

ORSAY
n° d'ordre :

UNIVERSITE DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

THESE

présentée
pour obtenir

Le titre de Docteur en Sciences

Par

Jean François DANIEL

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA BIOLOGIE DE *XANTHOMONAS CAMPESTRIS*
PATHOVAR MANIHOTIS (ARTHAUD-BERTHET ET BONDAR) STARR AGENT
RESPONSABLE DE LA BACTERIOSE VASCULAIRE DU MANIOC, *MANIHOT*
ESCULENTA CRANTZ .

Soutenue le 31 janvier 1991 devant la commission
d'examen composée de:

M. M. DRON	Président
M. A. COLENO	
M. J. LUISETTI	Rapporteur
M. A. RAVISE	Rapporteur
M. J.C. FOLLIN	

A Sybille,

AVANT-PROPOS

Les recherches présentées dans cette thèse ont été effectuées au Laboratoire de phytopathologie du Centre ORSTOM de Brazzaville, Rép. pop. du CONGO à l'initiative du Département "Milieux et Activités Agricoles" de l'ORSTOM, dans le cadre du programme "Relations hôtes-parasites" de l'Unité de Recherche "Parasites et ravageurs en relation avec la plante et le milieu". Ces travaux ont été effectués sous l'autorité scientifique de la commission scientifique "Sciences du monde végétal" dans le cadre d'une coopération bilatérale avec le Ministère de la Recherche Scientifique du CONGO . Que Monsieur le Directeur Général de l'ORSTOM, Messieurs les responsables du département, de l'unité de recherche, de la commission scientifique et les autorités congolaises me permettent de leur exprimer mes plus vifs remerciements .

La rédaction de cette thèse a été réalisée au laboratoire de Phytopathologie du centre ORSTOM de Montpellier . Je tiens à témoigner ma gratitude à M. C. BOISSON, qui a mis à ma disposition tous les moyens techniques nécessaires à cette entreprise . J'associe M. J.P. GEIGER dont la disponibilité et les conseils m'ont été d'un grand réconfort .

Ce travail n'aurait pu être effectué sans l'appui technique de mes amis congolais, Messieurs P. DONGO, L. MAKOUNDOU, C. MATOUTA, N. MAHOUNGOU, F. MIAKA et l'amitié de P. DIHOULOU, de C. MAKAMBILA, de V. DOULOU et de R. MASSALA Doyen de la Faculté des Sciences de Brazzaville . Je suis heureux de pouvoir leur exprimer toute ma reconnaissance .

Je tiens aussi à exprimer ma reconnaissance et ma profonde amitié à B. BOHER mon compagnon d' "off road" et de laboratoire pendant de nombreuses années .

Je remercie J. LUISETTI qui m'a initié à "la vie épiphyte des bactéries" et qui, par son soutien de tous les instants, ses critiques et son amitié, m' a donné le courage de concrétiser ce

travail .

Je remercie très chaleureusement A. RAVISE, qui malgré l'éloignement a toujours été un "catalyseur" pour les recherches menées au CONGO .Que son dévouement et ses qualités humaines trouvent ici toute ma reconnaissance .

Monsieur A. COLENO, mon directeur de thèse, dont l'attitude bienveillante m' a permis, au cours des années et malgré l'éloignement, de garder le "moral scientifique" au sein d'une discipline minoritaire à l'ORSTOM . Il m'est aujourd'hui agréable de lui exprimer toute ma reconnaissance .

Monsieur le Professeur M. DRON qui me fait l'honneur de présider le jury de cette thèse . Qu'il soit, à ce titre, profondément remercié .

J'exprime toute ma reconnaissance à Madame M. LEMATTRE pour son accueil à Versailles et à M. J.SCHMIDT pour sa précieuse collaboration en microscopie électronique .

Monsieur J.C. FOLLIN a accepté de siéger au jury de cette thèse . Qu'il soit, à ce titre et dans la perspective d'une collaboration sur la bactériose du cotonnier, profondément remercié .

Je remercie tous les collègues mycologues de Montpellier, qui ont supporté en leur sein un bactériologiste parfois envahissant .

Que tous ceux qui m'ont encouragé et soutenu, par leur aide ou leur affection, reçoivent ici l'expression de ma reconnaissance .

RESUME

Contribution à l'étude de la biologie de *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* (Arthaud- Berthet et Bondar) Starr agent responsable de la bactériose vasculaire du manioc, *Manihot esculenta* Crantz .

L'étude de la microflore bactérienne de la phyllosphère de plants de manioc dans des plantations contaminées par la bactériose vasculaire du manioc permet de mettre en évidence la présence épiphyte de *X. c. pv. manihotis* . La capacité de cette bactérie d'avoir une phase épiphyte au cours du cycle de la maladie contribue à la formation de l'inoculum nécessaire au déclenchement de la maladie, à la l'installation du pathogène au niveau de la plantation et favorise sa survie . Les mécanismes intervenant dans la conservation de la bactérie permettent d'expliquer le caractère endémique de la maladie et son apparition dans des zones indemnes . Deux mécanismes sont essentiels : la capacité du pathogène d'avoir une phase épiphyte et sa conservation dans les tissus de l'hôte .

La quantité de bactéries épiphytes peut être limitée par le niveau de réssitance de l'hôte . Ainsi, le niveau des populations présentes sur les cultivars tolérants (MB 27 et MB 38) ne diffèrent pas significativement de celui détecté sur les cultivars sensibles (Mpembé et Maloenda), mais est plus faible sur le cultivar résistant TMS 30555 . Chez le manioc, la résistance peut être associée à la fois une limitation des populations épiphytes et à une réduction de la multiplication de la bactérie dans les tissus foliaires . Cependant, d'autres mécanismes doivent intervenir comme le seuil d'infection, la sensibilité des tissus, la limitation de la colonistion du système vasculaire .

La distribution lognormale des populations du pathogènes à la surface des feuilles permet d'établir une relation quantitative entre le niveau des populations épiphytes et l'incidence de la maladie . Ainsi, au début du cycle cultural (cultivar Mpembé, saison des pluies), le seuil de 10^4 UFC par feuille est en relation avec l'incidence de la maladie . Ce seuil n'est pas constant pour un couple cultivar-bactérie, mais dépend des conditions environnementales et de la sensibilité de l'hôte .

Mots-clés :

Manioc, *Manihot esculenta* Crantz, Afrique, bactériose vasculaire, *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis*, épiphyte, cycle biologique, tolérance, résistance, niveau de population, distribution lognormale, incidence .

SUMMARY

Contribution to the biological study of *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* (Arthaud-Berthet et Bondar) Starr, causal agent of cassava bacterial blight, *Manihot esculenta* Crantz.

Study of the bacterial microflora of the phyllosphere of cassava plants growing in fields previously infected with cassava bacterial blight demonstrated the epiphytic activity of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. The capacity of *X. c.* pv. *manihotis* to have an epiphytic phase in its disease cycle contributes to buildup of primary inoculum and to the establishment of the pathogen in the field, and enhance its survival. Analysis of the mechanisms ensuring persistence of the causal agent of cassava bacterial blight explains the fact that this disease is endemic in numerous regions and causes sudden outbreaks in healthy zones. Two mechanisms are essential: the capacity of the pathogen to have an epiphytic phase and its conservation in host tissues.

Changes in epiphytic population levels could be influenced by cultivar (host genotype). Epiphytic populations of *X. c.* pv. *manihotis* did not differ significantly on plants of susceptible and tolerant cassava cultivars (Mpembé, Maloenda, MB27, MB238), but they were lower on resistant cultivar TMS 30 555. Resistance could be related to limitation of epiphytic and internal population sizes. However, others mechanisms take place as infection threshold, susceptibility of the tissues, limitation of systemic movement of the pathogen in vascular tissues.

Log normal distribution of *X. c.* pv. *manihotis* populations on leaf surfaces allow to establish a quantitative relationship between epiphytic population levels and disease incidence. Thus, the apparent threshold of 10^4 CFU per leaf was predictive of disease incidence at the beginning of the cultural cycle (rainy season). This threshold is not fixed for a given cultivar pathogen system, but is conditioned by the environment and susceptibility of the host.

Key-words:

Cassava, *Manihot esculenta* Crantz, Africa, bacterial blight, *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis*, epiphytic, biological cycle, tolerance, resistance, population level, lognormal distribution, incidence.

SOMMAIRE

	pages
Remerciements	
Summary	
Sommaire	1
Quelques définitions et abréviations	6
 INTRODUCTION	 8
 I . Le manioc	 8
I . 1 . Origine du manioc	8
I . 2 . Présentation de la plante	10
I . 3 . Culture	11
I . 4 . Adaptation	12
I . 5 . Production	13
I . 6 . Les contraintes phytosanitaires du manioc	14
II . La bactériose vasculaire du manioc	15
II . 1 . Distribution géographique:	15
II . 2 . Importance de la maladie	17
II . 3 . Les symptômes:	18
II . 4 . Etiologie	20
II . 5 . Histologie :	21
II . 6 . Lutte	22
III . Conclusion et présentation du travail	23
 CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES	 26
 Introduction	 27
I . Matériel et méthodes	29

I . 1 . Matériel végétal :	29
I . 2 . Méthode de culture de la plante	30
I . 3 . L'agent pathogène	32
I . 3 . 1. Isolement et conservation de l'isolat :	32
I . 3 . 2 . Préparation de l'inoculum	32
I . 4 . Protocoles d'étude des populations du pathogène au niveau de la phyllosphère et dans les tissus de l'hôte	33
I . 4 . 1 . Mise en évidence des populations bactériennes à la surface des organes aériens	33
A - Mise en évidence de <i>X. c. pv. manihotis</i> sur le phylloplan :	33
B - Etude de la dynamique des populations épiphylls :	33
I . 4 . 2 . Evaluation de la contamination interne de la semence :	34
I . 4 . 3 . Recherche de <i>X. c. pv manihotis</i> dans les débris végétaux :	34
I . 4 . 4 . Détection de <i>X. c. pv. manihotis</i> dans le sol :	35
I . 4 . 5 . Présence de <i>X.c.pv. manihotis</i> en association avec les insectes :	35
I . 4 . 6 . Répartition de <i>X. c. pv. manihotis</i> dans les tiges :	35
I . 4 . 7 . Présence de <i>X.c. pv. manihotis</i> au niveau des coussinets pétiolaires et des chancres sur tiges :	36
I . 5 . Méthodes de détection de l'agent pathogène	36
I . 5 . 1 - Détection et numération sur milieu gélosé :	36
I . 5 . 2 . Détection par la technique d'immunofluorescence indirecte :	37
I . 6 . Protocole d'étude de la présence des populations de <i>X. c. pv manihotis</i> sur les feuilles de manioc	37
I . 6 . 1. Cultivars	37
I . 6 . 2 . Détermination du niveau des populations épiphylls de <i>X.c. pv manihotis</i> sur les feuilles :	38
I . 6 . 3 . Observation en microscopie de la localisation des bactéries sur les feuilles	38
I . 6 . 3 . 1 . Observation en épifluorescence	38
I . 6 . 3 . 2 . Observation en microscopie à balayage	38
I . 7 . Protocole d'étude du niveau des populations épiphylls de <i>X.c. pv manihotis</i> sur feuilles de différent cultivars	40

I . 7 . 1 . Cultivars utilisés :	40
I . 7 . 2 . Détermination des populations de <i>X.c. pv.manihotis</i> à la surface des feuilles	40
I . 8 . Protocoles d'étude de l'implantation épiphyllle de <i>X.c. pv. manihotis</i> sur feuilles et de sa multiplication dans les tissus foliaires.	41
I . 8 . 1 . Cultivars utilisés :	41
I . 8 . 2 . Inoculation des plants :	41
I . 8 . 3 . Multiplication de <i>X.c. pv.manihotis</i> sur et dans les feuilles de manioc en fonction du cultivar.	42
a) Détermination des populations bactériennes à la surface des feuilles	42
b) Détermination des populations bactériennes dans les tissus foliaires :	42
c) Dénombrement des populations bactériennes	42
I . 9 . Relation entre le niveau des populations épiphyllles de <i>X.c.pv.manihotis</i> et l'incidence de la maladie	43
I . 9 . 1 . Mesure de l'incidence de la maladie:	43
I . 9 . 2 . Variation de l'incidence en fonction de l'âge de la feuille :	43
I . 9 . 3 . Distribution des populations épiphyllles sur les feuilles en fonction de l'incidence de la maladie	43
I . 10 . Traitements statistiques	44

CHAPITRE II : DYNAMIQUE DES POPULATIONS DE *X. c. pv. manihotis* AU NIVEAU DE LA PHYLLOSPHERE ET ETUDE DES MODES DE SURVIE 45

II .1. Etude de la microflore bactérienne de la phyllosphère	46
II . 1 . 1 . Mise en évidence de la présence de <i>X. c. pv. manihotis</i> sur le Phylloplan	46
II . 1 . 2 . Etude de la dynamique des populations épiphyllles	47
II . 1 . 3 . Observation en microscopie de <i>X. c. pv. manihotis</i> à la surface des feuilles	49
II . 1 . 3 . 1 . Microscopie en épifluorescence	49
II . 1 . 3 . 2 . Microscopie électronique à balayage	50
II . 2 . Etude des mode de survie de l'agent pathogène	51

II . 2 . 1 . Survie sous forme de populations épiphylls sur les organes aériens du manioc	51
II . 2 . 2 Survie sur les organes aériens d'autres plantes	51
II . 2 . 3 Survie dans les tissus de la plante -hôte	52
II . 2 . 4 Survie dans la semence	53
II . 2 . 5 Survie dans les débris végétaux	53
II . 2 . 6 Survie dans le sol	54
II . 2 . 7 Survie en association avec les insectes de l'entomofaune du manioc	54
II . 3 . Discussion et conclusions	55

CHAPITRE III : ETUDE DE LA DYNAMIQUE DES POPULATIONS EPIPHYLLES SUR LES FEUILLES EN FONCTION DU NIVEAU DE RESISTANCE DE L'HOTE 64

III . 1 . Dynamique des populations épiphylls de <i>X. c. pv. manihotis</i> sur les feuilles de cultivars sensibles, tolérants et résistants dans les conditions du champ	66
III . 2 . Etude de l'implantation et de la multiplication épiphylls de <i>X. c. pv. manihotis</i> sur les feuilles de cultivars sensibles, tolérants et résistants .	67
III . 3 . Etude de la multiplication de <i>X. c. pv. manihotis</i> dans les tissus foliaires de cultivars sensibles et résistants .	68
III . 4 . Discussion et conclusions	69

CHAPITRE IV : NIVEAU DES POPULATIONS EPIPHYLLES SUR LES FEUILLES ET INCIDENCE DE LA MALADIE 73

IV . 1 . Distribution des populations épiphylls de <i>X. c. pv. manihotis</i> sur les feuilles de manioc	75
IV . 2 . Comparaison de la fréquence des fortes populations épiphylls et de l'incidence de la maladie .	76
IV . 3 . Niveau des populations épiphylls de <i>X. c. pv. manihotis</i> et incidence de la maladie .	77

IV . 4 . Discussion et conclusions	79
DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION	81
I - Le cycle de la biologique de la maladie	82
II - Population épiphylls et niveau de résistance de l'hôte	88
III - Relation entre le niveau des population épiphylls et l'expression de la maladie	91
IV - Conclusion et perspectives	93
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	96
ANNEXES	117

QUELQUES DEFINITIONS ET ABREVIATIONS

Cultivar : “ensemble d’individus ayant des caractéristiques agro-technologiques identiques, et non différenciés dans la nomenclature traditionnelle”

(un cultivar peut être constitué de un ou plusieurs clones)

Variété : “ population à base génétique très étroite, et de caractéristiques agro-technologiques bien définies, reproductible suivant un schéma de maintien défini”

(chez le manioc, les variétés sont généralement des clones)

Clone : bien que la définition rigoureuse soit “ensemble de la descendance par multiplication végétative d’un même zygote”, le sens généralement donné dans les études concernant le manioc: “ensemble de la descendance par multiplication végétative” d’une même plante .

ORSTOM : Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération

IITA : International Institute for Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria

CIAT : Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia

X. c. pv. *manihotis* : *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis*

U.F.C. : unité formant une colonie

INTRODUCTION

INTRODUCTION

I . LE MANIOC

Le manioc, *Manihot esculenta* Crantz, plante dicotylédone de la famille des Euphorbiacées, est un arbuste héliophile de 1 à 5 mètres de hauteur, cultivé en région tropicale pour ces racines tubérisées . Le genre *Manihot* (MILLER, 1754) constitue la tribu des *Manihotées* de la famille des Euphorbiacées . On reconnaît une centaine espèces (ROGERS and APPAN, 1973 ; NASSAR, 1986), dont une seule est cultivée : *Manihot esculenta* Crantz . Toutes les espèces observées ont $2n=36$ chromosomes . Certaines classifications antérieures basées sur la teneur en acide cyanhydrique des tubercules élevaient au rang d'espèces les variétés douces et les variétés amères . Cette teneur est en fait fonction des conditions physiologiques de la plante, des saisons, de l'altitude de la nature du sol et n'a pas de valeur taxonomique (ROGERS, 1963, 1965 ; COURS, 1951 ; IITA, 1982) . Actuellement, c'est la classification de ROGERS and APPAN (1973) qui fait autorité . Pour ces auteurs, l'ensemble des cultivars de manioc constitue une seule espèce : *Manihot esculenta*, , dénomination utilisée pour la première fois par CRANTZ en 1766 (CAULLIEZ & al., 1979) . Ainsi, des synonymes de *M. esculenta* sont rencontrés dans la littérature : *M. aipi* Pohl, *M. dulcis* Pax, *M. palmata* Muell. et Arg. et *M. utilissima* Pohl.

I . 1 . Origine du manioc

La faible différenciation des espèces du genre *Manihot* ne mettant pas en évidence de phylogénie claire (ROGERS and APPAN, 1973 ; ALLEM, 1987), l'origine génétique du cultigène *M. esculenta* reste indéterminée . Plusieurs espèces pourraient être à l'origine de la domestication du manioc . VAVILOV (1951) situe le centre de domestication dans les zones semi-arides du Brésil . La revue des données ethnobotaniques et archéologiques (CANDOLLE, 1883 ; SILVESTRE et ARRAUDEAU, 1983) témoignent d'une culture ancienne du manioc : au Vénézuéla (2700 av J.C.), en Colombie (1200 av J.C.) et au Mexique (900 à 200 av J.C.) . Ces données suggèrent une domestication à plusieurs dates et en plusieurs sites sur le continent américain . Les systèmes de culture traditionnels ayant par la suite favorisé l'apparition d'un grand nombre de cultivars (HERSHEY, 1984) . L'extension intracontinentale était déjà importante à l'époque précolombienne (BYRNE, 1984) .

La dispersion intercontinentale du manioc est récente . Dans le cas de l'Afrique, on distingue deux voies d'introduction du manioc (JONES, 1959 ; SILVESTRE et ARRAUDEAU 1983) :

-la première, sur la côte Ouest de l'Afrique, date du milieu du 16^{ème} siècle . Les Portugais ont introduit des cultivars de la Côte Est du Brésil, d'une part vers Sao Tomé et Principe, le Ghana, le Togo et, d'autre part à l'embouchure du fleuve Congo .

-la seconde, en Afrique de l'Est, date du 18^{ème} siècle . Dans cette zone, la culture du manioc a été introduite via les îles de l'Océan Indien (Réunion et Ile Maurice), puis par Madagascar et Zanzibar .

Dans un premier temps, la culture du manioc est restée cantonnée aux zones littorales d'introduction . Au cours du 17^{ème} siècle, sa culture n'aurait progressé que très lentement, d'abord dans la cuvette congolaise (chez les Bushongo du Kasai au Zaïre), en Angola et sur la côte de Guinée (1650) . Ce n'est qu'à partir du 19^{ème} siècle, que la diffusion intracontinentale

s'est réalisée, lors des explorations vers l'Afrique Centrale, lors des migrations des populations Bantou dans la zone de forêt équatoriale et lors des déplacements saisonniers vers les régions côtières dans la zone soudanaise . Actuellement, la diffusion de la culture du manioc se poursuit dans les pays de la zone tropicale sèche où le manioc joue un rôle d'aliment d'appoint .

En Asie, on observe également une double introduction de la culture du manioc (BYRNE, 1984 ; SILVESTRE et ARRAUDEAU, 1983) :

- aux Philippines, au début du 17^{ème} siècle, les Espagnols ont introduit des cultivars d'origine d'Amérique Centrale ;

- à Ceylan au 18^{ème} siècle, et plus tôt en Inde du Sud.

Plusieurs espèces de *Manihot* furent importées en Afrique au début du 20^{ème} siècle, soit en tant qu'espèces ornementales, soit pour intervenir dans les schémas d'amélioration du manioc et dans le cas de *M. glaziovii* Muell. Arg. pour la production de latex (ADRIAENS, 1957).

I . 2 . Présentation de la plante

Le manioc, *Manihot esculenta* , plante pérenne tropicale, de type arbustif est cultivé pour ses racines tubérisées riches en substances amylacées (Planche 1) . Les systématiciens et les paysans utilisent plusieurs descripteurs pour distinguer les variétés de manioc .

Sur le plan phénotypique, on peut distinguer les variétés par des caractères morphophysiologiques tel le port (type de ramification), l'aspect des organes aériens (tiges, feuilles, pétioles, inflorescences) et souterraines (la forme et l'insertion des tubercules) . Plus récemment, la classification intraspécifique du manioc basée sur l'étude du polymorphisme enzymatique déterminée par électrophorèse d'enzymes est proposée (ZOUNDJIHEKPON, 1986; LEFEVRE, 1988) .

Les feuilles sont palmatilobées, en général de 5 à 9 lobes (toujours en nombre impair), alternes et pétiolées . La couleur des jeunes feuilles et des pétioles varie du vert tendre au pourpre. Les rameaux dès leur apparition sont colorés, vert jaunâtre à brun rouge selon la variété. Les bois âgés (un an) prennent une coloration gris cendré à gris brun . Les noeuds, disposés en

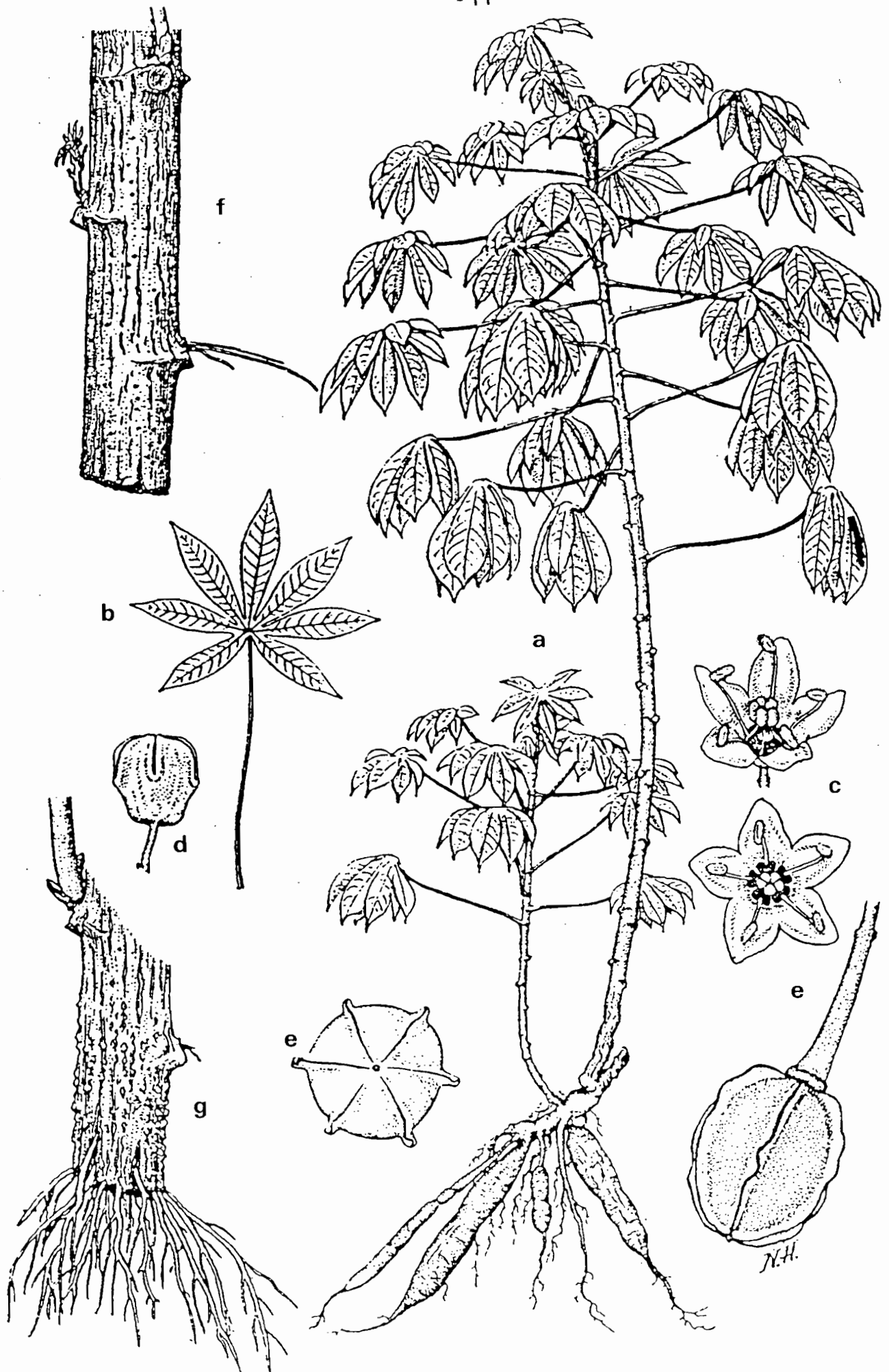


Planche 1 : Le manioc *Manihot esculenta* Crantz,
a = plant adulte, b = feuille, c = fleur, d = bouton floral, e = fruit,
f = bouture âgée de 5 jours, g = bouture âgée de 15 jours, h = tubercu-
les

spirale autour des tiges, les divisent en entre-nœuds . L'oeil qui se trouve sur les nœuds peut se développer pour donner une pousse, mais le plus souvent il demeure à l'état latent . Lors du développement de la plante la tige principale se ramifie en trois rameaux qui à leur tour, une fois leur croissance achevée, donneront trois branches nouvelles . Chez le manioc, la ramification et la floraison sont des phénomènes biologiques liés . Les inflorescences apparaissent en même temps que la division des rameaux . Généralement, celles correspondant aux ramifications les plus basses avortent . Les variétés qui ne ramifient pas, ne fleurissent pas (LEFEVRE, 1988) .

Le régime de reproduction du manioc est essentiellement allogame (bien qu'autocompatible) avec une pollinisation assurée par les insectes (KAWANO & *al.*, 1978) . L'inflorescence en forme de grappe porte à sa base les fleurs femelles ; les fleurs mâles plus nombreuses (1 fleur o pour 7 fleurs o) ne s'ouvrent que plusieurs jours après . L'aptitude à la floraison du manioc est très variable et dépend essentiellement du cultivar et des conditions agro-écologiques . Toutes les espèces du genre *Manihot* présente un ovaire à trois carpelles soudés, avec un ovule par loge . Le fruit est une capsule déhiscente contenant trois graines . Il arrive à maturité 2 à 3 mois après pollinisation . Il est parfois lisse, mais comporte le plus souvent six ailes . Sa coloration varie du vert-pâle au rouge violacé . Les graines sont de couleur brun-rougeâtre et possèdent une caroncule .

I . 3 . Culture

Les plants de manioc sont généralement multipliés par voie végétative par bouturage d'axes caulinaires aoûtés (SADIK, 1972) . La reproduction sexuée n'est utilisée que dans les études de sélection . Depuis quelques années, la culture in vitro associée à la technique de microbouturage permet d'augmenter considérablement son taux de multiplication (BERBEE et *al.*, 1973 ; KARTHA et *al.*, 1974 ; FEREOL, 1978 ; MABANZA & *al.*, 1981) . Dans la pratique, cette technique est limitée par le sevrage des vitro-plants qui est une étape délicate dans les conditions classiques de culture .

Dans un même champ, plusieurs clones sont souvent cultivés en association avec d'autres plantes comme le maïs, l'arachide, le bananier, le taro et des cultures maraîchères . La

récolte de la plupart des clones se fait à partir du douzième mois . Après la plantation, au cours de laquelle les boutures sont totalement ou partiellement enfouies dans le sol, le cycle cultural comporte schématiquement quatre phases (SYLVESTRE & ARRAUDEAU, 1983) :

- **la reprise** (durée de trois semaines) caractérisée par l'émission des racines au niveau des noeuds et du cal cicatriciel et le départ du ou des bourgeons végétatifs .A l'origine traçantes, les racines s'enfoncent ensuite dans le sol.

- **l'installation** (durée de un mois et demi à deux mois) qui correspond à la croissance des racines . Au cours de cette phase le développement aérien est limité et la plante utilise essentiellement les réserves de la bouture . Cette phase est critique et dépend largement de la qualité de la bouture .

- **le développement aérien** (durée de un à deux mois) intervient dès que le système racinaire est fonctionnel . Cette phase est caractérisée par une croissance active de l'appareil aérien et une croissance encore très faible des tubercules . La tige présente une dominance apicale, laquelle supprime le développement de ramifications latérales . Lorsque la tige principale est aoutée et à former une inflorescence, la dominance apicale cesse et plusieurs (deux à quatre) bourgeons axillaires adjacents à l'apex se développent donnant à la plante son faciès ramifié caractéristique . Le déterminisme de la ramification du manioc est extrêmement variable . Au cours des premiers mois, la plante utilise la moitié de ses réserves à la formation des nouvelles feuilles, 40 p. 100 à l'édification des supports (bois) et la racine ne se voit attribuer que 10 p. 100 des réserves (COURS, 1951) .

- **l'apparition des tubercules**, phase qui correspond au stade où la surface foliaire atteint un développement optimal ; la croissance des tiges et des rameaux se poursuit alors à un rythme ralenti . Les produits de la photosynthèse sont alors utilisés préférentiellement pour le développement des tubercules qui emmagasinent la matière hydrocarbonée . Leur nombre et leur forme varient considérablement selon les variétés . Les tubercules sont récoltés après 6 à 30 mois, suivant les variétés et les besoins (CIAT, 1980 ; HAHN & *al.*, 1979) . La détermination exacte de la période optimale de récolte n'a pas, pour le manioc, l'importance que ce facteur revêt pour d'autres cultures . Le manioc constitue pour les populations africaines un "grenier en terre" où elles peuvent puiser toute l'année avec abondance, ce qui, en cas de non réussite d'une culture, met ces dernières à l'abri de la disette .

I . 4 . Adaptation

Le manioc est considéré comme une plante rustique, peu exigeante, autorisant sa culture sur des sols appauvris par la succession d'autres cultures.

Son aire de culture couvre des zones agro-écologiques diverses comprises entre 30° de latitude Nord et 30° de latitude Sud et jusqu'à 2000 m d'altitude . La température moyenne la plus favorables à sa culture se situe entre 23 et 25° C . Le manioc est une plante héliophile et une pluviométrie moyenne comprise entre 1000 et 2000 mm est généralement satisfaisante . Dans le cas de l'Afrique, la zone de culture du manioc s'étend du Sud Est de Madagascar au Nord Ouest du Sénégal et couvre donc trente et un pays .

I . 5 . Production

La production mondiale annuelle est estimée à 120 millions de tonnes soit environ 42 millions de tonnes de matière sèche . L'Afrique, avec une production de 51 millions de tonnes, est le premier continent producteur devant l'Asie et l'Amérique du Sud . Quatrième source d'hydrates de carbone après le riz, la canne à sucre et le maïs, le manioc voit 80 p. 100 de sa production utilisé pour l'alimentation humaine . Actuellement, il constitue la source principale de calories pour plus de 800 millions d'habitants de la zone tropicale (F.A.O.,1981 ; HAHN, 1979)

C'est en Afrique que la consommation de manioc frais est la plus importante avec une moyenne de 102 kg /personne/an/ soit environ 230 calories/personne/jour . En République Centrafricaine, au Zaïre , au Congo et au Gabon la consommation excède les 300 kg/personne/an (F.A.O., 1985) .

Sa culture s'accommode de peu de moyens et d'une faible technicité . Elle permet une production sur des sols épuisés et dans des conditions climatiques très difficiles . Le manioc constitue la source la plus sûre et la moins chère d'hydrate de carbone en zone tropicale . Dans la quasi totalité des pays producteurs, le manioc est utilisé principalement pour l'alimentation

humaine locale .

Cette facilité d'adaptation à des climats très divers, ainsi que la simplicité de sa culture rendent cette plante très précieuse dans les régions tropicales et lui permettent de contribuer dans une large mesure à la sécurité alimentaire (CIAT, 1977 ; IITA, 1982) .

Sur le plan nutritionnel, la racine est pauvre en protéines (carence en cystéine et en méthionine), en lipides et en vitamines, mais présente un amidon d'une excellente digestibilité (SILVESTRE & ARRAUDEAU, 1983) . Le manioc est essentiellement un aliment énergétique . Les feuilles, qui sont également consommées dans certaines régions, constituent une source importante de protéines (TERRY, 1978) .

Le manioc frais contient des glucosides cyanogéniques (linamarine, lotaustraline) qui sous l'action d'une enzyme (la linamarase) libérée par les cellules racinaires endommagées produisent de l'acide cyanhydrique, un poison . Les variétés à forte concentration en cyanoglucosides doivent être détoxifiées avant consommation (les techniques de transformation sont basées sur le rouissage, le séchage, le râpage des racines) .

Par ailleurs, 20 p. 100 de la production mondiale est utilisé dans l'alimentation animale et l'industrie . Outre l'utilisation traditionnelle en fourrage, le manioc tend à se substituer aux céréales comme aliment énergétique dans les élevages et, ce, principalement en Europe (ACCT, 1981 ; SILVESTRE et ARRAUDEAU, 1983) . Le reste de la production est utilisé dans les différentes industries de l'amidon : alimentaires, textiles, ou biotransformation, etc...

Le rendement moyen mondial est d'environ 9t / ha, mais on obtient couramment plus de 60t/ha en station (SILVESTRE et ARRAUDEAU, 1983) . Le rendement moyen en Afrique représente à peine plus de la moitié des rendements américains et asiatiques . Ce décalage, dû pour une part aux techniques culturales traditionnelles, s'accroît avec la baisse de 7 p. 100 de la production enregistrée en 1983 (FAO, 1985), en raison de l'impact croissant des contraintes phytosanitaires nouvelles .

II . 6 . Les contraintes phytosanitaires du manioc

En Afrique, au sein du complexe parasitaire inféodé au manioc (CHEVAUGEON, 1956), parmi les contraintes les plus importantes, on distingue :

- **une bactériose**, dont l'agent causal est *Xanthomonas campestris pathovar manihotis* (Arthaud-Berthet & Bondar) Starr . Cette maladie est apparue sous forme épidémique au cours des années 1970 . Elle couvre actuellement toute la zone de culture du manioc, et peut provoquer une baisse de production de 18 à 92 p. 100 (PERSLEY, 1976 ; TERRY, 1978 ; LOZANO, 1986),

- **une virose**, la mosaïque africaine du manioc due à un géminivirus apparu il y a une centaine d'année (BOCK and HARRISON, 1985) . Elle est endémique sur tout le continent et peut provoquer des pertes de rendement allant de 20 p. 100 à 95 p. 100 (JENNINGS, 1972);

- **une maladie fongique**, l'anthracnose, due à *Colletotrichum gloeosporioides* Penz (BOHER & al., 1981), qui en association avec une punaise *Pseudotheraptus devastans* (Distant) (Hétéroptère, *coreidae*) peut causer des défoliations importantes en zones de savane (BOHER & al., 1983; CHEVAUGEON, 1956) ;

- **une cochenille**, dite cochenille farineuse, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Hémiptère, *Pseudococcidae*), introduite d'Amérique du Sud dans les années 1970 (HAHN, 1977) ;

- **des acariens phytophages**, dont *Mononychellus progesivus* Doreste, inféodé au manioc et introduit accidentellement en Afrique (Ouganda, 1971) à partir de l'Amérique du Sud . Leur progression est rapide, si bien qu' actuellement, 60 p. 100 des zones de culture du manioc sont atteintes en Afrique (IITA, 1984) . Des attaques sévères peuvent provoquer des réductions de rendement de 80 p. 100 (HAHN & al., 1985 ; WODAGENEH, 1985) .

Au sein de ce complexe parasitaire, où les contraintes biologiques nouvelles sont nombreuses, la bactériose semble être la plus catastrophique .

II . LA BACTERIOSE VASCULAIRE DU MANIOC

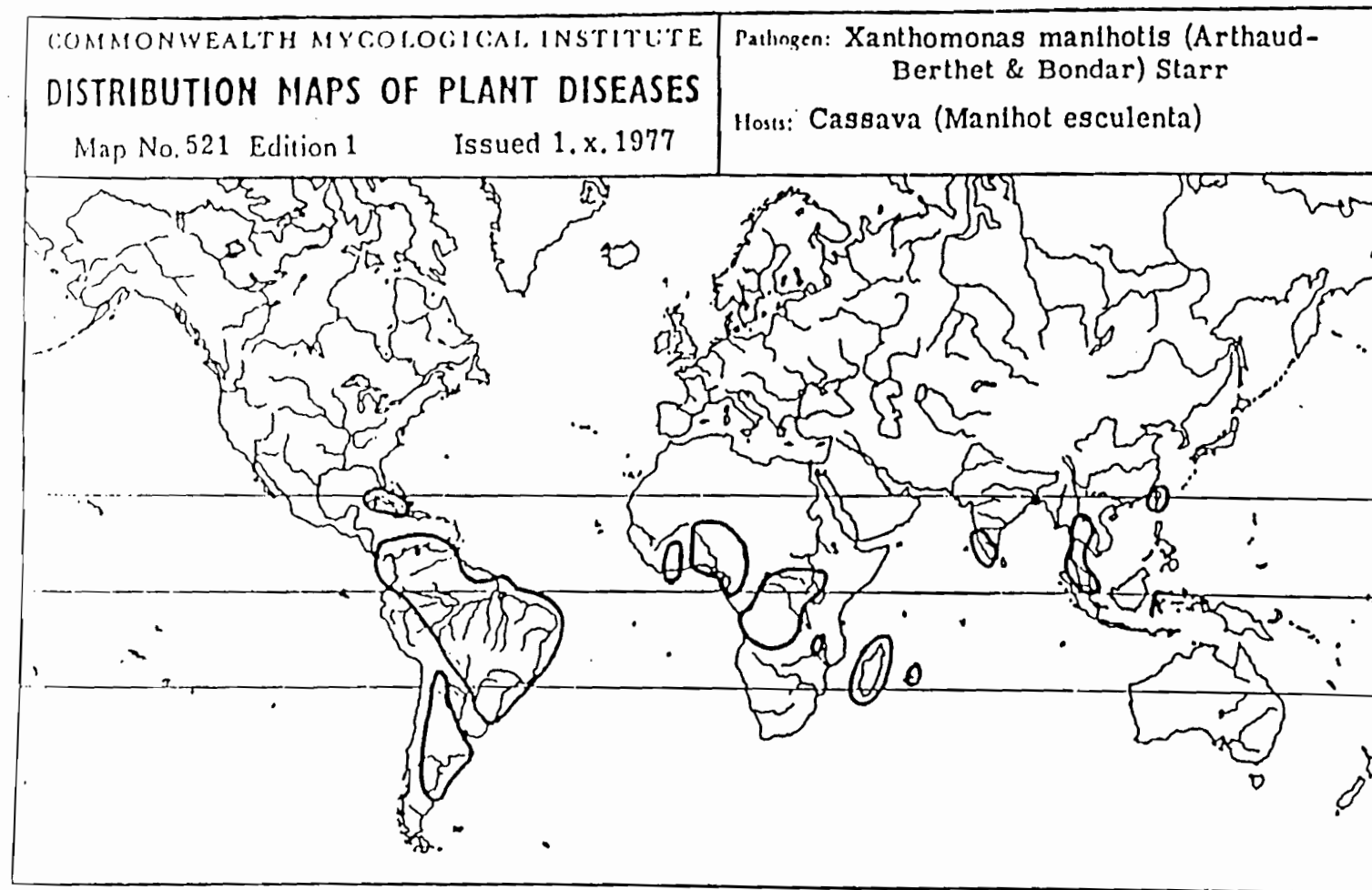
II . 1 Distribution géographique:

La bactériose du manioc a été signalée la première fois au Brésil (BONDAR,1912) et le pathogène identifié à *Bacillus manihotis* Arthaud-Berthet puis à *Phytomonas manihotis* (ARTHAUD-BERTHET & BONDAR) VIEGAS . Cette bactérie a été décrite dans le détail par BURKHOLDER (1942) . Plus tard, une bactériose du manioc a été attribuée à *Bacterium manihotis* (DRUMOND & HIPOLITO, 1943) . AMARAL & VASCONCELLOS (1945) démontre qu'il n'y pas de différences significatives entre ces deux espèces et qu'on peut les considérer comme synonymes . STARR (1946) et BURKHOLDER et STARR (1948) transfère cette bactérie dans le genre *Xanthomonas* : *Xanthomonas manihotis* (ARTHAUD-BERTHET) STARR . Dans la nomenclature proposé par YOUNG & al. (1978), l'agent causal de la bactériose vasculaire du manioc est classé dans le genre *Xanthomonas*, dans l'espèce type *campestris* et dans le pathovar *manihotis* . Sur le continent africain, on fait référence à une maladie analogue (attaques foliaires) observée en 1937 en Ouganda (HANSFORD, 1937) puis au Malawi en 1949, dont l'agent causal a été identifié à *Xanthomonas cassavae* WIEHE et DOWSON (1953) . Cette maladie a été aussi signalée au Zaïre (BUICKX, 1962) .

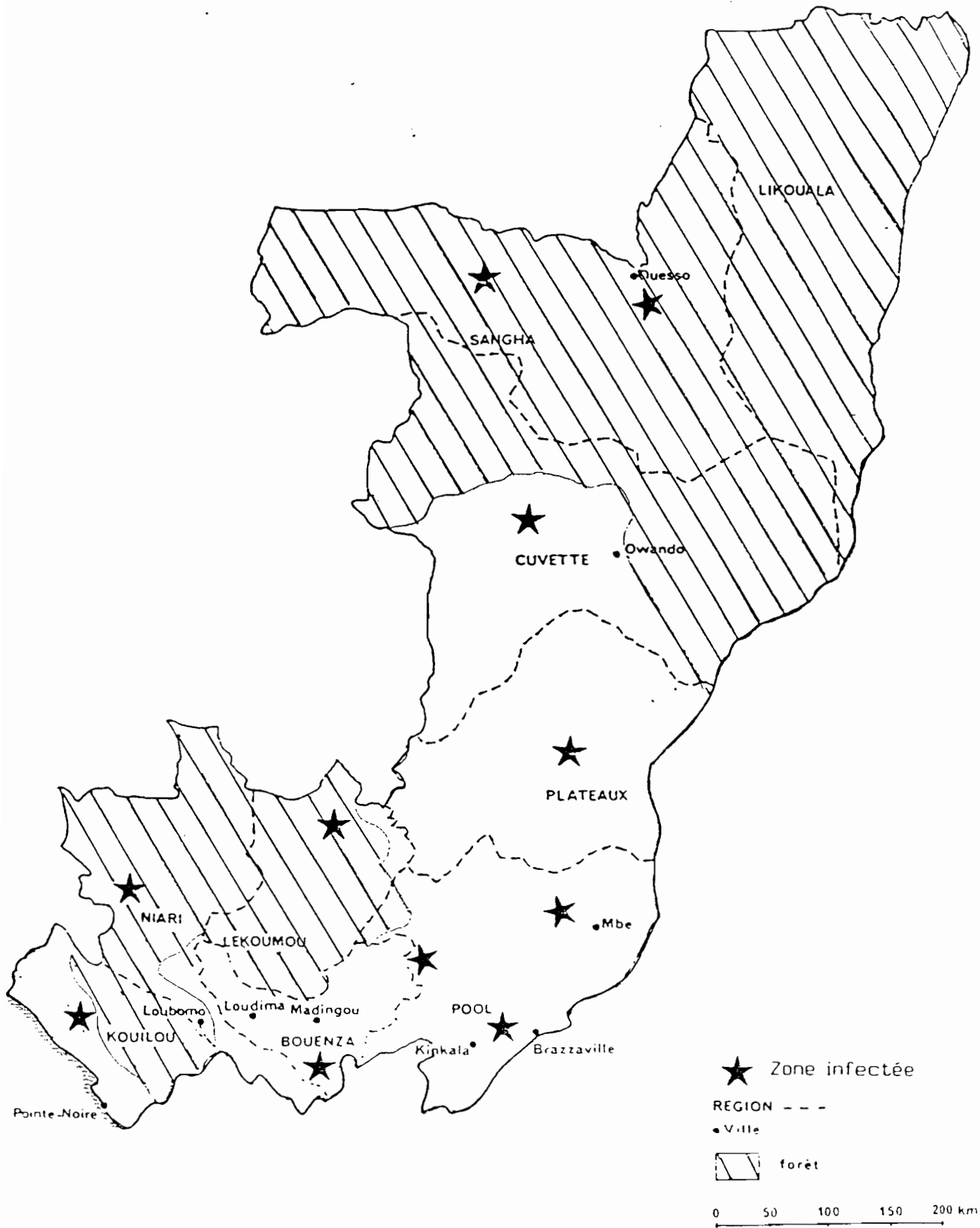
En 1946, à Madagascar et à Java, BOURIQUET décrit sur manioc une bactérie responsable de taches anguleuses et de brûlures foliaires (*Bacterium Robici* Bouriquet). FREIRE (1953) considère que ce germe serait analogue à *Xanthomonas manihotis* . Dans aucunes de ces descriptions, on ne fait référence à la présence vasculaire du pathogène, ce qui laisse supposer que cette maladie est d'introduction récente en Afrique .

Depuis, elle a été décrite dans toutes les zones de culture du manioc en Asie (BOOTH & LOZANO, 1978) et en Amérique du Sud (Carte 1) .

Dans le cas particulier de l'Afrique, la maladie, dans sa phase épidémique, a été décrite pour la première fois au Nigeria en 1972 (WILLIAMS & al, 1973.) puis on la signale successivement chez les principaux pays producteurs de manioc : Zaïre (MARAITE & MEYER, 1975), Congo (BOCCAS & al., 1976), Bénin (AKLE & al., 1978 ; GIRARD, 1978),



Carte 1 : Répartition de *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* dans le monde, d'après la carte éditée par le Commonwealth Mycological Institute



Carte 2 : Distribution géographique de la bactériose vasculaire du manioc au Congo

important (PERSLEY, 1976 ; TERRY, 1977 ; HAHN & *al.*, 1979 ; LOZANO, 1986) .

Les conséquences de cette maladie sont multiples :

- une chute du rendement en tubercules,
- une réduction de la teneur en amidon des tubercules (OBIGBESAN & *al.*, 1976),
- une destruction des feuilles sources importantes de protéines en Afrique Centrale (TERRY, 1977a, 1978 ; LOZANO, 1986)
- une contamination et/ou une destruction du matériel végétal destiné à la plantation (TERRY, 1977).

