

N

J.F. DANIEL
&
B. BOHER

QUELQUES ASPECTS DE LA SURVIE ET DE LA DISSEMINATION
DE L'AGENT CAUSAL DE LA BACTERIOSE VASCULAIRE DU MANIOC :
XANTHOMONAS CAMPESTRIS PATHOVAR MANIHOTIS



OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET

TECHNIQUE OUTRE-MER

Mars 1982

CENTRE DE BRAZZAVILLE

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 1390 ex 4

Cote : B

B. P. 181

BRAZZAVILLE

Date : 19 MAI 1982

QUELQUES ASPECTS DE LA SURVIE ET DE LA DISSEMINATION
DE L'AGENT CAUSAL DE LA BACTERIOSE VASCULAIRE DU MANIOC :
XANTHOMONAS CAMPESTRIS PATHOVAR MANIHOTIS

J.F. DANIEL et B. BOHER

Introduction -

Signalée au cours des années 1970 dans divers pays d'Afrique, la bactériose vasculaire du manioc (*Manihot esculenta*) Crantz est une des maladies les plus sévères recensées sur cette importante culture vivrière. Actuellement, cette maladie est présente dans de nombreuses zones de culture du manioc en Afrique (41 % de la production mondiale), en Amérique du Sud (19 % de la production mondiale) et en Asie (21 % de la production mondiale) (4).

La maladie présente son faciès caractéristique et un maximum d'intensité en saison des pluies, puis une phase de dormance en saison sèche pour reprendre avec l'arrivée de la nouvelle saison des pluies. L'agent causal, Xanthomonas campestris pathovar manihotis est une bactérie qui occupe une place originale au sein des bactéries phytopathogènes de part sa position taxonomique, la grande variété des symptômes qu'elle provoque et sa biologie. Cependant, comme toutes les bactéries pathogènes des plantes, cette bactérie ne forme pas de spores ou de structures de survie analogue à ce qu'on peut trouver chez les champignons et les nématodes. Pour assurer le maintien de la maladie d'un cycle cultural à un autre ou quand les conditions écologiques deviennent défavorables, le pathogène doit pouvoir survivre. Dans la présente communication nous faisons le point sur quelques mécanismes pouvant favoriser ou assurer la survie et la dissémination de Xanthomonas campestris pathovar manihotis dans les conditions écologiques du Congo (Afrique Centrale).

Survie comme épiphyte

Les études menées pendant trois années sur différentes plantations contaminées et situées dans des zones où la maladie est endémique, nous apportent quelques réponses sur certains points de la biologie de l'agent pathogène. La partie du cycle de la bactérie qui s'étend entre les derniers symptômes (début de la saison sèche) et l'apparition des nouvelles lésions foliaires au début de la saison des pluies, peut être expliqué par le maintien d'un inoculum sur la surface des feuilles. En effet, nous avons établi que Xanthomonas campestris pathovar manihotis présent au sein de la microflore épiphyte du phylloplan du manioc (manihot esculenta Crantz) dans les plantations présentant ou ayant présenté les symptômes de la maladie (3). Dans les plantations saines, on ne le détecte pas. Le Xanthomonas campestris pathovar manihotis n'est pas un composant normal de la microflore épiphyte du phylloplan du manioc. Cette bactérie a au cours de son cycle une phase de "résident" sensus *Leben* (5), laquelle doit être ensuite relayée par une phase parasitaire dynamique. En saison des pluies les deux phases ont lieu simultanément, en saison sèche (période de dormance) seule la phase épiphyte intervient laquelle assure le maintien de la bactérie jusqu'à la nouvelle saison des pluies.

Nous observons un nombre élevé de bactéries par feuilles en saison des pluies (10⁵-10⁷), plus faible en saison sèche (période d'arrêt des symptômes), voire en dessous du zéro technique (10²). Nous avons reproduit ces variations de populations sous forme d'histogramme (fig. 1) pour le cycle cultural 1980-1981 de la variété sensible M'pembé dans la zone de Kombé où la maladie est endémique.

La bactérie peut donc se maintenir à l'état d'épiphyte à un taux assez faible en saison sèche, lequel remonte rapidement au début de la saison des pluies et ceci avant l'apparition des nouveaux symptômes. Ces populations épiphytes de pathogène sont d'importantes sources d'inoculum primaire pour la contamination des tissus par l'intermédiaire des voies naturelles et des blessures. Il est intéressant de noter que ces populations épiphytes se retrouvent aussi au niveau du phylloplan de cultivars de manioc tolérants et résistants.

