

# CARACTERISATION MOLECULAIRE ET SELECTION DE VARIETES DE MANIOC RESISTANTES CONTRE *Xanthomonas axonopodis* PV. *Manihotis* EN COTE D'IVOIRE

A. M. AFFERY<sup>1</sup>, K. ABO<sup>2</sup>, A. C. N'GUESSAN<sup>3</sup>, B. B. A. BOLOU<sup>1</sup>, S. TUO<sup>1</sup>, I. WONNI<sup>4</sup>, E. L. BOMISSO<sup>1</sup>, K. D. KOUAME<sup>1</sup>, M. KONE<sup>5</sup> ET D. KONE<sup>1</sup>

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

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

<sup>3</sup>Université Péléforo Gon Coulibaly Korhogo, Unité de Formation et de Recherche (UFR) Sciences biologiques, Département de Biologie Végétale, BP 1328 Korhogo

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

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

Auteur Correspondant : arthuraaffery@yahoo.fr Contact : + 225 77 62 13 91 / 01616979

## RESUME

La bactériose du manioc causée par *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* cause de dommages aux cultures de manioc en Côte d'Ivoire. En vue d'avoir une meilleure connaissance de l'agent pathogène, 800 isolats ont été collectés des fragments de feuilles et de tiges de manioc malades dans six des sept zones agroécologiques (ZAE). Les colonies bactériennes de chaque isolat montrant les caractéristiques morphologiques typiques *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* ont été soumises à une analyse moléculaire. En se basant sur le dénombrement des feuilles attaquées par la maladie, la sensibilité de huit variétés de manioc a été évaluée dans les conditions d'infestation naturelle à Ferkessédougou. Les résultats ont montré après 48 heures d'incubation, des colonies de caractéristiques morphologiques, blanc-ivoire, lisses, brillantes, convexes, avec des contours réguliers, non puantes et d'aspect visqueux. L'amplification par PCR de l'ADN, a montré un profil à une seule bande d'une taille d'environ 900 pb caractéristique de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. Des huit variétés testées, seules les variétés améliorées « Bocou 2 » et « Yavo » ont été les moins attaquées. *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* est bien sûr l'agent causal des taches, brûlures et dieback observées sur les variétés de manioc en Côte d'Ivoire. Donc, les variétés « Bocou 2 » et « Yavo » peuvent être recommandées aux producteurs des zones où la bactériose vasculaire du manioc sévit plus.

**Mots clés :** Manioc, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, caractérisation moléculaire, résistance variétale

## ABSTRACT

### **MORPHO-MOLECULAR AND SYMPTOMATIC CHARACTERIZATIONS OF STRAINS OF *XANTHOMONAS AXONOPODIS* PV. *MANIHOTIS* IN CÔTE D'IVOIRE**

Cassava bacterial blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* causes damage to cassava crops in Côte d'Ivoire. In order to have a better understanding of the pathogen, 800 isolates were collected from diseased leaves and cassava stems in six of the seven agroecological zones (AEZ). Bacterial colonies of each isolate showing typical morphological characteristics *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* were subjected to molecular analysis. Based on the count of the leaves attacked by the disease, the susceptibility of eight cassava varieties was evaluated under natural infestation conditions at Ferkessédougou. The results showed after 48 hours of incubation, colonies

morphological characteristics, ivory-white, smooth, shiny, convex, with regular outline, non-stinking and viscous appearance. PCR amplification of the DNA showed a single band profile of about 900 bp characteristic of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. Of the eight varieties tested, only the improved varieties « Bocou 2 » and « Yavo » were the least attacked. *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* is of course the causal agent of the stains, burns and dieback observed on cassava varieties in Côte d'Ivoire. So, the varieties « Bocou 2 » and « Yavo » can be recommended to producers in areas where cassava bacterial blight is more prevalent.

**Key words :** Cassava, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, molecular characterization, varietal resistance.

## INTRODUCTION

La promotion des cultures vivrières de grande importance est un moyen particulièrement efficace pour réduire la faim dans le monde et surtout en Afrique subsaharienne, région où la prévalence de la sous-alimentation reste la plus élevée (FAO, 2015). Le manioc occupe une place importante parmi ces cultures (Nassar et Ortiz, 2010). Il permet de mieux couvrir les besoins énergétiques (glucides, protéines, fibres, minéraux, vitamines) des populations (Achidi *et al.*, 2005).

