

RAPPORT D'ACTIVITE :

DIAGNOSTIC ET RESISTANCE VARIETALE DU RIZ (ORYZA SATIVA)  
A PSEUDOMONAS FUSCOVAGINAE,  
AGENT DE LA POURRITURE BRUNE DE LA GAINÉ.

IRAT MONTPELLIER

OCTOBRE 1989-JANVIER 1990

Thierry Jaunet

# Table des Matières

## INTRODUCTION

### A. TEST ELISA ( Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay ) :

#### A.1. Test sur sérum brut :

##### A.1.1 Matériel et méthode :

###### A.1.1.1 Matériel :

###### A.1.1.2 Méthode :

##### A.1.2 Résultats et discussion :

#### A.2 Tests sur IGg :

##### A.2.1 Matériel et méthode :

###### A.2.1.1 Matériel :

###### A.2.1.2 Méthode :

##### A.2.2 Résultats et discussion :

#### A.3. Tests DDAS :

##### A.3.1 Etude de la spécificité du test :

###### A.3.1.1 Etude préliminaire :

###### A.3.1.1.1 Matériel et méthode :

###### A.3.1.1.2 Résultats et discussion :

###### A.3.1.2 Test sur 10 souches bactériennes :

###### A.3.1.3 Test sur 7 souches de *Pseudomonas fuscovaginae* négatives en agglutination :

###### A.3.1.3.1 Matériel et méthode :

###### A.3.1.3.2 Résultats et discussion :

###### A.3.1.4 Conclusions sur la spécificité :

##### A.3.2 Tests sur jus de plante :

###### A.3.2.1 Etude du mode d'extraction :

###### A.3.2.1.1 Matériel et méthode :

###### A.3.2.1.2 Résultats et discussion :

###### A.3.2.2 Etude du mode de conservation :

## Table des Matières

A.3.2.2.1 Matériel et méthode :

A.3.2.2.2 Résultats et discussion :

A.3.2.3 Test sur nitrocellulose (Dot Blot) :

A.3.2.3.1 Matériel et méthode :

A.3.2.3.2 Résultats et discussion :

## B. RECHERCHE D'UN CRIBLAGE VARIETAL POUR LA RESISTANCE A LA BACTERIOSE

B.1. Etude des paramètres de mesure du pouvoir pathogène :

B.1.1 Matériel et méthode :

B.1.1.1 Matériel :

B.1.1.2 Méthode :

B.1.2 Résultats et discussion :

B.1.3 Conclusion :

B.2. Effet des basses températures sur la floraison :

B.2.1 Matériel et méthode :

B.2.1.1 Matériel :

B.2.1.2 Méthode :

B.2.2 Résultats et discussion :

B.2.2.1 Comportement de la variété témoin sensible :

B.2.2.2 Comparaison des variétés malgaches et de la variété témoin :

B.2.3 Conclusions :

B.3 Etude sur 258 variétés :

B.3.1 Matériel et Méthode :

B.3.1.1 Matériel :

B.3.1.2 Méthodes :

B.3.2 Résultats et discussion :

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXES

## INTRODUCTION

L'étude entreprise précédemment lors du DEA ne nous a pas permis d'atteindre tous les objectifs fixés. En effet, les recherches conduites sur la mise en évidence au laboratoire de la tolérance au champ des variétés malgaches pour la mise au point d'un test de criblage n'ont pas abouti. Nous avons donc continué cette recherche en nous plaçant dans des conditions les plus proches du champ (stades proches de la floraison, températures froides).

D'autres expérimentations sur le même problème ont été conduites en parallèle : d'une part nous avons voulu savoir si, sur plantules, la taille des symptômes était un critère plus probant que le nombre de plants malades pour mettre en évidence la tolérance à la bactériose et d'autre part nous avons testé le comportement de 258 variétés afin de connaître la distribution de la sensibilité à *Pseudomonas fuscovaginae* au sein d'un échantillon important.

La seconde partie de cette étude a été la mise au point d'un test de diagnostic sérologique de type ELISA. Ce travail a eu pour point de départ les problèmes posés par l'identification de *Pseudomonas fuscovaginae*. En effet, les lacunes du test sérologique d'agglutination et l'aspect fastidieux des tests de pouvoir pathogène et de profil biochimique ne permettent ni d'obtenir un diagnostic rapide et ni de tester un grand nombre d'échantillons. Nous avons donc recherché si un test ELISA était applicable sur ce pathogène.

A. DIAGNOSTIC ELISA  
(Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)

## ELISA

Les expérimentations effectuées sur *Pseudomonas fuscovaginae* ont, entre autre, pour but la mise au point d'un test sérologique de type ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). L'objectif de ce travail est d'obtenir un test de diagnostic rapide et sûr pour l'identification du pathogène. Dans la caractérisation préconisée par P. Rott (Rott et al., 1989), les 2 tests essentiels sont le pouvoir pathogène sur plantule et le profil biochimique de 8 caractères, le test sérologique d'agglutination étant facultatif de par l'absence de détection de certaines souches de *Pseudomonas fuscovaginae*. Cette caractérisation peut s'avérer fastidieuse et longue face à un grand nombre d'échantillons ou à une demande de diagnostic rapide. Nous recherchons donc si *Pseudomonas fuscovaginae* est détectable par un test ELISA.

Nous devons répondre, au cours de cette recherche, à de nombreuses questions : tout d'abord le pathogène est-il détectable par cette technique? Puis ce test est-il spécifique? enfin est-il applicable sur des échantillons malades?

### A.1. Test sur sérum brut :

Le but de cette expérience est de répondre à la question : *Pseudomonas fuscovaginae* est-il détectable par la méthode ELISA et à quelle concentration bactérienne ?

#### A.1.1 Matériel et méthode :

##### A.1.1.1 Matériel :

Nous utilisons le serum de lapin anti-GR2 obtenu au laboratoire par P. Rott à partir de la souche de Madagascar GR2. Nous testons la souche GR2 de *P. fuscovaginae* et la souche Mdg 65A de *Xanthomonas albineans*, bactérie non pathogène du riz et éloignée taxonomiquement du pathogène étudié. Cette dernière bactérie servant de témoin négatif.

##### A.1.1.2 Méthode :

La technique ELISA utilisée est celle de l'IAPC (Indirect Antibody Plate Coating), dit simple sandwich indirect, sur plaque de microtitration NUNC (pour le détail de la manipulation se reporter à l'annexe 1) (Ternynck et Avrameas, 1987). Les étapes principales du test sont : une sensibilisation de la plaque par les bactéries, puis un dépôt du serum réagissant avec les antigènes et enfin un second dépôt d'anticorps de chèvre anti anticorps de lapin. La réaction est visualisée par la phosphatase alcaline couplée avec les anticorps chèvre dont le substrat (p. nitrophényl phosphate) donne, lors de la réaction enzymatique, un produit de couleur jaune détecté au spectrophotomètre à 405 nm. Les concentrations bactériennes testées sont  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  ufc/ml (Unités Formant Colonies/ml) obtenues à partir de bactéries congelées à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Le serum est dilué au 1000, 5000, 10000 et 20000<sup>ème</sup>.

## ELISA

### A.1.2 Résultats et discussions :

La figure 1 nous montre que *P. fuscovaginae* est détecté jusqu'à  $10^5$  ufc/ml quelque soit la dilution du serum. Si l'on compare ces résultats à ceux obtenus sur *X. albicans* pour chaque dilution de serum (figure 2), on observe que plus la dilution augmente plus faible est le signal donné par *X. albicans*, celui donné par *P. fuscovaginae* restant jusqu'à  $10^5$  ufc/ml différent du bruit de fond (concentration 0).

*Pseudomonas fuscovaginae* peut donc être détecté par la méthode ELISA et cela de façon spécifique si l'on compare cette détection à celle obtenue pour une bactérie taxonomiquement éloignée.

Mais on ne peut négliger le problème posé par la diminution de cette spécificité avec l'augmentation de la concentration de serum. Ce résultat peut être expliqué par l'emploi du sérum brut donc contenant un grand nombre de familles d'anticorps plus ou moins spécifiques. Nous nous sommes donc proposé à la suite de ces résultats de purifier à partir de ce serum les ImmunoGlobulines g (IGg) (Tijssen, 1987) ( pour le détail de cette purification se reporter à l'annexe 1).

### A.2 Tests sur IGg :

#### A.2.1 Matériel et méthode :

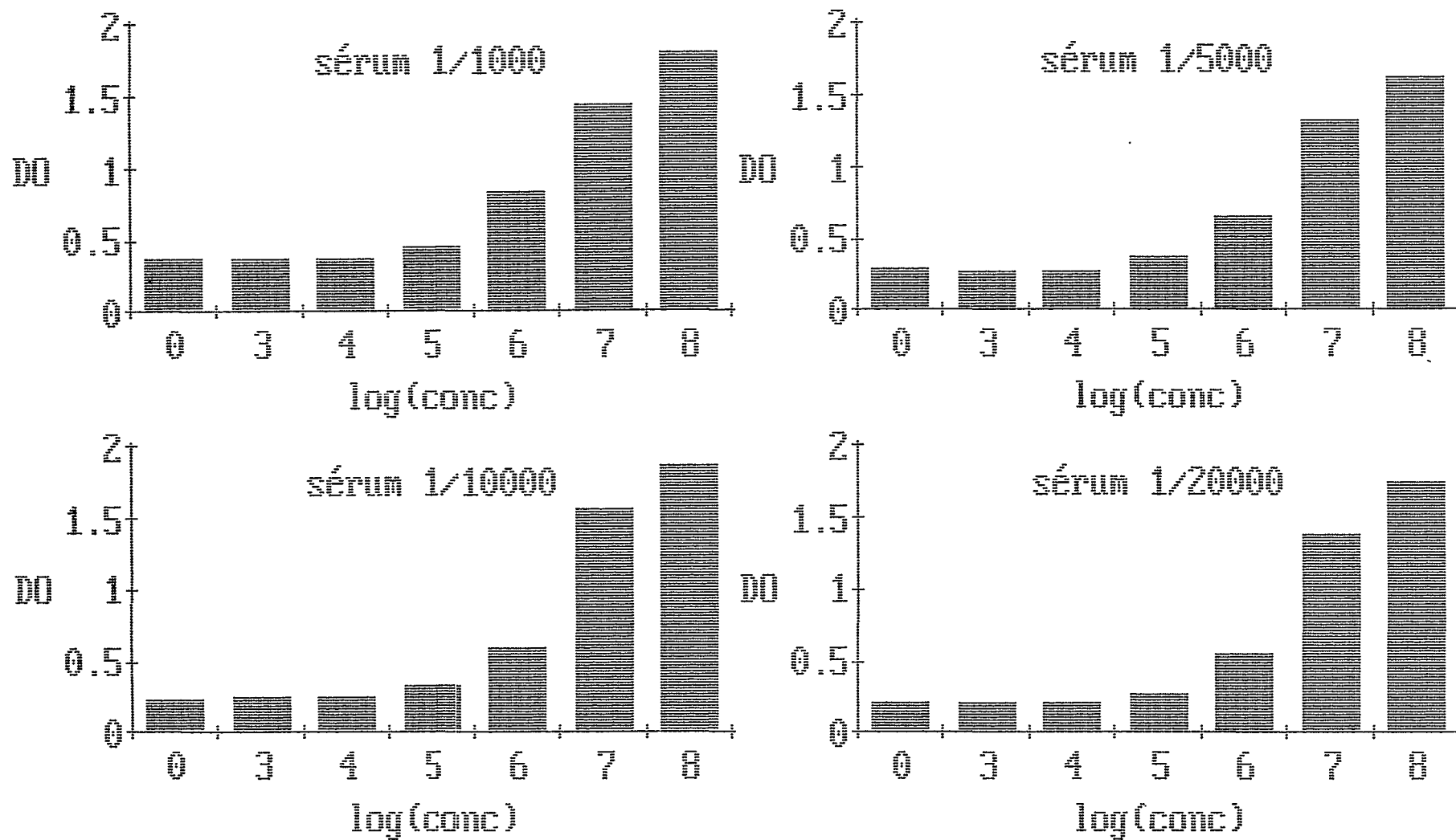
##### A.2.1.1 Matériel :

Deux types de tests sont effectués ; tout d'abord un premier comparant la souche GR2 de *P. fuscovaginae* et une souche de *X. albicans* (Mdg65A), puis un second comparant deux souches de *P. fuscovaginae* (GR2 et HMB 264 du Burundi) et 9 autres souches bactériennes : 2 *Xanthomonas* de Madagascar ( *albicans*(Mdg65A) et *campestris* pv *oryzicola*(PRM104) ), 1 *Pseudomonas solanacearum* de la Réunion (Reul), 2 *Pseudomonas fluorescens* du biovar 1 ( une de référence (2102) et une pathogène du riz isolée à Madagascar (421) ), 3 *Pseudomonas fluorescens* du biovar 5 ( une isolée à Madagascar biochimiquement proche de *P. fuscovaginae* (87) et 2 isolées en Guyane pathogène du riz et proche de *P. fuscovaginae* biochimiquement et sérologiquement en agglutination (III2, II4)) et 1 *Pseudomonas syringae* isolée à Madagascar et pathogène du riz (541).

Les IGg utilisées sont celles purifiées à partir du serum anti-GR2.

##### A.2.1.2 Méthode :

La technique ELISA utilisée est comme précédemment celle du simple sandwich indirect sur plaque (la méthode est la même qu'au chapitre A.1.1.2 en remplaçant le sérum par les IGg) (Ternynck et Avrameas, 1987). Les concentrations bactériennes testées sont pour le premier test  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  ufc/ml et pour le second  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  ufc/ml. Les concentrations d'IGg sont pour le premier test de 0.5, 1, 5 et 10 µg/ml et pour le second de 0.5 µg/ml.



**Figure 1 :** Test ELISA IAPC sur *Pseudomonas fuscovaginae* à différentes dilutions de sérum anti-GR2 (1/1000, 1/5000, 1/10000, 1/20000) et différentes concentrations bactériennes (de 0 à  $10^8$  cfu/ml)



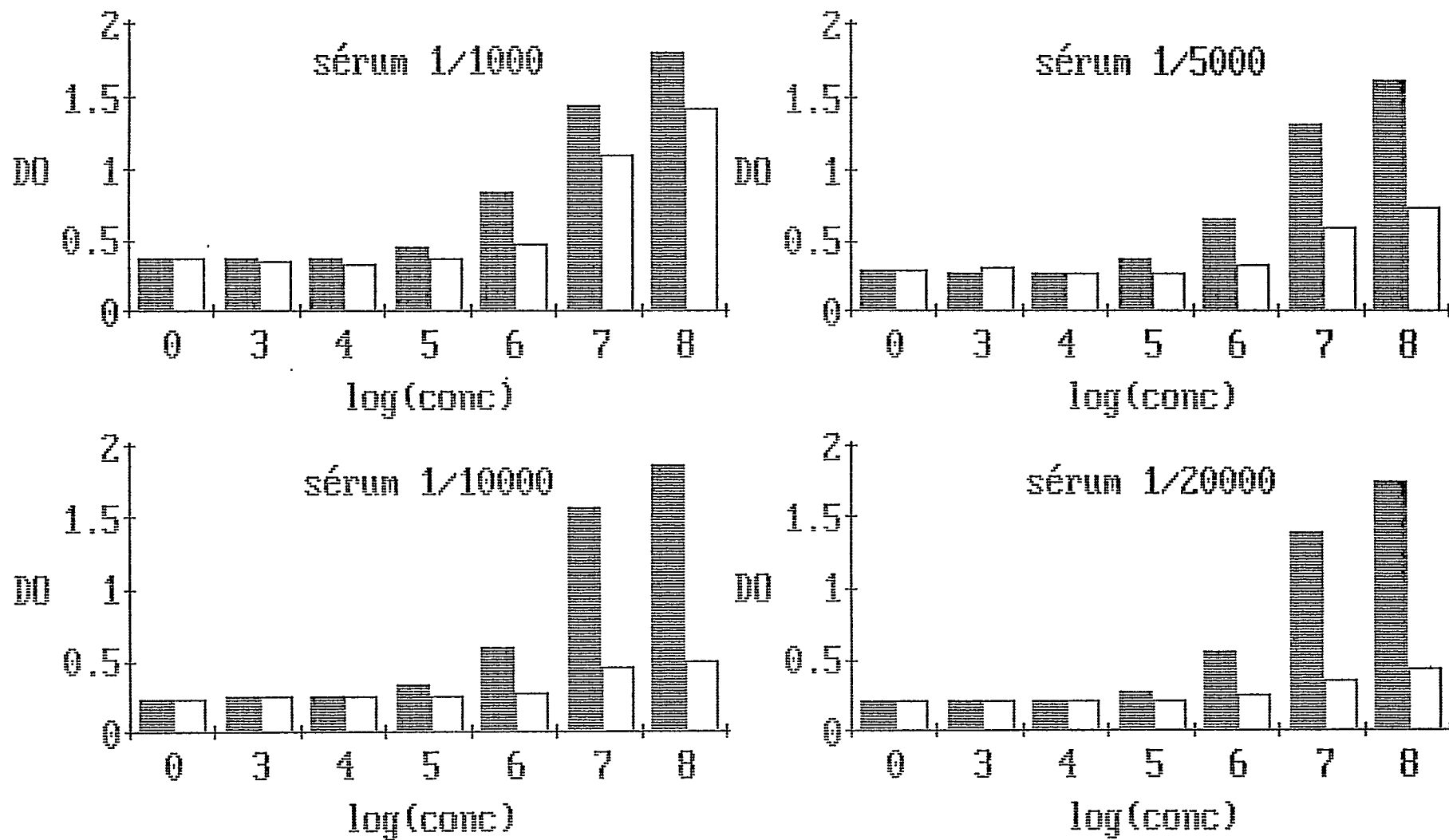


Figure 2 : Comparaison en ELISA IAPC de *Pseudomonas fuscovaginae* et de *Xanthomonas albineans* à différentes dilutions de sérum anti-GR2 (1/1000, 1/5000, 1/1000, 1/20000) et différentes concentrations bactériennes (de 0 à  $10^8$  cfu/ml)

## ELISA

### A.2.2 Résultats et discussion :

La figure 3 nous montre d'une part que l'on détecte *P. fuscovaginae* jusqu'à des concentrations faibles d'IGg (0.5 µg/ml) et jusqu'à la concentration bactérienne de  $10^4$  ufc/ml aux concentrations de 10, 5 et 1 µg/ml d'IGg. D'autre part, on observe que les densités optiques obtenues pour *P. fuscovaginae* se différencient notablement de celles obtenues pour *X. albicans* mis à part aux fortes concentrations bactériennes et fortes concentrations d'IGg :  $10^8$  ufc/ml-5µg/ml et  $10^8$  ufc/ml-10µg/ml.

Lorsque l'on observe les résultats obtenus lors du second test (figure 4), on note qu'en effet les souches de *Pseudomonas fuscovaginae* répondent plus fortement au test que les 9 autres bactéries (1,6 contre en moyenne 0,4). Mais aussi malgré cette différence que certaines répondent encore trop fortement (*X. cmp pv oryzicola* (0,5), *P. solanacearum* (0,5), *P. fluorescens* bv 1 2102 (0,5), *P. fluorescens* bv5 87 (0,5), III2, II4 (0,4)) pour que le test soit acceptable.

Devant ces résultats il nous semble donc inutile de persévérer dans la recherche d'un test ELISA du type simple sandwich indirect. Nous orientons nos expérimentations sur un test ELISA d'un autre type : DDAS (Direct Double Antibody Sandwich) dit double sandwich direct. Il est à noter que ce type de test est le plus utilisée pour le diagnostic (Ternynck et Avrameas, 1987).

### A.3. tests DDAS :

#### A.3.1 Etude de la spécificité du test :

##### A.3.1.1 Etude préliminaire :

Cette étude a pour but de rechercher si ce type de test ELISA permet une discrimination plus intéressante que celle de l'IAPC. Pour ce faire nous comparons tout d'abord *Pseudomonas fuscovaginae* et *Xanthomonas campestris pv oryzicola*. Le choix de ce témoin négatif est motivé par les résultats obtenus dans la précédente expérimentation montrant que cette bactérie réagit fortement en IAPC.

##### A.3.1.1.1 Matériel et méthode :

Sont testées la souche GR2 de *P. fuscovaginae* et la souche PRM 104 de *X. cmp pv oryzicola* (congelées à -20°C) ; elles sont testées aux concentrations de  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  ufc/ml. Les IGg sont identiques à celles utilisées dans les tests précédents à la concentration de 0.5 µg/ml.

Le test DDAS demande que l'on produise à partir des IGg purifiées un conjugué, c'est à dire, que l'on couple une partie des IGg avec la phosphatase alcaline (Avrameas, 1969) (pour le détail de la manipulation se reporter à l'annexe 2). Ce conjugué est testé aux dilutions de 1/500, 1/1000 et 1/5000.

Les étapes essentielles du test sont les suivantes : sensibilisation de la plaque avec les IGg, dépôt des antigènes (les bactéries), dépôt des IGg couplées, dépôt du substrat de la phosphatase alcaline.