II . 3 . Les symptômes:

La bactériose vasculaire du manioc, de part sa symptomatologie, occupe une place originale au sein des maladies causées par les bactéries phytopathogènes . En effet, l'agent pathogène, *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* provoque une grande variété de symptômes:

- taches anguleuses et brûlures foliaires,
- flétrissement des feuilles,
- défoliation des rameaux,
- lésions sur tige avec production d'exudat,
- nécrose du système vasculaire.
- dessèchement des sommités.

La maladie s'exprime en saison des pluies et on distingue les symptômes qui apparaissent sur des plants initialement sains, lorsque l'infection se fait par les voies naturelles (lenticelles, stomates) ou les blessures et ceux qui apparaissent sur des plants issus de boutures infectées.

Dans le premier cas, la plante présente:

- sur feuilles :

des taches anguleuses de couleur vert foncé, translucides entourées ou non d'un halo chlorotique . Ces taches dont la taille varie selon la variété, peuvent être réparties au hasard sur le limbe ou se regrouper le long des nervures principales (Planche 2a, Photo 1). Ces macules sont particulièrement visibles sur la face abaxiale de la feuille où l'on note souvent la présence de micro-gouttellettes d'exudat (Planche 2a, Photo 2) . Lorsque les conditions sont favorables, ces taches s'élargissent et peuvent devenir coalescentes formant de larges zones nécrotiques (DANIEL & *al.*, 1981 ; LOZANO & SEQUEIRA, 1974 a; MARAITE & MEYER, 1975 ; LOZANO, 1986) .

On rencontre fréquemment un autre type de lésion foliaire qui se caractérise par une brûlure du limbe, non délimitée par le réseau des nervures (LOZANO & SEQUEIRA, 1974 a; DANIEL & *al.*, 1978 ; MARAITE & PERREAUX, 1978) . La partie du limbe atteint se colore en vert olive ou beige clair et prend en se desséchant un aspect parcheminé (Planche 2a, Photo 3) . Ce type de lésion (blight) serait dû à l'action d'une toxine (ARIMA & *al.*, 1970 ; CHERIAN & MATHEW, 1983 ; LAMBOTTE, 1978 ; PERREAUX, 1981 ; PERREAUX & *al.*, 1982, 1986; ROBESON & COOK, 1985)

Après augmentation du nombre des lésions foliaires, les feuilles flétrissent (Planche 2a, Photo 4 et 5), se dessèchent puis se détachent du rameau porteur provoquant sa défoliation (Planche 2b, Photo 1).

- sur tiges non aoutées :

des nécroses olivâtres à brunes, d'aspect huileux, légèrement déprimées apparaissent à proximité ou au niveau des coussinets pétiolaires . Ces lésions laissent exsuder un mucus blanchâtre qui, en se desséchant, prend une coloration jaunâtre (Planche 2b, Photo 2) . L'altération des tissus peut s'étendre le long de la tige ou évoluer jusqu'à provoquer la ceinturation du rameau (Planche 3b, Photo 1), avec pour conséquence, la mort de la partie distale . Si l'on prélève l'épiderme, on observe le brunissement des tissus vasculaires, altération pouvant s'étendre jusqu'à la moelle (Planche 2b, Photo 4) .

En saison sèche, les nécroses sur tiges évoluent en lésions chancreuses avec formation



Photo 1 : Taches anguleuses sur feuille



Photo 2 : Détail d'une tache anguleuse avec exudats



Photo 4 : Exudat sur pétiole



Photo 5 : Flétrissement foliaire



Photo 3 : Brûlure foliaire



Photo 1 : Exudat sur tige



Photo 2 : Défoliation et dessèchement d'un rameau



Photo 3 : Chancre sec sur tige aoutée



Photo 4 : Brunissement vasculaire et de la moelle au niveau d'une tige



Photo 1 : Ceinturation et mort d'un rameau



Photo 2 : Aspect d'un plant après une attaque de bactériose (dessèchement des sommets)



Photo 3 : Lésion sur fruit



Photo 4 : Aspect d'un jeune plant issu d'une bouture contaminée

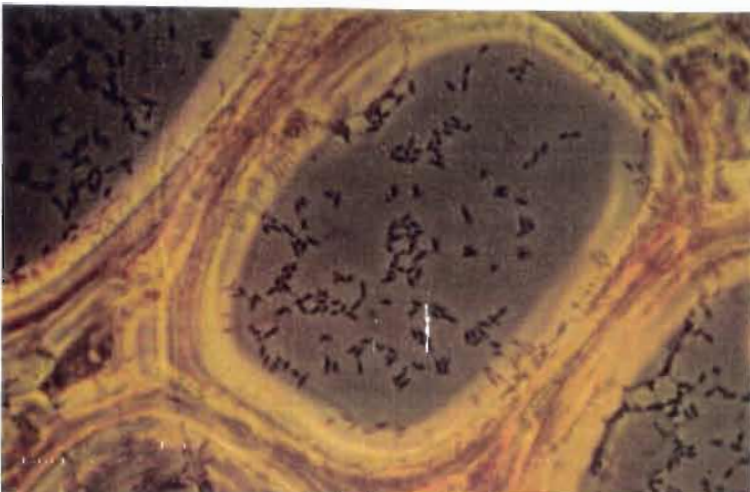


Photo 5 : Localisation par la technique d'immunoperoxydase indirecte de *X. c. pv. manihotis* dans les vaisseaux du xylème d'un pétiole infecté .

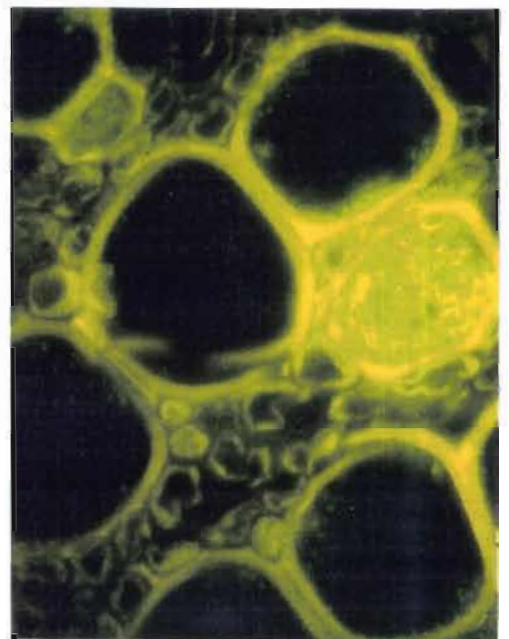


Photo 6 : Localisation par la technique d'immunofluorescence indirecte de *X. c. pv. manihotis* dans les vaisseaux du xylème d'un pétiole infecté

d'un bourrelet cicatriciel (Planche 2b, Photo 3) .

Au stade ultime de la maladie, on observe une défoliation et un dessèchement complet des sommités (Planche 3b, Photo 2) . Ce dessèchement est généralement limité aux tiges non aoutées . Les plants atteints émettent, au niveau des portions de tige restées viables, des rejets qui, généralement, lorsque les conditions sont favorables, présentent à leur tour les symptômes de la maladie . Dans les cas extrêmes, on observe la mort du plant .

- sur les fruits,

la maladie provoque l'apparition de macules d'aspect huileux, en dépression à la surface de l'épiderme qui, en fusionnant, provoquent l'apparition de larges plages nécrotiques (Planche 3b, Photo 3). Les semences issues de tels fruits présentent souvent des lésions au niveau des cotylédons et de l'endosperme . Très peu de ces graines germent (LOZANO, 1986) .

- sur les racines :

dans le cas de cultivar sensible, on peut observer un dessèchement du tubercule associé à une nécrose du système vasculaire (LOZANO, 1975) .

Dans le cas de plants issus de boutures infectées (Planche 3b, Photo 4), on observe la perte de turgescence et le flétrissement des jeunes rejets suivis rapidement par le dessèchement de l'apex .

L'expression de tous ces symptômes varie en fonction des conditions climatiques, des facteurs édaphiques, des variétés et du pouvoir pathogène de l'agent pathogène .

II . 4 . Etiologie

L'agent responsable de la bactériose vasculaire du manioc, *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* (Arthaud-Berthet & BONDAR 1915) Dye 1978, à l'exception de l'absence de pigmentation (STARR & STEPHENS, 1964), présente les caractéristiques biochimiques et physiologiques du genre *Xanthomonas* (DYE, 1962.; BRADBURY, 1986) .

Au Congo, l'agent pathogène a été identifié selon les critères habituels:caractères culturaux,cytologiques et biochimiques en comparaison avec des souches de références

(DANIEL & BOHER, 1981) . Les principales caractéristiques de cette bactérie phytopathogène sont résumées dans les tableaux 1a et 1b .

Les *xanthomonads* qui appartiennent à la famille des Pseudomonadaceae constitue un genre très homogène qu'on ne différencie que par leur spécificité d'hôte (DYE, 1962) . Dans le cas de *X. c. pv. manihotis*, spécifique du genre *Manihot*, les propriétés sérologiques (LOZANO & SEQUEIRA, 1974; DANIEL & BOHER, 1981) et lysotypique (LOZANO & SEQUEIRA, 1974) permettent un diagnostic rapide et fiable du pathogène .

Les résultats de l'étude de la variabilité des souches de *X. c. pv. manihotis in vitro* sont contradictoires . Certains auteurs n'observent pas de variabilité *in vitro* entre les souches (ROBBS & al., 1972 ; ELANGO & al., 1981b ; MANICOM & al., 1981) . D'autres signalent des variations dans l'utilisation de certaines sources de carbone : l'amidon, le glycérol, la dextrine, le raffinose, le maltose et le lactose (MARAITE & al., 1981 ; DANIEL & al., 1981 ; GROUSSON, 1986) mais sans noter de corrélation significative entre cette propriété et le pouvoir pathogène et/ou l'origine géographique des souches . LOZANO & SEQUEIRA (1974 a) distinguent deux groupes selon leur aptitude à utiliser le saccharose, le cellobiose et le tréhalose comme source de carbone . La variabilité porte également sur la sensibilité aux antibiotiques (LOZANO & SEQUEIRA, 1974a ; MARAITE & al., 1981 ; GROUSSON, 1986) . Sur milieu le milieu de KELMAN contenant 0,005 p. 100 de triphenyl tetrazolium, LOZANO & SEQUEIRA (1974) et MARAITE & MEYER (1975) n'observent pas de différences morphologiques entre les colonies tandis que ATHAYDE & ROMEIRO (1981 ; 1983b) distinguent quatre types et font une corrélation entre ces différents types de colonies et l'agressivité des souches .

NAIR & al. (1981) n'observent pas de variabilité de pouvoir pathogène entre les souches, de même pour ELANGO & al. (1981b) qui cependant distinguent cinq groupes de souches statistiquement différents sur la base de leur agressivité . D'autres auteurs notent une différence de pouvoir pathogène entre les souches (BRADBURY, 1977 ; MARAITE & MEYER, 1975, MARAITE & al. 1981 ; ALVES & TAKATSU, 1984 ; GROUSSON, 1986) .

Certains auteurs suggèrent une variation du pouvoir pathogène dans le temps (BRADBURY, 1977 ; MARAITE & MEYER 1975), qui expliquerait la sensibilité de certains cultivars anciennement résistants et l'accroissement de la maladie dans certaines zones par une augmentation de l'agressivité des souches .

Tableau 1 a : Caractères cultureux, cytologiques, physiologiques et bio-chimiques des souches de *X. c. pv. manihotis*
 + = réaction positive ; - = réaction négative ; +f = réaction faible-ment positive ; v = réaction variable selon la souche

Caractères	Résultats
Mobilité	+
Gram	-
Type respiratoire	Oxydatif
Réduction des nitrates	-
Cytochrome C oxydase	-
Réaction d'hypersensibilité sur tabac	-
Production de pigments fluorescents	-
Utilisation de substrats carbonés	voir tableau 1b
β galactosidase	+
Hydrolyse de l'aesculine	+
Transformation du saccharose en substances réductrices	-
Hydrolyse de l'amidon	+
Hydrolyse de la pectine	-
Hydrolyse du polypectate pH 5	+
Hydrolyse du polypectate pH 8,5	+f
Utilisation d'acides organiques	
malate	+
succinate	+
malonate	+
tartrate	-
citrate	+
Utilisation des composés azotés :	
Activité lysine décarboxylase	-
Activité arginine dihydrolase	-
Activité tryptophane déaminase	-
Uréase	-
Formation d'indole	-
Hydrolyse de la gélatine	+
Hydrolyse de la caséine	+
Mise en évidence d'une tween estérase	+
Production H S	+
Tolérance au NaCl	v

Tableau 1 b : Utilisation de différentes sources de carbone par les souches de *X. c. pv. manihotis*
 + = croissance positive ; v = croissance variable selon la souche

Substrats	Croissance
L-rhamnose	v
salicine	v
arabinose	v
cellobiose	+
tréhalose	+
glucose	+
mannose	+
xylose	v
fructose	+
galactose	v
ribose	v
lactose	v
saccharose	+
maltose	v
raffinose	v
glycérol	v
érythritol	v
amidon	v
aesculine	v

GROUSSON (1986), sur la base de test de pouvoir pathogène par blessures de feuilles et de tiges, classent les souches en quatre groupes d'agressivité statistiquement différents .

II . 5 . Histologie :

La bactérie pénètre normalement dans la plante via les stomates et les blessures de l'épiderme . L'agent pathogène envahit puis détruit le mésophylle spongieux, puis entre dans le système vasculaire de l'hôte, permettant ainsi au pathogène d'envahir systématiquement la plante . La progression de la bactérie dans les pétioles et la tige se fait dans les vaisseaux du xylème (Planche 5, Photo 5) et au travers du phloème (PERREAUX & *al.*, 1978 ; TAKATSU & LOZANO, 1975) . Sa présence dans les tissus de la moelle a été aussi signalée .

L' observation microscopique en épifluorescence de coupes histologiques, révèle la présence de la bactérie dans les vaisseaux du xylème . L'infection cause l'obstruction plus ou moins importante des vaisseaux par des tyloses et des substances mucillagineuses qui contiennent les cellules bactériennes . A la faveur de la dégradation des parois des vaisseaux, l'agent pathogène peut envahir les espaces intercellulaires du protoxylème constituant des poches de lyse qui, en s'élargissant, s'étendent au phloème puis au cortex . Après rupture du collenchyme, un point d'exudation apparaît sur la tige (PERREAUX & *al.*, 1981, BOHER & DANIEL, 1978) . La formation de tyloses et de poches de lyse sont décrites pour d'autres bactéries phytopathogènes (BECKMAN, 1964 ; NELSON, 1979)

Cette présence vasculaire de *X. c. pv. manihotis* le distingue de *X.c .pv. cassavae* qui lui est proche de par ses caractères cytologiques, biochimiques (ELANGO & *al.*, 1981b ; MARAITE & PERREAUX, 1978 ; VAN DEN MOOTER & *al.*, 1987) et les symptômes foliaires qu'il provoque .

II . 6 . Lutte

L'élaboration d'une stratégie de lutte efficace contre la bactériose suppose l'acquisition des données de bases nécessaires à la compréhension du cycle biologique de la maladie . Les informations, dont on dispose actuellement dans ce domaine sont limitées . Si les mesures prophylactiques (contrôle des boutures, désinfection des instruments de coupe, taille, rotation des cultures) proposées par certains auteurs (PERSLEY, 1979 ; ELANGO & LOZANO, 1980 ; LOZANO & al. 1986 ; ENE, 1977) contribuent à l'amélioration sanitaire des plantations (CIAT, 1980), elles ne permettent pas de contrôler la maladie (CIAT, 1986) .

La lutte chimique, dont les résultats sont aléatoires (BOHER & GROUSSON, 1986 ; ORTIZ & al., 1985) est difficilement envisageable, sur un plan pratique et économique, en milieu paysan .

Des essais de lutte biologique par pulvérisation d'antagonistes bactériens (*Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*) de *X. c. pv. manihotis* au niveau des organes aériens ont été tentés (HERNANDEZ & al., 1986 ; LOZANO, 1986 ; POUNDZOU, 1987)

La sélection de matériel végétal sain par la technique de la culture *in vitro* (KARTHA & al., 1974 ; KARTHA & GAMBORG, 1975 ; MOREIRA & al., 1977 ; KARTHA & al., 1982 ; MABANZA & JONARD, 1981 ; 1984) n'est pas applicable à tous les cultivars.

Dans les conditions actuelles, l'amélioration variétale reste le moyen de lutte le plus efficace contre cette maladie (BECK, 1982 ; LOZANO, 1982 et 1986 ; HAHN, 1979). Cependant, la génétique du manioc n'est que partiellement maîtrisée et le cycle génétique est long (supérieur à 3 ans), ce qui retarde le développement de nouveaux cultivars (KAWANO & al., 1978 ; NASSAR, 1978 ; LOZANO, & al., 1982 ; LEFEVRE, 1988). On recense plus de 30 espèces ayant des caractéristiques qui peuvent intéresser directement l'amélioration du manioc (LEFEVRE, 1988) . D'autre part, la sélection pour la résistance doit prendre en compte le potentiel de variation de l'agent pathogène ce qui, n'est pas possible sur la base des informations dont on dispose (GROUSSON, 1986) .

III . CONCLUSION ET PRESENTATION DU TRAVAIL

Malgré, une présence ancienne de la bactériose vasculaire du manioc en Amérique du Sud (BONDAR, 1912), les connaissances acquises sur cette maladie, lors son apparition sur le continent africain dans les années 1970, étaient limitées et ne permettaient pas d'envisager une stratégie de lutte rationnelle . Les travaux de LOZANO & SEQUEIRA (1974 a et b) réalisés en Colombie constituaient alors la seule source d'informations disponible sur l'étiologie et l'épidémiologie de cette maladie .

A l'échelle du continent africain, depuis sa détection au Nigeria en 1972 (WILLIAMS & *al.*, 1973), cette maladie bactérienne s'est caractérisée par une extension rapide si bien, qu'en moins de dix ans, elle est devenue endémique dans les principales zones de culture du manioc . Actuellement, si on peut admettre que partout où une plante hôte peut pousser, la maladie elle même peut se manifester, il reste que la bactériose vasculaire est remarquable, par les grandes variations de sa gravité dans le temps et dans l'espace . Le fait que la maladie absente dans une zone peut s'y développer sous une forme explosive pose le problème de l'origine de l'inoculum nécessaire à son apparition .

En Afrique Centrale, région où le manioc constitue la base de l'alimentation des populations, la gravité de la maladie et son impact social et économique ont eu des conséquences désastreuses dans certaines régions . Cette affection bactérienne a rompu, dans de nombreux cas l'équilibre alimentaire de nombreux pays, notamment lors des grandes épidémies des années 1970 (Centrafrique, Congo, Zaïre) .

C'est dans ce contexte, que la présence de la maladie a été confirmée au Congo (BOCCAS & *al.*, 1976 ; DANIEL & *al.*, 1981) et que des études ont été initiées sur la bactériose vasculaire du manioc au centre ORSTOM de Brazzaville .

La symptomatologie, l'étiologie de cette bactériose sont bien étudiées (LOZANO &

al.,1974a ; DANIEL & al.,1981) . Il n'en est pas de même pour la biologie de l'agent causal (*Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis*) et de son impact sur l'épidémiologie de la maladie . Les informations fragmentaires dont on dispose sur le couple *X. c. pv. manihotis* - manioc font obstacles à la compréhension de l'établissement des relations parasitaires et à l'étude des facteurs conditionnant la gravité des attaques .

Ces travaux s'inscrivaient dans le cadre d'études fondamentales et appliquées sur les contraintes phytosanitaires du manioc .

Des recherches sur la bactériose vasculaire ont été développées, selon trois axes principaux:

- l'inventaire, l'identification et l'isolement des agents bactériens et fongiques parasites du manioc . Cette démarche répond à la nécessité de connaître le complexe parasitaire inféodé au manioc (BOHER & BOHER, 1986 ; DANIEL & al.,1981).

- l'étude fondamentale de la biologie du parasite visant à déterminer les conditions optimales de son développement pour définir la stratégie de lutte la mieux adaptée .

- l'étude de la variabilité du pathogène en relation avec l'expression du pouvoir pathogène et l'épidémiologie de la maladie .

L'objectif du présent travail est d'apporter une contribution à l'étude de cette maladie où les acquis sont peu nombreux bien qu'indispensables à l'élaboration d'une stratégie de lutte . Dans la première partie de ce mémoire nous faisons le point des connaissances acquises au CONGO sur la biologie de l'agent pathogène avec en particulier la mise en évidence d'une phase épiphyllle du pathogène en relation avec le cycle de maladie . Dans la deuxième partie, nous abordons l'étude de la phase épiphyllle de la bactérie en comparant sur feuilles de manioc l'implantation et la survie quantitative du pathogène en fonction du niveau de résistance de l'hôte et de l'incidence de la maladie .

CHAPITRE I

Matériel et méthodes

CHAPITRE I

Matériel et méthodes

Introduction

Depuis le début du siècle, divers travaux ont montré que les organes aériens des plantes, en particulier les feuilles, sont colonisés par des microflore variées composées de bactéries, de champignons, de levures etc...Cependant la démonstration que des bactéries phytopathogènes peuvent être un composant de cette microflore microbienne est dû à CROSSE (1959). Cet auteur suggèrait que les populations de *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* présentes sur les feuilles saines de cerisier constituaient l'inoculum nécessaire à l'infection des tiges et des branches. A la suite de ces travaux, LEBEN (1965) a proposé la notion de phase épiphyte résidente pour les bactéries phytopathogènes sur des hôtes sains. Selon ce concept, le pathogène peut se multiplier à la surface de plantes saines où il constitue, en l'absence de maladie, une source potentielle d'inoculum. Quand les conditions favorables prévalent, la maladie peut alors se déclencher. De tels pathogènes présentent, au cours de leur cycle biologique, une phase résidente associée à une phase parasitaire. LEBEN propose les termes de "résident" et de "fortuit" pour distinguer les bactéries capables de se multiplier et de survivre à la surface des feuilles de celles qui ne sont détectées qu'occasionnellement sans présenter de phase de croissance.

Dans ce mémoire, pour les bactéries épiphytes, nous appliquons la définition de HIRANO & al. (1983), à savoir que les bactéries épiphytes sont celles qui peuvent être mises en évidence sur des organes aériens macroscopiquement sains par la technique de lavage.

L'existence d'une vie épiphyte a été démontrée dans le cas des maladies foliaires chez

de nombreuses bactéries phytopathogènes appartenant notamment aux genres *Pseudomonas* et *Xanthomonas* (HIRANO & al, 1983) . Ces études démontrent, notamment, l'importance des populations épiphytes dans les cycles biologiques des maladies comme source d'inoculum . Cependant, le rôle de ces bactéries épiphytes, en relation avec l'écologie de ces organismes et l'épidémiologie de la maladie n'est pas toujours clairement déterminé (HIRANO & al, 1983).

L'origine de ces populations à la surface des feuilles, en l'absence de symptômes, fait intervenir différentes sources de bactéries, comme les tissus dormants de l'hôte, les débris végétaux, la semence ,le sol et les aérosols . Dans le cas de la bactériose vasculaire du manioc, les modalités de conservation et de dissémination de l'inoculum qui peuvent intervenir dans le maintien du pathogène d'un cycle cultural à un autre, et expliquer le caractère endémique de la maladie dans une zone, ne sont pas connues .

Le fait, qu'on dispose de peu d'informations sur l'origine et les modes de conservation de l'inoculum indispensable à l'apparition et au maintien de la bactériose du manioc dans une zone . rend aléatoire l'élaboration et l'application de stratégies de lutte dont l'objectif est :

- d'éliminer ou de réduire l'inoculum initial ou de retarder son apparition ;
- de ralentir la vitesse de progression de la maladie ;
- de raccourcir la période pendant laquelle l'hôte est en contact avec le pathogène .

En effet, pour être en mesure de proposer une stratégie de lutte contre la bactériose vasculaire du manioc, il est indispensable d'acquérir les informations de base sur l'origine de l'inoculum nécessaire à l'apparition de la maladie, sur ses modes de conservation et de connaître la dynamique des populations de l'agent pathogène en relation avec le cycle cultural de la plante .

Sur la base de ce constat et des informations dont on dispose sur d'autres maladies bactériennes dont l'agent causal appartient au genre *Xanthomonas* (LEBEN, 1965 ; DHAVANTARI, 1973 ; CAFATI & al., 1980 ; CHOWDHURY & VERMA, 1981 ; THRI MURTY & DEVADATH, 1981 ; MULREAN & SCHROTH, 1982) nous avons recherché la présence du pathogène au sein de la phyllosphère du manioc, où sous forme de populations épiphytes, il pourrait constituer l'inoculum nécessaire à la contamination des plants .

Au cours du cycle cultural de la plante hôte, les conditions environnementales n'étant pas toujours favorables à l'expression de la maladie, nous avons recensé les sites préférentiels de survie du pathogène . Le développement épiphyte de l'agent pathogène est ensuite analysé en terme de dynamique des populations en relation avec le cycle cultural de la plante .

I . MATERIELS ET METHODES

I . 1 . Matériel végétal :

Au cours de nos études nous avons utilisé cinq cultivars de manioc: Mpembé, Maloenda, MB27, MB 38, TMS 30555. Ils ont été choisis sur la base de leur niveau de résistance à la maladie . Le niveau de résistance des cultivars Mpembé,Maloenda, MB 27 et MB 38 a été évalué pendant trois cycle culturaux, sur la base de leur comportement au champ à l'antenne de la Recherche Agronomique Congolaise de ODZIBA où la pression de maladie est importante . L'échelle de notation employée est celle de l'IITA (Tableau 2)

Tableau n° 2 : Echelle de notation IITA de la sensibilité à la bactériose vasculaire

0	pas de symptômes
1	taches angulaires
2	flétrissement des feuilles, exsudats sur tiges
3	défoliation apicale
4	dessèchement des sommités
5	mort du plant

Le cultivar TMS 30555 provenant des programmes de sélection de l'IITA au Nigeria est donné comme résistant à la bactériose vasculaire et à la mosaïque africaine (maladie virale) . Le comportement de ce cultivar, envoyé au Congo sous forme de vitroplants, n'a pas été testé dans les conditions du champ .

L'origine géographique des cultivars et leur niveau de résistance sont indiqués dans le tableau 3 .

Tableau 3. Origine et niveau de résistance des cultivars

Variété de manioc	Origine	Niveau de résistance	Réf. bibliographique
Mpembé	Congo	Sensible	DANIEL & BOHER (1978) DANIEL & BOHER (1985) GROSSON (1986)
Maloenda (KOU)	Congo	Sensible	DANIEL (1981)
MB 27	Nigéria	Tolérant	BOHER & DANIEL (1981) MABANZA (1986)
MB 38	Nigéria	Tolérant	BOHER & DANIEL (1981) MABANZA (1986)
TMS 30555	Nigéria	Résistant	MARAITTE <i>et al</i> (1981)

I . 2 . Méthode de culture de la plante

Les expériences sur la mise en évidence de la présence de *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* (*X. c. pv manihotis*) sur les organes aériens du manioc, l'analyse quantitative des variations du niveau des populations pathogènes et l'étude du mode de survie de cette bactérie phytopathogène (Chapitre II) ont été réalisées dans des plantations traditionnelles situées dans la zone expérimentale de KOMBE (Région du POOL) où la maladie est endémique . Le régime climatique y est de type soudano-guinéen avec une saison des pluies d'Octobre à Mai et une saison sèche de Juin à Septembre .

L'étude de la phase épiphyte de l'agent causal de la bactériose vasculaire a été réalisée

pendant deux années (1979 et 1980) . Pour chaque année d'étude, les prélèvements sont effectués au niveau de trois parcelles plantées avec le cultivar Mpembé (cultivar sensible, traditionnel dans la zone) . Dans deux de ces parcelles âgées respectivement de 6 et 12 mois, la maladie est présente naturellement . La troisième, parcelle "témoin" (âgée de 6 mois), est indemne de maladie .

L'étude des modes de survie du pathogène a été entreprise avec le cultivar Maloenda (sensible) . Il est cultivé traditionnellement dans la zone et présente la caractéristique de fleurir et de produire de la semence ce qui n'est pas le cas du cultivar Mpembé .

La station agronomique d'ODZIBA (région des Plateaux) a été choisie pour les expérimentations au champ sur la distribution des populations épiphylls sur des feuilles individuelles et la comparaison des niveaux populations epiphylls en fonction du degré de résistance des cultivars (Chapitre III)

Dans toutes les expérimentations, les parcelles sont contaminées par voies naturelles . Les plants sont issus de boutures qui sont enterrées à plat à une profondeur de 5 cm et avec un écartement de 1m . Le sarclage et les soins culturaux courants ont été effectués selon les besoins et aucun apport d'engrais n' a été pratiqué . D'une manière générale, une levée, estimée à, au moins, 95 p. 100 dans toutes les parcelles, a été effective un mois après la plantation .

L'étude de l'implantation épiphyll de *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* sur feuilles de manioc et de sa multiplication dans les tissus (Chapitre III) a été réalisée sous abris au centre ORSTOM de Brazzaville avec des plants âgés de deux mois cultivés en pots sur terre de la zone de KOMBE (sol argilo-sableux), dans les conditions climatiques naturelles de la région du Pool .

Il faut noter que la plante hôte, le manioc, n'a pas fait l'objet d'une sélection génétique et possède vraisemblablement un taux élevé d'hétérozygotie (LEVEFRE, 1988); une certaine hétérogénéité est donc probable au sein des populations de plantes utilisées dans ces expériences.

I . 3 . L'agent pathogène

I . 3 . 1. Isolement et conservation de l'isolat :

L'isolat (104-2) de *X. c. pv. manihotis* est utilisé pour les études sur l'implantation sur les feuilles et sur la multiplication de l'agent pathogène dans les tissus foliaires . Cet isolat, originaire de MBE (région des Plateaux), est virulent sur feuille et sur tige . Il a été isolé à partir de rameau quand la bactériose était en phase épidémique dans la région (1979).

La souche est conservée à 5° C sur le milieu **GYCA** (DYE, 1962) et repiquée mensuellement . Pour un stockage plus long, la souche cultivée sur **GYCA**, est mise sous huile de vaseline (SLY,1983) et conservée à 5°C .

La mise en culture de la souche se fait par étalement sur le milieu **L.P.G.A.** modifié (extrait de levure 5 g, bactopectone 5 g, glucose 5 g, gélose 15 g, eau distillée q.s.p; 1000 ml, pH 7,2) . Pour l'isolement et les dénombrements, on incorpore à ce milieu de la cycloheximide (50 mg/l) pour prévenir les contaminations fongiques .

I . 3 . 2 . Préparation de l'inoculum

Les bactéries sont cultivées en erlenmeyers de 250 ml, à raison de 100 ml de milieu **LPG** modifié par fiole . Après 48 h de culture sous agitation lente à 30° C, la suspension bactérienne est centrifugée (8000 g pendant 10 minutes) . Le culot ainsi obtenu est lavé trois fois dans de l'eau distillée stérile .

Les suspensions bactériennes sont ajustées à une concentration de 10^8 U.F.C./ ml d'après une courbe d'étalonnage établie sur la base d'un dénombrement de colonies à partir de suspension de densité optique connue mesurée à 600 nm .

I . 4 . Etude des populations du pathogène au niveau de la phyllosphère et dans les tissus de l'hôte

I . 4 . 1 . Mise en évidence des populations bactériennes à la surface des organes aériens:

A - Mise en évidence de *X. c. pv. manihotis* sur le phylloplan

Cette étude est réalisée dans la zone de Kombé, dans une plantation contaminée âgée de 4 mois avec le cultivar Mpembé . Pour chaque analyse, on prélève 20 lots de 5 organes (5 apex, 5 premières feuilles, 5 feuilles niveau 4) . Les analyses sont réalisées mensuellement au cours de la saison des pluies (Janvier à Avril) . Sur ces échantillons, la mise en évidence de la présence de *X. c. pv. manihotis* se fait selon la technique de CROSSE (1959) modifiée par LUISETTI & PAULIN (1972) . Cette technique consiste en un lavage de l'échantillon végétal par agitation (3h à 4°C) dans 100 ml d'eau distillée stérile additionnée de Tween 80 à 1p. 1000 . La détection de l'agent pathogène est faite sur cette eau de lavage .

B - Etude de la dynamique des populations épiphylls

Dans les conditions du champ, les analyses portant sur la dynamique des populations bactériennes présentes sur les organes aériens du manioc et l'étude des modes de survie de l'agent pathogène sont hebdomadaires et utilisent, pour la recherche de la contamination externe, la technique de CROSSE (1959) modifiée par LUISETTI & PAULIN (1972) . Cette technique consiste en un lavage de l'échantillon végétal par agitation (3h à 4° C) dans de l'eau distillée stérile additionnée de Tween 80 à 1p. 1000 . La taille de l'échantillon analysé et le volume de l'eau nécessaire au lavage sont déterminés comme suit:

- Feuilles: 20 feuilles d'âge identique prélevées sur 10 plants pris au hasard dans la parcelle et lavées dans 500 ml

- Inflorescences : 5 inflorescences dans 100 ml .

- Fleurs femelles : 100 fleurs dans 100 ml .
- Fruits : 50 fruits non matures dans 500 ml
- Graines : 100 graines dans 100 ml

La recherche du germe est effectuée sur l'eau de lavage .

I . 4 . 2 . Evaluation de la contamination interne de la semence

Après la recherche de la contamination externe des semences, les échantillons (100 graines) sont désinfectés superficiellement avec une solution de chlorure de mercure à 1p. 100 pendant 15 minutes, puis rincé 3 fois dans de l'eau distillée stérile . La dernière eau de rinçage est utilisée pour contrôler l'efficacité de la désinfection . Les graines sont ensuite broyées dans 200 ml d'eau distillée stérile . Ce broyat est utilisé pour la détection du pathogène sur milieu LPGa comme précédemment décrit. Le taux de contamination interne étant parfois très faible, pour augmenter le seuil de détection, le broyat est clarifié par centrifugation (1500 g ,15 mn) . et le surnageant est précipité à l'acétone (50 p. 100) puis centrifugé (15 000 g ,120 mn) . Le culot ainsi obtenu est remis en suspension dans 5 ml d'eau distillée et filtré sur filtre noir non fluorescent (Millipore HABG, porosité de 0,45 µm) . Le filtre est ensuite traité selon la technique d'immunofluorescence indirecte (FAURE & *al.*, 1977). en utilisant un sérum spécifique anti- *X. c. pv. manihotis* (DANIEL & BOHER, 1981)

I . 4 . 3 . Recherche de *X. c. pv. manihotis* dans les débris végétaux

La mise en évidence de *X. c. pv. manihotis* dans les débris végétaux (feuilles et pétioles) présents au niveau du sol des plantations est réalisée en prélevant au hasard à la surface du sol de la plantation des échantillons de 10 g de sol qui sont ensuite broyés dans 100 ml d'eau stérile . Ce broyat est utilisé pour la numération des bactéries .

I . 4 . 4 . Détection de *X. c. pv. manihotis* dans le sol

La présence de *X. c. pv. manihotis* est recherchée dans le sol en prélevant au niveau de l'horizon superficiel (sur une épaisseur de 10 cm) 50 g de sol exempt de débris végétaux . Ce sol est ensuite mis en suspension, puis homogénéisé dans 500 ml d'eau distillée additionnée de Tween 80 à 1 p. 100 . Après 20 minutes de décantation, les échantillons sont traités selon la technique de BOLHOOL & SCHMIDT (1970) .

I . 4 . 5 . Présence de *X.c. pv. manihotis* en association avec les insectes

Les insectes sont lavés individuellement dans 30 ml d'eau stérile (contamination externe) puis disséqués afin d'extraire le tractus intestinal . Ce dernier est dilacéré dans de l'eau pour la recherche du pathogène . Pour certains lots d'insectes, le tractus intestinal est fixé pour être inclus dans de la paraffine , coupé sériellement et fixé sur lames (PURVIS & *al.*, 1966) . Les lames, traitées selon la méthode d'immunofluorescence indirecte sont observées sous lumière ultraviolette en épifluorescence ..

I . 4 . 6 . Répartition de *X. c. pv. manihotis* dans les tiges

Des plants entiers présentant les symptômes de la maladie sont découpés en fragments de 10 cm de long. Chaque fragment est tranché longitudinalement en 4 morceaux qui sont mis dans 50 ml d'eau distillée stérile à 4° C et laissés à incuber pendant 24 h . L'eau est ensuite analysée pour la présence de la bactérie . La localisation du parasite dans les tissus est faite après inclusion des échantillons dans la paraffine, par coupes sérielles au microtome, fixation des coupes sur lames et traitement de ces dernières par la technique d'immunofluorescence (HOCKENHULL, 1978) .

I . 4 .7 . Présence de *X.c. pv. manihotis* au niveau des coussinets pétiolaires et des chancres sur tiges :

Sur des plants présentant les symptômes de la maladie (défoliation apicale), on prélève 100 fragments de tiges de 10 cm de long présentant des chancres .

L'analyse de la présence externe du pathogène au niveau des chancres s'effectue sur ces fragments dont les extrémités sont recouvertes de paraffine . Chaque fragment est ensuite mis un erlenmeyer contenant 50 ml d'eau distillée stérile additionnée de Tween 80 à 1 p. 1000 et soumis à agitation pendant 3 h à 4°C . L'eau de lavage est utilisée pour la détection du pathogène

La contamination interne est déterminé selon le protocole utilisé au paragraphe I.1.4.6 .

La détection de *X.c. pv. manihotis* au niveau des coussinets est réalisée en prélevant 200 coussinets pétiolaires qui sont broyés individuellement dans 5 ml d'eau distillée stérile . La bactérie pathogène est recherchée dans ce broyat .

I . 5 . Méthodes de détection de l'agent pathogène

I . 5 . 1 . Détection et numération sur milieu gélosé :

La mise en évidence et le dénombrement des bactéries pathogènes dans les eaux de lavage et dans les broyats est effectué, sur milieu gélosé LPGA-cycloheximide, par étalement de gouttes calibrées de 0,05 ml des suspensions et de leurs dilutions au 1/10 . La numération des colonies s'effectue après 72 h d'incubation à 30°C . Les populations de bactéries sont exprimées en unité formant une colonie (u.f.c.) et rapporté à l'organe .

I . 5 . 2 . Détection par la technique d'immunofluorescence indirecte :

La détection des bactéries est réalisée par dépôt et fixation sur lame de microscope de parties aliquotes (0,05 ml) de la suspension initiale et de la dilution au 10^{-1} des eaux de lavage et des broyats. Dans le cas des suspensions de sol et des broyats de graines (recherche de la contamination interne), des aliquotes de 2 à 5 ml sont passés sur filtre noir non fluorescent (Millipore HABG, pore de 0,45 μ m) . Les filtres sont ensuite traités selon la technique de BOLHOO & SCHMIDT (1973) . Sur les lames et sur les filtres on pratique la méthode d'immunofluorescence indirecte (FAURE & *al.*, 1977), en utilisant un antisérum de lapin obtenu au laboratoire après injection intraveineuse d'une suspension de bactéries (isolat 104-2) tuées à la chaleur selon le protocole de BOHLOOL & SCHMIDT (1973) . La fraction gammaglobuline de ce sérum est précipitée avec du sulfate d'ammonium (HEBERT & *al.*, 1972) . Au cours de notre travail, nous utilisons cette fraction en association avec un antisérum fluorescent de mouton anti IgG de lapin (Institut Pasteur Production) .

La spécificité du sérum a été évaluée sur 80 souches bactériennes provenant du sol, du tractus intestinal d'insectes et de la microflore du manioc .

L'observation des lames et des filtres se fait au microscope en épifluorescence (Leitz orthoplan, lampe Osram HBO 200, Ploemopak excitation Bp 450-490, arrêt LP 515)).

I . 6 . Etude de la présence des population épiphylls de *X.c. pv. manihotis* sur les feuilles de manioc

I . 6 . 1 . Cultivars

Cette étude est réalisée avec les cultivars sensibles Mpembé et Maloenda . Les plantations localisées dans la zone de Kombé sont contaminées naturellement et l'incidence de la maladie y est forte .

I . 6 . 2 . Détermination du niveau des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles

Dans les conditions naturelles du champ, on prélève au hasard 30 feuilles de niveau 4 . Le niveau des feuilles est déterminé par leur position sur le rameau par rapport à la première feuille dont les folioles sont dépliés . Ces feuilles sont ensuite lavées individuellement par agitation vigoureuse dans 500 ml de tampon phosphate 0,01M, pH 7,2, pendant 3 h à 4°C . Le comptage des bactéries est effectué sur l'eau de lavage conformément à la méthode décrite au paragraphe I.4.1.

I . 6 . 3 . Observation en microscopie de la localisation des bactéries sur les feuilles

I . 6 . 3 . 1 . Observation en épifluorescence

Des portions de limbes de 1 cm² sont prélevés le long de la nervure centrale sur des feuilles naturellement contaminées . Ces fragments de limbe sont placés pendant 5 minutes dans un tampon phosphate salin 0,1M pH 7,2 additionné de Tween 80 à 1p. 1000 comme mouillant . Ils sont fixés sur un film adhésif et mis sur des lames sur lesquelles on pratique directement la technique d'immunofluorescence indirecte (DANIEL & BOHER, 1981) .

I . 6 . 3 . 2 . Observation en microscopie à balayage

L'observation des bactéries à la surface du limbe de feuille a été réalisée au CNRA de Versailles sur des échantillons de feuille (niveau 4) prélevés sur des plants, élevés en serre, âgés de deux mois inoculés par pulvérisation avec l'isolat 104-2 . La technique d'inoculation est celle

exposée au paragraphe I.1.8.2. Le prélèvement des fragments de limbe s'effectue 6 jours après inoculation .

Le limbe est découpé en fragments de 1 cm² prélevés en bordure de la nervure centrale en position médiane de la feuille . Les traitements suivants leur sont appliqués :

- fixation dans une solution de glutaraldéhyde à 4 p. 100 dans du tampon pH 7,2 (KH₂PO₄ : 2,723 g, Na₂PO₄ (12 H₂O) : 16,713 g, eau ultra pure q.s.p. 1000 ml) pendant 2 h à 4°C sous vide .

- plusieurs bains de rinçage dans du tampon phosphate pH 7,2, pour une durée de 6 h

- fixation à l'osmium 1 p.100 dans du tampon phosphate 25 mM pendant 1h

- plusieurs bains de rinçage dans du tampon phosphate 50 mM pour une durée totale d'une heure .

- bains successifs de déshydratation dans l'éthanol à 30° et 50° (10 mn), puis à 70° et 95° (20 mn) et enfin 3 bains de 20 min. dans de l'éthanol absolu .

- passage dans 3 bains d'acétone pendant 10 mn

- dessiccation selon la méthode du point critique en utilisant le dioxyde de carbone comme fluide intermédiaire

- fixation des échantillons sur les porte objets métalliques avec une colle d'argent

- métallisation à l'or par ionisation sous vide

Les échantillons sont conservés en atmosphère déshydratée.

Les observations sont faites au laboratoire de microscopie électronique du CNRA de Versailles . Le microscope à balayage utilisé est de type JEOL J.S.M. 35 opérant à 20 kV .

I . 7 . Etude du niveaux des populations epiphylls de *X. c. pv. manihotis* sur feuilles de différent cultivars

I . 7 . 1 . Cultivars utilisés

Cette étude est réalisée à la station agronomique d'ODZIBA (région des Plateaux) où la maladie a une forte incidence . Parmi les différents cultivars en collection dans cette station, les cultivars Mpembé, Maloenda, MB27 et MB38 ont été retenus sur la base de leur différent niveau de résistance (Tableau 3)

L'expérimentation a été réalisée au champ sur une période allant de Janvier à Juin 1985 en couvrant la saison des pluies et une partie de la saison sèche . Les plants naturellement contaminés sont âgés de 3 mois au début des prélèvements .

I . 7 . 2 . Détermination des populations de *X. c. pv. manihotis* à la surface des feuilles

A chaque date d'analyse et pour chaque répétition (trois répétitions), un échantillon de 10 feuilles de niveau 4 est prélevé au hasard .Cet échantillon est traité, selon la technique de lavage exposée au paragraphe I . 4 . 1 avec 500 ml de tampon phosphate 0,01 M, pH 7,2, comme milieu de lavage . La concentration de *X. c. pv. manihotis* dans le tampon de lavage est déterminée par la technique de numération de colonies sur milieu gélosé décrite au paragraphe I . 5 . 1.

I . 8 . Etude de l'implantation épiphyllé de *X. c. pv. manihotis* sur feuilles et de sa multiplication dans les tissus foliaires.

I . 8 . 1 . Cultivars utilisés

Pour cette étude cinq cultivars sont utilisés . Les cultivars Mpembé et Maloenda sensibles ,les cultivars MB 27 et MB 38 tolérants et le cultivar TMS 30 555 résistant Les informations sur le niveau de résistance et l'origine de ces cultivars sont données dans le tableau 3 .

I . 8 . 2 . Inoculation des plants :

Les plants sont inoculés en pulvérisant doucement toutes les feuilles (face supérieure et inférieure) avec une suspension de 10^8 U.F.C./ml de l'isolat 104-2 préparée selon la technique présentée au paragraphe précédent (I . 3 . 2) . Par cette procédure les feuilles ne sont pas lésées.

Un lot "témoin" de plants est pulvérisé avec de l'eau distillée stérile

Les inoculations artificielles sont réalisées sur des plants issus de boutures mises en pots deux mois auparavant . Le matériel végétal, placé dans l'enceinte du centre ORSTOM de Brazzaville, est maintenu sous les conditions atmosphériques extérieures de la saison des pluies (Février-Mars 1985, température maximale moyenne 31,7 C, température minimale moyenne 20,9°C) . Après inoculation, les plants sont gardés à l'abri des précipitations .

I . 8 . 3 . Multiplication de *X. c. pv. manihotis* sur et dans les feuilles de manioc en fonction du cultivar.

Le premier prélèvement est effectué juste après ressuyage des feuilles, les suivants sont réalisés 1, 2, 4, 8, 10, 14, 18, 22, 24 et 28 jours après l'inoculation .

a) Détermination des populations bactérienne à la surface des feuilles

A chaque date d'analyse et pour chaque répétition (trois répétitions, un échantillon de cinq feuilles prélevées au hasard est mis dans 100 ml de tampon phosphate 0,01 M, pH 7,2 et soumis à la technique de lavage (paragraphe I.4.1) pendant 2 h . Le dénombrement de *X. c. pv. manihotis* s'effectue sur le tampon de lavage .

b) Détermination des populations bactérienne dans les tissus foliaires :

Les mêmes feuilles ayant subi le lavage sont désinfectées en surface par trempage, pendant 30 secondes, dans une solution d'hypochlorite de sodium à 3 p. 100, puis rincées trois fois à l'eau distillée stérile afin d'éliminer toute trace de la microflore de surface .

Les limbes sont alors broyés dans 100 ml de tampon phosphate 0,01M, pH 7,2 à l'aide d'un broyeur type Waring-Blendor .

c) Dénombrement des populations bactériennes

La concentration de *X. c. pv. manihotis* dans le tampon de lavage et dans le broyat est déterminée par la technique de numération de colonies sur milieu gélosé décrite au paragraphe I.5.1 .

I . 9 . Relation entre le niveau des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* et l'incidence de la maladie

Pour tester l'hypothèse d'une relation entre l'incidence de la bactériose et le niveau de la population de pathogène ,trois plantations, réalisées avec le cultivar Mpembé et âgées de trois mois sont sélectionnées : une plantation à la station d'ODZIBA (région des plateaux) où l'incidence de la maladie est forte et deux plantations dans la zone de Kombé, dans lesquelles l'incidence est moyenne pour l'une et faible pour l'autre. (plantation isolée en bordure d'une forêt galerie) .