En Côte d'Ivoire, le manioc est la deuxième culture vivrière après l'igname pour une production estimée à 2,8 millions de tonnes par an (N'zué *et al.*, 2005). L'attiéké, une semoule de manioc cuite à la vapeur est très populaire en Côte d'Ivoire. Par ailleurs, la Côte d'Ivoire exporte le manioc vers le Burkina, le Mali et le Niger, principalement sous la forme d'amidon pour l'amidonage des toiles de basin.

La culture du manioc souffre, cependant, de nombreuses contraintes qui limitent sa productivité. La racine tubéreuse de manioc, au contraire du tubercule d'igname, n'a pas de dormance qui favoriserait, de manière naturelle, la conservation après récolte. La racine récoltée pourrit au bout de 2 à 3 jours (Westby, 2002). A cela s'ajoutent les dégâts causés par les maladies fongiques (Yeo *et al.*, 2017), virales (Monde *et al.*, 2010) et bactérienne causée par *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*) (Mamba-Mbayi *et al.*, 2014 ; Affery *et al.*, 2017).

Différentes recherches menées en Colombie (Restrepo et Verdier, 1997; Restrepo *et al.*, 2000), au Vénézuela (Verdier *et al.*, 1998) et dans certains pays d'Afrique tels la Centrafrique (Daniel, 1977), le Togo (Boher et Agboli., 1992), le Nigéria (Onyeka *et al.*, 2008), le Congo (Mamba-Mbayi *et al.*, 2014), ont permis de mettre en évidence quelques caractéristiques morphologiques et symptomatiques de l'agent

causal. En effet, le test de coloration Gram réalisé par Burholder (1942) montre que *Xam* est une bactérie aérobie stricte, Gram négatif et produit du Xanthane qui donne un aspect visqueux aux colonies. Les attaques de souches agressives débutent sur la feuille par des taches anguleuses huileuses et translucides, avant de s'étendre progressivement aux tiges et aux rameaux, conduisant à la mort des apex des plants infectés (Affery *et al.*, 2017). La bactériose est plus sévère en zone de savane et dans celle de transition savane-forêt.

Une des conséquences de cette bactériose est la baisse de rendement variant de 80 à 90 % de racines (Restrepo *et al.*, 2000) associé à la dégradation organoleptique de l'amidon.

En Côte d'Ivoire, cette maladie sévit de façon préoccupante dans certaines zones agro écologiques (Affery *et al.*, 2017, Koné, communication personnelle). Face à ce problème phytosanitaire, la connaissance de l'agent pathogène s'avère nécessaire en vue de proposer des méthodes de lutte. La présente étude a pour but d'étudier les caractéristiques moléculaires et symptomatiques des souches de *Xam* de la Côte d'Ivoire et de sélectionner des variétés de manioc résistantes à la maladie.

## MATERIEL ET METHODES

### MATERIEL VEGETAL

A Ferkessédougou, huit variétés de manioc dont quatre (4) améliorées et 4 traditionnelles ont été utilisées. Les variétés améliorées « Bocou 1 », « Bocou 2 », « Bocou 3 » ont été fournies par le Centre National de Recherche Agronomique (CNRA). La quatrième variété améliorée « Yavo » a été obtenue au Centre Suisse de Recherche Scientifique (CSRS). Les variétés locales traditionnelles étaient : « Yacé », « Akama », « Diarrassouba » et « Dankwa ».

## SOUCHES DE REFERENCE

La souche bactérienne (*Xam* P<sub>4</sub> Mn) obtenue de l'Institut de l'Environnement et Recherches Agricoles (INREA) de Bobo Dioulasso au Burkina Faso a été utilisée comme témoin positif pour l'identification moléculaire des souches de *Xam*.

## ISOLEMENT ET CARACTERISATION DE LA BACTERIE

Les feuilles et tiges de manioc symptomatiques obtenues à la suite des collectes au champ ont fait l'objet d'isolement bactérien. Ainsi, une portion de feuille infectée présentant des taches anguleuses, typique de la bactériose a été découpée et désinfectée successivement avec de l'alcool (70 °) et l'eau de javel à 0,1 % pendant 10 secondes. Trois rinçages de 2 min environ à l'eau distillée stérile ont été effectués. La suspension a été laissée pendant au moins 30 min à température ambiante et agitée périodiquement pour favoriser la diffusion bactérienne.

Après ce délai, les échantillons ont été broyés dans un mortier, puis 0,5 ml de surnageant a été prélevé pour effectuer trois dilutions successives au 1/10<sup>e</sup>. Après les dilutions, un volume de 15 µL de la suspension a été prélevé puis étalé sur le milieu de culture LPGA préparé comme suit : levure 7 g, peptone 7 g, glucose 7 g, Agar-agar 18 g, plus 1000 ml d'eau distillée

à pH = 7,2 ), auquel ont été additionnés des antibiotiques dont la kasugamycine (20 mg/l), la cephalexine (40 mg/l) et le propiconazole (fongicide à 40 mg/l). Les boîtes de Pétri ont été incubées à une température ambiante de 25 ± 2 °C.

