

BURKINA FASO

+==+==+==+

Unité-Progrès-Justice

._*_._*_._*_._

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR, DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET DE L'INNOVATION

=**==**==

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO

==_==_==_==_==

INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL



MEMOIRE DE FIN DE CYCLE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
D'INGENIEUR DU DEVELOPPEMENT RURAL

OPTION: Agronomie

Thème:

**Caractérisation phénotypique et génétique des souches de
Xanthomonas axonopodis pv. *manihotis*, agent responsable
de la bactériose vasculaire du manioc au Burkina Faso**

Présenté par **Florence YAMEOGO**

Directeur de mémoire: **Dr Schémaeza BONZI**

Maître de stage: **Dr Issa WONNI**

N° d'ordre.....

Juin 2016

Table des matières

DEDICACE	I
REMERCIEMENTS.....	II
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	III
LISTE DES TABLEAUX.....	V
LISTE DES FIGURES.....	V
LISTE DES PHOTOS	V
RESUME.....	VI
ABSTRACT.....	VII
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I: GENERALITES SUR LE MANIOC	3
I.1. ORIGINE ET DESCRIPTION	3
I.2. CLASSIFICATION BOTANIQUE ET DIVERSITE VARIETALE.....	4
I.3. ECOLOGIE DU MANIOC.....	4
I.4. IMPORTANCE DE LA FILIERE MANIOC AU BURKINA FASO.....	5
I.4.1. Production de manioc.....	5
I.4.2. Utilisations du manioc.....	6
I.5. CONTRAINTES LIEES A LA PRODUCTION DU MANIOC	7
I.5.1. Ravageurs.....	7
I.5.2. Adventices.....	7
I.5.3. Maladies du manioc.....	7
CHAPITRE II. GENERALITES SUR LA BACTERIOSE VASCULAIRE DU MANIOC	9
II.1. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET IMPORTANCE ECONOMIQUE DE LA BACTERIOSE VASCULAIRE DU MANIOC	9
II.2. SYSTEMATIQUE ET BIOLOGIE DE L'AGENT PATHOGENE	9
II.3. VARIABILITE GENETIQUE DE <i>XANTHOMONAS AXONOPODIS</i> PV. <i>MANIHOTIS</i>	10
II.4. EPIDEMIOLOGIE.....	11
II.4.1. Mode d'infection et symptômes.....	11
II.4.2 Cycle infectieux	12
II.4.3. Facteurs de dissémination et de développement du pathogène et de la maladie.....	13
II.5. LUTTE CONTRE LA BACTERIOSE VASCULAIRE DU MANIOC	13
CHAPITRE I: MATERIEL ET METHODES	14
I. MATERIEL	14
I.1. PRESENTATION DU SITE DE L'ETUDE	14
I.2. MATERIEL BIOLOGIQUE	14
II. METHODES	16
II.1. Prospection et collecte des échantillons.....	16
II.2. CARACTERISATION ET IDENTIFICATION DES SOUCHES DE <i>X. AXONOPODIS</i> PV. <i>MANIHOTIS</i>	16
II.2.1. Isolement des souches de <i>Xam</i>	16
II.2. 2. Caractérisation moléculaire des souches de <i>Xam</i>	17

II.2.3. Tests du pouvoir pathogène	19
II.2.3.1. Méthodes d'inoculation	19
II.3. ELABORATION DE LA CARTE SANITAIRE	19
II.4. TEST DE RESISTANCE VARIETALE	20
CHAPITRE II. RESULTATS-DISCUSSION.....	21
I. RESULTATS.....	21
I.1. CARACTERISATION ET IDENTIFICATION DES SOUCHES DE <i>X. AXONOPODIS</i> PV. <i>MANIHOTIS</i>	21
I.2. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DE LA BACTERIOSE VASCULAIRE DU MANIOC DANS LA ZONE D'ETUDE	23
I.3. DIVERSITE GENETIQUE DES SOUCHES DE <i>XAM</i>	24
I.4. TESTS DE LA RESISTANCE VARIETALE	24
II. DISCUSSION	27
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	30
BIBLIOGRAPHIE.....	31

Dédicace

A mes parents, qu'ils trouvent à travers ce mémoire
l'expression de ma profonde gratitude.