Survie dans la plante hôte

L'utilisation des techniques classiques d'isolements sur milieu nutritif et de détection par immunofluorescence indirecte démontrent que l'agent pathogène est présent dans les tissus de l'hôte non seulement pendant la phase parasitaire dynamique (saison des pluies) mais aussi pendant la phase de dormance (saison sèche) qui s'étend de juillet à fin septembre.

Tout au long de la saison sèche la bactérie se conserve dans le système vasculaire de la tige, au niveau des coussinets pétiolaires, des chancres et à un degré moindre dans les tissus morts des rameaux desséchés (3). Nous notons aussi que la séparation de l'agent pathogène dans le système vasculaire de la plante hôte n'est pas homogène. Bien qu'on note une localisation préférentielle de la bactérie dans les zones de la tige située à la jonction des tissus vivants et des tissus morts, on la retrouve aussi par place à différents niveaux de la tige exception faite de la partie basale.

La présence de la bactérie dans la plante hôte tout au long du cycle cultural et en particulier la conservation d'une population d'agent pathogène viable pendant la période d'arrêt de l'expression des symptômes à d'importantes implications dans le caractère endémique de la maladie.

La conservation d'une population endophyte permet d'expliquer :

- La contamination des rejets qui apparaissent au redémarrage de la végétation (fin août - début septembre). Sur ces derniers on détecte souvent des micro-lésions d'où peut exuder un mucus bactérien, qui par dissémination contribue à augmenter le niveau des populations épiphytes de Xanthomonas campestris pathovar manihotis déjà présentes au niveau du phylloplan.

- La contamination du matériel végétal nécessaire aux replantations (boutures).

La présence de l'agent pathogène dans les tissus de l'hôte constitue un moyen privilégié de survie, lequel associé à la capacité de survie épiphyte de la bactérie, assure la persistance de la maladie au sein de la plantation et sa dissémination dans de nouvelles zones par introduction de matériel végétal contaminé.

Survie dans la semence

La plupart des bactéries appartenant au genre Xanthomonas sont connus pour être transmissibles par la semence et survivre sur et ou dans la graine pendant des périodes de temps variables.

Dans le cas du Xanthomonas campestris pathovar manihotis les études d'épidémiologie qui nous ont permis de mettre en évidence la phase épiphyte de cette bactérie sur les feuilles de manioc, nous ont conduit aussi à détecter sa présence sur les fruits (3).

La technique de lavage de graines et de broyage après stérilisation de surface puis étalement sur milieu nutritif associé à la méthode d'immunofluorescence, démontrent la présence externe et interne de la bactérie. Les études préliminaires sur la conservation dans des conditions de faible hygrométrie (70 % d'humidité) et à la température du laboratoire (25°C) nous donne une survie de huit mois sur et dans la graine.

Des coupes sérielles réalisées sur des graines provenant de lots de semences contaminées ont été réalisées. Par la méthode d'immunofluorescence indirecte, nous avons pu mettre en évidence la bactérie dans la caroncule, l'endosperme, l'embryon, le testa et dans le tégument interne vascularisé (localisation préférentielle).

Les études sur le taux de contamination de la semence pour le cultivar sensible Maloeda ont été réalisées sur un cycle cultural complet (fig. 1). Nous avons un maximum de contamination interne et externe de la semence à la période de transition saison des pluies - saison sèche et au coeur de la saison des pluies (janvier-février). La période de forte contamination à la période de transition saison des pluies - saison sèche correspond à la période de production maximale de fruits pour la variété examinée.

Bien que le manioc soit essentiellement multiplié par voie végétative, dans de nombreux programmes d'amélioration variétale la semence est utilisée, laquelle peut fournir dans ces conditions un excellent moyen de conservation et de diffusion de l'agent pathogène.

Survie dans les débris végétaux et dans le sol

Dans les plantations contaminées la technique classique d'isolement sur milieu nutritif et l'immunofluorescence nous permettent de détecter l'agent pathogène dans les débris à la surface du sol. L'adaptation de la méthode de Bohloul et Schmidt (1)^{au} cas du Xanthomonas campestris pathovar manihotis ne nous a pas permis de détecter cette bactérie dans le sol exempt de débris végétaux, à l'exception de populations résiduelles en déclin.