Des caractères d'ordre qualitatif tels que la couleur, la forme et l'odeur des colonies ont été retenus pour l'identification des colonies de *Xam*, après 48 heures d'incubation sur milieu de culture LPGA. Ainsi, les colonies bactériennes qui ont présenté après 48 heures des colonies blanc-ivoires, lisses, convexes avec des contours réguliers, et non puantes soupçonnées *Xam* ont été observées et prélevées à l'aide d'une anse. Ces colonies ont été conservées à -20 °C dans un autre milieu nutritif composé de 800 ml de Nutrient Broth et 400 ml de glycérol à 50 % en vue de leur réutilisation.

## IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES SOUCHES

La PCR décrite par Verdier *et al.* (1998) a été utilisée pour l'identification des souches de *Xam*. Elle a été effectuée avec l'ADN extrait des isolats bactériens avec le kit « Bacteria DNA Preparation » de la structure Jena Bioscience. Quatre paires d'amorces, dont les séquences sont présentées dans le Tableau (I), ont été utilisées. Le volume réactionnel de la PCR est de 25 µl préparé dans les conditions du Tableau II.

**Tableau I** : Amorces utilisées pour les différentes PCR multiplex.

Amorces	Séquences	Taille des amplicons
Ctern	F: GCA-TGC-GAC-GCA-GTT-CGG-GAT-GAG R: ACT-AGT-TCA-CTG-AGG-AAA-TAC-CTC-CAT	
ropD	F: TGGAACAGGGCTATCTGACC C: ATTCYAGGTTGGTCTGRTT	900 bp
XV/XK	F : TTC-GGC- AAC-GGC-AGT-GAC-CAC-C R: TCA-ATC-GGA-GAT-TAC-CTG-AGC-G	
GyrB	F : AAG-CAG-GGC-AAG-AGC-GAG-CTG-TA R : CAA-GGT-GCT-GAA-GAT-CTG-GTC	830 bp
AtpD	F: GGG-CAA-GAT-CGT-TCA-GAT R: GCT-CTT-GGT-CGA-GGT-GAT	800 bp

**Tableau II** : Volume réactionnel préparé.

Produits	Volume
Tampon (MgCl <sub>2</sub> )	5 µl
d NTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP)	0,5 µl
amorce P <sub>1</sub>	0,5 µl
amorce P <sub>2</sub>	0,5 µl
Taq POLYMERASE	0,05
H <sub>2</sub> O pure stérile	13,45
ADN	5 µl

Pour la confirmation des souches, deux gènes conservés (*atpD* et *gyrB*) des souches bactériennes ont été amplifiés. La taille de bande attendue est de 900 bp. Les amplifications ont été réalisées dans un thermocycleur de marque BIOMETRA. Le programme PCR est de 30 cycles réactionnels comprenant :

- une première étape de dénaturation de 30 s à 95 °C;
- puis une hybridation de 30 s à 61 °C
- une extension finale pendant 1,5 min à 72 °C

Les amplicons ont été maintenus à 12 °C jusqu'à leur transfert au congélateur à -20 °C. Ils ont ensuite été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1 % en présence d'un marqueur de taille (1kb Promega), à 100 V, pendant 25 min. A chaque séance d'électrophorèse, 10 µl de chaque produit PCR de 12 souches indéterminées et étiquetées, un témoin positif composé de la souche de référence *Xam P<sub>4</sub>Mn* et un témoin négatif ont été utilisés. La révélation se fait grâce au bromure d'éthidium et la visualisation des bandes s'est faite à l'aide d'une table à UV.

#### CARACTERISATIONS SYMPTOMATOLOGIQUES DE LA BACTERIOSE

##### Site expérimental

L'expérimentation a été conduite de 2014 à 2015 à Koutiénédougou, à 005°159.17' de latitude Nord, 09°265.28' de longitude Ouest et 380 m d'altitude, dans le département de Ferkessédougou, dans la partie septentrionale de la Côte d'Ivoire, qui appartient à la zone agro-écologique (ZAE VI, Halle et Bruzon, 2006). La température moyenne journalière s'élève à 27°

C, avec des précipitations moyenne annuelle comprise entre 1000 et 1600 mm (Bigot *et al.*, 2005).

