



## Diversité pathogénique des souches de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* en Côte d'Ivoire, sensibilité des variétés de manioc et approche de lutte.

Affery Arthur Martin<sup>1</sup>, Abo Kouabenan<sup>2</sup>, N'guessan Aya Carine<sup>3</sup>, Wonni Issa<sup>4</sup>, Bomisso Edson Lézin<sup>1</sup>, Kouamé Konan Didier<sup>1</sup>, Tuo Seydou<sup>1</sup>, Bolou Bi Bolou Antoine<sup>1</sup>, Koné Mongomaké<sup>5</sup> et Koné Daouda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody-Abidjan, Unité de Formation et de Recherche (UFR) Biosciences, Laboratoire de Physiologie Végétale, 22 B.P. 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup> Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), Département de Formation et de Recherche Agriculture et Ressources Animales (DFR-ARA), Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Végétale, BP 1313 Yamoussoukro, Côte-d'Ivoire.

<sup>3</sup> Université Peleforo Gon Coulibaly Korhogo, UFR Sciences biologiques, BP1328 Korhogo

<sup>4</sup> Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA), BP 910, Bobo Dioulasso, Burkina Faso

<sup>5</sup> Université Nangui Abrogoua, UFR Sciences de la Nature, Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales, 02 BP 801 Abidjan 02

**Auteur Correspondant :** [arthuraaffery@yahoo.fr](mailto:arthuraaffery@yahoo.fr) Contact : + 225 77 62 13 91

Original submitted in on 21<sup>st</sup> June 2018. Published online at [www.m.elewa.org](http://www.m.elewa.org) on 31<sup>st</sup> October 2018

<https://doi.org/10.35759/JABs.130.6>

### RÉSUMÉ

**Objectifs :** Le manioc occupe une place de choix dans l'alimentation humaine en Côte d'Ivoire. Cependant sa culture est confrontée à de nombreuses contraintes d'ordre parasitaires, dont l'une des plus redoutables est la bactériose vasculaire causée par *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. A l'exception de sa confirmation en 2015 en Côte d'Ivoire, aucune information scientifique substantielle n'a été rapportée sur cette maladie ainsi que sur les méthodes de lutte appropriées. L'objectif de la présente étude est d'étudier la diversité pathogénique des souches bactériennes, la sensibilité des principaux cultivars de manioc et d'évaluer les propriétés bactéricides du biopesticide NECO.

**Méthodologie et résultats :** Des plants de 45 jours ont été inoculés par des souches de *Xam*, puis traités avec une gamme de cinq concentrations (v/v) du biopesticide NECO. Les résultats montrent l'apparition de taches nécrotiques caractéristiques des symptômes de la bactériose après 72-96 h d'incubation. Sur 121 souches de *Xam* testées, 109 ont provoqué des symptômes typiques de la bactériose, alors que 12 souches se sont montrées avirulentes. La variété "Diarrassouba" a été la plus attaquée, tandis que le plus faible niveau de sensibilité est obtenu par "Yavo" et "Bocou 2". En outre, l'application du biopesticide NECO à 5 ml/L, après deux traitements a favorisé une reprise de 92,59 % des plants infectés contre 14,81 % du produit de référence.

**Conclusion et application de résultats :** Les variétés "Yavo" et "Bocou 2" peuvent être conseillées aux producteurs de manioc dans les zones où sévit la bactériose vasculaire. Egalement, le NECO à la dose de 5 ml/L peut être utilisé dans les programmes de lutte intégrée contre cette maladie.

**Mots clés :** Manioc, bactériose vasculaire, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, pathogénicité, biopesticide NECO

## ABSTRACT

**Objective:** Cassava is an important staple food in Côte d'Ivoire; however, it is faced with many parasitic constraints. Among them, bacterial blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis* (*Xam*) is one of the most dreadful. This work aimed to develop strategies to manage the cassava blight disease.

**Methodology and results:** Forty five (45)-day-old plants of cassava were inoculated with *Xam* strains and then treated with a range of five concentrations (v/v) of biopesticide NECO and essential oil from *Ocimum gratissimum*. The results showed necrotic spots indicating the onset of symptoms following the infiltration and the incubation at 72 to 96 hours. Of the 121 tested strains, 109 caused typical symptoms of bacterial blight, and 12 of them proved avirulent. The variety "Diarrassouba" was the most attacked, while the lowest levels of sensitivity were obtained with "Yavo" and "Bocou 2." Moreover, application of biopesticide NECO at 5 ml/L after two treatments favored a recovery of the infected plants by 92.59 % against 14.81% for the reference product.

**Conclusion and application of results:** " Yavo " and " Bocou 2 " varieties can be recommended for cassava growers in areas where bacterial blight is prevalent. In addition, NECO at a dose of 5 ml/L can be used in IPM programs

**Keywords:** Cassava, Bacterial Blight, pathogenicity, *Xanthomonas*, pathogenicity, biopesticide NECO

## INTRODUCTION

Le manioc (*Manihot esculenta* Crantz) contribue à assurer la sécurité alimentaire des populations d'Afrique. La production mondiale était estimée à 250 millions de tonnes en 2011 (FAO, 2012). En Côte d'Ivoire, elle est estimée à 2,8 millions de tonnes par an, et occupe la deuxième place des cultures vivrières après l'igname (FAO, 2009). Cette production fait de la Côte d'Ivoire le 23<sup>e</sup> producteur mondial et le 5<sup>e</sup> pays producteur de manioc en Afrique de l'Ouest, derrière le Nigeria, le Ghana, la Sierra Leone et le Benin (Aliyou, 2012). Il est cultivé dans toutes les zones agro-écologiques de la Côte d'Ivoire, à l'exception de la zone agro-écologique VII, qui correspond à la Zone de Bouna (Affery et al. 2015a). Les plantations de manioc se rencontrent en culture pure, mais parfois associées aux cultures comme le cacaoyer, le caféier, le bananier, l'igname ainsi que d'autres cultures de case tels que l'aubergines, le piment, le gombo. Les racines tubérisées, produit essentiel de la culture sont majoritairement transformées en divers mets, dont le plus connu, en Côte d'Ivoire, est l'"attiéké". La culture du manioc est sujette, cependant, à certaines contraintes d'ordre parasitaire qui limitent sa productivité, parmi lesquelles la mosaïque africaine du manioc, les maladies fongiques (Barceloux, 2009 ; Bull et al. 2011 ; Koné et al. 2015a) et la bactériose vasculaire causée par

*Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*). *Xam* est une bactérie vasculaire et les attaques débutent sur la feuille par des taches anguleuses huileuses et translucides, avant de s'étendre progressivement aux tiges et aux rameaux, conduisant à la mort des pieds infectés (Wonni et al. 2014, Affery et al. 2015b). Plusieurs facteurs dont les conditions climatiques, les boutures contaminées, les insectes, les outils agricoles, et les éclaboussures de pluies constituent des moyens de dissémination de la maladie. En Afrique, la maladie est apparue en Ouganda en 1937 (Hansford, 1937) et s'est propagée, par la suite, à de très nombreux pays africains comme le Ghana, le Nigéria, et le Bénin (Otim-Nape, 1980, Boher et Agbobli, 1992). En Côte d'Ivoire, elle a été signalée en 1979 dans la partie septentrionale du pays, sur la base des symptômes (Laville, 1984). Plus récemment, elle a été confirmée et décrite dans les parcelles de manioc de Yamoussoukro, dans le Centre du pays par Koné et al. (2015b). La conséquence de cette bactériose est la destruction de la qualité des boutures pour la semence et une baisse de rendement variant de 80 à 90% de tubercules (Restrepo et al. 2000). En Côte d'Ivoire, peu d'études ont été réalisées sur la bactériose vasculaire du manioc. A l'exception de la confirmation de la maladie par Koné et al. (2015b),

aucune information scientifique n'a été rapportée sur la sensibilité des variétés cultivées en Côte d'Ivoire et les traitements phytosanitaires, en vue de la réduction de son impact. Face à cette situation, il est apparu opportun d'initier des recherches sur cette maladie devenue émergente ces dernières années en Côte d'Ivoire. La présente étude a pour

but d'étudier la diversité pathogénique de l'agent causal, d'une part et d'autre part, d'évaluer l'effet antibactérien du NECO, un produit biologique, en serre contre la bactériose vasculaire du manioc en vue de développer une stratégie de lutte efficace, alternative à l'utilisation de produits de synthèse.

## MATERIEL ET METHODES

**Zone d'étude :** Cette étude a été réalisée à l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody-Abidjan pendant la période de Mai 2016 à Février 2017. La préparation des inocula a été effectuée au laboratoire d'Agro-physiologie et Phytopathologie suivie des inoculations sous serre au pôle scientifiques de la dite Université.

### Matériel

**Matériel végétal :** L'étude du comportement variétal des plants de manioc en serre a porté sur huit variétés de manioc dont quatre améliorées. Trois variétés améliorées proviennent du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) ; la quatrième variété améliorée du Centre Suisse de Recherche Scientifique (CSRS). Il s'agit de "Bocou 1", "Bocou 2", "Bocou 3" et "Yavo". Les variétés locales traditionnelles sont : "Yacé", "Akama", "Diarrassouba" et "Dankwa". Ces variétés ont été choisies sur la base de leur adoption dans les régions de production par la plupart des producteurs.

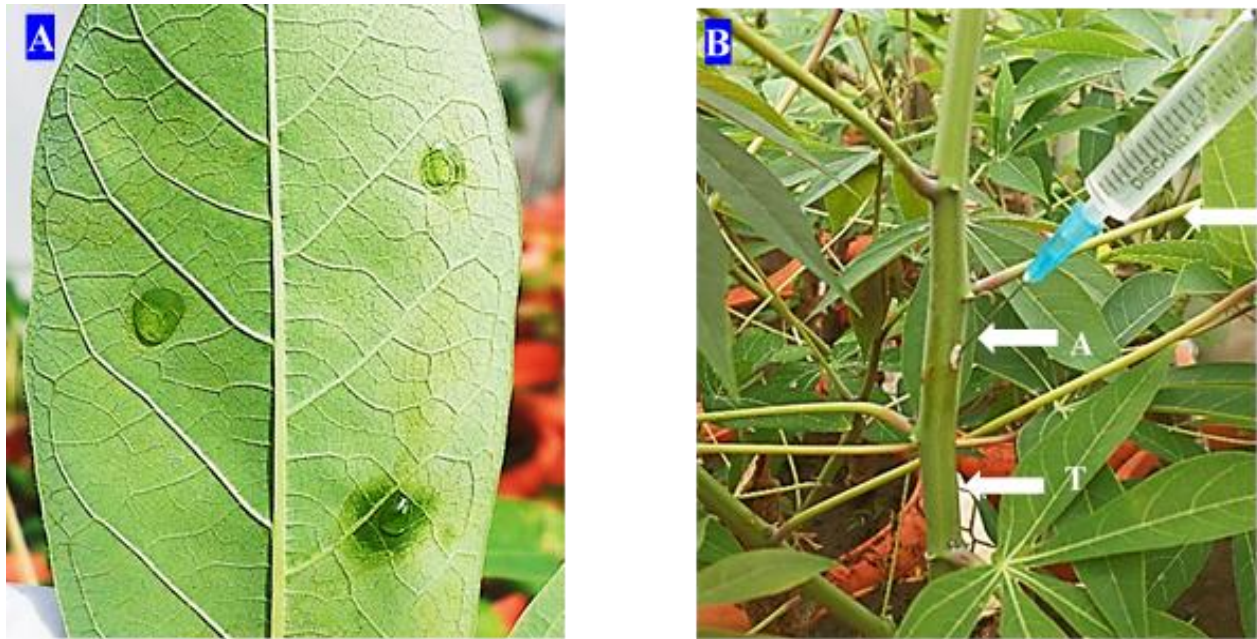
**Souches bactériennes :** Des souches de *Xam*, représentatifs des localités de Ferkessedougou, Bouaké, Yamoussoukro, Man et Aboisso (Côte d'Ivoire) ont été éprouvées, ainsi qu'une souche de références (P<sub>4</sub>Mn) de l'Institut de l'Environnement et Recherches Agricoles (INREA) de Bobo Dioulasso (Burkina Faso).