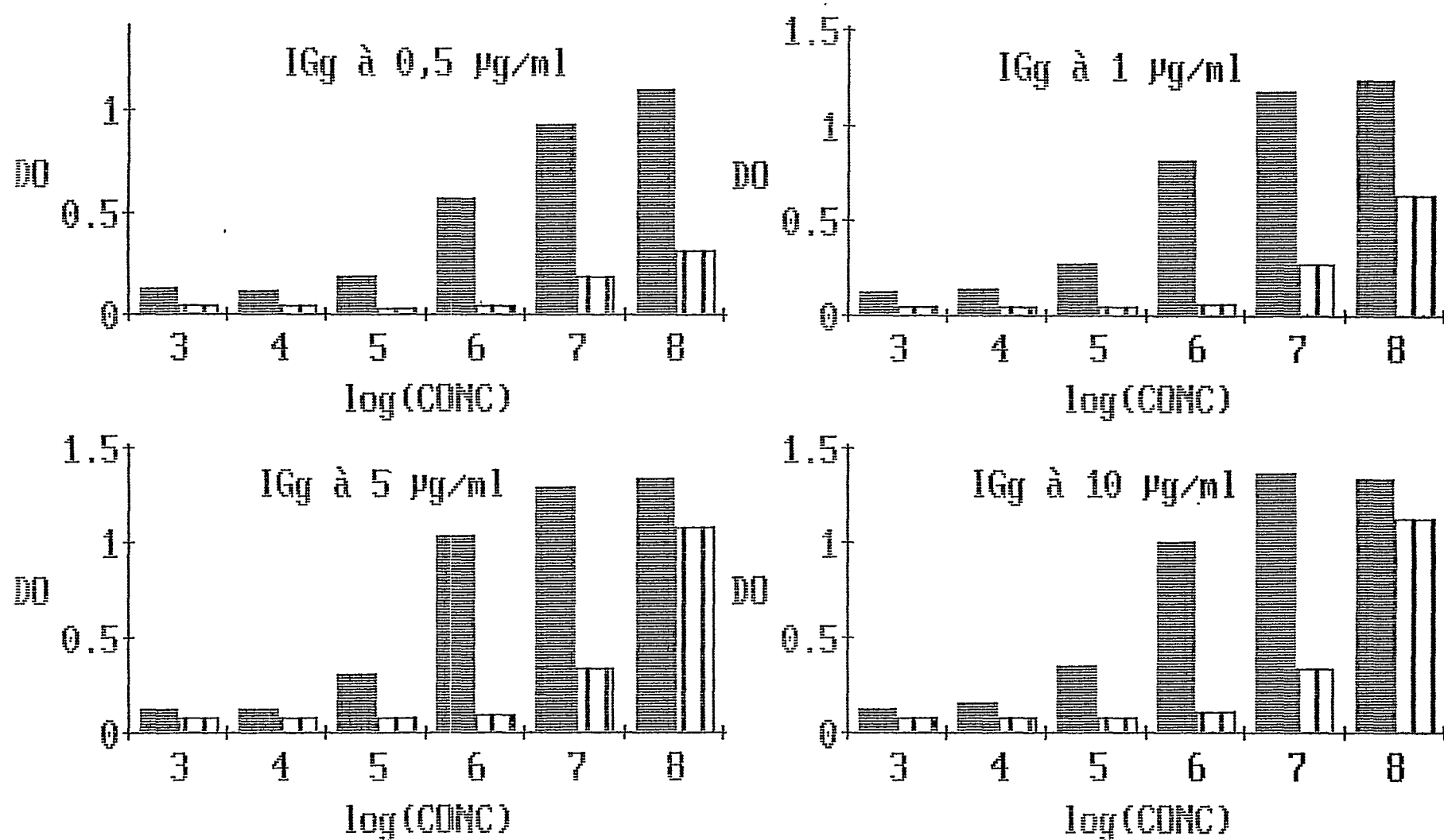


Figure 3 : Comparaison en ELISA IAPC de *Pseudomonas fuscovaginae* (noir) et de *Xanthomonas albineans* (rayé) à différentes concentrations d'IgG (0.5, 1, 5, 10 µg/ml) et différentes concentrations bactériennes (de 0 à 10<sup>8</sup> cfu/ml)

Types bacériens :

- 1 : *Pseudomonas fuscovaginae* (GR2)
- 2 : *Pseudomonas fuscovaginae* (HMB264)
- 3 : *Xanthomonas albineans* (Mdg 65A)
- 4 : *Xanthomonas campestris*  
pathovar *oryzicola* (PRM 104)
- 5 : *Pseudomonas solanacearum* (Reu 1)
- 6 : *Pseudomonas fluorescens* biovar 1 (2102)
- 7 : *Pseudomonas fluorescens* biovar 1 (421)
- 8 : *Pseudomonas fluorescens* biovar 5 (87)
- 9 : *Pseudomonas syringae* (541)
- 10 : *Pseudomonas fluorescens* biovar 5 (III2)
- 11 : *Pseudomonas fluorescens* biovar 5 (II4)

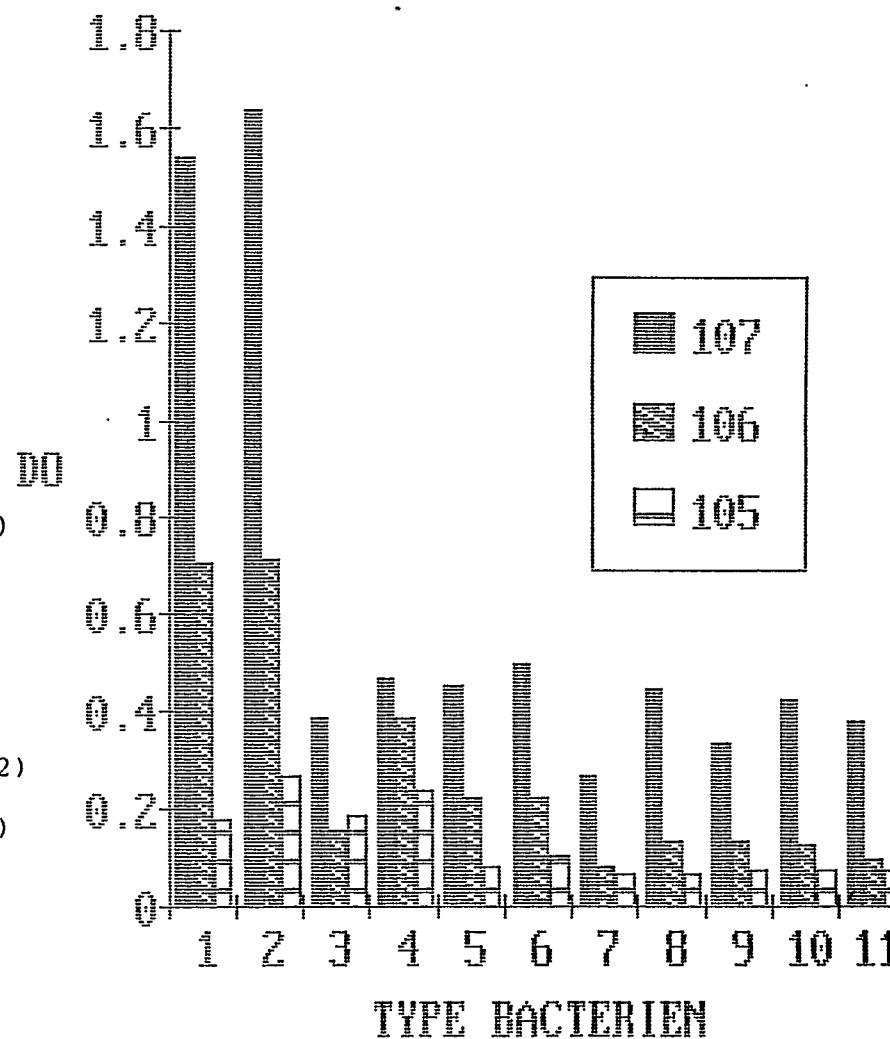


Figure 4 : Comparaison de 11 souches bactériennes en ELISA IAPC à 3 concentrations bactériennes et à 0.5 µg/ml d'IGg.

## ELISA

### A.3.1.1.2 Résultats et discussion :

Les résultats sont représentés sur les 3 graphiques de la figure 5 comparant *Pseudomonas fuscovaginae* et *Xanthomonas campestris* pv *oryzicola* aux différentes concentrations bactériennes pour les dilution du conjugué de 1/500, 1/1000 et 1/5000.

On observe d'une part pour *P. fuscovaginae* que la sensibilité de détection diminue avec la dilution du conjugué mais qu'elle reste pour la dilution la plus faible (1/5000) encore forte (limite à  $10^5$  ufc/ml). D'autre part, on remarque que le signal donné par *X. cmp* pv *oryzicola* est très faible (inférieur à 0,1) par rapport à celui de *P. fuscovaginae*.

Il semble donc que ce test ELISA de type DDAS se montre tout à fait satisfaisant quant à sa spécificité. Cette amélioration par rapport à l'IAPC peut s'expliquer par différentes raisons ; tout d'abord par le fait que les antigènes sont fixés directement sur les anticorps et non plus sur le support de polystyrène ceci permettant de supprimer une grande partie du bruit de fond( il a été montré ,par ailleurs, que la fixation des bactéries sur plaque était mauvaise), enfin lors de la fabrication du conjugué les populations d'IGg les plus faibles (souvent les moins spécifiques) sont fortement réduites ou éliminées du fait des pertes occasionnées par cette manipulation (Barbara et Clark, 1986).

Mais nous devons à la suite de ces résultats confirmer ce gain de spécificité tout d'abord en augmentant le nombre de bactéries autres que *P. fuscovaginae*, d'autre part en testant les souches de *P. fuscovaginae* montrant une agglutination négative.

### A.3.1.2 Test sur 10 souches bactériennes :

Ce test a pour but de confirmer la spécificité du test DDAS. Les souches bactériennes testées sont les mêmes que celles du chapitre 2 : les 2 souches de *Pseudomonas fuscovaginae* (GR2 et HMB 264), 1 de *Xanthomonas albineans*(Mdg65A), 1 de *Xanthomonas campestris* pv *oryzicola*(PRM104), 1 de *Pseudomonas solanacearum*(Reu1), 2 du biovar 1 de *Pseudomonas fluorescens* (421 et 2102), 3 du biovar 5 de *Pseudomonas fluorescens* (87, III2 et II4) et 1 de *Pseudomonas syringae* (541). Ces souches sont testées aux concentrations de :  $10^5$ ,  $10^6$  et  $10^7$  ufc/ml. Dans ce test les IGg sont utilisées à 0,5 µg/ml et le conjugué au 1/1000.

La figure 6 nous montre que la discrimination entre les 2 souches de *P. fuscovaginae* et 9 autres souches bactériennes est satisfaisante jusqu'à la concentration bactérienne de  $10^5$  ufc/ml puisque le signal est en moyenne 10 fois plus important pour ces 2 souches que pour les 9 autres.

### A.3.1.3 Test sur 7 souches de *Pseudomonas fuscovaginae* négatives en agglutination :

Nous recherchons à savoir si le test DDAS permet de mettre en évidence les souches du pathogène négatives en agglutination ( test non discriminant pour l'appartenance à l'espèce *fuscovaginae*). Il est à noter que ces souches sont minoritaires puisqu'elles ne sont que 7 sur les 33 isolées en 1988 à

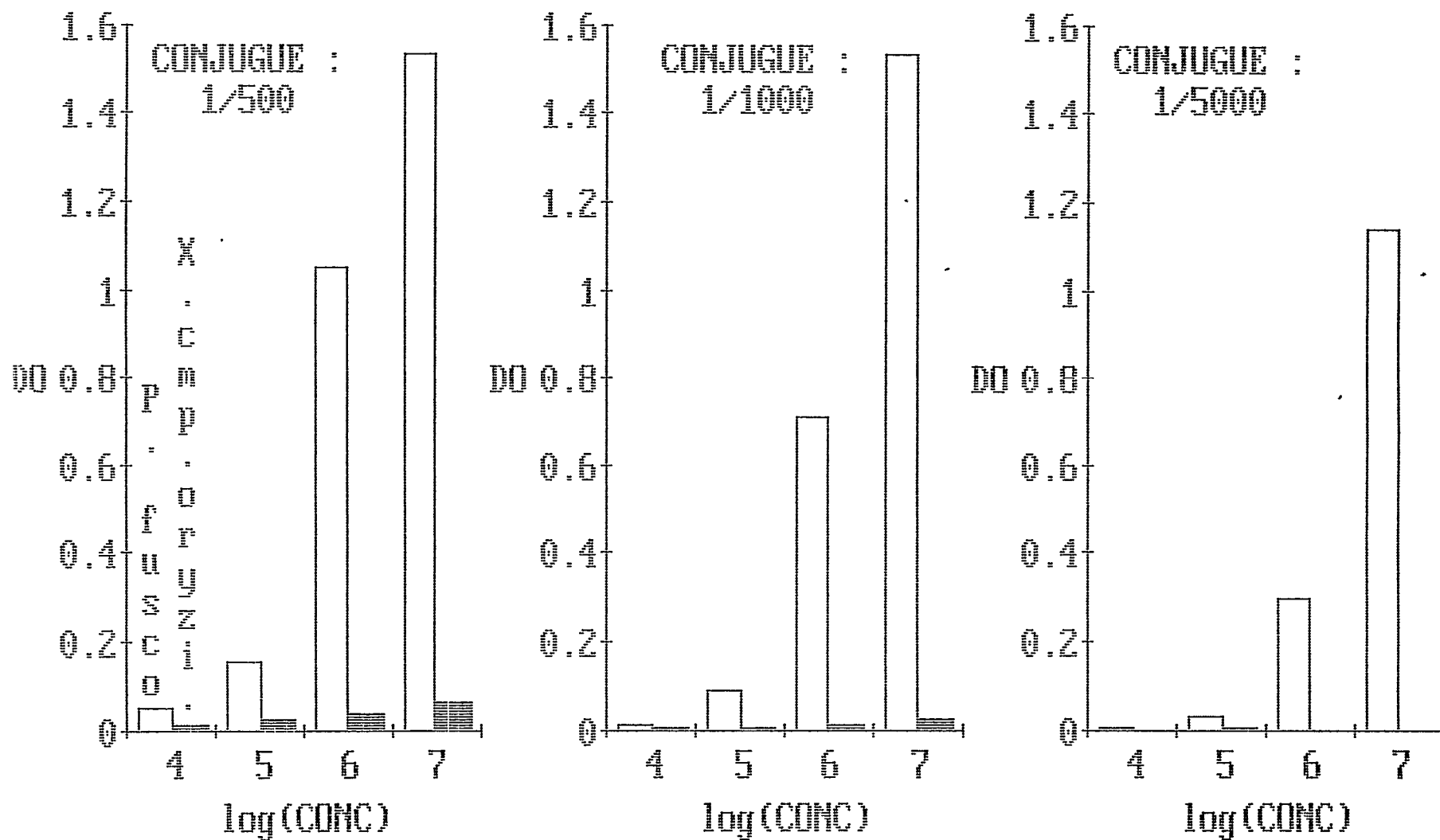


Figure 5 : Comparaison de *Pseudomonas fuscovaginae* et de *Xanthomonas campestris pv oryzae* en ELISA DDAS à 0.5 µg/ml d'IGg, à différentes dilutions de conjugué (1/500, 1/1000, 1/5000) et à différentes concentrations bactériennes (de  $10^4$  à  $10^8$  cfu/ml).

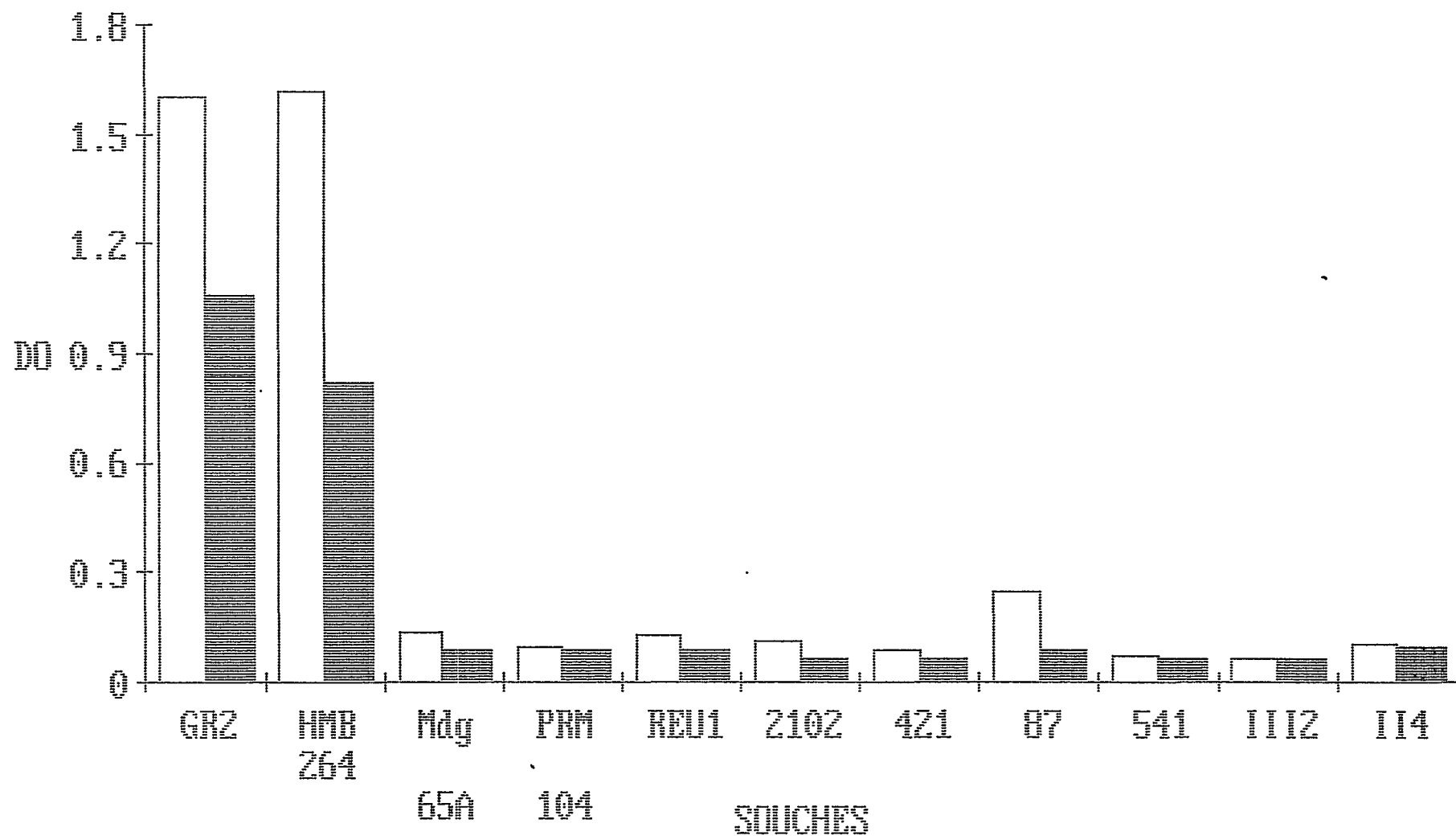


Figure 6 : Comparaison de 11 souches bactériennes en ELISA DDAS (0.5  $\mu$ g/ml d'IGg et conjugué au 1/1000) à deux concentrations bactériennes ( $10^7$  cfu/ml (blanc) et  $10^6$  cfu/ml (noir)).

## ELISA

Madagascar.

### A.3.1.3.1 Matériel et méthode :

Les souches de *Pseudomonas fuscovaginae* testées sont GR2 (témoin positif), 44-1, 44-2, 45-2, 48-1, 48-2, 49-1 et Rwd8bis. Celle de *Xanthomonas campestris pv oryzicola* sert dans ce test de témoin négatif. Les concentrations bactériennes sont de  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  ufc/ml. Dans ce test DDAS nous utilisons les IGg à 0.5 µg/ml et le conjugué au 1/1000.

### A.3.1.3.2 Résultats et discussion :

La figure 7 présentant les résultats obtenus pour la concentration bactérienne de  $10^7$  ufc/ml nous montre que 6 souches sur les 7 testées présentent un faible signal inférieur à 0.2 alors que celui de la souche GR2 est de 1.45. Par contre, la souche 49-1 montre une réaction équivalente à celle de GR2. Il faut noter que ces souches se différencient du témoin négatif donnant un signal de 0.02.

Le test DDAS ne permet donc pas mettre en évidence de façon nette toutes les souches de *P. fuscovaginae* négatives en agglutination. Malgré la faible réaction obtenue il est possible tout de même de les différencier des autres espèces.

### A.3.1.4 Conclusions sur la spécificité :

Pour conclure sur cette étude nous comparons pour les 26 souches bactériennes les 3 tests sérologiques suivants : Immunofluorescence, Agglutination et ELISA DDAS.

Les souches testées et leur origine géographique sont présentées dans le tableau 1.

Les techniques d'immunofluorescence et d'agglutination sont décrites dans l'annexe 3.

Le tableau 2 présente les résultats de cette étude. Il nous montre que :

- \* aucune réaction croisée n'apparaît en agglutination et en ELISA. Alors qu'en Immunofluorescence la souche 2038 de *Pseudomonas marginalis* est faiblement positive.

- \* 2 souches de *Pseudomonas fuscovaginae* (48-2 et 49-1) négatives en agglutination sont positives en immunofluorescence et en ELISA.

Donc le test sérologique ELISA DDAS est le plus approprié pour la détection la plus spécifique et la plus sensible de *Pseudomonas fuscovaginae*. En effet à la différence de l'immunofluorescence il ne conduit à aucune réaction croisée et à la différence de l'agglutination il permet de détecter plus de souches de cette espèce.



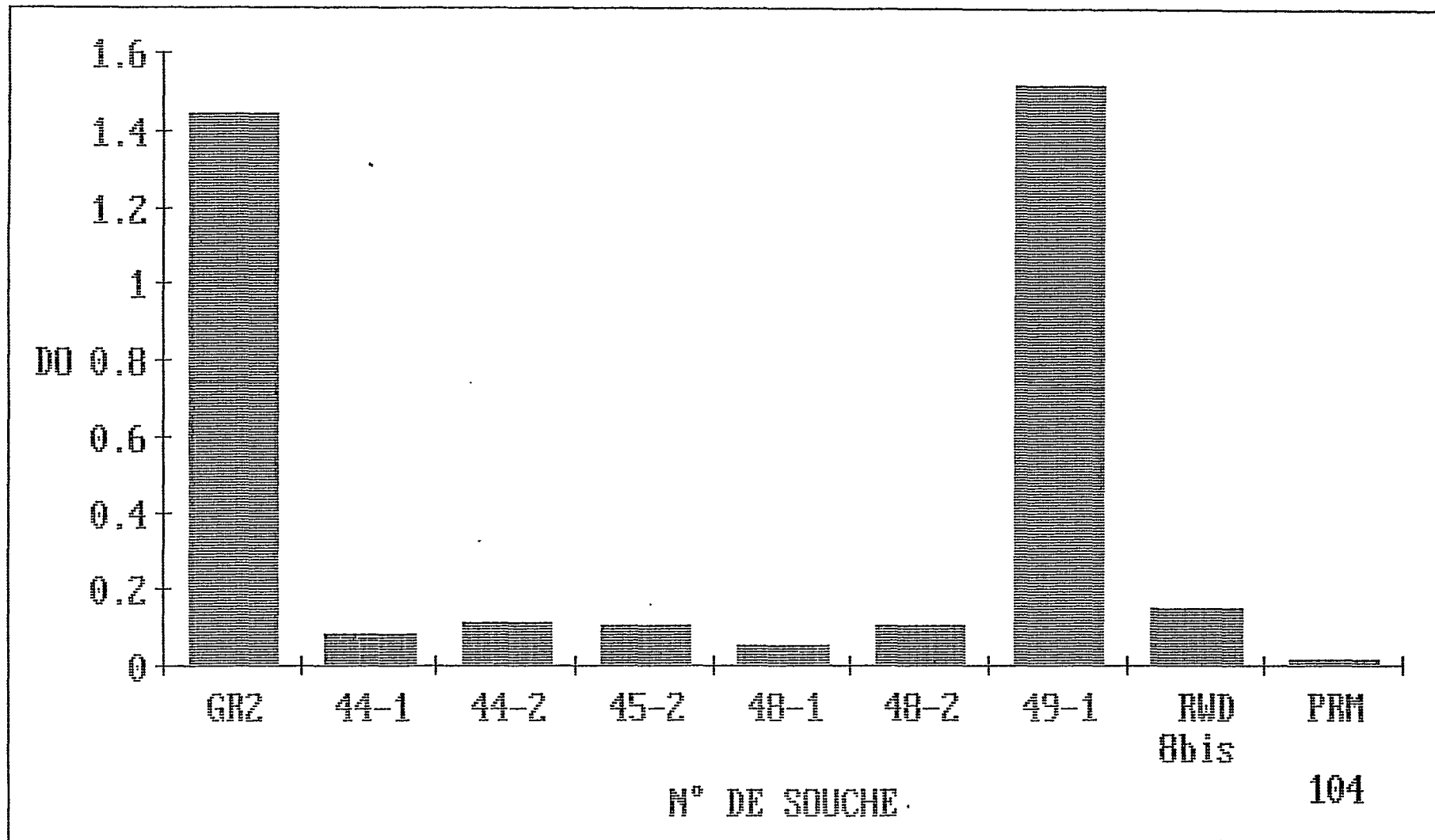


Figure 7 : Comparaison en ELISA DDAS (0.5 µg/ml d'IGg et conjugué au 1/1000) de 8 souches de *Pseudomonas fuscovaginae* négatives en agglutination avec la souche GR2 de *Pseudomonas fuscovaginae* et PRM 104 de *Xanthomonas campestris* pv *oryzicola*.

