

## ***PRESENTATION DU PROJET GIPyri « Gestion Intégrée de la Pyriculariose du Riz pluvial sur les hautes terres de Madagascar ».***

### **Résumé :**

L'essor du riz pluvial sur les Hautes Terres de Madagascar est très récent. Il a été permis par la diffusion de variétés adaptées à l'altitude, développées par le programme d'amélioration génétique mené en partenariat par le CIRAD et le FOFIFA depuis 25 ans. Dans les nouvelles écologies conquises par la riziculture pluviale d'altitude la pression de pyriculariose est forte et le mode de culture pluvial est particulièrement favorable au développement de cette maladie. Il est indispensable, pour assurer la durabilité de la riziculture pluviale d'altitude, d'intégrer différentes stratégies de lutte contre la pyriculariose impliquant la sélection de nouvelles variétés, la mise au point de stratégies de déploiement des résistances disponibles au niveau des parcelles ou des terroirs ou encore la gestion agronomique des systèmes de culture. La diversification génétique au niveau des variétés ou des gènes de résistance peut être un outil pour contrôler la pyriculariose du riz (Wolfe, 1985 ; Leung et al. 2003). Des résultats spectaculaires ont été obtenus récemment à grande échelle dans le Yunnan (Chine) par l'utilisation de mélanges de différentes variétés de riz en culture irriguée (Zhu et al. 2000). L'objectif général du projet est d'explorer cette stratégie dans le contexte du riz pluvial des Hautes Terres de Madagascar. Nous nous baserons pour cela sur des essais préliminaires de mélanges variétaux réalisés par l'URP SCRiD en parcelles expérimentales qui ont eu de très bons résultats en termes de contrôle de la maladie. Pour une gestion optimum de la diversité des résistances disponibles, que ce soit pour la recombiner grâce au travail de sélection ou pour la déployer efficacement et durablement sur le terrain, il sera indispensable de caractériser ces résistances et parallèlement d'étudier la variabilité du pouvoir pathogène et la structure génétique des populations de *M. oryzae* (McDonald and Linde, 2002).

Ce projet se décline en trois volets : 1/ Caractérisation des populations de pyriculariose et des résistances du riz pluvial à la pyriculariose. 2/ Etude et optimisation des mélanges variétaux pour le contrôle des épidémies de pyriculariose. 3/ Déploiement en milieu paysan de variétés résistantes à la pyriculariose et validation de l'efficacité en conditions paysannes de certaines modalités de mélanges variétaux. Ce projet associe des partenaires de la Recherche (FOFIFA, CIRAD et INRA) et du Développement (FIFAMANOR et BVPI SE/HP) et a la volonté de proposer des solutions de lutte durable contre la pyriculariose, accessibles aux agriculteurs tout en investissant sur des travaux de recherche de portée mondiale.

### **Objectifs scientifiques :**

1/ Le programme de sélection du CIRAD-FOFIFA dispose de ressources génétiques importantes régulièrement enrichies par de nouvelles introductions qu'il est nécessaire de caractériser pour leur résistance à la pyriculariose. Cette caractérisation repose sur une analyse fine des réactions des variétés de riz lorsqu'elles sont confrontées à un panel de souches du champignon au cours d'inoculations contrôlées. Le panel de souches utilisé et son spectre de virulence doivent être représentatifs des différentes populations de l'agent pathogène dans les zones ciblées par le programme de sélection ce qui implique un travail permanent de caractérisation des populations : diversité et structure génétique des populations, caractérisation du pouvoir pathogène (agressivité et virulence) des souches collectées. Ce travail est indispensable à une gestion optimum de la diversité des résistances disponibles pour la recombiner grâce au travail de sélection ou pour la déployer efficacement et durablement sur le terrain (McDonald and Linde, 2002). Cela constitue une des lacunes actuelles du programme de sélection. Le projet PARRUR pourrait nous permettre de mettre en œuvre cette activité à travers un certain nombre d'investissements nécessaires (Equipements du laboratoire de phytopathologie et petite serre pour la réalisation des inoculations artificielles).