**Produits bactéricides utilisés :** Le biopesticide NECO, produit biologique, à base d'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* a été utilisé au cours d'essais de lutte contre la bactériose vasculaire du manioc. Dans cette étude, son action pharmacologique est comparée à celle d'un produit de référence à base d'oxychlorure de cuivre, connu sous le nom commercial de Callicuivre à la dose de 500 g/kg, fabriqué par ARYSTA LIFESCIENCE

(France) et proposé par la Société Callivoire en Côte d'Ivoire.

### Méthodes

**Test de pathogénicité des souches de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis* :** Des boutures de "Bocou 1" et de "Diarrassouba", deux variétés de manioc sensibles (Affery et al. 2015a et b) à la bactériose vasculaire ont été mises en culture dans des pots contenant du sol stérilisé, sous abri en raison de trois boutures par pot. Les feuilles asymptomatiques, obtenues après 45 jours de culture, ont été inoculées par infiltration comme décrit par Meyer et al. (2005). A partir d'une seringue contenant une suspension bactérienne calibrée à une densité optique (DO) de 0,2 à une longueur d'onde de 600 nm, correspondant à 10<sup>8</sup> bactéries/mL., trois points d'inoculation ont été réalisés de part et d'autre de la nervure centrale (Figure 1A). Après inoculation, les plants ont été soumis aux conditions d'éclairement d'une photopériode de 12 h. Un arrosage régulier, tous les trois jours, a été effectué pour maintenir les conditions saturantes d'humidité, favorables à l'expression de la maladie. L'eau distillée stérile a servi de témoin négatif. Les tests d'inoculation ont été répétés deux fois. Les paramètres environnementaux tels que la température, le taux d'humidité et le point de rosée ont été enregistrés à l'aide d'un dataloggers VOLFRAFT DL-120 TH. Au total, 121 souches représentatives des zones de culture du manioc en Côte d'Ivoire (Tableau 1) ont été utilisées dans cette expérimentation. Les symptômes identifiés ont été comparés à ceux de la souche de référence.



**Figure 1 :** Technique d'inoculation artificielle.

I : inoculum ; A : aiguille, T : tige, A : sur feuille. La flèche indique l'aspect du point d'inoculation après infiltration de la suspension bactérienne ; B : sur tige de manioc.

Les observations effectuées ont porté sur l'état sanitaire des feuilles. Celles-ci ont débuté après apparition des premières lésions visibles sous forme de taches

anguleuses. Le diamètre de la tache induit par chaque souche de *Xam* a été mesuré tous les trois jours, sur une période de 15 jours.

**Tableau 1 :** Origines et nombre de souches bactériennes testées en serre

Code	Provenances	Nombre de souche
<i>Xam</i> Fek <sub>xxx</sub>	Ferkessédougou (Ferké)	57
<i>Xam</i> Yam <sub>xxx</sub>	Yamoussoukro	36
<i>Xam</i> Bok <sub>xxx</sub>	Bouaké	15
<i>Xam</i> Abs <sub>xxx</sub>	Aboisso	10
<i>Xam</i> Ma <sub>xxx</sub>	Man	3
<i>Xam</i> P <sub>4</sub> Mn	INREA de Bobo Dioulasso (Burkina Faso)	1

**Criblage des variétés de manioc vis-à-vis de la bactériose vasculaire :** Le criblage a porté sur huit variétés de manioc cultivées dans les mêmes conditions que ceux de l'essai précédent et dans un dispositif en split-plot, avec trois répétitions. Le facteur apprécié a été l'effet variété. Les souches issues des tests du pouvoir pathogène, la souche *Xam* Fek<sub>4</sub>, souche la plus agressive, ainsi que *Xam* P<sub>4</sub>Mn ont été utilisées. La technique d'inoculation a consisté à injecter 50 µl d'inoculum (10<sup>8</sup> bactérie/mL) dans le cylindre central de la tige, à l'aide d'une seringue (Figure 1B). L'opération a été renouvelée après 72 h et a porté sur neuf pieds de chaque variété. Les témoins négatifs sont constitués par les pieds de manioc ayant été inoculés avec l'eau distillée stérile. Les paramètres évalués sont : le temps

d'incubation et le nombre de feuilles flétries 45 jours après inoculation, selon une échelle de 0-5. Ainsi, la classification suivante a été adoptée selon le nombre de feuilles flétries :

- **Résistante/tolérante (R) :** 0 à 2 feuilles flétries ;
- **Sensible (S) :** plus de 3 feuilles flétries.

**Évaluation de l'efficacité du biopesticide NECO contre la bactériose vasculaire du manioc :** Un essai de traitement phytosanitaire a été réalisé sur les deux variétés sensibles ("Bocou 1" et "Diarrassouba") cultivées dans les conditions décrites précédemment. La souche *Xam* Fek<sub>4</sub> a été infiltrée simultanément sur les feuilles et dans les tiges des plants de manioc de 45 jours. Les applications phytosanitaires ont comporté six doses de NECO (0,25 ; 0,5 ; 1 ; 5 ; 8 et 10 ml/L.) et une



dose de 75 g/L de Callicuivre. Une quantité de 25 ml de chaque dose a été appliquée par pulvérisation sur les feuilles ainsi que sur les tiges lorsque les symptômes de la bactériose, sous la forme de taches anguleuses, sont apparus (stade 2), et pendant le flétrissement de feuilles avec dessèchement au sommet (stade 4). L'effet du traitement sur chaque stade de la maladie a été également évalué dans un dispositif à trois blocs, et chaque traitement a été répété trois fois, à raison de neuf plants par traitement. La première application a été renouvelée deux semaines après. Les paramètres sanitaires ont été évalués par observation visuelle de la

progression de la maladie et par dénombrement des plants morts.