I . 9 . 1 . Mesure de l'incidence de la maladie:

L'incidence de la maladie est exprimée par le pourcentage de feuilles présentant les symptômes de la maladie (taches anguleuses, brûlures du limbe, flétrissement foliaire) . Ce pourcentage est estimé sur un échantillon de 200 feuilles de niveau 4 . (le niveau 1 correspondant à la première feuille dépliée) .

I . 9 . 2 . Variation de l'incidence en fonction de l'âge de la feuille :

L'incidence de la maladie est estimée, tous les 15 jours, pour les feuilles de niveau 1, 2, 3, 4 , 6, 8 et 10 et sur des échantilolons de **selon la méthode décrite ci-dessus .

I . 9 . 3 . Distribution des populations épiphylls sur les feuilles en fonction de l'incidence de la maladie

Pour chaque plantation, l'incidence de la maladie et la distribution des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles prises individuellement sont déterminées mensuellement de Janvier à Juin (saison des pluies-début de la saison sèche) . La quantité de bactéries au niveau de chaque feuille est déterminée par la technique de lavage décrite au paragraphe I.4.1 avec 50 ml de tampon phosphate 0,01 M, pH 7,2 par feuille . L'estimation des populations s'effectue par numération de colonies sur milieu gélosé (paragraphe I.5.1) . L'incidence est évaluée sur un échantillon de 200 feuilles de niveau 4 .

I . 10 . Traitements statistiques

En ce qui concerne, les études sur l'installation épiphyll du parasite et sa multiplication dans les tissus en fonction du cultivar, la comparaison des valeurs moyennes des populations bactériennes détectées à la surface des feuilles et dans les feuilles, on met en oeuvre une analyse de la variance (SCHWARTZ, 1969) .

L'analyse des données (variance, corrélation) est réalisée sur micro-ordinateur avec le logiciel de statistiques STATVIEW SE (Abacus Concepts, Inc., 1989) .

La vérification de la normalité de la distribution des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* sur des feuilles individuelles de manioc est réalisée en portant sur une échelle d'anamorphose (probabilité cumulée relative) le logarithme (base 10) du niveau des populations présentes sur chaque feuille) . Par ce test graphique, si l'échantillon est extrait d'une distribution normale, le graphique des probabilités cumulées est sensiblement linéaire (SCHWARTZ, 1969) .

La normalité de la distribution est vérifiée par une méthode plus rigoureuse, le test de χ^2 (SCHWARTZ, 1969) . Pour l'épreuve de normalité (test graphique et test de χ^2) les données sont traitées avec le logiciel Statgraphics 2. 6 (Inc. Statistical Graphics Corporation, 1987) .

CHAPITRE III

**Dynamique des populations
de
X. c. pv. manihotis
au niveau de la phyllosphère
et
étude de ses modes de survie**

CHAPITRE III

Dynamique des populations de *X. c. pv. manihotis* au niveau de la phyllosphère et étude de ses modes de survie

Avant de développer les résultats de cette étude, il est nécessaire de rappeler que le manioc est une plante pérenne dont le cycle de culture varie de 10 à 18 mois, selon la date de récolte . Dans les zones où les expérimentations sont réalisées (Région du Pool et des Plateaux), on distingue une saison des pluies d'Octobre à Avril et une saison sèche de Juin à Août . Les mois de Mai et de Septembre constituent des périodes de transition entre chaque saison .

II . 1 . ETUDE DE LA MICROFLORE BACTERIENNE EPIPHYLLE DE LA PHYLLOSPHERE

II . 1 . 1 . Mise en évidence de la présence de *X. c. pv. manihotis* sur le Phylloplan

Dans les plantations où la maladie est présente, l'analyse de la microflore bactérienne présente sur les organes aériens de plants de manioc indemnes de symptômes révèle la présence

de la bactérie phytopathogène *X. c. pv. manihotis* . L'agent pathogène est détecté sur les apex, les jeunes feuilles, les feuilles matures et dans le cas du cultivar Maloenda sur les fleurs et sur les fruits (Tableau 4) .

La quantité de bactéries présente sur les apex est faible (10^2 - 10^3 u.f.c./apex) par rapport au niveau des populations détectées sur les feuilles matures (10^5 - 10^7 u.f.c./organe) . D'autre part, la fréquence avec laquelle on détecte le parasite est plus élevée dans le cas des feuilles matures que dans celui des jeunes organes (apex, 1^{ère} feuille non encore dépliée) (Tableau 5) . Cette fréquence varie de 15 à 45 p.100 pour les apex, de 50 à 65 p. 100 pour les jeunes feuilles et de 55 à 90 p.100 pour les feuilles matures .

Au sein de la canopée du manioc, les populations épiphylls de pathogène sont détectées préférentiellement sur les feuilles matures et ce à partir du niveau 3 . Dans les plantations indemnes de maladie, on ne détecte jamais la bactérie au sein de la microflore épiphyll des plants .

Des analyses ponctuelles, réalisées dans les collections variétales contaminées d'Odziba (région des Plateaux) et de Kombé (Région de la Pool), montrent que l'agent pathogène peut être détecté au niveau du phylloplan de cultivars sensibles et résistants (Tableau 6) .

II . 1 . 2 . Etude de la dynamique des populations épiphylls

Les analyses hebdomadaires des populations de bactéries épiphylls, effectuées avec le cultivar Mpembé au cours des deux années d'expérimentation (Fig 1 et Fig 2), montrent, qu'en dépit d'importantes fluctuations, le niveau des populations de *X.c. pv.manihotis* est élevé de Janvier à Avril (saison des pluies) et varie alors de 10^6 à 10^7 u.f.c./feuille . Puis, avec le début de la saison sèche vers la mi-Mai, le nombre de bactéries présentes sur les feuilles diminue progressivement jusqu'à un niveau bas (10^3 - 10^4 u.f.c./feuille) pour descendre à un niveau non détectable par la méthode d'analyse utilisée (étalement sur milieu gélosé) . Dans nos conditions de travail, le seuil de détection de la méthode d'analyse se situe à environ de 10^2 - 10^3

Tableau 4. Niveau des populations épiphylls de *X.c. pv. manihotis* sur les organes macroscopiquement sains du cultivar Mpembé et Maloenda dans une plantation contaminée

Organe	Niveaux des populations de <i>X.c. pv. manihotis</i> *			
	Janvier	Février	Mars	Avril
Apex a	$1,7 \times 10^3$	$1,7 \times 10^2$	10^2	$1,4 \times 10^3$
1ère feuille a dépliée a	$1,5 \times 10^5$	$1,2 \times 10^4$	$1,7 \times 10^3$	$1,8 \times 10^4$
Feuille (niveau 4)	$5,6 \times 10^6$	$1,3 \times 10$	$1,2 \times 10^8$	$1,7 \times 10^6$
Inflorescence b	$1,4 \times 10^5$	3×10^6	$1,9 \times 10^5$	$1,2 \times 10^3$
Fruits b	$1,2 \times 10^3$	$2,7 \times 10^4$	$3,2 \times 10^5$	$5,1 \times 10^2$

* niveau de population bactérienne exprimé en C.F.U (unité formant une colonie) par organe .

a organes prélevés sur le cultivar Mpembé

b organes prélevés sur le cultivar Maloenda.

Tableau 5 . Fréquence de détection de *X. c. pv. manihotis* sur les organes aériens du cultivar Mpembé dans une plantation contaminée (zone de Kombé)

Prélèvement	Apex ^a	1ère feuille dépliée ^a	Feuille mature ^a
Janvier	35 ^b	60 ^b	90 ^b
Février	20	50	35
Mars	45	45	65
Avril	15	65	55

^a pourcentage calculé sur la base de 20 échantillons de 5 organes par analyse

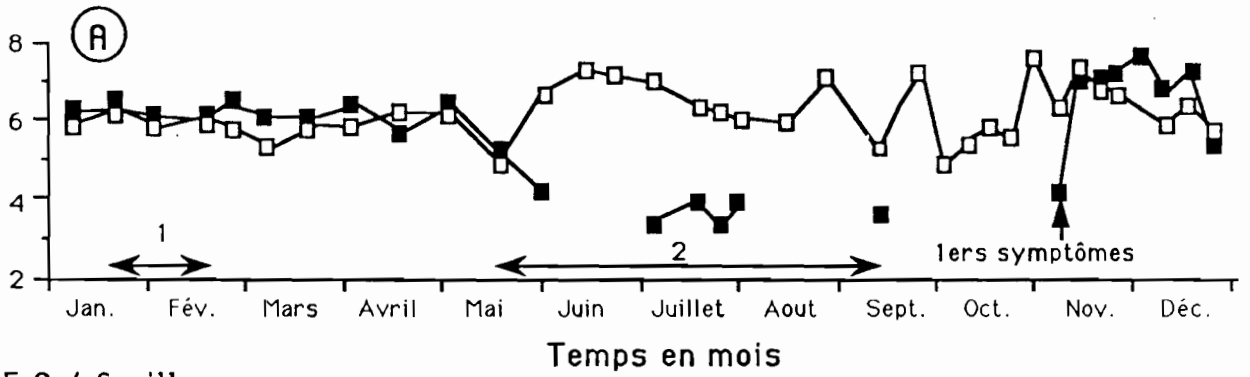
^b pourcentage

Tableau 6 : Niveau des populations de *X.c. pv. manihotis* sur des cultivars résistants et sensibles dans les collectes contaminées d'Odziba et de Kombi

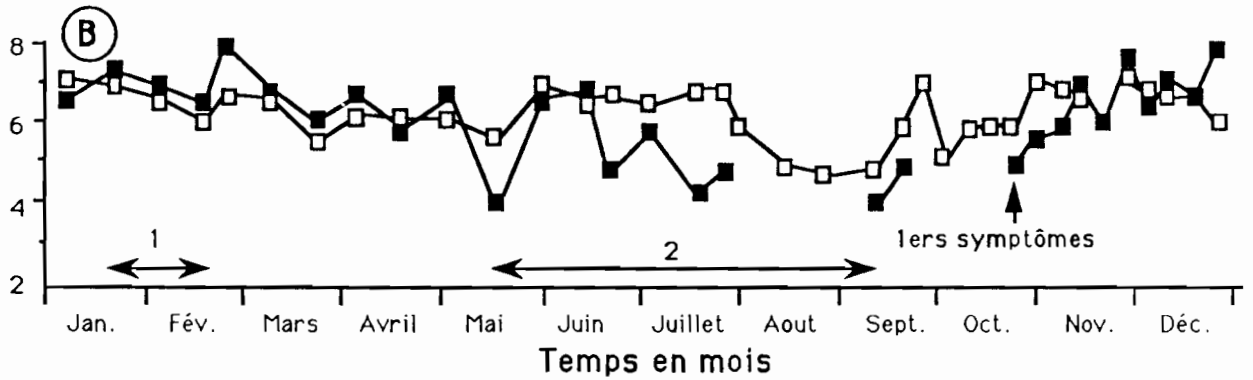
Localisation	Cultivar	Résistance	<i>X.c. pv. manihotis</i> *
ODZIBA	MB 27	Résistant	5,43 ± 0,14
	MB 30	Résistant	2,4 ± 0,09
	MB 38	Tolérant	5,38 ± 0,08
	MA 147	Résistant	6,04 ± 0,69
	MA 446	Tolérant	4,25 ± 0,7
KOMBE	Maloenda	Sensible	7,28 ± 0,07
	Mpembé	Sensible	5,38 ± 0,35
	Nkoh	Sensible	7,17 ± 0,58

* niveau de population bactérienne exprimé en log C.F.U (unité formant une colonie) par feuille + limites de confiance de la moyenne

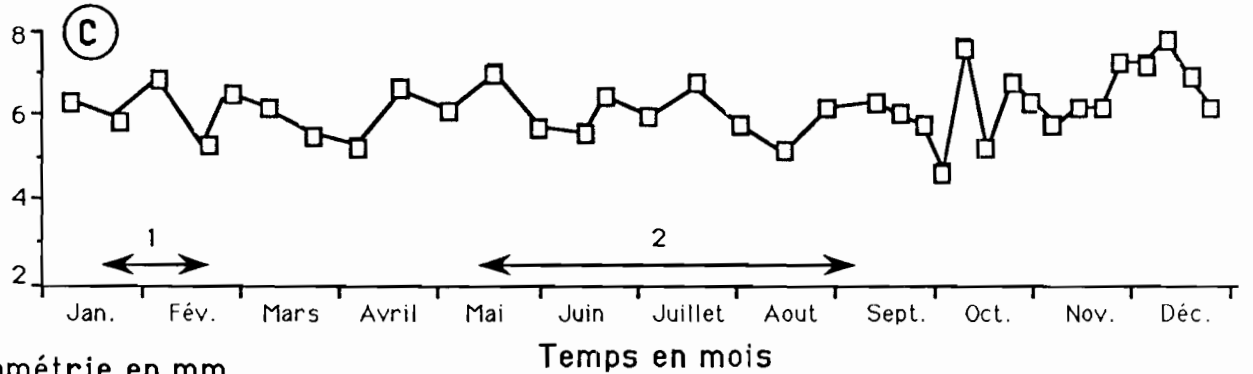
log U.F.C./ feuille



log U.F.C./ feuille



log U.F.C. / feuille



Pluviométrie en mm

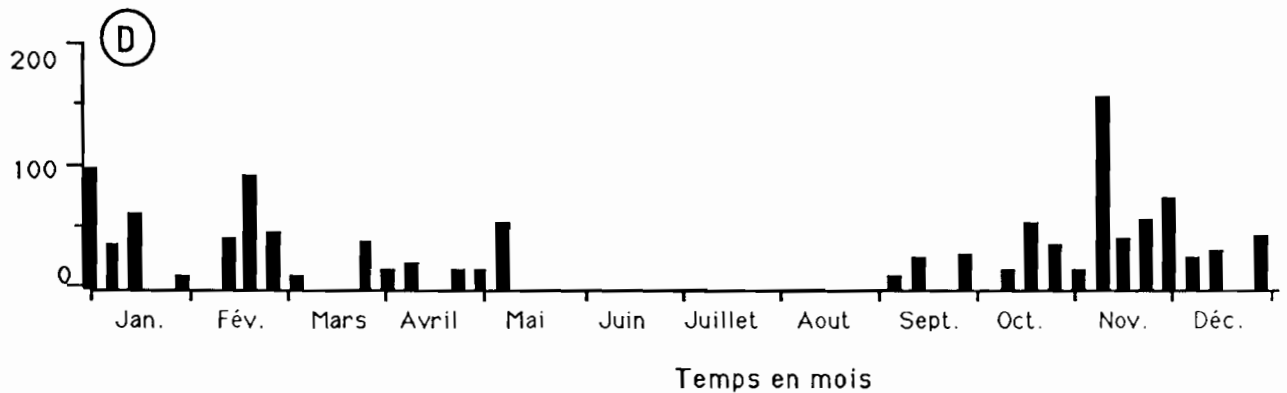


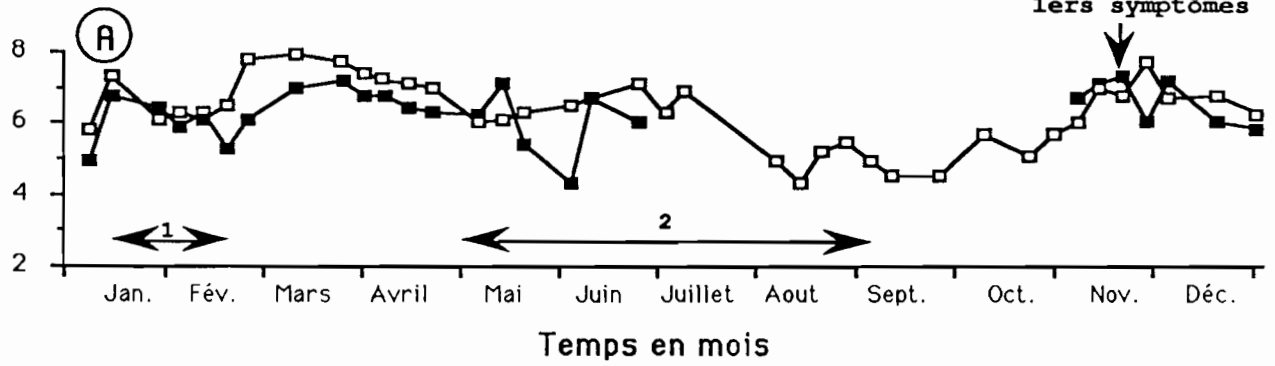
Figure 1: Evolution des populations bactériennes épiphylls sur le cultivar Mpembé au cours de l'année 1979 . A = parcelle de plants contaminés, âgés de 6 mois ; B = parcelle de plants contaminés, âgés de 1 an et C = parcelle témoin de plants non contaminés .

■ populations de *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* ; □ populations de l'ensemble des autres bactéries . Le seuil minimal de détection de bactéries par la méthode de numération de colonies sur milieu gélosé est égal à 10^2 u.f.c./ organe .

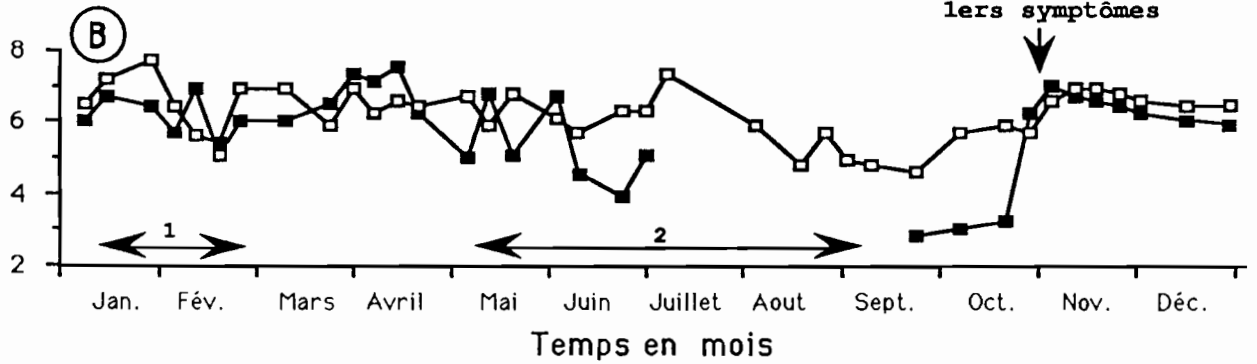
D = répartition des précipitations au cours de l'année 1979

1 = petite saison sèche, 2 = grande saison sèche

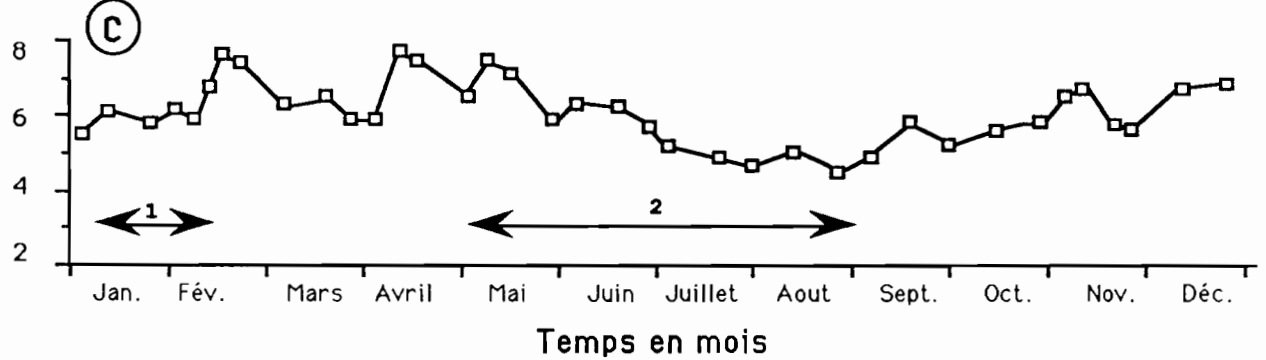
log U.F.C. par feuille



log U.F.C. par feuille



log U.F.C. par feuille



Pluviométrie en mm

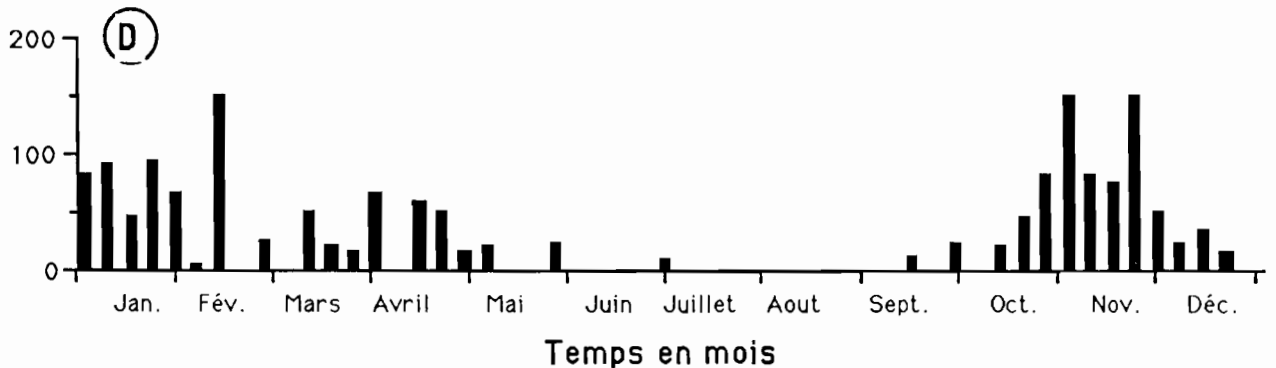


Figure 2: Evolution des populations bactériennes épiphyllées sur le cultivar Mpembé au cours de l'année 1980 . A = parcelle de plants contaminés, âgés de 6 mois ; B = parcelle de plants contaminés, âgés de 1 an et C = parcelle témoin de plants non contaminés .
 ■ populations de *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* ; □ populations de l'ensemble des autres bactéries . Le seuil minimal de détection de bactéries par la méthode de numération de colonies sur milieu gélosé est égal à 10^2 u.f.c./ organe .
 D = répartition des précipitations au cours de l'année 1980
 1 = petite saison sèche 2 = grande saison sèche

u.f.c./ feuille .

Ainsi en 1979, (Fig. 1), le pathogène est présent jusqu'à la fin du mois de Juillet (A et B), soit 3mois après la dernière pluie ; il est à nouveau détecté en Septembre dès la première pluie mais disparaît 1 (A) à 2 (B) semaines plus tard pour ne plus être décelable jusqu'au développement des premiers symptômes . De même, en 1980, le *X. c. pv. manihotis* présent sur les feuilles jusqu'au début du mois de Juillet (pluies de quelques millimètres intervenant le 9 Juillet), n'est à nouveau détecté, au plus tôt, que 3 (B) à 4 (A) mois plus tard . Cette réapparition précède, de 3 à 4 semaines , le développement des premiers symptômes .

En 1980 comme en 1979, le niveau des populations de pathogènes au cours de la période qui suit l'apparition des symptômes, augmente rapidement et se fixe à des valeurs variant entre 10^5 et 10^6 u.f.c./ feuille .

Sur la base de ces résultats, nous constatons que le niveau des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* est élevé en saison des pluies, puis il décroît de manière drastique jusqu'à ne plus être détectable à la fin de la saison sèche (Août, Septembre) .

Si l'on considère, pendant la même période, les autres composants de la microflore présents sur les feuilles, nous constatons que, globalement, ils atteignent des niveaux de populations comparables à ceux observés pour *X. c. pv. manihotis* (10^5 - 10^6 u.f.c./feuille) .

Au début de la saison sèche, en Mai et Juin, on observe aussi une réduction de la microflore épiphylls . Cette diminution est toutefois moins accentuée que dans le cas des populations de *X. c. pv. manihotis*, les populations de saprophytes se stabilisant en saison sèche autour de 10^4 - 10^5 U.F.C./feuille, niveau nettement plus élevé que celui des populations du pathogène . Quand la nouvelle saison des pluies débute, les populations de bactéries saprophytes augmentent rapidement pour atteindre un niveaux similaire à celui de *X. c. pv. manihotis* .

Dans les plantations indemnes de maladie, l'évolution de la population épiphylls totale est semblable à celle observée dans les parcelles où la maladie est présente (Fig. 1, C ; Fig. 2, C) . En saison sèche, nous notons aussi une légère réduction du nombre de bactéries, qui reste cependant relativement élevé (environ 10^5 U.F.C./feuille) . Au cours des deux années d'étude,

nous n'avons jamais détecté dans nos essais la présence de *X. c. pv. manihotis* au sein de la microflore épiphyllé de plants de manioc situés dans des plantations indemnes de bactériose

Le niveau des populations de la microflore bactérienne (parasite et saprophyte) ne semble pas être influencé par la différence d'âge des plants (6 mois)

II . 1 . 3 . Observations en microscopie de *X. c. pv. manihotis* à la surface des feuilles

Nous avons souligné dans les chapitres précédents, l'importance de la phase épiphyllé au cours du cycle de la maladie et précisé l'impact du niveau des populations présentes sur la feuille sur l'incidence de la maladie . Pour mieux comprendre l'interaction bactérie-feuille lors de la phase épiphyllé de *X. c. pv. manihotis*, nous avons recherché à détecter directement sur la feuille la présence de la bactérie et étudié sa répartition au niveau du limbe . Cette étude est réalisée à la fois en microscopie en épifluorescence par la technique d'immunofluorescence indirecte en utilisant un antisérum de lapin spécifique du *X. c. pv. manihotis* (DANIEL & BOHER, 1981) et en microscopie électronique à balayage .

II . 1 . 3 . 1 . Microscopie en épifluorescence

L'observation directe de la surface du limbe du cultivar Mpembé par la méthode d'immunofluorescence indirecte permet de visualiser *in situ* la localisation des bactéries au niveau des structures de la surface de la feuille (cellules de l'épiderme, réseau des nervures, cellules de garde des stomates) . Pour le cultivar Mpembé, le limbe fluoresce en rouge, ce qui donne un excellent contraste avec le vert fluorescent des corps bactériens marqués à l'isothiocyanate de fluorescéine .

Cette méthode appliquée sur des portions de limbes issues de feuilles contaminées

naturellement, montre que les bactéries ne sont pas distribuées de manière homogène à la surface du limbe (Fig.3) et que la contamination des lobes (5 à 6 par feuille) est hétérogène, certains pouvant être exempts de bactéries .

Les bactéries sont localisées préférentiellement sur la face inférieure des feuilles où les stomates sont les plus nombreux . Elles se répartissent sous forme de micro-colonies de 5 à 20 cellules agrégées dans un mucus légèrement fluorescent (Planche . 3) . Ces amas bactériens sont détectés dans les dépressions entre les cellules digitées de l'épiderme notamment à proximité des stomates et le long du réseau des nervures (Planche 4) . Des bactéries isolées sont rarement observées, sauf sur des feuilles prélevées après une pluie .Des observations ont aussi montré la présence du parasite au niveau des cellules de garde des stomates . Cette méthode permet aussi de mettre en évidence à la surface du limbe, la présence de nombreuses microlésions qui fluorescent en jaune . Ces microlésions doivent constituer une voie importante pour la pénétration du parasite .

II . 1 . 3 . 2 . Microscopie électronique à balayage

La méthode du point critique utilisée pour la préparation des échantillons de feuille permet, malgré une perte de turgescence des tissus, de conserver l'organisation de la structure de la surface de la feuille et de ne pas altérer les corps bactériens .

Les observations en microscopie électronique à balayage, confirment les analyses précédentes en montrant que les populations bactériennes sont localisées préférentiellement à la face inférieure des feuilles . L'agent pathogène colonise la surface du limbe sous forme de micro-colonies au niveau de sites protégés que sont les dépressions situées le long du réseau des nervures et au niveau des cellules digitées de l'épiderme entourant les stomates (Planche 5) . Les bactéries au sein de ces agrégats sont agglutinées dans un mucus présentant une structure fibrillaire qui, en microscopie à balayages semble se rétracter . Sur la face inférieure de la feuille, où les stomates sont nombreux, on observe dans un certain nombre de cas la présence des bactéries sur les cellules de garde des stomates et la colonisation de la chambre sous stomatique (Planche 6) .

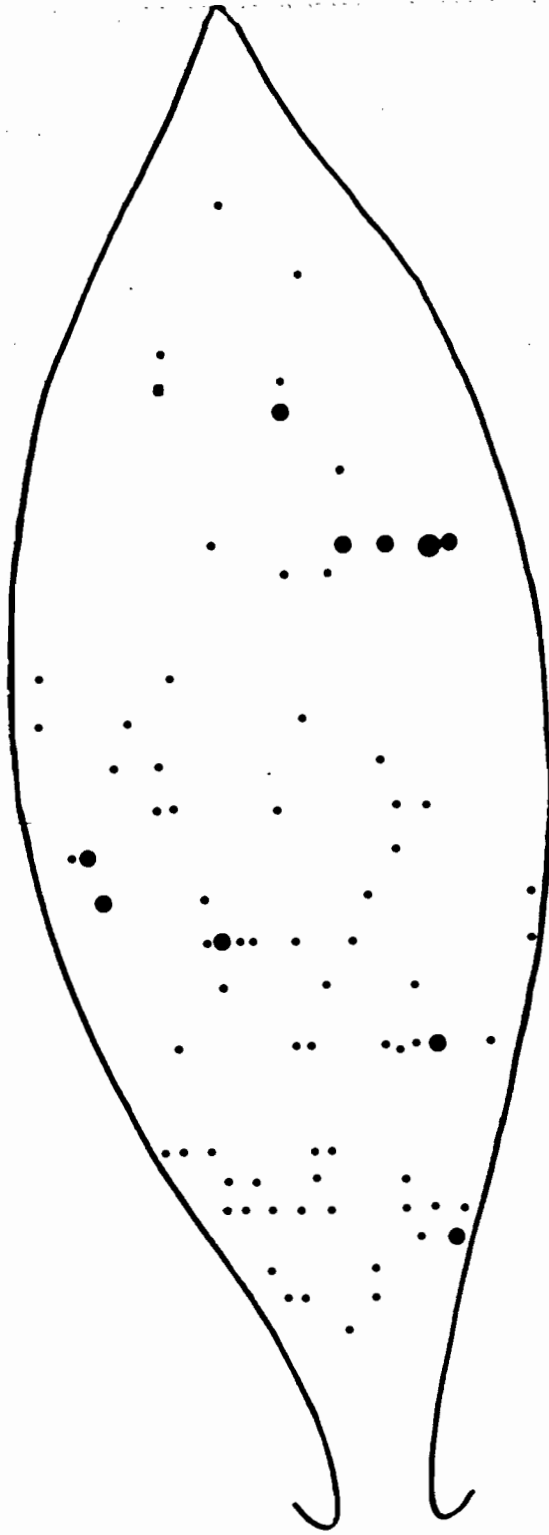


Figure 3 : Exemple de répartition des microcololones de *X. c. pv. manihotis* à la face inférieure d'un foliole de feuille de manioc du cultivar Mpembé contaminé naturellement au champ . Les observations sont réalisées sur des échantillons préparés avec la méthode d'immunofluorescence indirecte .
• amas de 1 à 2 bactéries - o amas de 3 à 50 bactéries - O amas de plus de 20 bactéries

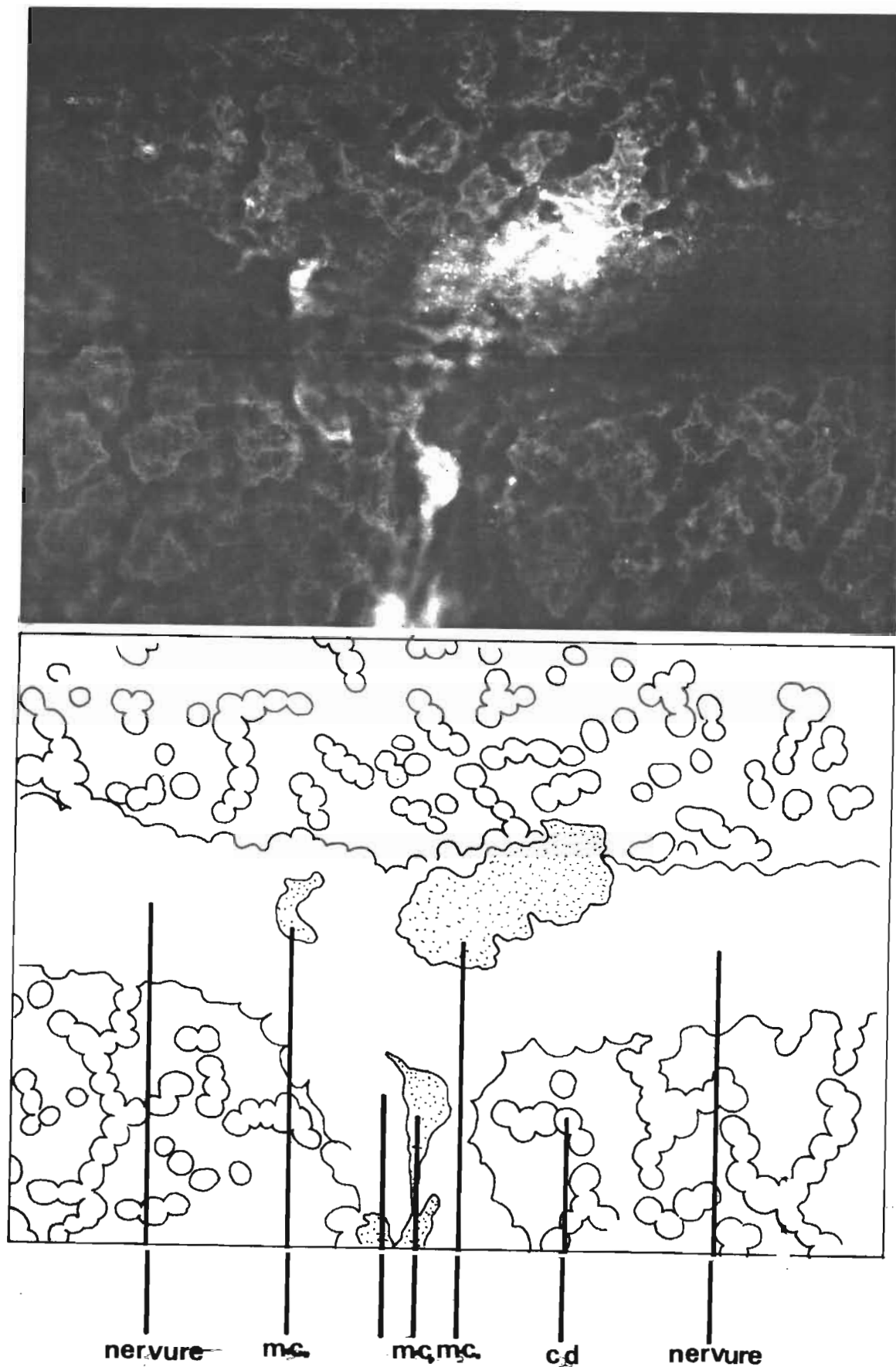


Planche 3 : Mise en évidence et localisation in situ des micro-colonies de *X. c. pv. manihotis* sur les cellules digitées de l'épiderme, le long des nervures secondaires de la face inférieure de la feuille de manioc du cultivar Mpembé et marquées par la technique d'immunofluorescence in directe . m.c. = micro-colonies ; c.d. cellules digitées .

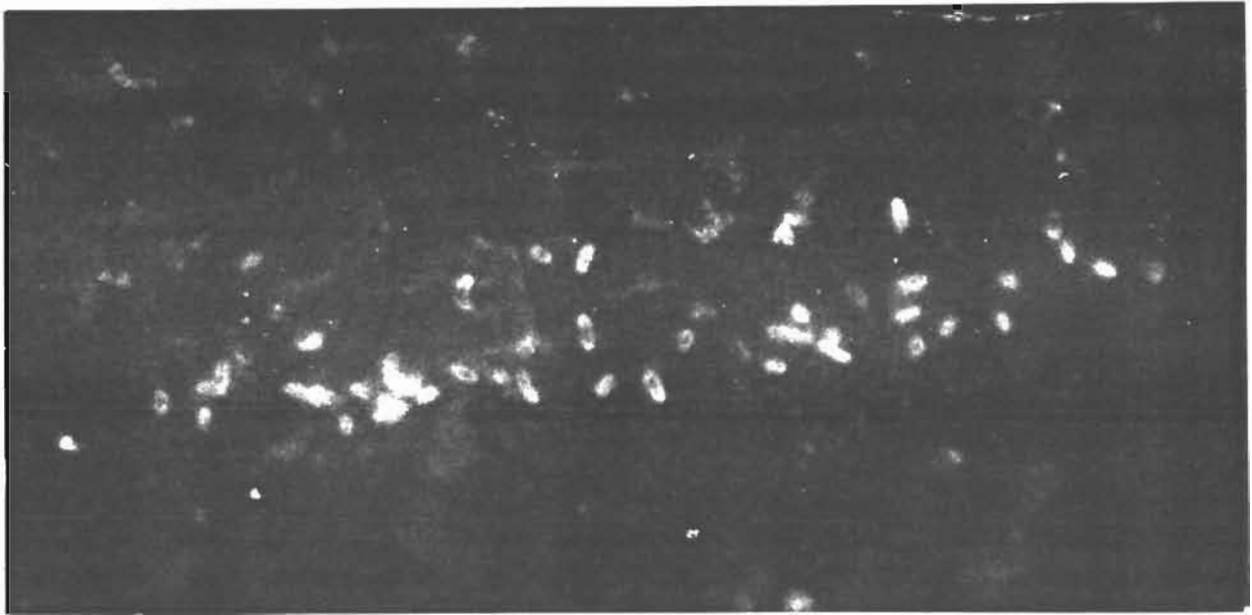


Photo 1 : Observation *in situ* par la méthode d'immunofluorescence indirecte des corps bactériens de *X. c. pv. manihotis* à la face inférieure de la feuille de manioc du cultivar Mpembé sur les cellules de l'épiderme d'une nervure secondaire .

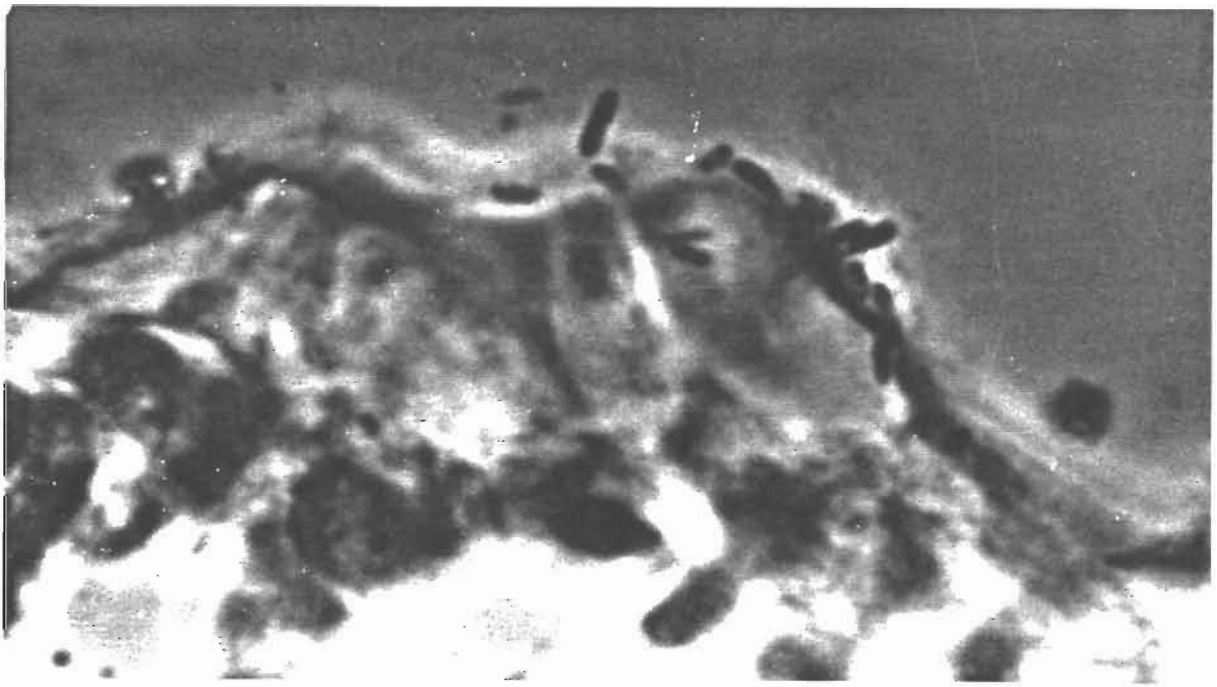


Photo 2 : Détection de *X. c. pv. manihotis* sur les cellules digitées de l'épiderme de la face inférieure de la feuille de manioc (coupe) du cultivar Mpembé par la méthode d'immunofluorescence indirecte associé au contraste de phase (Leitz Orthoplan) .

Planche 4 : Localisation *in situ* de *X. c. pv. manihotis* à la face inférieure de manioc du cultivar Mpembé par la méthode d'immunofluorescence indirecte .

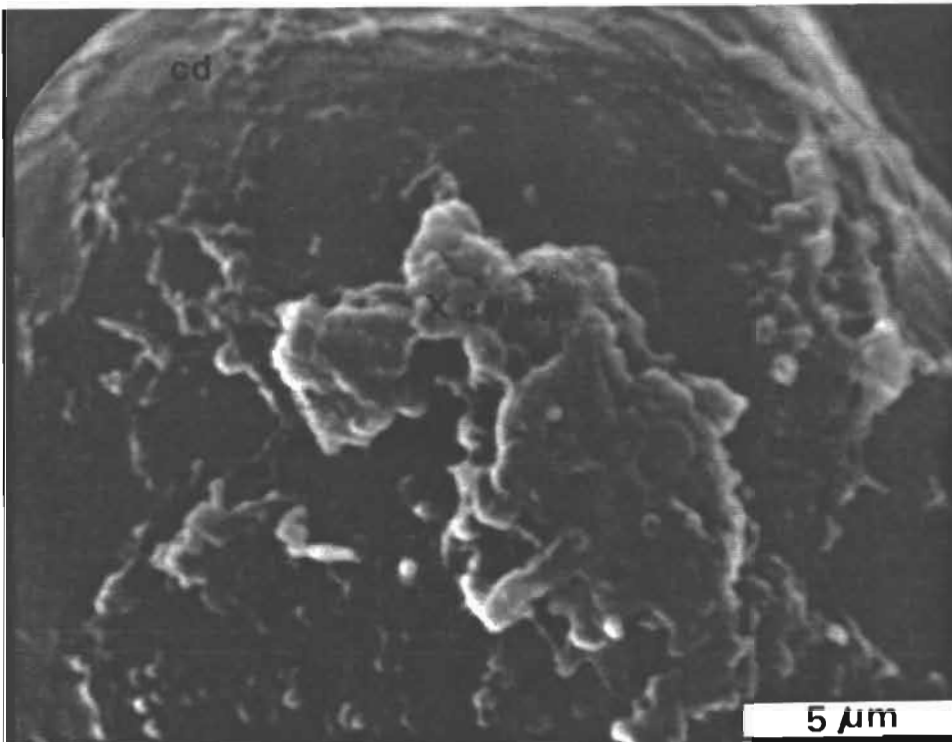
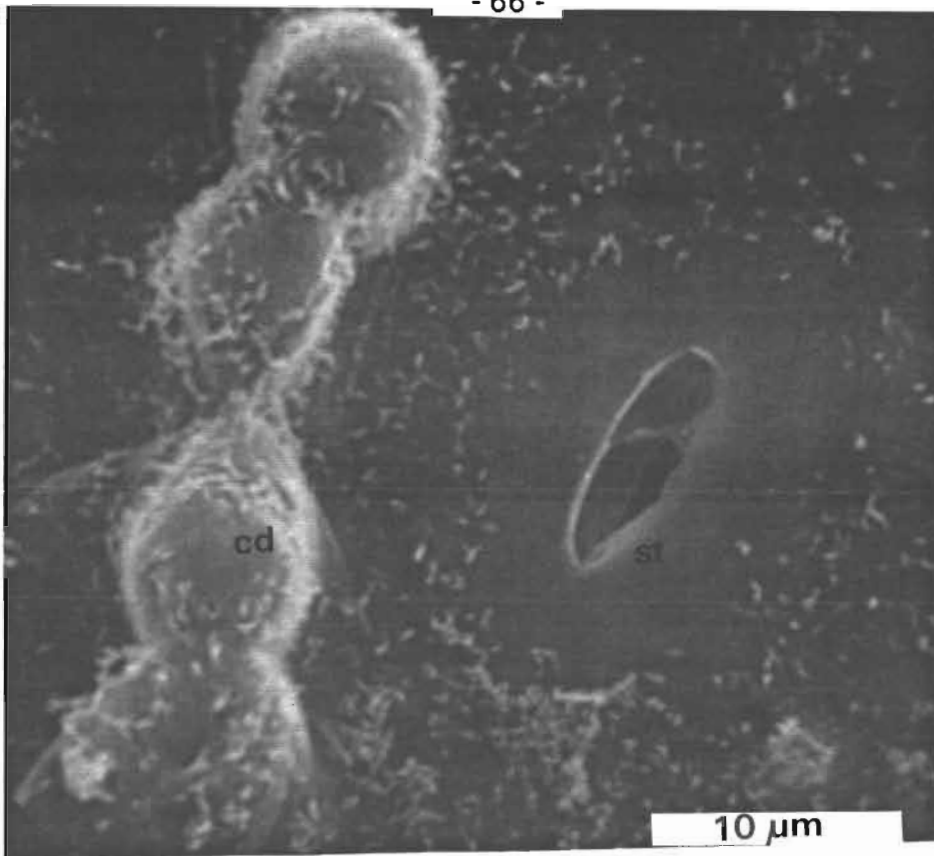


Planche 5 : Aspect en microscopie électronique à balayage par la méthode du point critique de la répartition des corps bactériens de *X. c. pv. manihotis* au niveau :

- photo 1 : des cellules digitées de l'épiderme (cd) entourant un stomate (st) de la face inférieure de la feuille de manioc du cultivar Mpembé,
- photo 2 : du sommet d'une cellule digitée de la face inférieure de la feuille de manioc du cultivar Mpembé .

