les colonies isolées ne sont pas encore pures.

II.1.2.3- Identification des souches bactériennes purifiées

Elle se fait à partir d'une souche pure.

- **Test à l'état frais**

Avec une souche jeune de 24 h, l'inoculum est pris à l'aide d'une anse préalablement stérilisée à la flamme du bec Bunsen, puis mélangé avec une goutte d'eau déposée sur une lame porte objet. Le mélange est couvert avec une lamelle puis observé microscopiquement avec un objectif à l'huile d'immersion 100X.

- **Réaction de Gram** (Test de solubilité dans KOH, LELLIOT et STEAD, 1987)

A l'aide d'un cure-dent stérile, les bactéries sont prélevées à partir d'une culture pure de 24-48 heures et frottées rapidement dans une goutte d'une solution aqueuse de KOH 3% préalablement déposée sur une lame de verre. Au bout de quelques secondes, on soulève le cure-dent de quelques cm au-dessus de la lame. S'il se forme un filet visqueux, la bactérie est Gram négatif. Les bactéries Gram positif ne produisent pas de filet.

II.1.2.4- Conservation

La conservation permet de maintenir la croissance des microorganismes à une vitesse ralentie en vue d'une utilisation ultérieure.

Deux modes de conservation sont utilisés.

- **Type 1 : conservation à court terme (6 mois maximum)**

Les bactéries isolées et purifiées sont prélevées à l'aide d'une anse stérile, ensuiteensemencées dans un tube contenant de la gélose en pente. Après une incubation de 24h à température ambiante, les tubes sont conservés à +4°C au réfrigérateur.

- **Type 2 : conservation à long terme**

Les mêmes souches bactériennes sont cultivées dans un milieu de culture liquide pendant 24 h, mélangées ensuite avec une proportion de 1/3 de glycérine préalablement stérilisée dans un cryotube en raison de deux cryotubes par souches et incubées à -20°C.

II.2- RECHERCHE DES BACTERIES DES PLANTULES MALADES DU RIZ

L'objectif de cette étape est d'isoler et d'identifier les bactéries présentes dans les plantules malades.

II.2.1- Principe

La culture de riz, comme la plupart des cultures, peut être attaquée par des bactéries tout au long du cycle de développement. L'attaque commence dès que la graine tombe au sol, se poursuit jusqu'à la germination et la croissance du végétal, et se termine par la mort de celui-ci. Ce contact est aussi étroit puisque l'on peut détecter plus de 10^6 bactéries/g de feuilles et plus de 10^9 bactéries/g de racines. La plupart de ces micro-organismes vivent probablement en saprophyte (ce qui signifie qu'ils n'exercent - a priori - aucune action sur le végétal), d'autres exercent un effet néfaste (organismes pathogènes par exemple) et d'autres peuvent, au contraire, protéger et favoriser le développement du végétal (organismes dits promoteurs de croissance, agents microbiens de lutte biologique ou symbiotiques fixateurs d'azote, etc.).

II.2.2- Mode opératoire

II.2.2.1- Germination

La germination débute quand la dormance de la graine est levée et lorsque celle-ci est exposée à des conditions favorables (quantité d'eau adéquate, température variant approximativement entre 10 à 40°C). Morphologiquement, une graine germe quand la radicule ou coléoptile (pousse embryonnaire) émerge de son tégument. Sous des conditions aérées, c'est la radicule qui émerge en premier, suivie ensuite du coléoptile.

II.2.2.1.1- Prégermination des graines

Des graines de chacune des semences sont mises dans des boîtes de Pétri de 90 mm contenant du papier filtre stérile imbibé avec de l'eau distillée préalablement stérilisée à raison de 10 graines par boîte. Puis, les boîtes sont incubées à l'obscurité dans un germoir à 37°C pendant 72 h pour interrompre la dormance de la graine.

II.2.2.1.2- Calcul du taux de germination

Pendant 72 h d'incubation, les nombres des graines qui ont germé, et celles qui ne l'ont pas, sont comptés tous les 24 heures. Le calcul du taux de germination se fait de la manière suivante :

$$T = \frac{N_g}{N_t} \times 100$$

- T : taux de germination des graines
- Ng : nombre de graines qui ont germé
- Nt : nombre totale de graines qui sont pré-germées.

II.2.2.1.3- Mesure de la croissance des plantules

Pour chaque plantule, les longueurs en cm de la feuille secondaire ainsi que la longueur de la racine séminale sont mesurées après 7 jours de germination.

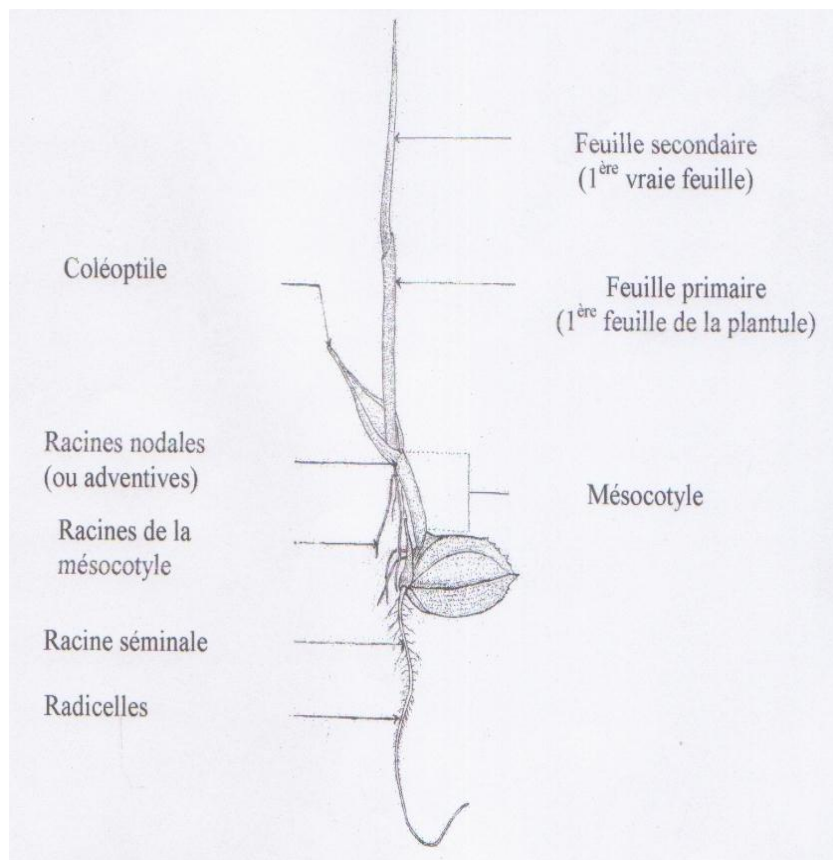


Figure 17 : Les différentes parties d'une jeune plantule du riz (Maclean, 1997)

II.2.2.1.4- Analyses des données statistiques

Pour chaque paramètre mesuré, les moyennes sont calculées.

L'analyse de la variance est ensuite utilisée pour tester la significativité des différences entre les moyennes observées.

Pour les calculs et les tests statistiques, nous avons utilisé le logiciel ASSISTAT version 7.6 beta (2012), option Blocs Complets Randomisés. La significativité des différences est considérée au seuil de probabilité de 5%.

- si $0,1 \leq p \leq 0,5$: il y a une différence significative entre les moyennes observées.
- si $p > 0,5$: il n'y a pas de différence significative entre les moyennes observées.

II.2.2.1.5- Préparation du sol pour la culture

Le sol est pris dans une rizière proche de l'IMRA. Il est mis dans des sachets en plastique pour la stérilisation par autoclavage deux fois de suite afin d'éliminer les microorganismes présents. Ensuite, il est laissé à l'air libre pendant 48 h pour se refroidir. Enfin, il est reparti dans des bacs de culture.

Des mousses préalablement stérilisées sont utilisées comme fertilisant.

II.2.2.1.6- Mise en culture des plantules

Les plantules germées sont repiquées dans les bacs remplis de terre stérile, puis placées ensuite sous serre de 25 à 30°C avec une alternance de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Les plantules sont arrosées régulièrement.

Des observations journalières sont effectuées pendant une période de 2 mois dans le but de vérifier s'il y a ou non apparition de symptômes sur les plantules.

II.2.2.2- Recherche des bactéries sur les plantules présentant des symptômes des maladies

II.2.2.2.1- Collecte et description des explants malades

La collecte des explants consiste à sélectionner les plantules présentant des symptômes de maladie. Les symptômes sont ensuite localisés et décrits avant l'isolement des fragments des plantes malades.

II.2.2.2-Isolement et purification des bactéries émergentes des fragments présentant des symptômes

Les explants malades sont prélevés et mis dans des bocaux contenant de l'eau distillée stérile. Ils sont ensuite désinfectés pendant 30 secondes dans un bocal contenant de l'hypochlorite de sodium à 1%. Après, ils sont rincés trois fois à l'eau distillée stérile puis découpés en petits morceaux à l'aide de ciseaux stériles. Puis, les morceaux sont déposés sur un milieu d'isolement (NA) contenant un antifongique (Nystatine) à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées en position inversée à température ambiante pendant 24 à 72 h. L'isolement se fait sous hotte à flux laminaire dans un rayon de 15 cm autour de la flamme du bec bunsen. Les isolats obtenus sont purifiés et identifiés de la même manière que les bactéries isolées dans la première partie du travail.

II.3- COMPARAISON DES SOUCHES BACTERIENNES DES SEMENCES ET CELLES DES PLANTULES

Le but de cette étape est de comparer les souches bactériennes isolées des semences et celles isolées des explants malades.