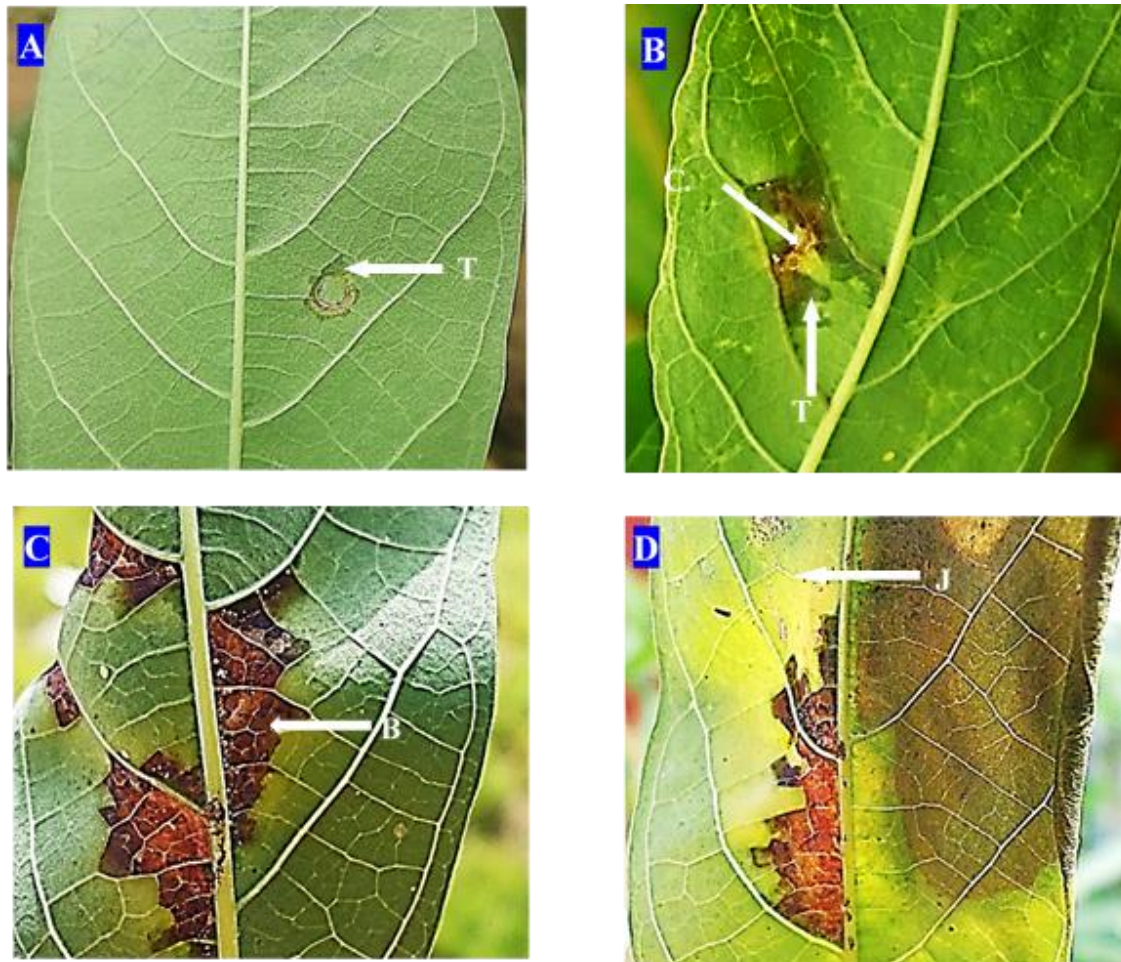
**Analyse statistique des données :** Les données collectées ont été enregistrées avec le tableur Excel 2007 puis analysées avec le logiciel Statistica version 7.1. Pour évaluer la sensibilité des huit variétés à la maladie et l'effet des différentes doses de NECO et du produit de référence sur *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, une analyse de variance (ANOVA) à un facteur a été faite. Le test de comparaison de moyenne de Newman-Keuls au seuil de 5 % a été effectué en cas de différence significative.

## RÉSULTATS

### Niveaux d'agressivité des souches bactériennes :

Ces essais se sont déroulés dans les conditions moyennes de 27,11 °C de température ; 82 % d'humidité relative et 22,1 °C de point de rosée. L'installation de la maladie sur les feuilles inoculées a été schématiquement résumée en deux phases (Figure 2) : L'apparition des taches (Figure 2A) suite aux blessures mécaniques représentant le début des symptômes 72 à 96 heures après incubation, puis le brunissement des tissus marquant les taches anguleuses. Au stade de taches anguleuses, les symptômes sont plus

perceptibles sur la face inférieure des feuilles inoculées. Ces taches anguleuses et huileuses se propagent du limbe vers la nervure principale autour du huitième jour (Figure 2B). L'infection s'est alors généralisée au quatorzième (14) jours par la formation progressive d'une tache nécrotique de couleur brune (Figure 2C) causant d'importants flétrissements et un jaunissement précoce (Figure 2D) entraînant sa chute. Ce niveau d'infection correspond à la deuxième phase et au degré de sévérité 3 de la maladie.



**Figure 2 :** Symptômes de la bactériose vasculaire induit sur " Diarrassouba " après infiltration d'une souche agressive (*Xam Fek4*).

T : Tache anguleuse ; C : Cicatrisation ; B : Brunissement ; J : Jaunissement

A= Attaque sur le limbe, 72 heures après inoculation ;

B= Attaque de la nervure principale et secondaire, 8 jours après infestation ;

C= Flétrissement par un enroulement du limbe ;

D= Jaunissement précoce et chute de la feuille ;

Il ressort des tests de pathogénicité effectués, que 109 souches sur 121 testées, ont provoqué des symptômes typiques de la bactériose sur les deux variétés, alors que 12 souches se sont montrées avirulentes (Tableau 2).