2/ L'utilisation extensive de variétés uniformes possédant des gènes de résistances très spécifiques vis-à-vis des agents pathogènes expose inmanquablement, à terme, à de fortes épidémies dès lors que les résistances déployées sont contournées. A l'inverse, la diversité génétique de la plante hôte semble être un mécanisme

efficace pour réduire l'impact des maladies dans les écosystèmes naturels ou dans les systèmes paysans traditionnels où des écotypes très diversifiés sont utilisés. La diversification génétique qui peut être mise en œuvre au niveau des espèces cultivées, des variétés d'une espèce cultivée ou des gènes de résistance de cette espèce peut être un outil pour contrôler la pyriculariose du riz (Wolfe, 1985 ; Leung *et al.* 2003). Des résultats spectaculaires ont été obtenus récemment à grande échelle dans le Yunnan (Chine) pour le contrôle de la pyriculariose par l'utilisation de mélanges de différentes variétés de riz en culture irriguée (Zhu *et al.* 2000). En revanche cette stratégie est très peu documentée pour le riz pluvial. Dans notre équipe, nous avons obtenu un certain nombre de résultats prometteurs en utilisant des mélanges variétaux binaires (une variété sensible diluée dans une variété résistante ; Sester *et al.*, 2008). Néanmoins, cette stratégie doit encore faire l'objet de recherches pour être optimisée : nombre de composantes des mélanges, combinaisons de résistances complémentaires, effet de la compétition entre variétés...

## Méthodologie :

### 1/ Caractérisation des populations de pyriculariose et des résistances du riz pluvial à la pyriculariose :

- Collecte, isolement et conservation de souches de *M. oryzae* provenant des différentes écologies du riz pluvial. Etablissement d'une banque de souches de *M. Oryzae* spécifique à chaque région.
- Analyse fine des réactions de variétés de riz lorsqu'elles sont confrontées à un panel des souches du champignon au cours d'inoculations contrôlées.

Ces méthodes sont utilisées en routine à BGPI et ont été transférées en partie à SCRiD. La première année du projet sera consacrée à la réhabilitation du laboratoire de phytopathologie du FOFIFA à Antsirabe et à la construction d'une petite serre de pathologie destinée à la réalisation des inoculations artificielles ainsi qu'à la formation complémentaire du jeune phytopathologiste du FOFIFA (Harinjaka Raveloson).

Les souches de *Magnaporthe oryzae* sont cultivées pendant 7 jours en boîte de Pétri (20 g de farine de riz, 15 g d'agar, 2,5 g d'extrait de levure) sous lumière fluorescente (12h/jour) à 28 °C (**Ballini *et al.*, 2007**). Les spores sont récoltées en inondant les cultures avec 10ml d'eau distillée. Ces suspensions de spores sont calibrées à 50,000 conidies/ml. L'addition de 0,5% de gélatine permet l'adhésion de l'inoculum sur les feuilles de riz. Les inoculations sont réalisées 3 à 4 semaines après le semis des variétés de riz à tester en les pulvérisant avec la suspension de spores. Les plants inoculés sont incubés une nuit à 25°C et avec une humidité de 100% avant d'être transférés dans la serre. Les lésions sont observées et notées après 7 jours selon une échelle de 1 (pas de symptômes) à 6 (lésion typique en losange) (**Silué *et al.*, 1992**).

### 2/ Etude et optimisation des mélanges variétaux pour le contrôle des épidémies de pyriculariose.

Le couple riz/pyriculariose apparaît comme un bon modèle pour étudier les effets de la diversification génétique sur le développement des épidémies (Garrett et Mundt, 1999) et pour espérer les mettre en oeuvre dans le cas du riz pluvial des Hautes Terres de Madagascar. Des mélanges binaires de variétés (résistante /sensible) ont déjà été testés avec des résultats très intéressants par notre équipe (réduction de l'impact de la pyriculariose sur la variété sensible). Ce type de mélange simple pourra être testé en conditions paysannes par nos partenaires du développement (voir §3). D'autres modalités de mélange doivent maintenant être évaluées selon le nombre de composants du mélange, le type de résistance et la proportion relative des différentes composantes. L'efficacité des mélanges variétaux pour contrôler les épidémies de pyriculariose sera évaluée en prenant comme indicateurs la diminution de l'incidence et de la sévérité de la maladie aux niveaux foliaire et paniculaire dans le mélange par rapport à la culture pure et le suivi des composantes du rendement pour les différentes variétés du mélange. Les méthodes de suivi des épidémies de pyriculariose qui seront utilisées ont été employées avec succès par l'URP SCRiD depuis cinq ans.