II.3.1- Principe

Les bactéries sont des microorganismes qui se différencient par la composition de leur paroi : les bactéries à gram positif ont une couche de peptidoglycane épaisse, tandis que les bactéries à gram négatif ont une couche de peptidoglycane mince et sont les plus virulentes pour les plantes. Ces bactéries sont capables de survivre dans les semences et peuvent affecter ainsi la culture. Toutefois, elles peuvent aussi survivre dans le sol de culture et pénétrer à l'intérieur de la plante (soit par les stomates, les ouvertures naturelles des feuilles permettant les échanges gazeux indispensables à la photosynthèse, soit par des plaies ou des fissures dans les écorces) pour devenir pathogènes. Ces sont des bactéries phytopathogènes.

II.3.2- Mode opératoire

II.3.2.1- Ré-isolement des bactéries

Les bactéries à étudier sont d'abord repiquées sur un nouveau milieu de culture favorable à leur croissance à l'aide d'une anse préalablement stérilisée à la flamme du bec Bunsen sous hotte à flux laminaire. Les boîtes sont ensuite incubées pendant 24 à 48 h à température ambiante.

II.3.2.2- Identification

Après leur incubation, les bactéries ré-isolées sont identifiées de la même manière que les bactéries isolées dans la première partie de notre travail.

TROISIEME PARTIE :
RESULTATS ET
INTERPRETATIONS

Dans cette partie sont exposés les résultats :

- des différentes bactéries isolées des trois semences (Fofifa X263, Fofifa X265 et Vary Laniera) utilisées lors de l'expérience ainsi que leurs caractères morphologiques et le résultat de la réaction de Gram au KOH 3% ;
- des différentes bactéries isolées des plantules ainsi que leurs caractères morphologiques et les résultats de la réaction de Gram au KOH 3%, le taux de germination des graines, la longueur de la racine séminale et la longueur de la feuille après 7 jours de germination ;
- de la comparaison des bactéries isolées des semences et des plantules.

I- BACTERIES ISOLEES DES SEMENCES

I.1- Expression des résultats

Les souches pures obtenues des bactéries sont codées comme suit :

- pour Vary Laniera : VL₁, VL₂, VL₃, ...
- pour Fofifa X265 : X265₁, X265₂, X265₃, ...
- pour Fofifa X263 : X263₁, X263₂, X263₃, ...

I.2- Nombre de souches bactériennes purifiées

Après la purification des colonies bactériennes qui ont poussé sur le milieu d'isolement :

- Vary Laniera : 14 souches bactériennes purifiées
- Fofifa X265 : 7 souches bactériennes purifiées
- Fofifa X263 : 6 souches bactériennes purifiées

I.3- Caractères morphologiques des colonies bactériennes pures

Les caractères morphologiques ont permis de caractériser les souches bactériennes pures. Les résultats sont consignés dans les tableaux 2 à 4.

Tableau 2 : Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des graines de la semence VL

Caractères morphologiques des colonies bactériennes								
Code des bactéries	Taille	Forme	Couleur	Contour	Relief	Aspect	Consistance	Transparence
VL ₁	Grande	Arrondie	Marron plus foncé au milieu	Irrégulier	Semi-bombé	Rugueux	Grasse	Opaque
VL ₂	Moyenne	Arrondie	Marron	Régulier	Bombé	Rugueux	Grasse	Semi-translucide
VL ₃	Grande	Arrondie	Blanchâtre	Irrégulier	Plate	Rugueux	Grasse	Semi-translucide
VL ₄	Moyenne	Arrondie	Jaune	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
VL ₅	Moyenne	Arrondie	Blanchâtre	Irrégulier	Plate	Rugueux	Grasse	Translucide
VL ₆	Petite	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
VL ₇	Moyenne	Arrondie	Blanchâtre	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
VL ₈	Moyenne	Arrondie	Blanchâtre	Irrégulier	Plate	Rugueux	Grasse	Semi-translucide
VL ₉	Grande	Arrondie	Blanchâtre	Irrégulier	Plate	Rugueux	Grasse	Semi-translucide
VL ₁₀	Moyenne	Ovoïde	Jaune plus foncé au milieu	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
VL ₁₁	Moyenne	Arrondie	Jaune	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
VL ₁₂	Moyenne	Arrondie	Marron	Irrégulier	Semi-bombé	Rugueux	Grasse	Semi-translucide
VL ₁₃	Moyenne	Ovoïde	Claire	Régulier	Semi-bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
VL ₁₄	Petite	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide

Tableau 3: Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des graines de la semence Fofifa X265

Caractères morphologiques des colonies bactériennes								
Code des bactéries	Taille	Forme	Couleur	Contour	Relief	Aspect	Consistance	Transparence
X265 ₁	Moyenne	Arrondie	Blanchâtre	Irrégulier	Semi-bombé	Rugueux	Grasse	Semi-translucide
X265 ₂	Petite	Arrondie	Jaune	Régulier	Semi-bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X265 ₃	Moyenne	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X265 ₄	Moyenne	Ovoïde	Jaune claire	Régulier	Semi-bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X265 ₅	Moyenne	Arrondie	Jaune	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X265 ₆	Grande	Arrondie	Blanchâtre	Irrégulier	Plate	Rugueux	Grasse	Semi-translucide
X265 ₇	Moyenne	Arrondie	Jaune	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide

Tableau 4: Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées chez les graines de la semence Fofifa X263

Caractères morphologiques des colonies bactériennes								
Code des bactéries	Taille	Forme	Couleur	Contour	Relief	Aspect	Consistance	Transparence
X263 ₁	Petite	Arrondie	Blanchâtre	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
X263 ₂	moyenne	arrondie	Jaune claire plus foncé au milieu	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
X263 ₃	Moyenne	Arrondie	Blanchâtre	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
X263 ₄	Moyenne	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X263 ₅	Petite	Arrondie	Jaune	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
X263 ₆	Moyenne	Arrondie	Blanchâtre	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide

I.4- Résultats de la réaction de Gram avec une solution de KOH 3% et du test à l'état frais

Cette réaction a permis de caractériser les souches bactériennes isolées chez les trois semences étudiées lors de l'expérience. Les résultats sont décrits dans les tableaux 5 à 7.

Tableau 5: Données microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées des graines de la semence VL.

Code des bactéries	Forme	Mode de groupement	Mobilité	Réaction de Gram
VL ₁	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram +
VL ₂	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
VL ₃	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
VL ₄	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
VL ₅	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
VL ₆	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
VL ₇	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
VL ₈	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
VL ₉	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
VL ₁₀	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
VL ₁₁	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
VL ₁₂	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
VL ₁₃	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
VL ₁₄	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +

Tableau 6: Données microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées des graines de la semence Fofifa X265

Code des bactéries	Forme	Mode de groupement	Mobilité	Réaction de Gram
X265 ₁	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
X265 ₂	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
X265 ₃	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram -
X265 ₄	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
X265 ₅	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
X265 ₆	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
X265 ₇	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +

Tableau 7 : Données microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées des graines de la semence Fofifa X263

Code des Bactéries	Forme	Mode de groupement	Mobilité	Réaction de Gram
X263 ₁	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
X263 ₂	Cocci	Isolé	Immobile	Gram -
X263 ₃	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
X263 ₄	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
X263 ₅	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
X263 ₆	Bacille	Diploïde	Mobile	Gram +

II- ETUDES DES BACTERIES PRESENTES CHEZ LES PLANTULES MALADES

II.1- Etude de la croissance des plantules

La croissance des plantules de riz (VL, Fofifa X265 et Fofifa X263) avant leur repiquage dans les bacs de culture est analysée suivant les paramètres ci-après :

II.1.1- Taux de germination des graines

- Après 24h d'incubation, le nombre des graines qui ont germé a été compté (Annexe VI). Les taux de germination des graines des échantillons des graines de chaque semence varient entre $22\% \pm 1,87$ à $33\% \pm 1,15$ (Tableau 8).

Tableau 8: Taux de germination des graines de chaque semence après 24h d'incubation

Semences utilisées	Taux de germination en (%) après 24 h
VL	$22 \pm 1,87$
Fofifa X265	$29 \pm 1,91$
Fofifa X263	$33 \pm 1,15$

Taux de germination \pm écart-type

- Après 48h d'incubation, le nombre des graines qui a germé pour chaque échantillon des semences a été aussi compté (Annexe VI) et les taux de germination de chaque semence ont été évalués à plus de 50% sauf pour la semence VL avec un taux de germination de $48\% \pm 2,09$ (Tableau 9).

Tableau 9 : Taux de germination des graines de chaque semence après 48h d'incubation

Semences utilisées	Taux de germination en (%) après 48 h
VL	$48 \pm 2,09$
Fofifa X265	$54 \pm 2,27$
Fofifa X263	$59 \pm 1,66$

Taux de germination \pm écart-type

- Après avoir compté le nombre des échantillons des graines qui a germé de chaque semence au bout de 72h d'incubation (Annexe VI), la majorité des graines a germé. Les taux de germination varient entre $68\% \pm 0,86$ à $99\% \pm 0,31$ (Tableau 10).

Tableau 10: Taux de germination des graines de chaque semence après 72 h d'incubation

Semences utilisées	Taux de germination en (%) après 72 h
VL	$84 \pm 0,82$
Fofifa X265	$68 \pm 0,86$
Fofifa X263	$99 \pm 0,31$

Taux de germination \pm écart-type

II.1.2- Longueur de la racine séminale et de la feuille secondaire des plantules après 7 jours de germination

Après 7 jours de germination, les plantules issues des graines des trois semences sont constituées de racines séminales, de feuille primaire et la feuille secondaire est apparue.

II.1.2.1- Longueur de la racine séminale

Elle varie de $5,2 \text{ cm} \pm 1,21$ à $7 \text{ cm} \pm 1,01$ selon les semences (Tableau 11).

Tableau 11: Résultats de la mesure de la racine séminale des plantules après 7 jours de germination

Echantillon de semence	Longueur de la racine séminale après 7 jours de germination (cm)
VL	$5,2^a \pm 1,21$
Fofifa X265	$5,35^a \pm 1,57$
Fofifa X263	$7^c \pm 1,01$

❖ Moyenne \pm écart-type

❖ Les chiffres avec les mêmes lettres en exposant dans chaque colonne sont statistiquement identiques.