En effet, ces dernières n'ont pas induit de symptômes. Pour celles-ci, aucune expression, ni évolution de la maladie n'a été observée après la cicatrisation de la zone d'infection.

**Tableau 2 :** Classification des souches en fonction du pouvoir pathogène

Localités	Nombre de souches testées	Test de Pathogénicité		PCR	
		Nbre de <i>Xam</i> virulente	Nombre de <i>Xam</i> avirulente	Positive	Négative
Ferkessedougou	57	54	3	53	0
Yamoussoukro	36	32	4	32	0
Bouaké	15	12	3	15	0
Aboisso	10	8	2	10	0
Man	3	3	0	3	0
Total	121	109	12	121	0
Taux (%)	100	90,08	9,91	100	0

**Sensibilité des variétés de manioc à la bactériose vasculaire :** Les symptômes issus des inoculations sont diversifiés. Le tableau (3) indique le temps d'incubation et le nombre moyen de flétrissement par variété durant les 45 jours d'expérimentation. L'analyse statistique montre que le temps d'incubation a statistiquement varié en fonction des cultivars ( $P < 5\%$ ) pour le témoin et pour

les huit variétés ayant subi l'inoculation. Comparativement au témoin, les souches utilisées ont induit des symptômes sur l'ensemble des variétés. La maladie se caractérise par des exsudats autour du point d'inoculation sur la tige, des fanaisons de feuilles, débutant par une feuille puis s'étendant successivement à toutes les autres.

**Tableau 3 :** Comportement des variétés vis-à-vis des souches de *Xam* inoculés

Traitements	Temps moyens d'incubation (Jai)	Nombres moyens de feuilles flétries	Classification
Témoins	0,00 $\pm$ 0,0 f	0,00 $\pm$ 0,00 f	
Bocou 2	16,11 $\pm$ 0,20 b	2,89 $\pm$ 0,11 d	Résistant/tolérant e
Bocou 3	12,89 $\pm$ 0,35 c	3,00 $\pm$ 0,17 cd	Sensible
Bocou 1	9,00 $\pm$ 0,33 ed	3,78 $\pm$ 0,15 ab	Sensible
Akama	9,11 $\pm$ 0,31 ed	3,44 $\pm$ 0,18 bcd	Sensible
Yacé	9,67 $\pm$ 0,37 d	3,56 $\pm$ 0,18 cd	Sensible
Diarrassoub a	8,22 $\pm$ 0,22 e	4,11 $\pm$ 0,20 a	Très Sensible
Yavo	18,67 $\pm$ 0,50 a	2,33 $\pm$ 0,17 e	Résistant/tolérant e
Dankwa	13,33 $\pm$ 0,24 cb	3,11 $\pm$ 0,11 cd	Sensible
P	0,00 **	0,00 **	

Dans une même colonne, les chiffres suivis de la même lettre sont statistiquement identiques au seuil  $\alpha = 5\%$  (test Newman-keul's).

**Témoin :** Plants inoculés à l'eau distillée stérile ; jai : jours après incubation ;

**En fonction du temps d'incubation :** Le temps d'incubation a varié entre 8 et 18 jours. Chez "Yavo" et "Bocou 2", le premier flétrissement est apparu au-delà de deux semaines après inoculation. Par contre, les variétés "Diarrassouba", "Bocou 1", "Akama" et "Yacé" ont été plus affectées par la maladie dans le même délai avec un temps d'incubation relativement court qui se situe entre le huitième et le dixième jour après inoculation. Les variétés "Bocou 3" et "Dankwa" ont eu

des comportements intermédiaires, avec un temps d'incubation moyen de 12 jours.

**En fonction du nombre de feuilles flétries :** Relativement au nombre moyen de feuilles flétries, l'analyse des résultats a montré que le nombre de feuilles attaquées a également varié selon les variétés. Tandis que certaines variétés sont caractérisées par un faible nombre de feuilles, d'autres ont connu plus de dégâts. Ce nombre est compris entre 2 et 4 feuilles et a

statistiquement été plus important chez les plants inoculés. Chez "Diarrassouba", "Bocou 3", "Bocou 1", "Akama", "Yacé" et "Dankwa", il a été observé plus de deux feuilles malades pendant les 45 jours de l'expérimentation. La variété Diarrassouba a été la plus attaquée avec une moyenne de 4,11 feuilles flétries. Les plus faibles valeurs de feuilles flétries sont obtenues avec les variétés "Yavo" et "Bocou 2", qui ont eu deux feuilles flétries et sont considérées comme partiellement tolérantes. A partir de ces tissus lésés après inoculation, des colonies de *Xam* ont été résolées.

#### **Activité antibactérienne du biopesticide NECO sur les plants de manioc malades**

**Effet du NECO sur le stade 2 de la bactériose :** Les résultats obtenus de deux applications de NECO, montrent qu'à une dose donnée, le produit a un effet sur l'évolution de la maladie et peut également provoquer une toxicité sur les feuilles, se traduisant par des brûlures foliaires. Ces brûlures sont plus abondantes sur les plus jeunes feuilles asymptomatiques. Le flétrissement survient environ une demi-heure après application. Le résultat montre un comportement

relativement similaire entre les traitements de 0,25 et 0,5 ml/L de NECO. Ces doses n'ont pas pu freiner la progression de l'infection sur les feuilles qui évolué en petites plages nécrotiques atteignant parfois les stades 3 et 4 de la maladie. Par contre, la dose de 1 ml/L de NECO et du CO à 75 g/L, semble circonscrire la maladie pendant les deux premières semaines du traitement, avant d'être ralentie à la troisième et quatrième semaine. Les doses du NECO à 5 ; 8 et 10 ml/L révèlent un meilleur comportement, caractérisé par une circonscription des symptômes au stade 2 de la maladie. Sur la feuille traitée, il est apparu une formation (un film) huileuse visible une semaine après traitement. L'observation visuelle montre un arrêt de la progression des lésions (Figure 3) empêchant le reste de la surface foliaire d'être atteinte à partir du point d'infection. Cela a permis de limiter la croissance et la propagation des agents pathogènes dans le reste de la plante. Cependant, un effet phytotoxique a été aperçu sur les feuilles traitées aux doses de 8 et 10 ml/L, surtout à la seconde application.