Eléments de protocole : Les parcelles élémentaires (5\*5m) sont encadrées par une bordure de 5m d'une variété totalement résistante pour limiter les interactions entre parcelles élémentaires. La pyriculariose foliaire est évaluée chaque semaine à partir du début de l'épidémie sur 10 poquets par parcelle élémentaire placés sur la diagonale de la parcelle élémentaire. La proportion de talles malades est évaluée (incidence) et la surface foliaire couverte par des lésions est estimée pour 3 talles par poquet (sévérité). Après floraison, c'est la pyriculariose paniculaire qui est évaluée sur le même principe (10 poquets par parcelle et 5 panicules par poquet). Les composantes du rendement (nombre de panicules/m<sup>2</sup>, nombre de grains par

panicule, poids de mille grains ...) sont estimées à la récolte par le prélèvement de 10 poquets par variété du mélange. On peut ainsi évaluer finement l'impact de la maladie sur le rendement et l'effet de la compétition entre les différentes variétés du mélange.

### 3/ Déploiement en milieu paysan de variétés résistantes à la pyriculariose et validation de l'efficacité en conditions paysannes des mélanges variétaux.

Les méthodes d'évaluation sont maîtrisées par l'URP SCRiD. Le réseau de diffusion, existant, de FIFAMANOR (25 sites paysans sur tout le Vakinankaratra) et de BVPI (très nombreux paysans dans deux secteurs du Vakinankaratra) va être utilisé pour réaliser les activités suivantes :

- Evaluation du comportement de variétés résistantes ou tolérantes issues du programme de sélection SCRiD, dont en particulier un certain nombre de lignées issues d'un programme de sélection assistée par marqueurs possédant trois gènes de résistance (Pi1, Pi2, Pi33).
- Evaluation de l'effet du mélange binaire en ligne de la variété résistante Fofifa 172 (R) et de la variété sensible Fofifa 154 (S) à raison de 5 lignes de la variété R pour une ligne de la variété S. A chaque fois une parcelle de la variété sensible sera semée en culture pure à proximité de la parcelle test pour servir de témoin.
- Un modèle de dynamique épidémique à l'échelle du paysage cultivé conçu pour évaluer des scénarios de déploiement de variétés résistantes, actuellement en fin de développement à l'INRA Grignon sera mis à disposition du projet en 2011. Il permettra, sur la base des informations recueillies sur le réseau, d'évaluer à posteriori la performance des variétés et mélanges déployés mais aussi de proposer des stratégies futures optimisées pour augmenter l'efficacité et la durabilité des résistances.

On pourra distinguer deux phases : une phase test sur une vingtaine de sites en première année du projet puis une phase de validation à plus grande échelle (> 50 sites) si les résultats de la phase de test sont satisfaisants.

### **Résultats attendus :**

Ce projet est construit pour répondre à la fois à la demande des paysans malgaches en matière de lutte contre la pyriculariose mais aussi pour mieux comprendre comment gérer la diversité pour lutter durablement contre cette maladie. La pyriculariose étant la maladie fongique du riz la plus répandue dans le monde, les connaissances acquises sur les Hautes Terres malgaches intéresseront aussi les autres régions rizicoles du Monde.

### **Valorisation des travaux de recherche :**

Les résultats sont destinés à être communiqués dans des congrès et à être publiés dans des revues scientifiques.

Indicateurs= nombre de publications de rang A, nombre de communications à congrès

### **Etablissement d'une plateforme d'évaluation de la résistance du riz à la pyriculariose :**

Il est prévu au cours de ce projet de doter la SRR FOFIFA d'Antsirabe d'une petite serre de pathologie qui permettra de réaliser dans de bonnes conditions les travaux de criblage pour la résistance à la pyriculariose par inoculation artificielle de l'agent pathogène. Le laboratoire de pathologie encore petit et vétuste sera aménagé.

### **Formation :**

- Capitalisation de compétences en phytopathologie du riz, la pyriculariose en particulier, par le FOFIFA: Le FOFIFA vient de recruter pour l'URP SCRiD, un jeune phytopathologiste. C'est l'un des deux seuls phytopathologistes sur le riz pour l'ensemble de Madagascar. Ce projet devrait contribuer à compléter sa formation à travers un séjour au CIRAD (UMR BGPI) à Montpellier pour maîtriser les techniques d'inoculation artificielle de souches de pyriculariose ainsi que pour commencer à se former aux techniques de caractérisation moléculaire de la diversité de l'agent pathogène. Ces compétences permettront d'améliorer les méthodes de criblage et d'évaluation variétale de la résistance du riz et de construire un programme de recherche solide.