Remerciements

Nous allons à travers ces lignes, adresser nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce document. Il s'agit particulièrement de :

-L'administration de l'IDR, pour la contribution à notre formation académique,

-Dr Jacob SANOU, Directeur Régional de Recherches Environnementales et Agricoles de l'Ouest (DRREA-O), de nous avoir accueillies dans sa structure;

-Dr Vianney TARPAGA, Chef du programme Cultures Maraîchères Fruitières et Plantes à Tubercules pour nous avoir accepté dans son programme;

-Dr Léonard OUEDRAOGO, responsable du laboratoire de phytopathologie/bactériologie pour nous avoir accueillis dans son laboratoire;

-Dr Schemaëza BONZI, notre Directeur de mémoire, pour la correction du document, ses multiples conseils et ses encouragements;

-Dr Issa WONNI, notre maître de stage, pour son encadrement, sa patience et ses encouragements multiformes;

-Toute l'équipe du laboratoire de bactériologie: Paul ILBOUDO, Fousseini BORO, Ibrahim OUEDRAOGO, Mariam BARRO, Oumarou DIANDA, Amadou DIALLO, Sylvain ZOUNGRANA, Charlotte TOLLENAERE, Manaka DOUANIO, Cyrille ZOMBRE, Oumarou TRAORE, pour le dynamisme, la solidarité et la bonne ambiance au sein de l'équipe. Ce qui a favorisé la bonne marche des travaux;

-La famille YAMEOGO, pour son soutien, ses encouragements tout au long de notre cursus scolaire et universitaire;

-La famille KAMBOU pour son soutien et ses encouragements durant ce stage;

-Mes amies Aïchatou Nadia Christelle DAO, Fabienne Josiane BAMBORE et tous les camarades de la promotion IDR/ 2012, pour les encouragements;

A tous ceux dont les noms n'ont pas pu être cités, qu'ils trouvent à travers ces mots mes remerciements les plus sincères.

Liste des sigles et abreviations

ADN: Acide Desoxyribo Nucléique

AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism

ARN: Acide Ribo Nucléique

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

CBB: Cassava Bacterial Blight

CEFCOD: Centre d'étude, de Formation et de Conseil en Développement

CMA/AOC: Conférence des Ministres de l'Agriculture de l'Afrique de l'Ouest et du Centre

CNRST: Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique

DO: Densité Optique

DRREA-O: Direction Régionale de Recherches Environnementales et Agricoles de l'Ouest

FAO: Food and Agriculture Organization

FIDA: Fonds International pour le Développement Agricole.

GPS: Global Position System

INERA: Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles

IITA: International Institute of Tropical Agriculture

IDR: Institut du Développement Rural

IRD: Institut de Recherche pour le Développement

IRAD: Institut de Recherche Agricole pour le Développement

JAI: Jour Après Inoculation

LAMP: Loop-Mediated Isothermal Amplification

MAHRH: Ministère de l'Agriculture, de L'Hydraulique et des Ressources Halieutiques

OEPP/EPPO: Organisation Européenne pour la Protection des Plantes/ European Plant Protection Organization

PCR: Réaction de Polymérisation en Chaîne

Rep-PCR: Repetitive Bacterial sequences

RLFP: Restriction Fragment Length Polymorphism

VNTR: Variable Number Tandem Repeats

Xam: *Xanthomonas axonopodis* pv *manihotis*

Liste des tableaux

Tableau 1: Nombre d'échantillons collectés par localité et par régions	15
Tableau 2: Amorces (F: forward et R: reverse) utilisées pour les différentes PCR.....	18
Tableau 3: Souches de <i>Xam</i> issues de l'isolement et la caractérisation.....	21
Tableau 4: Comportement des variétés vis-à-vis des souches de <i>Xam</i>	25