Des prélèvements de débris au cours du cycle cultural nous montrent qu'on a un fort taux de contamination de ces derniers en saison des pluies (10^9 - 10^{10} bactéries par gr. de débris) et en dessous du zéro technique à la fin de la saison sèche. La technique d'immunofluorescence plus sensible permet de détecter la bactérie à la fin de la saison sèche. Ces résultats suggèrent qu'à la fin de la saison sèche la quantité de bactérie dans les débris est faible et doit se situer compte tenu du seuil de détection de nos techniques aux alentours de 10^3 bactéries par g de débris. Dans les conditions de faible hygrométrie (70 % d'humidité) et à la température du laboratoire la bactérie se conserve au moins huit mois. Si on implante un lot de ces mêmes débris dans le sol pendant la saison sèche, on observe la présence la bactérie pendant deux mois.

Les débris végétaux semblent donc ne pas être la niche écologique privilégiée pour la conservation de l'agent causal de la bactériose vasculaire du manioc. Dans le sol sa présence est transitoire, souvent associée avec des débris végétaux. Les populations n'étant pas compétitives vis-à-vis des autres microorganismes saprophytes du sol, déclinent rapidement. On peut ranger cette bactérie dans le groupe I de la classification de Buddenhagen.

Association avec des plantes adventices

Dans les zones où la maladie est endémique nous avons mis en évidence la présence épiphyte de Xanthomonas campestris pathovar manihotis au niveau du phylloplan de quelques plantes adventices fréquentes dans les plantations de manioc.

Ces plantes sont : *Celosia trigyna* (Amarantacée) *Phyllanthus amarus* (Euphorbiacée), *Jathropa gossipiifolia* (Euphorbiacée), *Eupatorium odoratum* (Composée).

Ces plantes qui sont présentes dans les plantations tout au long du cycle cultural pourraient constituer des sites de survie jouant le rôle de réservoir de bactéries. Ces dernières lesquelles pouvant être disséminées quand les conditions deviennent favorables (saison des pluies) aux plants de manioc voisins.

Association avec les insectes

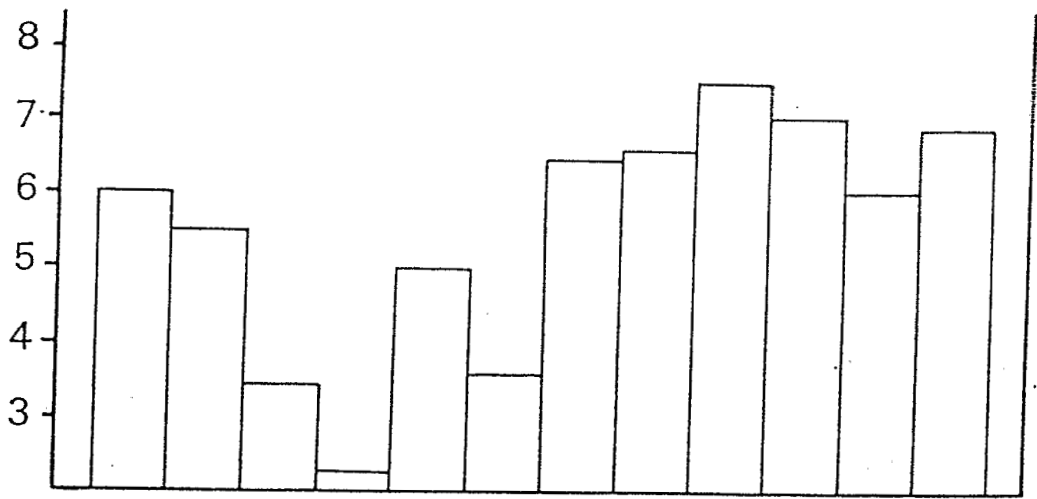
Dans les plantations situées dans la région du Pool et des Plateaux Batéké, régions où la maladie est endémique nous avons détecté la présence *Xanthomonas campestris pathovar manihotis* chez quelques insectes broyeurs et piqueurs : *Chrysolagria cuprina* Thompson (Col. Lagridae), *Gonocephalum simplex* (Fabricius) (Col. Tenebrionidae), *Ischnotrachelus* sp. (Col. Curculionidae), *Zonocerus variegatus* L. (Orth. Aeridae), *Pseudotheraptus devastans* (Het. coreidae) et une punaise non déterminée (Het. sp.).