**Figure 3 :** Effet du biopesticide NECO sur les taches anguleuses de la bactériose vasculaire de niveau 2

#### **Effet du NECO sur le stade 4 de la bactériose :**

Trois semaines après l'infiltration de *Xam* Fek<sub>4</sub> simultanément des feuilles et des tiges, les plants au stade 4 de la maladie, sont dûment affectés. En effet, l'importance de l'attaque a induit des réactions de flétrissement des feuilles, des bourgeons et des nécroses sur les tiges. La progression de l'agent pathogène était donc susceptible de conduire à la mort des plants (Die-back). Les résultats obtenus et

consignés dans le Tableau 4, montrent que les divers traitements ont agi différemment sur les plants. Ils révèlent que la reprise maximale a été obtenue à la dose de 5 ml/L de NECO, avec 92,59 % de reprise. A cette dose, un arrêt d'infections nécrotiques a été observé et une amélioration progressive des plants suite à l'élaboration de nouvelles feuilles (Figure 4A) et de jeunes tiges. Les feuilles nouvellement apparues, pendant un mois, ont présenté une apparence saine



(Figure 4B). Les plants traités aux doses de 1, 8 et 10 ml/L de NECO ont eu un effet relativement passable sur *Xam*, avec respectivement des taux reprises de 55,55 ;

51,85 et 40,74 %. Le NECO la dose de 0,25 et 0,5 ml/L et le Callicuivre à 75 g/L ont eu moins d'effet, avec respectivement 9,25 ; 24,07 % et 14,81 % de reprise.



**Figure 4** : Effet de traitement de NECO à 5 ml/L sur Bocou 1, variété sensible à la bactériose vasculaire du manioc

**A=** Début de reprise des plants deux semaines après traitement de NECO à 5ml/L

**B=** Reprise des plants après deux traitements de NECO à 5ml/L

**Tableau 4** : Taux de mortalité et de reprise des variétés testées en fonction des doses du NECO et de Callicuivre sur le stade 4 de la bactériose vasculaire du manioc

Traitements	Concentrations	Total plants traités	Nombre de plants morts	Taux de reprise (%)
NECO	0,25 ml/L	54	49	9,25
NECO	0,5 ml/L		41	24,07
NECO	1 ml/L		24	55,55
NECO	5 ml/L		4	92,59
NECO	8 ml/L		26	51,85
NECO	10 m/L		32	40,74
Callicuivre	75g/L		46	14,81

## DISCUSSION

Cette étude a permis d'appréhender la diversité du pouvoir pathogène des souches de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* de Côte d'Ivoire et l'influence d'un traitement antibactérien sur deux variétés sensibles de manioc ("Bocou1" et "Diarrassouba") à partir d'un biopesticide, le NECO, en comparaison avec un produit de synthèse à base d'oxychlorure de cuivre. Conformément au principe de Koch, le pouvoir pathogène des souches a été testé en serre sur deux variétés sensibles ("Bocou1", et "Diarrassouba") par infiltration et combinant 121 souches représentatifs des localités de Côte d'Ivoire. Les résultats obtenus ont permis d'identifier des souches virulentes et avirulentes. En effet, entre 72 et 96 h après inoculation, toutes les souches agressives ont induit des taches translucides sur les feuilles, évoluant en petites plages nécrotiques

transversalement à la nervure principale, aboutissant à des exsudats et aux flétrissements des feuilles. Par contre, certaines souches ne reproduisent pas les symptômes de la bactériose et sont considérées comme non pathogènes. Des résultats similaires ont été obtenus sur des plantes en serre par Grousseau (1986) et Verdier et al. (1990). La présente étude, montre l'effectivité de l'infection, atteignant préférentiellement les abords de la nervure principale. Des mouvements, de haut en bas, sont effectués par la bactérie afin de pouvoir vivre dans le système vasculaire de la tige et des feuilles. Nos résultats confirment les observations de Daniel et Boher (1981), montrant en immunofluorescence des regroupements fréquents des bactéries en petits amas, préférentiellement situées à la face inférieure, dans les dépressions du limbe avoisinant les nervures et les

cellules digitées de l'épiderme. En termes de proportion, l'inoculation montre que 90,08 % des souches de *Xam*, issues des localités ont provoqué des symptômes typiques de la bactériose vasculaire. Cependant, à côté de ce groupe important, environ 10 % des souches ont été décrites sur la base de leur incapacité à induire la maladie au point d'inoculation. Le nombre de souches de *Xam* avirulentes obtenue est faible par rapport à l'effectif de souches virulentes. Ce résultat va donc dans le sens d'une forte prévalence de la maladie dans les zones de production du manioc en Côte d'Ivoire. Cependant, les différences d'agressivité observées ne sont pas corrélées avec l'origine géographique des souches, du fait que les deux groupes s'y trouvent. En outre, ces résultats concordent ceux de Restrepo et Verdier (1997). En effet, lors des travaux sur la caractérisation et l'évaluation de variabilité des *Xam* en Colombie, ces auteurs avaient trouvé les deux formes de pathogénicité distribuées dans chaque zone agro-écologique de la Colombie, sans faire toutefois mention de la proportion de souches virulentes et avirulentes. Les travaux de Daniel et al. (1981) montrent que l'agressivité des *Xam* est associée à une structure fibrillaire dans leur génome et que celles non agressives en serait dépourvue. Ces observations se rapprochent de celles de Mew et al. 1984, dans le cas des bactéries avirulentes de *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* à la surface des feuilles de riz. Une étude récente, réalisée par Bondar (2012) signale que le plasmide P44 jouerait le rôle de facteur de virulence chez les souches de *Xam*. Chez les clones avirulents, un fragment de 8 kb est absent de ce plasmide. Sur la base de ces connaissances, toute la question reste de déterminer le risque que comporterait la présence des souches virulentes sur les variétés cultivées. Dans ces conditions d'inoculations contrôlées, ces souches virulentes ont été inoculées à huit variétés économiquement importantes pour évaluer leur comportement et sélectionner les meilleurs qui seront proposées aux producteurs. Les résultats du criblage ont montré une différence dans la réaction des génotypes de manioc. En effet, le temps d'apparition et l'évolution de la maladie ont varié en fonction des cultivars de manioc et de la technique d'inoculation utilisée. Certains cultivars, comme "Yavo" et "Bocou 2", ont montré un niveau de résistance élevé. Ce qui laisse penser que, dans les conditions de notre expérimentation, ces variétés posséderaient une certaine immunité aux *Xam*. Sanchez et al. (1999) ont signalé plusieurs gènes impliqués dans la résistance de la plante à la bactériose. Jorge et al. (2000) ont mis en exergue six régions génomiques du manioc intervenant dans la résistance.