Après analyse statistique, une différence significative de la longueur de la racine séminale des plantules de 7 jours est enregistrée au seuil de 5 %.

Les plantules issues de la semence Fofifa X263 ont donné des racines séminales plus longues par rapport aux deux autres.

Par ailleurs, les longueurs de la racine séminale des plantules issues des semences Fofifa X265 et VL sont statistiquement identiques.

II.1.2.2- Longueur de la feuille secondaire

Elle varie de 6,79 cm \pm 1,33 à 10 cm \pm 1,11 selon les semences (Tableau 12).

Tableau 12 : Résultats de la mesure de la feuille secondaire des plantules après 7 jours de germination

Echantillon de semence	Longueur de la feuille secondaire après 7 jours de germination (cm)
VL	6,79 ^a \pm 1,33
Fofifa X265	6,86 ^a \pm 1,45
Fofifa X263	10 ^d \pm 1,11

❖ Moyenne \pm écart-type

❖ Les chiffres avec les mêmes lettres en exposant dans chaque colonne sont statistiquement identiques.

Après l'analyse statistique, une différence significative dans les longueurs de la feuille secondaire des plantules âgées de 7 jours de germination est enregistrée au seuil de 5 %.

Les graines issues de la semence Fofifa X263 ont donné des plantules ayant une feuille secondaire beaucoup plus longue que celles des Fofifa X265 et VL.

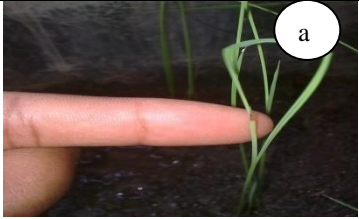



En revanche, les plantules des graines de Fofifa X265 et VL ont donné des feuilles secondaires plus courtes et sont statistiquement identiques.

II.2- Etude des bactéries présentes chez les plantules après l'apparition des symptômes.

II.2.1- Description des symptômes

Le tableau 13 décrit les symptômes observés tout au long de l'expérience.

Tableau 13 : Les différents symptômes observés

Echantillons	Schéma des symptômes	Description
Vary Laniera		Après 2 semaines sous serre, quelques extrémités des feuilles les plus externes deviennent jaunes ou rouges avec une forme ovale.
		Tache ovale rouge brique au niveau de la moitié de quelques jeunes feuilles et qui s'étend de bas en haut de la feuille. La feuille se fane après.
Fofifa X265		Les feuilles se fanent à partir de leur extrémité et, après quelques jours entraîne la mort de la plante entière.
Fofifa X263		Une tache jaune ovale apparaît à la base de quelques tiges entraînant la mort de la plante après quelques semaines.

II.2.2- Taux d'apparition des symptômes des maladies

Les taux d'apparition des symptômes chez les plantules varient en fonction de la semence utilisée. Les résultats sont donnés dans le tableau 14 et les figures 18 à 20.

Tableau 14 : Résultats du taux d'infestation des plantules durant 2 mois de culture

		Taux d'infestation des plantules en (%)							
Semences	Symptômes	1 ^{ère} semaine	2 ^{ème} semaine	3 ^{ème} semaine	4 ^{ème} semaine	5 ^{ème} semaine	6 ^{ème} semaine	7 ^{ème} semaine	8 ^{ème} semaine
VL	<i>a</i>	0	2	4,3	5,1	5,3	9,2	12,3	15
	<i>b</i>	0	0	0	0	1,2	1,2	1,3	2,5
	<i>c</i>	0	0	0	0	0	0	2	2
Fofifa X265	<i>a</i>	0	3,5	3,5	3,9	6,7	8,5	10,2	13,4
	<i>c</i>	0	0	0	0	0	0	1	1
Fofifa X263	<i>a</i>	0	0	0	2,5	3	3,5	4	4,2
	<i>c</i>	0	0	0	0	0	0	0,5	1
	<i>d</i>	0	0	0	0	0	0	1,2	3

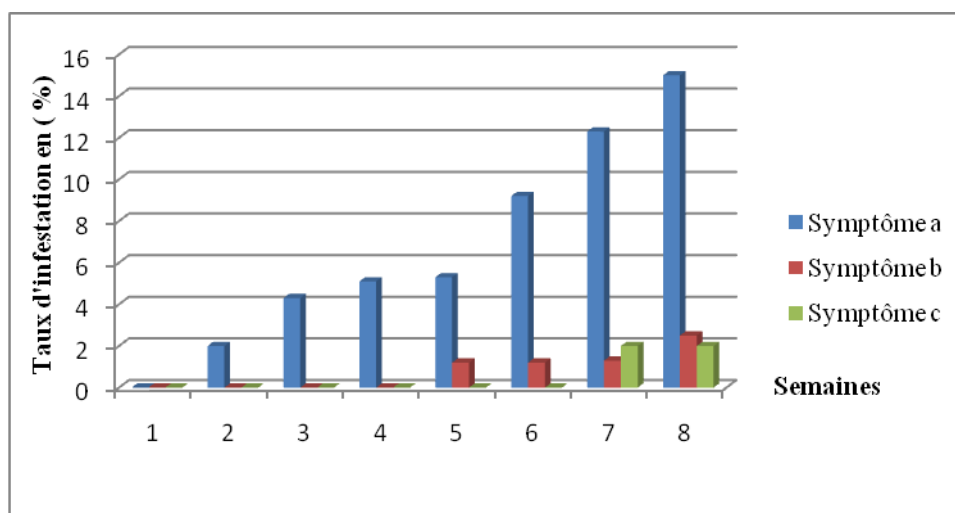


Figure 18 : Taux d'infestation des plantules issues de la semence VL

Pour les plantules issues de la semence VL, le taux d'apparition du symptôme *a* est passé de 2% en deux semaines à 15% au bout de 8 semaines. Par contre, le symptôme *b* est apparu à la cinquième semaine avec un taux allant de 1,2 à 2,5% à la huitième semaine. Le symptôme *c* n'apparaît qu'à partir de la septième semaine sur une ou deux plantules avec un taux de 2%.

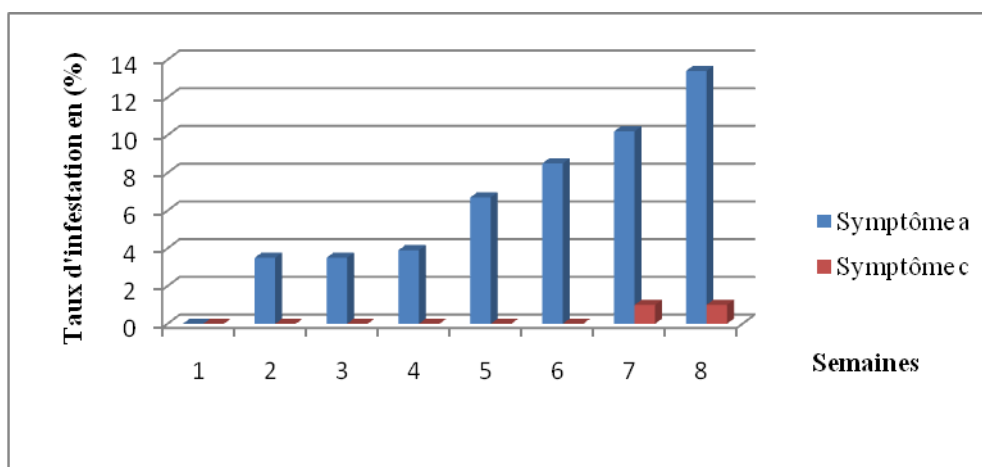


Figure 19 : Taux d'infestation des plantules issues de la semence Fofifa X265

En revanche, pour les plantules issues de la semence Fofifa X265, l'apparition du symptôme *a* va respectivement de 3,5% et 13% de la deuxième à la huitième semaine. Le symptôme *c* n'apparaît que sur une ou deux plantules de la semence Fofifa X265 au bout de la 7^{ème} avec un taux d'infestation constant de 1% jusqu'à la huitième semaine.

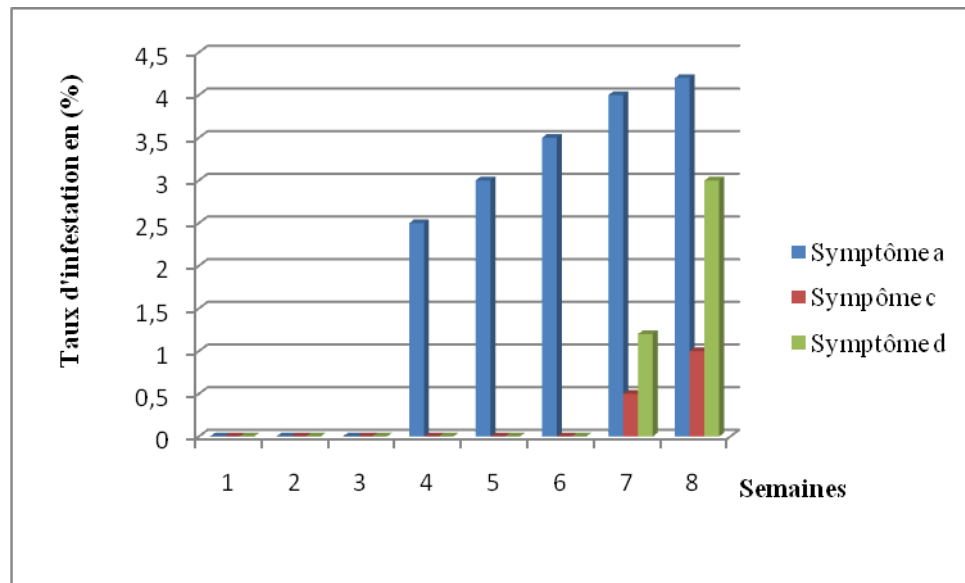


Figure 20 : Taux d’infestation des plantules issues de la semence Fofifa X263

Par ailleurs, le symptôme *a* ne commence à apparaître sur les plantules issues de la semence Fofifa X263 qu’au bout de la 4^{ème} semaine et le taux d’infestation est d’environ de 4,2% après 8 semaines. Le symptôme *c* est apparu à la 7^{ème} semaine sur les plantules de la semence X263 avec un taux d’infestation de 0,5% et 1% après 8 semaines. Le symptôme *d* n’est observé que sur les tiges des plantules issues de la semence Fofifa X263.