Liste des figures

Figure 1: Différents organes de la plante du manioc.....	3
Figure 2 : Production de manioc dans le monde en 2006.....	5
Figure 3 : Production moyenne de manioc des cinq dernières années au Burkina Faso	6
Figure 4: Sites d'échantillonnage de la bactériose au Burkina Faso	14
Figure 5: Carte sanitaire de la bactériose vasculaire du manioc dans la zone de l'étude	23

Liste des photos

Photo 1: Symptômes de viroses sur feuilles de manioc	8
Photo 2: Maladies fongiques du manioc.....	8
Photo 3: Colonie de <i>Xam</i> sur milieu LPGA après 72 h d'incubation	10
Photo 4: Symptômes de la bactériose.....	12
Photo 5: Différentes étapes de la méthode d'isolement des bactérie.....	17
Photo 6: Méthode d'inoculation des feuilles à l'aide d'une seringue sans aiguille	19
Photo 7: Méthode d'inoculation et d'incubation des plantes	20
Photo 8: Souche pure de <i>Xanthomonas axonopodis</i> sp. <i>manihoti</i>	22
Photo 9: Symptômes induits par les souches de <i>Xam</i> après inoculation	22
Photo 10: Profil des bandes des souches de <i>Xam</i> sur gel d'agarose à 1%.....	22
Photo 11: Flétrissement foliaire induit par la souche <i>Xam</i> -BF-118 sur la variété 92/0427.	26

RESUME

La bactériose vasculaire du manioc (CBB pour Cassava Bacterial Blight en Anglais), causée par *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*), est une maladie importante du manioc dont l'agent pathogène a été récemment décrit au Burkina Faso. Elle occasionne des dégâts considérables à travers le monde. C'est dans le souci de mieux contrôler cette maladie dans notre pays que s'inscrit notre étude intitulée «Caractérisation phénotypique et génétique des souches de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, agent responsable de la bactériose vasculaire du manioc au Burkina Faso». L'objectif global de ce travail est de contribuer à améliorer la productivité du manioc au Burkina Faso par l'utilisation de variétés résistantes adaptées à la diversité des souches de *Xam*. Des prospections et collectes ont été effectuées pendant la période d'octobre à décembre dans les régions des Cascades, des Hauts-Bassins et du Sud-Ouest du pays. L'agent pathogène est ensuite isolé et caractérisé par Polymorphism Chain Reaction (PCR) et par test du pouvoir pathogène. Six (06) variétés de manioc vulgarisées par l'INERA ont été également évaluées pour leur résistance contre les souches de *Xam*. La maladie a été observée dans deux de trois régions prospectées qui sont les Hauts-Bassins et les Cascades avec trois cent quarante-deux (342) souches *Xam* caractérisées et mises en conservation. Cependant son absence a été constatée dans les régions du Sud-Ouest. L'analyse des séquences de deux gènes conservés (*gyrB* et *atpD*) n'a pas révélé de polymorphisme au sein d'une vingtaine de souches de *Xam* provenant de différents sites répartis entre les régions des Cascades et des Hauts-Bassins. Par ailleurs les variétés testées ont manifesté des niveaux de résistance variables en conditions d'inoculation artificielles. Toutefois, il ya lieu d'approfondir les études sur la diversité des souches et leurs interactions avec les variétés cultivées afin d'identifier des génotypes intéressants pour mieux contrôler la maladie au Burkina Faso.

Mots clés: Manioc, Bactériose vasculaire, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, Diversité, Résistance, Burkina Faso.