##### Dispositif expérimental

Sur une superficie de 8000 m<sup>2</sup>, un dispositif expérimental en blocs de Fisher avec trois répétitions a été mis en place. Les plants de manioc sont disposés à 1 m x 1 m. Chaque variété a été évaluée sur trois blocs. Le facteur apprécié a été le comportement des huit variétés de manioc vis-à-vis de la bactériose vasculaire.

##### Evaluation de la maladie et données collectées

Dans chaque parcelle élémentaire, 10 lignes de 30 pieds ont été notées. Les observations ont concerné les symptômes provoqués par l'agent causal. Trente (30) plants sont échantillonnés au hasard et marqués par variété, un mois après plantation. L'évaluation de la sensibilité des variétés a été déterminée à partir du nombre de feuilles malades et leurs niveaux d'insertion à 3, 6, et 9 mois après plantation (MAP) pendant deux cycles de culture. Sur un pied de manioc, les observations des feuilles nécrosées débutent du haut vers le bas, soit des rameaux vers les feuilles plus âgées.

Les paramètres pathologiques ont concerné le nombre de feuilles infectées et le rang foliaire. Les données météorologiques du site expérimental ont été enregistrées à l'aide d'un DATA LOGGER et un pluviomètre.

##### ANALYSES STATISTIQUES

Les données collectées ont été enregistrées avec le tableur Excel 2007 puis analysées avec le logiciel Statistica version 7.1. Pour évaluer la

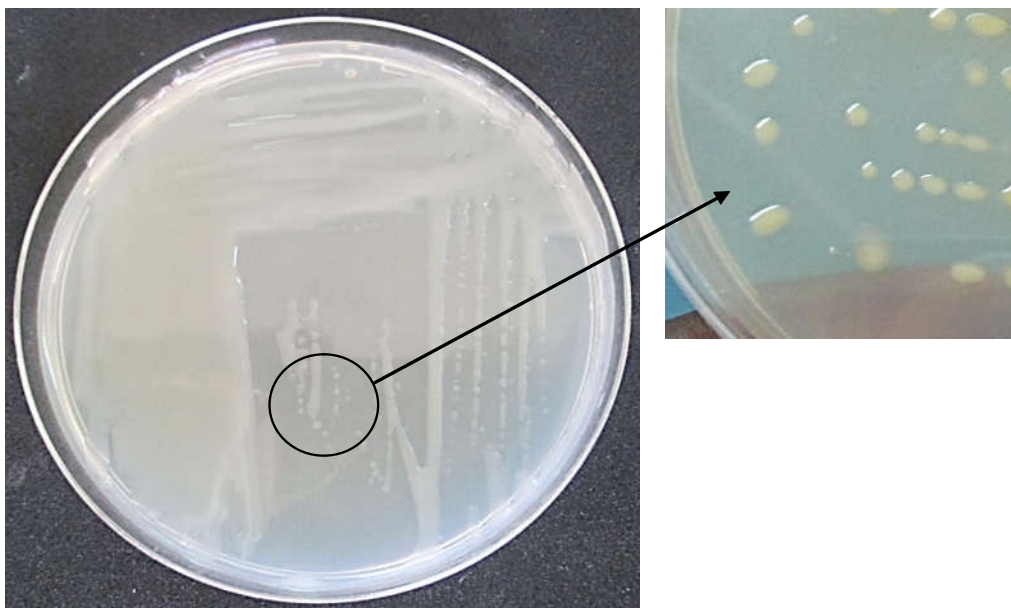
sensibilité des huit variétés à la bactériose du manioc, une analyse de variance (ANOVA) à un facteur de classification a été faite. Le test de comparaison des moyennes de Newman-Keuls au seuil de 5 % a été effectué en cas de différence significative. La relation entre les variétés et le niveau de rang foliaire est testé au moyen d'un test de Khi-deux.

## RESULTATS

### CARACTERES CULTURAUX DES SOUCHES

### BACTERIENNES UTILISEES

Sur milieu LPGA, des colonies de caractéristiques morphologiques blanc-ivoire de diamètre variant entre 1 et 2,5 mm, lisses, brillantes, convexes, avec des contours réguliers, visqueux et non puantes ont été isolées (Figure 1). L'isolement a permis d'obtenir 816 souches sur l'ensemble de 894 échantillons collectés sur diverses variétés de manioc. Les tailles minimale et maximale de souches obtenues par parcelle sont respectivement de trois et huit souches selon le niveau d'infection des champs prospectés.