ELISA

TABLEAU 1 :  
Souches testées

ESPECE	N° SOUCHE	ORIGINE
<i>Pseudomonas fuscovaginae</i>	GR2 44-1 44-2 45-2 48-2 49-1 HMB 264 RWD 8bis	Madagascar      Burundi Rwanda
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	III2 II4 40A2 72 80 84 87 88 42-1 47-1 CFPB 2102	Guyane Française Madagascar          Référence
<i>Pseudomonas marginalis</i>	CFPB 2038	Référence
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	Reu1	Ile de la Réunion
<i>Pseudomonas syringae</i>	541	Madagascar
<i>Pseudomonas spp</i>	83	Madagascar
<i>Xanthomonas campestris pv oryzae</i>	PRM 104	Madagascar
<i>Xanthomonas albinea</i>	Mdg 65A	Madagascar

# ELISA

TABLEAU 2 :  
Comparaison sur 26 souches bactériennes de 3 méthodes  
sérologiques pour la détection de *Pseudomonas fuscovaginae*

SOUCHES				METHODES		
Espèce	n°	PR*	BIO <sup>+</sup>	AG <sup>1</sup>	IF <sup>2</sup>	DDAS-ELISA <sup>3</sup>
P. f u s c o v a g i n a e	GR2	+	0	+	+(500)	+
	HMB 264	+	0	+	+(500)	+
	44-1	+	0	-	-	-
	44-2	+	0	-	-	-
	45-2	+	0	-	-	-
	48-1	+	0	-	-	-
	48-2	+	0	-	+f(25)	+f
	49-1	+	0	-	+f(294)	+
	RWD8b	+	0	-	-	-
P. f l u o r e s c e n s	b i o v a r 5	III2	+	1	-	-
		II4	+	2	-	-
		40A2	-	2	-	-
		72	-	2	-	-
		84	-	2	-	-
		87	-	0	-	-
		88	-	1	-	-
	b i o v a r 1	2102	-	4	-	-
		421	-	5	-	-
		471	-	5	-	-
		80	-	5	-	-

\* : Pathogène sur riz.

+ : Nombre de caractères biochimiques différents.

# ELISA

TABLEAU 2 (suite) :

SOUCHES				METHODES		
Espèce	n°	PR*	BIO <sup>+</sup>	AG <sup>1</sup>	IF <sup>2</sup>	DDAS-ELISA <sup>3</sup>
<i>Pseudomonas marginalis</i>	2038	-	5	-	+f(75)	-
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	Reul	-	/	-	-	-
<i>Pseudomonas syringae</i>	541	+	6	-	-	-
<i>Pseudomonas spp</i>	83	-	2	-	-	-
<i>Xanthomonas albineans</i>	Mdg 65A	-	/	-	-	-
<i>X. cmp pv oryzicola</i>	PRM 104	+	/	-	-	-

\* : Pathogène sur riz.

+ : Nombre de caractères biochimiques différents.

<sup>1</sup> : Agglutination.

<sup>2</sup> : Immunofluorescence

Est précisé pour les résultats positifs le nombre de bactéries fluorescentes observées sur 50 champs.

<sup>3</sup> : Direct Double Antibody Sandwich

Lecture 15 mn après dépôt du substrat

+ : de 0,5 à 1,6 de DO

+f : de 0,2 à 0,5 de DO

- : de 0 à 0,2 de DO

### A.3.2 Tests sur jus de plante :

Ces tests ont pour but l'étude de l'application du test DDAS sur des échantillons de plantes malades de la pourriture brune de la gaine. Nous recherchons si la détection de *Pseudomonas fuscovaginae* est aussi sensible et spécifique à partir de plants malades que sur suspension bactérienne. Pour ce faire, différentes expérimentations sont mises en place : comparaison entre *P. fuscovaginae* et d'autres espèces bactériennes provoquant la pourriture brune de la gaine, comparaison de différents modes d'extraction, comparaison de différents stades de développement du riz.

#### A.3.2.1 Etude du mode d'extraction :

Deux modes d'extraction sont testés le broyage et la dilacération.

##### A.3.2.1.1 Matériel et méthode :

Ce test est effectué sur des plants âgés de 5 semaines inoculés à 3 semaines et sur des plants au stade gonflement. Ces inoculations sont faites sur 3 variétés pour les jeunes plants: IRAT 13, BG 90-2 et Latsika B (n°6120) et 2 pour les plants âgés : Rojofotsy (n°8480) et Cigalon. Les souches bactériennes inoculées aux jeunes plants sont 2 souches de *Pseudomonas fuscovaginae* (HMB264 et GR2) et une souche de *Pseudomonas syringae* (541). Les plants âgés ne sont inoculés qu'avec la souche GR2 de *P. fuscovaginae*. L'inoculation s'est faite par injection dans la gaine foliaire d'une suspension bactérienne de  $5.10^6$  ufc/ml.

Le premier mode d'extraction testé est la dilacération. Elle s'effectue dans 3 ml de tampon PBSt sur des symptômes de pourriture brune. Le second est le broyage. Il s'effectue à l'aide d'un broyeur à bille Cliniscience monté sur perceuse. 0.2 g de gaine malade est broyé dans 3 ml de tampon PBSt. Dans ces deux modes un témoin sain est dilacéré ou broyé. Le test DDAS est le même que précédemment.

##### A.3.2.1.2 Résultats et discussion :

Pour les jeunes plants, on observe sur les 2 graphes de la figure 8 que le broyage augmente à la fois la spécificité et la sensibilité du test. En effet, pour chacune des 3 variétés les souches de *Pseudomonas fuscovaginae* (HMB 264 et GR2) donnent un signal plus fort après broyage qu'après dilacération. D'autre part, la souche 541 de *P. syringae* détectée après dilacération ne se différencie pas du témoin sain après broyage. Ces observations s'appliquent identiquement pour les 3 variétés testées.

Dans le cas des plants au stade gonflement, on observe sur les graphes de la figure 9 que le mode d'extraction ne modifie pas la sensibilité du test puisque pour les variétés testées, quelque soit ce mode, le signal est le même.

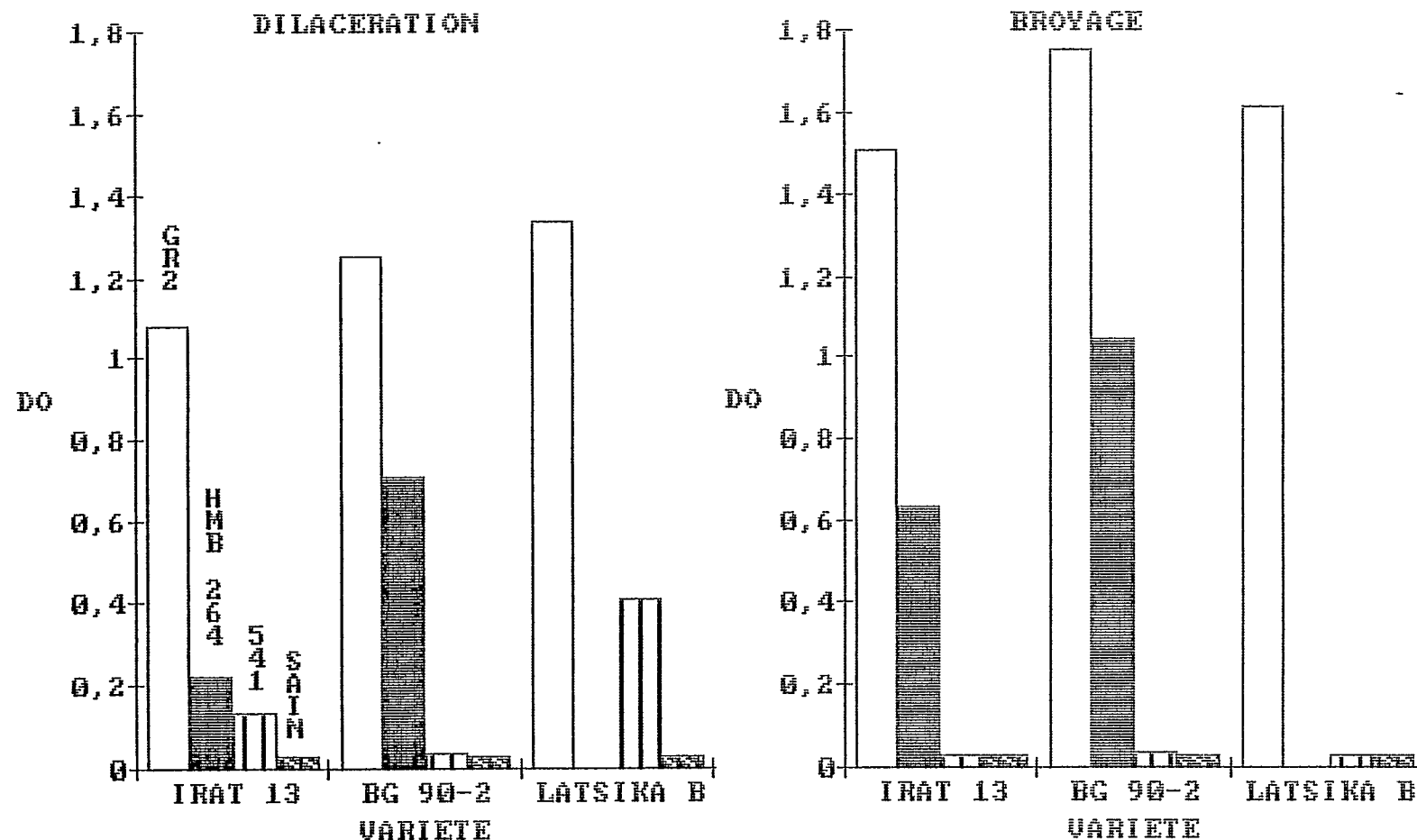


Figure 8 : Comparaison de 2 méthodes d'extraction sur 0,2 g de gaine de plantules pour 2 souches de *Pseudomonas fuscovaginae* (GR2 et HMB264) et une souche de *Pseudomonas syringae* (541) et pour 3 variétés.

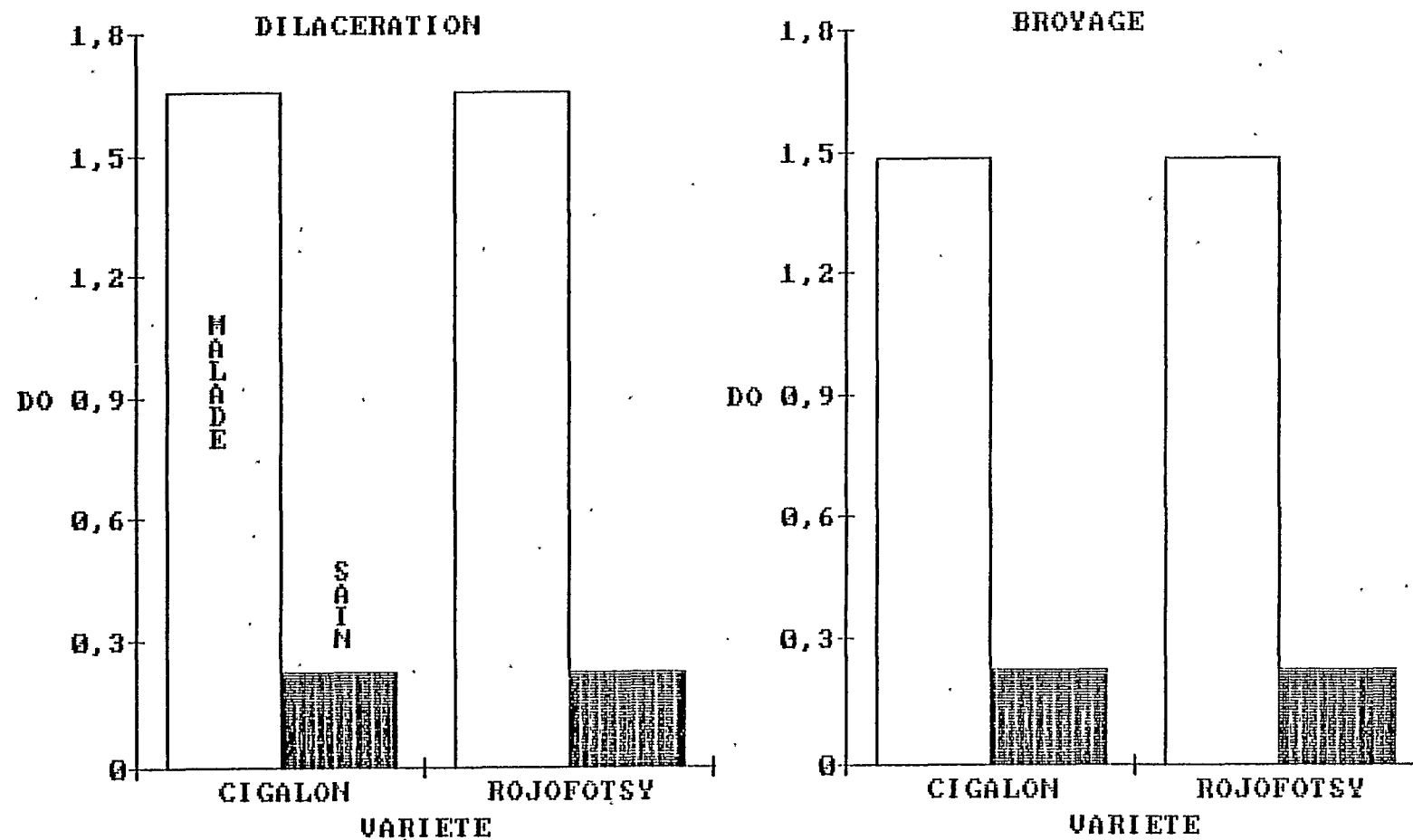


Figure 9 : Comparaison de 2 méthodes d'extraction sur 0,2 g de gaine paniculaire de plants au stade gonflement pour 2 variétés et une souche de *Pseudomonas fuscovaginae* (GR2).

## ELISA

### A.3.2.2 Etude du mode de conservation :

Cette étude a pour but de rechercher si une conservation des échantillons malades selon la méthode Bos (dessèchement sur chlorure de calcium) permet toujours une détection de *Pseudomonas fuscovaginae*.

#### A.3.2.2.1 Matériel et méthode :

Des gaines paniculaires et des grains de plants de la variété Cigalon sont testés. Ils ont été inoculés au stade gonflement avec la souche GR2 de *Pseudomonas fuscovaginae*.

0,2 g de ces échantillons ont été déposés après avoir été enveloppés dans du papier Joseph sur des granules de chlorure de calcium. Ils ont été conservés 15 jours à 4°C.

Un test sur échantillons frais a été effectué en parallèle.

Le jus de plante est extrait par broyage de 0.2 g de matériel végétal dans 3 ml de PBSt.

#### A.3.2.2.2 Résultats et discussion :

Les résultats de ce test sont présentés sur la figure 10. On remarque que la conservation par la méthode Bos ne modifie pas la sensibilité du test quelque soit le type de matériel (gaine ou grain).

Ce résultat est d'un grand intérêt puisqu'il permet d'envisager une conservation des échantillons collectés sur le terrain et ainsi d'effectuer les tests au moment choisi. D'autre part il met en évidence qu'une faible quantité d'échantillon (une dizaine de graines) permet de mettre en évidence la bactériose.

### A.3.2.3 Test sur nitrocellulose (Dot Blot) :

Ce type de test ELISA DDAS est un test qualitatif qui est facilement applicable sur le terrain. Le support est une membrane de nitrocellulose.

#### A.3.2.3.1 Matériel et méthode :

Sont testés des gaines paniculaires et des grains de plants de la variété Cigalon inoculés au stade gonflement avec la souche GR2 de *Pseudomonas fuscovaginae*. Ce matériel est soit frais soit conservé sur chlorure de calcium en Bos.

Le mode d'extraction utilisé est le broyage de 0,2 g de matériel végétal dans 3 ml de tampon PBSt.

Les différentes étapes du test sont détaillés dans l'annexe 3. Parallèlement un test DDAS est effectué sur plaque de microtitration afin de contrôler les résultats.

#### A.3.2.3.2 Résultats et discussion :

Les résultats de ce test sont visualisés sur la photo n°1. On observe sur cette photo que quelque soit l'état des échantillons (desséchés ou frais) :

- \* les échantillons de gaine et de grains malades donnent une forte coloration,
- \* le bruit de fond donné par les échantillons sains est nul.



## ELISA

Donc ce type de test donne des résultats aussi satisfaisant du point de vue qualitatif que le test sur plaque

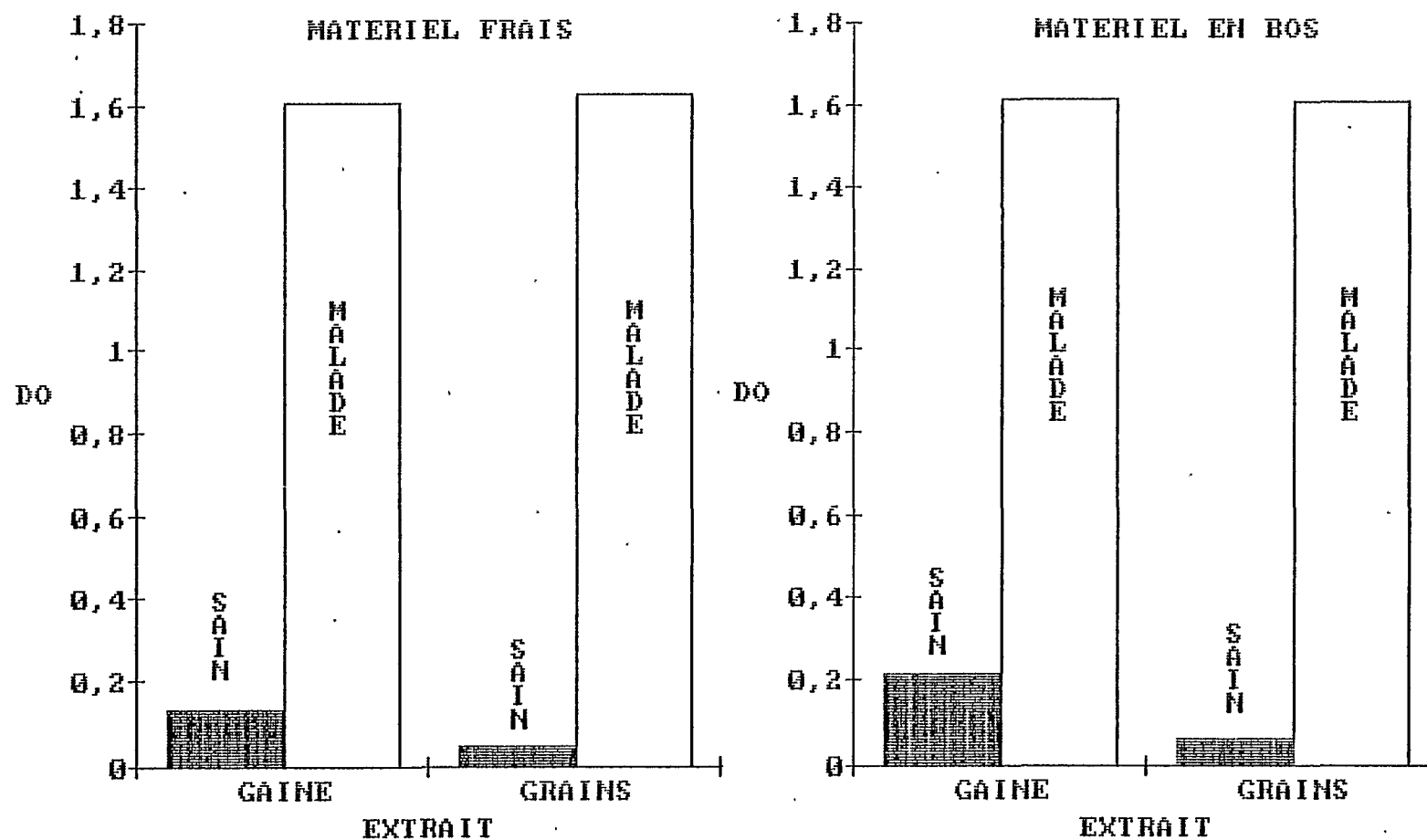
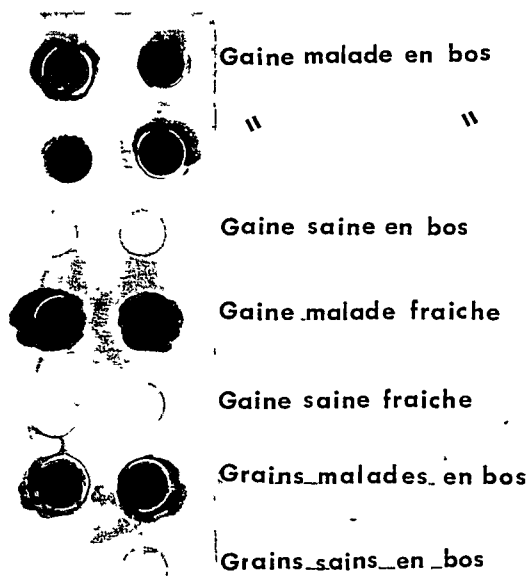


Figure 10 : Comparaison de matériel (grains et gaine paniculaire) frais et conservé en bos (extraction par broyage).

**PHOTO 1:**

**Détection de *Pseudomonas fuscovaginae***

**par DOT\_BLOT**



**B. RECHERCHE D'UN CRIBLAGE VARIETAL**  
**POUR LA RESISTANCE**  
**A LA BACTERIOSE**

## CRIBLAGE VARIETAL

L'étude des relations entre le riz et *Pseudomonas fuscovaginae* ne nous a pas permis de mettre en évidence au laboratoire la différence de comportements variétaux observés au champ pour la tolérance à la bactériose (Jaunet, 1989). Nous cherchons donc si d'autres critères de mesure ou d'autres conditions d'expérimentation permettent de mettre en évidence cette tolérance.

### B.1. Etude des paramètres de mesure du pouvoir pathogène :

Sur plantule le dénombrement de plants malades ne permet pas de différencier les variétés sensibles des tolérantes au champ (Jaunet, 1989). Nous recherchons donc si la taille des symptômes le permet.

#### B.1.1 Matériel et méthode :

##### B.1.1.1 Matériel :

Trois variétés sont étudiées :

- \* 1 malgache tolérante au champ (Latsika B n°6120)
- \* 2 témoins sensibles (Irat13 et BG90-2).

Quatre souches bactériennes sont testées :

- \* 2 de *Pseudomonas fuscovaginae* : GR2 de Madagascar et HMB264 du Burundi.
- \* 1 de *Pseudomonas syringae* isolée à Madagascar (541)
- \* 1 de *Pseudomonas fluorescens* biovar 5 isolée en Guyane française (IIIB)

##### B.1.1.2 Méthode :

Les souches bactériennes issues de congélation à -20°C sont étalées sur milieu King B. Après 24 heures de croissance elles sont suspendues dans de l'eau distillée stérile à la concentration de  $5.10^6$  ufc/ml. L'inoculation s'effectue par injection à la seringue de 100 µl de suspension dans la gaine foliaire. Quarante plants de 4 semaines sont testés par variété.

Le nombre de plants malades et la taille des symptômes sont relevés 12 jours après inoculation.

#### B.1.2 Résultats et discussion :

Les résultats au 12<sup>ème</sup> jour sont présentés dans le tableau ci-dessous :

	GR2			HMB264			541			IIIB		
	1*	2*	3*	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Fréquence de malades	0,5	0,7	0,7	0	,05	,02	0,6	0,4	0,2	0	0	,07
Taille moy des sympt.	4,7 cm	4,7 cm	5,2 cm	0cm	2,5 cm	3,5 cm	3,8 cm	2cm	2,5 cm	0cm	0cm	1,2 cm

\* 1 : Latsika B, 2 : BG 90-2, 3 : Irat 13

## CRIBLAGE VARIETAL

L'analyse des résultats de taille moyenne des symptômes ne permet pas de mettre en évidence la tolérance observée au champ de la variété Latsika B à la bactériose. Le critère ne semble donc pas plus pertinent que la fréquence de plants malades.