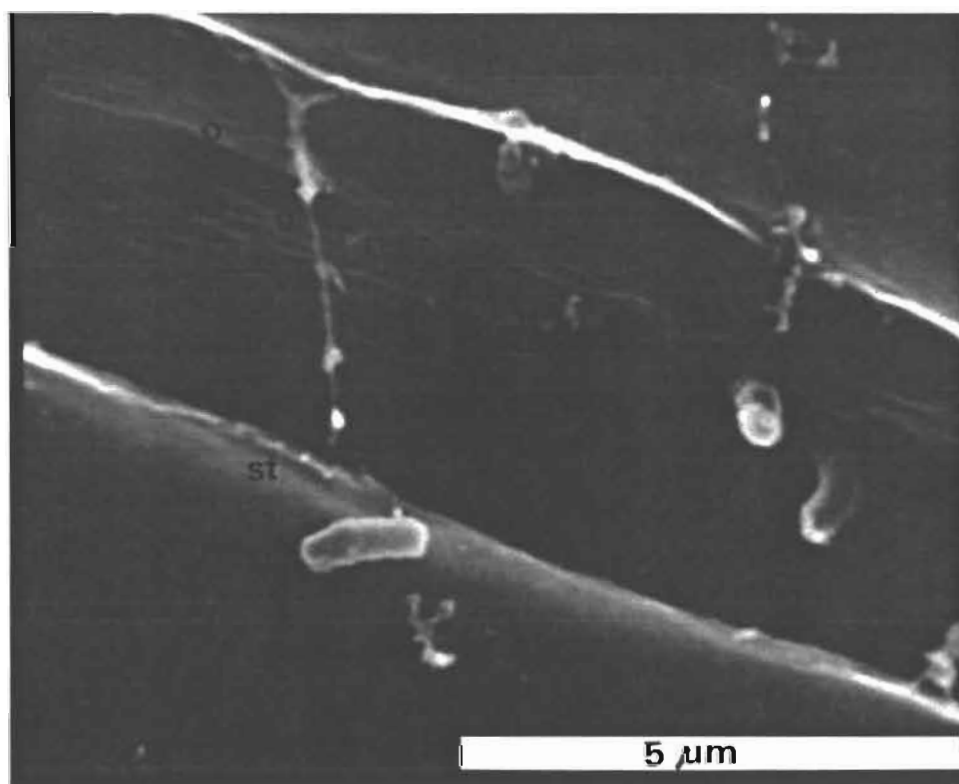
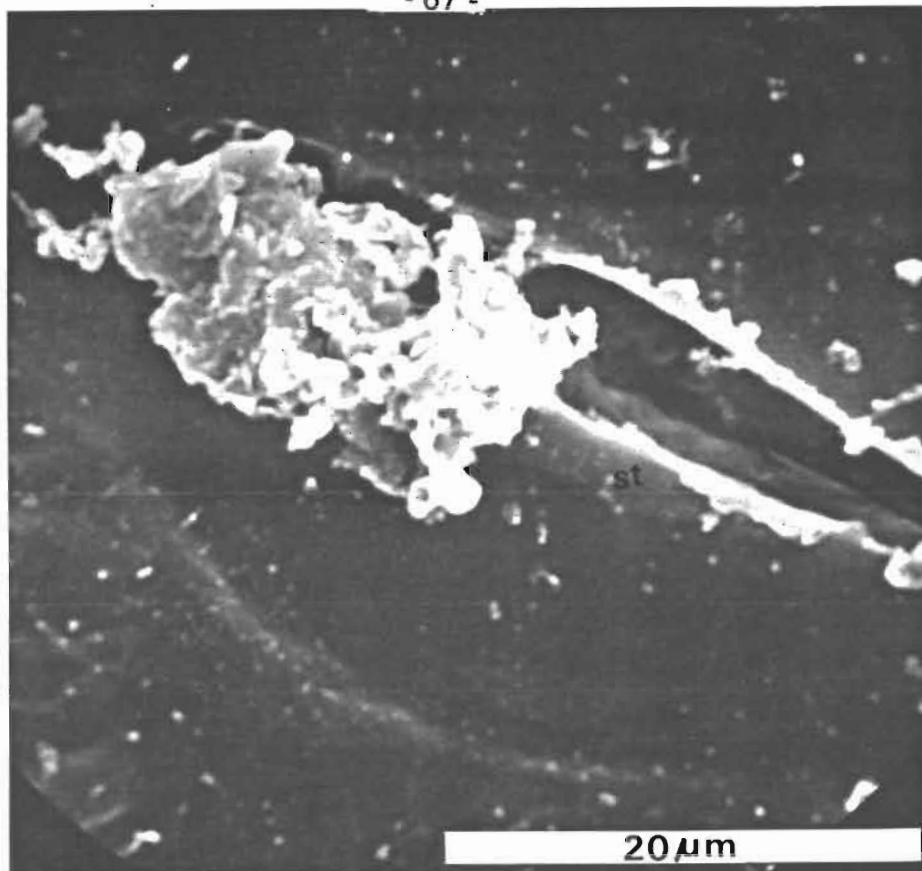


Planche 6 : Aspect en microscopie électronique à balayage par la méthode du point critique de la présence de *X. c. pv. manihotis* sous forme d'amas bactérien associant corps bactérien et fibrilles au niveau :

- photo 1 : d'un stomate (st) de la face inférieure de la feuille de manioc du cultivar Mpembé,
- photo 2 : d'un stomate (st) et de l'ostiole (o)

II . 2 . ETUDE DES MODES DE CONSERVATION DE L'AGENT PATHOGENE

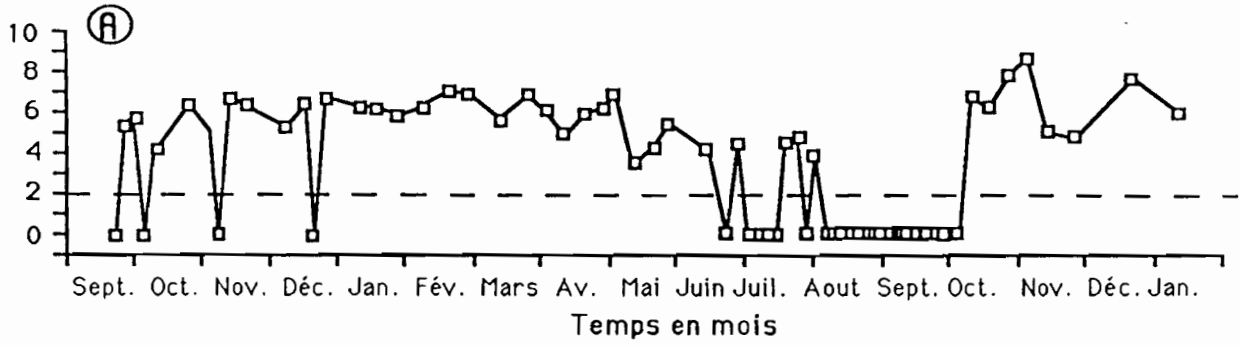
II . 2 .1 . Survie épiphyte sur le manioc

Le résultat des analyses hebdomadaires (Septembre 1981 à Janvier 1983) de la microflore épiphyte du cultivar Maloenda confirment que, dans les plantations présentant ou ayant présenté les symptômes de la maladie, *X. c. pv. manihotis* est toujours détecté au sein de la microflore du phylloplan des plants de manioc (Fig. 4 et 5) . Son absence dans les plantations saines indique que cette bactérie n'est pas un composant normal de la microflore de la phyllosphère du manioc .

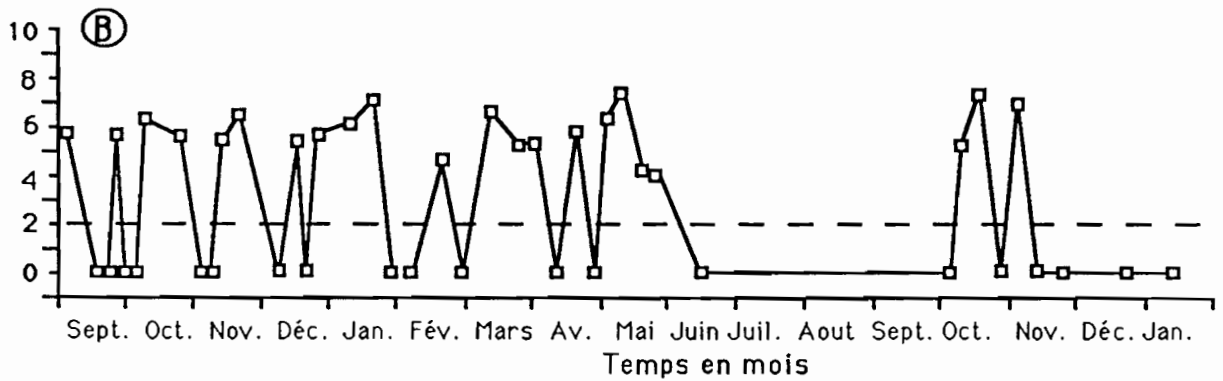
L'étude de la dynamique des populations épiphytes montre que le taux de *X. c. pv. manihotis* détecté en saison des pluies sur les feuilles , sur les jeunes inflorescences, sur les fleurs femelles et sur les fruits est élevé (10^5 - 10^6 u.f.c. / organe) malgré d'importantes variations (Fig . 4 et 5) . En saison sèche (de Mai à Août), on assiste à une baisse générale des populations épiphytes, ce qui se traduit pour le pathogène par un faible niveau de population (10^3 - 10^4 u.f.c./ organe), avec parfois une disparition temporaire dans le cas des feuilles (Fig .4 - A) . Pendant la période de transition entre la saison sèche et la saison des pluies et avant l'apparition des premiers symptômes (27 Novembre), on note une augmentation significative des populations de *X. c. pv. manihotis* qui peuvent atteindre des niveaux proches de ceux détectés lors de la précédente saison des pluies .

Ces observations montrent qu'en, saison sèche, on retrouve l'agent pathogène jusqu'à la mi-août (4 mois après la dernière pluie) sur les feuilles (Fig. 4 - A) et jusqu'à la fin juillet sur les fruits (3 mois après l'arrêt des pluies) (Fig. 5 - A) .

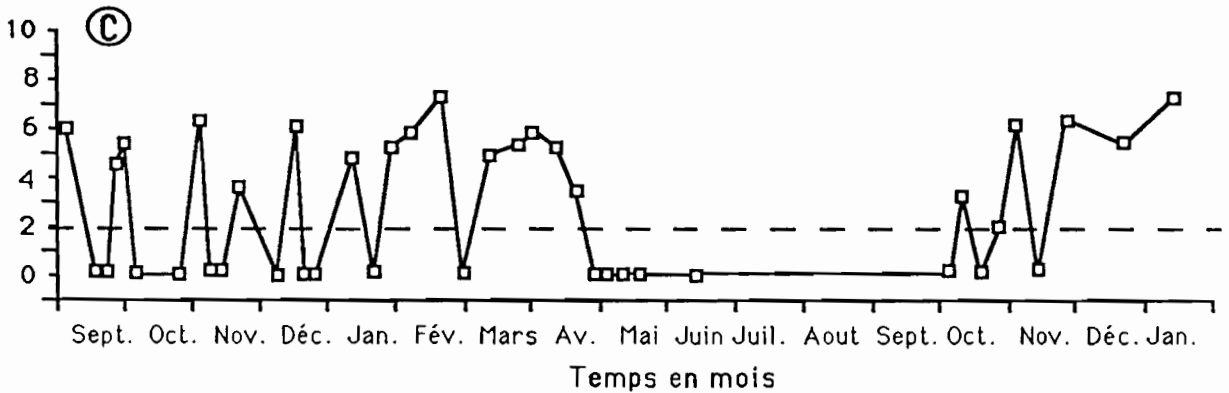
log U.F.C./feuille



log U.F.C./inflorescence



log U.F.C./fleur.



Pluviométrie en mm

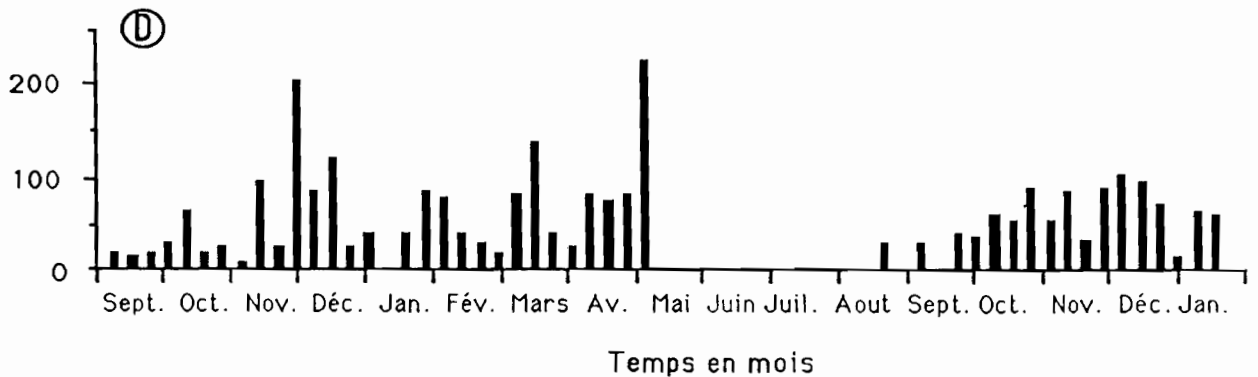
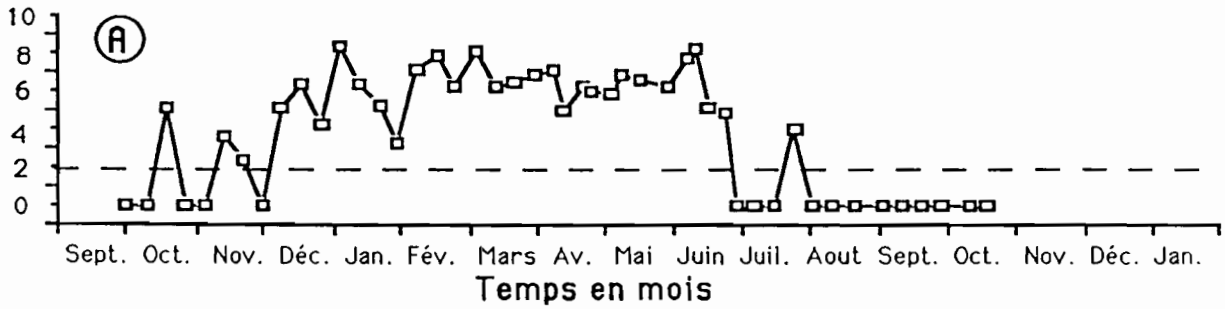


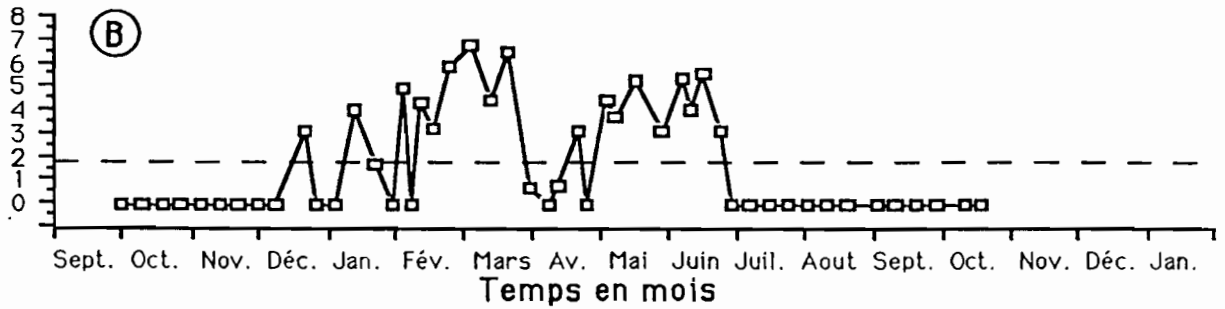
Figure 4 : Variation du niveau des populations de *X. c. pv. manihotis* à la surface des feuilles (A), des inflorescences, (B) et des fleurs femelles (C) de manioc au cours de la période allant de Septembre 1981 Janvier 1983 . Répartition des précipitations hebdomadaires durant la même période (D) .

— — — seuil minimal de détection de bactéries par la méthode de numération de colonies sur milieu gélosé (= 10 U.f.c./organe)

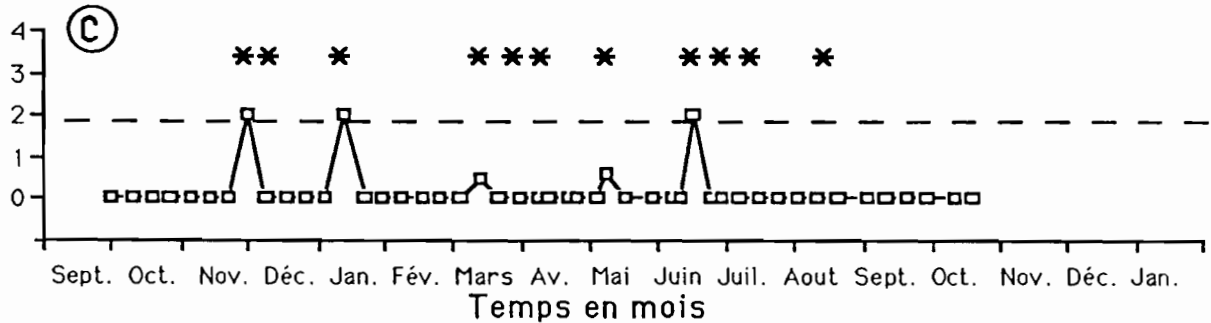
log. U.F.C./fruit.



log U.F.C./semence.



log. U.F.C./semence.



log. U.F.C./gramme de débris

log. U.F.C./gramme de sol

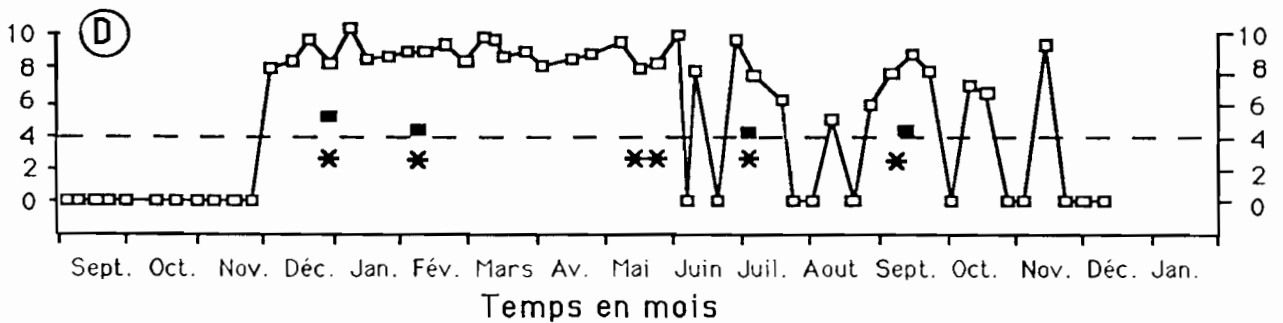


Figure 5 : Variation du niveau des populations de *X. c. pv. manihotis* à la surface des fruits (A), des semences (B), dans les semences (C) et dans les débris végétaux (D □) et le sol (D ■). Sur les graphiques (C et D), * indique une détection de *X. c. pv. manihotis* par immunofluorescence après concentration du broyat de semence (C) ou de la suspension de sol (D).
 — — — seuil minimal de détection de bactéries par la méthodes de numération de colonies sur milieu gélosé (10^2 u.f.c./ organe pour A,B et C et 10^4 u.f.c./g de débris ou de sol pour D).

II . 2 . 2 . Survie sur les organes aériens d'autres plantes

Dans les plantations de manioc affectées par la maladie, nous avons mis en évidence la présence de *X. c. pv. manihotis* au sein de la microflore épiphyllée d'une plante cultivée (*Manihot glaziovii* Mueller von Argau), sur laquelle il développe aussi une phase parasitaire et aussi à la surface de quelques plantes adventices : *Celosia trigyna* L. (Amaranthacées), *Eupatorium odoratum* L. (Composées), *Fimbristylis hispidula* (Vahl.) Kunth. (Cypéracées), *Mariscus sumatrensis* (Retz) Raynal (Cypéracées), *Phyllanthus amarus* Schum, & Tonn, (Euphorbiacées) et *Hymenocardia acida* Tul. (Euphorbiacées) .

Le caractère épisodique des analyses faites sur ces plantes ne nous permet pas de préjuger de leur rôle dans la survie du pathogène en saison sèche . D'après les travaux de ELANGO & *al.*(1981a) réalisés en Colombie, certaines Amaranthacées et Composées pourraient, en saison sèche, jouer le rôle de "plante réservoir" et favoriser en saison des pluies, la contamination des plants de manioc qui sont dans leur voisinage .

II . 2 . 3 . Survie dans les tissus de la plante -hôte

L'utilisation de la technique classique d'isolement sur milieu gélosé et de la détection par la technique d'immunofluorescence indirecte permettent de mettre en évidence la présence du parasite dans les tissus de l'hôte, non seulement pendant la phase parasitaire (saison des pluies), mais aussi pendant la phase d'arrêt de l'expression de la maladie (saison sèche) .

Tout au long de la saison sèche, les isollements montrent que la bactérie se conserve dans le système vasculaire de la tige, dans les coussinets pétioinaires, à la surface et dans les tissus morts des rameaux desséchés et dans les chancres .(Tableau 7) .

L'analyse, par fragment, de plants entiers de manioc permet de constater que, pendant la saison sèche, la bactérie est présente de manière discontinue dans les tiges et ce à tous les niveaux des tiges aériennes et même dans les tiges souterraines et dans les tubercules (Fig. 6) . Dans un plant contaminé, les parties apparemment saines peuvent aussi héberger la bactérie, ce

Tableau 7 . Mise en évidence de *X.c .pv. manihotis* dans les tissus de manioc à la fin de la saison sèche

		Nombre des isolements	% Isolement positif
Tiges	tissus vivants	170	66,5
	tissus morts	70	28,6
Chancres	surface	100	18
	interne	100	25
Coussinets pétiolaires		200	28,5

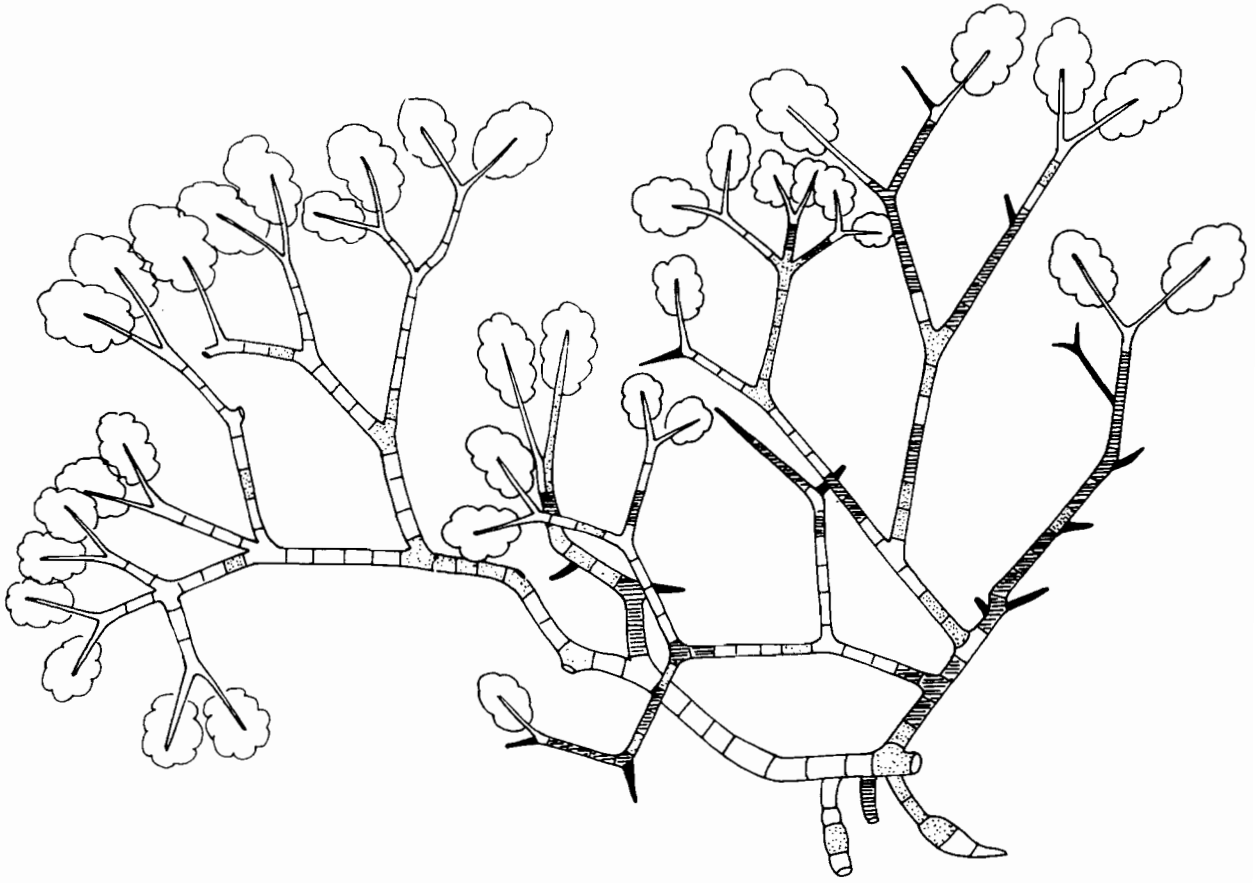


Figure 6 : Répartition, en fin de saison sèche, de *X. c. pv. manihotis* dans les tissus d'un plant de manioc du cultivar Nganfouo . La détection de *X. c. pv. manihotis* est réalisée, par la méthode d'immunofluorescence indirecte, sur le broyat de fractions de tige de 10 cm de longueur.

-  forte contamination par *X. c. pv. manihotis*
-  faible contamination par *X. c. pv. manihotis*
-  absence de contamination par *X. c. pv. manihotis*
-  rameau desséchés par l'action de *X. c. pv. manihotis*

qui a été aussi observé par IKOTUN (1981) .

Dans les tiges, l'étude fine de la localisation des bactéries dans les tissus aoûtés, est réalisée après inclusion à la paraffine, coupes sérielles et traitement en immunofluorescence indirecte . Il ressort de nos observations que, dans les tissus macroscopiquement sains, la bactérie est présente dans les gros éléments réticulés du xylème, sous forme d'agrégats de corps bactériens noyés dans un mucus légèrement fluorescent (Planche 3b, Photo 5) . Dans les portions de tige présentant un brunissement du système vasculaire, *X. c. pv. manihotis* est détecté dans des poches de lyse qui s'étendent aux autres tissus du bois, au parenchyme cortical et même à la moelle .

II . 2 . 4 . Survie dans la semence

Pendant toute la saison des pluies, des populations importantes du parasite sont présentes sur les fruits (Fig . 5 - A) et sur les graines (Fig . 5 - B) . Après une désinfection de surface et élimination du tégument externe, la contamination interne de la semence par *X. c. pv. manihotis* a pu être démontrée par l'isolement de la bactérie à partir du broyat des tissus (Fig. 5 -C) . L'emploi de la technique de concentration des broyats de graines décrite au paragraphe I.4.2, associée à la détection par immunofluorescence (I.F.), améliore le seuil de détection du parasite ($< 10^2$ U.F.C./ graine) et permet d'augmenter la fréquence de détection de *X. c. pv. manihotis* dans la semence (Fig. 5 - C, I.F.détection) . Les analyses hebdomadaires suggèrent que cette contamination de la semence s'effectue tout au long du cycle cultural . Cependant, il faut noter que la quantité de bactéries détectée dans les graines est faible ; généralement moins de 10^2 bactéries/graine .

L'observation de coupes sérielles de graines naturellement contaminées, traitées selon la méthode de l'immunofluorescence indirecte, indique que l'agent pathogène est présent dans la plupart des tissus avec une fréquence plus grande au niveau de la caroncule et dans les téguments internes richement vascularisés .

II . 2 . 5 . Survie dans les débris végétaux

Chez le manioc, plante pérenne, les feuilles tombent au sol régulièrement .Une fois au sol, elles peuvent se conserver pendant plusieurs mois . La recherche du parasite dans les débris montre que la bactérie y persiste en abondance pendant toute la saison des pluies et le début de la saison sèche (Fig 5 - D) . Ensuite, quand la saison sèche est installée, la présence de *X. c. pv. manihotis* est irrégulière et il est en général moins abondant . Un seuil de détection sur milieu LPGa (10^4 U.F.C./ml) à cause de la richesse de la microflore d'accompagnement, pourrait expliquer ces absences de détection . La mise en évidence du parasite par la technique d'immunofluorescence lorsque la détection sur LPGa est négative confortent cette hypothèse .

L'agent pathogène se conserve dans les débris, en l'absence de symptômes, de Juin jusqu'à la mi-Novembre (apparition des nouveaux symptômes) . Au cours de cette période, le taux de contamination des débris reste élevé malgré d'importantes fluctuations (Fig . 5.- D) .

Au laboratoire, on a montré que des échantillons de débris fortement contaminés, maintenus à la température de 25°C et à 70 P.100 d'humidité, peuvent héberger la bactérie pendant plus d'un an, qui conserve son pouvoir pathogène .

II . 2 . 6 . Survie dans le sol

Dans les échantillons de sol (exempts de débris végétaux), qui sont prélevés hebdomadairement , par l'application de la technique de BOLHOOL & SCHMIDT (1970), on ne détecte que rarement l'agent pathogène (6 fois sur une période d'analyse de 17 mois) (Fig. 5 D) . Ce résultat suggère que le sol n'est pas le site privilégié pour la survie de *X. c. pv. manihotis* . Cependant, il est nécessaire de préciser que le seuil de nos méthodes de détection est élevé (10^4 U.F.C. / g de sol) . On ne peut donc exclure, que le pathogène puisse se maintenir dans le sol à des niveaux de population faible et jouer un rôle comme source d'inoculum .

II . 2 . 7 . Survie en association avec les insectes de l'entomofaune du manioc

Les analyses de lots d'insectes (Tableau 8), provenant de l'entomofaune du manioc, ont permis de recenser 6 espèces chez lesquelles on a pu mettre en évidence la présence externe et interne de *X. c. pv. manihotis* .

Parmi ces insectes, 4 sont de type broyeur: *Chrysolagria cuprina* Thomson, *Gonocephalum simplex* Fab., *Ischnothrachelus* sp. Thomson, *Zonocerus variegatus* L. et 2 du type piqueur : *Pseudotheraptus devastans* Distant et un héétéoptère qui n'a pu être identifié .

Chez tous ces insectes, la bactérie est détectée préférentiellement Les bactéries présentes sur ou dans les insectes sont viables et gardent leur pouvoir pathogène . Dans le cas du criquet, *Zonocerus variegatus*, le parasite suit le transit complet dans le tractus intestinal et se retrouve dans les fécès . Dans les plantations contaminées, la récolte de fécès de *Z. variegatus* montre que l'agent pathogène est souvent présent dans les déjections de cet insecte .Des essais préliminaires sur la conservation de *X. c. pv. manihotis* dans les fécès, nous donnent une survie de 2 mois environ dans les conditions du laboratoire (25°C, 70 p. 100 d'humidité)

C'est en saison des pluies, période où s'effectue la dissémination de la maladie, que l'on recense le plus grand nombre d'insectes porteurs de la bactérie . Au coeur de la saison sèche, période où l'on observe pas de lésions foliaires, le parasite est détecté chez le criquet *Z. variegatus* . Ce résultat suggère que *X. c. pv. manihotis* pourrait survivre et même se multiplier dans le tractus intestinal de cet insecte, lequel contribuerait indirectement à la conservation de l'inoculum .

Tableau 8 : Fréquences de mise en évidence de *X. c. pv. manihotis* à la surface (lavage) ou à l'intérieur (broyage) d'insectes capturés dans les champs de manioc dans les régions d'Odziba et de Brazzaville .

IF : analyse par la technique d'immunofluorescence indirecte .

IS : Analyse par isolement sur milieu L.P.G.A.

Insectes	Nombre total d'insectes analysés	Nombre d'insectes portant le <i>X. c. pv. manihotis</i>			
		Lavage		Broyage après désinfection de surface	
		IF	IS	IF	IS
Chrysolagria cuprina Thomson	105	11	1	41	23
Gonocephalum simplex Fab	12	0	0	7	4
Ischnotrachelus sp. Thomson	297	21	5	137	54
Zonocerus variegatus Lin.	100	7	5	63	28
Hétéroptère indéterminé	77	-	-	29	0
Pseudotheraptus devastans Distant	72	0	0	4	2

II . 3 . DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Dans les plantations où la bactériose est présente, l'étude de la microflore de la phyllosphère de cultivars de manioc résistants et sensibles révèle que *X. c. pv. manihotis* est présent sur tous les organes aériens du manioc (apex, premières feuilles dépliées, feuilles matures, les fleurs et les fruits) . Cependant, le support préférentiel de la colonisation pour *X. c. pv. manihotis* semble être la feuille mature à partir du niveau 3 .

Les observations en microscopie en épifluorescence et électronique permettent de donner une image *in situ* de la distribution spatiale de *X. c. pv. manihotis* au niveau de la surface de la feuille . La localisation préférentielle du parasite, sous forme de micro-colonies à la face inférieure des feuilles, suggère que cette face constitue le site privilégié pour le développement épiphyllé du parasite . De par sa structure (cellules de l'épiderme digitées, nombreux stomates, réseau de nervures dense et diversifié) (Fig.7), la face inférieure doit constituer la niche écologique où les conditions microclimatiques sont favorables à la survie et à la multiplication des bactéries . La quasi-absence des bactéries de la surface supérieure des feuilles pourrait s'expliquer par le lessivage par les pluies, l'action des rayonnements ultraviolets solaires et par une humidité relative plus faible .

La présence d'amas bactériens au niveau des cellules de garde des stomates et de l'ostiole est observée, illustrant la pénétration du parasite par cette entrée naturelle (Planche 6) qui, associée à une multiplication dans la chambre sous-stomatiques constituerait, la 2^{ème} étape du processus infectieux (la colonisation interne des tissus) . La présence d'un nombre important de microlésions au niveau de la cuticule de la feuille suggère qu'elles doivent constituer des sites de pénétration et d'infection pour le parasite . Nos observations peuvent être mises en parallèle avec les travaux réalisés avec d'autres *Xanthomonas* (MILES et *al.*, 1977 ; DU PLESSIS, 1984 ; MEW et *al.*, 1984 ; TAKAHASHI & DOKE, 1984 et 1985 ; GOTO & HYODO, 1985 ; PRUVOST & GARDAN, 1988) qui décrivent aussi une localisation préférentielle des bactéries à la face inférieure des feuilles sous forme d'amas bactériens . Le regroupement des bactéries en amas associés à une structure fibrillaire s'observe chez d'autres couples bactérie-hôte et pour des tissus physiologiquement différent (MATTHYSSE & *al.*, 1981 et MATTHYSSE 1983a ;

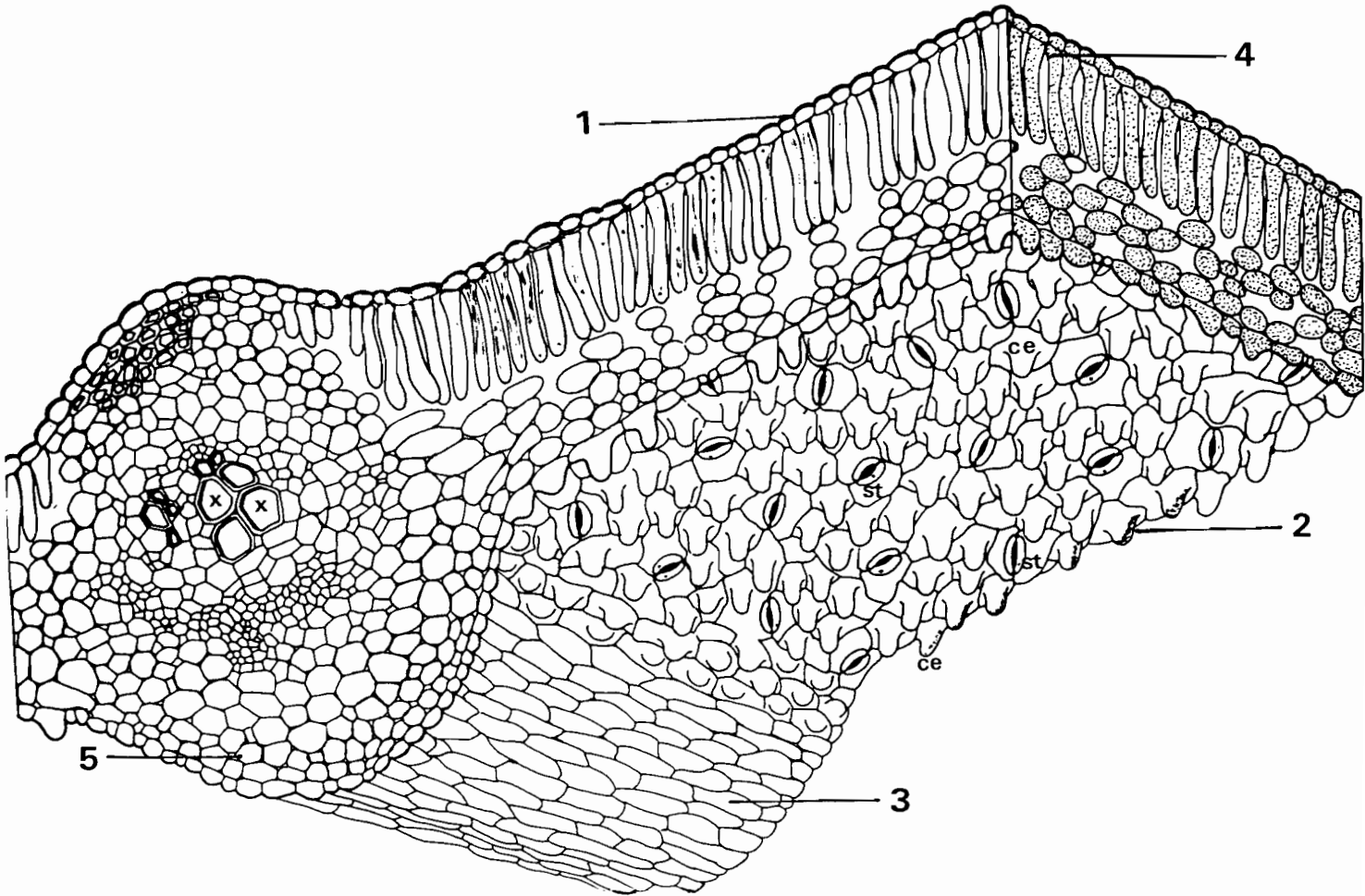


Figure 7 : Schéma de la structure en coupe d'une feuille de manioc au niveau d'une nervure (B. BOHER).

1 = Face supérieure (cuticule épaisse, stomates peu nombreux), 2 = Face inférieure (cuticule mince, stomates nombreux (st), cellules de l'épiderme (ce) à aspect digitée, 3 = Face inférieure au niveau de la nervure (cuticule épaisse, pas de stomates), 4 = collenchyme (tissu de soutien), X = xylème .

ROOS & HATTINGH, 1983) .

Ces résultats confirment nos précédents travaux (DANIEL & BOHER, 1978) et ceux de PERSLEY (1978) . La vie épiphyllle a été prouvée chez d'autres *Xanthomonas* par exemple : *X. c. pv. malvacearum* (CHOWDHURY, & al., 1981), *X. c. pv. phaseoli* (CAFATI & SAETTLER, 1980 a et b), *X. c. pv. oryzae* (THRI MURTY & DEVADATH, 1981), *X. c. pv. juglandis* (MULREAN & SCHROTH, 1982 ; PRUVOST & GARDAN, 1988), *X. c. pv. vesicatoria* (LEBEN, 1963) .

Dans les plantations exemptes de maladie, l'absence de *X. c. pv. manihotis* sur le phylloplan des plants de manioc démontrent que cette bactérie n'est pas un composant normal de la microflore de la phyllosphère du manioc . D'un point de vue épidémiologique, l'agent pathogène : *X. c. pv. manihotis* n'a pas de vie épiphyllle au sens de LEBEN (1965), mais il possède au cours de son cycle une phase épiphyllle résidente . Cette activité épiphyllle de l'agent pathogène doit être relayée par une phase parasitaire (saison des pluies) . Cette phase épiphyllle est une étape normale du cycle biologique de la bactériose vasculaire .

Le fait de détecter des populations épiphyllles de *X. c. pv. manihotis* à des niveaux relativement importants (Tableau 5) sur des cultivars tolérants et résistants indique, pour les cultivars étudiés , que la résistance ne semble pas liée à l'inhibition de la phase épiphyllle du parasite . La capacité d'un cultivar "résistant" de supporter, au niveau de son phylloplan, des populations épiphyllles de *X. c. pv. manihotis* en l'absence de symptômes démontre que ces cultivars peuvent constituer des sources potentielles d'inoculum . La présence de populations épiphyllles de pathogène sur des cultivars "résistants" a été démontrée chez d'autres *Xanthomonas*: par exemple, *X. c. pv. phaseoli* (CAFATI & SEATTLER, 1980), *X. c. pv. malvacearum* (CHOWDHURY, & al., 1981) .

Nos données suggèrent que l'activité épiphyllle du parasite est sporadique, puisque pendant la dernière partie de la saison sèche, il n'est pas possible de détecter le pathogène au niveau du phylloplan . Cependant, si l'on tient compte de la sensibilité des méthodes de détection utilisées (10^2 - 10^3 u.f.c./organe), on ne peut exclure que le pathogène soit présent jusqu'à la fin de la saison sèche à des niveaux de population qui ne sont pas révélés par les méthodes utilisées. L'utilisation de méthodes plus sensibles (anticorps monoclonaux, sondes moléculaires) permettrait d'interpréter la disparition temporaire du parasite et d'expliquer, pour une part, l'origine des populations épiphyllles de *X. c. pv. manihotis* détectées quelques semaines avant

l'apparition des premiers symptômes .

En saison des pluies, dès que les lésions (taches anguleuses, nécroses sur tiges) sont apparues, elles produisent de l'inoculum qui, disséminé (pluies, vents, insectes) favorise la contamination de la canopée des plants . Ce phénomène, associé à la capacité de croissance épiphyllle du germe, permet d'expliquer le niveau élevé des populations de l'agent pathogène sur le phylloplan en saison des pluies . Au cours de cette période, la phase parasitaire et la phase épiphyllle de l'agent pathogène interviennent simultanément .

En saison sèche, période où les symptômes de la maladie ne s'expriment pas, l' agent pathogène se maintient au sein de la phyllosphère à des niveaux faibles voire non détectables . C'est ce que nous appelons la phase de survie épiphyllle .

La phase épiphyllle de *X. c. pv. manihotis* a d'importantes implications dans l'épidémiologie de la bactériose vasculaire . Au niveau des organes aériens, en particulier des feuilles, elle permet la constitution de l'inoculum (multiplication épiphyllle) nécessaire à l'apparition des symptômes (saison des pluies) et elle participe au maintien du parasite en saison sèche (phase de survie) ..

Dans nos conditions expérimentales, il n'a pas été possible d'établir une relation précise entre les variations des populations bactériennes et les facteurs environnementaux . Cependant, de nombreux auteurs ont souligné l'importance des facteurs climatiques sur le développement des populations bactériennes épiphyllles (BROWN, 1942 ; CROSSE, 1963 ; LEBEN, 1965, 1967, 1981 ; LUISETTI & PAULIN, 1972 ; SCHROTH & *al.*, 1974 ; HIRANO & UPPER 1983 ; LINDEMANN & *al.*, 1984 a et b ; PAULIN, 1984 ; O'BRIEN & LINDOW, 1989) et leur l'impact sur l'expression de la maladie. Généralement, la croissance épiphyllle des bactéries phytopathogènes est favorisée par une forte hygrométrie et des températures élevées (LEBEN, 1967 ; MULREAN & SCHROTH, 1982 ; RAMOS, 1979 ; SURICO & *al.*, 1981) . Ces conditions, qui prévalent en saison des pluies permettent d'expliquer l'important développement des populations épiphyllles du parasite qu'on observe durant cette période . Conjointement, l'action mécanique du vent et des pluies assure la dispersion de ces populations au sein de la canopée et de plant à plant (BROWN, 1942 ; WALKER & PATEL, 1964 ; LOZANO & SEQUEIRA, 1974b ; KUAN & *al.* ; 1982 ; SMITLEY & *al.* , 1982) . Ces paramètres environnementaux, qui favorisent l'installation du parasite dans les plantations, et augmentent la fréquence des infections (blessures du limbe des feuilles) permettent d'expliquer

l'apparition soudaine de la maladie et son extension rapide dans des plantations où aucun symptôme n'était visible auparavant .

Nos observations ponctuelles révélant la présence de l'agent pathogène à la surface de plantes non-hôte ne nous permettent pas de préjuger du rôle de ces plantes adventices comme source d'inoculum . Cependant, certains travaux montrent que des plantes adventices présentes dans les plantations de manioc peuvent héberger le parasite et constituer un réservoir d'inoculum (DEDAL & *al.*, 1980 ; ELANGO & LOZANO, 1981 ; IKOTUN, 1981) .

La présence du parasite dans les tissus de l'hôte tout au long de la saison sèche est un point capital du cycle biologique de la maladie . En effet, avec la reprise de la végétation (dans nos conditions, à la fin du mois d'août, avant l'apparition des pluies), les plants émettent au niveau des tiges, à la limite des tissus morts et des tissus sains, des rejets herbacés qui ne tardent pas à présenter des micro-lésions induites par les populations de parasite présentes dans le système vasculaire des tiges . Ces lésions produisent un inoculum sous forme de bactérioglées qui, disséminé par l'eau de pluies et les insectes, favorise la recontamination du phylloplan . Cet apport de bactéries sur le phylloplan à partir des populations endophytes, associé à la capacité de multiplication épiphyllle de l'agent pathogène, permet l'installation des populations de *X. c. pv. manihotis* nécessaires à la réapparition des symptômes .

Ce phénomène est aussi observé dans les jeunes plantations (1 à 2 mois) où des boutures provenant de tiges contaminées sont utilisées . Dans le cas de boutures, on note souvent une latence (1 à 6 mois) dans l'expression des symptômes (BOHER & DANIEL, 1982). Nos observations suggèrent que les tissus infectés de l'hôte constituent le site privilégié de conservation du parasite et la source principale de bactéries à l'origine des populations épiphyllles présentes sur le phylloplan . Au moment du démarrage de la végétation, les causes de la réactivation des populations endophytes et de la migration de la bactérie des tissus lignifiés vers les jeunes repousses sont inconnues (DU PLESSIS, 1987) . De même le mécanisme qui permet le déplacement des bactéries endophytes de leurs sites de conservation (système vasculaire des tiges, coussinets pétiolaires, chancres) vers les jeunes tissus en phase de croissance n'est pas connu .

La multiplication du manioc se faisant par voie végétative (boutures), la conservation du parasite dans les tissus de l'hôte et son activation au moment du démarrage de la végétation expliquent l'apparition de la maladie dans les nouvelles plantations et, notamment, dans les

zones indemnes où elle est introduite par des boutures contaminées . Ces observations confirment les travaux de LOZANO & SEQUEIRA (1974 b) qui considèrent que la transmission de la maladie par la bouture est le principal mode de dispersion de la maladie (LOZANO, 1986).

La recherche du parasite dans des plants entiers, et notamment dans les tiges destinées à la production de boutures, montre que la bactérie se distribue dans toute la plante et ce de manière discontinue (Fig. 6) . Aussi, une méthode de tri sanitaire des boutures basée sur l'aspect macroscopiquement sain et/ou par des analyses au laboratoire (isolement, détection par immunofluorescence) n'est pas fiable (BOHER & DANIEL, 1982) . La production de plants sains ne peut s'envisager qu'en utilisant, soit un traitement des boutures aux micro-ondes (LOZANO & al. 1986), soit la culture *in vitro* (méristèmes, micro-boutures) en association avec des contrôles bactériologiques (isolement, sérologie) .

Les débris végétaux présents sur le sol, pendant toute la saison sèche, assurent la conservation de populations bactériennes importantes, mais uniquement dans les plantations fortement contaminées . En effet, des observations faites hors du cadre de cette étude (RAY, 1979) indiquent que la conservation de l'agent pathogène dans les débris pendant la saison sèche ne s'effectue pas toujours sous forme de populations élevées, comme l'indique notre étude (Fig. 5-D) .