Cela laisse supposer que les variétés "Yavo" et "Bocou 2" auraient développé une réaction d'hypersensibilité (Fargier, 2007) qui se serait traduite par la libération de molécules de défense, avec pour objectif de limiter l'importance des attaques. La prise en compte des conséquences environnementales a amené à rechercher des méthodes alternatives à l'utilisation des produits chimiques de synthèse. La lutte contre cette maladie, a conduit à des tests d'efficacité d'un produit biologique à base d'extrait de plante. Les différents traitements montrent que l'effet phytothérapeutique est étroitement lié à l'intensité de l'infection parasitaire et aux doses appliquées. En effet, les traitements aux très faibles et fortes doses ont eu moins de succès, comparativement à ceux aux doses moyennes. Ainsi, les traitements de 0,25 et 0,5 ml/L de NECO ont été faiblement efficaces contre la propagation de l'infestation, entraînant progressivement des taches translucides sur les feuilles (stade 2), du point d'inoculation à l'ensemble de la feuille et des exsudats sur les tiges (stade 4). Ce phénomène a occasionné respectivement une mortalité de 90,75 et 75,95 % des plants traités. Ce résultat suggère que la dose minimale applicable de NECO contre les taches anguleuses et les nécroses des tiges dues aux *Xam* devrait être supérieure à 0,5 ml/L. Les résultats obtenus avec le NECO à la dose de 5 ml/L, est plus efficace contre la progression de l'agent pathogène, à la fois sur les feuilles et la tige, et serait non toxique pour la plante. Ce traitement a induit chez les plants infectés la capacité à stimuler des mécanismes de défenses contre les *Xam*. Autour du point d'inoculation des feuilles, de petites portions de cellules mortes sont apparues, évitant ainsi la croissance et la propagation des agents pathogènes dans le reste de la plante. L'inoculation simultanée des feuilles et des tiges a conduit à des nécroses et des exsudats sur ces dernières, provoquant des die-back sur les plants non traités. Dans le même ordre d'idée, Popp et al. (2013) ont estimé qu'en l'absence de traitement efficace, les pertes de production mondiale dues aux ravageurs (insectes, micro-organismes) et aux adventices pourraient s'élever à 70 %. Sur les tiges des plants traités au NECO à 5 ml/L, il a été constaté un développement végétatif par l'émission de nouveaux bourgeons à la base des boutures-tiges ; ce qui a favorisé la reprise d'environ 90% des plants infectés. Bien que les mécanismes de stimulation de NECO sur la néogenèse tissulaire des plantes ne soient pas encore bien élucidés, les travaux réalisés par Shigo (1984) indiquent que le phénomène de néogenèse tissulaire implique une activation de la biosynthèse des composés

pariétaux dont des polysaccharides, des protéines, la lignine et la subérine. Ces études ont été, par la suite, complétées par les travaux de Nicole *et al.* (1994) qui ont montré que la synthèse des composés pariétaux renforcerait les zones tissulaires infectées, donc, l'aptitude des plants à combattre les maladies. Le produit de référence, à base d'oxychlorure de Cuivre utilisé, à la dose de 75 g/L, a été meilleur au début de la maladie sur les feuilles. A ce stade, son effet a été très proche de

celui de NECO à 1 ml/L. Après les applications de ces deux produits à ces doses, les symptômes n'ont pas évolué pendant les deux semaines qui ont suivi les applications. En ce qui concerne, les plantes traitées aux doses de 8 et 10 ml/L de NECO, des réponses de toxicité allant des décolorations aux fanaisons de feuilles ont été les effets les plus perceptibles. Ce résultat suggère que chez le NECO, le seuil phytothérapeutique est en dessous de 8 ml/L.

## CONCLUSION

La présente étude a mise en évidence l'existence d'une diversité pathogénique au sein de la population de souches de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* en Côte d'Ivoire. Le nombre de souches virulentes a été significativement plus importante (90 %) que celle des souches avirulentes. Le criblage de huit variétés de manioc, avec une souche agressive de *Xam* Fek<sub>4</sub>, comparativement à *Xam* P<sub>4</sub>Mn, a montré que les variétés cultivées ont des sensibilités différentes vis-à-vis de la maladie. Tandis que certaines variétés sont caractérisées par un faible niveau attaque, d'autres ont connu des dégâts importants. Parmi ces derniers, se trouvent aussi bien les variétés locales que améliorées. Les essais de traitement de la maladie induit par une

souche agressive sur "Bocou1" et "Diarrassouba", deux variétés sensibles, ont montré un arrêt de la progression des lésions, empêchant le reste de la surface foliaire d'être atteinte à partir du point d'infection suite à deux applications de NECO à la dose de 5ml/L. Cela a favorisé un taux de reprise de 92,59 % contre 14,81 % du produit de référence par d'importantes inductions de bourgeons à la base des boutures tiges. A cette dose, aucun effet de phytotoxicité n'a été observé sur les plants traités. Malgré l'efficacité avérée du NECO, d'autres études sont à envisager en milieu réel en vue de déterminer les doses applicables selon la pression parasitaire, les variétés, et les conditions climatiques.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs sont reconnaissants au Programme de productivité agricole de l'Afrique de l'Ouest (PPAAO) pour les soutiens financiers et matériels.