- Les dispositifs qui seront mis en place dans cette étude, qu'il s'agisse des expérimentations au laboratoire, des dispositifs en station expérimentale ou des dispositifs en milieu paysan seront les supports de stages d'étudiants de niveau ingénieur ou DEA. 4 stages de ce niveau sont prévus au cours des deux années du projet.

Indicateurs= nombre d'étudiants niveau ingénieur ou Master formés. Acquisition de compétences nouvelles et définition d'un objet de recherche pour le nouveau phytopathologiste du FOFIFA dans une démarche de montage de thèse.

### **Décloisonnement de la recherche vers le développement :**

- Des réunions régulières entre l'URP SCRiD et les opérateurs impliqués seront tenues pour la préparation et la conclusion de chacune des deux campagnes agricoles du projet ainsi qu'au cours de visites de parcelles d'expérimentations. D'autre part un certain nombre d'étudiants interviendront sur les sites d'expérimentations multi-locaux des opérateurs et seront co-encadrés. Des formations seront également dispensées aux techniciens des organismes partenaires pour la mise en place et le suivi des dispositifs en milieu paysan, la reconnaissance et la notation de la pyriculariose et les mesures des composantes du rendement.

- Des visites de champ en présence des agriculteurs sont prévues pour recueillir l'opinion des agriculteurs sur la démarche utilisée, sa complexité ...

- Un atelier de conclusion du projet sera le cadre d'un échange entre les partenaires de la recherche (INRA CIRAD et FOFIFA) et ceux du développement (BVPI SE/HP et FIFAMANOR). Cet atelier pourra être ouvert à d'autres opérateurs de la filière riz pluvial non impliqués directement dans ce projet.

Indicateurs= Nb de personnes présentes à l'atelier. Nb de techniciens formés. Nb de paysans dans les visites

### **Résultats à court terme pour le Développement :**

- Accompagnement de l'extension de la riziculture pluviale avec des propositions techniques permettant de limiter le risque les années à forte pression de pyriculariose, et permettant de cultiver à nouveau certaines variétés sensibles qui étaient très appréciées des producteurs (qualités gustatives des variétés comme F154).

- Validation de l'efficacité des mélanges variétaux simples en milieu paysan (une variété sensible diluée 1 ligne sur 5 dans une variété résistante ou tolérante) : Evaluation du niveau d'épidémie dans les mélanges en référence à la culture pure de la variété sensible. Analyse de la variabilité du contrôle de l'épidémie en fonction des pratiques agricoles et des zones géographiques. Evaluation de l'acceptabilité de l'approche par les agriculteurs.

- Validation de nouvelles variétés résistantes issues de rétrocroisements assistés par marqueurs et incluant 3 gènes de résistance à la pyriculariose ou issues du programme conventionnel mené par l'URP SCRiD : évaluation de leur résistance à la pyriculariose et de leur comportement agronomique en milieu réel. Evaluation participative impliquant les agriculteurs.

Indicateurs = nombre de variétés nouvelles validées dans le réseau multi-local. Pérennisation du réseau à l'issue du projet. Niveau de protection obtenu par les mélanges variétaux en milieu réel. Appropriation de l'approche mélange variétal par les paysans.