La conservation de *X. c. pv. manihotis* dans les débris végétaux est fonction du taux de contamination des feuilles qui sont tombées et aussi de la persistance des symptômes foliaires au cours de la période de transition entre la saison des pluies et la saison sèche . Les conditions de faible humidité semblent favorables à la survie du parasite dans les débris végétaux (PERSLEY, 1978) .

Si les débris végétaux participent à la conservation du pathogène au cours de la saison sèche, compte tenu des pratiques culturelles traditionnelles (changement de plantation après chaque cycle de culture), l'impact de ce mode de survie dans le maintien de la maladie dans une zone est négligeable .

Le sol exempt de débris végétaux ne semble pas constituer pas le site privilégié de la conservation de *X. c. pv. manihotis* (FIG. 5D), ce qui classe ce germe dans le groupe I de la classification de BUDDENHAGEN (1965) . Comme dans le cas de *X. c. pv. citri* (GRAHAM & Mc GUIRE), *X. c. pv. manihotis* peut se maintenir dans le sol à condition d'être en association avec des débris végétaux contaminés où sa survie est importante (Fig. 5D) .

Cependant, compte tenu de la faible sensibilité de nos techniques de détection (10^4 U.F.C. / gramme de sol), il demeure possible que le pathogène puisse se conserver à des niveaux inférieur à ce seuil . Dans ces conditions, le sol pourrait jouer un rôle comme source d'inoculum, notamment, dans les plantations industrielles où l'on pratique plusieurs cycles culturaux sur le même sol (IKOTUN, 1976 et 1982 ; LOZANO , 1986) .

Il en est de même pour la conservation de l'agent pathogène dans la graine, qui n'est pas utilisée par l'agriculteur . Cependant, ce mode de conservation de la bactérie impose, comme dans le cas d'autres *Xanthomonas* spp.transmissibles par la graine, que des mesures soient prises pour éviter l'échange de semence dans le cadre des programmes d'amélioration variétale . Sur le plan des échanges internationaux, la généralisation de la technique de culture *in vitro* . devrait permettre d'éliminer ce risque (SMITH & *al.*, 1986) .

La présence de fortes populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* (10^5 - 10^7 bactéries par organe) à la surface des inflorescences et des fleurs femelles laisse supposer qu'elles sont à l'origine de la contamination des fruits et des graines . La présence de la bactérie dans les tissus du péricarpe laisse supposer une pénétration du parasite en cours de maturation et ou une contamination par le système vasculaire . Cette dernière hypothèse, nous est suggérée par la localisation préférentielle de l'agent pathogène dans les vaisseaux du tégument interne de la graine . La contamination pourrait aussi s'effectuer pendant la fécondation des fleurs femelles par l'intermédiaire des grains de pollen qui peuvent héberger la bactérie en surface (ELANGO & *al.*, 1980) .

Ces observations sont à mettre en parallèle avec les études réalisées sur le feu bactérien où la contamination des fleurs joue un rôle important dans le cycle de la maladie (THOMSON, 1986 ; HILDEBRAND et *al.*, 1935) . La présence de *X. c. pv. manihotis* dans la semence est une caractéristique de nombreuses autres bactéries appartenant au genre *Xanthomonas* , comme *X. c. pv. malvacearum* (BRINKERHOFF & HUNTER, 1963), *X. c. pv. oryzae* (KAUFMAN & REDDY, 1975), *X. c. pv. campestris* (SCHAAD & KENDRICK, 1975), *X. c. pv. phaseoli* (SEATTLER & PERRY, 1972) . Dans les conditions agro-écologiques du CONGO, les cultivars les plus répandus ne fleurissant pas, la contamination par les organes floraux ne joue pas un rôle essentiel au cours du cycle de la maladie .

L'association insectes-bactérie dans le cas de la bactériose vasculaire, comme dans celui

d'autres affections bactériennes (HARRISON & *al.*, 1980 ; KAISER & *al.*, 1978 ; KEITH & *al.*, 1941 ; LEACH, 1964; MILLER & *al.*, 1972) joue un rôle dans la dissémination de la maladie .

Les études préliminaires de l'entomofaune du manioc indiquent que les insectes étudiés sont abondants en saison des pluies . Au cours de cette période, ils peuvent disséminer l'inoculum présent au niveau des lésions d'un plant à un autre, soit par contact passif soit par blessures dans le cas d'insectes broyeurs ou piqueurs (*Z. variegatus*, *P. devastans*) . Dans le cas de la bactériose vasculaire du manioc, la relation bactérie-insectes n'est pas de type obligatoire (HARRISON & *al.*, 1980) . D'autre part, pour les insectes recensés, la dispersion ne peut être envisagée que sur de courtes distances à l'exception du criquet *Z. varieagatus* (DANIEL & *al.*, 1980) .

En saison sèche, la présence de la bactérie chez *Z. variegatus* suggère que cet insecte pourrait aussi jouer un rôle dans la conservation du pathogène . Pour appréhender le rôle exact des insectes dans le cycle biologique de la maladie, des études complémentaires sont nécessaires dans le domaine de la dynamique des populations d'insectes et des études sur la vection (dissémination et transmission) de la maladie (KAISER & *al.*, 1978) .

La dynamique des populations de *X. c. pv. manihotis* au niveau du phylloplan du manioc et l'étude de ses modes de survie montre que l'agent pathogène est en situation défavorable sur le phylloplan en saison sèche et que les tissus de l'hôte constitue alors le site privilégié de survie . Cette période du cycle biologique de la maladie est importante, car elle permet le maintien du parasite dans la plantation et qu'elle constitue la phase où l'on pourrait envisager d'appliquer une méthode de lutte visant à éliminer ou du moins à réduire l'inoculum nécessaire au déclenchement du processus infectieux . Sur un plan pratique, le succès d'une telle méthode sera limitée du fait de la présence interne de la bactérie dans les tissus de l'hôte et par le système de culture auquel on s'adresse qui est essentiellement de type traditionnel .

Globalement, la conservation de la bactérie dans le système vasculaire de l'hôte associée à sa capacité de multiplication épiphyllé permet :

- d'expliquer le maintien du parasite dans une plantation d'une saison des pluies à une autre,
- d'expliquer le caractère endémique de la maladie dans une zone
- d'interpréter son apparition brutale dans une région où la maladie est absente,

par l'introduction de boutures contaminées .

Sur la base de l'ensemble de nos résultats, le cycle de *X. c. pv. manihotis* (Fig 8) se caractérise par l'alternance de deux phases:

- une phase parasitaire en saison des pluies :

- . production de l'inoculum primaire à partir des populations endophylles présentes dans les tissus de l'hôte ;
- . multiplication épiphyllle de la bactérie sur les organes aériens conduisant à la formation de l'inoculum nécessaire au déclenchement du processus infectieux ;
- . pénétration et multiplication du parasite dans les tissus de l'hôte ;
- . dissémination de la bactérie et contamination de nouveaux organes .

- une phase de survie en saison sèche :

- . arrêt du processus infectieux
- . maintien du parasite dans les tissus de l'hôte (tiges), les débris végétaux, et sous forme de populations épiphyllles sur les feuilles .

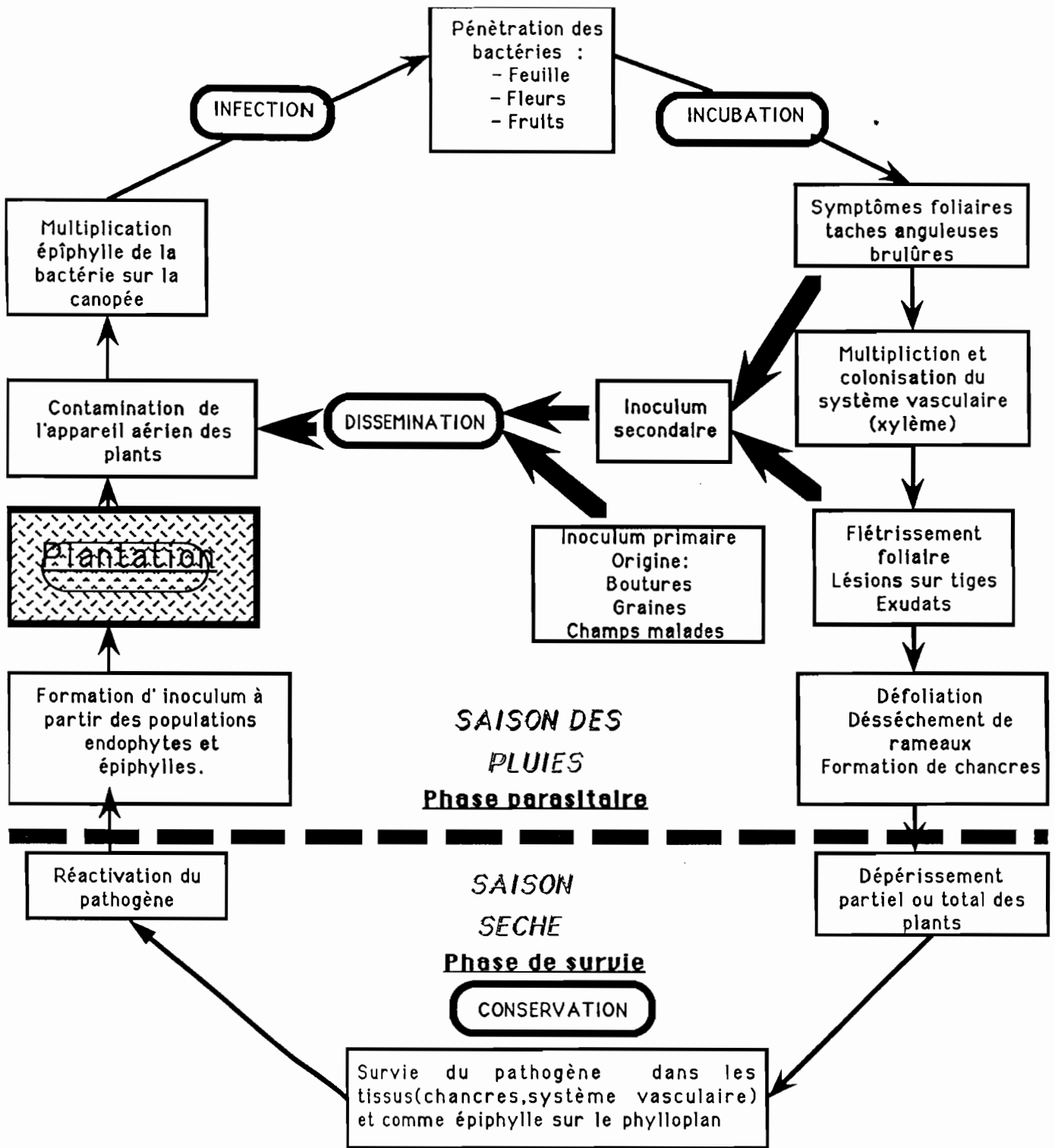


Figure 8 : Cycle biologique de *X. c. pv. manihoti* agent responsable de la bactériose vasculaire du manioc .

CHAPITRE III

**Etude de la dynamique des populations
épiphylls sur les feuilles en fonction
du niveau de résistance de l'hôte**

CHAPITRE III

Etude de la dynamique des populations de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles en fonction du niveau de résistance de l'hôte

La mise en évidence d'une phase épiphyllé chez *X. c. pv. manihotis* dans son cycle biologique sur manioc et la confirmation de son rôle clé dans l'initiation de l'infection et le développement de la maladie , nous amènent à considérer l'impact de la résistance de l'hôte sur cette phase épiphyllé . Nous avons noté dans le chapitre précédent qu'on peut détecter, au niveau du phylloplan de cultivars tolérants et résistants, des populations importantes de *X. c. pv. manihotis*. (Tableau 6) .

Dans ce chapitre, nous comparerons :

- le niveau des populations épiphyllés naturellement présentes sur les cultivars sensibles (Mpembé et Maloenda) et tolérants (MB27 et MB 38) dans les conditions du champ .
- le niveau des populations présentes sur et dans les feuilles d'un cultivar sensible (Mpembé), de 2 cultivars tolérants (MB27, MB38) et d'un cultivar résistant (TMS 30 555), suite à l'inoculation des plants âgés de 2 mois avec l'isolat 104-2 .

III . 1 . Dynamique des populations de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles de cultivars sensibles et résistants dans les conditions de plein champ .

Les variations des niveaux des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles des différents cultivars sensibles (Mpembé et Maloenda) et tolérants (MB27 et MB38) sont indiqués sur la Figure 9 . Les populations bactériennes présentent une phase de multiplication épiphyll de Janvier à Mars, puis se stabilisent en présentant de légères fluctuations et enfin diminuent brutalement avec l'arrivée de la saison sèche à la fin du mois d'Avril .

Pour l'ensemble des cultivars, les niveaux de population détectés au début des analyses varient de 1×10^4 à 7×10^4 U.F.C. par feuille, puis ils augmentent de manière analogue pour atteindre à la mi-Février, un effectif de 2×10^5 à 3×10^6 U.F.C. par feuille . Dans le cas des variétés sensibles, l'augmentation des populations présentes sur les feuilles se poursuit pour atteindre des niveaux de 5×10^6 à 5×10^7 U.F.C. par feuille à la fin du mois de Mai . Pour les cultivars tolérants (MB 27 et MB 38), on observe jusqu'à la fin du mois de Mai une stabilisation du niveau des populations autour de valeurs variant entre 3×10^5 à 1×10^6 U.F.C. par feuille . Avec le début de la saison sèche, les populations présentes sur les feuilles des différents cultivars diminuent pour atteindre des niveaux de 8×10^3 à 6×10^4 U.F.C. par feuille . Les courbes (Fig. 9) montrent que le niveau des populations épiphylls présentes sur les cultivars tolérants est toujours inférieur à celui observé sur les cultivars sensibles . Cependant, l'analyse de variance montre qu'il n'y a pas de différences significatives entre les niveaux des populations présentes sur les feuilles des différents de Janvier à Février (Fig.9, Annexe I) . Après cette période, de la mi-Février à la fin du mois de Mai, le taux de *X. c. pv. manihotis* détecté sur les feuilles des cultivars sensibles est significativement plus élevé ($P = 5 \text{ p.100}$) que celui présent sur les cultivars tolérants .

Des lésions foliaires (taches anguleuses, brûlures) sont observées chez les cultivars sensibles (Mpembé, Maloenda) à la mi-Février, quand le niveau des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* atteint approximativement 10^6 U.F.C. par feuille . Ensuite, les autres

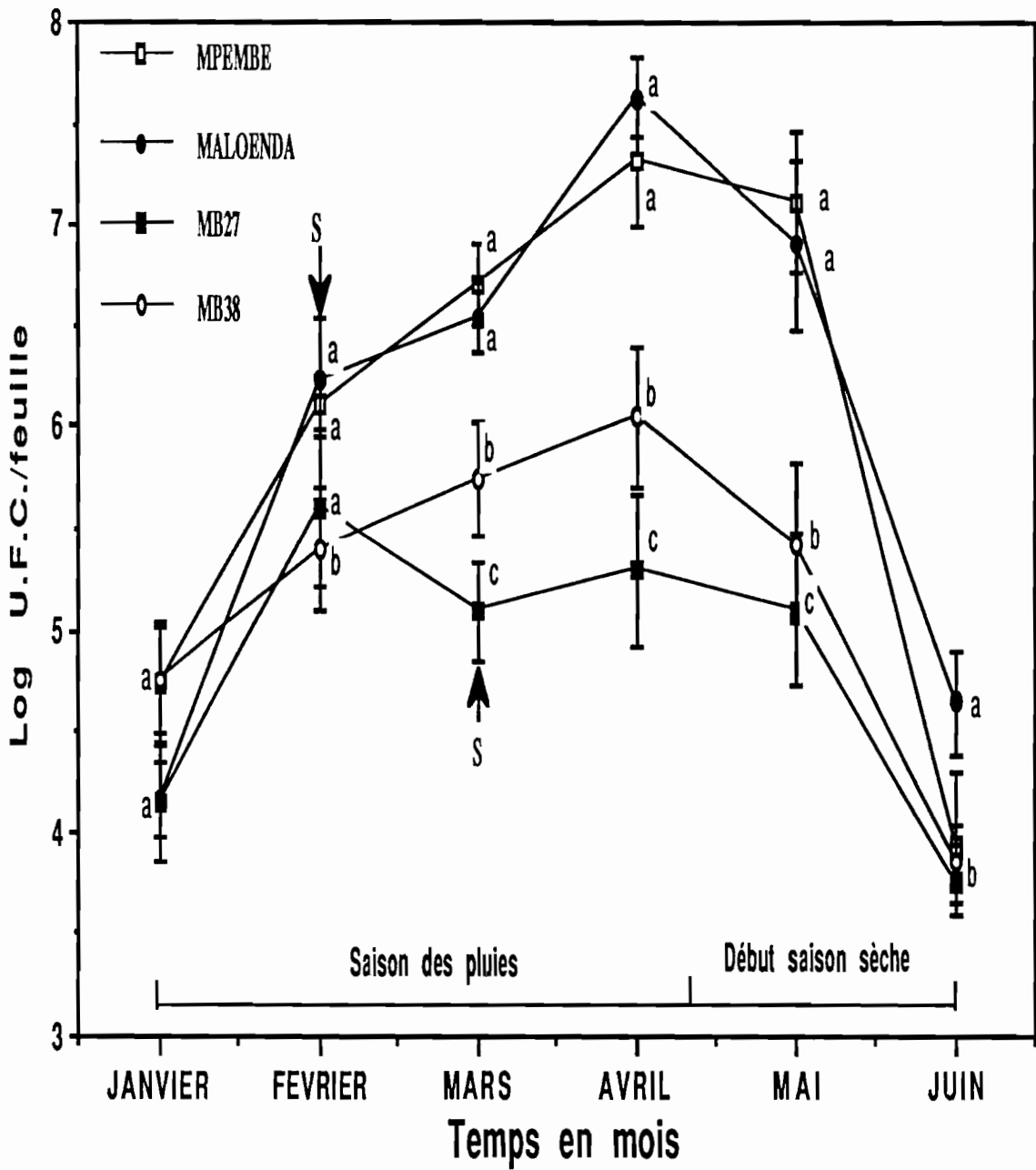


Fig 9 : Evolution des populations de *Xanthomonas campestris* pv *manihotis* sur les feuilles des cultivars Mpembé (sensible), Maloenda (sensible), MB 27 (tolérant), MB 38 (tolérant) contaminés naturellement dans les conditions du champ . Les plants sont contaminés naturellement .Les valeurs sont les moyennes de 5 répétitions . Pour chaque analyse, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (P = 5%) . L'intervalle de confiance au risque de 5% est figuré pour chaque donnée . S = symptômes

symptômes de la maladie (flétrissements foliaires, nécroses sur tiges, bactérioglyphes, défoliations des rameaux) s'expriment avec le maximum d'intensité en Mars et Avril . Chez les cultivars résistants, on note, seulement à partir de Mars, la présence sporadique de taches anguleuses et de quelques flétrissements foliaires . C'est au cours de cette période, où la maladie s'exprime avec un maximum d'intensité, que les cultivars sensibles (Mpembé et Maloenda) supportent au niveau des feuilles des populations ayant des niveaux significativement plus élevés que ceux observés dans le cas des cultivars tolérants (MB 27, MB 38) .

III . 2 . Etude de l'implantation et de la multiplication épiphyllique de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles de cultivars sensibles, tolérants et résistants .

L'évolution du niveau des populations épiphylliques de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles polluées par pulvérisation de la suspension de l'isolat 104-2 (10^8 bactéries par ml) est indiqué sur la figure 10 .

Après la contamination des plants, le nombre total moyen de bactéries par feuille est d'environ 10^4 après la contamination . Il diminue légèrement pendant le premier jour, puis on observe une multiplication des bactéries jusqu'au huitième jour pour atteindre des niveaux voisins de 10^6 U.F.C. par feuille . Cette phase, d'environ 7 jours, correspond à une phase exponentielle de multiplication avec des temps de génération de la bactérie d'environ 14 h pour le cultivar sensible (Mpembé) et de 17 h pour les cultivars tolérants (MB 27 et MB 38) et résistants (TMS 30555) . On observe ensuite, une phase stationnaire au cours de laquelle le nombre de bactéries à la surface des feuilles reste stable ou diminue légèrement .

Les courbes (Fig.10) indiquent que le niveau des populations épiphylliques de *X. c. pv. manihotis* est toujours plus élevé dans le cas du cultivar sensible Mpembé . Cependant, l'analyse de variance révèle aucune différence significative entre le cultivar sensible et les tolérants MB 27 et MB 38 (Fig. 10, Annexe II) . Dans le cas du cultivar résistant TMS 30555, après une légère multiplication jusqu'au 8^{ème} jour, la population de *X.c. pv. manihotis* diminue

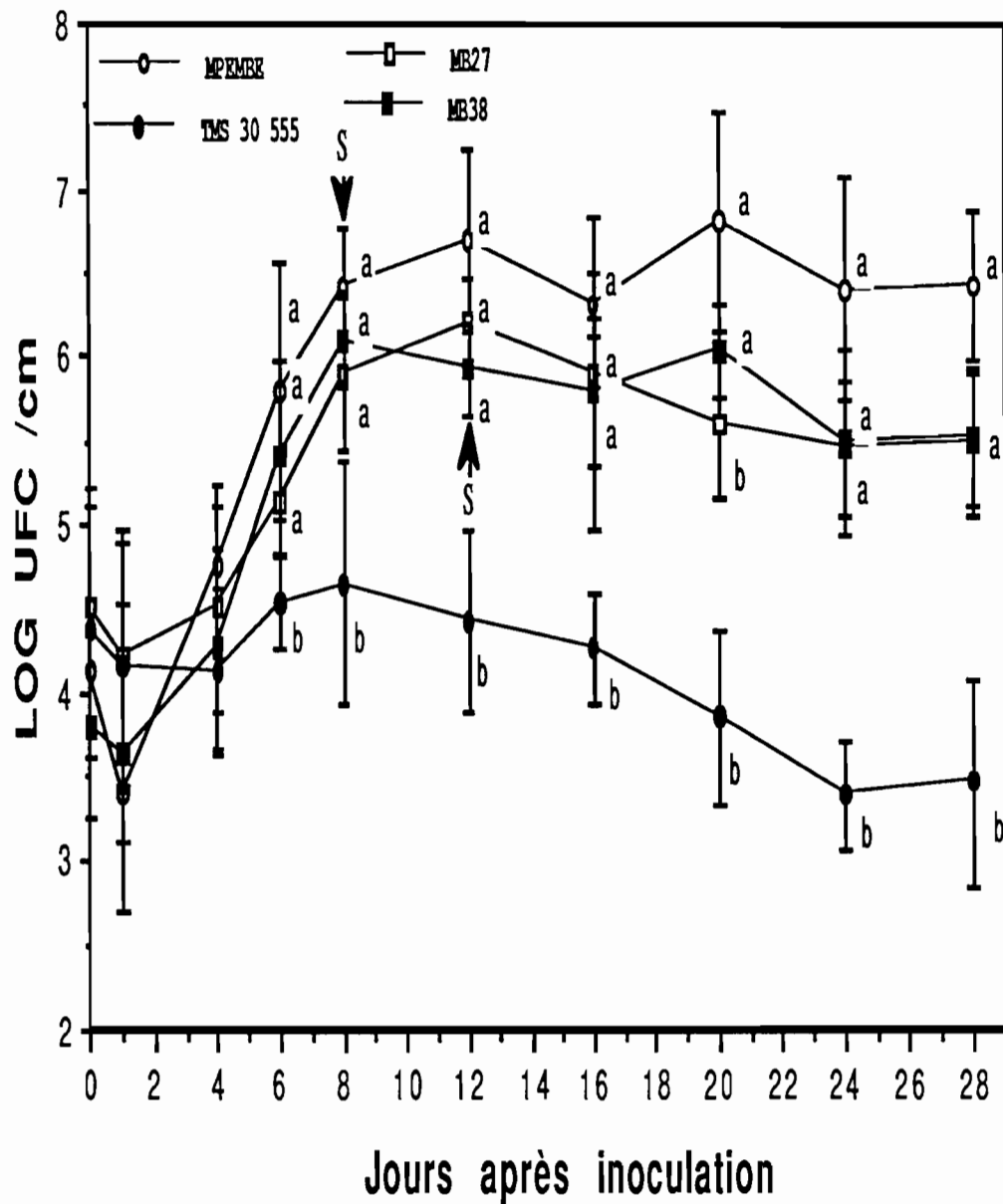


Fig 10 : Evolution des populations de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* sur les feuille des cultivars : Mpembé (sensible), MB 27 et MB 38 (tolérants) et TMS 30555 (résistant) . Les plants sont inoculés par pulvérisation d'une suspension de l'isolat 104-2 (10^8 bactéries par ml). Les valeurs sont les moyennes de 5 répétitions . Pour chaque analyse, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P = 5\%$) . L'intervalle de confiance au risque de 5% est figuré pour chaque donnée. S = symptômes .

progressivement pour se maintenir au environ de 5×10^3 U.F.C. par feuille . Pour ce cultivar, dès le 6^{ème} jour après la contamination des feuilles, le nombre de bactéries présentes sur les feuilles est significativement plus faible .

Les symptômes foliaires (taches anguleuses) apparaissent 8 jours après l'inoculation sur le cultivar Mpembé (sensible) et 14 jours après, mais de manière moins sévère, sur les cultivars MB 27 et MB 38 (tolérants) . Sur le cultivar résistant TMS 30555, les symptômes n'apparaissent qu'au niveau de certains plants et de manière sporadique .

Au travers de ces résultats on peut conclure que les symptômes n'apparaissent que lorsque le nombre de bactéries présentes sur les feuilles est voisin de 10^6 U.F.C. par feuille .

III . 3 . Etude de la multiplication de *X. c. pv. manihotis* dans les tissus foliaires de cultivars sensibles, tolérants et résistants .

L'évolution des populations de *X. c. pv. manihotis* dans les tissus foliaires du cultivar sensible (Mpembé) et des cultivars tolérants (MB 27, MB 38) et résistants (TMS 30555) est présenté sur la Figure 11 .

Pour tous les cultivars, on détecte la présence de la bactérie dans les tissus dès le 4^{ème} jours suivant la contamination des feuilles à des taux variant entre 5×10^2 et 2×10^3 U.F.C. par feuille . On observe ensuite une croissance exponentielle pendant 48 h ; les vitesses de multiplication sont similaires pour les 4 cultivars (Fig. 11) . Puis, la croissance se ralentit et les populations se stabilisent à partir du 10^{ème} jour à des niveaux différents selon les cultivars : de 5×10^7 U.F.C. par feuille pour le cultivar sensible Mpembé et de 5×10^6 UFC par feuille pour les cultivars tolérants MB 27 et MB 38 . Dans le cas du cultivar résistant TMS 30 555, le nombre de bactéries présentes dans les tissus, après avoir atteint un maximum (4×10^5 U.F.C. par feuille) au 8^{ème} jour, diminue régulièrement pour n'être plus que de 2×10^4 U.F.C. par feuille au

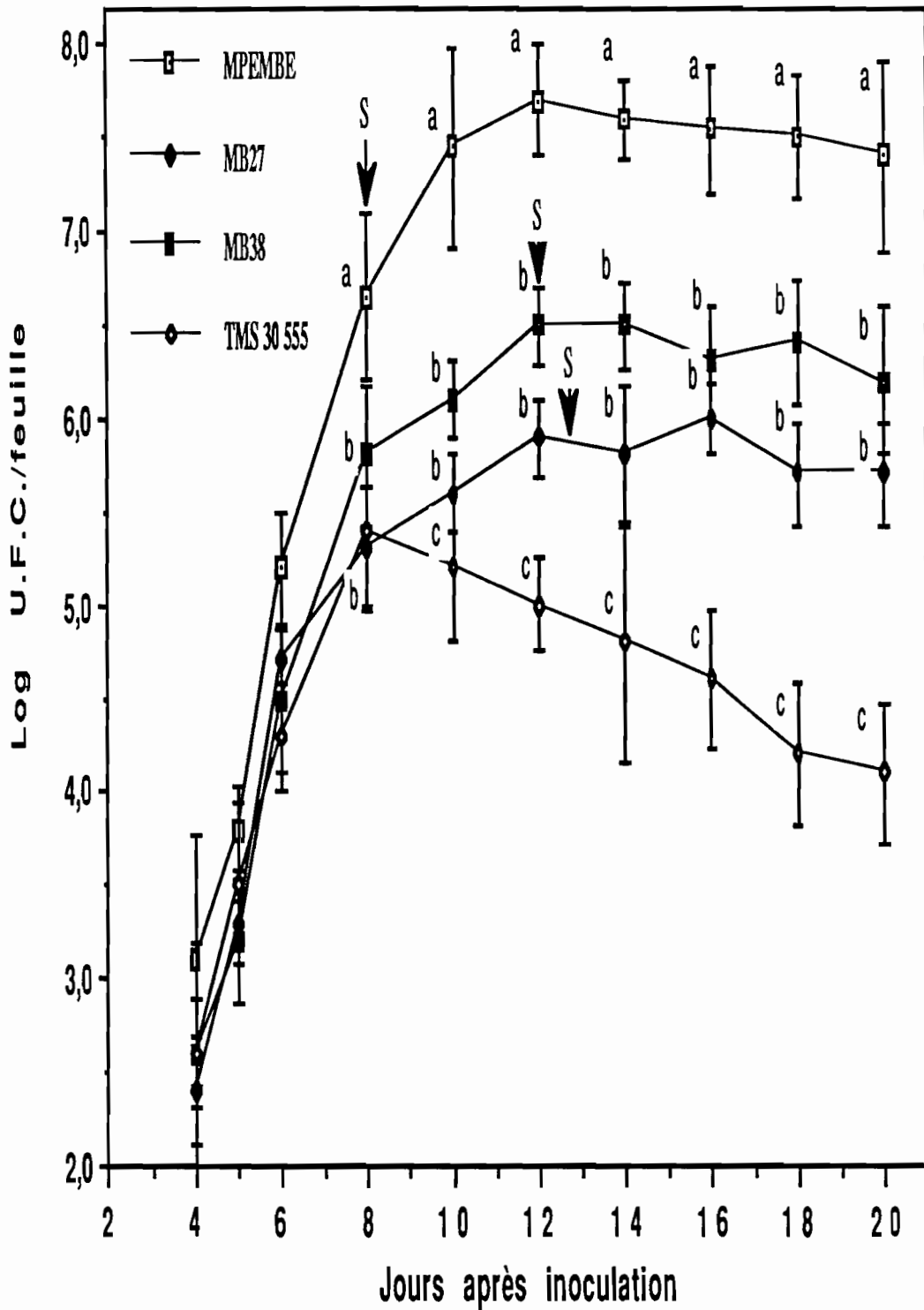


Fig. 11 : Evolution des populations de *Xanthomonas campestris* pv *manihotis* dans les feuilles des cultivars : Mpembé (sensible), MB 27 et MB 38 (tolérants) et TMS 30555 (résistant) . Les plants âgés de deux mois sont inoculés par pulvérisation d'une suspension de l'isolat 104-2 (10^8 bactéries par ml). Les valeurs sont les moyennes de 5 répétitions . Pour chaque analyse, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P = 5\%$. S= symptômes).

20^{ème} jour . L'analyse de variance (Annexe III) montre une différence significative à 5 p. 100 entre les populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus foliaires du cultivar sensible et celles relatives aux cultivars tolérants (MB 27, MB 38) et résistant (TMS 30555), dès le 8^{ème} jour . Entre les cultivars tolérants MB 27 et MB 38, on n'observe pas de différence significative entre les populations mises en évidence aux différentes dates d'analyse, mais le nombre de bactéries présentes sur ces cultivars est à partir du 10^{ème} jour significativement toujours plus élevé que celles présentes sur le cultivar résistant TMS 30555 .

Les symptômes foliaires sont observés à partir du 8^{ème} jour pour le cultivar sensible Mpembé et du 14^{ème} jour dans le cas des cultivars tolérants (MB 27 et MB38) . En ce qui concerne, le cultivar résistant TMS 30555, on observe que sporadiquement des symptômes .

III . 4 . DISCUSSION ET CONCLUSION

Dans les conditions naturelles, on constate que les niveaux des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les cultivars tolérants (MB 27 et MB 38) sont plus faibles que ceux observés sur les variétés sensibles (Mpembé et Maloenda) . Cette différence est observée tout au long de la saison des pluies jusqu'à la fin du mois de Mai ; elle disparaît dès le début de l'installation de la saison sèche en Juin .

Dans le cas des cultivars sensibles, les populations maximales présentes sur les feuilles se situent aux environs de 10^7 U.F.C. par feuille et entre 5×10^5 et 1×10^6 U.F.C. par feuille pour les cultivars tolérants et résistants . Ces résultats montrent qu'en saison des pluies, les cultivars tolérants et résistants peuvent néanmoins supporter, en l'absence de symptômes, au niveau des feuilles des populations épiphylls importantes de *X. c. pv. manihotis* (10^5 U.F.C. par feuille) ; au cours d'une période (saison des pluies) éminemment favorable à la dissémination de la bactérie et à sa multiplication épiphyll (température élevée, forte hygrométrie) . Ces cultivars, même en l'absence de symptômes, constituent des sources potentielles d'inoculum

qui, lorsque les conditions deviennent favorables (pluies, tornades) peut être disséminé et assurer la contamination de cultivars plus sensibles .

Ces résultats sont confirmés, par l'étude de l'implantation épiphyllle de *X. c. pv. manihotis* sur des plants âgés de deux mois et inoculés artificiellement par pulvérisation d'une suspension de l'isolat 104-2 . Cette étude montre aussi que l'on peut installer sur le manioc et en phase épiphyllle, l'agent responsable de la bactériose vasculaire: *X.c. pv. manihotis* . La bactérie, après une phase de latence de 24 h, se multiplie activement à la surface des feuilles et se maintient à un niveau élevé (10^6 - 10^7 U.F.C. par feuille) sur le cultivar sensible (Mpembé) et à un niveau moindre sur les cultivars tolérants (MB 27 et MB38) et en particulier sur le cultivar résistant TMS 30555 (5×10^3 - 1×10^4 U.F.C. par feuille) .

Dans les conditions artificielles de l'inoculation (Fig. 10), chez les cultivars tolérants (MB 27, MB 38), malgré des niveaux de population épiphyllle plus faibles que dans le cas du cultivar sensible (Mpembé), on n'observe pas de différences significatives par rapport au cultivar sensible (Mpembé) . Toutefois, chez le cultivar résistant TMS 30 555, on observe bien à chaque date d'analyse, un niveau moins élevé de bactéries présentes sur les feuilles par rapport aux cultivars sensibles .

Ce résultat est en contradiction avec ceux de l'étude au champ où, à chaque date d'analyse, le niveau des populations épiphyllles de *X. c. pv. manihotis* est significativement plus élevé chez le cultivar sensible (Mpembé) que chez les cultivars tolérants (MB 27, MB 38) .

Au champ, l'absence de différences significatives entre le niveau des populations épiphyllles présentes sur le cultivar sensible (Mpembé) et les cultivars tolérants (MB 27, MB 38) suggère que l'origine des populations présentes sur les feuilles n'est probablement pas unique . En effet, s'il y a bien multiplication épiphyllle du parasite, d'autres sources de bactéries, comme les nombreuses lésions présentes sur les plants de Mpembé, contribuent à renforcer les populations bactériennes présentes sur les feuilles ce qui expliquerait le niveau plus élevé des populations épiphyllles sur ce cultivar .

Dans le cas de l'étude de l'implantation épiphyllle de *X. c. pv. manihotis* , les conditions expérimentales font que l'apport d'un inoculum externe est limité, si bien que les populations détectées à la surface des feuilles ont, pour unique origine, la multiplication épiphyllle de la bactérie à partir de l'inoculum initial déposé par pulvérisation . Ce constat suggère qu'au niveau

des cultivars MB 27 et MB 38 la tolérance de l'hôte n'intervient pas sur la limitation de la colonisation épiphyllle des feuilles . C'est l'inverse pour le cultivar TMS 30555, hautement résistant, pour lequel le niveau des populations épiphyllles reste très faible et toujours significativement inférieur à celui observé chez le cultivar sensible .

Ces résultats viennent en appui de ceux obtenus pour d'autres modèles dans lesquels la résistance de l'hôte se traduit par une limitation du niveau des populations présentes sur le phylloplan (RIDE & RIDE, 1978 ; CAFATI & SAETTLER, 1980 ; MEW & KENNEDY , 1982 ;HIRANO & UPPER, 1983) . Dans le cas des cultivars MB 27 et MB 38 la tolérance de l'hôte n'influence pas directement la colonisation de la feuille .

L'étude de la colonisation interne du mésophylle de la feuille par *X. c. pv. manihotis* montre que la bactérie détectée dès le 4^{ème} jour après l'inoculation se multiplie de façon similaire chez tous les cultivars pendant une phase exponentielle d'environ 6 jours . Par la suite, la croissance est réduite chez les cultivars résistants ou tolérants ce qui se traduit finalement par des niveaux de populations internes significativement plus faibles chez les cultivars tolérants ou résistants que chez les cultivars sensibles . Ce phénomène est particulièrement net chez le cultivar résistant TMS 30555 où la population ne dépasse jamais 4×10^5 U.F.C. par feuille . Chez les cultivars tolérants MB 27 et MB 38, une limitation de la multiplication de la bactérie est aussi observée, mais elle est moins nette que chez le cultivar TMS 30 555 (Fig.11) .

L'apparition des premiers symptômes visibles, chez les différents cultivars, correspond à la phase de transition entre la phase exponentielle de multiplication et la phase stationnaire qui se situe en général entre le 8^{ème} et le 10^{ème} jour . Cependant, la période d'incubation nécessaire pour atteindre la quantité de bactéries nécessaire à l'apparition des symptômes est plus longue chez les cultivars tolérants et résistants (14 jours) que chez les cultivars sensibles (8 jours) . Chez le cultivar résistant TMS 30 555, on n'observe des symptômes que de manière sporadique et en faible quantité.

Pour le cultivar Mpembé (sensible) et les cultivars MB 27 et MB 38 (tolérants), l'apparition des symptômes sous forme de taches anguleuses translucides coïncide avec la présence en phase épiphyllle d'une quantité de bactéries voisine de 10^6 U.F.C. par feuille .

La résistance de l'hôte, pour le cultivar TMS 30555, s'exprime à la fois au niveau de la

colonisation épiphyllé des feuilles et de la multiplication interne de la bactérie . Chez les cultivars MB 27 et MB 38, la résistance s'exprime uniquement par une réduction de la multiplication de la bactérie dans les tissus . Cependant, le fait que l'on détecte chez ces cultivars, une quantité relativement importante de bactéries dans les tissus suggère que d'autres mécanismes doivent intervenir au niveau de la résistance de l'hôte, comme le seuil d'inoculum nécessaire à l'apparition des lésions foliaires (sensibilité des tissus), la durée de réceptivité des blessures, ralentissement ou blocage de la migration systémique du parasite dans le système vasculaire de la plante (BOHER & DANIEL, 1985) .

Le fait que la bactérie présente des vitesses de croissance similaires au cours de la phase exponentielle de multiplication (entre le 4^{ème} et le 6^{ème} jour) dans les tissus des différents cultivars suggère qu'il n'existe pas au niveau de la feuille d'inhibiteurs préformés limitant la croissance bactérienne (BAYLES & JOHNSON, 1985) .

D'autre part, nous nous notons que la présence de la bactérie dans les tissus est mise en évidence 4 jours après l'inoculation des plants et à un niveau approximatif de 10^3 U.F.C. par feuille (Fig. 11) . A la même date, la quantité de bactéries présentes sur les feuilles varie de 10^4 à 7×10^4 U.F.C. par feuille (Fig. 10). Ce résultat suggère, pour les cultivars étudiés, qu'il pourrait exister une relation entre le niveau de population épiphyllé (10^4 U.F.C par feuille) et le début de la colonisation interne des feuilles, puisque ce nombre de bactéries est le plus faible détecté après lavage de feuilles où le début de colonisation interne des tissus est mis en évidence après broyage de l'organe .

De cette étude, il ressort que des cultivars considérés comme tolérants ou résistants, sur la base des symptômes de la maladie, peuvent présenter en l'absence de symptômes et au niveau de leur phylloplan des quantités importantes de *X. c. pv. manihotis* . Ces cultivars résistants, capables d'héberger des populations épiphyllées de *X. c. pv. manihotis* peuvent constituer un réservoir d'inoculum dangereux pour les cultivars sensibles et à ce titre il serait judicieux d'intégrer ce critères dans les programmes de sélection variétale .

CHAPITRE IV

**Niveau des populations épiphylls sur
les feuilles et incidence de la maladie**

CHAPITRE IV

Niveau des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* et incidence de la maladie

La démonstration de l'existence de populations épiphylls phytopathogènes de *Xanthomonas* spp., *Erwinia* spp., et *Pseudomonas* spp. est bien documenté (HIRANO & UPPER, 1983), mais la relation entre ces populations et l'épidémiologie des maladies qu'elles provoquent, reste bien souvent indéterminée .

Dans les conditions du champ, WELLER & SEATTLER (1980) rapporte qu'au moins 5×10^6 U.F.C. de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* par feuille sont nécessaires pour le développement des symptômes de la graise commune du haricot, puisque que ce nombre de bactérie est le plus faible qui est détecté après le lavage de feuilles individuelles présentant des lésions . Au cours de cette étude, le niveau des populations épiphylls a pu être surestimé du fait que la bactérie a pu se multiplier dans les lésions et se retrouver dans l'eau de lavage .

Dans le cas de la bactériose vasculaire du manioc, l'étude de l'implantation épiphyll de *X. c. pv. manihotis* (Chapitre IV) a montré qu'à partir d'un niveau de population épiphyll supérieur ou égal à 10^4 U.F.C. par feuille, on détecte la présence de la bactérie dans les tissus foliaires à un niveau de $10^2 - 10^3$ U.F.C. par feuille .

Les travaux de LINDEMANN & al. (1984, a et b), montrent, dans le cas de la bactériose du haricot ("brown spot"), que la mesure du niveau des populations épiphylls de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* au niveau de feuilles individuelles est un meilleur critère pour la prévision de l'incidence de la maladie que la population moyenne évaluée sur un lot de feuilles .

Sur cette base, nous avons entrepris d'estimer, au niveau de 3 parcelles, la population des feuilles analysées individuellement, d'étudier la distribution de fréquence des populations des feuilles et de relier l'incidence de la maladie à cette distribution .

IV . 1 Distribution des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles de manioc .

HIRANO & *al.* (1982) ont montré que les populations bactériennes épiphylls sont habituellement distribuées au niveau des feuilles selon une loi lognormale . LOPER & *al.* (1984) démontrent qu'au niveau de la rhizosphère les populations bactériennes sont aussi réparties selon une loi lognormale .

Dans le cas de *X. c. pv. manihotis* , pour vérifier que les populations sur les feuilles sont distribuées selon une loi lognormale, nous avons déterminé le niveau des populations présentes sur les feuilles prises individuellement du cultivar sensible Mpembé dans une plantation où l'incidence de la maladie est forte (76 p. 100) . Les chiffres représentant les niveaux de populations présentes sur chaque feuille, après avoir été transformés en logarithme , sont portés sur échelle d'anamorphose (probabilité cumulée), afin de vérifier graphiquement l'ajustement de la distribution des niveaux des populations détectées au niveau de chaque feuille à la loi normale. Cette normalité est ensuite confirmée par une méthode numérique plus rigoureuse, par un test de χ^2 (SCHWARTZ, 1969) . La figure 12 montre que le tracé d'anamorphose du logarithme des niveaux des populations épiphylls de *X.c. pv. manihotis* est sensiblement linéaire indiquant que les populations de parasite ont une distribution lognormale, ce qui est vérifié par le test de χ^2 (Tableau 9) .

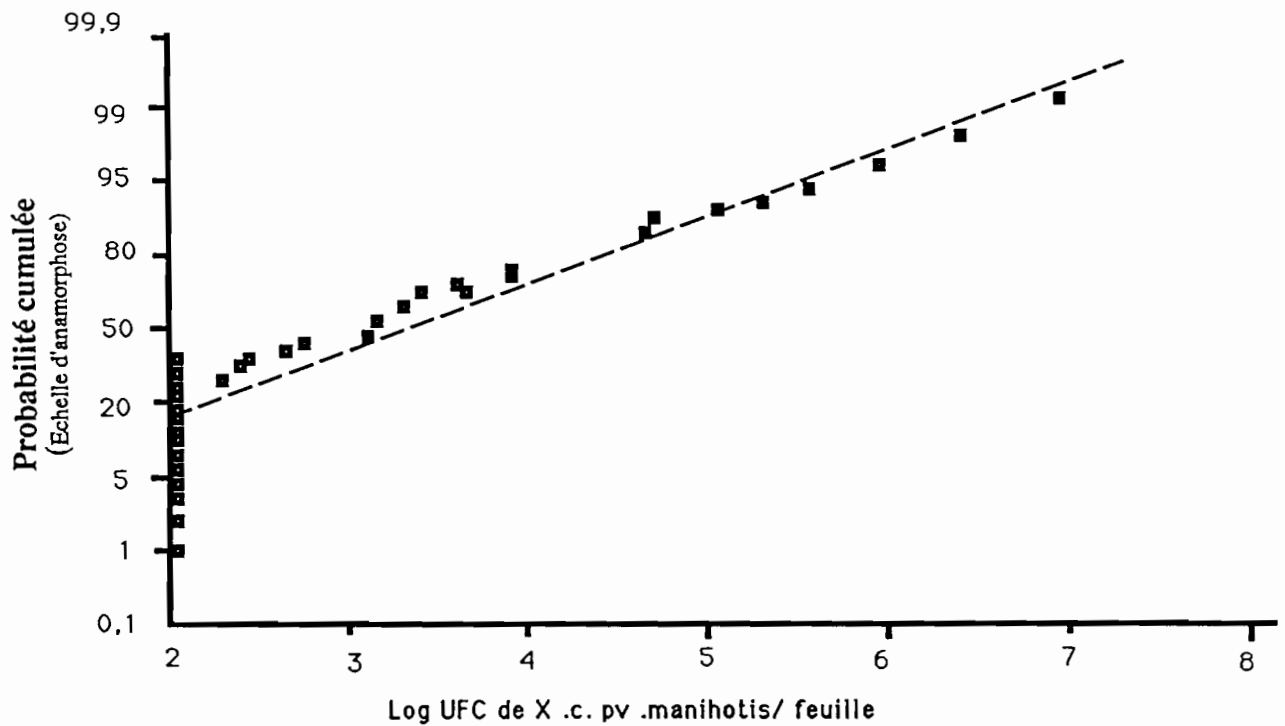


Fig. 12 : Probabilité cumulée (pourcentage) de la distribution des populations de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles individuelles (niveau 4 et sans symptômes) du cultivar Mpembé placé dans une plantation où l'incidence de la maladie lors des prélèvement est de 76%. Dans les cas où *X.c.pv.m.* n'est pas détecté, le niveau est fixé à 2, seuil de détection de la méthode de numération de colonies sur milieu gélosé.

Tableau 9 : Vérification par le test de χ^2 de l'ajustement à la loi normale de la distribution du log. des populations de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles du cultivar Mpembé.