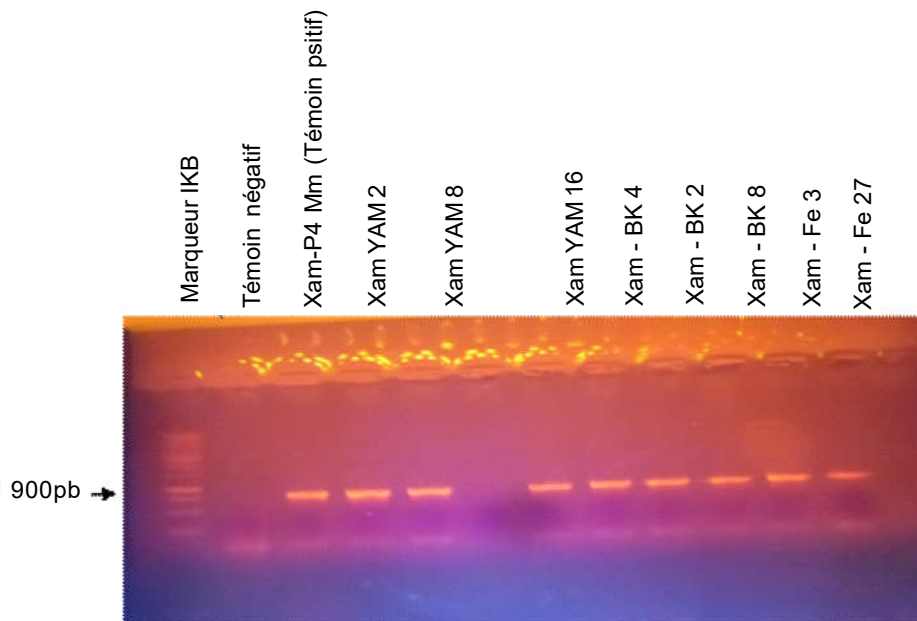


**Figure 1** : Colonie bactérienne de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* de 72 heures sur milieu de culture YPGA.

### IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES SOUCHES

L'amplification par PCR de l'ADN avec les amorces XV et XK, illustrée à la Figure 2, montre un profil à une seule bande. Ainsi, 121 souches

testées comparativement à la souche de référence *Xam* P<sub>4</sub>Mn (témoin positif) présentent une taille caractéristique d'environ 900 pb. Sur le témoin négatif, aucune bande n'a été observée.



**Figure 2** : Profil des bandes des souches de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* de Côte d'Ivoire amplifié avec les amorces XV/XK comparé au témoin *Xam* P<sub>4</sub>Mn et témoin négatif.

#### SENSIBILITE DES VARIETES DE MANIOC A LA BACTERIOSE VASCULAIRE

L'étude de la sensibilité variétale présentée à la figure 3 fait apparaître deux périodes symptomatiques de la bactériose vasculaire. La première, de faible intensité a été située de mai à juillet et de novembre à février correspondant respectivement au premier et troisième trimestre de l'expérimentation. La deuxième, de forte contamination s'étendait d'août à octobre, correspondent à une hausse du nombre de feuilles nécrosées et à une amplitude élevée du rang foliaire.

Au premier trimestre, les feuilles nécrosées suite à l'attaque bactérienne sont situées entre les rangs foliaires 3 et 6. (Figure 3). Les variétés « Bocou 1 » et « Diarrassouba » ont présenté des taux d'infection les plus élevées respectivement de 28 % et 23 % du feuillage (Figure 3). Ces symptômes sous forme de taches anguleuses et translucides variant entre 1 et 3 mm de diamètre ont été plus perceptibles sur la face inférieure de la feuille (Figure 4a). Pendant cette période, les valeurs les plus faibles ont été enregistrées sur les variétés « Bocou 2 » et « Yavo » avec moins de 1 % d'infection. Les variétés « Akama », « Yacé », « Bocou 3 », et «

Dankwa », ont été intermédiaires avec des valeurs oscillantes entre 3,17 % et 8,22 %.

Le second trimestre a été le plus important en intensité d'infection ( $Ki^2 = 46,95$ ) touchant en plus des feuilles âgées, des rameaux (Figure 4b). Ainsi, il a été observé des contaminations entre les rangs 1 et 9 (Figure 4b). Deux groupes de variétés de manioc ont été distingués en fonction des intensités d'attaques. Les variétés « Bocou 1 », « Diarrassouba », « Akama », « Bocou 3 », « Dankwa » et « Yacé », avec des taux d'infection dépassant les 50 % des feuilles atteintes de la bactériose représentent le premier groupe. Dans le cas particulier de « Diarrassouba » (89 %), « Bocou 1 » (82 %), et « Bocou 3 » (77,09 %), les attaques ont conduit aux flétrissements des feuilles et aux « brûlures » des rameaux (rang foliaire 1, Figure 4b) entraînant la défoliation et le die-back (la mort de l'apex). En cette même période, « Bocou 2 » et « Yavo », ont été moins affectées avec des valeurs respectives de 17,81 et 22,4 % ; constituant le second groupe.