La bactérie est présente sur l'exosquelette, dans le tractus intestinal, et aussi dans le cas des broyeurs dans les regurgitats et les fécés. Dans tous les cas l'agent pathogène est viable ; ces insectes participent à la dissémination de la maladie au niveau de la plantation ; pour de plus longues distances leur rôle reste à déterminer. La transmission n'a pu être vérifiée jusqu'à présent que dans pour le *Zonocerus variegatus*.

C'est en saison des pluies, période où a lieu la dissémination de la maladie, qu'on trouve les populations d'insectes les plus abondantes et aussi un maximum d'insectes porteurs de la bactérie.

En saison sèche dans le cas particulier du *Zonocerus variegatus*, on a pu détecter l'agent pathogène chez cette espèce au coeur de la saison sèche, période où l'on ne détecte pas de symptômes. Ce résultat suggère que l'agent pathogène pourrait survivre voire se multiplier au sein de l'insecte vecteur. Si cette hypothèse se vérifie, l'insecte assure la conservation de la bactérie pendant la période de dormance et sa transmission quand les conditions redeviennent favorables (saison des pluies).

Log. du nb.
de germes
par feuille
moy. mens.

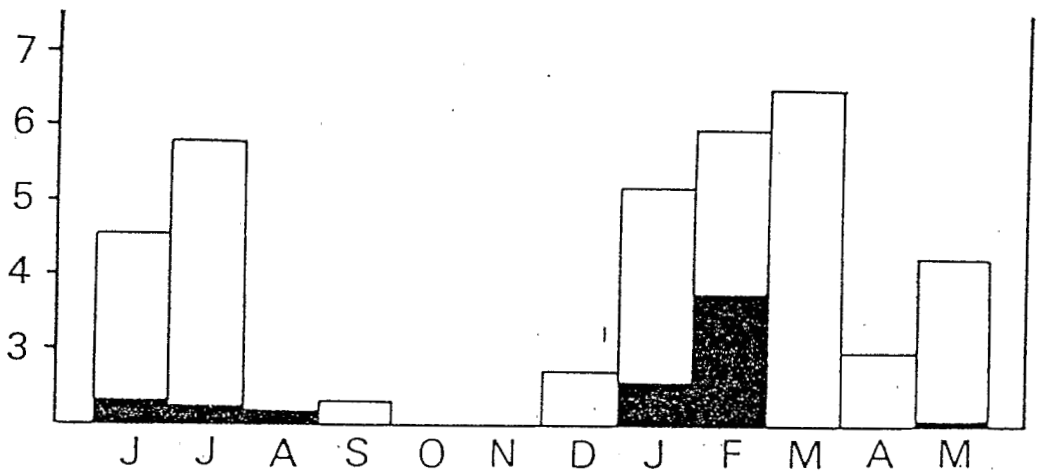


Log. du nb.
de germes
par graine

□ ext.

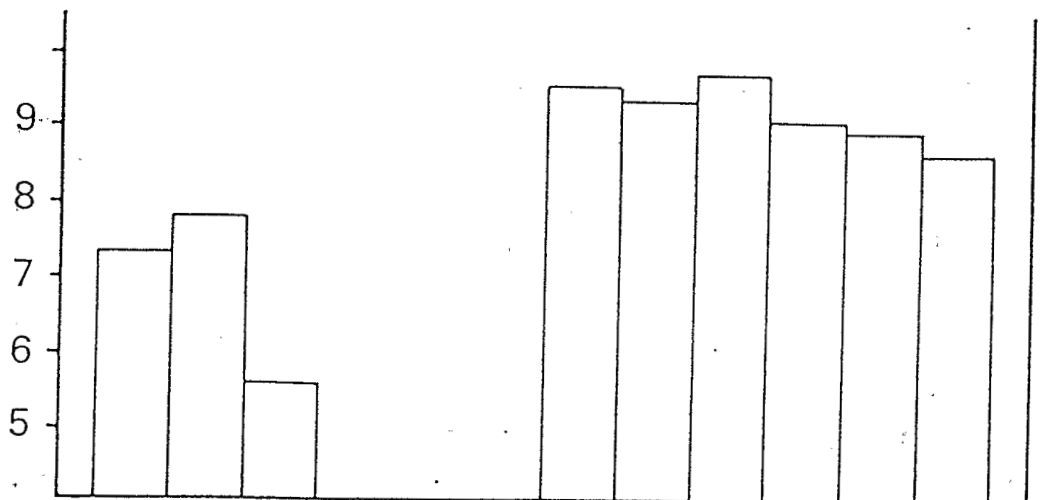
■ int.

moy. mens.