Limite inférieure	Limite supérieure	Fréquence observée	Fréquence attendues	χ^2
2	2,33	9	7	0,6749
2,33	3,00	5	7	0,3807
3,00	3,67	5	6	0,1013
3,67	4,67	5	6	0,0736
4,67	au dessus	6	5	0,1373

$\chi^2 = 1,36783$ avec un degrés de liberté de 2 . Ajustement accepté . Degrès de signification = 0,504637

IV . 2 . Comparaison de la fréquence des fortes populations épiphylls et de l'incidence de la maladie .

La distribution du logarithme des niveaux des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* approximant une loi normale, l'estimation de la probabilité avec laquelle un niveau de population de parasite est rencontré ou excède au sein d'un groupe de feuilles est déterminée à partir du tracé du logarithme des niveaux de population selon une échelle de probabilité cumulée . Sur la base de nos observations, si l'on prend 10^4 U.F.C. par feuille comme quantité minimale de bactéries nécessaire au déclenchement de l'infection, on peut déterminer la fréquence de feuilles supportant une population supérieure ou égale à ce seuil et rechercher une relation éventuelle avec l'incidence de la maladie (pourcentage de feuilles présentant de lésions, calculé sur la base d'un échantillon de 200 feuilles de niveau 4) . C'est ce que nous avons réalisé au niveau de trois parcelles de manioc avec des plants (âgés de 3 mois au début des observations) du cultivar Mpembé, où l'incidence était évaluée au début du mois de Mars (saison des pluies), les plants étaient alors âgés de 6 mois . Au niveau de chaque parcelle, l'incidence de la maladie est de 5 p. 100 (parcelle A), de 33 p. 100 (parcelle B) et de 76 p. 100 (parcelle C) .

Le tracé du logarithme du niveau des populations selon une échelle de probabilité cumulée (Fig. 13) indique que pour la parcelle A, qu' environ 5 p. 100 des feuilles sont estimées avoir un niveau de population de *X. c. pv. manihotis* $\geq$ à 10^4 U.F.C. par feuille et que dans le cas de la parcelle B et de la parcelle C, ce sont respectivement 35 et 60 p. 100 des feuilles qui sont concernées par ces niveaux de populations . Ces résultats suggèrent, qu'au moment de l'analyse (début Mars), il existe une liaison entre la fréquence des feuilles avec une population épiphylls de *X.c. pv. manihotis* $\geq$ à 10^4 U.F.C. par feuille et l'incidence de la maladie c'est à dire avec la fréquence des feuilles présentant des lésions (taches anguleuses, brûlures) .

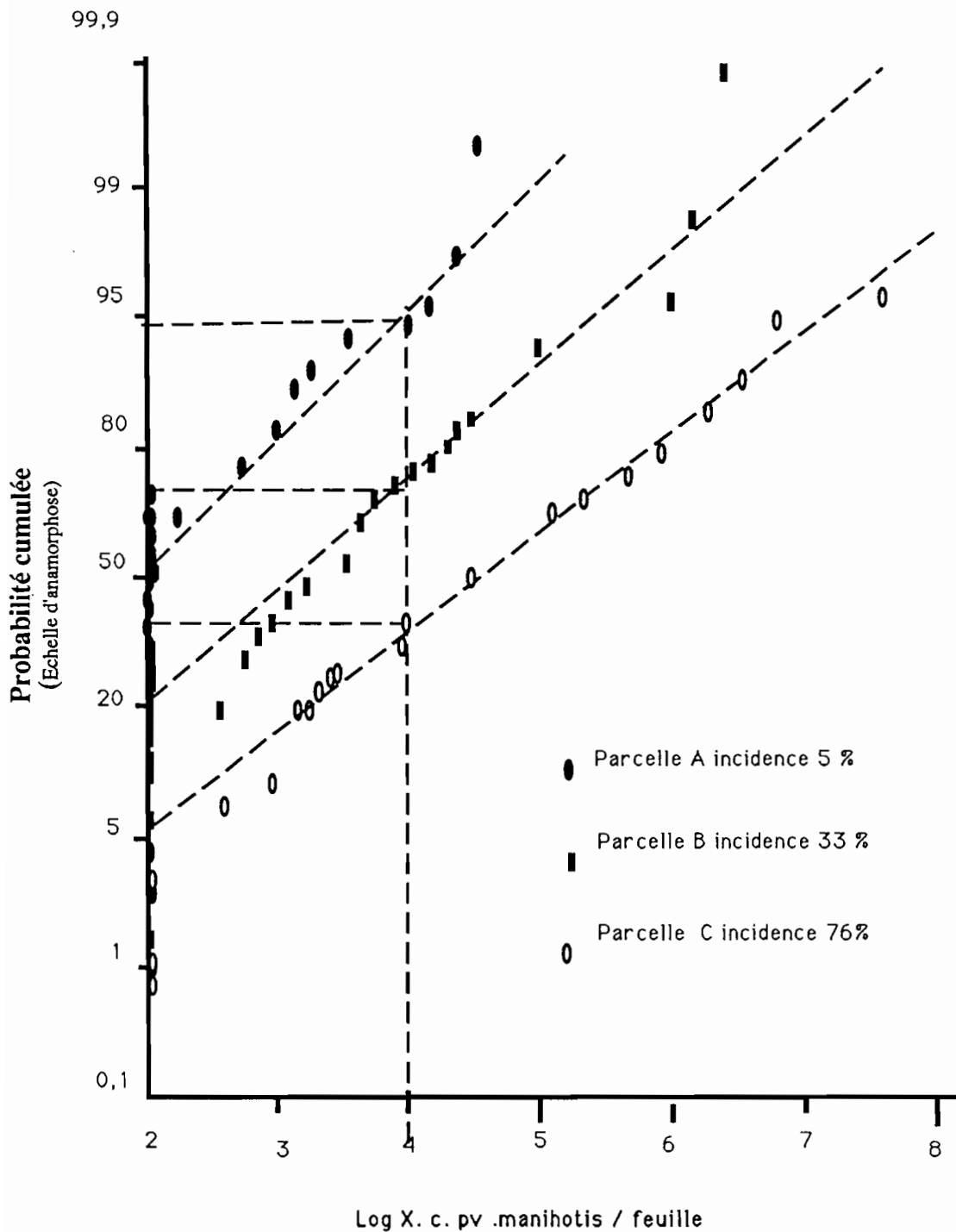


Fig. 13 : Probabilité cumulée (pourcentage) de la distribution des populations épiphyllées de *X. c. pv. manihotis* sur les feuilles individuelles (de niveau 4 et sans symptômes) du cultivar Mpembé dans trois parcelles (A,B,C) où l'incidence de la maladie lors des prélèvement est respectivement 5%, 33%, et 76% . Dans les cas où *X.c.pv.m.* n'est pas détecté, le niveau est fixé à 2, seuil de détection de la méthode de numération de colonies sur milieu gélosé .

IV . 3 . Niveau des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* et incidence de la maladie .

L'évolution de l'incidence de la maladie et de la fréquence des feuilles supportant une population épiphylls de *X. c. pv. manihotis* supérieure ou égale à 10^4 U.F.C. par feuille au niveau des 3 parcelles (A,B,C) est présentée sur les figures 14 et 15. D'après ces courbes, on constate, pour la période de Janvier à la mi-Avril, que l'évolution de l'incidence de la maladie suit celle de la fréquence des feuilles ayant une quantité de *X. c. pv. manihotis* supérieure ou égale à 10^4 U.F.C. par feuille . Pour cette période et chacune des 3 parcelles, le coefficient de corrélation entre l'incidence de la maladie et le taux d'inoculum est significatif indiquant qu'il existe entre ces deux variables une liaison significative (Tableau 10) . Cette liaison est positive, c'est à dire que la fréquence des feuilles ayant un inoculum supérieure ou égal à 10^4 augmente avec l'incidence et inversement . Après cette période, ce qui correspond, sur le plan climatique à une réduction de la pluviométrie et, à la mi- Mai, à l'installation de la saison sèche, on constate une chute de l'incidence la maladie tandis que la fréquence des feuilles supportant une population bactérienne supérieure ou égale à 10^4 U.F.C. par feuille reste élevée en Avril . Elle décroît en Juin pour atteindre au début Juillet une fréquence inférieure à 20 p. 100 . Cette période correspond à la disparition des symptômes et à la chute des populations bactériennes présentes sur les feuilles en relation avec l'installation de la saison sèche . Les niveaux de population sont alors faibles ($\leq$ à 10^3 U.F.C. par feuille) .

Au cours du cycle cultural du manioc, la liaison entre la fréquence des feuilles hébergeant un certain taux d'inoculum (10^4 U.F.C. / feuille) et l'incidence de la maladie n'est donc pas constante . Dans le cas du cultivar étudié (Mpembé), la corrélation forte et significative lors de la saison des pluies en début du cycle cultural (3 à 6 mois) ne l'est plus au cours de la saison sèche . Pendant cette période, la fréquence des feuilles ayant un inoculum supérieur ou égal à 10^4 bien qu'en diminution, reste importante alors que l'incidence de la maladie chute

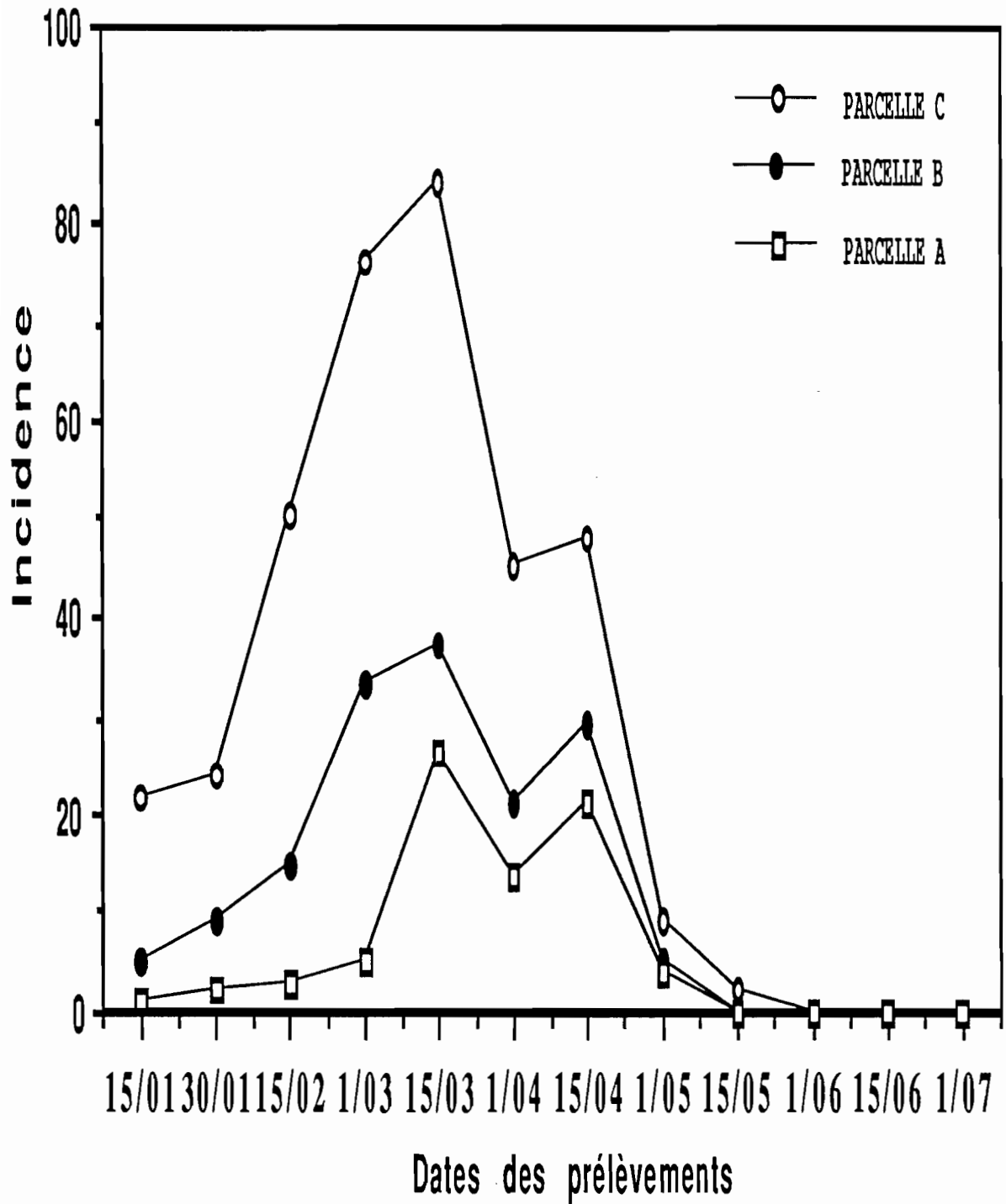


Fig. 14 : Evolution de l'incidence (pourcentage de feuille avec des lésions) de la maladie au niveau de trois parcelles (A, B, C) du cultivar Mpembé . L'incidence est estimée sur un échantillon de 200 feuilles de niveau 4 .Les plants de manioc du cultivars sont âgés de 3 mois au début de l'étude .

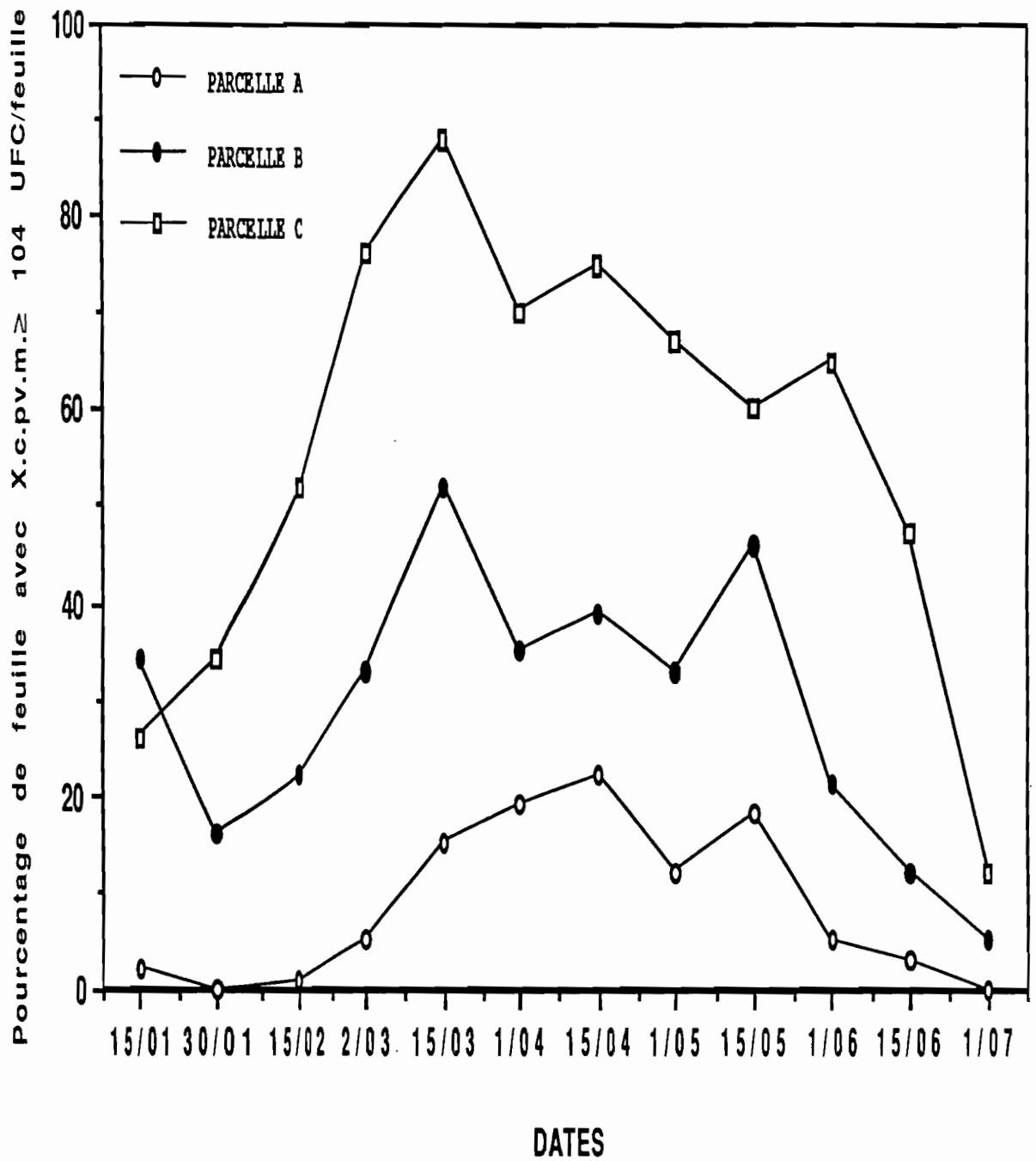


Fig.15 : Evolution de la fréquence des feuilles individuelles supportant une population de *X. c. pv. manihotis* supérieure ou égale à 10^4 U.F.C. / feuille en fonction de la date de prélèvement au cours de la saison des pluies (Janvier -Mai) et pendant le début de la saison sèche (Juin - Juillet) . Les plants de manioc du cultivars sont âgés de 3 mois au début de l'étude et localisés au niveau de 3 parcelles où l'incidence de la maladie est faible (parcelle A), modérée (parcelle B) ou sévère (parcelle C) .

Parcelle	Nombre de couple de données	Coefficient de corrélation	Valeur t calculée	Probabilité associée
A	7	0,873	3,93	$\leq 0,01$
B	7	0,709	2,21	$\leq 0,01$
C	7	0,886	4,21	$\leq 0,01$

Tableau 10 : Valeurs des coefficients de corrélation entre fréquence des feuilles ayant une population supérieure ou égale à 10^4 U.F.C. et incidence de la maladie et probabilités associées pour 3 parcelles de manioc et pour une période allant de Janvier à la mi-avril

rapidement pour atteindre un taux faible (≤ 5 p. 100) . Pendant cette période, la relation entre incidence et le niveau des populations épiphylls n'est plus observée . Cette observation laisse supposer que la bactérie en phase de multiplication dans les tissus de l'hôte est plus dépendante de la variation de sensibilité de l'hôte liée aux modifications climatiques que lorsqu'elle est à la surface de la feuille . Les conditions environnementales ainsi que la sensibilité de l'hôte doivent jouer un rôle important dans la liaison entre l'incidence et le niveau des populations épiphylls .

En résumé, pour la période de Janvier à la mi-Avril, l'incidence de la bactériose vasculaire est corrélée positivement à la quantité de bactéries présentes sur les feuilles . Les populations étant détectées sur des feuilles sans symptômes, ces résultats suggèrent que le seuil de 10^4 U.F.C. par feuille pourrait constituer la quantité minimale pour déclencher la colonisation interne des tissus et, après une phase de multiplication, l'apparition des symptômes foliaires .

Ce seuil n'est probablement pas constant car, comme nos résultats le suggèrent, il doit dépendre de la sensibilité de l'hôte et de paramètres environnementaux, notamment ceux qui interviennent au niveau du micro-écosystème que constitue la feuille .

En Mai et Juin, il n'y a pas de liaison entre l'incidence et la quantité d'inoculum et il apparaît alors qu'un cultivar sensible peut supporter au niveau de son phylloplan des populations importantes de bactéries et sans que des symptômes apparaissent .

La résistance de l'hôte pouvant s'exprimer au niveau du phylloplan du manioc par une réduction du niveau des populations épiphylls, il serait intéressant d'étudier la corrélation entre fréquence des feuilles supportant un certain taux d'inoculum et le niveau de résistance de la plante .

Dans cette étude, l'incidence a été évaluée sur la base de l'apparition des lésions au niveau des feuilles de niveau 4 .

L'analyse de l'incidence en fonction de l'âge des feuilles indique qu'au cours de la période la plus favorable à l'expression de la maladie (Mars à Avril), elle est inférieure à 20 p. 100 pour les feuilles de niveau 1 et 2, supérieure ou égale à 50 p. 100 pour celles de niveau 3 et 4 et nettement supérieure à 80 p. 100 pour celles à partir du niveau 6 (Fig.16) . Ces résultats montrent que les feuilles âgées sont plus sensibles à la maladie que les jeunes feuilles, ce qui correspond aux observations de LOZANO & SEQUEIRA (1974b) et de BOHER & DANIEL (1985) qui montrent que les tissus jeunes sont moins sensibles à la maladie, la vitesse de cicatrisation de ces derniers étant plus élevée que dans le cas des tissus âgés .

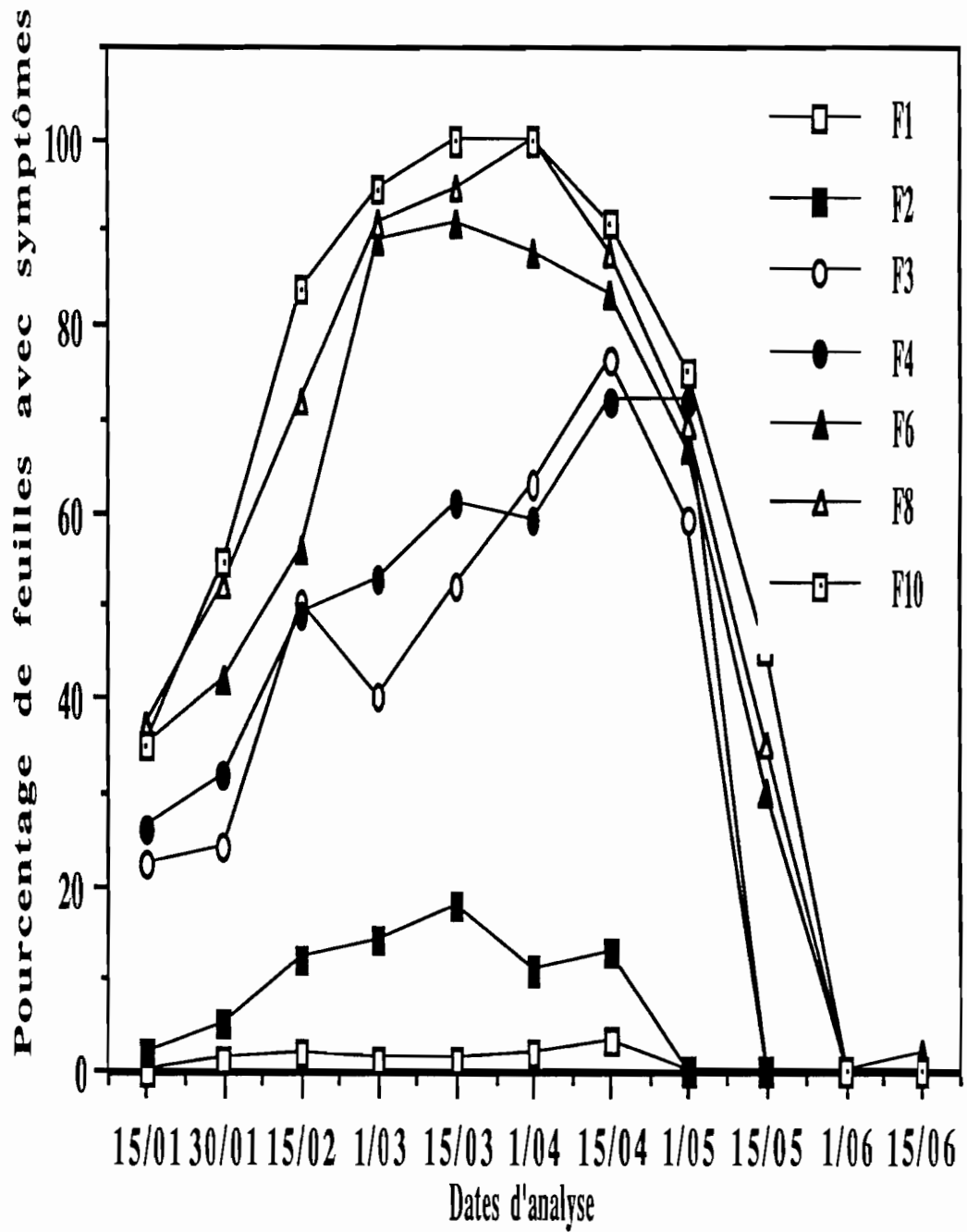


Fig. 16 : Evolution de l'incidence (pourcentage de feuilles avec des lésions) en fonction de l'âge de la feuille au niveau de la parcelle C avec des plants du cultivar Mpembé âgés de 3 mois au début de l'étude. La feuille F1 correspondant à la 1ère feuille dépliée en partant de l'apex .

IV . 4 . DISCUSSION ET CONCLUSION

La vérification que les populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* sont distribuées sur les feuilles selon une loi lognormale nous permet de comparer non seulement des moyennes de population par l'analyse de variance mais aussi d'estimer graphiquement, au niveau de la parcelle, la fréquence des feuilles avec un certain taux d'inoculum (LINDEMANN & *al.*, 1984a ; HIRANO & *al.*, 1982 ; ROUSE & *al.*, 1985) .

Dans le cas de la bactériose vasculaire du manioc, l'étude de la liaison entre cette fréquence et l'incidence de la maladie (pourcentage de feuilles avec des symptômes) nous montre que la corrélation entre ces deux paramètres n'est pas constante . Elle n'existe qu'en saison des pluies, au début du cycle cultural du manioc et disparaît lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables à l'expression de la maladie (saison sèche) . La présence des populations bactériennes à un niveau élevé sur les feuilles (Mai à mi-Juin), alors que l'incidence de la maladie est nulle, suggère que la phase infectieuse du parasite dans les tissus est plus dépendante des conditions environnementales que la phase épiphylle .

Dans les conditions du champ, il serait intéressant d'établir la relation entre le niveau des populations épiphylls et la sévérité (nombre de lésions par feuille) et aussi d'étudier, avant que les symptômes n'apparaissent, le niveau des populations présentes dans les tissus soit en phase de latence (conditions défavorables au développement du parasite) soit en phase de multiplication .

Le cycle cultural du manioc étant relativement long (8 à 18 mois), l'utilisation du seul critère "fréquence des feuilles avec un taux d'inoculum donné" pour prévoir l'incidence de la maladie est limité, par l'impact des facteurs environnementaux sur le niveau des populations épiphylls, sur le développement du parasite dans les tissus, sur la sensibilité du cultivar (qui pourrait être variable au cours du cycle cultural ,ce qui n'a pas été étudié) et aussi par la présence d'un inoculum endophyte dans les tissus de l'hôte . Cet inoculum joue un rôle important dans l'apparition des populations épiphylls au début du cycle cultural (boutures contaminées) et au cours de la période de transition saison sèche - saison des pluies avant l'apparition des symptômes à la nouvelle saison des pluies .

Si dans les conditions du laboratoire, on peut facilement établir une relation entre la quantité d'inoculum et l'expression de la maladie; dans les conditions du champ la quantité de bactéries présentes sur des feuilles est fortement variable (1 à 1000) (HIRANO & *al.*, 1982), ce qui nous impose de travailler sur des fréquences de niveau de populations présentes sur des feuilles individuelles (ROUSE & *al.*, 1985) . D'autre part, on ne peut déterminer sur la même feuille l'effet taux d'inoculum - incidence ou sévérité, car la méthodologie d'estimation des populations est destructive.

DISCUSSION
ET
CONCLUSION GENERALE

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS

I . Le cycle biologique de *X. c. pv. manihotis* sur manioc

Après les grandes épidémies de bactériose vasculaire en Afrique des années 70, la maladie est devenu endémique dans les principales zones de culture de cette importante plante vivrière tropicale . Cette affection, outre son extension rapide, est remarquable par les grandes variations dans sa gravité dans le temps et dans l'espace . Au Congo, après les flambées de bactériose des années 75 à 80 (régions du Pool, Plateaux Batéké), la maladie s'est caractérisée par une activité modérée avec des explosions ponctuelles dans certaines régions comme la Cuvette en 1987 et de nouveau le Pool en 1990 . La prévalence de la maladie dans les zones de savane et de transition savane-forêt par rapport à celles de forêt est observée tant en Afrique (DANIEL & BOHER, 1981 ; PERSLEY, 1978) qu'en Amérique du Sud (LOZANO, 1986) . Ce phénomène important sur le plan de l'épidémiologie de la maladie n'a pas reçu d'interprétation satisfaisante (LOZANO, 1986 ; THEBERGE, 1986) .

Le manioc étant une culture traditionnelle de subsistance, où l'hétérogénéité des plants cultivés est élevée, l'introduction de la bactériose a peut être aboutie à la sélection naturelle rapide de génotype à bonne résistance horizontale, ce qui expliquerait la moindre gravité de la maladie au cours de cette dernière décennie . Ce type de situation a été observé en Afrique lors de l'introduction de parasites fongiques (*Puccinia polysora* sur maïs et *Colletotrichum coffeanum* sur caféier) . L'augmentation de la gravité de la maladie dans une zone où elle présentait un faible impact pourrait être la conséquence de la conjonction entre des conditions environnementales favorables à l'expression de la maladie et une modification de la composition en pathotype de l'agent pathogène . Une telle situation a été observée chez le cotonnier où la résistance de l'hôte a été surmontée par un nouveau pathotype (race 20) de *X. c. pv. malavacearum* (FOLLIN, 1983) . Actuellement, bien que la variabilité du pouvoir pathogène de *X. c. pv. manihotis* ait été décrite (BRADBURY, 1977 ; GROUSSON, 1986), on ne dispose d'aucune information sur la composition en pathotype de l'agent pathogène .

Les causes de ces variations (conditions environnementales, variabilités du pathogène) ne sont pas déterminées mais sur la base du cycle biologique du pathogène et de ses modes de survie nous pouvons fournir un certain nombre de réponses .

Le cycle de la maladie se déroule, dans sa partie active, pendant la phase de croissance végétative de l'hôte (saison des pluies) . Son déroulement est basé sur deux caractéristiques fondamentales de l'agent pathogène, sa capacité d'avoir une phase épiphyllle d'une part et sa conservation dans les tissus de l'hôte d'autre part .

L'établissement de la relation parasitaire entre le manioc et *X. c. pv. manihotis* implique, comme dans le cas d'autres bactériose foliaires (BASHAN, 1987), la présence au niveau des feuilles de populations importantes de bactéries (10^6 - 10^7 U.F.C. / feuille) . La présence d'un tel inoculum au niveau du phylloplan est fonction de la capacité de multiplication épiphyllle du germe, qui à partir d'un faible inoculum primaire assure le développement d'importantes populations, lesquelles constituent l'inoculum nécessaire au développement des lésions foliaires.

La présence épiphyte de la bactérie est observée au niveau de tous les organes aériens de la plante (inflorescences, apex, feuilles, fleurs, bourgeons axillaires) cependant le site préférentiel pour le développement épiphyte de la bactérie est constitué par les feuilles matures à partir du niveau 3 .

La développement épiphyllle de *X. c. pv. manihotis* se produit quand un certain nombre de paramètres environnementaux sont réunis, comme une forte hygrométrie et des températures élevées (SLEESMAN & LEBEN, 1976 ; HIRANO & UPPER, 1983; TIMMER & al., 1987) . Ces conditions sont réunies au cours de la période de transition entre la saison sèche et la saison des pluies et en saison des pluies . Au cours de la saison des pluies, les symptômes de la maladie apparaissent et se développent ; lésions (taches anguleuses, nécroses sur tiges) produisant de l'inoculum qui, disséminé (pluies, vents, insectes), favorise la contamination de la canopée des plants (LOZANO, 1986) . Ce phénomène, associé à la capacité de croissance épiphyllle du parasite, permet d'expliquer le niveau élevé des populations de l'agent pathogène sur le phylloplan en saison des pluies . Au cours de cette saison, la phase parasitaire et la phase épiphyllle de l'agent pathogène interviennent simultanément .

En saison sèche, période où les symptômes de la maladie ne s'expriment pas, l'agent pathogène se maintient au sein de la phyllosphère à des niveaux de population faibles, voire non détectables . C'est ce que nous appelons la phase de survie épiphyllle .

Au cours de ce travail, il n'a pas été possible d'établir une relation précise entre les variations des populations bactériennes et les facteurs environnementaux . Cependant, de nombreux auteurs ont montré l'importance des facteurs climatiques sur le développement des populations bactériennes épiphylls (BROWN, 1942 ; CROSSE, 1963 ; LEBEN, 1965 ; LEBEN & DAFT, 1967 ; LUISETTI & PAULIN, 1972 ; SCHROTH & *al.*, 1974 ; LEBEN, 1981 ; SMITLEY & Mc CARTER, 1982 ; HIRANO & UPPER, 1983 ; LINDEMANN & *al.* , 1984 a et b ; PAULIN, 1984 ; O'BRIEN & LINDOW, 1989) et souligné l'impact de ces paramètres sur l'expression de la maladie . Généralement, la croissance épiphylle des bactéries phytopathogènes est favorisée par une forte hygrométrie et des températures élevées (LEBEN, 1965) . Ces conditions, qui prévalent en saison des pluies permettent d'expliquer l'important développement des populations épiphytes du parasite qu'on observe durant cette période . Conjointement, l'action mécanique du vent et des pluies assure la dispersion de ces populations au sein de la canopée et de plant à plant (BROWN, 1942 ; WALKER & *al.*, 1964 ; LOZANO & SEQUEIRA , 1974b ; VENETTE, 1979 ; KUAN & *al.*, 1982) . Ces conditions climatiques, qui favorisent l'installation du parasite dans les plantations, et augmentent la fréquence des infections (blessures du limbe des feuilles), permettent d'expliquer l'apparition soudaine de la maladie sous forme explosive et son extension rapide dans des plantations où aucun symptôme n'est visible .

La phase parasitaire s'interrompt avec l'installation de la saison sèche (diminution de l'hygrométrie et de la température, écart important des température entre jour et nuit) . La chute drastique du niveau des populations bactériennes épiphylls qu'on observe alors, suggère que l'activité épiphylle de *X. c. pv. manihotis* n'est que transitoire . Cependant, compte tenu de la sensibilité de nos méthodes de détection (10^2 - 10^3 U.F.C. / organe), on ne peut exclure que le pathogène soit présent jusqu'à la fin de la saison sèche à des niveaux de population qui n'ont pas été révélés par les méthodes utilisées . L'utilisation de méthodes plus sensibles (sondes moléculaires) permettrait d'interpréter la disparition temporaire du parasite et d'expliquer, pour une part, l'origine des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* détectées quelques semaines avant l'apparition des premiers symptômes . La démonstration dans les conditions du laboratoire, que certains pathovars de *Xanthomonas campestris* peuvent survivre plusieurs semaines en épiphylle lorsque des conditions sont défavorables (faible humidité relative, température élevée) au développement de la maladie (SLEESMAN & LEBEN, 1976 ; TIMMER

& al., 1987), indique que la bactérie pourrait se maintenir sur le phylloplan à de faibles concentrations au niveau de sites protégés.

D'un point de vue épidémiologique, l'agent pathogène : *X. c. pv. manihotis* n'a pas de vie épiphyte au sens de LEBEN (1965), mais il possède au cours de son cycle une phase épiphyte résidente qui doit être relayée par une phase parasitaire (saison des pluies). Cette phase épiphyte est une étape normale du cycle biologique de la bactérie.

La phase épiphyte de *X. c. pv. manihotis* a d'importantes implications dans l'épidémiologie de la bactériose vasculaire.

Au niveau des organes aériens, notamment des feuilles, elle :

- est à l'origine de l'inoculum (multiplication épiphyte) nécessaire à l'apparition des symptômes (saison des pluies).
- participe au maintien du parasite en saison sèche (phase de survie).
- favorise la dispersion de la bactérie au sein de la canopée et de la plantation par dissémination de l'inoculum épiphyte par les pluies, le vent et les aérosols.

La présence épiphyte de l'agent pathogène à la surface de plantes non-hôtes ne nous permettent pas de préjuger du rôle de ces plantes adventices comme source d'inoculum. Cependant, certains travaux suggèrent que des plantes adventices présentes dans les plantations de manioc peuvent héberger le parasite et constituer un réservoir d'inoculum non négligeable dans le cas de plantations mal entretenues (DEDAL & al., 1980 ; ELANGO & al., 1981 ; IKOTUN, 1981 ; DANIEL & BOHER., 1985 ; LOZANO, 1986).

La mise en évidence de la présence de *X. c. pv. manihotis* chez un certain nombre d'insectes de l'entomofaune du manioc est à mettre en relation avec des travaux effectués au CIAT où l'utilisation d'insecticides dans des parcelles expérimentales a permis de montrer que 10 p. 100 des infections pouvaient avoir pour origine la dissémination du pathogène par des insectes (LOZANO, 1975). Toutefois, cette dissémination par les insectes ne pourrait s'effectuer que sur de courtes distances (LOZANO & SEQUEIRA, 1974b). L'importance des insectes, notamment de *Zonocerus variegatus* L. et *Pseudothrips devastans* Distant au cours du cycle de la maladie demande à être précisée (dynamique des population, vocation) car pour certaines bactérioses le rôle de l'entomofaune dans la dissémination n'est pas négligeable (SCHROTH & al., 1974 ; PHILLIPS & al. 1982).

. Si la mise en évidence de la phase épiphyte de *X. c. pv. manihotis* permet d'expliquer la formation de l'inoculum nécessaire à l'apparition des symptômes foliaires, cette bactérie n'étant pas un composant normal de la microflore du manioc, la question de l'origine de sa présence sur la feuille se pose .

Dans ce domaine, le concept traditionnel est que les lésions constituent la source primaire d'inoculum pour les maladies bactériennes . Ainsi, dans le cas de la bactériose du cotonnier, qui présente de grandes similitudes avec celle du manioc, les lésions foliaires fournissent l'inoculum qui, après dissémination par les pluies et le vent permet la contamination des plants sains (FAULWETTER, 1917) . Un tel processus intervient en saison des pluies, une fois que la maladie est installée, mais il ne permet pas de déterminer l'origine de la présence de *X. c. pv. manihotis* avant l'apparition des symptômes foliaires .

La conservation de la bactérie dans le système vasculaire de l'hôte associée à son activation (inoculum endophyte) lors du démarrage de la végétation (boutures ou plants en culture à la fin de la saison sèche) constitue, par l'intermédiaire des symptômes qu'elle induit sur les jeunes rejets, la source primaire d'inoculum nécessaire à la contamination du feuillage . Cette contamination associée à la capacité de multiplication épiphyllle du parasite est à l'origine des importantes populations présentes sur les feuilles avant l'apparition des symptômes .

L'inoculum primaire nécessaire à l'apparition de la bactériose dans une nouvelle plantation ou à son maintien dans une plantation en cours de cycle cultural (fin de saison sèche) a pour origine principale les populations endophytes présentes dans les tissus de l'hôte .

Dans les jeunes plantations (1 à 2 mois), des lésions apparaissent au niveau des tiges herbacées issues des boutures (environ 2 mois après la plantation) . Les exudats produits par ces lésions fournissent un inoculum important qui, sous l'action des premières pluies et des insectes, favorise la contamination de la canopée . Cet apport de bactéries au niveau du phylloplan du manioc associé à la capacité de multiplication épiphyllle de l'agent pathogène permet l'installation et le développement de l'inoculum nécessaire à l'apparition de la maladie . Dans les plantations en cours de culture; à la fin de la saison sèche, on observe un phénomène similaire à l'occasion du redémarrage de la végétation (fin de la saison sèche) .

La présence du pathogène dans les tissus lignifiés de l'hôte est souvent associé à une latence dans l'expression de la maladie (BOHER & DANIEL, 1982) . Son déterminisme, qui doit dépendre du niveau de résistance de l'hôte et des paramètres environnementaux, mériterait

d'être étudié . En effet, les infections latentes ont d'importantes implications au niveau de l'épidémiologie de nombreuses maladies bactériennes (HAYWARD, 1974), notamment au niveau de l'introduction d'une maladie dans une zone où elle était absente ((KOIKE, 1968) ou au niveau de son maintien dans une région où elle n'était plus détectée depuis plusieurs années (GOTO, 1972) . Dans le cas du manioc, la présence du pathogène dans les tissus vasculaires des tiges, sans que des symptômes ne révèlent sa présence, masque la contamination du matériel végétal destiné à la production de boutures . Ainsi, la colonisation systémique, mais discrète, de certains cultivars apparemment résistants accroît, après 3 à 4 cycles culturels, la contamination des boutures conduisant à une contamination importante des plantations (LOZANO & LABERRY, 1982) .

Les tissus de l'hôte constituent le site privilégié de conservation du parasite et la source principale de bactéries à l'origine des populations présentes sur le phylloplan . Le(s) mécanisme(s) qui intervien(nen)t au niveau du processus de migration des bactéries endophytes de leurs sites de conservation (système vasculaire des tiges, coussinets pétioles, chancres) vers les jeunes tissus en phase de croissance n'est pas connu . Les autres sources potentielles d'inoculum (insectes, adventices) doivent aussi participer au cycle biologique mais avec une importance moindre.

La multiplication du manioc se faisant par voie végétative (boutures), on comprend que la conservation de *X. c. pv. manihotis* dans les tissus de la plante (système vasculaire) pendant de longues périodes est un point capital du cycle biologique de la bactérie .

La présence de bactéries endophytes permet d'expliquer :

- l'origine de l'inoculum primaire nécessaire à la contamination des feuilles
- le maintien du parasite dans une plantation d'une saison des pluies à une autre,
- le caractère endémique de la maladie au travers de l'utilisation d'un matériel végétal contaminé
- son apparition brutale dans une région où la maladie est absente, par l'introduction de boutures contaminées .

La capacité de *X. c. pv. manihotis* d'avoir une phase épiphyte associée à sa conservation dans les tissus de l'hôte sous forme de population endophyte sont les paramètres fondamentaux qui assurent le bon déroulement de son cycle biologique . Ce cycle se caractérise par l'alternance de deux phases:

- **une phase parasitaire en saison des pluies** (période de croissance végétative pour la plante) au cours de laquelle se produisent successivement les événements suivants :

- la production de l'inoculum primaire à partir des bactéries présentes dans les tissus de l'hôte ;
- la multiplication de la bactérie sur les organes aériens conduisant à la formation de l'inoculum nécessaire au déclenchement du processus infectieux ;
- la pénétration et la multiplication du parasite dans les tissus de l'hôte ;
- la dissémination de la bactérie et la contamination de nouveaux organes .

- **une phase de survie en saison sèche caractérisée par:**

- l'arrêt du processus infectieux
- le maintien du parasite dans les tissus de l'hôte (tiges), les débris végétaux, et sous forme de populations sur les feuilles .

Sur le plan de l'épidémiologie de la maladie, le faible impact de la maladie en zone de forêt pourrait être la conséquence des conditions environnementales particulières de l'écosystème forestier qui seraient défavorables à la réalisation de la phase épiphyte de *X. c. pv. manihotis* . En effet, des expériences préliminaires, réalisées conjointement en forêt et en savane, ont montré que le pathogène installé sur le phylloplan de cultivars de manioc situés en forêt ne se maintient que de manière transitoire (MABIALA N'DOENGOSSE, 1988) . La compréhension de ce phénomène fournirait des informations utiles sur les facteurs qui conditionnent la vie épiphyte de l'agent pathogène en relation avec l'hôte et l'écosystème . .

II . Populations épiphytes et niveau de résistance de l'hôte

De nombreuses espèces bactériennes, dont certaines sont phytopathogènes (*Xanthomonas* spp., *Erwinia* spp., et *Pseudomonas* spp.) sont présentes sur le phylloplan des plantes (HIRANO & UPPER., 1983) . L'importance relative de l'hôte sur le cycle biologique et la démographie de la plupart des espèces bactériennes ou d'un type particulier de souche en

relation avec l'épidémiologie des maladies qu'elles provoquent est largement inconnue . Dans de nombreuses interactions plante/bactérie, la résistance de l'hôte se traduit par une limitation du niveau des populations présentes sur le phylloplan (SCHAREN, 1959 ; RIDE & RIDE, 1978 ; CAFATI & SAETTLER, 1980 ; MEW & al , 1982 ; HIRANO & UPPER, 1983) .

Dans le cas de *X. c. pv. manihotis*, le fait de détecter des populations épiphylls à des niveaux relativement importants à la fois sur des cultivars sensibles et tolérants ou résistants indique, pour les cultivars étudiés , que la résistance ne serait pas toujours liée à une inhibition de la phase épiphyll du parasite . Cette capacité d'un cultivar "résistant" de supporter, au niveau du phylloplan, des populations de *X. c. pv. manihotis* en l'absence de symptômes souligne que ces cultivars peuvent constituer des sources potentielles d'inoculum .

Notre étude sur l'implantation épiphyll de *X. c. pv. manihotis* montre que chez les cultivars tolérants (MB 27, MB 38), malgré des niveaux de population épiphyll en valeur plus faibles que dans le cas du cultivar sensible (Mpembé), on n'observe pas de différence significative entre les cultivars sauf dans le cas du cultivar résistant TMS 30555 . Ce résultat est en contradiction avec les observations au champ, qui montrent que le niveau des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* est significativement plus élevé chez les cultivars sensibles (Mpembé, Maloenda) que chez les cultivars tolérants (MB27, MB38).

L'absence de différences significatives entre les niveaux des populations épiphylls présentes sur le cultivar sensible (Mpembé) et les cultivars tolérants (MB 27, MB 38) suggère que dans le cas du champ les nombreuses lésions présentes sur les plants de Mpembé et de Maloenda, peuvent contribuer à la formation et au renforcement des populations bactériennes sur les feuilles . Dans ces conditions, l'origine des populations présentes sur les feuilles n'est pas uniquement due à la multiplication épiphyll de la bactérie, comme dans le cas de l'étude de l'implantation épiphyll où l'apport d'un inoculum extérieur est contrôlé .

Un nombre important de travaux, avec d'autres modèles, qui révèle une différence entre les populations épiphylls présentes sur des cultivars sensibles et résistants ont été réalisés dans les conditions où les symptômes de la maladie sont présents . Ainsi, TIMMER & al. (1987) suggère que les différences de niveau de population observées en fonction du niveau de résistance de l'hôte résultent de différence dans la production d'inoculum au niveau des tissus malades . Ces constat est à rapprocher de nos observations où la période nécessaire à l'apparition des symptômes est plus longue chez les cultivars tolérants (12 jours) que chez les sensibles (8

jours) où les lésions foliaires sont plus nombreuses . Chez le cultivar résistant TMS 30 555, on observe des symptômes que de manière sporadique, sur certains plants et en faible quantité.

Chez les cultivars MB 27 et MB 38 la résistance de l'hôte n'intervient pas au niveau d'une limitation de la population épiphyllé . C'est l'inverse pour du cultivar TMS 30555 hautement résistant, où le niveau des populations épiphyllés est toujours inférieur à celui observé chez le cultivar sensible .

L'étude de la colonisation du mésophylle de la feuille par *X. c. pv. manihotis* montre que la tolérance ou la résistance se traduit, après une phase de multiplication de 6 jours, par des niveaux de populations internes significativement plus faible chez les cultivars tolérants et résistants par rapport au sensible . Ce phénomène est particulièrement marqué chez le cultivar résistant TMS 30555 . Le fait qu'au cours de la phase exponentielle de multiplication (entre le 4^{ème} et le 6^{ème} jour), la bactérie présentant des vitesses de croissance similaires dans les tissus des différents cultivars, on peut penser qu'il n'y a pas, au niveau de la feuille, d'inhibiteurs préformés limitant la croissance bactérienne (BAYLES & JOHNSON, 1985) . Les mécanismes de résistance de l'hôte doivent intervenir ultérieurement, notamment au niveau de la progression de la bactérie dans le mésophylle et au niveau de la pénétration dans le système vasculaire de la feuille .