Pour confirmer le lien apparent de ces 2 critères, une étude statistique est effectuée. Nous recherchons si les deux variables étudiées sont indépendantes à l'aide de la droite de régression (fréquence de plants malades en fonction de la taille moyenne des symptômes) et du coefficient de corrélation. Nous excluons de cette analyse statistique les résultats obtenus pour les souches HMB264 et IIIB. En effet, leurs effectifs sont insuffisants pour permettre de vérifier s'ils sont distribués selon une loi normale (condition nécessaire à la validité du coefficient de corrélation estimé).

La figure 11 présente les droites de régression obtenues pour : les deux souches confondues (541 et GR2) et pour chacune d'elles. On note que les pentes des 3 droites sont identiques (0,13). Les coefficients de corrélation obtenus sont respectivement :

- \* 0,92 pour 541 et GR2 confondues

- \* 0,95 pour GR2

- \* 0,88 pour 541

Notre hypothèse de liaison des deux critères est donc confirmée par la forte corrélation mise en évidence.

### B.1.3 Conclusion :

La présente étude montre que sur plantules aucun des deux critères facilement mesurables (fréquence des plants malades et taille moyenne des symptômes) ne permet de retrouver au laboratoire la tolérance observée au champ.

Les résultats de l'étude réalisée au cours du DEA (Jaunet, 1989) ajoutés à ceux-ci conduisent à abandonner l'expérimentation sur des plants de cet âge pour la recherche de la tolérance.

### B.2. Effet des basses températures sur la floraison :

Une précédente étude a montré que sur plantules les basses températures diurnes augmentaient le nombre de plants malades (Jaunet, 1989). Nous poursuivons donc cette recherche en comparant le comportement de différentes variétés dans des conditions proches de celles observées au champ : stades de préfloraison et basses températures.

#### B.2.1 Matériel et méthode :

##### B.2.1.1 Matériel :

4 variétés sont testées :

- \* 3 malgaches montrant des niveaux de tolérance différents :

- bonne tolérance : Latsika B (n°6120)

- moyenne tolérance : Tokambana (n°8477), Rojofotsy  
variété locale (n°8480)

- \* 1 variété témoin camarguaise : Cigalon.

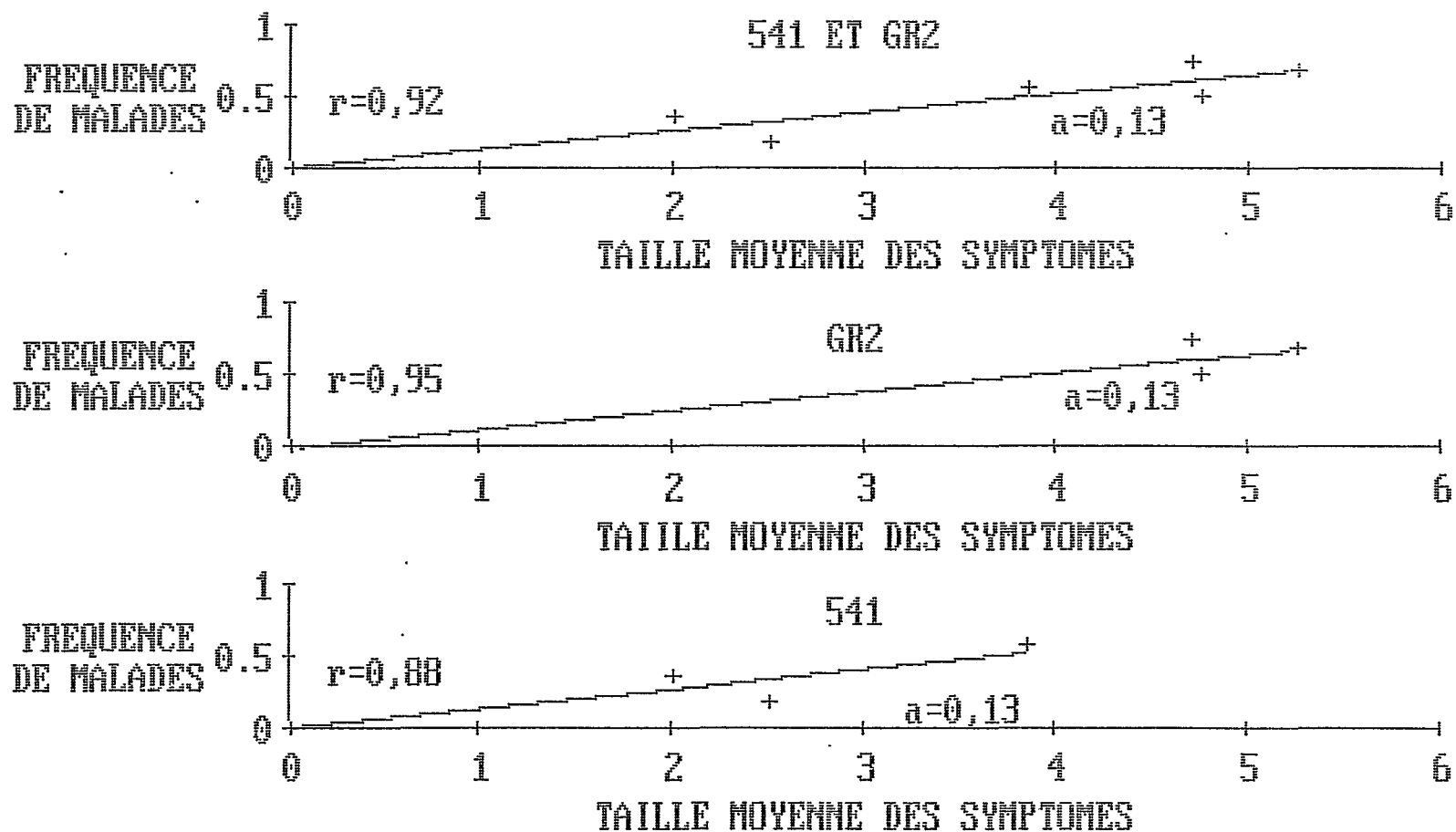


Figure 11 : Droite de régression de la taille moyenne des symptômes en fonction de la fréquence de plants malades pour chacune des souches (GR2 et 541) et pour les 2. Sont précisés la pente de la droite (a) et le coefficient de corrélation (r).

## CRIBLAGE VARIETAL

L'étude est faite avec la souche malgache GR2 de *Pseudomonas fuscovaginae*.

### B.2.1.2 Méthode :

Ces quatre variétés sont conduites en serre jusqu'aux stades proches de la floraison. Trois stades sont distingués : gonflement, épiaison et exsertion complète de la panicule (FAO, 1971).

Les plants aux stades étudiés sont placés en chambre climatique à la température d'étude. 2 couples de températures sont testés : (22°C jour - 13°C nuit) et (19°C jour- 14°C nuit), ces températures correspondent aux minima observés à la station de Vinaninony (Madagascar, 1875 mètres d'altitude) en 85-86 et 86-87 pendant la période de floraison.

Quinze à vingt plants par stade sont inoculés par injection à la seringue dans la gaine paniculaire de 0,5 ml d'une suspension bactérienne à  $5.10^6$  ufc/ml. Autant de plants par stade ne sont pas inoculés et sont considérés comme témoins.

Les mesures sont faites le 12<sup>ème</sup> jour. 12 jours correspondent au temps maximum qu'il faut pour le passage du gonflement à la sortie complète de la panicule (Yoshida, 1981). Le nombre de plants par stade est mesuré et pour chaque plants malades la taille des symptômes sur la gaine paniculaire est mesurée. Le dénombrement pour chaque stade avant l'inoculation et 12 jours après permet de connaître le nombre de plants bloqués à un stade donné. Après maturation des grains et séchage (IBPGR-IRRI, 1980), nous mesurons le poids de 100 grains, le pourcentage de grains stériles et le poids paniculaire.

### B.2.2 Résultats et discussion :

#### B.2.2.1 Comportement de la variété témoin sensible :

La figure 12 comparant pour la variété témoin Cigalon les 2 couples de températures montre que :

-pour le blocage :

- \* les plants témoins non inoculé ne sont pas bloqué ni au stade gonflement, ni au stade épiaison,
- \* les plants inoculés au stade épiaison ne sont pas bloqués,
- \* par contre lorsqu'ils sont inoculés au stade gonflement on observe un blocage de 20% des plants à la température de (19°C Jour-14°C Nuit) et de plus de 50% à la température de (22°C Jour-13°C Nuit)

-pour les symptômes :

- \* quelque soit la température les plants inoculés au stade gonflement ont des symptômes de plus grande taille que ceux inoculés au stade épiaison,
- \* au stade épiaison les symptômes sont en moyenne de 3 cm aux 2 températures testées,
- \* au stade gonflement à (19°C Jour-14°C Nuit) les symptômes ont en moyenne une taille de 8 cm alors qu'à (22°C Jour-13°C Nuit) elle est de 11 cm, ces deux moyennes étant statistiquement significativement différentes à 5%,



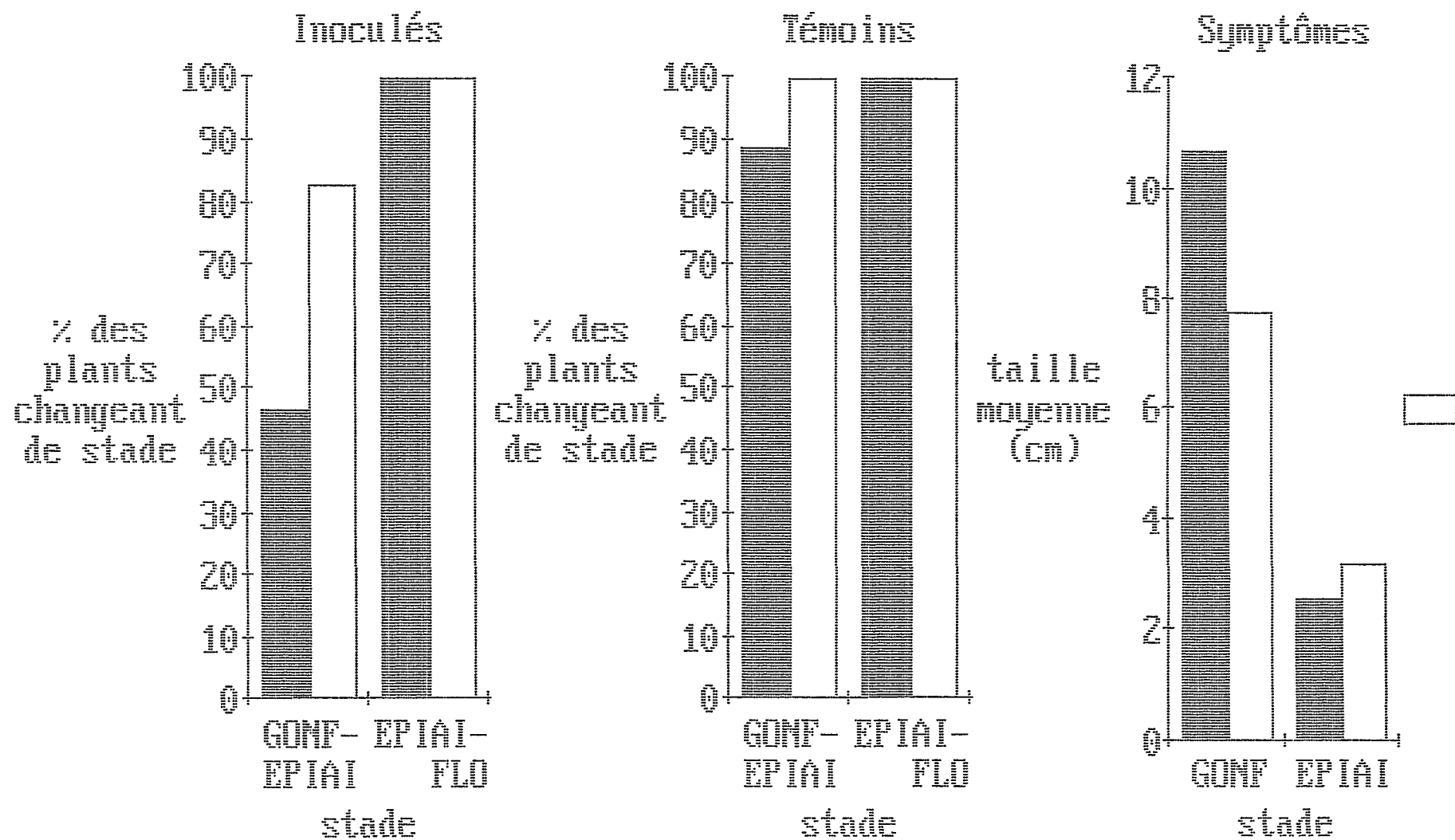


Figure 12 : Comparaison du passage gonflement-épiaison et épiaison-exsertion et de la taille des symptômes pour la variété Cigalon aux températures de 19°C-14°C (blanc) et 22°C-13°C (noir).

## CRIBLAGE VARIETAL

- \* les plants inoculés au stade de sortie complète de la panicule présentent des symptômes de taille très faible (de 0,5 à 1,5 cm).

En conclusion pour la variété témoin Cigalon on peut avancer que :

.Pour le stade gonflement :

- \* il est le plus sensible à la bactériose. Cette sensibilité, comparée à celle des stades épiaison et floraison, s'exprime à la fois par des symptômes plus grands et par un blocage du développement
- \* le pourcentage de plants bloqués semble lié à la taille moyenne des symptômes puisque ces 2 facteurs varient de façon identique lors des changements de température,
- \* Ce blocage du développement correspond à une inhibition de la croissance du rachis paniculaire. Miyajima a émis l'hypothèse que cette inhibition était liée au développement de la bactérie (Miyajima, 1983). Cette hypothèse semble confirmée par les travaux entrepris au Burundi par Autrique qui montrent que plus la concentration d'inoculum augmente plus la croissance du dernier entre-noeud diminue (Autrique et al., 1989). Nos résultats rejoignent cette hypothèse puisqu'ils montrent que plus la taille des symptômes est grande plus le blocage donc l'inhibition est important.
- \* la différence du nombre de plants bloqués observé entre les 2 températures ne semble pas due à une sensibilité à la température puisque le comportement des témoins reste inchangé. Cette différence pourrait s'expliquer soit par une augmentation de la sensibilité à la bactériose, soit par une augmentation du pouvoir pathogène de la bactérie. Ces deux hypothèses sont étayées par la différence dans la taille des symptômes entre les 2 températures,

.Pour le stade épiaison :

- \* le développement de la bactériose à ce stade ne provoque pas de blocage de développement,
- \* la taille moyenne des symptômes reste la même quelque soit la température testée,

Ces données conduisent à abandonner l'hypothèse d'une modification du pouvoir pathogène avec celle de la température. En effet, une telle modification aurait dû être observée pour tous les stades de développement testés. Or, le stade épiaison réagit identiquement quelque soit la température. On peut donc conclure que la température agit uniquement sur la sensibilité à la bactériose du stade gonflement.

### B.2.2.2 Comparaison des variétés malgaches et de la variété témoin :

Ce chapitre compare les résultats obtenus pour les variétés malgaches et la variété Cigalon à la température de 22°C Jour-13°C Nuit.

Aucune différence statistique entre les variétés n'est observée pour la taille moyenne des symptômes pour ces 2 stades et pour les 4 variétés présentées sur le tableau 1.

# CRIBLAGE VARIETAL

**Tableau 1 :**  
**Taille moyenne des symptômes sur plants inoculés aux stades**  
**gonflement et épiaison :**

		Taille moyenne des symptômes (cm)	
Variétés		Stade gonflement	Stade épiaison
CIGALON		10.7	2.6
ROJOFOTSY		11.2	2
TOKAMBANA		10.9	3.5
LATSIKA B		15	4.7
Chi-2	Calculé	1.04	1.26
	Théo 5%	7.81	7.81

**Tableau 2 :**  
**Comparaison entre plants inoculés (I) et plants témoins (T)**  
**du blocage aux stades gonflement et épiaison :**

Variétés		% de plants bloqués au stade gonflement	% de plants bloqués au stade épiaison
CIGALON	I	53	0
	T	11	0
ROJOFOTSY	I	36	0
	T	0	0
TOKAMBANA	I	36	0
	T	0	0
LATSIKA B	I	60	0
	T	0	0

## CRIBLAGE VARIETAL

Ce résultat met en évidence que le développement de *Pseudomonas fuscovaginae* n'est pas modifié dans les variétés malgaches par rapport à la variété témoin sensible.

Le tableau 2 présente le pourcentage de plants bloqués au stade gonflement et au stade épiaison pour les plants inoculés et les témoins des 4 variétés testées.

Il met en évidence qu'identiquement à la variété témoin Cigalon les plants inoculés au stade épiaison des variétés malgaches sont bloqués de façon moins importante que ceux au stade gonflement. D'autre part, pour le stade gonflement aucune différence statistique n'existe entre les variétés malgaches et la variété témoin Cigalon, la valeur du Chi-2 étant de 0.82 pour un degré de liberté de 3 (Chi-2 théorique 5% = 7.815)

Nous recherchons à partir de la mesure du poids de 100 grains, du poids paniculaire et du pourcentage de stérilité à quantifier les pertes de production dues à la bactériose.

Les tableaux 3, 4 et 5 rapportent les résultats de ces mesures. Elles ne sont pas faites sur la variété témoin Cigalon car cette dernière présente une stérilité totale des grains aussi bien sur les plants témoins que sur ceux inoculés. Cette stérilité des témoins a sans aucun doute été provoquée par les températures froides (Nishiyama, 1984).

A partir de ces tableaux on peut avancer pour les variétés Rojofotsy et Tokambana que la bactériose n'agit pas sur le poids de 100 grains, mais qu'elle agit sur le poids paniculaire et sur le pourcentage de grains stériles.

D'autre part il nous montre que la bactériose n'agit qu'à partir du stade épiaison puisque pour la stérilité des grains ainsi que pour le poids paniculaire le stade exsertion donne les mêmes résultats que le témoin. De plus comme pour la taille des symptômes et le blocage le stade gonflement est le plus sensible.

Les 2 variétés ont statistiquement le même pourcentage moyen de grains stériles. Au contraire, pour le poids moyen paniculaire la variété Tokambana reste supérieure à Rojofotsy jusqu'au stade gonflement. Cette avantage peut s'expliquer par un poids paniculaire du témoin plus important.

### B.2.2 Conclusions :

Ce travail a donc permis de comparer les variétés malgaches tolérantes au champ et la variété témoin Cigalon pour le développement de la bactériose et ses conséquences et pour la résistance au froid.

Pour le développement de la maladie proprement dite, aucune différence notable n'existe entre les variétés malgaches tolérantes au champ et la variété sensible Cigalon.

Mais nous avons mis en évidence un point essentiel pour la compréhension des effets de la bactériose. En effet, un des problème rencontré au champ était de différencier la stérilité due au froid de la stérilité due à la bactériose. Les résultats de nos expérimentations montrent que ces 2 stérilités sont aisément dissociables. En effet, la stérilité due au froid observée sur les plants non inoculés de la variété témoin Cigalon ne s'accompagne d'aucun symptôme de type pourriture brune sur gaine ou sur grains et d'aucun blocage dans le développement du riz. Par contre la stérilité due à la

# CRIBLAGE VARIETAL

Tableau 3 :  
Poids moyen paniculaire (mg) pour les 2 variétés et les  
différents stades d'inoculation :

	ROJOFOTSY	TOKAMBANA	Chi-2
Inoculé Gonflement	350	400	3.3
Inoculé Epiaison	550	960	109
Inoculé Exsertion	900	1450	128
Témoin	850	1300	94.2

Tableau 4 :  
Poids de 100 grains (g) :

	ROJOFOTSY	TOKAMBANA
Témoin	2.2	2.6
Inoculé Gonflement	2.3	/
Inoculé Epiaison	2	2.4
Inoculé Exsertion	2.4	2.7

Tableau 5 :  
Pourcentage moyen de grains stériles :

	ROJOFOTSY	TOKAMBANA	Chi-2
Inoculé Gonflement	84%	91%	2.52
Inoculé Epiaison	43%	51%	0.58
Inoculé Exsertion	18%	16%	0.25
Témoin	15%	15%	0

## CRIBLAGE VARIETAL

bactériose des plants inoculés des variétés malgaches est associée à un blocage du développement et à une pourriture des gaines et des grains. Les témoins de ces variétés étant idemnes de toute stérilité la stérilité décrite n'a de cause que la bactériose. Il est intéressant de noter que les plants inoculés de la variété Cigalon présentent une stérilité due à la fois au froid et la bactériose. Dans ce dernier cas l'absence de témoins non inoculés ne nous aurait pas permis de connaître la cause de la stérilité.

Ces conclusions conduisent à trois hypothèses :

- 1) La première hypothèse a déjà été émise lors de précédents travaux (Jaunet, 1989) et suppose que la résistance réside dans la capacité des variétés malgaches à ralentir le développement épiphyte de la bactérie avant l'infection rendant ainsi la population d'inoculum primaire trop faible pour conduire à une infection.
- 2) Nous sommes peut-être en présence d'une vraie tolérance, c'est à dire, qu'aucune différence n'existe quant au développement de la maladie entre variétés tolérantes et variétés sensibles mais que cette différence n'apparaît que dans la production de ces variétés (Schafer, 1971).
- 3) La tolérance observé au champ ne résiderait pas dans une résistance à *Pseudomonas fuscovaginae* mais plutôt dans une résistance au froid. Cette hypothèse expliquerait qu'aucune différence de comportement entre variétés malgaches et variétés sensibles n'est été observée dans tous les tests effectués.

### B.3 Etude sur 258 variétés :

Cette étude a pour but de rechercher parmi un large échantillon d'origine géographique divers des variétés qui montreraient une résistance à *Pseudomonas fuscovaginae*.

#### B.3.1 Matériel et Méthode :

##### B.3.1.1 Matériel :

Les 258 variétés testées sont présentées dans l'annexe 4 avec leur nom courant et leur nombre ACC. Ces variétés font l'objet d'une étude approfondie par l'IRRI qui entre autre répertorie leur comportement aux maladies.

La figure 13 présente les effectifs de chaque groupe isozymique. Elle nous montre que les groupes les plus représentés sont les groupes 1 et 6, viennent ensuite les groupes 5, 2, 4 et 3.

La souche de *Pseudomonas fuscovaginae* testée est GR2.

##### B.3.1.2 Méthode :

10 plants de 3 semaines par variété sont inoculés par injection à la seringue d'environ 100 µl d'une suspension bactérienne à  $5.10^6$  ufc/ml.