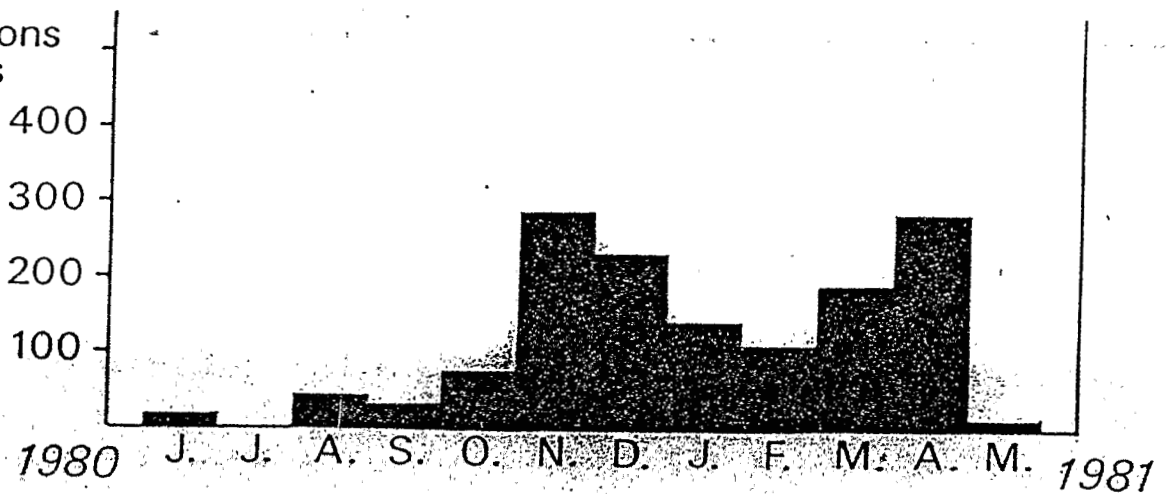


Log du nb
de germes
par gramme
de débris

moy. mens.



Précipitations
mensuelles
mm.



Dans le cas de la bactériose vasculaire du manioc, l'association insecte-bactérie nécessite des études supplémentaires pour apprécier l'importance de son rôle dans la survie de Xanthomonas campestris pathovar manihotis.

DISCUSSION

Sans moyens de dissémination et la capacité de survivre pendant la période sèche, l'agent causal de la bactériose vasculaire Xanthomonas campestris pathovar manihotis ne pourrait donner à cette maladie son caractère endémique.

Les mécanismes adoptés par la bactérie pour assurer la survie sont :

- survie de population épiphyte au niveau du phylloplan du manioc ou de plantes adventices ;
- conservation dans les tissus de l'hôte ;
- conservation dans la graine ;
- conservation dans les débris végétaux ;
- conservation dans certains insectes.

Il faut noter que dans le cas de cette bactérie la conservation de l'agent pathogène dans les tissus de l'hôte associé à la capacité de ce dernier d'avoir une phase épiphyte au cours de son cycle infectieux constitue le mécanisme le plus efficace pour assurer le maintien de cette bactérie d'un cycle cultural à un autre. Compte tenu des résultats que nous avons obtenus le rôle des insectes ne doit pas être négligé.

Bibliographie

- BOLHOOL, B.B. et SCHMIDT, 1973 - A fluorescent antibody technique for determination of growth rates of bacteria in soil. In Bull. Ecol. Res. Comm. (Stockholm), 17 : 336-338
- BUDDEN HAGEN, I.W., 1965 - The relation of plant - pathogenic bacteria to the soil. In Ecology of soil-borne plant pathogens. ed. K.F. Baker, W.C. Snyder. 269-284, Berkeley : Univ. Calif. Press, 571 pp.
- DANIEL, J.F. et BOHER, B., 1978 - Ecology of cassava bacterial blight : Epiphytic survival of *Xanthomonas manihotis* on aerial parts of cassava plants. Proc. 4 th Int. Conf. Plant. Path. Bact., 763-771
- FAO (1976), 1975 FAO - Production year book volume 29, FAO statistics series n° 7, FAO, Rome
- LEBEN, C., 1965 - Epiphytic microorganism in relation to plant disease. Ann. Rev. Phytopathol., 3, 209-230.