Notre travail montre que la résistance du manioc à la bactériose vasculaire peut s'exprimer soit au niveau de la colonisation épiphyllé des feuilles et au niveau de la multiplication interne du parasite (cultivar résistant TMS 30 555), soit uniquement au niveau de la limitation de la multiplication de la bactérie dans les tissus (cultivars tolérants: MB 27 et MB 38) . Cependant, le fait que l'on détecte chez ces cultivars, une quantité relativement importante de bactéries dans les tissus suggère que d'autres mécanismes doivent intervenir au niveau de la résistance de l'hôte, comme le seuil d'inoculum nécessaire à l'apparition des lésions foliaires (sensibilité des tissus), la durée de réceptivité des blessures, le ralentissement ou le blocage de la migration systémique du parasite dans le système vasculaire de la plante (BOHER & DANIEL, 1985) . Sur cette base, la résistance du manioc à la bactériose vasculaire pourrait combiner une réduction des populations épiphytes de pathogène (inoculum potentiel réduit), des concentrations d'inoculum plus élevé pour le déclenchement des lésions (efficience de l'infection réduite), une limitation de

la colonisation du système vasculaire (colonisation réduite) .

L'étude des mécanismes de résistance du manioc à la bactériose demanderait à être mieux étudié en tenant compte de la composition en pathotype du pathogène, de la variation de sensibilité de l'hôte et en maîtrisant sa génétique, car au cours de nos expériences les cultivars utilisés, à l'exception de TMS 30555, n'ont pas fait l'objet d'une sélection génétique ce qui laisse supposer une certaine hétérogénéité au sein des populations .

Des cultivars, classés comme résistants sur la base des symptômes de la maladie, peuvent présenter au niveau de leur phylloplan et dans les tissus des quantités non négligeables de *X. c. pv. manihotis* en l'absence de symptômes . Aussi, la colonisation discrète et progressive du système vasculaire de l'hôte après plusieurs cycles de culture (LOZANO & LABERRY, 1982) doit être prise en compte dans les programmes de sélection variétales par une mise en oeuvre de tests pour détecter le pathogène au niveau du phylloplan et du système vasculaire des cultivars en cours de sélection .

III . Relation entre le niveau des populations épiphylls et l'expression de la maladie

De nombreux travaux font référence à la présence d'espèces bactériennes phytopathogènes (*Erwinia* spp., *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp.), sur le phylloplan des plantes cultivées (HIRANO & UPPER, 1983) . Cependant, la relation entre le niveau des populations épiphylls et la probabilité du déclenchement des maladies qu'elles provoquent reste souvent indéterminée..

L'action d'une maladie foliaire sur la canopée d'une plante s'exprime de manière différente au niveau de chaque feuille, aussi sur le plan de l'expression des symptômes, la population moyenne présente sur la canopée est d'une importance moindre que celle présente sur chaque feuille . Si dans les conditions du laboratoire, il est aisé d'établir une relation entre le taux d'inoculum et la maladie (incidence et sévérité), au champ la répartition de *X. c. pv. manihotis*

au niveau des feuilles est fortement variable, pour établir une relation entre la quantité d'inoculum et la maladie il est nécessaire de travailler sur des fréquences de taux de populations présentes sur des feuilles analysées individuellement et de relier l'incidence de la maladie à cette distribution (LINDEMANN & *al.*, 1984) . Ces fréquences sont déterminées graphiquement sur la base de la probabilité cumulée de la distribution lognormale des populations .

Dans nos expériences, la présence du parasite dans les tissus 4 jours après l'inoculation des plants à un niveau voisin de 10^3 U.F.C. par feuille lorsque le niveau des populations épiphylls, se situe à un niveau de 10^4 à 7×10^4 U.F.C. par feuille semblerait indiquer que le niveau de 10^4 U.F.C. constitue, pour les cultivars étudiés, le seuil de bactéries épiphylls nécessaire au démarrage de colonisation interne des feuilles . Conjointement, l'apparition des symptômes semble lié à la présence d'au moins 10^6 U.F.C. par feuille . Ces niveaux ne sont probablement pas constant, et dépendent de la physiologie de l'hôte, de son niveau de résistance, des conditions climatiques et de l'agressivité des souches de *X. c. pv. manihotis* .

Les travaux de LINDEMANN & *al.* (1984, a et b), montrent dans le cas de la bactériose du haricot ("brown spot"), que la mesure du niveau des populations épiphylls de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* au niveau de feuilles individuelles est le meilleur critère pour la prévision de l'incidence que la population moyenne évaluée sur plusieurs feuilles .

Dans le cas de la bactériose du manioc et du cultivar sensible Mpembé, l'étude de la liaison entre la fréquence des feuilles portant une population supérieure ou égale à 10^4 U.F.C. par feuille et l'incidence de la maladie (pourcentage de feuille avec des symptômes) nous montre qu'une relation existe entre ces deux paramètres, mais qu'elle n'est pas constante . La corrélation est significative en saison des pluies, au début du cycle cultural du manioc mais ne l'est plus lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables à l'expression de la maladie (installation de la saison sèche) . Pour la période où la corrélation est bonne, cela ne signifie pas que le niveau de la population épihyll soit le seul facteur déterminant l'incidence de la bactériose vasculaire et que le niveau de 10^4 U.F.C. par feuille constitue un seuil d'infection constant au cours du cycle cultural . En effet, la présence, à un niveau élevé, des populations bactériennes au niveau des feuilles (Mai-mi Juin), alors que l'incidence de la maladie est voisine de zéro le montre et semble indiquer que la phase infectieuse du parasite dans les tissus est beaucoup plus

dépendante des conditions environnementales et de la variation de sensibilité de l'hôte que la phase épiphyllle . Le fait qu'un plant sensible peut supporter des populations épiphyllles à un niveau relativement élevé et rester sans symptômes et que la probabilité d'infection par une seule bactérie virulente est très largement inférieur à 1 pour de nombreuses interactions plante - bactérie (ERCOLANI, 1973) peut être la conséquence que l'expression du ou des gènes liés au pouvoir pathogène de *X. c. pv. manihotis* est un événement rare ou que sur le plan du pouvoir pathogène (virulence et agressivité) la structure génétique des populations épiphyllles est telle que la proportion de bactéries pathogènes est faible .

Dans les conditions du champ, il serait aussi intéressant d'établir la relation entre le niveau des populations épiphyllles et la sévérité (nombre de lésions par feuille) et aussi d'étudier avant que les symptômes apparaissent le niveau des populations présentes dans les tissus soit en phase de latence (conditions défavorables au développement du parasite) soit en phase de multiplication .

Le cycle cultural du manioc étant relativement long (8 à 18 mois), l'utilisation du seul critère "fréquence des feuilles avec un taux d'inoculum donné" pour prévoir l'incidence de la maladie est limité par l'interaction des facteurs environnementaux sur le niveau des populations épiphyllles, sur le développement du parasite dans les tissus, sur la sensibilité du cultivar qui peut être variable au cours du cycle cultural (ce qui n'a pas été étudié) et aussi par la présence d'un inoculum endophyte latent dans les tissus de l'hôte .

IV . CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Pour améliorer nos connaissances sur le cycle biologique de *X. c. pv. manihotis* sur manioc nous avons axé nos recherches sur l'étude de la phase épiphyllle de *X. c. pv. manihotis* en relation avec le cycle cultural de la plante, le niveau de résistance de l'hôte et l'incidence de la maladie .

Notre étude montre que *X. c. pv. manihotis* fait partie du groupe de bactéries phytopathogènes adaptées à la vie sur les organes aériens des plantes et qui comprend la plupart des pathovars de *Pseudomonas syringae* et probablement ceux du groupe *Xanthomonas campestris* (HIRANO & UPPER, 1983) .Cependant l'apparition et le maintien de la phase

épiphyllé de *X. c. pv. manihotis* dépend essentiellement de la présence des populations endophytes dans les tissus de l'hôte . La présence et la conservation de la bactérie dans les tissus est capitale pour le bon déroulement du cycle biologique de la maladie .

La résistance de l'hôte peut interférer avec la vie épiphyte de *X. c. pv. manihotis* en limitant le niveau des populations au niveau des feuilles . Cependant, pour les cultivars étudiés, la résistance s'exprime préférentiellement au niveau de la multiplication de la bactérie dans les tissus . Les mécanismes intervenant dans la résistance de l'hôte mériteraient une étude approfondie dont les résultats permettraient d'améliorer les connaissances sur l'interaction plante-bactérie et d'adapter les schémas de sélection pour la résistance à la bactériose .

La détermination du niveau des populations épiphyllées au niveau de la feuille nous a permis d'établir une relation positive entre la quantité de bactéries présentes sur les feuilles et l'incidence de la maladie . Cette étude, qui mériterait d'être poursuivie avec d'autres cultivars et en intégrant les paramètres météorologiques, montre que la corrélation entre le niveau de populations épiphyllées et l'incidence n'est pas constant . Elle est bonne au début de cycle cultural de la plante (saison des pluies) puis elle disparaît quand la saison sèche s'installe . Ce travail montre, en outre, que l'expression des symptômes de la maladie est très sensible aux changements environnementaux en relation avec la variation de sensibilité de l'hôte .

La compréhension du cycle biologique de *X. c. pv. manihotis* , nous permet d'interpréter le caractère endémique de la maladie, sa rapide progression au sein d'une plantation, son apparition dans une zone indemne et à sa propagation à l'échelle du continent africain .

Cependant un certain nombre d'interrogations demeurent, quant aux variations de la gravité de la maladie qu'on observe dans le temps et du site . En effet, sur la base des résultats acquis, l'interprétation des grandes épidémies des années 70, de l'absence de bactériose en zone de forêt et des explosions soudaines de la maladie dans une zone d'endémie reste difficile .

A l'avenir, les recherches sur la bactériose du manioc devront prendre en compte de la variabilité du pathogène, de l'impact des facteurs environnementaux sur la dynamique des populations épiphyllées de parasite et sur la variation de la sensibilité de l'hôte . Une telle approche, suppose une étude préalable de la variabilité génétique de *X. c. pv. manihotis* en relation avec l'expression du pouvoir pathogène et la recherche de marqueurs génomiques (sondes moléculaires) liés à la virulence de l'agent pathogène . En ce qui concerne, l'étude de la phase épiphyte, l'acquisition et l'utilisation de tels outils, permettrait d'approfondir les études sur

la relation quantité de bactéries présentes au niveau de la feuille et la probabilité de déclenchement de la maladie en prenant en compte la structure génétique des populations épiphylls sur la base de marqueurs génomiques liés au pouvoir pathogène .

Au niveau des interactions bactérie-plante, on dispose de peu d'informations sur les mécanismes intervenant au niveau de la résistance de l'hôte . Dans ce domaine, le clonage des cultivars étant possible par la technique de culture *in vitro* , le manioc peut constituer un bon modèle d'étude notamment pour la recherche des elliciteurs pouvant intervenir dans le mécanisme de résistance de l'hôte .

En ce qui concerne les stratégies de lutte vis à vis de cette maladie bactérienne, la culture du manioc étant essentiellement de type traditionnel, seule la lutte génétique avec des cultivars améliorés et l'utilisation de boutures saines sont envisageables . L'utilisation de ce type de lutte implique, pour être fructueuse, que l'on maîtrise la production de matériel indemne de bactériose, que l'on connaisse les gènes de résistance, que l'on surveille la composition en pathotypes du pathogène et que l'on contrôle la diffusion et l'utilisation des cultivars . A ce niveau, un certain nombre de contraintes existent comme la génétique de l'hôte qui n'est partiellement maîtrisée, un cycle génétique long, l'identification partielle des gènes de résistance et jusqu'à présent la non prise en compte de la variabilité de l'agent pathogène . La sélection doit viser la tolérance, car on s'adresse à des systèmes agricoles de subsistance où l'infrastructure scientifique et économique ne permet pas un suivi adéquat de l'évolution de la résistance .

Nos travaux permettent d'envisager une lutte chimique et ou biologique (utilisation d'antagonistes bactériens de *X.c. pv. manihotis*) ayant pour objectif de réduire l'inoculum épiphyte dont il a été montré l'implication dans le déclenchement de la maladie . La lutte chimique contre les bactéries phytopathogènes a été menée depuis une vingtaine d'année avec des résultats plus ou moins satisfaisants grâce aux antibiotiques et aux composés cupriques (AZAIZEH & BASHAN, 1984 ; PAULIN & *al.*, 1985 ; GITAITIS & *al.*, 1986) . Sur le manioc, ARENE (1977) a utilisé de l'Agrimycine contre *X. c. pv. manihotis* dans des conditions de faible pression parasitaire, si bien que les résultats sont peu exploitables . Des essais ont été effectués au Congo (BOHER & GROUSSON, 1986 ; POUNDZOU, 1987; MABIALA N'DOUGOSSO, 1988) où l'utilisation de composés cupriques (Bouillie bordelaise, Kocide 101) a connu un succès limité de part l'action mécanique de la pluie (lessivage de la matière active), de la localisation préférentielle du pathogène sur la face inférieure des feuilles au niveau

de sites protégés, de la présence d'un inoculum endophyte et d'une recontamination rapide (15 à 30 jours) si la plantation est proche de foyers de bactériose . La période de traitement pour être efficace devrait se situer en fin de saison sèche (période où se constitue l'inoculum épiphyte), ce qui n'est pas compatible avec les pratiques culturelles traditionnelles . La lutte chimique n'est pas pour des raisons économiques envisageable au champ, mais elle peut l'être pour contrôler l'état sanitaire d'un parc à multiplication destiné à la production de boutures saines . Les cultivars tolérants satisfaisant le paysan n'étant pas encore disponibles, il est important de promouvoir ce type d'unité de production, en particulier, en zone de forêt où la maladie est peu présente .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A.C.C.T. - 1981 - Le manioc : sa culture et sa transformation. Etude présentée par le STEC à l'ACCT. Ed. Agence de Coopération Culturelle et Technique. Paris : 30 p.
- ADRIAENS, E.L. - 1957 - L'introduction du manioc en Afrique. Bull. Agron. Congo Belge , 48 (3) 743-746.
- ALLEM, A.C. - 1987 - *Manihot esculenta* is a native of the neotropics . Plant Genetic Resource Newsletter, 71, 22 - 24.
- ALVES, M.L. & TAKATSU, A. - 1984 - Variabilidae em *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* . Fitopatologia Brasileira, 9 : 485-494.
- AMARAL, J.F. do & VASLONCELLOS, L.G. - 1945 - Novos estudos da agente etiologico da bacteriose da mandioca. Arg. Inst. Biol. São Paulo, 16 : 361-368.
- ARIMA, K. ; YAMASHITA, T. ; HOSODA, J. & TAMURA, G. - 1970 - Studies on substances active on the behavior of planarian : I. Production of trans-3-methylthioacrylic acid and 3-methylthiopropionic acid by microorganisms. Agric. biol. Chem., 34 : 1178-1183.
- ATHAYDE, J.T. & ROMEIRO, R.S. Da - 1981 - Biological activity of extra-cellular polysaccharide of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. In : 5th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Cali. Colombia. p. 134.
- ATHAYDE, J.T. & ROMEIRO, R.S. Da - 1983a - Biological activity of exopolysaccharides of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Fitopatologia Brasileira, 8 (3) : 485-490.
- ATHAYDE, J.T. & ROMEIRO, R.S. Da - 1983b - Use of tetrazolium to detect virulence in *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Fitopatologia Brasileira, 8 (2) : 283-290
- BASHAN, Y. - 1987 - Mechanisms of symptom production by foliar bacterial pathogens . Phytoparastica, 15 (3) : 197 - 223 .
- BAYLES, M.B. & JOHNSON, W.M. - 1985 - Growth of homologous and heterologous

phytopathogenic bacteria in cotton lines susceptible resistant and immune to blight. Phytopathology, 75 : 515-519.

BECK, B.D.A.- 1982 - Historical perspectives of cassava breeding in Africa . in : Root Crops in Eastern Africa : Proc. of Workshop held in Kigali, Rwanda, 23 - 27 Nov. 1980, Ottawa, Canada, IDRC - 117 ème, 13 - 18 .

BECKMAN, G.H. - 1964 - Host responses to vascular infection. Ann. Rev. Phytopathol., 2 : 231-252.

BOCCAS, B. ; BOHER, B. ; KOLHER, F. & PELLEGRIN, F. - 1976 - Une nouvelle maladie du manioc en République Populaire du Congo : la bactériose vasculaire. Rapp. ORSTOM, Brazzaville, Rép. Pop. Congo : 14 p.

BOCK, K.R. & HARRISON, B.D. - 1985 - African mosaic virus. In CMI/AAB. Description of Plant Viruses, Commonwealth Agric. Bureaux, N°297.

BOHER, B. & DANIEL, J.F. - 1981 - Observation sur les symptômes de maladies, sur l'appareil aérien des cultivars de manioc en collection à Odziba. Rapport ORSTOM. Brazzaville. Rép. Pop. Congo : 2 p.

BOHER, B. & DANIEL, J.F. - 1982 - Etude de la localisation de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* agent de la bactériose vasculaire dans les tiges de manioc (*Manihot esculenta* Crantz). Rapport ORSTOM. Brazzaville, Rép. Pop. Congo : 8 p.

BOHER, B. & DANIEL, J.F. - 1985 - Recherche des sites d'expression de la tolérance vis-à-vis de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* (Arthaud-Berthet) Starr. chez certains cultivars de manioc (*Manihot esculenta* Crantz). Agronomie, 5 (8) : 677-683.

BOHER, B. ; DANIEL, J.F. & KOHLER, F. - 1981 - Les maladies cryptogamiques du manioc. Cryptogamie - Mycologie, 2 : 257-268.

BOHER, B. ; DANIEL, J.F. ; FABRES, G. & BANI, G. - 1983 - Action de *Pseudotheraptus devastans* (Distant) (*Het. Coreidae*) et de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. dans le développement de chancres et de la chute des feuilles chez le manioc (*Manihot*

esculenta Crantz) . Agronomie, 3(10) : 989-994 .

BOHER, B. & GROUSSON, F. - 1986 - Lutte chimique contre la bactériose vasculaire du manioc. Expériences préliminaires *in vitro* et *in vivo* . Rapport ORSTOM. Brazzaville. Rép. Pop. Congo : 4 p.

BOLHOOL, B.B. & SCHMIDT, E.L. - 1970 - Immunofluorescence detection of *Rhizobium japonicum* in soils. Soil Sciences, 110 : 229-236.

BOLHOOL, B.B. & SCHMIDT, E.L. - 1973 - A fluorescent antibody technique for determination of growth rates of bacteria in soils. Bull. Ecol. Res. Comm. Stockholm, 17:336-338

BOOTH, R.H. & LOZANO, J.C. - 1978 - Cassava bacterial blight in South East Asia. Plant Dis. Rep., 62 : 529-530.

BONDAR, G. - 1912 - Uma nova molestia bacteriana das hastes da mandioca. Characas e Quintais. São Paulo, 5 : 15-18.

BOURIQUET, G. - 1946 - Maladie bactérienne ou "feu". In : Les maladies des plantes cultivées à Madagascar. Encyclopédie Mycologique. Ed. Paul Lechevallier, Paris, 12: 213-22.

BRADBURY, J.F. - 1977 - *Xanthomonas manihotis* . C.M.I. Description of pathogenic fungi, and bacteria . N° 559

BRADBURY, J.F. - 1986 - *Xanthomonas*. In : Guide to Plant Pathogenic Bacteria. International Mycological Institute. Ferry Lane. Kew. Surrey. England.

BRINKERHOFF, L.A. & HUNTER, R.E. - 1963 - Internally infected seed as a source of inoculum for the primary cycle of bacterial blight of cotton . Phytopathology, 53 : 1397-1401.

BROWN, J.G. - 1942 - Wind dissemination of angular loaf spot of cotton. Phytopathology, 61: 741-742.

BUDDENHAGEN, I.W. - 1965 - The relation of plant pathogenic bacteria to soil : 269-284.

- In: BAKER, K.F. & SNYDER, W.C. "Ecology of soil-borne plant pathogens". Berkeley Univ. Calif. Press : 571 p.
- BURKHOLDER, W.H. - 1942 - Three bacterial plant pathogens : *Phytomonas caryophylli* sp. *Phytomonas allicol* sp. and *Phytomonas manihotis* (Arthaud-Berthet et Bondar) Viegas. Phytopathology, 32 : 141-149.
- BURKHOLDER, W.H. & STARR, M.P. - 1948 - The generic and specific characters of phytopathogenic species of *Pseudomonas* and *Xanthomonas* . Phytopathology, 38 : 494-502.
- BUTARE, I. & MORTADE, J.M. - 1978 - La bactériose du manioc au Rwanda. Dans : La bactériose du manioc en Afrique. Compte-rendu du séminaire interdisciplinaire. IITA, Ibadan, Nigeria : 71.
- BUYCKX, E.J.E. - 1962 - Précis des maladies et des insectes nuisibles rencontrés sur les plantes cultivées au Congo, au Rwanda et au Burundi. Bruxelles - Institut National pour l'Etude Agronomique du Congo. p. 477.
- BYRNE, D. - 1984 - Breeding cassava. Plant Breed. Rev., 2 : 73-134
- CAFATI, C.R.. & SAETTLER, A.W. - 1980 - Effect of host-plant on multiplication and distribution of bean common blight. Phytopathology, 70 : 675-679.
- CANDOLLE, A. de - 1883 - Origine des plantes cultivées. Germer Baillière et Cie. Paris:377p
- CAULLIEZ, A. & FILLIAS, F. - 1979 - Conservation et exploitation des ressources génétiques afférentes à *Manihot esculenta* Crantz. Rapp. ORSTOM : p. 23.
- CHERIAN, M.T. & MATHEW, J. - 1983 - Toxin production by *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* the cassava bacterial blight pathogen. Indian Phytopathol., 36 (1) : 156-157.
- CHEVAUGEON, J. - 1956 - Les maladies cryptogamiques du manioc en Afrique Occidentale. Encyclopédie Mycologique. Edit. Paul Lechevalier : 205 p.

- CHOWDHURY, C.D. ; VERMA, J.OP. - 1981 - Phylloplane bacteria of *Gossypium hirsutum* associated with *Xanthomonas malvacearum*, the incitant of bacterial blight of cotton . Indian Phytopathol., 33 : 347 - 349 .
- C.I.A.T. - 1977 - Annual Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia.
- C.I.A.T. - 1980 - Annual Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia.
- C.I.A.T. - 1986 - CIAT Report. The cassava program : 24-30.
- COURS, G. - 1951 - Le manioc à Madagascar. Mémoires de l'Institut Scientifique de Madagascar ; 33 : 203-400.
- CROSSE, J.E. - 1959 - Bacterial canker of stone fruits . IV . Investigation of a method for measuring the inoculum potential of cherry trees . Ann. Appl. Biol., 47 : 306 - 317 .
- CROSSE, J.E. - 1963 -Bacterial canker of stone-fruits . V . A comparison of leaf-surface populations of *Pseudomonas morsprunorum* in autumn on two cherry varieties . Ann. Appl. Biol., 52 : 97-104.
- DANIEL, J.F. & BOHER, B. - 1978 - Ecology of cassava bacterial blight : epiphytic survival of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* on aerial parts of the cassava plant. Proc. 4th Int. Conf. Plant Path. Bact., Angers : 763-771.
- DANIEL, J.F. ; BOHER, B. ; MABANZA, J. & MAKAMBILA, C. - 1978 - La bactériose du manioc au Congo : étiologie, épidémiologie et lutte. Compte-rendu séminaire, IITA. Ibadan : 50-55.
- DANIEL, J.F. ; BOHER, B. & NKOUKA, N. - 1980 - Insect dissemination of *Xanthomonas manihotis* to cassava in the People's Republic of Congo. In : Tropical Root Crops Research Strategies for the 1980s. Terry, Oduro and Caveness Eds : 66-68.
- DANIEL, J.F. & BOHER, B. - 1981 - Fluorescent antibody technique for detection of

- Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* on cassava leaves. Proc. Fifth Conf. Plant Path. Bact. Cali : 176-180.
- DANIEL, J.F. ; BOHER, B. & KOHLER, F. - 1981 - Les maladies bactériennes du manioc (*Manihot esculenta* Crantz) en République Populaire du Congo et en République Centrafricaine. Agronomie., 9 : 751-758.
- DANIEL, J.F. & BOHER, B. - 1985a - Epiphytic phase of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* on serial parts of cassava. Agronomie, 5 (2) : 111-116.
- DHAVANTARI, B.N. - 1973 - Populations dynamics of *Xanthomonas pruni* on peach bud and leaf surface and its relation to other microflora. Abstr. Papers. 2nd Int. Cong. of Plant Path. Minneapolis.
- DEDAL, O.I. ; PALOMAR, M.K. & NAPIERE, C.M. - 1980 - Host range of *Xanthomonas manihotis* Starr. Ann. Tropical Res. 2 (3) : 149-155.
- DRUMOND, O.A. & HIPOLITO, O. - 1941 - Notas sobre a bacteriose da mandioca. Ceres, 2 : 281-307.
- DU PLESSIS, H.J. - 1984 - Scanning electron microscopy of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* in plum petioles and buds. Phytopathol. Z. 109 : 277-284.
- DU PLESSIS, H.J. - 1987 - Canker development on plum shoots following systemic movement of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* from inoculated leaves ; Phytopathology, 71 : 1078 - 1080 .
- DYE, D.W. - 1962 - The inadequacy of the usual determinative tests for the identification of *Xanthomonas* sp. N.Z.J. Sci., 5 (4) : 393-446.
- ELANGO, F. & LOZANO, J.C. - 1980 - Transmission of *Xanthomonas manihotis* in seed of cassava (*Manihot esculenta*). Plant Dis., 64 : 784-786.
- ELANGO, F.N. & LOZANO, J.C. - 1981a - Epiphytic survival of *Xanthomonas manihotis* on common weeds in Columbia. In : Proc. Fifth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. 16-23 Août, CIAT, Cali, Colombie : 640 p.

- ELANGO, F.N. ; LOZANO, J.C. & PERSON, J.F. - 1981b - Relationship between *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* et *Xanthomonas campestris* pv. cassava and colombian yellowish isolates. Proc. Fifth Conf. Plant Path. Bact., Cali : 176-180.
- ENE, L.S.O. - 1977 - Control of cassava blight (C.B.B.). Tropical Root and Tuber Crops Newsletter ; 10 : 30-31.
- ERCOLANI, G.L. - 1973 - Two hypotheses on the aetiology of response of plants to phytopathogenic bacteria . J. Gen. Microbiol., 75 : 83-95 .
- F.A.O. - 1981 - Les principaux pays producteurs de manioc et leurs productions. Annuaire F.A.O. de la protection 1980, vol. 34. Collection FAO : statistiques : 34 : 296 p.
- F.A.O. - 1985 - Collection FAO. Développement économique et social. Rapport et perspectives sur les produits. p. 40.
- FAULWETTER, R.C. - 1917 - Dissemination of the angular leaf spot of cotton . J. Agric. Res., 8: 457 - 475 .
- FAURE, M. ; DUPOUEY, P. & MORELEC, M.U. - 1987 - Les techniques de l'immunofluorescence et les réactions immunoenzymatiques. Cours Institut Pasteur, Maloine S.A. Editeur : 566 p.
- FEREOL, L. - 1978 - Multiplication végétative et élimination de la mosaïque du manioc par thermothérapie sur les plantes cultivées *in vitro* . In : Diseases of tropical crops. Proceeding of an international symposium : 285-295.
- GIRARD, J.C. - 1978 - Rapport de mission en République Populaire du Bénin sur les problèmes phytosanitaires du manioc. IRAT, Montpellier: 10 p.
- GOTO, M. - 1972 - Survival of *Xanthomonas citri* in the bark tissues of citrus trees . Can. J. Bot., 50 : 2629-2635.
- GOTO, M. & HYODO, H. - 1985 - Role of extracellular polysaccharides of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* in the early stage of infection. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn., 51: 22-31.

- GRAHAM, J.H. & Mc GUIRE, R. G. - 1987 - Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* in citrus plant debris and soils in Florida and Argentina. Plant Disease, 74 (12) : 1094-1098.
- GROUSSON, F. - 1986 - Variabilité de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* . Thèse de Docteur Ingénieur. INA, Paris : 142 p.
- HAHN, S.K. - 1977 - Proc. Workshop Cassava mealybug, June 1977. Inera M'vuagi, Zaïre.
- HAHN, S.K.; TERRY, E.R.; LEUSCHNER, K.; AKOBUNDU, I.O.; OKOLI, C. & LAL, R. - 1979 - Cassava improvment in Africa. Field Crops Res., 2 : 193-226.
- HANSFORD, C.G. - 1937 - Annual report of the plant pathologist, 1936. Ann. Rep. Dep. Agric. Uganda, (part II) : 47-48.
- HARRISON, M.D. ; BRENER, J.W. & MERRUL, L.D. - 1980 - Insect involvement in the transmission of bacterial pathogens. In : Vectoro of Plant Pathogens. Ac. Press, Inc. ; 204-292. 467 p.
- HAYWARD, A.C. - 1974 - Latent infections bacteria. Ann. Rev. Phyto : 87-97.
- HEBERT, B.A. ; PITTMAN, B. ; McKENNY, R.M. ; CHERRY, W.B. - 1972 - The preparation of physiological characterization of fluorescent antibody reagents . in Ann. Rep. U.S.D. Health Educ. Welfare. Center for Disease Control. Atlanta . 9- 16
- HERNANDEZ, J.M. ; LABERRY, R. & LOZANO, J.C. - 1986 - Observations on the effect of inoculating Cassava (*Manihot esculenta*) plantless with fluorescent *Pseudomonads* . J. Phytopathol., 117 : 17-25.
- HERSHEY, C.H. - 1984 - Breeding of cassava for adaptation to stress condition : development of a methodology . 6 th symp. of Int. Soc. for Trop. Root Crops, Lima, Peru : 303 - 314 .
- HILDEBRAND, E.M. - 1935 - Modes of entrys of *Erwinia amylovora* into the flowers of the principal pane fruits. Phytopathology, : 35-40.

- HIRANO, S.S. & UPPER, D.U. - 1983 - Ecology and Epidemiology of foliar bacterial plant pathogens. Ann. Rev. Phyto. : 243-269.
- HIRANO, S.S. ; NORDHEIM, E.V. ; ARNY, D.C. & UPPER, C.D. - 1982 - Lognormal distribution of epiphytic bacterial populations on leaf surfaces. Appl. Environ. Microbiol., 44 (3) : 695-700.
- HOCKENHULL, J. - 1978 - The adaptation of the fluorescent antibody technique for in situ - detection of bacterial antigen in serial sections of plant tissue. Proc. 4th Int. Conf. Plant Pathol. Bacteria, Angers, France : 333-336.
- I.I.T.A. - 1982 - Root and tuber crops production. Manual series, n° 9.
- I.I.T.A. - 1984 - Africa wide biological. Control of Cassava mealybug and green spider mites. Information series, n° 16.
- IKOTUN, T. - 1976 - Survival of *Xanthomonas manihotis* , the cassava bacterial blight pathogen. Rep. of an interdisciplinary workshop hold at IITA, Ibadan, Nigeria:24-27
- IKOTUN, T. - 1981a - Studies on the host range of *Xanthomonas manihotis*. Fitopatologia Brasileira. 6, 1-14.
- IKOTUN, T. - 1982 - The survival of *Xanthomonas manihotis* (Arthaud, Berthet) Starr in the soil. Fitopatologia Brasileira, 7 : 29-36.
- IKOTUN, T. - 1984 - The nature and function of the extracellular polysaccharide produced by *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* . Fitopatologia Brasileira, 9 : 467-473.
- JENNINGS, D.L. - 1972 - Breedings for resistance to cassava viruses in East Africa. In : Proc. Cassava Mosaic Workshop. IITA, Ibadan, Nigeria, 40.
- JONES, - 1959 - Manioc in Arica . Stanford University Press, 315 p.
- KAISER, W.J. & VAKUI, N.G. -1978 - Insect transmission of pathogenic Xanthonomads to bean and cowpea in Puerto Rico. Phytopathology, 68, 1057-1063.

- KARTHA, K.K. ; GAMBORG, O.L. ; CONSTABLE, F. & SHYLUK, Y.P. - 1974 - Regeneration of cassava plants from apical meristem. Plant Sci. Lett., 2 : 107-113.
- KARTHA, K.K. & GAMBORG, O.L. - 1975 - Elimination of cassava mosaic disease by meristem culture. Phytopathology, 65 : 826-828.
- KARTHA, K.K. ; LEUNG, N.L. & MIKOGINSKI, L.A. - 1982 - *In vitro* growth response and plant regeneration from cryopreserved meristems of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Z. Pflanzenphysiol., 107 (2) : 133-140.
- KAUFFMAN, H.E. & REDDY, A.P.HK. - 1975 - Seed transmission studies of *Xanthomonas oryzae* on rice . Phytopathology, 65 : 663-666 .
- KAWANO, K.; ALVARO AMAYA, P.; DAZA P. ; RIOS M. - 1978 - Factors affecting efficiency of hybridization and selection in cassava. Crop Science, 18 : 373-376.
- KETT, G.W. & IVANOFF, S.S. - 1941 - Transmission of fire blight by bees and its relation to nectar concentration of apple and pear blossoms. J. Agr. Res. ; 62 : 745-753.
- KOIKE, H. - 1968 - Leaf scald of sugarcane in continental United States - A first report . Plant Disease Reporter, 52 : 646-649.
- KORAM, J. ; AMOAKOH, S. & ODURO K.A; - 1978 - La situation actuelle de la bactériose du manioc au Ghana. Dans : La bactériose du Manioc en Afrique. Compte-rendu du Séminaire interdisciplinaire. IITA, Ibadan, Nigeria, 28-30 Juin 1978 : 59-60.
- KUAN, T.L. ; MINSAVAGE, G.V. ; SCHAAD, N.W. - 1982 - Airborne dispersal of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* . Phytopathology, 72 : 945 .
- KWAGE, S.L. - 1982 - Bacterial blight on cassava. F.A.O. Plant Prot. Bull., 30 (2) : 82-83.
- LAMBOTTE, M. - 1978 - Etude de la résistance à la bactériose du manioc : histopathologie et recherche de substance bactériotoxique. Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Licencié en Sciences naturelles appliquées. Université Catholique de Louvain, Louvain la Neuve, 53 p.

- LEACH, J.G. - 1964 - Observation on cucumber beetle as vector of cucurbit wilt. Phytopathology, 54 : 605-607.
- LEBEN, C. - 1963 - Multiplication of *Xanthomonas vesicatoria* on tomato seedlings . Phytopathology, 53, 778-781.
- LEBEN, C. - 1965 - Epiphytic microorganisms in relation to plant disease. Ann. Rev. Phytopathol., 3 : 209-330.
- LEBEN, C. & DAFT, G.C. - 1967 - Population variations of epiphytic bacteria . Can. J. Microbiol., 13: 1151 - 1156 .
- LEBEN, C. - 1981 - Plant-pathogenic bacteria survive. Plant Disease, 65 (8) : 633-637.
- LEFEVRE, - 1988 - Ressources génétiques et amélioration du manioc, *Manihot esculenta* Crantz, en Afrique . Thèse. Institut National Agronomique Paris - Grignon, 175 p.
- LINDEMANN, J. ; ARNY, D.C. & UPPER, C.D. - 1984 - Use of an apparent threshold population of *Pseudomonas syringae* to product incidence and severity of Brown spot of bean. Phytopathology, 74 (11) : 1334-1339.
- LINDEMANN, J. ; ARNY, D.C. & UPPER, C.D. - 1984 - Epiphytic populations of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on snap bean and non host plants and the incidence of bacterial brown spot disease in relation to cropping patterns. Phytopathology, 74 (11) : 1329-1333.
- LOPER, J.E. ; SUSLOW, T.V. & SCHROTH, M.N. - 1984 - Lognormal distribution of bacterial populations in the rhizosphere. Phytopathology, 74 : 1454-1460.
- LOZANO, J.C. & BOOTH, R.H. - 1974 - Diseases of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). PANS, 20 (1) : 30-54.
- LOZANO, J.C. & SEQUEIRA, L. - 1974a - I - Bacterial blight of cassava in Colombia Etiology. Phytopathology, 64 : 74-82.
- LOZANO, J.C. & SEQUEIRA, L. - 1974b - II - bacterial blight of Cassava in Colombia :

- Epidemiology and Control. Phytopathology, 64 : 83-88.
- LOZANO, J.C. - 1975 - Bacterial blight of cassava. PANS, 21 : 38-43.
- LOZANO, J.C. & LABERRY, R. - 1982 - Screening for resistance to cassava bacterial blight. Plant Disease, 66 (4) : 316-318.
- LOZANO, J.C. - 1986a - Cassava bacterial blight : Manageable disease. Plant Dis., 70 (12) : 1089-1093.
- LOZANO, J.C. ; LABERRYb, R. & BERMUDEZ, A. - 1986 - Microwave treatment to eradicate seed-borne pathogens in cassava true seed. J. Phytopathol., 117 : 1-8.
- LUISETTI, J. & PAULIN, J.P. - 1972 - Recherche de *Pseudomonas syringae* (Van Hall) à la surface des organes aériens du poirier et étude de ses variations quantitatives. Ann. Phytopathol., 4 : 215-227.
- MABANZA, J. & JONARD, R. - 1981 - La multiplication des clones de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) à partir d'apex isolés *in vitro* . C.R. Acad. Sci., 292, série III : 839-842.
- MABANZA, J. & JONARD, R. - 1984b - La régénération de plantes de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) par néoformation de bourgeons à partir de cotylédons extraits de semences mures et immatures. Bull. Soc. Bot. Fr., 2 : 91-95.
- MABANZA, J. - 1986 - La sélection du manioc pour la résistance à la bactériose : bilan de 10 années de travaux (1976-1986). Rapport ORSTOM, 11 p. Brazzaville, République Populaire du Congo.
- MABIALA N'DOUENGOSSE, E. - 1988 - Contribution à la lutte contre la bactériose vasculaire et la mosaïque africaine du manioc par la production de matériel végétal sain . Mémoire d'Ingénieur de développement Rural . ORSTOM. Brazzaville, République Populaire du Congo : 64 p.
- MANICON, B.Q. ; BECKER, M.M. & DESCHOOT, C. - 1981 - First report of Cassava bacterial blight in South Africa. Phytophylactica, 13 : 195-196.

- MARAITE, H. & MEYER, J.A. - 1975 - *Xanthomonas manihotis* . (Arthaud, Berthet). Starr causal agent of bacterial wilt and leaf spot of cassava in Zaïre. PANS, 21 : 27-37.
- MARAITE, H. & PERREAUX, D. - 1978 - Developpement comparatif des symptômes chez du manioc après infection par *Xanthomonas manihotis* ou *Xanthomonas cassavae* en conditions contrôlées. Dans : La bactériose du manioc en Afrique : le passé, le présent, l'avenir. Compte-rendu interdisciplinaire IITA, Ibadan, Nigeria, 26-30 Juin : 18-25.
- MARAITE, M. ; WEYNS, J. YINKWAN, O. ; LIPEMBRA, P. & PERREAUX, D. - 1981 - Physiological and pathogenic variations in *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* . In : Proc. Fifth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. 16-30 Août, Cali, Colombia : 640 p.
- MATTHYSSE, A.G. ; HOLMES, K.V. & GURLITZ, R.H.G. - 1981 - Elaboration of cellulose fibrils by *Agrobacterium tumefaciens* during attachment to carrot cells. J. Bacteriol., 145 (1) : 583-595.
- MEW, T.W. & KENNEDY, B.W. - 1982 - Seasonal variation in populations of pathogenic pseudomonads on soybean leaves . Phytopathology, 72 : 103-105 .
- MEW, T.W. ; MEW, J.C. & HUANG, J.S. - 1984 - Scanning electron microscopy of virulent and avirulent strains of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* on rice leaves. Phytopathology, 74 : 635-641.
- MILES, W.G. ; DAINES, R.H. & RUE, W.J. - 1977 - Presymptomatic aggress of *Xanthomonas prunii* from infected peach leaves. Phytopathology, 67 : 895-897.
- MILLER, T.D. & SCHROTH, M.N. - 1972 - Monitoring the epiphytic population of *Erwinia amylovora* on pear with selective medium. Phytopathology, 62 : 1175-1182.
- MOREIRA, C.L. ; TAKATSU, A. & CALDAS, L.S. - 1977 - Recovery of cassava plants free from *Xanthomonas manihotis* meristem culture. Fitopatologia Brasileira, 2 : 217-223.
- MULREAN, E.N. & SCHROTH, M.N. - 1982 - Ecology of *Xanthomonas campestris* pathovar *juglandis* on Persian (English) walnuts. Phytopathology, 72 : 434-438.

- NAIR, R.R. ; PAILY, P.V. & MENON, M.R. - 1981 - Symptomatology and etiology of bacterial blight of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Agric. Res. J. Kerala, 19 (1) : 59-62
- NASSAR, N.M.A. - 1978 - Conservation of the genetic resources of cassava (*Manihot esculenta*) : Determination of wild species localities with emphasis on probable origine . Economic Botany, 26 : 352 - 360 .
- NELSON, D.E. - 1979 - Histopathology of plants infected with vascular bacterial pathogens. Ann. Rev. Phytopathol., 8 : 259-279.
- NODA, T. ; ZENJI, S. ; HISAYOSHI, K. ; SHIGEO, J. & SHIGENOBU, O. - 1980 - Isolation and structural elucidation of phytotoxic substances produces by *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn, 46 : 663-666.
- NOTTEGHEM, J.L. ; CHATENET, M. & POUZET, D. - 1980 - Mise en évidence de *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* agent de dépérissement du manioc en République de Côte d'Ivoire. Agronomie Tropicale, 66 (4) : 189-191.
- NYIIRA, Z.M. & OTIM-NAPE, G.N. - 1978 - La bactériose du manioc et les maladies mineures du manioc en Ouganda. Dans : La bactériose du manioc en Afrique. Compte-rendu du séminaire interdisciplinaire. IITA, Ibadan, Nigeria : 67-70.
- NYANGO, A.K. - 1978 - La bactériose du manioc dans quatre régions de la République Unie de Tanzanie. Dans : La bactériose du manioc en Afrique. Compte-rendu du séminaire interdisciplinaire. IITA, Ibadan, Nigeria : 45-49.
- OBIGBESAN, G.O. & MATULUKO, E.O. - 1976 - Effect of potassium and bacterial blight on the yield and chemical composition of cassava cultivar. In : Proceedings of the 4th symp. Int. Soc. Trop. Root Crops. CIAT, Columbia : 185-188.
- O'BRIEN, R.D. & LINDOW, S.E. - 1989 - Effect of plant species and environmental conditions on epyphytic population sizes of *Pseudomonas syringae* and other bacteria. Phytopathology, 79 (5) : 619-627.
- OLYMPIO, H.K. - 1978 - Aspects de la bactériose du manioc au Togo .Dans : La bactériose du

manioc en Afrique. Compte-rendu du séminaire interdisciplinaire IITA, Ibadan, Nigeria : 58.

ONYANGO, D.M. & RAMOS, A.H. - 1978 - La bactériose du manioc au Kenya. Dans : La bactériose du manioc en Afrique. Compte-rendu du séminaire interdisciplinaire IITA, Ibadan, Nigeria : 26-29.

ONYANGO, D.M. & MUKUNYA, D.M. - 1980 - Distribution and importance of *Xanthomonas manihotis* and *Xanthomonas cassavae* in East africa. In : Proceedings of workshop hold in Kyoli, Rwanda : 17-19.

ORTIZ, G.C.F. ; RUIZ, B.P. & IBARRA, F.A. - 1985 - Effect of chemicals products of disinfecting cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cuttings with bacteria blight caused by *Xanthomonas manihotis* (Arthaud, Berthet), Starr. Rev. Mexicana Fitopatol., 3(2) : 9-14.

PAULIN, J.P. - 1984 - Le feu bactérien des pomoideae : facteurs conditionnant la gravité des attaques ; C.R. Acad. Agric., 70: 217 - 229 .

PERREAUX, D. ; MARAITE, H. & MEYER, J. - 1978 - Histopathological study by fluorescent microscopy of cassava stems infected by *Xanthomonas manihotis* . Proc. 4th Int. Conf. Path. Bact., Angers : 935-941.

PERREAUX, D. - 1981 - Etude de la pathogenèse de la bactériose du manioc. Identification d'une substance toxique produite par *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* in vivo et in vitro . Ph. D. Thesis, Université Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgique.

PERREAUX, D. ; MARAITE, H. & MEYER, J.A. - 1982 - Identification of 3 (methylthio) propionic acid as a blight inducing toxin produced by *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* in vitro . Physiol. Plant Pathol., 30 : 313-319.

PERREAUX, D. ; MARAITE, H. & MEYER, J.A. - 1986 - Detection of 3 (methylthio) propionic acid in cassava leaves infected by *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* . Physiol. Mol. Plant. Pathol., 28 : 323-328.

- PERSLEY, G.J. - 1976 - Distribution and importance of cassava bacterial blight in Africa. In: Persley, G.J. & Terry, E., Ed. Cassava bacterial blight in Africa. Rep. IITA, Ibadan, Nigeria : 9-14.
- PERSLEY, G.J. - 1978 - Etudes sur l'épidémiologie et l'écologie de la bactériose du manioc. La bactériose du manioc en Afrique : le passé, le présent, l'avenir. IITA, Ibadan, Nigeria: 5-8.
- PERSLEY, G.J. - 1979 - Studies on the survival and transmission of *Xanthomonas manihotis* on cassava seed. Ann. Appl. Biol., 93 : 159-166.
- PHILLIPS, J.A. & KELMAN, A. - 1982 - Direct fluorescent antibody stain procedure applied to insect transmission of *Erwinia carotovora* . Phytopathology, 72 : 898 - 901 .
- POUNDZOU, J. - 1987 - Contribution à la mise au point de techniques de lutte contre la bactériose vasculaire dans le cadre d'un parc à multiplication végétative de manioc. Mémoire d'Ingénieur de développement Rural . ORSTOM. Brazzaville, République Populaire du Congo : 62 p.
- PRUVOST, O. & GARDAN, L. - 1988 - Etude de l'implantation épiphyllé de *Xanthomonas campestris* pv. *corylina*, *X. campestris* pv. *juglandis*, *Erwinia* et *Pseudomonas paucimobilis* sur feuille de noisetier. Agronomie, 8(10) : 925-932.
- PURVIS, M.J., COLLIER, D.C., WALLS, D. - 1966 - Laboratory techniques in botany . Butterworth and Co. publisher . p. 370 .
- RAMOS, A.H. - 1979 - Bacterial blight of coffee : inoculum supply and avenues of infection . Plant Dis. Rep., 63 : 6 - 10 .
- RIDE ,M. ; RIDE, S. - 1978 - Factors affecting inoculation success in woody plants . Proc. 4th Int. Conf. Plant Path. Bact., Angers : 957 -968.
- ROBBS, C.F. ; RIBEIRO, R. de L. ; KIMURA, O. & AKIBA, F. - 1972 - Variations in *Xanthomonas manihotis* (Arthaud, Berthet) Starr. Rev. Soc. Brasileira de Fitopatol., 5 : 67-75.