Le nombre de feuilles infectées a été relativement faible au troisième trimestre avec un  $Ki^2$  de 5,85. Les attaques se localisent entre les rangs foliaires 3 et 5. Les valeurs moyennes obtenues variant entre 5,4 et 26,04 % sont quasi homogènes à l'ensemble des variétés.

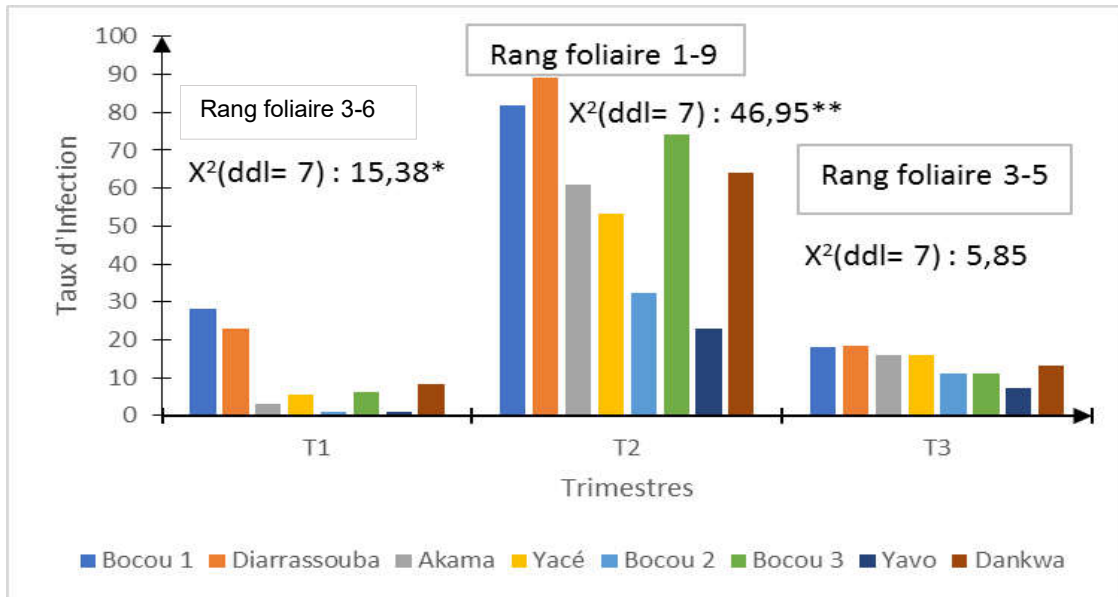


Figure 3 : Infection des feuilles des variétés de manioc selon le trimestre et le rang foliaire.



Figure 4 : Evolution des symptômes de la bactériose vasculaire sur "Bocou 1".

A : taches translucides traduisant le début de la maladie sur les feuilles

B : flétrissement de feuilles associé à une destruction de rameaux (rang foliaire 1)

## DISCUSSION

Dans des travaux antérieurs, un ensemble d'observations tend à démontrer que la bactériose vasculaire est une menace existentielle pour la culture du manioc en Côte d'Ivoire. C'est ainsi que l'étude réalisée par Affery *et al.*, 2017 a constaté qu'elle était plus sévère dans les plantations de manioc de la zone agro-

écologique VI (ZAE VI), de la localité de Ferkessedougou. Les symptômes caractéristiques des attaques bactériennes décrites, se présentent sous l'aspect de taches translucides conduisant à la brûlure des feuilles. Les bactéries isolées des parties symptomatiques des plants de manioc ont présenté un aspect arrondi, bombé, lisses, couleur blanc ivoire, non pointues et de diamètre variant entre 1 et 2,5 mm. Ces bactéries ont été précédemment

isolées et décrites par Boher et Agbobli (1992) et Verdier *et al.* (1993). Ces colonies présentent également un aspect visqueux et brillante. Cet aspect morphologique avait suscité de nombreuses études sur les gènes impliqués dans cette synthèse. Les études réalisées par Dow et Daniels (1994) et complétées par Katzen *et al.* (1998), ont révélé que le Xanthane et l'exopolysaccharide étaient responsables de cette viscosité et qu'elle en serait également associée à la sévérité des symptômes causés par la bactérie.