## 2. Description du Programme de Travail

Objectifs	Activités	Ventilation prévisionnelle du budget PARPUR	Membres impliqués	Sem1	Sem2	Sem3	Sem4	
Etude des populations de l'agent pathogène et caractérisation des résistances du riz pluvial	Formation du phytopathologiste FOIFA à UMR BGPI Montpellier	3500 euros	Raveison Harinjaka Thareau Didier Ramantsosantirina Alain	X				
	construire une serre pour les activités de phytopathologie	18 000 euros	Raveison Harinjaka Sester Mathilde Raboin Louis-Marie	X	(X)			
	Aménagement du laboratoire de Phytopathologie	5000 euros	Raveison Harinjaka Sester Mathilde	X	(X)			
	collecte de souches de pyriculariose	2000 euros	Raveison Harinjaka	X	X	X	X	
	Inoculations artificielles d'un panel de souches de pyriculariose sur les variétés de riz	5500 euros	Raveison Harinjaka Sester Mathilde	(X)	X	X	X	
	1 stage de niveau master	500 euros	Ramantsosantirina Alain Sester Mathilde				X	
	Travaux d'amélioration génétique du riz pluvial (activité continue)	financé par URP SCRID	Ramantsosantirina Alain Raboin Louis-Marie	X	X	X	X	
	Expérimentations sur le terrain (différentes modalités de mélange)	4500 euros	Raveison Harinjaka Sester Mathilde Ramantsosantirina Alain Raboin Louis-Marie	X	X	X	X	
	Exploitation du modèle épidémiologique INRA	500 euros	Sester Mathilde Lannou Christian Ramantsosantirina Alain Raboin Louis-Marie			X	X	
	1 stage de niveau Master	500 euros	Raboin Louis-Marie				X	
Validation en milieu réel de l'efficacité des mélanges variétaux ou des variétés résistantes déployées	Expérimentations en milieu paysan dans le réseau de paysan de FIFAMAOR	5500 euros	Ralisoa Nrosetheno Raharison Tahina	X	X	X	X	
	Enquête en milieu paysan	500 euros	Tous membres Mada	X	X	X	X	
	Encadrement des expérimentations réalisées dans le cadre du réseau d'essai paysan (ingénieur recruté pour le suivi + déplacements...)	6000 euros	Raboin Louis-Marie Ramantsosantirina Alain	X	X	X	X	
	2 stages de niveau master	1000 euros	Sester Mathilde Ramantsosantirina Alain Raboin Louis-Marie		X		X	
	Formation des partenaires (méthodes de notations...)	500 euros	Ramantsosantirina Alain Raveison Harinjaka Sester Mathilde Raboin Louis-Marie		X		X	
	<b>Valorisation du projet</b>							
	Tournées des essais de terrain et partage d'expérience	500 euros	Tous membres		X		X	
	Accueil à UMR BIOGER pour travailler sur la valorisation des expérimentations	3000 euros	Sester Mathilde Lannou Christian				X	
	Atelier de restitution (y compris billets invités)	8000 euros	Tous membres				X	
	Frais de gestion (4%)	2600 euros					X	
<b>Total</b>	<b>67600 euros</b>						<b>X</b>	

### 3. Contributions des Partenaires

Objectifs	Activités	FOFFA/SCRID		CIRAD/SCRID		FIFAMANOR		BVPI/SE/HP		Tharreau Didier UMR BGPI Lannou Christian
		Ramanantsoanirina Alain	Raveloson Harinjaka	Sester Mathilde	Raboin Louis-Marie	Ralisoa Noroseheno	Raharison Tahina			
Etude et optimisation de l'effet des mélanges variétaux sur le contrôle des épidémies de pyriculariose (milieu contrôlé)	Etude des populations de l'agent pathogène et caractérisation des résistances du riz pluvial	X	X							
	Formation du phytopathologiste FOFPA à l'UMR BGPI Montpellier	X	X	X						X
	construire une serre pour les activités de phytopathologie	X	X	X						
	Aménagement du laboratoire de Phytopathologie	X	X	X						
	collecte de souches de pyriculariose	X	X	X						
	Inoculations artificielles d'un panel de souches de pyriculariose sur les variétés de riz	X	X	X						
	1 stage de niveau master	X	X	X						
	Travaux d'amélioration génétique du riz pluvial (activité continue) <sup>1</sup>	X								
Etude et optimisation de l'effet des mélanges variétaux sur le contrôle des épidémies de pyriculariose (milieu contrôlé)	Expérimentations sur le terrain (différentes modalités de mélange)	X	X	X						X
	Exploitation du modèle épidémiologique INRA	X		X						
Validation en milieu réel de l'efficacité des mélanges variétaux ou des variétés résistantes déployées	1 stage de niveau Master	X		X						
	Expérimentations en milieu paysan dans le réseau de paysan de FIFAMANOR									
	Expérimentations en milieu paysan dans le réseau de paysan de BVPI/SE/HP									
Enquête en milieu paysan		X	X							
Encadrement des expérimentations réalisées dans le cadre du réseau d'essai paysan (ingénieur recruté pour le suivi + déplacements...)		X		X						
2 stages de niveau master		X	X	X						
Formation des partenaires (méthodes de notations...)		X	X	X						
Valorisation du projet										
Tournees des essais de terrain et partage d'expérience		X	X	X						X
Accueil à l'UMR BOGER pour travailler sur la valorisation des expérimentations		X	X	X						X
Atelier de restitution (y compris diapositives)		X	X	X						X
Contribution temps chercheur sur 2 ans (en mois)		20 <sup>1</sup>	10	4	20 <sup>1</sup>	4	4	2	1	1

<sup>1</sup> La contribution attachée par les sélectionneurs est forte car on peut considérer que le projet PARUR s'adosse sur le programme de sélection pour mieux valoriser les résistances variétales à la pyriculariose utilisées et optimiser leur utilisation