- ROBESON, D.J. & COOK, D.R. - 1985 - Production of low molecular weight carboxylic acids by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in relation to the amino acid composition of the medium and their possible involvement in pathogenesis. Physiol. Plant Pathol., 26 : 219-230.
- ROGER, L. - 1951 - Phytopathologie des régions chaudes. Tome 1, Ed. Lechevalier, Paris.
- ROGERS, D.J. - 1963 - Studies of *Manihot esculenta* Crantz and related species . Bull. Torrey Bot. Club, 90 : 43-54 .
- ROGERS, D.J. - 1965 - Some botanical and ethnological considerations of *Manihot esculenta* . Econ. Bot., 19: 369-377 .
- ROGERS, D.J. & APPAN, S.G. - 1973 - Flora neotropica monograph n° 13. *Manihot manihotoïdes* (Euphorbiaceae). Hafner Press Publisher : 272 p.
- ROOS, J.M.M. & HATTINGH, M.J. - 1983 - Scanning electron microscopy of *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* on sweet leaves. Phytopathol. Z., 108 : 18-25.
- ROUSE, D.I. ; NORDHEIM, E.V. ; HIRINO, S.S. & CUPPER, C.D. - 1985 - A model relating the probability of foliar disease invadence to the population frequencies of bacterial plant pathogens. Phytopathology, 75 (5) : 505-509.
- SADIK, S. - 1972 - Vegetative propagation of cassava. Ann. Rep. Intern. Inst. Top. Agric., Ibadan, Nigeria : 30-33.
- SAETTLER, A.W. & PERRY, S.K. - 1972 - Seed-transmitted bacterial diseases in Michigan navy beans, *Phaseolus vulgaris* . Plant Dis. Rep., 56 : 378-381 .
- SCHAAD, N.W. & KENDRICK, R. - 1975 - A quantitative method for detecting *Xanthomonas campestris* in crucifer seeds . Phytopathology, 65 : 1034-1036 .
- SCHAREN, A.L. - 1959 - comparative population trends of *Xanthomonas phaseoli* in susceptible, field tolerant, and resistant hosts . Phytopathology, 49 : 425-428 .
- SCHROTH, M.N. ; THOMSON, S.V. ; HILDEBRAND, D.C. ; MOLLER, W.J. - 1974 - Epidemiology

and control of fire blight . Ann. Rev. Phytopathol. ; 12 : 389 -412 .

SCHWARTZ, D. - 1969 - Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Eds Flammarion médecine-sciences, 3ème ed. : 318 p.

SILVESTRE, P. & ARRAUDEAU, M. - 1983 - Le manioc. Collection : Techniques Agricoles et Productions tropicales, XXXII, ACCT, Ed. G.P. Maisonneuve et Larose, Paris : 262 p.

SLEESMAN, J.P. & LEBEN, C. - 1976 - Bacterial dissection : Effects of temperature, relative humidity, and culture age en survival ; Phytopathology, 66 : 1334 - 1338.

SLY, L.I. - 1983 - Preservation of microbiol. cultures. Plant bacterial diseases : a diagnostic guide. Ed. P.C. Fany, G.L. Persley, Ac. Press, Sydney : 396 p.

SMITLEY, D.R. & McCARTER, S.M. - 1982 - Spread of *Pseudomonas syringae* pv. tomato of epiphytic populations and environmental conditions in disease development . Plant Dis., 66 : 713 - 717 .

SMITH, M.K. ; BIGGS, B.U. & SCOTT, K.J. - 1986 - In vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Plant Celle Tissue Organ Cult., 6 : 221-228.

STARR, M.P. - 1946 - The nutrition of phytopathogenic bacteria : I. Minimal nutritive requirements of the genus *Xanthomonas*. J. Bacteriol., 38 : 494-502.

STARR, M.P. & STEPHENS, W.L. - 1964 - Pigmentation and taxonomy of the genus *Xanthomonas*. J. Bacteriol., 87 (2) : 293-302.

TAKAHASHI, T. & DOKE, N. - 1984b - A role of extracellular polysaccharides of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* in bacterial adhesion to citrus leaf tissues in preinfectious stage. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn., 50 : 565-573.

TAKAHASHI, T. & DOKE, N. - 1985 - Purification and partial characterization of an agglutinin in citrus leaves against extracellular polysaccharides of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* . Physiol. Plant Pathol., 27 : 1-13.

- TAKATSU, A. & LOZANO, J.C. - 1975 - Translocation of the causal agent of bacterial blight of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in host tissues . Fitopatologia, 10 (1) : 13-22.
- TERRY, E.R. - 1977a - Cassava bacterial diseases. In : Proceedings cassava protection workshop. CIAT, Cali, Colombia, 7-12 November 1977. Eds. T. Brekalbaum, A. Belloti, J.C. Lozano : 75-84.
- TERRY, E.R. - 1977b - Fear of cassava bacterial blight in Africa makes control imperative. World Crops and Livestock., 29 (3) : 107-108.
- TERRY, E.R. - 1978 - Lutte intégrée contre la bactériose du manioc en Afrique. Dans : La bactériose du manioc en Afrique. Compte-rendu du séminaire interdisciplinaire. IITA, Ibadan, Nigeria : 36-40.
- THRI MURTY, V.S. & DEVADATH, S. - 1981 - Studies on epiphytic survival of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* some gramineous weeds. Indian Phytopathol., 34 : 279-281
- THOMSON, S.V. - 1986 -The role of stigma in fire blight infections. Phytopathology, 76 (5) :476-482
- TIMMER, L.W. ; MAROIS, J.J. & ACHOR, D. - 1987 - Growth and survival of Xanthomonads under conditions non conducive to disease development. Phytopathology, 77 (9) : 1341-1345.
- VAN DEN MOOTER, M. ; MARAITE, H. ; MEIRESONNE, L. ; SWINGS, J. ; GILLIS, M. ; KERSTERS, K. & DE LEY, J. - 1987 - Comparaison between *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* and *X. campestris* pv. *cassavae* by mean of phenotypic protein electrophoretic, DNA, hybridization and phytopathological techniques. J. gen. Microbiol., 133 (1) : 57-71.
- VAVILOV,NI - 1951 - The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants . Chronica Botanica , 13 : 364 p.
- VENETTE,J.R. - 1979 - Detection of *Xanthomonas phaseoli* downwind from an aerosol generator . In abstracts of papers, Int. Congr. Plant Protection, and Ann. Meet. Am.

Phytopathol. Soc., 71st Abstr. 233 St Paul, Minn. : Am. Phytopathol. Soc.

WALKER, J.C. & PATEL, P.N. - 1964 - Splash dispersal and wind factors in epidemiology of holo blight of bean. Phytopathology, 54 : 140-141.

WELLER, D.M. ; SAETTLER, A.W. - 1980 - Colonization and distribution of *Xanthomonas phaseoli* and *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* in field- grown navy bean . Phytopathology, 70 : 500-506 .

WIEHE, P.O. & DOWSON, W.J. - 1953 - A bacterial disease of cassava (*Manihot utilisia*) in: Nyasiland. Emp. J. Exp. Agr., 21 : 140-143.

WILLIAMS, R.J. ; AGBOOLA, S.D. & SCHNEIDER, R.W. - 1973 - Bacterial wilt of cassava in Nigeria. Plant Dis. Rep., 57 (10) : 824-827.

WODAGENEH, A. - 1985 - Cassava and cassava pests in Africa. F.A.O. PLANT Prot. Bull., 33 (3) : 101-108.

YOUNG, J.M. ; DYE, J.F. ; BRADBURY, G.G. ; PANAGOPOULOS, C.G. & ROBBS, C.F. - 1978 - A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. N.Z.J. agric. Res., 21 : 153-177.

ZOUNDJIHEKPON, - 1986 -Etude de la variabilitémorphophysiologique et enzymatique de cultivars de *Manihot esculenta* Crantz . Thèse de 3 ème cycle, F.A.S.T., Université Natioanale de Côte d'Ivoire, N°97, 120 p.

ANNEXES

Annexe I : Analyse de variance sur les motennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles des cultivars Mpembé, Maloenda, MB 27 et MB 38 dans les conditions du champ en Janvier

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	4	1,251	,313	,784	,5532
Intra-individus	15	5,984	,399		
facteur répété	3	1,731	,577	1,628	,2349
résidus	12	4,253	,354		
Total	19	7,235			

Fiabilité pour- toutes les séries : -,276 Une seule série : -,057

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréqu. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	5	4,732	,676	,302
MALOENDA	5	4,166	,398	,178
MB 27	5	4,14	,654	,293
MB 38	5	4,75	,577	,258

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MALOENDA	,566	,82	,753	1,503
MPEMBE vs. MB 27	,592	,82	,824	1,572
MPEMBE vs. MB 38	-,018	,82	,001	,048
MALOENDA vs. MB 27	,026	,82	,002	,069
MALOENDA vs. MB 38	-,584	,82	,802	1,551
MB 27 vs. MB 38	-,61	,82	,875	1,62

Annexe I : Analyse de variance sur les motennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles des cultivars Mpembé, Maloenda, MB 27 et MB 38 dans les conditions du champ en Février

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	4	,626	,156	,22	,9228
Intra-individus	15	10,641	,709		
facteur répété	3	2,383	,794	1,154	,3673
résidus	12	8,259	,688		
Total	19	11,267			

Fiabilité pour- toutes les séries : -3,536 Une seule série : -,242

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréqu. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	5	6,1	,78	,349
MALOENDA	5	6,248	,648	,29
MB27	5	5,6	,854	,382
MB38	5	5,41	,68	,304

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MALOENDA	-,148	1,143	,027	,282
MPEMBE vs. MB27	,5	1,143	,303	,953
MPEMBE vs. MB38	,69	1,143	,576	1,315
MALOENDA vs. MB27	,648	1,143	,508	1,235
MALOENDA vs. MB38	,838	1,143	,85	1,597
MB27 vs. MB38	,19	1,143	,044	,362

Annexe I : Analyse de variance sur les motennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles des cultivars Mpembé, Maloenda, MB 27 et MB 38 dans les conditions du champ en Mars

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	4	,872	,218	,279	,8867
Intra-individus	15	11,7	,78		
facteur répété	3	8,288	2,763	9,716	,0016
résidus	12	3,412	,284		
Total	19	12,572			

Fiabilité pour- toutes les séries : -2,578 Une seule série : -,22

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréqu. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	5	6,7	,474	,212
MALOENDA	5	6,54	,391	,175
MB27	5	5,1	,552	,247
MB38	5	5,74	,623	,279

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MALOENDA	,16	,735	,075	,474
MPEMBE vs. MB27	1,6	,735 *	7,503 *	4,744
MPEMBE vs. MB38	,96	,735 *	2,701	2,847
MALOENDA vs. MB27	1,44	,735 *	6,077 *	4,27
MALOENDA vs. MB38	,8	,735 *	1,876	2,372
MB27 vs. MB38	-,64	,735	1,2	1,898

* Significatif à 95%

Annexe I : Analyse de variance sur les motennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles des cultivars Mpembé, Maloenda, MB 27 et MB 38 dans les conditions du champ en Avril .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	4	3,174	,794	,529	,716
Intra-individus	15	22,486	1,499		
facteur répété	3	17,72	5,907	14,873	,0002
résidus	12	4,766	,397		
Total	19	25,66			

Fiabilité pour- toutes les séries : -,889 Une seule série : -,133

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	5	7,3	,704	,315
MALOENDA	5	7,62	,427	,191
MB27	5	5,29	,84	,376
MB38	5	6,05	,776	,347

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MALOENDA	-,32	,869	,215	,803
MPEMBE vs. MB27	2,01	,869 *	8,477 *	5,043
MPEMBE vs. MB38	1,25	,869 *	3,279	3,136
MALOENDA vs. MB27	2,33	,869 *	11,391 *	5,846
MALOENDA vs. MB38	1,57	,869 *	5,172 *	3,939
MB27 vs. MB38	-,76	,869	1,212	1,907

* Significatif à 95%

Annexe I : Analyse de variance sur les motennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles des cultivars Mpembé, Maloenda, MB 27 et MB 38 dans les conditions du champ en Mai.

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	4	,477	,119	,067	,991
Intra-individus	15	26,785	1,786		
facteur répété	3	15,494	5,165	5,489	,0131
résidus	12	11,291	,941		
Total	19	27,262			

Fiabilité pour- toutes les séries : -13,97 Une seule série : -,304

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréqu. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	5	7,1	,765	,342
MALOENDA	5	6,9	,935	,418
MB27	5	5,1	,834	,373
MB38	5	5,42	,887	,397

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MALOENDA	,2	1,337	,035	,326
MPEMBE vs. MB27	2	1,337 *	3,543 *	3,26
MPEMBE vs. MB38	1,68	1,337 *	2,5	2,738
MALOENDA vs. MB27	1,8	1,337 *	2,87	2,934
MALOENDA vs. MB38	1,48	1,337 *	1,94	2,412
MB27 vs. MB38	-,32	1,337	,091	,522

* Significatif à 95%

Annexe I : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles des cultivars Mpembé, Maloenda, MB 27 et MB 38 dans les conditions du champ en Juin .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	4	2,097	,524	1,432	,2717
Intra-individus	15	5,493	,366		
facteur répété	3	2,442	,814	3,201	,0622
résidus	12	3,051	,254		
Total	19	7,589			

Fiabilité pour- toutes les séries ,302 Une seule série :,097

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe	Fréq.	Moy. :	Dév.Std.	Erreur Std.
MPEMBE	5	3,94	,805	,36
MALOENDA	5	4,64	,559	,25
MB27	5	3,76	,378	,169
MB38	5	3,84	,428	,191

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy.	PLSD de Fisher	F de Scheffé	t de Dunnett
MPEMBE vs. MALOENDA	-,7	,695*	1,606	2,195
MPEMBE vs. MB27	,18	,695	,106	,564
MPEMBE vs. MB38	,1	,695	,033	,314
MALOENDA vs. MB27	,88	,695*	2,538	2,759
MALOENDA vs. MB38	,8	,695*	2,098	2,509
MB27 vs. MB38	-,08	,695	,021	,251

Significatif à 95%

Annexe II : Analyse de variance sur les moyennes des populations de X. c. pv. manihotis présentes sur les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions de l'inoculation artificielle .TO : analyse après inoculation

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,395	,197	,595	,5716
Intra-individus	9	2,985	,332		
facteur répété	3	,847	,282	,792	,5413
résidus	6	2,138	,356		
Total	11	3,38			

Fiabilité pour- toutes les séries : -,679 Une seule série : -,113

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréqu. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	3	4,133	,351	,203
MB27	3	4,5	,656	,379
MB38	3	3,8	,5	,289
30555	3	4,367	,681	,393

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MB27	-,367	1,193	,189	,752
MPEMBE vs. MB38	,333	1,193	,156	,684
MPEMBE vs. 30555	-,233	1,193	,076	,479
MB27 vs. MB38	,7	1,193	,687	1,436
MB27 vs. 30555	,133	1,193	,025	,274
MB38 vs. 30555	-,567	1,193	,451	1,163

Annexe II : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions de l'inoculation artificielle .T1 : analyse 1 jour après inoculation

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	1,545	,772	2,078	,1811
Intra-individus	9	3,345	,372		
facteur répété	3	1,417	,472	1,469	,3143
résidus	6	1,928	,321		
Total	11	4,89			

Fiabilité pour- toutes les séries : ,519

Une seule série : ,212

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréqu. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	3	3,4	,265	,153
MB27	3	4,2	,721	,416
MB38	3	3,633	,839	,484
30555	3	4,167	,666	,384

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MB27	-,8	1,133	,996	1,728
MPEMBE vs. MB38	-,233	1,133	,085	,504
MPEMBE vs. 30555	-,767	1,133	,914	1,656
MB27 vs. MB38	,567	1,133	,5	1,224
MB27 vs. 30555	,033	1,133	,002	,072
MB38 vs. 30555	-,533	1,133	,443	1,152

Annexe II : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions de l'inoculation artificielle .T4 : analyse 4 jours après inoculation

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	1,186	,593	3,525	,074
Intra-individus	9	1,514	,168		
facteur répété	3	,662	,221	1,555	,295
résidus	6	,852	,142		
Total	11	2,701			

Fiabilité pour- toutes les séries : ,716 Une seule série : ,387

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	3	4,75	,45	,26
MB27	3	4,5	,557	,321
MB38	3	4,267	,551	,318
30555	3	4,133	,451	,26

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MB27	,25	,753	,22	,812
MPEMBE vs. MB38	,483	,753	,822	1,571
MPEMBE vs. 30555	,617	,753	1,339	2,004
MB27 vs. MB38	,233	,753	,192	,758
MB27 vs. 30555	,367	,753	,473	1,192
MB38 vs. 30555	,133	,753	,063	,433

Annexe II : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions de l'inoculation artificielle .T6 : analyse 6 jours après inoculation

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,082	,041	,086	,918
Intra-individus	9	4,255	,473		
facteur répété	3	2,543	,848	2,972	,1188
résidus	6	1,712	,285		
Total	11	4,337			

Fiabilité pour- toutes les séries : -10,58 Une seule série : -,296

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréqu. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	3	5,8	,7	,404
MB27	3	5,133	,252	,145
MB38	3	5,4	,529	,306
30 555	3	4,533	,252	,145

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MB27	,667	1,067	,779	1,529
MPEMBE vs. MB38	,4	1,067	,28	,917
MPEMBE vs. 30 555	1,267	1,067*	2,812	2,905
MB27 vs. MB38	-,267	1,067	,125	,611
MB27 vs. 30 555	,6	1,067	,631	1,376
MB38 vs. 30 555	,867	1,067	1,316	1,987

* Significatif à 95%

Annexe II : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions de l'inoculation artificielle .T8 : analyse 8 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	1,053	,526	,787	,4841
Intra-individus	9	6,019	,669		
facteur répété	3	5,461	1,82	19,546	,0017
résidus	6	,559	,093		
Total	11	7,072			

Fiabilité pour- toutes les séries : -,27 Une seule série : -,056

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	3	6,433	,306	,176
MB27	3	5,9	,436	,252
MB38	3	6,1	,265	,153
30555	3	4,65	,673	,388

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MB27	,533	,61	1,527	2,14
MPEMBE vs. MB38	,333	,61	,597	1,338
MPEMBE vs. 30555	1,783	,61 *	17,075 *	7,157
MB27 vs. MB38	-,2	,61	,215	,803
MB27 vs. 30555	1,25	,61 *	8,389 *	5,017
MB38 vs. 30555	1,45	,61 *	11,289 *	5,819

* Significatif à 95%

Annexe II : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions de l'inoculation artificielle .T12 : analyse 12 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,487	,243	,235	,7955
Intra-individus	9	9,33	1,037		
facteur répété	3	8,563	2,854	22,339	,0012
résidus	6	,767	,128		
Total	11	9,817			

Fiabilité pour- toutes les séries : -3,26 Une seule série : -,237

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	3	6,7	,5	,289
MB27	3	6,2	,265	,153
MB38	3	5,933	,252	,145
30555	3	4,433	,493	,285

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MB27	,5	,714	,978	1,713
MPEMBE vs. MB38	,767	,714*	2,3	2,627
MPEMBE vs. 30555	2,267	,714*	20,104*	7,766
MB27 vs. MB38	,267	,714	,278	,914
MB27 vs. 30555	1,767	,714*	12,213*	6,053
MB38 vs. 30555	1,5	,714*	8,804*	5,139

* Significatif à 95%

Annexe II : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions de l'inoculation artificielle .T16 : analyse 16 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,287	,143	,145	,8673
Intra-individus	9	8,92	,991		
facteur répété	3	7,18	2,393	8,253	,015
résidus	6	1,74	,29		
Total	11	9,207			

Fiabilité pour- toutes les séries : -5,915 Une seule série : -,272

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Frégu. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	3	6,3	,173	,1
MB27	3	5,9	,854	,493
MB38	3	5,8	,4	,231
30555	3	4,267	,306	,176

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MB27	,4	1,076	,276	,91
MPEMBE vs. MB38	,5	1,076	,431	1,137
MPEMBE vs. 30555	2,033	1,076 *	7,128 *	4,624
MB27 vs. MB38	,1	1,076	,017	,227
MB27 vs. 30555	1,633	1,076 *	4,6	3,715
MB38 vs. 30555	1,533	1,076 *	4,054	3,487

* Significatif à 95%

Annexe II : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles du cultivars Mpembé (sensible) MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions de l'inoculation artificielle .T20 : analyse 20 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,545	,272	,164	,8514
Intra-individus	9	14,977	1,664		
facteur répété	3	13,889	4,63	25,524	,0008
résidus	6	1,088	,181		
Total	11	15,522			

Fiabilité pour- toutes les séries : -5,107 Une seule série : -,264

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	3	6,8	,608	,351
MB27	3	5,6	,4	,231
MB38	3	6,033	,252	,145
30555	3	3,867	,473	,273

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MB27	1,2	,851 *	3,969	3,451
MPEMBE vs. MB38	,767	,851	1,62	2,205
MPEMBE vs. 30555	2,933	,851 *	23,718 *	8,435
MB27 vs. MB38	-,433	,851	,518	1,246
MB27 vs. 30555	1,733	,851 *	8,282 *	4,985
MB38 vs. 30555	2,167	,851 *	12,94 *	6,231

* Significatif à 95%

Annexe II : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes sur les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions de l'inoculation artificielle .T24 : analyse 24 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,162	,081	,05	,9519
Intra-individus	9	14,688	1,632		
facteur répété	3	13,163	4,388	17,262	,0024
résidus	6	1,525	,254		
Total	11	14,849			

Fiabilité pour- toutes les séries : -19,19 Une seule série : -,312

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréqu. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	3	6,533	,611	,353
MB27	3	5,3	,361	,208
MB38	3	5,4	,5	,289
30555	3	3,6	,3	,173

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MB27	1,233	1,007*	2,992	2,996
MPEMBE vs. MB38	1,133	1,007*	2,527	2,753
MPEMBE vs. 30555	2,933	1,007*	16,927*	7,126
MB27 vs. MB38	-,1	1,007	,02	,243
MB27 vs. 30555	1,7	1,007*	5,685*	4,13
MB38 vs. 30555	1,8	1,007*	6,374*	4,373

* Significatif à 95%

Annexe II : Analyse de variance sur les moyennes des populations de X. c. pv. manihotis présentes sur les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions de l'inoculation artificielle .T28 : analyse 28 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,962	,481	,285	,7584
Intra-individus	9	15,175	1,686		
facteur répété	3	14,83	4,943	85,971	,0001
résidus	6	,345	,058		
Total	11	16,137			

Fiabilité pour- toutes les séries : -2,507 Une seule série : -,218

Note : 1 cas supprimé avec val. manquantes.

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE	3	6,433	,404	,233
MB27	3	5,733	,208	,12
MB38	3	5,633	,379	,219
30555	3	3,467	,551	,318

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE vs. MB27	,7	,479 *	4,261	3,575
MPEMBE vs. MB38	,8	,479 *	5,565 *	4,086
MPEMBE vs. 30555	2,967	,479 *	76,531 *	15,152
MB27 vs. MB38	,1	,479	,087	,511
MB27 vs. 30555	2,267	,479 *	44,676 *	11,577
MB38 vs. 30555	2,167	,479 *	40,821 *	11,066

* Significatif à 95%

Annexe III : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions d'une inoculation artificielle .T4 : analyse 4 jours après inoculation ..

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,54	,27	1,146	,3602
Intra-individus	9	2,12	,236		
facteur répété	3	1,127	,376	2,268	,1808
résidus	6	,993	,166		
Total	11	2,66			

Fiabilité pour- toutes les séries : ,128 Une seule série : ,035

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPEMBE4	3	3,2	,6	,346
MB27 4	3	2,367	,252	,145
MB38 4	3	2,633	,252	,145
30 555 4	3	2,6	,529	,306

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPEMBE4 vs. MB27 4	,833	,813 *	2,097	2,508
MPEMBE4 vs. MB38 4	,567	,813	,97	1,706
MPEMBE4 vs. 30 555 4	,6	,813	1,087	1,806
MB27 4 vs. MB38 4	-,267	,813	,215	,803
MB27 4 vs. 30 555 4	-,233	,813	,164	,702
MB38 4 vs. 30 555 4	,033	,813	,003	,1

* Significatif à 95%

Annexe III : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions d'une inoculation artificielle .T5 : analyse 5 jours après

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,214	,107	,374	,6984
Intra-individus	9	2,574	,286		
facteur répété	3	2,214	,738	12,315	,0056
résidus	6	,36	,06		
Total	11	2,788			

Fiabilité pour- toutes les séries : -1,676 Une seule série : -,186

Note : 1 cas supprimé avec val. manquantes.

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MP4	3	4,3	,2	,115
MB27 4	3	3,3	,1	,058
MB38 4	3	3,217	,301	,174
30555 4	3	3,483	,382	,22

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MP4 vs. MB27 4	1	,489*	8,343*	5,003
MP4 vs. MB38 4	1,083	,489*	9,791*	5,42
MP4 vs. 30555 4	,817	,489*	5,564*	4,086
MB27 4 vs. MB38 4	,083	,489	,058	,417
MB27 4 vs. 30555 4	-,183	,489	,28	,917
MB38 4 vs. 30555 4	-,267	,489	,593	1,334

* Significatif à 95%

Annexe III : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions d'une inoculation artificielle .T6 : analyse 6 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,162	,081	,295	,7515
Intra-individus	9	2,469	,274		
facteur répété	3	2,072	,691	10,443	,0085
résidus	6	,397	,066		
Total	11	2,63			

Fiabilité pour- toutes les séries : -2,39 Une seule série : -,214

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MP T6	3	5,4	,265	,153
MB27T6	3	4,683	,161	,093
MB38T6	3	4,483	,34	,196
30555T6	3	4,307	,26	,15

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MP T6 vs. MB27T6	,717	,514*	3,883	3,413
MP T6 vs. MB38T6	,917	,514*	6,353*	4,366
MP T6 vs. 30555T6	1,093	,514*	9,038*	5,207
MB27T6 vs. MB38T6	,2	,514	,302	,953
MB27T6 vs. 30555T6	,377	,514	1,073	1,794
MB38T6 vs. 30555T6	,177	,514	,236	,841

* Significatif à 95%

Annexe III : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions d'une inoculation artificielle .T8 : analyse 8 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,728	,364	,903	,4392
Intra-individus	9	3,63	,403		
facteur répété	3	3,399	1,133	29,5	,0005
résidus	6	,23	,038		
Total	11	4,358			

Fiabilité pour- toutes les séries : -,108 Une seule série : -,025

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréqu. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPT8	3	6,65	,397	,229
MB27T8	3	5,283	,301	,174
MB38T8	3	5,783	,325	,188
30555T8	3	5,42	,354	,204

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPT8 vs. MB27T8	1,367	,392 *	24,313 *	8,54
MPT8 vs. MB38T8	,867	,392 *	9,777 *	5,416
MPT8 vs. 30555T8	1,23	,392 *	19,694 *	7,686
MB27T8 vs. MB38T8	-,5	,392 *	3,254	3,125
MB27T8 vs. 30555T8	-,137	,392	,243	,854
MB38T8 vs. 30555T8	,363	,392	1,718	2,271

* Significatif à 95%

Annexe III : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions d'une inoculation artificielle .T10 : analyse 10 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,442	,221	,222	,8052
Intra-individus	9	8,967	,996		
facteur répété	3	8,587	2,862	45,13	,0002
résidus	6	,381	,063		
Total	11	9,41			

Fiabilité pour- toutes les séries : -3,504 Une seule série : -,241

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPT10	3	7,45	,477	,275
MB27T10	3	5,59	,165	,095
MB38T10	3	6,083	,176	,101
30555T10	3	5,217	,355	,205

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPT10 vs. MB27T10	1,86	,503 *	27,274 *	9,046
MPT10 vs. MB38T10	1,367	,503 *	14,725 *	6,646
MPT10 vs. 30555T10	2,233	,503 *	39,322 *	10,861
MB27T10 vs. MB38T10	-,493	,503	1,919	2,399
MB27T10 vs. 30555T10	,373	,503	1,099	1,816
MB38T10 vs. 30555T10	,867	,503 *	5,922 *	4,215

* Significatif à 5%

Annexe III : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions d'une inoculation artificielle .T12 : analyse 12 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,08	,04	,033	,9679
Intra-individus	9	11,047	1,227		
facteur répété	3	10,756	3,585	73,858	,0001
résidus	6	,291	,049		
Total	11	11,127			

Fiabilité pour- toutes les séries : -29,53 Une seule série : -,319

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MP T12	3	7,7	,265	,153
MB27T12	3	5,95	,18	,104
MB38T12	3	6,45	,18	,104
30555T12	3	5,083	,225	,13

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MP T12 vs. MB27T12	1,75	,44*	31,545*	9,728
MP T12 vs. MB38T12	1,25	,44*	16,094*	6,949
MP T12 vs. 30555T12	2,617	,44*	70,526*	14,546
MB27T12 vs. MB38T12	-,5	,44*	2,575	2,779
MB27T12 vs. 30555T12	,867	,44*	7,737*	4,818
MB38T12 vs. 30555T12	1,367	,44*	19,239*	7,597

* Significatif à 95%

Annexe III : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions d'une inoculation artificielle .T14 : analyse 14 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,186	,093	,062	,94
Intra-individus	9	13,458	1,495		
facteur répété	3	12,603	4,201	29,497	,0005
résidus	6	,855	,142		
Total	11	13,644			

Fiabilité pour- toutes les séries : -15,05 Une seule série : -,306

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPT14	3	7,6	,2	,115
MB27T14	3	5,783	,325	,188
MB38T4	3	6,49	,201	,116
30555T14	3	4,79	,578	,334

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPT14 vs. MB27T14	1,817	,754*	11,586 *	5,896
MPT14 vs. MB38T4	1,11	,754*	4,325	3,602
MPT14 vs. 30555T14	2,81	,754*	27,72 *	9,119
MB27T14 vs. MB38T4	-,707	,754	1,753	2,293
MB27T14 vs. 30555T14	,993	,754*	3,464	3,224
MB38T4 vs. 30555T14	1,7	,754*	10,146 *	5,517

* Significatif à 95%

Annexe III : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions d'une inoculation artificielle .T16 : analyse 16 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,149	,074	,048	,9536
Intra-individus	9	13,984	1,554		
facteur répété	3	13,527	4,509	59,213	,0001
résidus	6	,457	,076		
Total	11	14,132			

Fiabilité pour- toutes les séries : -19,92 Une seule série : -,312

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPT16	3	7,567	,306	,176
MB27T16	3	6,017	,176	,101
MB38T16	3	6,33	,27	,156
30555T16	3	4,583	,325	,188

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPT16 vs. MB27T16	1,55	,551 *	15,775 *	6,879
MPT16 vs. MB38T16	1,237	,551 *	10,042 *	5,489
MPT16 vs. 30555T16	2,983	,551 *	58,441 *	13,241
MB27T16 vs. MB38T16	-,313	,551	,645	1,391
MB27T16 vs. 30555T16	1,433	,551 *	13,49 *	6,362
MB38T16 vs. 30555T16	1,747	,551 *	20,033 *	7,752

* Significatif à 95%

Annexe III : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus des feuilles des cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions d'une inoculation artificielle .T18 : analyse 18 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,294	,147	,075	,9285
Intra-individus	9	17,67	1,963		
facteur répété	3	17,258	5,753	83,678	,0001
résidus	6	,412	,069		
Total	11	17,964			

Fiabilité pour- toutes les séries : -12,37 Une seule série : -,301

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPT18	3	7,5	,3	,173
MB27T18	3	5,733	,252	,145
MB38T18	3	6,417	,301	,174
30555T18	3	4,193	,33	,191

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPT18 vs. MB27T18	1,767	,524*	22,7*	8,252
MPT18 vs. MB38T18	1,083	,524*	8,536*	5,06
MPT18 vs. 30555T18	3,307	,524*	79,524*	15,446
MB27T18 vs. MB38T18	-,683	,524*	3,396	3,192
MB27T18 vs. 30555T18	1,54	,524*	17,249*	7,193
MB38T18 vs. 30555T18	2,223	,524*	35,952*	10,385

* Significatif à 95%

Annexe III : Analyse de variance sur les moyennes des populations de *X. c. pv. manihotis* présentes dans les tissus les feuilles du cultivars Mpembé (sensible), MB 27, MB 38 et TMS 30555 (résistants) dans les conditions d'une inoculation artificielle .T20 : analyse 20 jours après inoculation .

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Source :	ddl :	S. des carrés :	Carré moyen :	Test-F :	Valeur P :
inter-individus	2	,196	,098	,051	,951
Intra-individus	9	17,484	1,943		
facteur répété	3	16,676	5,559	41,238	,0002
résidus	6	,809	,135		
Total	11	17,681			

Fiabilité pour- toutes les séries : -18,8 Une seule série : -,311

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Groupe :	Fréq. :	Moy. :	Dév.Std. :	Erreur Std. :
MPT20	3	7,4	,458	,265
MB27T20	3	5,717	,247	,142
MB38T20	3	6,217	,355	,205
30555T20	3	4,117	,325	,188

ANOVA à un facteur avec mesures répétées

Comparaison :	Diff. Moy. :	PLSD de Fisher :	F de Scheffé :	t de Dunnett :
MPT20 vs. MB27T20	1,683	,734*	10,511*	5,615
MPT20 vs. MB38T20	1,183	,734*	5,194*	3,947
MPT20 vs. 30555T20	3,283	,734*	39,989*	10,953
MB27T20 vs. MB38T20	-,5	,734	,927	1,668
MB27T20 vs. 30555T20	1,6	,734*	9,496*	5,337
MB38T20 vs. 30555T20	2,1	,734*	16,359*	7,005

* Significatif à 95%

JURY :

MM	DRON M.	Président
	A. COLENO	
	LUISETTI J.	Rapporteur
	RAVISE A.	Rapporteur
	FOLLIN J.C.	

RESUME DE LA THESE DE DOCTORAT ES SCIENCES

présentée par M. DANIEL Jean François

maître es sciences

Thèse préparée au la laboratoire de : Phytopathologie du Centre ORSTOM de Brazzaville
BP 181 Rép du Congo
sous la direction de M. COLENO A.

SUJET : CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA BIOLOGIE DE XANTHOMONAS
CAMPESTRIS PATHOVAR MANIHOTIS (ARTHAUD-BERTHET ET BONDAR) STARR
AGENT RESPONSABLE DE LA BACTERIOSE VASCULAIRE DU MANIOC, MANIHOT
ESCULENTA CRANTZ .

Date et lieu probables de la soutenance :

31 Janvier 1991, salle de conférence du Bâtiment 400, ORSAY

* Les destinataires disposent d'un délai de 15 jours pour faire connaître leurs observations éventuelles

A l'échelle du continent africain, la bactériose du manioc (*Manihot esculenta* CRANTZ) depuis sa détection au Nigeria en 1972, cette maladie bactérienne s'est caractérisée par une extension rapide si bien, qu'en moins de dix ans, elle est devenue endémique dans les principales zones de culture du manioc . Actuellement, si on peut admettre que partout où une plante hôte peut pousser, la maladie elle même peut se manifester, il reste que la bactériose vasculaire est remarquable, par les grandes variations de sa gravité dans le temps et dans l'espace .

Malgré, une présence ancienne de la bactériose vasculaire du manioc en Amérique du Sud (1912), les connaissances acquises sur cette maladie, lors son apparition sur le continent africain dans les années 1970, étaient limitées et ne permettaient pas d'envisager une stratégie de lutte rationnelle .

Pour améliorer les connaissances sur le cycle biologique de *X. c. pv. manihotis* sur manioc, nous avons axé nos recherches sur l'étude de la phase épiphyllle de *X. c. pv. manihotis* en relation avec le cycle cultural de la plante, le niveau de résistance de l'hôte et l'incidence de la maladie .

Notre étude montre que *X. c. pv. manihotis* fait partie du groupe de bactéries phytopathogènes adaptées à la vie sur les organes aériens des plantes et qui comprend la plupart des pathovars de *Pseudomonas syringae* et probablement ceux du groupe *Xanthomonas campestris* . L'apparition et le maintien de la phase épiphyllle de *X. c. pv. manihotis* dépend essentiellement de la présence des populations endophytes dans les tissus de l'hôte . La conservation de la bactérie dans les tissus associé au phénomène de latence qui est observé dans l'expression des symptômes est capitale pour le bon déroulement du cycle de la maladie .

La présence de la bactérie dans le système vasculaire de l'hôte associée à sa capacité de multiplication épiphyllle permet :

- d'expliquer le maintien du parasite dans une plantation d'une saison des pluies à une autre,
- d'expliquer le caractère endémique de la maladie dans une zone
- d'interpréter son apparition brutale dans une région où la maladie est absente, par l'introduction de boutures contaminées .

Le cycle biologique de *X. c. pv. manihotis* se caractérise par l'alternance de deux phases:

- une phase parasitaire en saison des pluies :

- . production de l'inoculum primaire à partir des populations endophytes présentes dans les tissus de l'hôte ;
- . multiplication épiphylle de la bactérie sur les organes aériens conduisant à la formation de l'inoculum nécessaire au déclenchement du processus infectieux ;
- . pénétration et multiplication du parasite dans les tissus de l'hôte ;
- . dissémination de la bactérie et contamination de nouveaux organes .

- une phase de survie en saison sèche :

- . arrêt du processus infectieux
- . maintien du parasite dans les tissus de l'hôte (tiges), les débris végétaux, et sous forme de populations épiphylls sur les feuilles .

La résistance de l'hôte peut interférer avec la vie épiphyte de *X. c. pv. manihotis* en limitant le niveau des populations au niveau des feuilles . En effet, la résistance du manioc à la bactériose vasculaire peut s'exprimer soit au niveau de la colonisation épiphylle des feuilles et au niveau de la multiplication interne du parasite (cultivar résistant TMS 30 555), soit uniquement au niveau de la limitation de la multiplication de la bactérie dans les tissus (cultivars tolérants: MB 27 et MB 38) . Ces résultats viennent, pour une part, en appui de ceux obtenus pour d'autres modèles dans lesquels la résistance de l'hôte se traduit par une limitation du niveau des populations présentes sur le phylloplan .

Le fait que l'on détecte chez les cultivars tolérants et résistants, une quantité relativement importante de bactéries dans les tissus suggère que d'autres mécanismes doivent intervenir au niveau de la résistance de l'hôte, comme le seuil d'inoculum nécessaire à l'apparition des lésions foliaires (sensibilité des tissus), la durée de réceptivité des blessures, le ralentissement ou le blocage de la migration systémique du parasite dans le système vasculaire de la plante . Sur cette base, la résistance du manioc à la bactériose vasculaire pourrait combiner une réduction des populations épiphytes de pathogène (inoculum potentiel réduit), une limitation de la multiplication de la bactérie dans les tissus foliaires (multiplication réduite), des concentrations d'inoculum plus élevé pour le déclenchement des lésions (efficience de l'infection réduite), une limitation de la colonisation du système vasculaire (colonisation réduite) .

L'étude des mécanismes de résistance du manioc à la bactériose demanderait à être

approfondie en tenant compte de la variabilité du pathogène, de la variation de sensibilité de l'hôte et en maîtrisant mieux sa génétique .

Les acquis dans ce domaine permettraient d'améliorer les connaissances sur l'interaction plante-bactérie et d'adapter les schémas de sélection pour la résistance à la bactériose.

De nombreuses travaux font référence à la présence d'espèces bactériennes phytopathogènes (*Erwiniaspp.*, *Pseudomonas spp.*, *Xanthomonas spp.*), sur le phylloplan des plantes cultivées . Cependant, la relation entre le niveau des populations épiphylls et la probabilité du déclenchement des maladies qu'elle provoquent reste souvent indéterminée..

Dans le cas de la bactériose du manioc, le constat que les bactéries sont distribuées au niveau des feuilles selon une loi "lognormale" nous permet de montrer que la mesure du niveau des populations épiphylls de *X. c. pv. manihotis* au niveau de feuilles individuelles est un meilleur critère pour la prévision de l'incidence que la population moyenne évaluée sur plusieurs feuilles . Ainsi, dans le cas du cultivar sensible Mpembé, l'étude de la liaison entre la fréquence des feuilles portant une population supérieure ou égale à 10^4 U.F.C. par feuille et l'incidence de la maladie (pourcentage de feuille avec des symptômes) nous montre qu'une relation existe entre ces deux paramètres, qu'elle est positive mais pas constante . La corrélation est significative en saison des pluies, au début du cycle cultural du manioc mais ne l'est plus lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables à l'expression de la maladie (installation de la saison sèche) . La détermination du niveau des populations épiphylls au niveau de la feuille nous a permis d'établir une relation positive entre la quantité de bactéries présentes sur les feuilles et l'incidence de la maladie .

Pour la période où la corrélation est bonne, cela ne signifie pas que le niveau de la population épiphylls soit le seul facteur qui détermine l'incidence de la bactériose vasculaire et que le niveau de 10^4 U.F.C. par feuille constitue un seuil d'infection constant au cours du cycle cultural . En effet, la présence, à un niveau élevé, des populations bactériennes au niveau des feuilles (Mai-mi Juin), alors que l'incidence de la maladie est voisine de zéro le montre et semble indiquer que la phase infectieuse du parasite dans les tissus est beaucoup plus dépendante des conditions environnementales en relation avec la variation de sensibilité de l'hôte que la phase épiphylls . Le fait qu'un plant sensible peut rester sans symptômes tout en supportant des

populations épiphylls à un niveau relativement élevé et que la probabilité d'infection par une seule bactérie virulente est très largement inférieur à 1 pour de nombreuses interactions plante - bactérie peut être la conséquence que l'expression du ou des gènes liés au pouvoir pathogène de *X. c. pv. manihotis* est un évènement rare ou que sur le plan du pouvoir pathogène (virulence et agressivité) la structure génétique des populations épiphylls est telle que la proportion de bactéries pathogènes est faible .

Le cycle cultural du manioc étant relativement long (8 à 18 mois), l'utilisation du seul critère "fréquence des feuilles avec un taux d'inoculum donné" pour prévoir l'incidence de la maladie est limité par l'interaction des facteurs environnementaux sur le niveau des populations épiphylls, sur le développement du parasite dans les tissus, sur la sensibilité du cultivar qui peut être variable au cours du cycle cultural (ce qui n'a pas été étudié) et aussi par la présence d'un inoculum endophyte latent dans les tissus de l'hôte .

Cette étude mériterait d'être poursuivie avec d'autres cultivars en établissant une relation avec la sévérité de la maladie et en intégrant les paramètres météorologiques en association avec la variation de la sensibilité de l'hôte .

La compréhension du cycle biologique de *X. c. pv. manihotis* , nous permet d'interpréter le caractère endémique de la maladie, sa rapide progression au sein d'une plantation, son apparition dans une zone indemne et sa propagation à l'échelle du continent africain .

Cependant un certain nombre d'interrogations demeurent, quant aux variations de la gravité de la maladie qu'on observe dans le temps et au niveau du site . En effet, sur la base des résultats acquis, l'interprétation des grandes épidémies des années 70, de l'absence de bactériose en zone de forêt et des explosions soudaines de la maladie dans une zone d'endémie reste difficile .

A l'avenir, les recherches sur la bactériose du manioc devront prendre en compte de la variabilité du pathogène, de l'impact des facteurs environnementaux sur la dynamique des populations épiphylls de parasite et sur la variation de la sensibilité de l'hôte . Une telle approche, suppose une étude préalable de la variabilité génétique de *X. c. pv. manihotis* en relation avec l'expression du pouvoir pathogène et la recherche de marqueurs génomiques (sondes moléculaires) liés à la virulence de l'agent pathogène . L'acquisition et l'utilisation de tels outils, nous permettrait d'approfondir les études de l'impact du niveau des populations épiphylls sur la probabilité de déclenchement de la maladie en prenant en compte la structure

génétique des populations épiphylls sur la base de marqueurs génomiques liés au pouvoir pathogène et d'appréhender l'évolution de cette structure en fonction du niveau de résistance de l'hôte .

Au niveau des interactions bactérie-plante et des mécanismes intervenant au niveau de la résistance de l'hôte, le clonage des cultivars étant possible par la technique de culture *in vitro* , le manioc peut constituer un bon modèle d'étude .

En ce qui concerne les stratégies de lutte vis à vis de cette maladie bactérienne, la culture du manioc étant essentiellement de type traditionnel, seule la lutte génétique avec des cultivars améliorés et l'utilisation de boutures saines sont envisageables . L'essor de ce type de lutte implique que l'on maîtrise la production de matériel indemne de bactériose, que l'on connaisse les gènes de résistance, que l'on surveille la composition en pathotypes du pathogène et que l'on contrôle la diffusion et l'utilisation des cultivars . Des contraintes existent comme la génétique de l'hôte qui n'est partiellement maîtrisée, un cycle génétique long, l'identification partielle des gènes de résistance et jusqu'à présent la non prise en compte de la variabilité de l'agent pathogène . La sélection doit viser la tolérance, car on s'adresse à des systèmes agricoles de subsistance où l' infrastructure scientifique et économique ne permet pas un suivi adéquat de l'évolution de la résistance . La lutte chimique et ou biologique (utilisation d'antagonistes bactériens de *X.c. pv. manihotis*) ayant pour objectif de réduire l'inoculum épiphyte dont il a été montré l'implication dans le déclenchement de la maladie n'est envisageable qu'au niveau du contrôle de l'état sanitaire d'un parc à multiplication destiné à la production de boutures saines . Sur un plan pratique, les cultivars tolérants satisfaisant le paysan n'étant pas encore disponibles, il est important de promouvoir ce type d'unité de production, en particulier, en zone de forêt où la maladie est peu présente .

RESUME

Contribution à l'étude de la biologie de *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* (Arthaud- Berthet et Bondar) Starr agent responsable de la bactériose vasculaire du manioc, *Manihot esculenta* Crantz .

L'étude de la microflore bactérienne de la phyllosphère de plants de manioc dans des plantations contaminées par la bactériose vasculaire du manioc permet de mettre en évidence la présence épiphyte de *X. c. pv. manihotis* . La capacité de cette bactérie d'avoir une phase épiphyte au cours du cycle de la maladie contribue à la formation de l'inoculum nécessaire au déclenchement de la maladie, à la l'installation du pathogène au niveau de la plantation et favorise sa survie . Les mécanismes intervenant dans la conservation de la bactérie permettent d'expliquer le caractère endémique de la maladie et son apparition dans des zones indemnes . Deux mécanismes sont essentiels : la capacité du pathogène d'avoir une phase épiphyte et sa conservation dans les tissus de l'hôte .

La quantité de bactéries épiphytes peut être limitée par le niveau de réssitance de l'hôte . Ainsi, le niveau des populations présentes sur les cultivars tolérants (MB 27 et MB 38) ne diffèrent pas significativement de celui détecté sur les cultivars sensibles (Mpembé et Maloenda), mais est plus faible sur le cultivar résistant TMS 30555 . Chez le manioc, la résistance peut être associée à la fois une limitation des populations épiphytes et à une réduction de la multiplication de la bactérie dans les tissus foliaires . Cependant, d'autres mécanismes doivent intervenir comme le seuil d'infection, la sensibilité des tissus, la limitation de la colonistion du système vasculaire .

La distribution lognormale des populations du pathogènes à la surface des feuilles permet d'établir une relation quantitative entre le niveau des populations épiphytes et l'incidence de la maladie . Ainsi, au début du cycle cultural (cultivar Mpembé, saison des pluies), le seuil de 10^4 UFC par feuille est en relation avec l'incidence de la maladie . Ce seuil n'est pas constant pour un couple cultivar-bactérie, mais dépend des conditions environnementales et de la sensibilité de l'hôte .

Mots-clés :

Manioc, *Manihot esculenta* Crantz, Afrique, bactériose vasculaire, *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis*, épiphyte, cycle biologique, tolérance, résistance, niveau de population, distribution lognormale, incidence .