## REFERENCES

- Affery AM., Abo K, Tuo S, N'Zué B. and Koné D, 2017a. Geographical distribution and incidence of cassava bacterial blight (*Manihot esculenta* Crantz) caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in two agro-ecological zones of Côte d'Ivoire. Plant Pathol. J. 16 : 1-11.
- Affery AM., Abo K, Wonni I, Tuo S, Kassi F M, Camara B. and Koné D, 2017b. Assessment of the NECO's effectiveness against cassava bacterial blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Côte d'Ivoire. Int. J. Agric. Res. 12 :190-198.
- Aliyou D, 2012. Le roi du manioc. Afrique Agriculture. 388 : 18-19.
- Barceloux DG, 2009. Cyanogenic foods (cassava, fruit kernels, and cycad seeds). Dis Mon. 55: 336–352.
- Bodnar AM, 2012. Function of TALE1 *Xam* in cassava bacterial blight: a transcriptomic Approach. Thèse de doctorat. Colombie. Pages : 193.
- Boher, B. and. Agbobli CA, 1992. La bactériose vasculaire du manioc au Togo : Caractérisation du parasite, répartition, cartographie et sensibilité variétale. L'Agronomie Tropicale. 46: 131-136.
- Bull SE, Ndunguru J, Grisse W, Beeching JR. and Vanderschuren H, 2011. Cassava constraints to production and the transfer of biotechnology to African laboratories. Plant Cell Rep. 30: 779–787.
- Daniel JF. and Boher B, 1981. Fluorescent antibody technique for detection of *Xanthomonas campestris* pv. *Manihotis* on cassava leaves. In : Proceedings 5th International Conference Plant Pathol Bact, Cali.176-180.
- Daniel JF., Boher B. and F. Kohler, 1981. Bacterial pathogens of Cassava in the people's republic of the Congo and the Central African Republic: Etiology, epidemiology. Agronomie EDP Sci. 1: 751-756.

- FAO, 2009. Agriculture food and nutrition of Africa: a resource book for teachers of agriculture. Food and agriculture organization of United Nation. Rome, Pages:135.
- FAO, 2012. Agricultural Statistics. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Rome. <http://faostat.fao.org>. Accessed July 2008.
- Fargier E, 2007. L'étude de la pathologie de *Xanthomonas campestris* et de la structure génétique de ses pathovars a permis l'amélioration de la détection du pathogène dans les semences de Brassicacées, École doctorale d'Angers. Pages : 236.
- Grousson F, 1986. Variabilité de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Thèse de Docteur Ingénieur. INA, Paris, Pages : 142.
- Hansford CS, 1937. In annual Report of the Department of Agriculture, Uganda. 2 : 47-248.
- Jorge V, Fregene M, Velez C, Duque MC, Tohme J. and Verdier V, 2000. QTL analysis of field resistance to *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in cassava. Theor Appl Genet. 102: 564–571.
- Kone D, Dao S, Tekete C, Doumbia I, Koita O, Abo K, Wicker E. and Verdier V, 2015b. Confirmation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* Causing Cassava Bacterial Blight in Ivory Coast. Plant Pathology. 16 (2): 73-81.
- Kone M, Doungous O, Khatabi B. and Fondong NV, 2015a. Somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces from Cameroon. Springer Plus. 4 :477.
- Laville J, 1984. Étude de la mosaïque africaine du manioc (*Manihot esculenta*, Crantz). Institut française de recherche scientifique pour le développement en coopération, Pages : 42.
- Mew TW, Mew JC. and Huang JS, 1984. Scanning electron microscopy of virulent and avirulent strains of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* on rice leaves. Phytopathology., 74: 535-641.
- Meyer D, Lauber E, Roby D, Arlat M. and Kroj T, 2005. Optimization of pathogenicity assays to study the *Arabidopsis thaliana*–*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* pathosystem. Molecular Plant Pathology. 6: 327–33.
- Nicole M, Ruel K, Ouellette GB, 1994. Fine morphology of fungal structures involved in host wall alteration. In: Petrini O. (ed.), Ouellette G.B. (ed.) Host wall alterations by parasitic fungi. St Paul, Minnesota: APS Press. 13-30.
- Otim-Nape GW, 1980. Cassava bacterial blight in Uganda. Tropical Pest Management. 26: 274-277.
- Popp, J, Petö K. and Nagy J, 2013. Pesticide productivity and food security. A review. Agron. Sustainable Dev., 33: 243-255.
- Restrepo S, Vélez C.M, Verdier V, 2000. Measuring the Genetic Diversity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* Within Different Fields in Colombia. Phytopathology. 90: 683-690.
- Restrepo S, Verdier V, 1997. Restrepo S, Verdier V. 1997. Geographical Differentiation of the Population of *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis* in Colombia. Applied and Environmental Microbiology. 63:4427–4434.
- Sanchez G, Restrepo S, Duque MC, Fregene M, Bonierbale M. and Verdier V, 1999. AFLP Assessment of Genetic Variability in Cassava Accessions (*Manihot esculenta*) Resistant and Susceptible to the Cassava Bacterial Blight (CBB). Genome/National Research Council Canada. 42: 163-172.
- Shigo AL, 1984. Compartmentalization: a conceptual framework for understanding how trees grow and defend themselves. Ann. Rev. Phytopathol. 22 : 189-214
- Verdier V, Schmit J. and Lemattre M, 1990. Étude en microscopie électronique balayage de l'installation de deux souches de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* sur feuilles de vitroplants de manioc. Agronomie. 2 : 93-102.
- Wonni I, Ouedraogo L, Dao S, Tekete C, Koita O, Taghouti G, Portier P. and Szurek B, 2014. First Report of Cassava Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Burkina Faso. Plant Disease. 99(4): Pages: 551.