II.2.3- Bactéries isolées des explants malades

II.2.3.1- Expression des résultats

Les souches pures obtenues des bactéries sont codées comme suit :

- pour Vary Laniera : VLa₁, VLb₁, VLe₁, ...
- pour Fofifa X265 : X265a₁, X265c₁, ...
- pour Fofifa X263 : X263a₁, X263b₁, X263d₁, ...

II.2.3.2- Nombre de colonies bactériennes purifiées

Les nombres de colonies bactériennes obtenues après purification sont représentés dans le tableau 15.

Tableau 15: Bactéries isolées des plantules présentant des symptômes

Symptômes	Nombre de colonies bactériennes purifiées		
	VL	Fofifa X265	Fofifa X263
a	5	5	2
b	2	-	-
c	2	3	1
d	-	-	2
Total	9	8	5

II.2.3.3- Caractères morphologiques des colonies bactériennes pures

Les caractères morphologiques ont permis de caractériser les souches bactériennes pures. Les résultats sont représentés dans les tableaux 16 à 19.

Tableau 16: Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des plantules présentant le symptôme *a*

Caractères morphologiques des colonies bactériennes								
Code des Bactéries	Taille	Forme	Couleur	Contour	Relief	Aspect	Consistance	Transparence
VL _{a1}	Grande	Arrondie	Marron plus foncé au milieu	Irrégulier	Semi-bombé	Rugueux	Grasse	Opaque
VL _{a2}	Grande	Arrondie	Blanchâtre	Irrégulier	Plate	Grasse	Rugueux	Semi-translucide
VL _{a3}	Grande	Ovoïde	Blanchâtre	Régulier	Bombé	Grasse	Rugueux	Translucide
VL _{a4}	Petite	Arrondie	Jaune	Régulier	Semi-bombé	Lisse	Crémeux	Opaque
VL _{a5}	Moyenne	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X265 _{a1}	moyenne	Arrondie	claire	irrégulier	semi-bombé	lisse	crémeux	Translucide
X265 _{a2}	Petite	Arrondie	Blanchâtre	Irrégulier	Plate	Grasse	Rugueux	Semi-translucide
X265 _{a3}	Moyenne	Ovoïde	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X265 _{a4}	Petite	Arrondie	Blanchâtre	Régulier	Plate	Grasse	Rugueux	Semi-translucide
X265 _{a5}	Moyenne	Arrondie	Claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X263 _{a1}	Grande	Ovoïde	Marron	Irrégulier	Plate	Grasse	Rugueux	Semi- translucide
X263 _{a2}	Moyenne	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide

Tableau 17: Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des plantules présentant le symptôme *b*

Caractères morphologiques des colonies bactériennes								
Code des bactéries	Taille	Forme	Couleur	Contour	Relief	Aspect	Consistance	Transparence
VLb ₁	Petite	Arrondie	Jaune	Régulier	Semi-bombé	Lisse	Crémeux	Opaque
VLb ₂	Grande	Ovoïde	Blanchâtre	Irrégulier	Plate	Grasse	Rugueux	Semi-translucide

Tableau 18: Caractères morphologiques des colonies bactériennes isolées des plantules présentant le symptôme *c*

Caractères morphologiques des colonies bactériennes								
Code des bactéries	Taille	Forme	Couleur	Contour	Relief	Aspect	Consistance	Transparence
VLc ₁	Moyenne	Arrondie	Blanchâtre	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
VLc ₂	Petite	Arrondie	Jaune	Régulier	Semi-bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X265c ₁	Grande	Ovoïde	Blanchâtre	Irrégulier	Plate	Grasse	Rugueux	Semi-translucide
X265c ₂	Petite	Ovoïde	Claire	Irrégulier	Plate	Lisse	Crémeux	Translucide
X265c ₃	Moyenne	Arrondie	Claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X263c ₁	Petite	Ovoïde	Claire	Irrégulier	Plate	Lisse	Crémeux	Translucide

Tableau 19: Caractères morphologiques des souches bactériennes isolées des plantules présentant le symptôme *d*

Caractères morphologiques des souches bactériennes								
Code des bactéries	Taille	Forme	Couleur	Contour	Relief	Aspect	Consistance	Transparence
X263d ₁	Grande	Ovoïde	Blanchâtre	Irrégulier	Semi-bombé	Grasse	Rugueux	Semi-translucide
X263d ₂	Petite	Arrondie	Marron plus foncé au milieu	Irrégulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide

II.2.3.4. Résultats de la réaction de Gram avec une solution de KOH 3% et du test à l'état frais

Cette réaction a permis de caractériser les souches bactériennes isolées à partir des différents symptômes observés.

Les résultats sont consignés dans les tableaux 20 à 23.

Tableau 20 : Caractères microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées du symptôme *a*

Code des bactéries	Forme	Mode de groupement	Mobilité	Réaction de Gram
VLa₁	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram +
VLa₂	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
VLa₃	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
VLa₄	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
VLa₅	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram-
X265a₁	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
X265a₂	Cocobacille	Diploïde	Immobile	Gram +
X265a₃	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram -
X265a₄	bacille	Isolé	Immobile	Gram +
X265a₅	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
X263a₁	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
X263a₂	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -

Tableau 21 : Caractères microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées du symptôme *b*

Code des bactéries	Forme	Mode de groupement	Mobilité	Réaction de Gram
X265b ₁	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram +
X265b ₂	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -

Tableau 22 : Caractères microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées du symptôme *c*

Code des bactéries	Forme	Mode de groupement	Mobilité	Réaction de Gram
VLc ₁	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
VLc ₂	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
X265c ₁	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram +
X265c ₂	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
X265c ₃	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
X263c ₁	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -

Tableau 23 : Caractères microscopiques et résultats de la réaction de Gram des bactéries isolées du symptôme *d*

Code des bactéries	Forme	Mode de groupement	Mobilité	Réaction de gram
X263d ₁	Cocobacille	Immobile	Diploïde	Gram +
X263d ₂	Bacille	Mobile	Isolé	Gram +

III- COMPARAISON DES BACTERIES ISOLEES DES GRAINES ET CELLES ISOLEES DES PLANTULES

III.1- Liste des bactéries à étudier et à comparer

Sept bactéries isolées des parties malades des plantes, après la germination des semences, ressemblent à celles isolées des graines pour tous les caractères de comparaison (Tableau 24).

Tableau 24 : Colonies bactériennes identiques entre les souches isolées des semences et des plantules.

Symptômes	Codes des bactéries isolées des plantules	Code des bactéries similaires isolées des semences
a	VLa ₁	VL ₁
	VLa ₄	VL ₆
	X265a ₃	X265 ₃
	X263a ₂	X263 ₄
c	VLC ₁	VL ₇
	VLC ₂	VL ₁₀
	X265c ₂	X265 ₂

III.2- Caractères morphologiques des colonies bactériennes pures à comparer

Les caractères morphologiques des colonies bactériennes ont permis de caractériser et de comparer les différentes souches isolées. Les résultats sont consignés dans les tableaux 25 et 26.

Tableau 25 : Les différents caractères morphologiques des colonies bactériennes purifiées des plantules présentant des symptômes

Caractères morphologiques des colonies bactériennes								
Code des bactéries	Taille	Forme	Couleur	Contour	Relief	Aspect	Consistance	Transparence
VLa ₁	Grande	Arrondie	Marron plus foncé au milieu	Irrégulier	Semi-bombé	Rugueux	Grasse	Opaque
VLa ₄	Petite	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X265a ₃	Moyenne	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X263a ₂	Moyenne	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
VLe ₁	Moyenne	Arrondie	Blanchâtre	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
VLe ₂	Moyenne	Ovoïde	Jaune claire plus foncé au milieu	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
X265c ₂	Petite	Arrondie	Jaune	Régulier	Semi-bombé	Lisse	Crémeux	Translucide

Tableau 26 : Les différents caractères morphologiques des colonies bactériennes purifiées des semences.

Caractères morphologiques des colonies bactériennes								
Code des bactéries	Taille	Forme	Couleur	Contour	Relief	Aspect	Consistance	Transparence
VL ₁	Grande	Arrondie	Marron plus foncé au milieu	Irrégulier	Semi-bombé	Rugueux	Grasse	Opaque
VL ₆	Petite	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
VL ₇	Moyenne	Arrondie	blanchâtre	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi-translucide
VL ₁₀	Moyenne	Ovoïde	Jaune claire plus foncé au milieu	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Semi- translucide
X265 ₃	Moyenne	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X265 ₂	Petite	Arrondie	Jaune	Régulier	Semi-bombé	Lisse	Crémeux	Translucide
X263 ₄	Moyenne	Arrondie	Jaune claire	Régulier	Semi-bombé	Lisse	Crémeux	Translucide

III.3- Caractères microscopiques des bactéries étudiées

Après comparaison (suivant les caractères de comparaison : caractères morphologiques, test à l'état frais et réaction de Gram au KOH 3% des bactéries isolées de ces semences et celles isolées des explants malades), 7 bactéries isolées des plantules ressemblent pour tous les critères de comparaison à celles isolées des graines. Leurs caractères microscopiques et leurs résultats de réaction de Gram sont décrits dans les tableaux 27 et 28 et la figure 21.

Tableau 27 : Résultats du test à l'état frais et de la réaction de Gram des bactéries isolées des plantules.