Nos travaux effectués au laboratoire apportent une confirmation supplémentaire de l'intérêt de l'amplification par PCR de l'ADN avec les amorces XV (TTC-GGC-AAC-GGC-AGT-GAC-CAC-C) et XK (TCA-ATC-GGA-GAT-TAC-CTG-AGC-G) pour la caractérisation moléculaire de *Xam*, qui a déjà été validée par de nombreux travaux (Verdier et Mosquera, 1999 ; Ojeda et Verdier, 2000). Les bandes d'amplification ont été spécifiques au fragment de taille attendue de 900 pb.

Le résultat obtenu de la sensibilité, exprimé ici par le nombre moyen de feuilles attaquées et son niveau d'insertion sur les plants est étroitement lié aux variétés cultivées et à leurs stades phénologiques. Dans les conditions de culture (27,11 °C de température ; 82 % d'humidité relative ; 22,1 °C de point de rosée et 428 mm de pluie), la bactériose sévit le plus entre le troisième et le sixième mois après cultures, soit pendant la saison pluvieuse. Ce stade critique correspond à la période d'août à octobre au cours de laquelle un taux d'infection de près de 90 % avec une amplitude de rang foliaire plus importantes (entre 1 et 9) a été observé, entraînant des Die-back sur les plants plus sensibles. La sensibilité des variétés, rythmée par les conditions climatiques a conduit à une précocité des symptômes sur certaines variétés après le planting. Ces petites taches anguleuses amorcées, se rejoignent ensuite, et se transforment progressivement en des taches plus importantes qui détruisent le limbe foliaire. La mort définitive (die-back) survient lorsque la tige et les rameaux sont atteints. Environ, 9 % et 13 % des pieds infectés de « Bocou 1 » et « Diarrassouba » ne sont pas parvenues à l'âge adulte. Aussi, la période de pullulation de la bactériose coïncide-t-elle avec à la période de croissance maximum de la surface foliaire et le début du stockage des réserves (amidon) dans les racines (Banito *et al.*, 2008), cela pourrait s'avérer très dommageables sur le rendement,

et la qualité organoleptique de l'amidon.

Dans les conditions de culture, la maladie affecte les variétés traditionnelles (« Diarrassouba », « Akama », « Yacé » et « Dankwa ») que les variétés améliorées (« Bocou 1 », « Bocou 3 »). Au rang des variétés améliorées, Bocou 1 a été la plus sensible. Cela pourrait indiquer que sous une forte pression d'inoculum, favorisée par l'environnement, même certaines variétés résistantes deviendraient sensibles à la bactérie. Bien que les mécanismes de défenses de cette variété soient pour le moment inconnus. Pour Agbobli (1992), la présence quasi continue de réservoirs servants d'inoculum et un climat permissif, prédispose la plante aux maladies. À côté de ce groupe, deux variétés améliorées, « Bocou 2 » et « Yavo », diffusées respectivement par le CNRA et CSRS ont été les moins attaquées par la bactériose. Sur celles-ci, aucun die-back n'a été observé pendant les deux cycles expérimentaux.

Au troisième trimestre, à partir de novembre, les conditions environnementales devenant de plus en plus hostile avec l'harmattan à contribuer à la baisse du taux d'infestation. Cela confirme les affirmations précédentes qui présentaient le climat comme le déterminant majeur de la bactériose vasculaire du manioc (Boher et Agbobli, 1992).

## CONCLUSION

L'amplification par PCR de l'ADN des bactéries confirme que les plants de manioc malades sont attaqués par *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. La maladie est plus intense pendant la saison pluvieuse entre août et octobre. Parmi les variétés testées, « Bocou 2 » et « Yavo » ont été moins susceptibles à la bactériose et peuvent être proposées aux producteurs dans les zones où la maladie sévit plus.

Il apparaît, à l'issue de cette étude, des résultats probants, mais pour une meilleure gestion de la maladie, les souches virulentes sont également à identifier pour une bonne sélection variétale.

## REFERENCES

- Achidi A. U., O. A Ajayi, M. Bokanga and B. Maziya-Dixon. 2005. The use of cassava leaves as food from Africa. *Ecology of Food and Nutrition*, 44 : 423 - 435
- Affery A.M., K. Abo, S. Tuo, B. N'Zué and D. Koné.