Les lectures s'effectuent 7 jours après l'inoculation. Pour

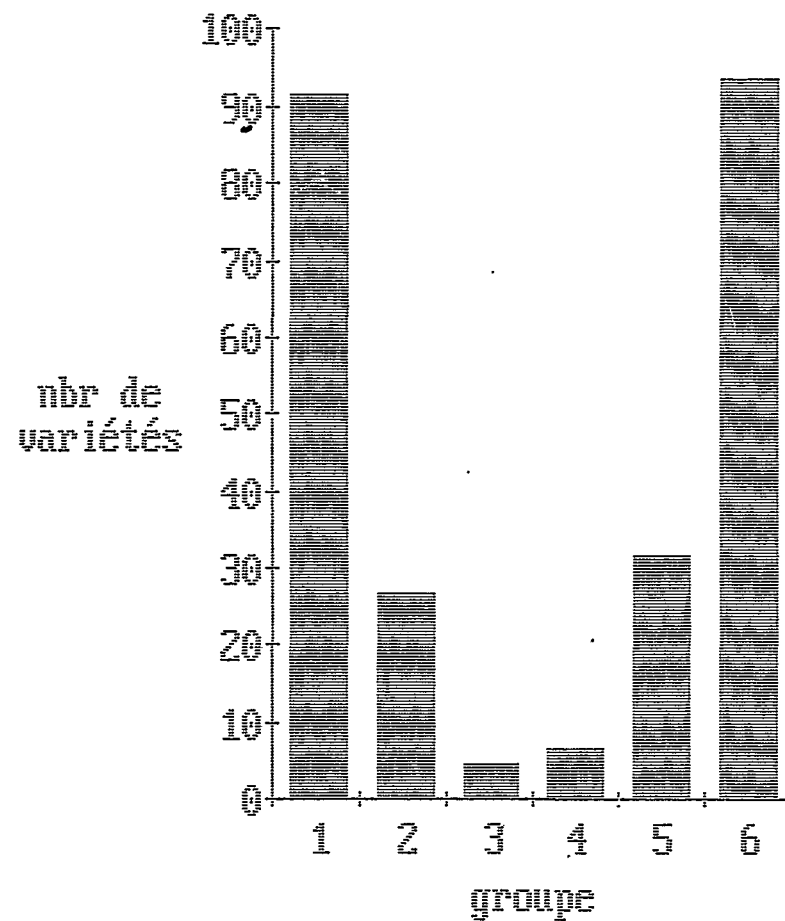


Figure 13 : Nombre de variétés  
par groupes isozymiques

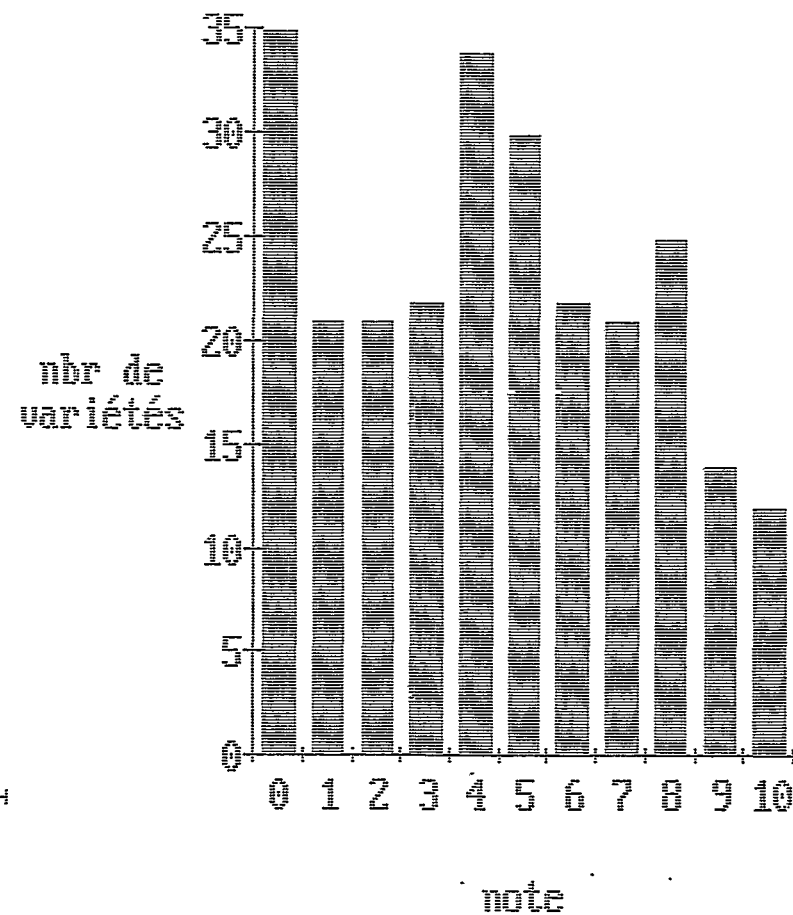


Figure 14 : Distribution du nombre de variétés  
en fonction du nombre de plants malades(note)

## CRIBLAGE VARIETAL

chaque variété le nombre de malades est comptabilisé. Ce nombre est assimilé à une note sur 10.

### B.3.2 Résultats et Discussion :

Les résultats généraux sont présentés dans l'annexe 5.

La figure 14 présente la distribution des notes pour toutes les variétés confondues. La moyenne de cette distribution est de 4. Il faut noter aussi que 14% des variétés (35) ne sont pas attaquées par le pathogène et que 25% (64) sont inférieures à la moyenne.

La figure 15 présentant pour chaque groupe la distribution du pourcentage de variétés en fonction de la note met en évidence que pour les groupes les plus représentés (6 et 1) cette distribution varie peu par rapport à la distribution générale. Pour le groupe 5 il semble qu'il y ait une distribution uniforme alors que pour le 2 les variétés se concentrent aux 2 extrêmes. Malgré le peu de variétés du groupe 3 (5) il est intéressant de noter qu'elles se situent toutes en dessous de la note 4.

Ces premiers résultats montrent donc que certaines variétés semblent résistantes à la bactériose. Il faudra les confirmer en testant ces 35 variétés sur un échantillon de plantules plus important afin de déterminer si cette résistance s'avère effective.



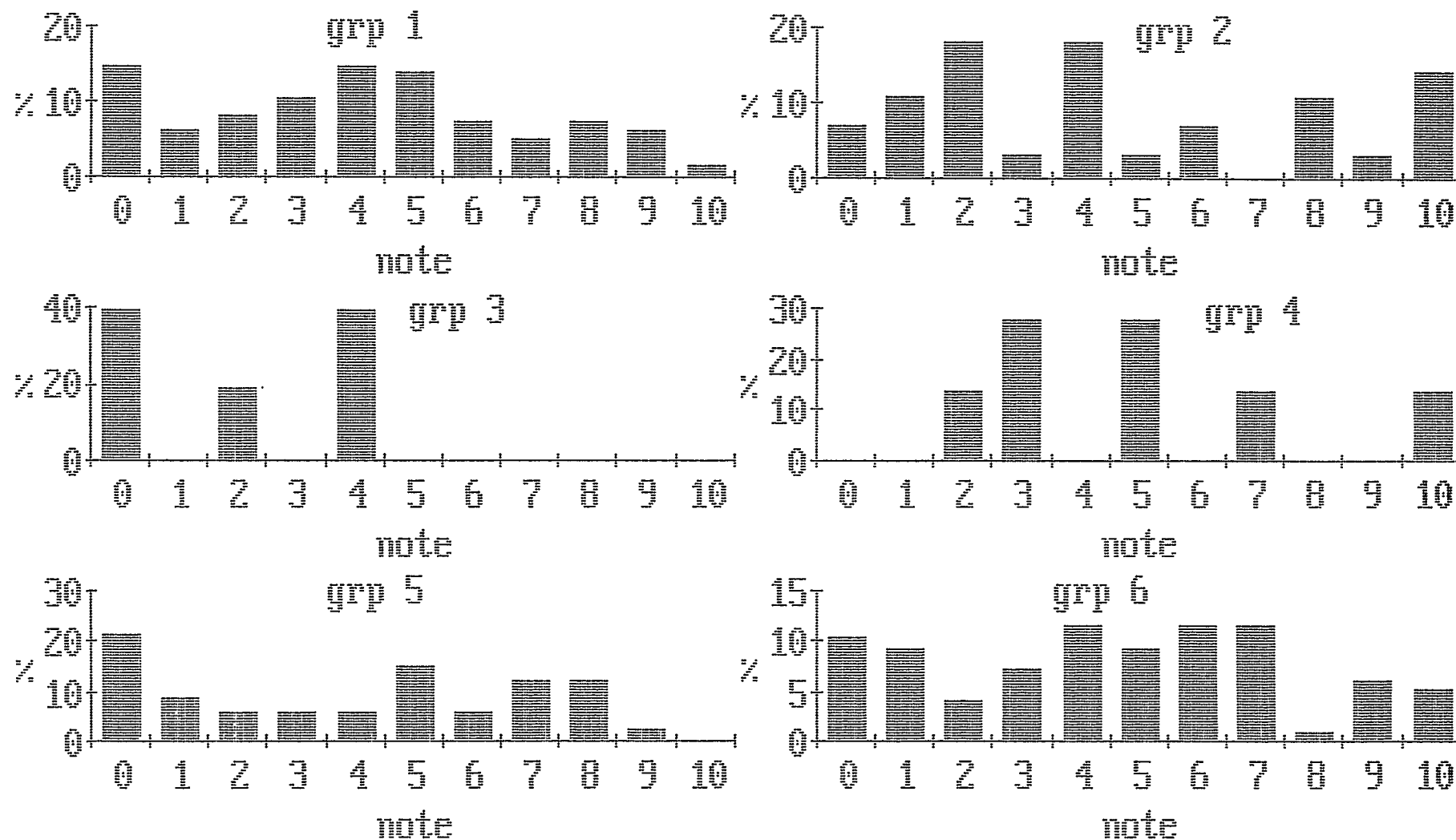


Figure 15 : Distribution du pourcentage de variétés en fonction du nombre de plants malades (note) pour chaque groupe isozymique.

## CONCLUSION

Cette étude nous a conduit tout d'abord à mettre au point un test sérologique ELISA qui montre de nombreux avantages par rapport à l'identification classique.

En effet, il permet de :

- \* faire le diagnostic directement à partir de broyat de gaine ou de grains montrant des symptômes de pourriture brune,
- \* de traiter un grand nombre d'échantillons (une soixantaine par plaque) frais ou conservés sur chlorure de calcium ,
- \* d'obtenir les résultats de ce diagnostic dans les 2 jours.

Il reste le problème de la grande spécificité du sérum utilisé, spécificité qui d'ailleurs se montre moins importante que pour le test d'agglutination. Mais ce problème pourra être résolu dans l'avenir par la production d'un serum polyvalent.

Le second problème traité dans cette étude fut le criblage variétal pour la tolérance à la bactériose. Nous n'avons pas réussi à mettre en évidence cette tolérance ni par mesure de la taille des symptômes sur plantules ni par l'étude du comportement des variétés aux stades proches de la floraison au froid. Mais ces expérimentation nous ont permis d'approfondir nos connaissances sur la maladie et de différencier la stérilité due au froid de celle due à la bactériose.

Par contre le test d'inoculation des 258 variétés a permis de mettre en évidence que 35 d'entre elles semblaient résistantes à la bactériose. Ce résultat devra être confirmé par une étude ultérieure et ces variétés testées au champ si cette résistance s'averait effective.

## BIBLIOGRAPHIE

Autrique A., Perraux D., Detry J.F., Bahama J.B., Mikokoro C., Tilquin J.P., Chapeaux J.P., 1989 : Etude des Contraintes Liées à la Riziculture d'Altitude et Développement de Variétés Adaptées à ces Conditions BURUNDI, Premier Rapport Semestriel, Bujumbura, chp 2.3.

Avrameas ,1969 : Coupling of Enzyme with Glutaraldehyde. Use of the Conjugate for Detection of Antigens and Antibodies, *Immunochemistry*, 6:43-52.

Barbara D.J., Clark M.F., 1986 : Immunoassays in Plant Pathology, in : *Immunology in Plant Science*, Cambridge, ed : Cambridge University Press T.L. Wang, pp 197-214.

Food and Agriculture Organization of the United States, 1970 : *Bulletin of Rice Terminology*, Rome, ed : Plant Production and Protection Division, Agricultural Services and Land and Water Development Division; FAO, Italy, 25p.

IBPGR-IRRI Rice Advisory Committee, 1980 : Descriptors for Rice, *Oryza sativa* L., Los Banos, ed : IRRI, 21 p.

Jaunet T., 1989 : Relation entre le Riz et *Pseudomonas fuscovaginae*, Agent de la Pourriture Brune de la Gaine, Rapport de DEA de Phytopathologie, 20p.

Miyajima K., 1983 : Studies on Bacterial Sheath Brown Rot of Rice Plant Caused by *Pseudomonas fuscovaginae* Tanii, Miyajima, Akita, Report Hokkaido Agricultural Experiment Station, n°43.

Nishiyama I., 1984 : Climatic Influence on Pollen Formation and Fertilization, Japan Sci. Press, Tokyo/Elsevier, Amsterdam, pp 153-171.

Rott P., Notteghem J.L, Honegger J., Ranomenjanahary S., 1989 : Diagnosis of Bacterial Sheath Brown Rot (*Pseudomonas fuscovaginae*), in : Abstracts of Papers and Posters, 7th International Conference on Pathogenic Bacteria, 11-16 June, Budapest, Hungary.

Schafer J.F., 1971 : Tolerance to Plant Disease, in : *Annual Review of Phytopathology*, Vol. 9, Palo Alto, ed : James G. Horsfall, pp 235-250.

Ternick Th., Avrameas S., 1987 : Techniques Immuno-enzymatiques, Paris, ed : Société Française d'Immunologie (INSERM), 100p.

Tijssen P., 1987 : Purification of Immunoglobulins and Preparation of Fab Fragments, in : *Practice and Theory of Enzyme Immunoassays*, Amsterdam, ed : Elsevier, pp 95-121.

Yoshida S., 1981 : Climatic Environment and its Influence, in : *Fundamentals of Rice Crop Science*, Los Banos, ed : IRRI, pp 65-109.

## ANNEXE 1

### ELISA INDIRECT SIMPLE SANDWICH SUR PLAQUE

- 1) Sensibilisation de la plaque avec 200  $\mu$ l des suspensions bactériennes dans du tampon carbonate pH9,6 aux dilutions voulues pendant 4h. à 37°C.
- 2) 4 lavages au PBSt : premier lavage sans trempage mais pour les 3 autres laisser tremper 1 minute.
- 3) Déposer 200  $\mu$ l de BSA à 3% et incuber 1h. à 37°C.
- 4) 4 lavages au PBSt (idem 2).
- 5) Déposer 200  $\mu$ l de sérum dilué dans du PBSt et incuber 1 nuit à 4°C.
- 6) 4 lavages au PBSt (idem 2).
- 7) Déposer 200  $\mu$ l de conjugué chèvre anti-lapin (SIGMA) dilué 1000 fois dans du PBSt et incuber 2h30 à 37°C.
- 8) 4 lavages (idem 2).
- 9) Déposer 200  $\mu$ l de PNPP (P.nitrophénylphosphate) (SIGMA) dilué dans du diéthanolamine (1 pastille pour 5ml de solvant).
- 10) Lecture à 405 nm dès que la coloration jaune apparaît (1/4 à 1/2 heures).

## TAMPON ELISA

### Tampon PBSt :

phosphate disodique	2,9 g
phosphate monopotassique	0,2 g
chlorure de potassium	0,2 g
chlorure de sodium	8 g
tween 20	0,5 ml
eau distillée	1000 ml
pH 7,3	

### Tampon CARBONATE :

carbonate disodique	1,6 g
carbonate monosodique	3 g
azide de sodium	0,2 g
eau distillée	1000 ml
pH 9,6	

### DIETHANOLAMINE :

98 ml amené à 800 ml avec eau distillée  
pH ajusté à 9,8 avec HCl  
compléter à 1000 ml  
azide de sodium 0,2 g

## PURIFICATION DES IGg

- 1) Réhydrater le sérum lyophilisé dans 1 ml d'eau distillée.
- 2) Laver la colonne Sépharose-Protéine A (SPA) par passage de PBS
- 3) Déposer 1,5 ml de sérum dilué au demi dans du tampon PBS sur la colonne
- 4) Exclusion des protéines non IGg par élution au PBS (vérification par spectrophotométrie à 254 nm)
- 5) Elution des IGg avec avec du tampon citrate de sodium pH3 par fractions de 600 µl.
- 6) Tamponner les fractions à pH 7-8 avec du Tris-HCl
- 7) Mesurer pour chaque fraction l'absorbance à 252 et 280 nm, le rapport 280/252 devant être compris entre 2,5 et 2,6
- 8) Faire le spectre d'absorbance entre 300 et 240 nm, le spectre caractéristique des IGg ayant son maximum à 280 nm et son minimum à 252 nm
- 9) Dialyser les fractions intéressantes pendant 24h. à 4°C en agitant dans du tampon PBS et en changeant de tampon 3 fois
- 10) Vérifier après dialyse les spectres et absorbance des fractions et les congeler à -20°C diluées au 1/2 dans du glycérol.

### Tampons de purification :

PBS : à 100 ml de NaCl 1,5 M ajouter 10 ml De tampon phosphate 1 M pH8 et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.  
Tampon phosphate : ajouter à une solution de phosphate de potassium bipotassique 1 M une solution de phosphate monopotassique 1 M jusqu'à obtention du pH désiré.

Citrate de sodium 0,1 M pH3 :

232,5 ml d'une solution d'acide citrique à 0,1 M  
(21,01 g/l)

17,5 ml d'une solution de citrate trisodique 0,1 M  
(29,41 g/l)

compléter à 500 ml

Tris-HCl 1 M pH 8,5 :

dissoudre 12,1 g de Tris dans 80 ml d'eau distillée  
ajuster le pH avec HCl 6 N

compléter à 100 ml

**ANNEXE 2****ELISA DIRECT DOUBLE SANDWICH**



## PREPARATION DU CONJUGUE

Enzyme : Phosphatase alcaline en solution ( Sigma P6774 )  
Utiliser 1,5 d'enzyme pour 1 d'IGg en poids.

Ajouter l'enzyme goutte à goutte aux IGg

Ajouter le volume d'une solution de glutaraldéhyde à 1 % pour obtenir une concentration finale de 0,06 % :

$$\text{Vol} = \text{vol}(\text{IGg} + \text{Phosphatase}) / 0,94$$

Incuber 6 heures à 20°C.

Dialyser 24 heures à 4°C dans 500 ml PBS en faisant 3 changements de tampon.

Ajouter 10 mg/ml de BSA et diluer au 1/2 au glycérol.

Conserver à -20°C.

## TEST SUR PLAQUE

- 1) Dépôt pendant 1 nuit à 4°C des IGg à 0,5 µg/ml dans du tampon carbonate
- 2) 4 lavages au PBSt
- 3) Dépôt pendant 1 heure de la BSA à 3 % dans le PBSt.
- 4) 4 lavages au PBSt.
- 5) Dépôt pendant 4 heures du jus de 0,2 g de gaines malades broyées dans 3 ml de PBSt.
- 6) 4 lavages au PBSt.
- 7) Dépôt pendant 1 nuit à 4°C du conjugué dilué au 1/1000 dans du PBSt.
- 8) 4 lavages au PBSt.
- 9) Dépôt du substrat dilué dans de l'éthanolamine à 37°C jusqu'à coloration.
- 10) Lecture au spectrophotomètre à 405 nm.

TEST SUR NITROCELLULOSE  
(Dot blot)

- 1) Dépôt de la membrane ( Millipore, diamètre de pore de 0,45  $\mu$ m) dans 15 ml de tampon carbonate à 0,5  $\mu$ g/ml d'IGg pendant 1 nuit à 4°C
- 2) 4 bains agités au PBSt
- 3) Dépôt de la membrane dans 15 ml de tampom PBSt à 3% de BSA pendant 1 heure à température ambiante.
- 4) 4 bains agités au PBSt.
- 5) Dépôt pendant 4 heures du jus de 0,2 g de gaines ou de grains malades broyés dans 3 ml de PBSt.
- 6) 4 bains agités au PBSt.
- 7) Dépôt de la membrane dans 15 ml de tampom PBSt à 1/1000 de conjugué pendant 1 nuit à 4°C.
- 8) 4 bains agités au PBSt.
- 9) Dépôt de la membrane dans 15ml d'éthanolamine à 1/500 de bêta-nitroblue tétrazolium (NBT) et 1/500 de 5-bromo-4chloro-3indolylphosphate (BCIP).
- 10) Après coloration (mauve) laver la membrane à l'eau et la faire sécher.

Préparation des substrats de la phosphatase alcaline :

NBT : dilué 75 mg/ml dans une solution de diméthylformamide à 70%.

BCIP : dilué 50 mg/ml dans du diméthylformamide pur.

**ANNEXE 3 :**

**AGGLUTINATION ET IMMUNOFLUORESCENCE**

#### AGGLUTINATION :

- 1) Faire une suspension bactérienne à la concentration de  $10^9$  ufc/ml dans de l'eau physiologique
- 2) Diluer le sérum au 1/100 dans de l'eau physiologique
- 3) Déposer 100  $\mu$ l de sérum (dilution au 1/200) et 100  $\mu$ l de suspension bactérienne dans un puits d'une plaque de microtitration
- 4) Agiter pendant 1h. à température ambiante
- 5) Lecture à 2h. et 24h
- 6) La réaction est positive si l'on observe une agglutination équivalente à celle du témoin positif.

#### IMMUNOFLUORESCENCE :

- 1) Déposer sur une lame multipuits 20  $\mu$ l d'une suspension bactérienne à  $10^7$  ufc/ml dans de l'eau physiologique tamponnée
- 2) Laisser sécher la lame
- 3) Fixer les bactéries par 3 passages de la lame à la flamme
- 4) Déposer 20  $\mu$ l de sérum dilué au 1/2000 dans de l'eau physiologique tamponnée
- 5) Laisser 30 mn à 37°C
- 6) Laver la lame par 2 trempages de 5 mn dans de l'eau physiologique tamponnée
- 7) Déposer les anticorps fluorescents anti-anticorps de lapin dilués au 1/200 dans de l'eau physiologique tamponnée
- 8) Laisser 30 mn à 37°C
- 9) Laver la lame par 2 trempages de 5 mn dans de l'eau physiologique tamponnée
- 10) Monter la lame sous lamelle avec de la glycérine tamponnée
- 11) Lire la lame sous microscope à UV.