Code des bactéries	Forme	Mode de groupement	Mobilité	Réaction de Gram
VLa ₁	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram +
VLa ₄	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
X265a ₃	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram -
X263a ₂	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
VLC ₁	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
VLC ₂	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
X265c ₂	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +

Tableau 28 : Résultats du test à l'état frais et de la réaction de Gram des bactéries isolées des semences.

Code des bactéries	Forme	Mode de groupement	Mobilité	Réaction de gram
VL ₁	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram +
VL ₆	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
VL ₇	Bacille	Isolé	Mobile	Gram +
VL ₁₀	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -
X265 ₂	Bacille	Diploïde	Immobile	Gram +
X265 ₃	Cocci	Diploïde	Immobile	Gram -
X263 ₄	Cocci	Isolé	Mobile	Gram -



VLa₁ / VL₁



VLa₄ / VL₆



X265a₃ / X265₃



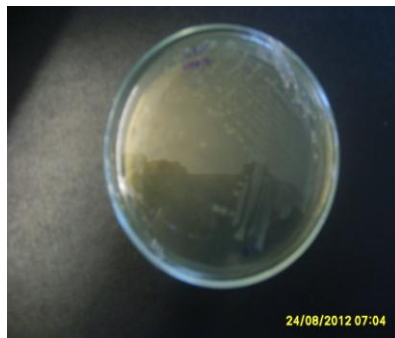
X263a₂ / X263₄



VLC₁ / VL₇



VLC₂ / VL₁₀



X265c₂ / X265₂

Figure 21 : Photo des 7 bactéries identiques des plantules malades et des semences

QUATRIEME PARTIE :
DISCUSSIONS

Les discussions porteront successivement sur :

- les résultats de l'isolement des bactéries chez les semences (VL, Fofifa X265 et Fofifa X263) ;
- les résultats de l'isolement des bactéries à partir des symptômes observés tout au long de l'expérience et les résultats de la germination ;
- les résultats de la comparaison des bactéries isolées des semences et des bactéries isolées des explants malades.

Après l'isolement des bactéries des échantillons des semences, 27 bactéries ont été purifiées dont 14 proviennent de la semence VL, 7 de la semence Fofifa X265 et 6 de la semence Fofifa X263. Le choix de ce travail repose spécifiquement sur les bactéries car ce sont les microorganismes les plus difficiles à contrôler. En plus, les méthodes ou techniques pour lutter contre elles sont très rares à cause de leur capacité à développer une résistance aux produits chimiques et que peu de produits phytosanitaires sont présents sur le marché. Par ailleurs, il a été prouvé que la méthode traditionnelle des fermiers du nord-est du Japon pour assurer la stérilisation des graines, par immersion dans l'eau chaude à 60°C pendant 5 minutes, est d'une réelle efficacité. La preuve scientifique a d'ores et déjà été fournie par les techniciens et les chercheurs pour la désinfection physique des graines. Cependant il reste quelques points à éclaircir. Plusieurs expériences ont donc été poursuivies au Centre International de Tsukuba pour vérifier à la fois l'efficacité de la sélection par le poids spécifique et l'influence, sur la germination, de la durée et de la température d'immersion. La sélection par poids spécifique, ainsi que le traitement des graines de riz par immersion pendant 5 minutes dans une eau chauffée à 60°C se sont révélés être particulièrement efficaces pour désinfecter les graines et ainsi prévenir les maladies transmises par les graines [KANAGAYA, 1993].

Le résultat de l'isolement des bactéries des semences nous a permis de constater que les échantillons de graines des trois semences ont en commun quelques bactéries. Habituellement, les paysans stockent leurs semences dans un même local alors les bactéries présentes sur quelques graines peuvent se propager et infecter les semences saines.

Mais pour pouvoir se propager les bactéries ont besoin de facteurs exogènes, comme la manipulation des graines contaminées par les travailleurs, le contact avec des matériels contaminés, l'air et éclaboussures d'eau qui sont des moyens propices pour la dissémination des bactéries [LACROIX, 2000].

Les résultats ont montré que les taux de germination des graines de semence après 72h d'incubation sont de plus de 80% (VL : 84% et Fofifa X263 : 90%), sauf pour celui de Fofifa X265 avec un taux de germination de 64%.

A Madagascar, deux types de culture sont prédominants, la riziculture irriguée et la riziculture pluviale avec au moins deux récoltes par an. Pour souci de semence, bon nombre de producteurs conservent une partie de leur récolte de la campagne antérieure. Dans cette condition les agents phytopathogènes peuvent se maintenir pendant longtemps dans les graines et affectent ainsi le pouvoir germinatif [SOMDA et al, 2004]. La combinaison des effets des infections dues à des bactéries phytopatogènes et celles causées par certains champignons comme *Alternaria padwicki* et *Bipolaris oryzae* (données non publiées) serait à l'origine de faible taux de germination au dessous de 80 % [SOMDA et al 2004].

Au bout de 8 semaines de culture, 4 différents symptômes ont été observés sur l'ensemble des plantules, les symptômes *a* et *c* ont été observés chez les plantules issues des trois semences. Par contre, le symptôme *b* n'a affecté que les plantules issues de la semence Fofifa VL et le symptôme *d* n'est observé que sur les plantules issues de Fofifa X263. Le présent travail a pu mettre en évidence que le moment d'apparition des symptômes et le pourcentage d'infestation n'est pas la même pour chaque plantule issue des trois semences. Ces différences de comportement variétal vis-à-vis d'un même symptôme seraient liées aux caractéristiques intrinsèques à chaque variété (résistance ou sensibilité) [HORINO et al, 1981]. Une étude sur la démonstration de phénomène d'interaction différentielle entre les variétés de riz et vis-à-vis d'un même symptôme provoqué par une seule souche bactérienne a donné le même résultat [MEW et al, 1992].

Une autre étude menée au Nigéria sur une maladie bactérienne (flétrissement bactérien) a montré que les plantules issues des 10 échantillons de semences testés lors de l'expérience ont un taux d'infestation différent en fonction de la semence [BASSO et al, 2011].

Les plantules issues de la semence Fofifa X263 présentent un taux d'infestation le moins élevé par rapport aux plantules issues des autres semences. La semence Fofifa X263 peut être recommandée en riziculture de bas-fonds du Lemak'i Laniera. Mais une étude menée au Japon a montré qu'une variété de semence résistante au flétrissement bactérien est sévèrement affectée par une souche virulente quelques années après son introduction aux champs [EZUKA et SAKAGUCHI, 1978]. La semence Fofifa X263 pourrait être également être plus sensible plus tard si des mesures phytosanitaires et/ou agronomiques ne sont pas prises.

En effet, l'apparition de nouvelles souches de bactéries, grâce au phénomène de mutation génétique, peut rendre une variété résistance plus vulnérable [OUEDRAOGO et al, 2004]. Une autre étude a montré aussi qu'une réduction considérable de la sévérité d'une maladie bactérienne est produite par le mélange de génotypes de riz résistants et sensibles [AHMED et al, 1997]. Le croisement entre la semence Fofifa X263 et la semence Fofifa VL la semence la plus sensible pourrait être une solution pour réduire la sévérité des maladies bactériennes.

Les semences de riz certifiées comme les semences Fofifa X265 et Fofifa X263 sont théoriquement indemnes de pathologie, mais notre étude a pu établir que quelques bactéries isolées des semences ont été isolées également des explants malades. Donc, les bactéries phytopathogènes peuvent être transportées par les semences [SOMDA et al, 2004]. Au Québec, une étude a montré qu'un très faible taux de contamination de semence par une bactérie pathogène suffit à développer la maladie dans les champs [LACROIX, 2000]. Ainsi la présence de 1 à 5 graines infectées par des bactéries pathogènes, dans un lot de 10.000 graines, est suffisante pour assurer une forte incidence de la maladie au champ [LACROIX, 2000]. Les bactéries peuvent être introduites dans un champ par des semences ne présentant aucun symptôme de maladie. En effet, des semences produites sous des conditions non favorables à l'expression des symptômes (température non adéquate et humidité relative basse), peuvent contenir des quantités importantes de bactérie bien que leur apparence extérieure soit normale.

Un travail réalisé aux Danemark a rapporté que le sol et les résidus de culture représentent aussi une autre source d'inoculum [MORSTENSEN, 1997]. C'est la raison pour laquelle le sol devrait faire l'objet d'un traitement adapté avant la transplantation des plantules. De même, la technique traditionnelle de pépinière jusqu'à la transplantation est sujet à caution pour le développement d'une pathologie du riz.

CINQUIEME PARTIE :
CONCLUSION ET
PERSPECTIVES

Le riz est la denrée alimentaire la plus importante, voire même vitale, pour les malgaches et la production n'arrive pas à nourrir toute la population. Madagascar devrait trouver un moyen durable et efficace pour augmenter son rendement rizicole.

Comme tous les autres fléaux, les maladies du riz constituent un frein au développement de la riziculture. Ces maladies sont engendrées surtout par la propagation des bactéries dès la semence jusqu'à la récolte.

Notre étude nous a permis de constater que, les bactéries responsables de la maladie peuvent être présentes dans les semences utilisées même si elles sont certifiées et affectent ainsi la culture. Ceci pourrait être à l'origine de la diminution du rendement car ces bactéries peuvent entraîner la mort des jeunes plantules.

Les résultats obtenus nous ont montré aussi que le moment d'apparition et le taux d'infestation de la maladie sont différents en fonction de la semence utilisée. Une telle information est essentielle pour la gestion de la maladie si toutefois elle est basée sur l'utilisation de la résistance variétale qui s'avère être, pour l'instant, la méthode de lutte fiable pour les maladies bactériennes.

Ainsi, la sélection des graines représente une priorité pour améliorer sensiblement la production en riz. Malheureusement, l'importance de ce point est largement mésestimée dans les pays en voie de développement comme Madagascar.