2017. Geographical distribution and incidence of cassava bacterial blight (*Manihot esculenta* Crantz) caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in two agro-ecological zones of Côte d'Ivoire. *Plant Pathol. J.*, 16 : 1 - 11.
- Banito A., K.E. Kpémoua and K. Wydra. 2008. Expression of resistance and tolerance of cassava genotypes to bacterial blight determined by genotype x environment interactions. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 115 : 152 - 161.
- Bigot S., T.B. Yao, J. Oszwald and A. Diedhiou. 2005. Facteur de variabilité pluviométrique en Côte d'Ivoire et relations avec certaines modifications environnementales. *Sécheresse*, 16 (1) : 5 - 13.
- Boher B. and C.A. Agbobli. 1992. La bactériose vasculaire du manioc au Togo : Caractérisation du parasite, répartition et cartographie et sensibilité variétale. *L'Agronomie Tropicale*, 46 : 131 - 136
- Burholder W. 1942. Three bacterial plant pathogens: *Phytophthora caryophylli* sp.n., *Phytophthora alliiicola* sp.n., and *Phytophthora manihotis* (Arthaud-Berthet et Bondar) Viegas. *Ibid.* 32 : 141 - 9.
- Daniel J. 1977. Un nouveau dépérissement en Empire Centrafricain: la bactériose vasculaire à *Xanthomonas manihotis*, 3 : 14 p.
- Dow J. M and J. Daniels. 1994. Pathogenicity Determinants and Global Regulation of Pathogenicity of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Springer*, 129 : 29 - 41.
- FAO, FIDA and PAM. 2015. L'État de l'insécurité alimentaire dans le monde 2015. Objectifs internationaux 2015 de réduction de la faim : des progrès inégaux. Rome, FAO
- Halle B. and V. Bruzon. 2006. Profil environnemental de la Côte d'Ivoire. Rapport Final. Consortium AFC, AGRIFOR Consult, 133 p.
- Katzen F., D.U. Ferreira, C.G. Oddo, M.V. Ielmini, A. Becker, A. Puhler and L. Ielpi. 1998. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* gum mutants : effects on xanthan biosynthesis and plant virulence. *J. Bacteriol.* 180 : 1607 - 1617.
- Mamba-Mbayi G., P. Tshilenge-Djim, K.K. Nkongolo and A. Kalonji-Mbuyi. 2014. Characterization of Congolese Strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis* Associated with Cassava Bacterial Blight. *American Journal of Plant Sciences* 5 : 1191 - 1201.
- Monde G., J. Walangululu, S. Winter and C. Bragard. 2010. Dual infection by cassava begomoviruses in two leguminous species (Fabaceae) in Yangambi, North-Eastern Democratic Republic of Congo. *Arch Virol*, 155 : 1865 - 1869 doi 10.1007/s00705 - 010 - 0772 - 3
- N'zué B., G.P. Zohouri and V. Yapi-Gnaoré. 2005. Bien cultiver le manioc en Côte d'Ivoire. Fiche Technique du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), 4 p.
- Nassar N. and R. Ortiz. 2010. Breeding cassava to feed the poor. *Scientific American*, 302 (5) : 78 - 84.
- Ojeda S. and V. Verdier. 2000. Detecting *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in cassava true seeds by nested-polymerase chain reaction assay. *Can J of Plant Pathol* (in press).
- Onyeka T.J., O.F. Owolade, A.A. Ogunjobi, A.G. Dixon, Okechukwu, R. R. Bandyopadhyay and R. Bamkefa. 2008. Prevalence and severity of bacterial blight and anthracnose. *Agricultural Research* 3 (4), pp. 297 - 304.
- Restrepo S., C.M. Vélez, V. Verdier. 2000. Measuring the Genetic Diversity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* Within Different Fields in Colombia. *Phytopathology*. 90 : 683 - 690.
- Restrepo S., V. Verdier. 1997. Geographical Differentiation of the Population of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia. *Applied and Environmental Microbiology*. 63 : 4427 - 4434.
- Verdier V. and G. Mosquera. 1999. Specific detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* with a DNA hybridization probe. *J Phytopathol* 147 : 417 - 423.
- Verdier V., P. Dongo and B. Boher. 1993. Assessment of genetic diversity among strains of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. *J Gen Microbiol*, 139 : 2591 - 2601.
- Verdier V., S. Restrepo, G. Mosquera, M.C. Duque, A. Gerstl and R. Laberry. 1998. Genetic and pathogenic variation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Venezuela. *Plant pathol*, 47 : 601 - 608.
- Westby A. 2002. Cassava utilization, storage and small-scale processing. In:
- Hillocks RJ, Thresh JM, Bellotti AC (eds) Cassava biology, production and utilization. CABI Publishing, Wallingford, pp. 281 - 300
- Yeo F. E., K. J. N. Ehui, L-N'. D. G. E. Amari., A. S-P N'Guetta and D. Kone. 2017. Distribution and incidence of cassava anthracnose in Côte d'Ivoire and pathogenic characteristics of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz *Manihotis* isolates. *Plant Pathol. J.*, 16 : 73 - 81.