**ANNEXE 4**

**258 VARIETES TESTEES**

## NOM DES VARIETES

## NOMBRE ACC

TAICHUNG NATIVE 1	0000105
NHTA5	0000186
NHTA10	0000191
AZUCENA	0000328
TA HUNG KU	0001107
HEI CHIAO CHUI LI HSIANG KENG	0001112
SHAN KIU JU	0001154
KEN CHIAO JU HSIAO LI	0001217
Y CHANG JU	0001254
REXORO	0001715
CAROLINA GOLD	0001723
HAGINOMAE MOCHI	0002540
KOTOBUKI MOCHI	0002545
RIKUTO KEMOCHI	0002719
DOURADO AGULHA	0003297
CO 25	0003697
IGUAPE CATETO	0004122
SHORT GRAIN	0005075
KAMENOO	0005295
KIBI	0005310
IM16	0005417
SINTANE DIOFOR	0005418
CAAWA/FORTUNA 6-103-15	0005441
PIN KAE0	0005803
DA7	0005809
DA9	0005854
DA5	0005855
DA13	0005857
PANKHARI 203	0005999
DA11	0006046
MAKALIOKA 34	0006087
FR13 A	0006144
CHITRAJ (DA23)	0006208
DA16	0006245
DA28	0006246
N22	0006264
ASD1	0006267
PTB9	0006274
T1	0006294
N12	0006298
PTB30	0006304
JHONA 349	0006307
CO18	0006231
PTB25	0006386
DAB	0006422
BASMATI 370	0006426
TRES MESES	0006464
BAMOIA 341	0006538
BHADOIA 233	0006541
BIRAIN 360	0006550
BAGUAMON 14	0006590
KARKATI 87	0006218
MADAEL	0007722
KALUKANTHA	0007755
MTU9	0007919
PRATAO	0007937
RTS4	0008177
RTS14	0008178
O-LUEN-CHEUNG	0008179
KIANG-CHOU-CHIU	0008180
MALAGKIT PIRURUTONG	0008182
PACHECHAI PERUMAL	0008188
MANSUKA	0008191
PADI HOJONG	0008192

KUN-MIN-TSIEN-HUNAN	0008195
KARASUKARA-SURANKASU	0008196
SAI-KUH	0008197
SOM CAU 70 A	0008227
TAM CAU 9 A	0008228
GIE 57	0008231
RTS5	0008233
RTS12	0008234
RTS16	0008235
PEH-KUH-TSAO-TU	0008237
PEH-KUH	0008238
HSIA-CHIOH-KEH-TU	0008240
EH-IA-CHIU	0008241
SHUANG-CHIANG	0008242
DAVAO	0008244
MACAN BINUNDOK	0008245
SURJAMKUI	0008256
OIRAN	0008257
PADI RAOEKANG	0008259
SERATOES HARI	0008260
PADI KASALLE	0008261
HU LO TAO	0008264
PEH-PI-NUO	0008266
PAGAIYAHAN	0008267
PAPPAKU	0008268
NABESHI	0008269
DHOLA AMAN (LOWLAND AMAN)	0008341
S 624 (AC398)	0008896
RATHUWEE	0008952
JC101	0009060
JC111	0009062
JC148	0009069
JC149	0009070
JC157	0009074
JC178	0009080
JC1	0009091
JC73-4	0009115
TD25	0009146
PADI BOENAR	0009147
JC 93	0009175
JC92	0009176
JC 91	0009177
JC120	0009178
JC117	0009179
JUMALI	0009542
CHIAM CHANH	0010214
IR8	0010320
IR5	0010321
CUBA 65	0010658
LAMBAYQUE 1	0010769
VARY VATO 462	0010964
ROJOFOTSY 738	0010969
FANDRAPOTSY 104	0010984
TSIPALA 421	0010989
AVO 742	0011000
MAINTIMOLOTSY 1226	0011010
OS4	0011335
NAM SA-GUI 19	0011462
MOROBEREKAN	0012048
ARC 10177	0012386
ARC 10317	0012430
ARC 10352	0012440
ARC 10497	0012485
DOM-SOFID	0012880
DOM-ZARD	0012881

GOMPA 2	0012894
KAKANI 2	0013373
JUMULA 2	0013375
TAOTHABI	0013746
LAC23	0014957
RT1031-69	0015092
63-104	0015100
THIERNO BANDE	0016009
PATE BLANC MN 1	0016073
CHUAN	0017051
CHUAN 4	0017052
HAIFUGOYA	0017054
N 22	0019379
IAC25	0019642
KERITING TINGGI	0019972
KINANDANG PATONG	0023364
KHAO DAM	0023385
KHAO KAP XANG	0023423
DAM	0023710
HAWN OM	0023729
MA HAE	0023754
SENG	0023776
MANA MURI	0023973
KHAO GAEW	0024224
KHAO HAWM	0024225
MIRITI	0025901
CANA ROXA	0025966
DOURADO PRECOCE (IAC 369)	0026011
ASWINA	0026289
BINULAWAN	0026872
BARAN BORO	0027509
DHOLI BORO	0027513
JAGLI BORO	0027516
TEPI BORO	0027519
RAYADA 16-03	0027589
RAYADA 16-04	0027590
R16-05	0027591
RAYADA 16-06	0027592
R16-07	0027593
DARMALI	0027630
KAW LUYOENG	0027716
KHAO DAWK MALI 105	0027748
LEUANG PRATEW	0027762
BASMATI 1	0027798
CHAHORA 144	0027869
JHONA 26	0027967
IRAT 13	0028508
CHAIING RONEAL	0029726
CHAMPA TONG 54	0030238
RATHAL	0031524
RATHAL	0031525
DOMSIAH	0032292
GERDEH	0032301
GHARIB	0032303
GHARIB	0032306
TCHAMPA	0032362
TCHAMPA	0032368
ABRI	0032380
DANGREY	0032388
DAWASAN (RED)	0032389
FARANGEY	0032390
PHUDUGEY	0032399
YANGKUM (RED)	0032406
GEMJYA JYANAM	0032411
NP 125	0032559
DULAR	0032561
KATAY...	



PETA	0032571
TETEP	0032576
GAUKKYI	0033074
GWA NGASEIN	0033085
INDANE	0033130
KAULLYI ANI	0033188
KAUKKYI ANI	0033189
KAUKKISAW	0033192
YELAİK MEEDON	0033888
BABER	0033984
MATIA AMAN 53-13	0037764
NPE 253	0038690
NPE 417	0038692
NPE 826	0038694
NPE 835	0038696
NPE 844	0038698
BICO BRANCO	0038994
FIROOZ	0039261
AİCHI ASAHI	0040252
BLACK GORA (NCS 12)	0040275
PIN TAWNG	0040673
NEP HOA VANG	0040748
ARC 13829	0042469
ARANG	0043322
ARIAS	0043325
CERE AIR	0043369
CICİH BETON	0043372
GOGO LEMPUK	0043394
GOTAK GATİK	0043397
İL İS AIR	0043400
PATİK	0043530
PELİTA JANGGUT	0043540
POPOT 165	0043545
TREMBESE	0043675
BADKALAMKATI	0045011
DAI	0045624
KALAMKATI	0045975
LAL AMAN	0046202
PATNAI 23	0046531
GOAI	0049189
DE ABRİL	0050463
LAGEADO	0050490
PACHOLINHA	0050531
SİNNA SİTHİNA KALİ	0051064
AI-CHIAO-HONG	0051250
GUAN-YIN-TSAN	0051300
PA-TOU-HUNG	0051400
BASMATI 217	0053637
AEDAL	0055441
BEONJO	0055457
CHODONGJI	0055471
DEOKJEOKJODO	0055491
HUEKGYEONG	0055530
PATBYEO	0055607
CHAU	0056036
BAGHLANI NANGARHAR	0058266
GHATI KAMMA NANGARHAR	0058278
LUK TAKHAR	0058286
BASMATI LAMO	0058130
CHHOTE DHAN	0058130

ANNEXE 5

RESULTATS DU TEST SUR 258 VARIETES

NOM DES VARIETES	NOTE/10	GROUPE	ORIGINE
BADKALAMKATI	/	1	113
SAI-KUH	00	1	02C
PA-TOU-HUNG	00	1	02C
JC 93	00	1	042
JC117	00	1	042
PADI HOJONG	00	1	044
IR8	00	1	073
KHAO GAEW	00	1	086
SINTANE DIOFOR	00	1	093
RTS14	00	1	097
SOM CAU 70 A	00	1	097
TAM CAU 9 A	00	1	097
DA9	00	1	113
BAGUAMON 14	00	1	113
LAL AMAN	00	1	113
DA28	00	2	113
BARAN BORO	00	2	113
TAOTHABI	00	3	042
BAMOIA 341	00	3	113
DOURADO PRECOCE (IAC 369)	00	5	009
JC157	00	5	042
TCHAMPA	00	5	045
DA13	00	5	113
KAULLYI ANI	00	5	113
FARANGEY	00	5	115
PHUDUGEY	00	5	115
CANA ROXA	00	6	009
RATHAL	00	6	017
EH-IA-CHIU	00	6	021
RIKUTO KEMOCHI	00	6	050
PATBYEO	00	6	053
JUMALI	00	6	063
JUMULA 2	00	6	063
DAM	00	6	086
DANGREY	00	6	113
GEMJYA JYANAM	00	6	115
RATHUWEE	01	1	017
TAICHUNG NATIVE 1	01	1	021
HSIA-CHIOH-KEH-TU	01	1	021
SHUANG-CHIANG	01	1	021
TSIPALA 421	01	1	056
DA5	01	1	113
BIRAIN 360	01	1	113
N22	01	2	042
JHONA 349	01	2	042
DULAR	01	2	042
JC1	01	5	042
MANA MURI	01	5	063
ABRI	01	5	115
CAAWA/FORTUNA 6-103-15	01	6	
PRATAO	01	6	009
KARASUKARA-SURANKASU	01	6	021
KHAO DAM	01	6	054
NPE 835	01	6	067
HAWN OM	01	6	086
REXORO	01	6	092
DAWASAN (RED)	01	6	115
YANGKUM (RED)	01	6	115
MADAEL	02	1	017
O-LUEN-CHEUNG	02	1	021
PEH-KUH	02	1	021

IM16	02	1	093
RTS16	02	1	097
DHOLA AMAN (LOWLAND AMAN)	02	1	113
JC148	02	2	042
SURJAMKUHI	02	2	113
DHOLI BORO	02	2	113
JAGLI BORO	02	2	113
TEPI BORO	02	2	113
GOAI	02	3	113
RAYADA 16-04	02	4	113
JC111	02	5	042
JC73-4	02	5	042
DOURADO AGULHA	02	6	009
INDANE	02	6	013
IGUAPE CATETO	02	6	036
NPE 844	02	6	067
AI-CHIAO-HONG	03	1	020
JC92	03	1	042
JC 91	03	1	042
1R5	03	1	073
THIERNO BANDE	03	1	080
KHAO DAWK MALI 105	03	1	086
RTS4	03	1	097
GIE 57	03	1	097
CHITRAJ (DA23)	03	1	113
DA1	03	1	113
N 22	03	2	042
R16-07	03	4	007
RAYADA 16-03	03	4	113
YELAIK MEEDON	03	5	013
FIROOZ	03	5	045
IAC25	03	6	009
KEN CHIAO JU HSIAO LI	03	6	020
NABESHI	03	6	021
CICIH BETON	03	6	044
KIBI	03	6	050
CHODONGJI	03	6	053
NPE 826	03	6	067
IL IS AIR	04	1	
GAUKKYI	04	1	013
GWA NGASEIN	04	1	013
KALUKANTHA	04	1	017
SERATOES HARI	04	1	044
CERE AIR	04	1	044
PATIK	04	1	044
PELITA JANGGUT	04	1	044
MAKALIOKA 34	04	1	056
ROJOFOTSY 738	04	1	056
AVO 742	04	1	056
PIN KAE0	04	1	086
RTS5	04	1	097
PATNAI 23	04	1	113
ARC 10352	04	2	042
BLACK GORA (NCS 12)	04	2	042
KALAMKATI	04	2	042
DAB	04	2	113
MIRITI	04	2	113
BHADOIA 233	04	3	113
ASWINA	04	3	113
JC101	04	5	042
CHAHORA 144	04	5	067
RATHAL	04	6	017
Y CHANG JU	04	6	020
CHUAN 4	04	6	021
HAIFUGOYA	04	6	021

MANSUKA	04	6	050
OIRAN	04	6	050
LAC23	04	6	055
MAINTIMOLOTSY 1226	04	6	056
LAMBAYQUE 1	04	6	072
63-104	04	6	080
LAGEADO	05	1	009
JC120	05	1	042
PADI RAOEKANG	05	1	044
VARY VATO 462	05	1	056
FANDRAPOTSY 104	05	1	056
CHHOTE DHAN	05	1	063
TD25	05	1	086
KAW LUYOENG	05	1	086
LEUANG PRATEW	05	1	086
TETEP	05	1	097
CHAU	05	1	097
DA7	05	1	113
KARKATI 87	05	1	113
ARC 10317	05	2	042
T1	05	4	042
RAYADA 16-06	05	4	113
ARC 13829	05	5	042
MEHR	05	5	045
DOMSIAH	05	5	045
DARMALI	05	5	063
BASMATI 1	05	5	067
TRES MESES	05	6	009
SHAN KIU JU	05	6	020
CUBA 65	05	6	024
KERITING TINGGI	05	6	044
ARIAS	05	6	044
GERDEH	05	6	045
HAGINOMAE MOCHI	05	6	050
AZUCENA	05	6	073
OS4	05	6	098
KUN-MIN-TSIEN-HUNAN	06	1	020
PTB25	06	1	042
MTU9	06	1	042
POPOT 165	06	1	044
CHAMPA TONG 54	06	1	086
PIN TAWNG	06	1	086
DA11	06	1	113
NP 125	06	2	042
KATAKTARA DA 65	06	2	113
N12	06	5	042
JC149	06	5	042
RT1031-69	06	6	006
BICO BRANCO	06	6	009
GOMPA 2	06	6	042
BABER	06	6	042
PADI KASALLE	06	6	044
GOGO LEMPUK	06	6	044
AICHI ASAHI	06	6	050
NPE 253	06	6	067
KINANDANG PATONG	06	6	073
SENG	06	6	086
PATE BLANC MN 1	06	6	103
CO 25	07	1	042
PETA	07	1	044
ARANG	07	1	044
SHORT GRAIN	07	1	086
NAM SA-GUI 19	07	1	086
MATIA AMAN 53-13	07	4	113
KAUKKISAW	07	5	013

BASMATI 217	07	5	042
BASMATI 370	07	5	067
BAGHLANI NANGARHAR	07	6	001
LUK TAKHAR	07	6	001
PACHOLINHA	07	6	009
PADI BOENAR	07	6	044
GHARIB	07	6	045
KOTOBUKI MOCHI	07	6	050
DEOKJEOKJODO	07	6	053
KHAO KAP XANG	07	6	054
NPE 417	07	6	067
DAVAO	07	6	073
IRAT 13	07	6	103
DE ABRIL	08	1	009
KAUKKYI ANI	08	1	013
SINNA SITHINA KALI	08	1	017
GUAN-YIN-TSAN	08	1	020
CO18	08	1	042
MACAN BINUNDOK	08	1	073
CHIEM CHANH	08	1	097
GHATI KAMMA NANGARHAR	08	2	001
ARC 10177	08	2	042
DA16	08	2	113
ARC 10497	08	5	042
DOM-SOFID	08	5	045
GHARIB	08	5	045
BASMATI LAMO	08	5	063
TA HUNG KU	08	6	020
HEI CHIAO CHUI LI HSIANG KENG	08	6	020
HU LO TAO	08	6	020
PEH-PI-NUO	08	6	020
NHTA10	08	6	042
GOTAK GATIK	08	6	044
AEDAL	08	6	053
BEONJO	08	6	053
MALAGKIT PIRURUTONG	08	6	073
BINULAWAN	08	6	073
CAROLINA GOLD	08	6	092
PACHECHAI PERUMAL	09	1	017
KIANG-CHOU-CHIU	09	1	021
PEH-KUH-TSAO-TU	09	1	021
ASD1	09	1	042
PTB9	09	1	042
KHAO HAWM	09	1	086
JC178	09	2	042
DOM-ZARD	09	5	045
CHAING RONEAL	09	6	014
PAGAIYAHAN	09	6	021
CHUAN	09	6	021
MOROBEREKAN	09	6	034
NHTA5	09	6	042
KAKANI 2	09	6	063
PAPPAKU	10	1	021
RTS12	10	1	097
JHONA 26	10	2	
FR13 A	10	2	042
PTB30	10	2	042
TCHAMPA	10	2	045
R16-05	10	4	005
TA MAC TSAO	10	6	020
KAMENOO	10	6	050
HUEKGYEONG	10	6	053
MA HAE	10	6	086
NEP HOA VANG	10	6	097

BASMATI 217	07	5	042
BASMATI 370	07	5	067
BAGHLANI NANGARHAR	07	6	001
LUK TAKHAR	07	6	001
PACHOLINHA	07	6	009
PADI BOENAR	07	6	044
GHARIB	07	6	045
KOTOBUKI MOCHI	07	6	050
DEOKJEOKJODO	07	6	053
KHAO KAP XANG	07	6	054
NPE 417	07	6	067
DAVAO	07	6	073
IRAT 13	07	6	103
DE ABRIL	08	1	009
KAUKKYI ANI	08	1	013
SINNA SITHINA KALI	08	1	017
GUAN-YIN-TSAN	08	1	020
CO18	08	1	042
MACAN BINUNDOK	08	1	073
CHIAM CHANH	08	1	097
GHATI KAMMA NANGARHAR	08	2	001
ARC 10177	08	2	042
DA16	08	2	113
ARC 10497	08	5	042
DOM-SOFID	08	5	045
GHARIB	08	5	045
BASMATI LAMO	08	5	063
TA HUNG KU	08	6	020
HEI CHIAO CHUI LI HSIANG KENG	08	6	020
HU LO TAO	08	6	020
PEH-PI-NUO	08	6	020
NHTA10	08	6	042
GOTAK GATIK	08	6	044
AEDAL	08	6	053
BEONJO	08	6	053
MALAGKIT PIRURUTONG	08	6	073
BINULAWAN	08	6	073
CAROLINA GOLD	08	6	092
PACHECHAI PERUMAL	09	1	017
KIANG-CHOU-CHIU	09	1	021
PEH-KUH-TSAO-TU	09	1	021
ASD1	09	1	042
PTB9	09	1	042
KHAO HAWM	09	1	086
JC178	09	2	042
DOM-ZARD	09	5	045
CHAING RONEAL	09	6	014
PAGAIYAHAN	09	6	021
CHUAN	09	6	021
MOROBBEREKAN	09	6	034
NHTA5	09	6	042
KAKANI 2	09	6	063
PAPPAKU	10	1	021
RTS12	10	1	097
JHONA 26	10	2	
FR13 A	10	2	042
PTB30	10	2	042
TCHAMPA	10	2	045
R16-05	10	4	005
TA MAC TSAO	10	6	020
KAMENOO	10	6	050
HUEKGYEONG	10	6	053
MA HAE	10	6	086
NEP HOA VANG	10	6	097

IM16	02	1	093
RTS16	02	1	097
DHOLA AMAN (LOWLAND AMAN)	02	1	113
JC148	02	2	042
SURJAMKUHI	02	2	113
DHOLI BORO	02	2	113
JAGLI BORO	02	2	113
TEPI BORO	02	2	113
GOAI	02	3	113
RAYADA 16-04	02	4	113
JC111	02	5	042
JC73-4	02	5	042
DOURADO AGULHA	02	6	009
INDANE	02	6	013
IGUAPE CATETO	02	6	036
NPE 844	02	6	067
AI-CHIAO-HONG	03	1	020
JC92	03	1	042
JC 91	03	1	042
IR5	03	1	073
THIERNO BANDE	03	1	080
KHAO DAWK MALI 105	03	1	086
RTS4	03	1	097
GIE 57	03	1	097
CHITRAJ (DA23)	03	1	113
DA1	03	1	113
N 22	03	2	042
R16-07	03	4	007
RAYADA 16-03	03	4	113
YELAIAK MEEDON	03	5	013
FIROOZ	03	5	045
IAC25	03	6	009
KEN CHIAO JU HSIAO LI	03	6	020
NABESHI	03	6	021
CICIH BETON	03	6	044
KIBI	03	6	050
CHODONGJI	03	6	053
NPE 826	03	6	067
IL IS AIR	04	1	
GAUKKYI	04	1	013
GWA NGASEIN	04	1	013
KALUKANTHA	04	1	017
SERATOES HARI	04	1	044
CERE AIR	04	1	044
PATIK	04	1	044
PELITA JANGGUT	04	1	044
MAKALIOKA 34	04	1	056
ROJOFOTSY 738	04	1	056
AVO 742	04	1	056
PIN KAE0	04	1	086
RTS5	04	1	097
PATNAI 23	04	1	113
ARC 10352	04	2	042
BLACK GORA (NCS 12)	04	2	042
KALAMKATI	04	2	042
DAB	04	2	113
MIRITI	04	2	113
BHADOIA 233	04	3	113
ASWINA	04	3	113
JC101	04	5	042
CHAHORA 144	04	5	067
RATHAL	04	6	017
Y CHANG JU	04	6	020
CHUAN 4	04	6	021
HAIFUGOYA	04	6	021



MANSUKA	04	6	050
OIRAN	04	6	050
LAC23	04	6	055
MAINTIMOLOTSY 1226	04	6	056
LAMBAYQUE 1	04	6	072
63-104	04	6	080
LAGEADO	05	1	009
JC120	05	1	042
PADI RAOEKANG	05	1	044
VARY VATO 462	05	1	056
FANDRAPOTSY 104	05	1	056
CHHOTE DHAN	05	1	063
TD25	05	1	086
KAW LUYOENG	05	1	086
LEUANG PRATEW	05	1	086
TETEP	05	1	097
CHAU	05	1	097
DA7	05	1	113
KARKATI 87	05	1	113
ARC 10317	05	2	042
T1	05	4	042
RAYADA 16-06	05	4	113
ARC 13829	05	5	042
MEHR	05	5	045
DOMSIAH	05	5	045
DARMALI	05	5	063
BASMATI 1	05	5	067
TRES MESES	05	6	009
SHAN KIU JU	05	6	020
CUBA 65	05	6	024
KERITING TINGGI	05	6	044
ARIAS	05	6	044
GERDEH	05	6	045
HAGINOMAE MOCHI	05	6	050
AZUCENA	05	6	073
OS4	05	6	098
KUN-MIN-TSIEN-HUNAN	06	1	020
PTB25	06	1	042
MTU9	06	1	042
POPOT 165	06	1	044
CHAMPA TONG 54	06	1	086
PIN TAWNG	06	1	086
DA11	06	1	113
NP 125	06	2	042
KATAKTARA DA 65	06	2	113
N12	06	5	042
JC149	06	5	042
RT1031-69	06	6	006
BICO BRANCO	06	6	009
GOMPA 2	06	6	042
BABER	06	6	042
PADI KASALLE	06	6	044
GOGO LEMPUK	06	6	044
AICHI ASAHI	06	6	050
NPE 253	06	6	067
KINANDANG PATONG	06	6	073
SENG	06	6	086
PATE BLANC MN 1	06	6	103
CO 25	07	1	042
PETA	07	1	044
ARANG	07	1	044
SHORT GRAIN	07	1	086
NAM SA-GUI 19	07	1	086
MATIA AMAN 53-13	07	4	113
KAUKKISAW	07	5	013

NOM DES VARIETES	NOTE/10	GROUPE	ORIGINE
BADKALAMKATI	/	1	113
SAI-KUH	00	1	020
PA-TOU-HUNG	00	1	021
JC 93	00	1	042
JC117	00	1	042
PADI HOJONG	00	1	042
IR8	00	1	071
KHAO GAEW	00	1	086
SINTANE DIOFOR	00	1	092
RTS14	00	1	092
SOM CAU 70 A	00	1	097
TAM CAU 9 A	00	1	097
DA9	00	1	111
BAGUAMON 14	00	1	111
LAL AMAN	00	1	113
DA28	00	2	111
BARAN BORO	00	2	111
TAOTHABI	00	3	042
BAMOIA 341	00	3	113
DOURADO PRECOCE (IAC 369)	00	5	001
JC157	00	5	041
TCHAMPA	00	5	045
DA13	00	5	111
KAULLYI ANI	00	5	111
FARANGEY	00	5	115
PHUDUGEY	00	5	115
CANA ROXA	00	6	001
RATHAL	00	6	011
EH-IA-CHIU	00	6	021
RIKUTO KEMOCHI	00	6	051
PATBYEO	00	6	051
JUMALI	00	6	063
JUMULA 2	00	6	063
DAM	00	6	080
DANGREY	00	6	113
GEMJYA JYANAM	00	6	115
RATHUWEE	01	1	011
TAICHUNG NATIVE 1	01	1	021
HSIA-CHIOH-KEH-TU	01	1	021
SHUANG-CHIANG	01	1	021
TSIPALA 421	01	1	050
DA5	01	1	113
BIRAIN 360	01	1	113
N22	01	2	042
JHONA 349	01	2	042
DULAR	01	2	042
JC1	01	5	042
MANA MURI	01	5	063
ABRI	01	5	115
CAAWA/FORTUNA 6-103-15	01	6	
PRATAO	01	6	009
KARASUKARA-SURANKASU	01	6	021
KHAO DAM	01	6	054
NPE 835	01	6	067
HAWN OM	01	6	086
REXORO	01	6	092
DAWASAN (RED)	01	6	115
YANGKUM (RED)	01	6	115
MADAEL	02	1	017
O-LUEN-CHEUNG	02	1	021
PEH-KUH	02	1	021