Les résultats importants à retenir au bout de ce travail sont :

- la germination des graines et l'évolution des plantules sont différentes pour chacune des semences utilisées ;
- la semence certifiée Fofifa X263 semble être la semence à conseiller pour la culture car elle présente un taux de germination le plus élevé à 99 % et que ses plantules sont les moins infestées par les symptômes parmi les trois semences étudiées.

Notre travail de mémoire consiste à apporter une contribution à l'amélioration de la production rizicole à Madagascar. De ce fait, nous proposons pour la suite :

- une étude plus approfondie sur l'identification des bactéries qui pourraient être à l'origine de la maladie

- une vérification de la virulence de ces bactéries par la méthode du Postulat de Koch pour savoir laquelle est vraiment l'agent responsable des symptômes de la maladie
- un traitement ou un contrôle régulier des semences avant leur utilisation
- une sensibilisation des paysans et des producteurs sur l'existence des maladies dans leur culture
- L'incinération des produits et le traitement des sols des cultures infestées pour minimiser l'apparition et la propagation de la maladie étant donné qu'il n'existe pas encore, à notre connaissance, de remèdes efficaces contre les maladies bactériennes.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. ADRAO, 1995. Formation en production rizicole. Manuel du formateur. Sayce publishing, Royaume Uni. Pp. 300 – 305.
2. AGARWAL P. C., MORTENSEN C. N. et MATHUR S. R., 1994. Maladies du riz transmises par les semences et tests phytosanitaires. CTA, ADRAO. Pp. 90 - 95.
3. AHMED H. U., FINCH M. R., ALFONSO R. F. and MUNDI C. C., 1997. Epidemiological effect of gene deployment strategies on bacterial blight of rice. *Phytopathology*. Pp. 66 - 70.
4. AKOBUNDU O. J. and AGYAKWA C. W., 1989. Guide des adventices d'Afrique de l'Ouest. Institut International d'Agriculture Tropicale (IITA). Ibadan, Nigeria. Pp. 500 - 522.
5. ALLORGEL L., 2003. Plantes de Madagascar : Atlas. ULMER. Pp. 220 - 226.
6. ANDRIANTSIMALONA R.D., 2004. Les maladies du riz sur les hautes terres. Pp. 4 - 50.
7. ANGLADETTE A., 1996. Le riz. Presses Universitaires de France. Pp. 800 - 930.
8. ANNALE DU COLLOQUE APRIA, 1988. Le repérage précoce des maladies des plantes. Pp. 2 - 5.
9. ANNALE FAO, 2004. Le riz, c'est la vie. Année internationale du riz. Document AIR. Pp. 2 - 5.
10. ANONYME 1, 2002. Le riz au Burkina Faso. Production, commercialisation, consommation, recherche. Eurêka n° 41/42. Centre National de la recherche Scientifique et Technologique (CNRST). Ouagadougou, Burkina Faso. Pp. 60 - 77.
11. ARDALES E. Y., LEUNG H., VERA CRUZ C. M., MEW T. W., LEACH J. E. and NELSON R. J., 1996. Hierarchical analysis of spatial variation of the rice bacterial blight pathogen across diverse agro ecosystems in the Philippines. *Phytopathology*. Pp. 241-252.
12. AUDEBERT A., GAUNGOO A., ROQUES S.CARRARA A., MOURET J. C. et MARNOTTE P., 2000. Riz, Rizière, Culture. Centre de coopération International de la Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Montpellier France. Pp. 10 - 50.

13. BART M., RANDRIANARISOA J. C. et RANDRIANARISON L., 2003. Agriculture, pauvreté rurale et politiques économiques à Madagascar. Pp. 100 - 107.
14. BASSO A., ONASANYA A., ISSAKA S., SIDO A. Y., HAUGUI A., ADAM T. et SAADOU M., 2011. Le flétrissement bactérien du riz au Niger : diversité pathologique d'isolats collectés sur les paramètres irrigués. Institut National de la Recherche Agronomique du Niger (INRA) ; Unité de Pythopathologie du Centre du Riz pour l'Afrique (WARDA), Cotonou Benin ; Faculté d'Agronomie, Université Abdou Moumouni, Niamey, Niger. Pp. 1 - 5.
15. BENITO S., 1992. Le manuel du riziculteur, IRRI, 2^o édition. Pp. 100 - 219.
16. BORO F., 2002. Détection et caractérisation des bactéries phytopathogènes transmises par les semences du riz. Rapport de stage de technicien supérieur d'agriculture. Centre Agronomique Polyvalent de Matourkou (CAPIM), Burkina Faso. Pp. 30 - 37.
17. BRADBURY J. F., 1986. Guide to plant pathogenic bacteria. CAB international mycological institute. Pp 200 - 332.
18. BUNASOLS, 1994. Etude pédologique du périmètre irrigué de Bagré (Bagré Aval, Bief A et B) première tranche échelle 1/100000. Volume 1: rapport principal. Rapport technique N° 95. Burkina Faso. Pp. 50 - 76.
19. CHAUDHARY R. C., NANDA J. S. et TRAN D. V., 2003. Guide d'identification des contraintes de terrain à la production de riz. Commission international du riz et FAO Rome. Pp 70 - 73.
20. CIRAD – GRET, 2002. Mémento de l'agronome, Ministère des affaires étrangères, France. Pp. 1550 - 1691.
21. COURTOIS B., 1998. Une brève histoire d'amélioration génétique du riz. Cirad, UMR1096, TA40/03, 34398 Montpellier Cedex 5, France Pp. 5 – 10.
22. DABAT M. H. et FABRE P., 2000. Diagnostic et perspectives de la filière riz à Madagascar. Ministère de l'Agriculture. Pp. 10 – 30.
23. DEMBELE K., 2001. Criblage de variétés de riz vis-à-vis de la pyriculariose à l'ouest et au sud-ouest du Burkina Faso. Mémoire d'Ingénieur du Développement Rural. Université Polytechnique de Bobo-dioulasso (UPB). Institut du Développement Rural (IDR), Burkina Faso. Pp. 50 - 73.

24. DINGLE R. et VAN T. D., 2000. La riziculture de marais en Afrique : Manuel à l'usage des petits agriculteurs et des agents de vulgarisation. Pp. 100 - 300.
25. DOBELMAN J. P., 2000. Riziculture pratique - Riz irrigué - Agence de Coopération Culturelle et technique – Press Université de France. Pp. 30 - 50.
26. DUFOURNET R., 1965. Contribution à la connaissance et à l'amélioration de la riziculture malgache - Améliorations culturelles et rendements des rizières, IRAM. Pp. 201 - 205.
27. EZUKA A. et SAKAGUCHI S., 1978. Host – parasite relationship in bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. Rev Plant. Res, Japan. Pp. 90 - 120.
28. FEUGEAS Y., 1940. Le marché du riz pendant la période coloniale à Madagascar. Editions Elsevier Paris. Pp. 200 - 400.
29. GAYDOU E., 1995. La situation des corps gras alimentaires à Madagascar, Possibilité d'amélioration grâce à l'huile de son de riz, Ecole des Sciences Agronomiques d'Antananarivo, Département de l'Agriculture. Pp 20 - 40.
30. GEORGE N. A. Plant pathology, 4^o edition, 1997. Pp. 600 - 635.
31. GONZALEZ C., SZUREK B. H., ENNAJDAOUI M. C., SERE Y. and VERDIER V., 2005. Genetic and pathogenic characterisation of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* strains from West Africa- Poster presented at the French Phytopathology Society Congress, Toulouse, France. Pp. 40 -50.
32. GOTO M., 1990. Fundamentals of bacterial plant pathology, Academy press. Pp. 301-400.
33. HORINO O., MEW T. W., KHUSH G. S. and AZUKA A., 1981. Comparison of two differential systems for distinguishing pathogenic groups of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*. Annals of the Phytopathological Society of Japan. Pp. 1-714.
34. HUBERT P., 1970. Recueil de fiches techniques d'agriculture spéciale à l'usage des cycles agricoles de Madagascar: le riz. Agence du BDPA, Antananarivo. Pp. 251-258.
35. ILLY L., 1997. La place de la riziculture irriguée dans le système de production agricole au Burkina Faso. IN: Irrigated in the Sahel: prospects for sustainable development, ADRAO. Pp. 400 - 487.
36. JEANGUYOT M. Lutte contre la pyriculariose du riz, Mémoires et travaux de l'IRAT n° 2. Pp. 40 - 55.

37. KARAMAGE F. X., 2001. Etude de l'influence de la fertilisation phosphatée sur les attaques de la cécidomyie africaine du riz, ses parasitoïdes et les foreurs de tiges en riziculture irriguée. Mémoire d'Ingénieur du Développement Rural. Université Polytechnique de Bobo-dioulasso (UPB). Institut du Développement Rural (IDR), Burkina Faso. Pp. 65 - 80.
38. KANAGAYA H., 1993. 2ème Division de formation professionnelle, Centre International de Tsukuba (TBIC), Japan International Cooperation Agency (JICA) : Traitement des semences de riz en vue d'une riziculture à faible investissement. Pp. 2 - 5.
39. LACHARME M., 2001. Mémento Technique de Riziculture. Fascicule N°4, Ministère du Développement Rural et de l'Environnement. Pp. 2 - 5.
40. LACROIX M., 2000. Etude sur les bactéries phytopathogènes et leurs limites. Ministère de l'Agriculture et de l'alimentation au Québec. Pp. 1 - 10.
41. LEE K. S., RASABANDITH S., ANGELES, E. R. and KHUSH, G. S., 2003. Inheritance of resistance to bacterial blight in 21 cultivars of rice. *Phytopathology*. Pp. 147 - 152.
42. MARQUETTE J., 1970. 10 tonnes de paddy à l'hectare dans la plaine de Tananarive. Institut de Recherche Agronomique à Madagascar. Pp. 11 - 30.
43. MAYER J. Riziculture traditionnelle et améliorée, la Plante des Techniques Culturelles, 1969. Pp. 100 - 150.
44. MEW T. W., 1992. Compendium of Rice Diseases. American Phytopathological Society. Pp. 55 – 62.
45. MORTENSEN C. N., 1997. Seed-borne bacterial diseases. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries (DGISP). Thorvaldsensvej 57, DK-1871 Frederiksberg C, Copenhagen, Danemark. Pp. 90 - 115.
46. NACRO S., 1994. Analyse d'un système tritrophique: la cécidomyie du riz et ses parasitoïdes au Burkina Faso. Travaux Universitaires - Thèse nouveau doctorat. Pp. 100 - 118.
47. NEBIE B., 1995. Etude des facteurs agro-pédologiques déterminant la production du riz irrigué dans la vallée du KOU au Burkina Faso. Pp. 185 - 191.