PETA	0032571
TETEP	0032576
GAUKKYI	0033074
GWA NGASEIN	0033085
INDANE	0033130
KAULLYI ANI	0033188
KAUKKYI ANI	0033189
KAUKKISAW	0033192
YELAİK MEEDON	0033888
BABER	0033984
MATIA AMAN 53-13	0037764
NPE 253	0038690
NPE 417	0038692
NPE 826	0038694
NPE 835	0038696
NPE 844	0038698
BICO BRANCO	0038994
FIROOZ	0039261
AICHI ASAHI	0040252
BLACK GORA (NCS 12)	0040275
PIN TAWNG	0040673
NEP HOA VANG	0040748
ARC 13829	0042469
ARANG	0043322
ARIAS	0043325
CERE AIR	0043369
CICIH BETON	0043372
GOGO LEMPUK	0043394
GOTAK GATIK	0043397
IL IS AIR	0043400
PATIK	0043530
PELITA JANGGUT	0043540
POPOT 165	0043545
TREMBESE	0043675
BADKALAMKATI	0045011
DA1	0045624
KALAMKATI	0045975
LAL AMAN	0046202
PATNAI 23	0046531
GOAI	0049189
DE ABRIL	0050463
LAGEADO	0050490
PACHOLINHA	0050531
SINNA SITHINA KALI	0051064
AI-CHIAO-HONG	0051250
GUAN-YIN-TSAN	0051300
PA-TOU-HUNG	0051400
BASMATI 217	0053637
AEDAL	0055441
BEONJO	0055457
CHODONGJI	0055471
DEOKJEOKJODO	0055491
HUEKGYEONG	0055530
PATBYEO	0055607
CHAU	0056036
BAGHLANI NANGARHAR	0058266
GHATI KAMMA NANGARHAR	0058278
LUK TAKHAR	0058286
BASMATI LAMO	0058130
CHHOTE DHAN	0058130

GOMPA 2	0012894
KAKANI 2	0013373
JUMULA 2	0013375
TAOTHABI	0013746
LAC23	0014957
RT1031-69	0015092
63-104	0015100
THIERNO BANDE	0016009
PATE BLANC MN 1	0016073
CHUAN	0017051
CHUAN 4	0017052
HAIFUGOYA	0017054
N 22	0019379
IAC25	0019642
KERITING TINGGI	0019972
KINANDANG PATONG	0023364
KHAO DAM	0023385
KHAO KAP XANG	0023423
DAM	0023710
HAWN OM	0023729
MA HAE	0023754
SENG	0023776
MANA MURI	0023973
KHAO GAEW	0024224
KHAO HAWM	0024225
MIRITI	0025901
CANA ROXA	0025966
DOURADO PRECOCE (IAC 369)	0026011
ASWINA	0026289
BINULAWAN	0026872
BARAN BORO	0027509
DHOLI BORO	0027513
JAGLI BORO	0027516
TEPI BORO	0027519
RAYADA 16-03	0027589
RAYADA 16-04	0027590
R16-05	0027591
RAYADA 16-06	0027592
R16-07	0027593
DARMALI	0027630
KAW LUYOENG	0027716
KHAO DAWK MALI 105	0027748
LEUANG PRATEW	0027762
BASMATI 1	0027798
CHAHORA 144	0027869
JHONA 26	0027967
IRAT 13	0028508
CHAING RONEAL	0029726
CHAMPA TONG 54	0030238
RATHAL	0031524
RATHAL	0031525
DOMSIAH	0032292
GERDEH	0032301
GHARIB	0032303
GHARIB	0032306
TCHAMPA	0032362
TCHAMPA	0032368
ABRI	0032380
DANGREY	0032388
DAWASAN (RED)	0032389
FARANGEY	0032390
PHUDUGEY	0032399
YANGKUM (RED)	0032406
GEMJYA JYANAM	0032411
NP 125	0032559
DULAR	0032561
KATAYU	

KUN-MIN-TSIEN-HUNAN	0008195
KARASUKARA-SURANKASU	0008196
SAI-KUH	0008197
SOM CAU 70 A	0008227
TAM CAU 9 A	0008228
GIE 57	0008231
RTS5	0008233
RTS12	0008234
RTS16	0008235
PEH-KUH-TSAO-TU	0008237
PEH-KUH	0008238
HSIA-CHIOH-KEH-TU	0008240
EH-IA-CHIU	0008241
SHUANG-CHIANG	0008242
DAVAO	0008244
MACAN BINUNDOK	0008245
SURJAMKUHI	0008256
OIRAN	0008257
PADI RAOEKANG	0008259
SERATOES HARI	0008260
PADI KASALLE	0008261
HU LO TAO	0008264
PEH-PI-NUO	0008266
PAGAIYAHAN	0008267
PAPPAKU	0008268
NABESHI	0008269
DHOLA AMAN (LOWLAND AMAN)	0008341
S 624 (AC398)	0008896
RATHUWEE	0008952
JC101	0009060
JC111	0009062
JC148	0009069
JC149	0009070
JC157	0009074
JC178	0009080
JC1	0009091
JC73-4	0009115
TD25	0009146
PADI BOENAR	0009147
JC 93	0009175
JC92	0009176
JC 91	0009177
JC120	0009178
JC117	0009179
JUMALI	0009542
CHIAM CHANH	0010214
IR8	0010320
IR5	0010321
CUBA 65	0010658
LAMBAYQUE 1	0010769
VARY VATO 462	0010964
ROJOFOTSY 738	0010969
FANDRAPOTSY 104	0010984
TSIPALA 421	0010989
AVO 742	0011000
MAINTIMOLOTSY 1226	0011010
OS4	0011335
NAM SA-GUI 19	0011462
MOROBEREKAN	0012048
ARC 10177	0012386
ARC 10317	0012430
ARC 10352	0012440
ARC 10497	0012485
DOM-SOFID	0012880
DOM-ZARD	0012881

## NOM DES VARIETES

NOMBRE ACC

TAICHUNG NATIVE 1	0000105
NHTA5	0000186
NHTA10	0000191
AZUCENA	0000328
TA HUNG KU	0001107
HEI CHIAO CHUI LI HSIANG KENG	0001112
SHAN KIU JU	0001154
KEN CHIAO JU HSIAO LI	0001217
Y CHANG JU	0001254
REXORO	0001715
CAROLINA GOLD	0001723
HAGINOMAE MOCHI	0002540
KOTOBUKI MOCHI	0002545
RIKUTO KEMOCHI	0002719
DOURADO AGULHA	0003297
CO 25	0003697
IGUAPE CATETO	0004122
SHORT GRAIN	0005075
KAMENOO	0005295
KIBI	0005310
IM16	0005417
SINTANE DIOFOR	0005418
CAAWA/FORTUNA 6-103-15	0005441
PIN KAE0	0005803
DA7	0005809
DA9	0005854
DA5	0005855
DA13	0005857
PANKHARI 203	0005999
DA11	0006046
MAKALIOKA 34	0006087
FR13 A	0006144
CHITRAJ (DA23)	0006208
DA16	0006245
DA28	0006246
N22	0006264
ASD1	0006267
PTB9	0006274
T1	0006294
N12	0006298
PTB30	0006304
JHONA 349	0006307
CO18	0006231
PTB25	0006386
DAB	0006422
BASMATI 370	0006426
TRES MESES	0006464
BAMOIA 341	0006538
BHADOIA 233	0006541
BIRAIN 360	0006550
BAGUAMON 14	0006590
KARKATI 87	0006218
MADAEL	0007722
KALUKANTHA	0007755
MTU9	0007919
PRATAO	0007937
RTS4	0008177
RTS14	0008178
O-LUEN-CHEUNG	0008179
KIANG-CHOU-CHIU	0008180
MALAGKIT PIRURUTONG	0008182
PACHECHAI PERUMAL	0008188
MANSUKA	0008191
PADI HOJONG	0008192

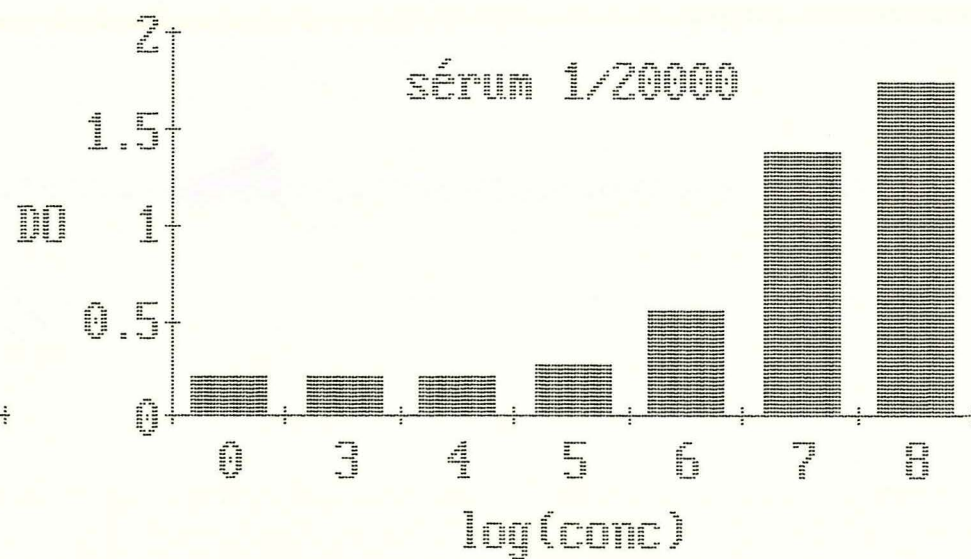
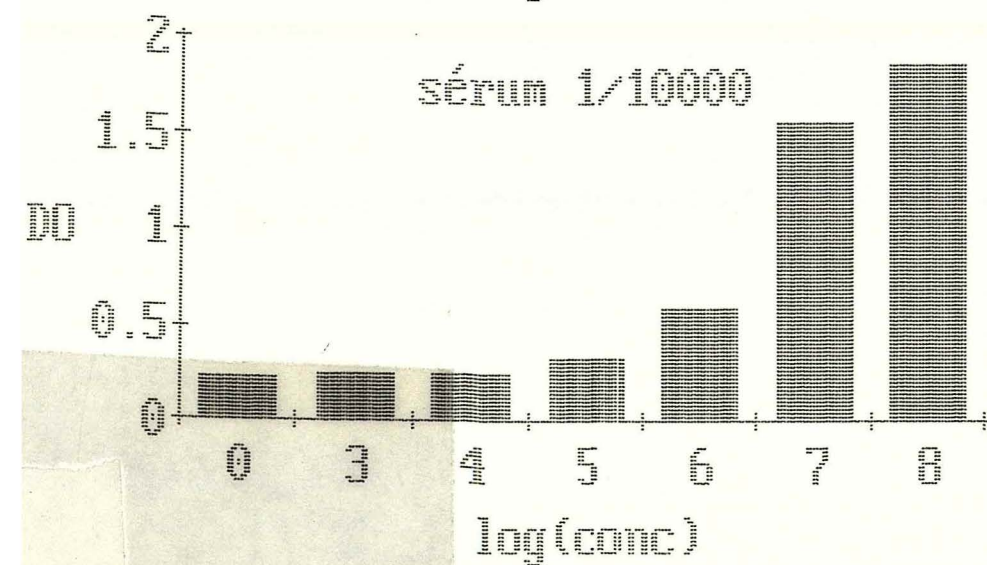
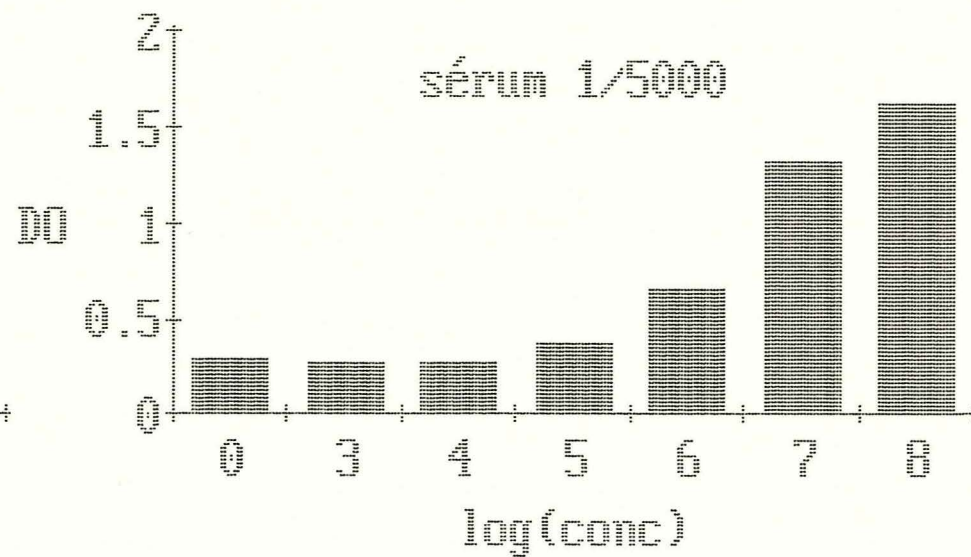
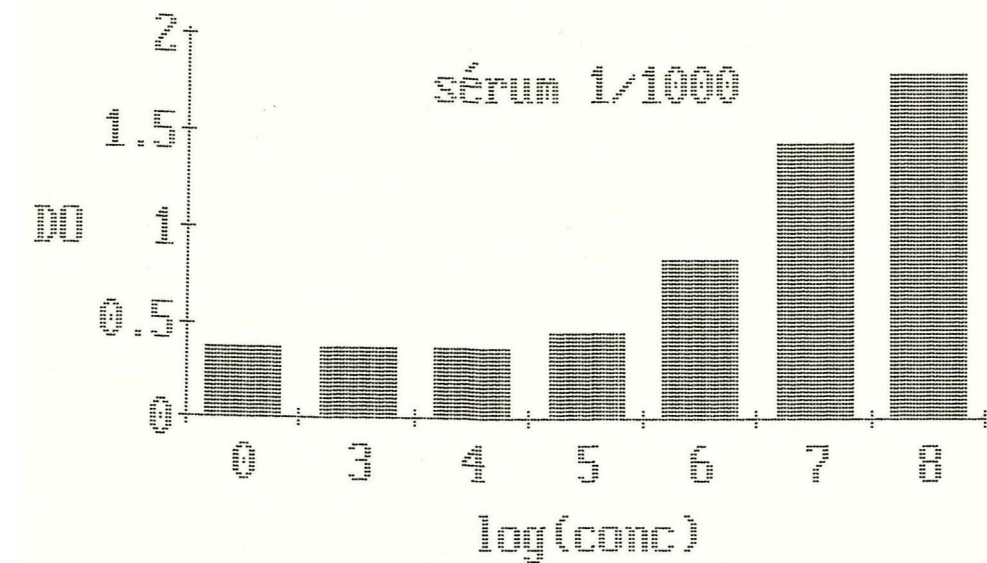


Figure 1 : Test ELISA IAPC sur *Pseudomonas fuscovaginae* à différentes dilutions de sérum anti-GR2 (1/1000, 1/5000, 1/1000, 1/20000) et différentes concentrations bactériennes (de 0 à 10<sup>8</sup> cfu/ml)

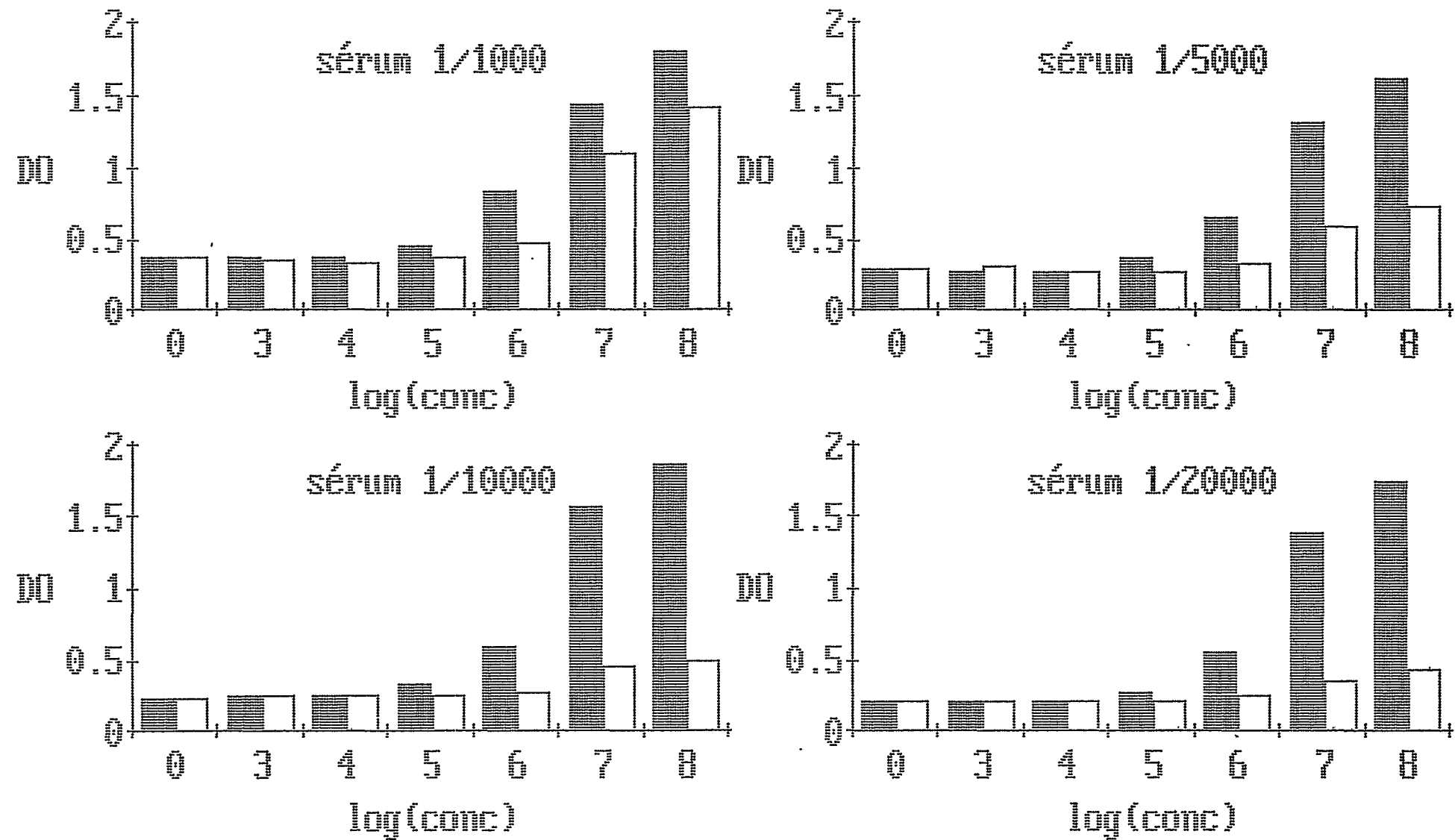


Figure 2 : Comparaison en ELISA IAPC de *Pseudomonas fuscovaginae* et de *Xanthomonas albineans* à différentes dilutions de sérum anti-GR2 (1/1000, 1/5000, 1/10000, 1/20000) et différentes concentrations bactériennes (de 0 à  $10^8$  cfu/ml)



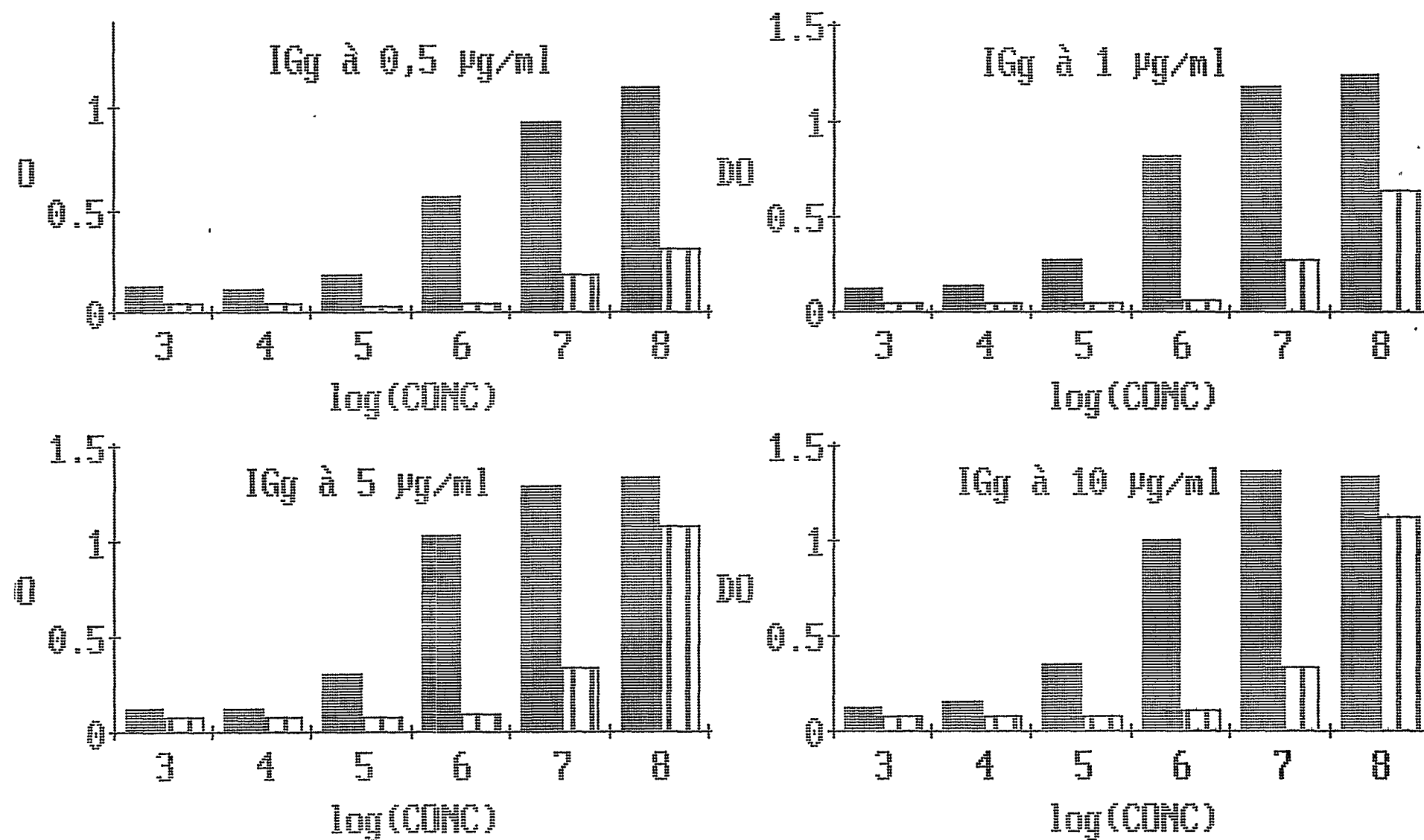


Figure 3 : Comparaison en ELISA IAPC de *Pseudomonas fuscovaginae* (noir) et de *Xanthomonas albineans* (rayé) à différentes concentrations d'IgG (0.5, 1, 5, 10 µg/ml) et différentes concentrations bactériennes (de 0 à 10<sup>8</sup> cfu/ml)

Types bactériens :

- 1 : *Pseudomonas fuscovaginae* (GR2)
- 2 : *Pseudomonas fuscovaginae* (HMB264)
- 3 : *Xanthomonas albineans* (Mdg 65A)
- 4 : *Xanthomonas campestris*  
pathovar *oryzicola* (PRM 104)
- 5 : *Pseudomonas solanacearum* (Reu 1)
- 6 : *Pseudomonas fluorescens* biovar 1 (2102)
- 7 : *Pseudomonas fluorescens* biovar 1 (421)
- 8 : *Pseudomonas fluorescens* biovar 5 (87)
- 9 : *Pseudomonas syringae* (541)
- 10 : *Pseudomonas fluorescens* biovar 5 (III2)
- 11 : *Pseudomonas fluorescens* biovar 5 (II4)

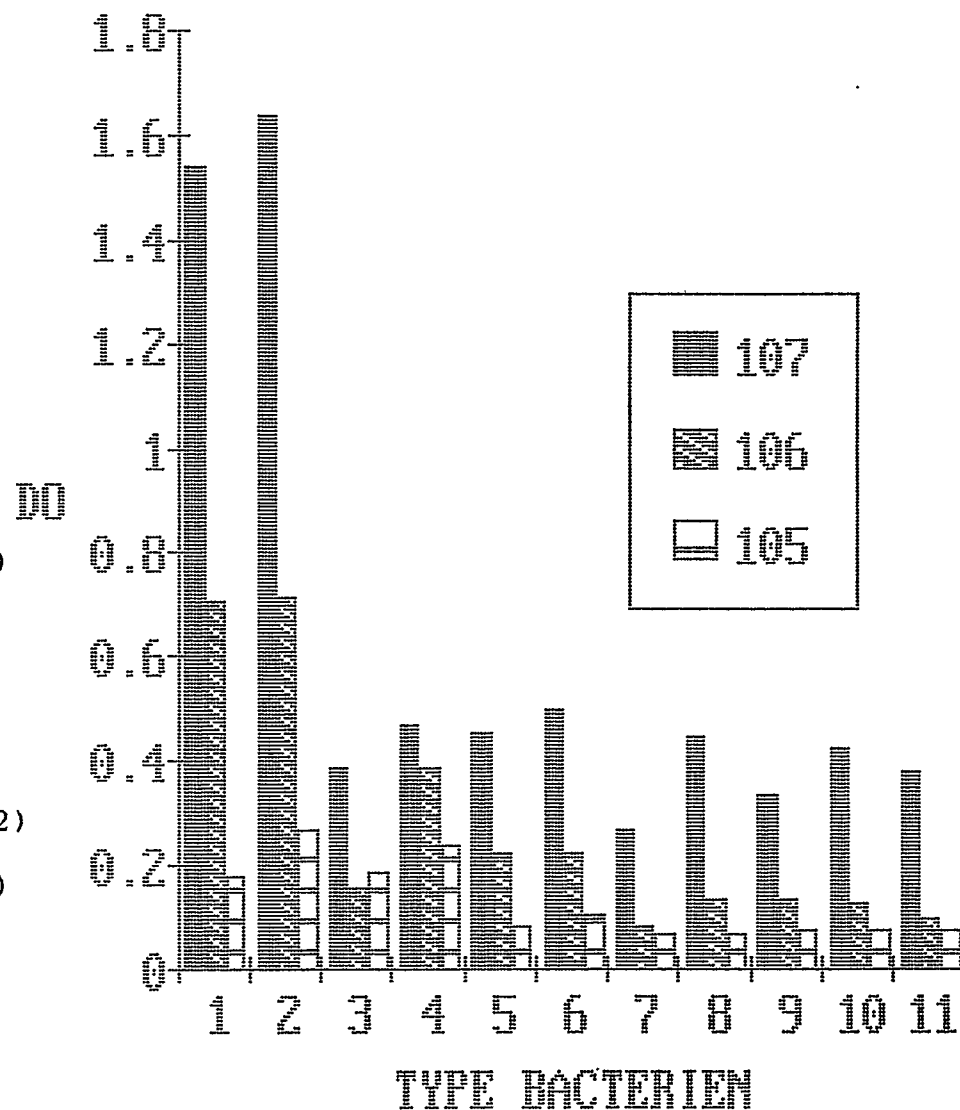


Figure 4 : Comparaison de 11 souches bactériennes en ELISA IAPC à 3 concentrations bactériennes et à 0.5 µg/ml d'IGg.

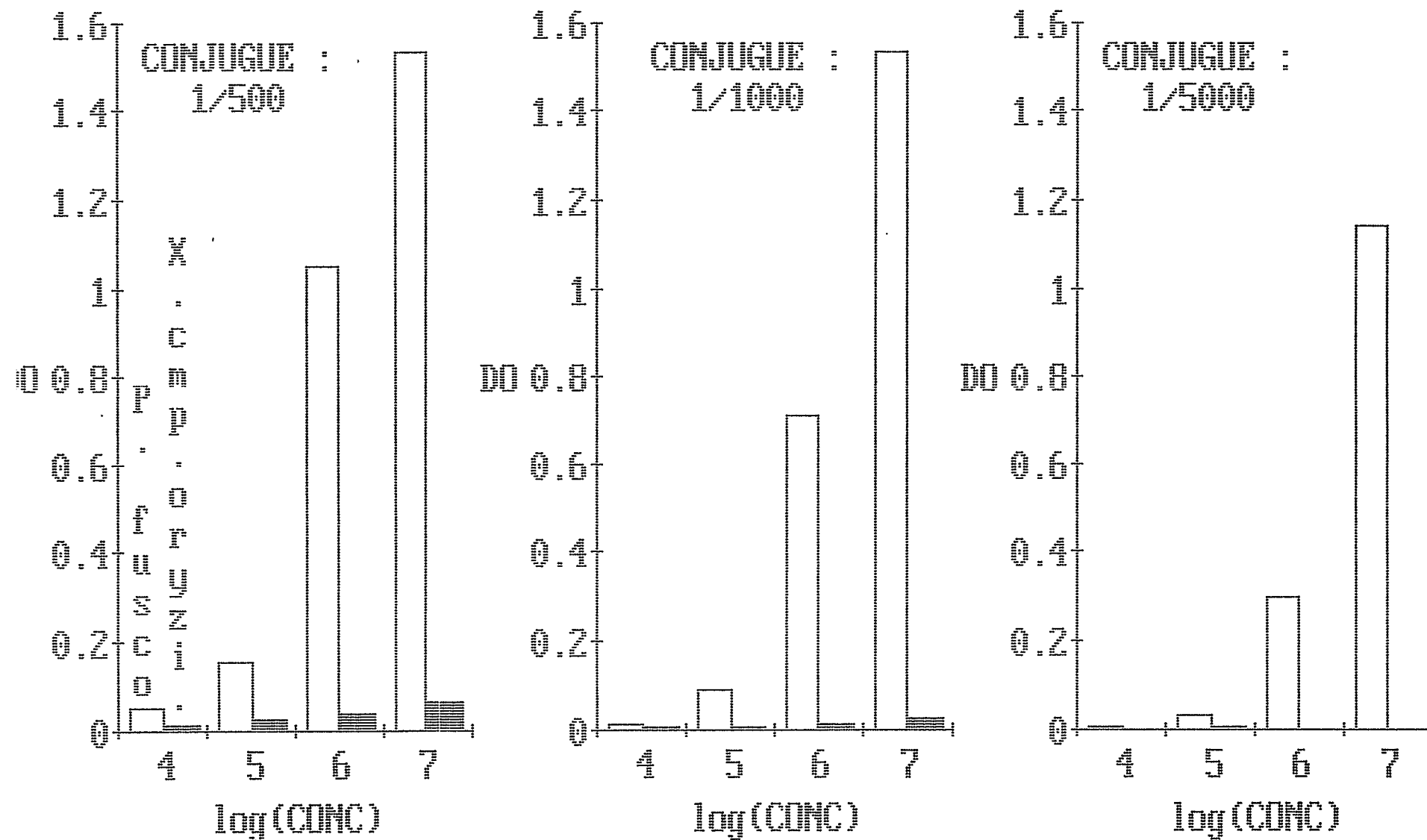


Figure 5 : Comparaison de *Pseudomonas fuscovaginae* et de *Xanthomonas campestris* pv *oryzicola* en ELISA DDAS à 0.5 µg/ml d'IgG, à différentes dilutions de conjugué (1/500, 1/1000, 1/5000) et à différentes concentrations bactériennes (de  $10^4$  à  $10^8$  cfu/ml).

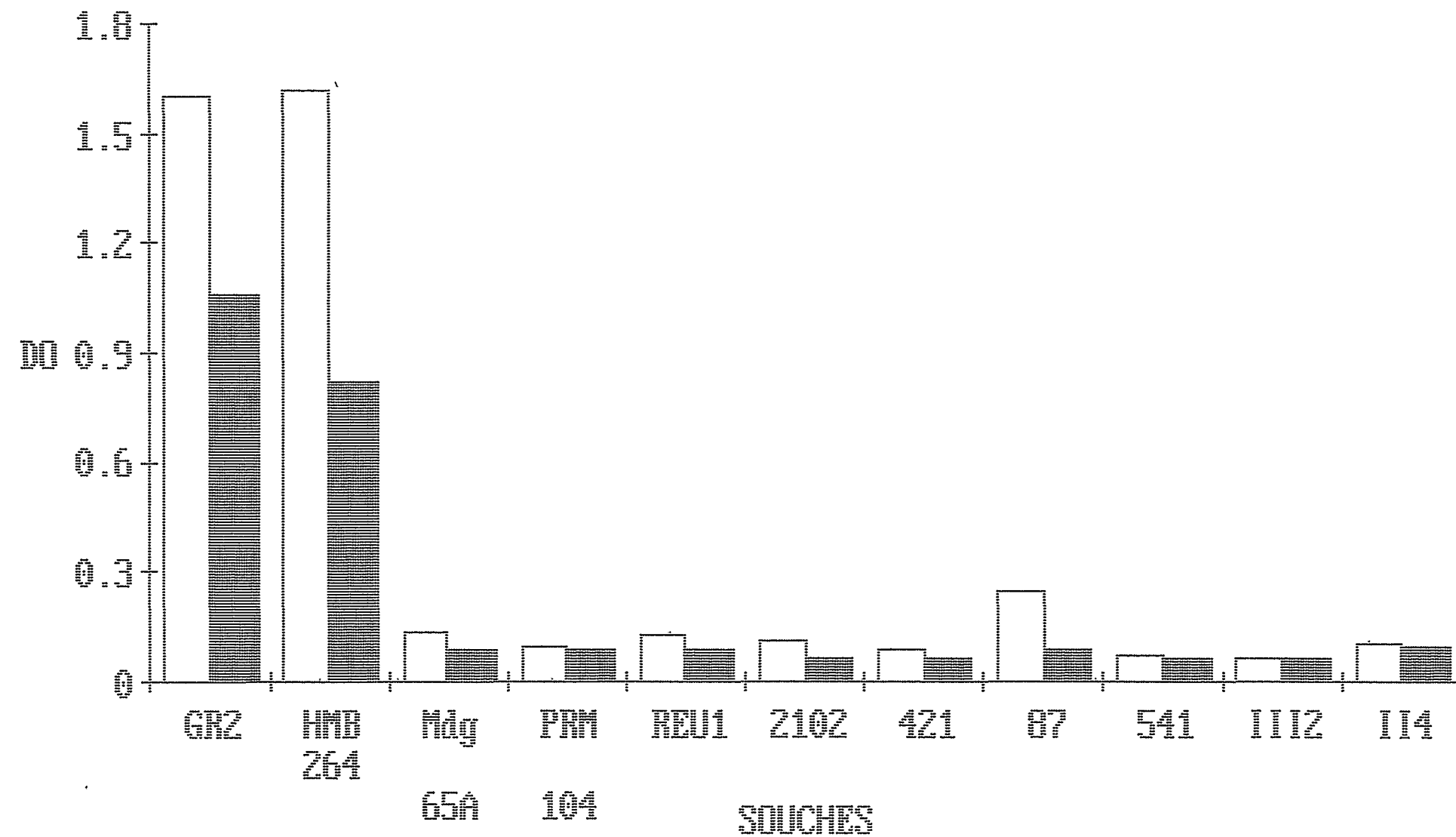


Figure 6 : Comparaison de 11 souches bactériennes en ELISA DDAS (0.5 µg/ml d'IGg et conjugué au 1/1000) à deux concentrations bactériennes ( $10^7$  cfu/ml (blanc) et  $10^6$  cfu/ml (noir)).

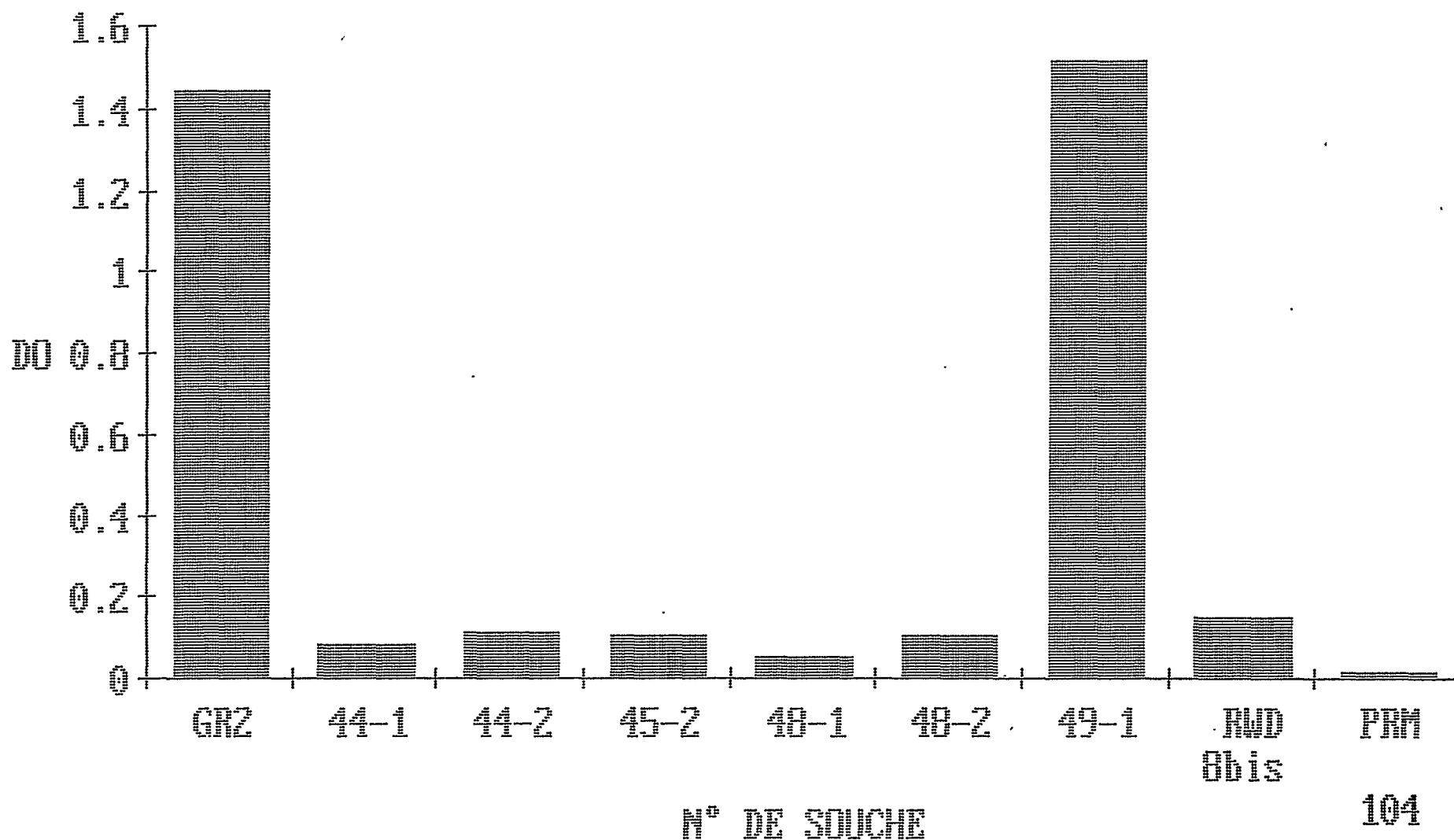


Figure 7 : Comparaison en ELISA DDAS (0.5 µg/ml d'IGg et conjugué au 1/1000) de 8 souches de *Pseudomonas fuscovaginae* négatives en agglutination avec la souche GR2 de *Pseudomonas fuscovaginae* et PRM 104 de *Xanthomonas campestris* pv *oryzicola*.

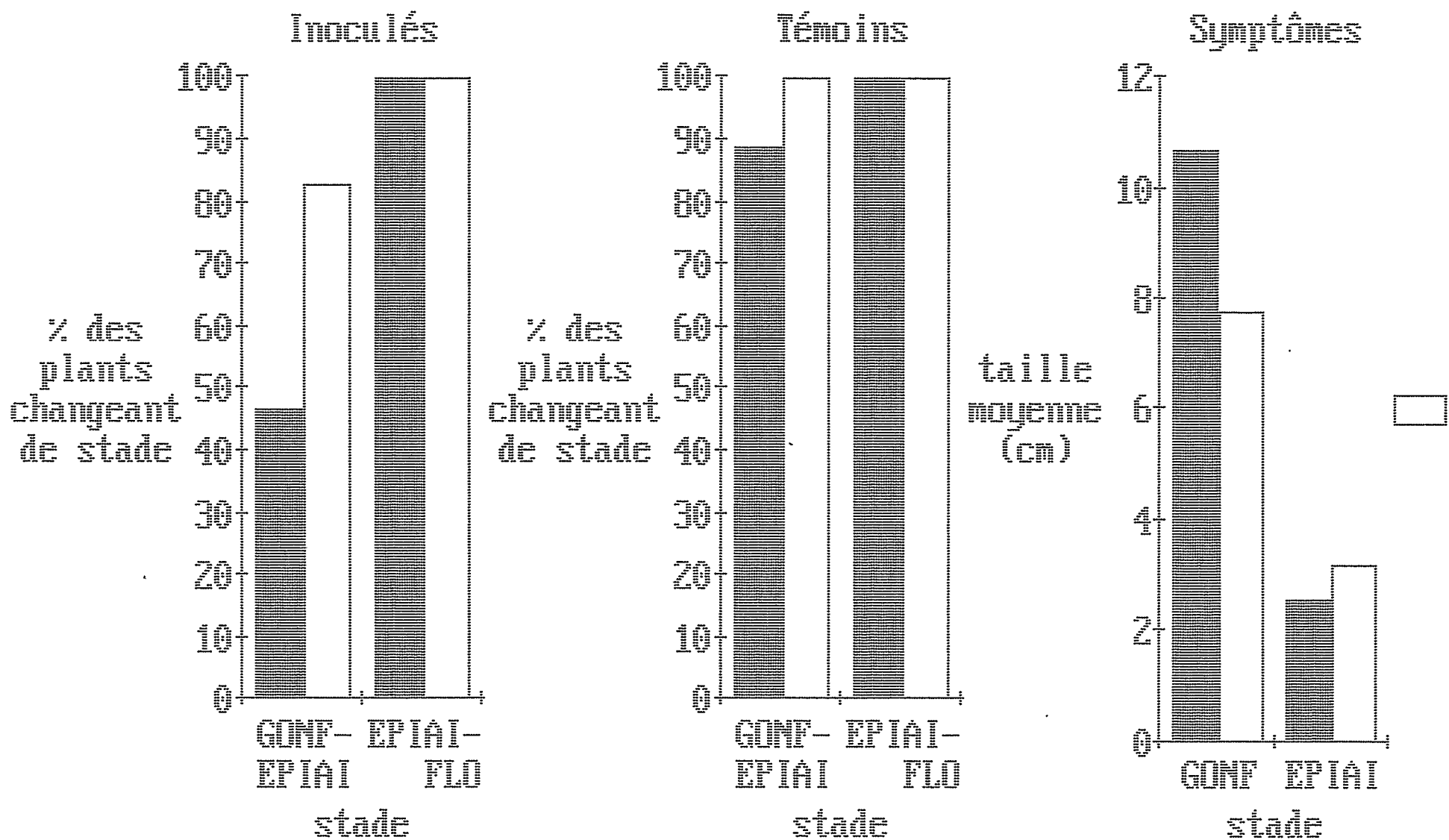


Figure 12 : Comparaison du passage gonflement-épiaison et épiaison-exsertion et de la taille des symptômes pour la variété Cigalon aux températures de 19°J-14°N (blanc) et 22°J-13°N (noir).

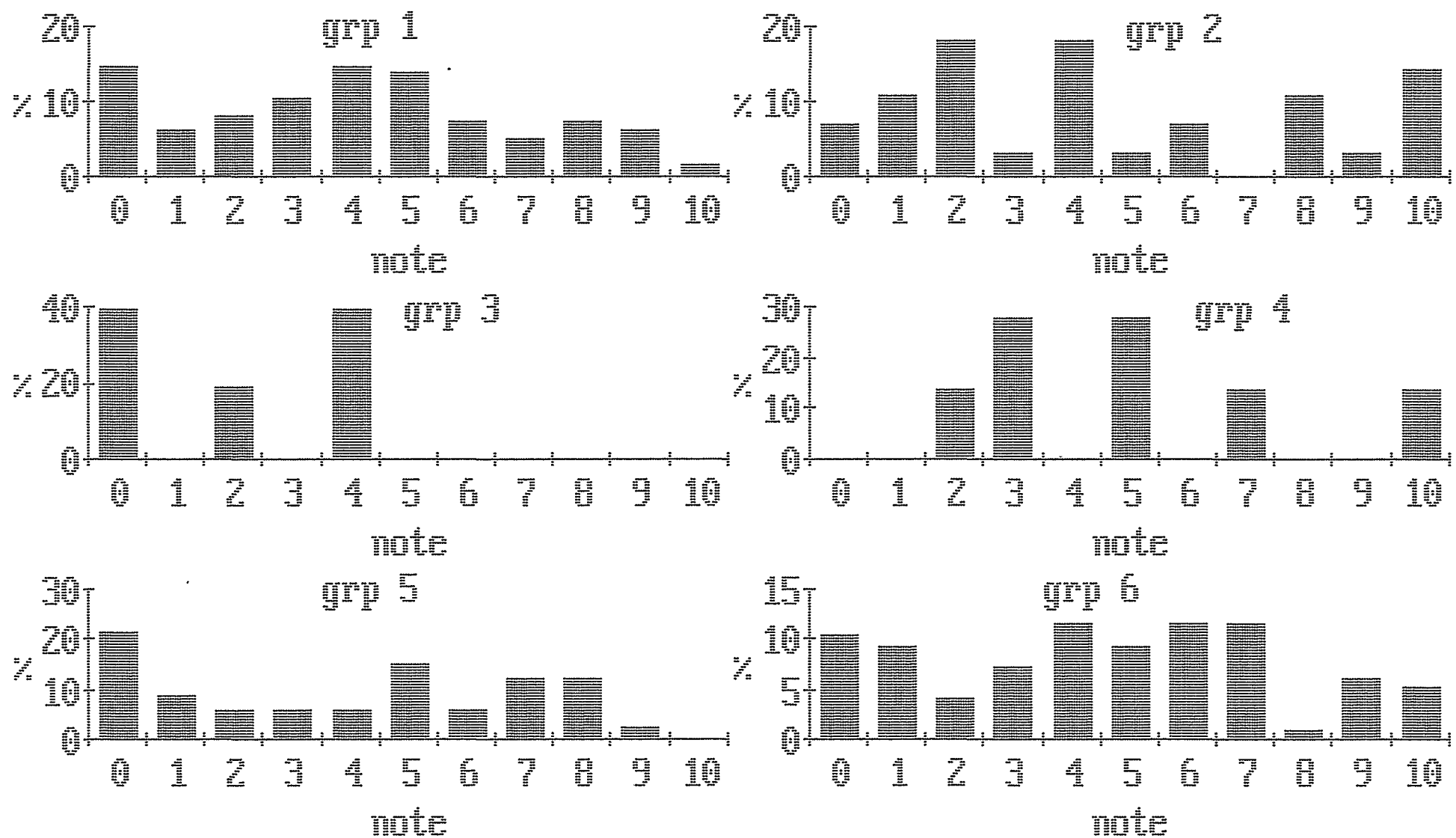


Figure 15 : Distribution du pourcentage de variétés en fonction du nombre de plants malades (note) pour chaque groupe isozymique.