48. NICOLA B., Cirad et ZOUNGRANA B., 2001. Bassins de production et de consommation des cultures vivrières en Afrique de l'Ouest et du Centre. Rapport provisoire. Pp. 200 - 250.
49. NOTTEGHEM J. L. et BAUDIN P., 1981. Principales maladies du riz en Afrique de l'Ouest. Liberia. Pp. 30 - 33.
50. OU S.H., 1985. Rice diseases, Commonwealth Mycological Institute. 2nd edition. Pp. 300 - 380.
51. OUEDRAOGO S. L., SOMDA I., BORO, F. et SERE, Y., 2004. Détection et caractérisation des bactéries phytopathogènes transmises par les semences du riz au Burkina Faso (ASIA.), Agronomie Africaine. Pp. 9-17.
52. RAKOTOARISOA J., 2004. Les systèmes de cultures rizicoles à Madagascar et les stratégies de la recherche pour l'intensification rizicole, in KAROKA, n° 22. Pp. 10 - 26.
53. RAKOTONANTOANDRO A., 1996. Evaluation de la résistance à la pyriculariose de variétés malgaches de riz. Rapport de stage ESSA Antananarivo. Pp. 4 - 7.
54. RAMAHANDRY A. F., 2003. Influence des conditions pédoclimatiques et de l'itinéraire cultural sur la phase végétative et l'élaboration du rendement des variétés de riz pluvial d'altitude: recherche d'adaptations spécifiques. Mémoire de fin d'étude ESSA Antananarivo. Pp. 98 - 116.
55. RASOANAIVO F. H., 2008. Etude des rhizobactéries d'*Oryza sativa*. Mémoire de fin d'étude en Biologie végétale. Université d'Antananarivo. Pp. 3 - 50.
56. RASOLOFO, RAZAFINDRAMAMBA et RALIARISON V., 1986. Les maladies des cultures à Madagascar, Division de pathologie végétale. Pp. 100 - 182.
57. RATSIMBA R. N. N., 2005. Etude de résistance des variétés du riz (*Oryza sativa*) à la pyriculariose. Rapport de stage en vue de l'obtention du Diplôme Universitaire de Technologie Agricole (D.U.T.A), Sciences Agricoles, Biotechnologie Agricole. Pp. 10 - 50.
58. ROBERT K. W. and PAMELA S. G., 1992. Foliar diseases: bacterial blight. Compendium of Rice Diseases, University of California, Davis. Pp. 10 - 15.
59. ROSSMAN A. Y., 1990. *Pyricularia grisea*, the correct name for the rice blast disease fungus, in Mycologia. Pp. 509 - 512.
60. SEGUY L., 1980. Quelques réflexions sur la résistance du riz à la pyriculariose. Pp. 20 - 33.

61. SERE Y. et NARCO S., 1992. Les problèmes phytosanitaires du riz au Burkina Faso : bilan des activités. INERA. Pp. 5 - 10.
62. SOMDA I., OUEDRAOGO S. L., DAKOUO D., MORTENSEN C. N., 2004. Prévalence d'*Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, agent des rayures bactériennes du riz dans les semences de base produites au Burkina Faso, Institut du Développement Rural, Université Polytechnique de Bobo-Dioulass. Pp. 5 – 10.
63. UPDR, 2003. Monographie de la région du Vakinankaratra. Pp 99 - 107.
64. VALES M. et RAZAFINDRAKOTO J., 1996. -Programme riz d'altitude.- Rapport d'activité de l'amélioration variétale du Programme Riz d'Altitude du Fofifa-Cirad à Madagascar. Pp 2 - 18.
65. VALLOIS P., 1996. Discours de la méthode du riz, Institut de promotion de la Nouvelle Riziculture. 2^o édition, Antananarivo. Pp 99 - 140.
66. VERGARA B. S. et ARRAUDEAU M., 1992. Manuel illustré de riziculture pluvial. 2^{ème} édition.- Philippines Pp 11 - 50.
67. WEBSTER R. K. and GUNNELL P.S., 1992. Foliar diseases. In: Compendium of rice diseases. Pp. 10 - 15.

WEBOGRAPHIE

- www.fao.org/docrep/003/T0751F/To751f08.htm, 02/05/12.
- www.inra.fr/hyp3/pgloss, 02/05/12.
- www.archive.org/stream/collectiondesouv03, 10/06/12.
- www.Cidst.mg, 15/06/12.
- www.ilo.cornell.edu/images/th3.2.pdf, 20/06/12.
- www.sciencesvietterre.free.fr/Dossiers/APOI/riz.htm, 23/06/12.
- www.tefisaina.org, 23/06/12.
- www.agriculture.gov.mg/pdf/ameliore.pdf, 24/06/12
- www.prota.org, 24/06/12.
- www.maep.gov.mg/filtecrizamel.htm, 28/06/12.
- www.agriculture.gov.mg/pdf/intensive.pdf, 29/06/12.
- www.maep.gov.mg/filtecrizpluv.htm, 29/06/12.
- www.ebeninois.com/file/50462, 30/06/12.
- www.afd.be/~plant-ch/riz/sexualit/ep-fl-riz.htm, 05/07/12.
- www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/fl-fr-riz.htm, 05/07/12.
- www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/veg-tal-riz.htm, 05/07/12.

www.afd.be/~plant-ch/riz/conaiss/gerrizhtm.htm, 05/07/12.

www.rizpanicule.htm, 10/07/12.

www.rizfruit.htm, 10/07/12.

www.rizsativa.htm, 10/07/12.

www.rizepillet.htm, 10/07/12.

ANNEXES

ANNEXE I: AUTRES MALADIES QUI PEUVENT AFFECTER LA RIZICULTURE

Source : www.futura-sciences.com

La pyriculariose

La pyriculariose (également connue sous le nom de pyriculariose foliaire), maladie du riz causée par le champignon *Magnaporthe grisea* (forme imparfaite: *Pyricularia grisea*) est en général la plus destructrice de toutes. Le champignon peut infester le plant de riz à tous les stades de développement. Dans sa forme la plus virulente, le champignon attaque la tige du riz au niveau des épis et provoque sa nécrose en empêchant la circulation des éléments nutritifs.



Titre : Pyriculariose

Source : [gembloux.ulg.ac.be](http://gembloux.ulg.ac.be/gembloux.ulg.ac.be)

L'helminthosporiose

L'helminthosporiose est causée par *Cochliobolus miyabeanus*, plus communément connu sous son autre nom scientifique *Helminthosporium oryzae*. Le champignon attaque les plants de riz à tous les stades de développement. Les symptômes de l'helminthosporiose sont le plus manifestes sur les feuilles et sur les glumes, mais peuvent également apparaître sur le coléoptile, la gaine foliaire et la panicule et rarement sur les racines des plantules. Les taches typiques sur les feuilles sont ovales, à peu près de la forme et de la taille d'une graine de sésame, brunâtres avec un centre gris ou blanchâtre lorsqu'elles sont pleinement développées. Elles sont relativement uniformes et régulièrement réparties sur la surface foliaire.



Titre : Helminthosporiose

Source : www.inra.fr

La brûlure pellicularienne

La brûlure pellicularienne du riz, causée par *Rhizoctonia solani* Kuhn. Elle attaque habituellement les plants de riz au stade tallage, produisant des taches ellipsoïdales ou ovoïdes gris verdâtre (d'environ 10 mm de long) sur les gaines foliaires. Des sclérotés se forment sur ou autour de ces endroits mais s'en détachent facilement. La taille et la couleur des taches, comme la formation des sclérotés, dépendent des conditions environnementales. Dans des conditions favorables ils se forment également sur les gaines foliaires des feuilles supérieures et sur les limbes des feuilles. Le limbe entier finit par devenir niellé, et la plupart des feuilles sont partiellement ou entièrement tuées. La formation et le remplissage des grains sont gravement touchés.



Titre : Brûlure pellicularienne

Source : www.inra.fr

Le tungro

La maladie causée par le virus du tungro limite. Elle est transmise par les cicadelles vertes du riz *Nephotettix virescens* et *N. nigropictus*. Ces cicadelles, les vecteurs, contractent le virus lorsqu'elles se nourrissent au niveau du phloème de plants de riz infestés, et le transmettent à des plants sains lorsqu'elles s'alimentent. Les feuilles des plantes touchées deviennent orange ou rouge brique, associé à une chlorose des feuilles nouvellement sorties. Les plants infestés sont considérablement rabougris et peuvent présenter un nombre réduit de talles. Ils peuvent ne pas porter de panicule. Si des panicules émergent, ils ont une longueur réduite et portent des épillets décolorés et pailleux

Le nanisme herbacé

Le nanisme herbacé est une maladie transmise par la cicadelle brune (*Nilaparvata lugens*). Lorsqu'elle est bien développée, les symptômes sur les plants malades s'expriment sous la forme d'un sévère rabougrissement, d'un tallage excessif et d'un port érigé. Les feuilles sont courtes, étroites, érigées, d'un vert pâle ou d'un jaune pâle et elles ont souvent de nombreuses petites taches marron foncé de forme variée qui peuvent former des marbrures. Les feuilles peuvent devenir vertes lors d'un apport adéquat d'engrais azoté. Selon l'âge du plant au moment de l'infestation, les pertes de rendement peuvent varier de zéro à la totalité de la récolte.

ANNEXE II : INSECTES RAVAGEURS COMMUNS INFESTANT LE RIZ A DIFFERENTS STADES DE CROISSANCE EN AFRIQUE ET EN ASIE

Source : www.fao.org/docrep/006/y2778f/y2778f04.htm

Delphacide brune du riz

La delphacide brune du riz, *Nilaparvata lugens* (Stål), est le plus grave des ravageurs du riz. A cause de sa spécificité d'hôte, de nombreux biotypes de Delphacide brune du riz se sont développés au cours du temps. La delphacide brune du riz cause des dégâts considérables par son alimentation directe puisqu'elle suce la sève et bouche le xylème et le phloème avec ses pièces buccales et avec les morceaux de tissus végétaux poussés à l'intérieur de ces vaisseaux durant son alimentation exploratoire.

Cicadelle à dos blanc

La cicadelle à dos blanc, *Sogatella furcifera* (Horváth). La cicadelle à dos blanc cause des dégâts considérables par son alimentation directe puisqu'elle suce la sève et bouche le xylème et le phloème avec ses pièces buccales et avec les morceaux de tissus végétaux poussés à l'intérieur de ces vaisseaux durant son alimentation exploratoire. L'alimentation directe peut conduire à un hopper burn (brûlure par les cicadelles). Fort heureusement, il n'a pas été signalé de cas de transmission de maladies virales par la cicadelle à dos blanc.

Cicadelle vert

Plusieurs espèces de cicadelle verte sont des ravageurs du riz, mais seulement trois ont une portée économique. *Nephotetix cincticeps* (Uhler), est un vecteur des virus du rabougrissement et de la jaunisse nanisante du riz. *Nephotetix virescens* (Distant), est un vecteur des virus de la jaunisse nanisante, du tungro, du *penyakit merah* et de la maladie de la feuille jaune-orange. *Nephotetix nigropictus*, est un vecteur connu des virus du rabougrissement du riz, de la jaunisse nanisante, du jaunissement transitoire, du tungro, de la maladie de la feuille jaune-orange et du rabougrissement à galles du riz.

Jasside du riz

La jasside du riz, *Recilia dorsalis* (Motschulsky), est une cicadelle connue non pas par les caractéristiques de ses dégâts mais plutôt par le dessin en zigzag que l'on peut distinguer sur les ailes des adultes. La jasside du riz n'est pas tellement connue pour les dégâts dus à la succion de la sève du plant, mais comme vecteur de sérieuses maladies virales dont le nanisme à galles, le tungro et la maladie de la feuille jaune-orangée.

Cécidomyie

La cécidomyie du riz, *Orseolia oryzae* (Wood-Mason), est un sérieux ravageur du riz. Le symptôme caractéristique de l'attaque est une longue galle tubulaire et creuse, couramment appelée une «pousse argentée», réponse à la sécrétion salivaire contenant du cécidogène qui déclenche la prolifération de cellules sur le lieu d'alimentation. La larve s'alimente sur le point de croissance de la talle, la transformant en une galle tubulaire. Les talles avec des pousses argentées ne produisent pas de panicule et sèchent. En outre, la cécidomyie provoque un tallage prolongé, une floraison retardée et réduit le nombre de talles portant des épillets ainsi que le poids de 1 000 grains et le rendement. L'existence de biotypes variés basés sur des réactions variétales différentielles est connue depuis un certain temps.

Foreur des tiges

Le foreur des tiges du riz appartient à l'ordre des lépidoptères, principalement aux familles des Pyralidae et des Noctuidae, et 35 pyrales appartenant à 12 genres, 10 espèces de noctuelles appartenant à 3 genres et 5 espèces de diopsides appartenant au genre *Diopsis* sont enregistrées comme foreurs des tiges du riz. Toutes les espèces, excepté le foreur rose qui dépose ses œufs entre la gaine foliaire et la tige. Les larves du premier stade intermédiaire s'alimentent sur la gaine. Au cours du second stade intermédiaire, elles forent la tige, où elles s'alimentent à l'intérieur du lumen. Le dommage causé par les foreurs est que le percement et l'alimentation initiaux, effectués par la larve dans la gaine foliaire, génèrent de larges zones longitudinales décolorées et blanchâtres sur les sites d'alimentation.

ANNEXE III: COMPOSITION CHIMIQUE DU RIZ

Tableaux de la composition du riz consommé à Madagascar
[sciencesvietterre.free.fr/Dossiers/APOI/riz.htm].

Riz paddy

Constituants essentiels (g)		Éléments minéraux (mg)		Valeur pour 100 g	
Eau	72,54	Sodium	4,00	452 kJ	
Protides	2,00	Potassium	120,00	Vitamines (mg)	
Lipides	0,10	Calcium	10,00	Vit.A	0,00
Glucides	24,10	Magnésium	28,00	Vit.B1	0,06
Bilan lipidique (g)		Chlore	6,00	Vit.B2	0,03
Cholestérol	0,00	Phosphore	180,00	Vit.PP	3,80
Ac.Gras Saturés	0,10	Soufre	106,00	Vit.C	0,00
Ac.gras Monoins.	0,00	Manganèse	1,00	Vit.D	0,00
Ac.Gras Polyins.	0,00	Fer	0,80	Protides Végétaux 2,00	
Cellulose	0,80	Cuivre	0,20	Protides Animaux 0,00	
Sucres lents (amidon):	19,00	Iode	0,00	Lipides Végétaux 0,10	
Sucres rapides:	5,10	Groupe d'aliments:	4	Lipides Animaux 0,00	
Alcool	0,00				

Riz décortiqué

Constituants essentiels (g)		Éléments minéraux (mg)		Valeur pour 100 g	
Eau	66,35	Sodium	6,00	566 kJ	
Protides	2,50	Potassium	200,00	Vitamines (mg)	
Lipides	0,80	Calcium	200,00	Vit.A	0,00
Glucides	28,70	Magnésium	136,00	Vit.B1	0,14
Bilan lipidique (g)		Chlore	0,00	Vit.B2	0,08
Cholestérol	0,00	Phosphore	303,00	Vit.PP	4,40
Ac.Gras Saturés	0,00	Soufre	0,00	Vit.C	0,00
Ac.gras Monoins.	0,00	Manganèse	0,00	Vit.D	0,00
Ac.Gras Polyins.	0,00	Fer	2,00	Protides Végétaux 2,50	
Cellulose	0,80	Cuivre	0,00	Protides Animaux 0,00	
Sucres lents (amidon):	19,00	Iode	0,00	Lipides Végétaux 0,80	
Sucres rapides:	9,70	Groupe d'aliments:	4	Lipides Animaux 0,00	
Alcool	0,00				

Riz blanchi

Constituants essentiels (g)		Éléments minéraux (mg)		Valeur pour 100 g	
Eau	4,35	Sodium	5,00	1627 kJ	
Protides	6,70	Potassium	106,00	Vitamines (mg)	
Lipides	0,60	Calcium	10,00	Vit.A	0,00
Glucides	86,70	Magnésium	30,00	Vit.B1	0,07
Bilan lipidique (g)		Chlore	0,00	Vit.B2	0,03
Cholestérol	0,00	Phosphore	100,00	Vit.PP	1,50
Ac.Gras Saturés	0,13	Soufre	0,00	Vit.C	0,00
Ac.gras Monoins.	0,15	Manganèse	0,00	Vit.D	0,00
Ac.Gras Polyins.	0,21	Fer	0,60	Protides Végétaux 6,70	
Cellulose	1,40	Cuivre	0,00	Protides Animaux 0,00	
Sucres lents (amidon):	86,70	Iode	0,00	Lipides Végétaux 0,60	
Sucres rapides:	0,00	Groupe d'aliments:	4	Lipides Animaux 0,00	
Alcool	0,00				

ANNEXE IV : MATERIELS UTILISES

Appareils et équipements

- Agitateur magnétique AG 450
- Autoclave SANYO
- Autoclave
- Bacs
- Balance de précision Sartorius
- Balance de précision Mettler AE 50
- Bec Bunsen TEC NO MARA
- Etuve Memmert
- Hotte à flux laminaire flufrance
- Incubateur NAPCO
- Incubateur SANYO
- Loupe binoculaire OLYMPUS
- Micropipette DRAGONMED
- Microscope OLYMPUS
- Plaque chauffante Electrothermal
- Sachet en plastique

Verreries

- Bocaux alimentaires
- Boîtes de Pétri 90 mm
- Eprouvette
- Erlen Meyer
- Pipette de 10 ml
- Tube à essai

Produits et solutions

- Agar
- Beef extract
- Cycloheximide
- Ethanol 90° et 70°
- KOH (Hydroxyde de potassium)
- NaCl (Chlorure de sodium)
- Peptone
- Yeast extract

ANNEXE V : COMPOSITION DU MILIEU DE CULTURE

N.A (Nutrient Agar)

Beef extract.....10g/l

Yeast extract.....5g/l

Peptone.....5g/l

NaCl.....5g/l

Agar20g/l

pH: 7.3 ± 0,2

ANNEXE VI : NOMBRE DES GRAINES QUI ONT GERME CHAQUE JOUR
PANDENT 72H D'INCUBATION

Tableau i : Nombre des graines qui a germé après 24h d'incubation

Semences	VL	X265	X263
Nombre des graines germé	110	145	165
Nombre des graines non germé	390	355	335
Total	500	500	500

Tableau ii : Nombre des graines qui ont germé après 48h d'incubation

Semences	VL	X265	X263
Nombre des graines germé	240	290	295
Nombre des graines non germé	260	210	205
Total	500	500	500

Tableau iii : Nombre des graines qui ont germé après 72 h d'incubation

Semences	VL	X265	X263
Nombre des graines germé	420	340	495
Nombre des graines non germé	70	150	5
Total	500	500	500