ABSTRACT

Cassava Bacterial Blight (CBB), caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*), is an important disease of cassava recently detected in Burkina Faso. It causes considerable damage throughout the world. In order to control this disease in our country, we performed a study entitled "Phenotypic and genetic characterization of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* strains, causal agent of cassava bacterial blight in Burkina Faso ". The overall objective of this work is to contribute to improve the productivity of cassava in Burkina Faso through usage of resistant varieties of cassava plants adapted to the *Xam* strains diversity. Survey and collect were carried out from October to December in the regions of Cascades, Hauts-Bassins and South-West. The pathogen was then isolated and characterized genetically using PCR and then tested for pathogenicity. Six (06) varieties of cassava are also screened for their resistance against some *Xam* strains. The study revealed that the disease appeared in two of three regions prospected with 342 *Xam* strains characterized and conserved. However, his absence was noted in parts of the Southwest. Sequence analysis of two conserved genes (*gyrB* and *atpD*) revealed no polymorphism within twenty *Xam* strains from different sites distributed among the regions of Cascades and Hauts-Bassins. Furthermore, the varieties tested were expressed widely varying resistance levels in collection. However it is necessary to deepen studies on the strain diversity and their interactions with cultivated varieties in order to identify interesting genotypes to better control the disease in Burkina Faso.

Key words: Cassava, vascular Bacterial blight, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, diversity, resistance, Burkina Faso.

INTRODUCTION

Le manioc, *Manihot esculenta* Grantz (Euphorbiaceae) est l'une des cultures vivrières la plus importante dans le monde. Elle constitue la troisième source de calories dans les tropiques, derrière le riz et le maïs. Plus de 600 millions de personnes en dépendent en Afrique, en Asie et en Amérique Latine (CMA/AOC, 2004). Sa culture est largement répandue, principalement dans les zones tropicales et subtropicales avec une production estimée à 262 millions de tonnes en 2013 (FAO, 2014). Le continent africain en est le plus grand producteur avec le Nigéria au premier rang.

Au Burkina Faso, la production du manioc connaît une augmentation constante depuis 1995 grâce au plan stratégique de la politique de diversification des filières porteuses adoptée par les autorités et appuyée par la FAO et l'IITA. Sa production estimée à plus de 22 000 tonnes/campagne se concentre dans les régions Ouest et Sud-Ouest du pays et se répand de plus en plus dans les autres régions du pays à cause de sa forte adaptabilité aux zones marginales. En effet, selon Kouakou *et al.* (2015) le manioc est l'une des cultures la plus favorable au changement climatique à cause de sa résistance à la sécheresse, sa capacité à supporter les fortes teneurs de gaz carbonique ainsi que les températures élevées. Au regard de toutes ces caractéristiques, il est considéré comme un aliment de base pouvant garantir la sécurité alimentaire.

Cependant, cette production est limitée par de nombreuses contraintes d'ordre biotique et abiotique. Les contraintes biotiques qui sont entre autres les acariens, la cochenille farineuse, la mosaïque, la cercosporiose, l'antracnose, la nécrose bactérienne et la bactériose vasculaire du manioc sont les plus importantes (Silla *et al.*, 2009).

La bactériose vasculaire du manioc est causée par *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (Xam) (Vauterin *et al.*, 1995). De nombreux travaux sur la maladie et l'agent causal ont été menés surtout en Amérique et en Afrique. Il ressort que cette maladie occasionne des pertes considérables de rendement en tubercules allant de 12 à 100% en Colombie (Restrepo *et al.*, 2000). En Afrique, des dégâts estimés à plus de 75% ont également été observés.

Au Burkina Faso, l'agent pathogène responsable de la bactériose vasculaire du manioc a été récemment décrit par Wonni *et al.* (2014) à partir d'échantillons collectés dans la région des Cascades. Cependant, très peu d'informations sont disponibles sur l'incidence de la maladie, la diversité du pathogène et les variétés résistantes. Plusieurs méthodes de lutte existent contre cette maladie, l'utilisation des cultivars sains et de variétés résistantes demeurant le moyen de lutte le plus efficace (Banito *et al.*, 2008; FAO, 2013; Kouakou *et al.*, 2015;). Mieux comprendre la

structure (diversité génétique et phénotypique) des populations de *Xamau* Burkina Faso est ainsi un préalable pour identifier et/ ou développer des résistances locales et adaptées.

L'objectif global de l'étude est de contribuer à améliorer la productivité du manioc au Burkina Faso à travers l'utilisation des variétés résistantes contre la diversité des souches de *Xam* existantes dans ce pays. Il s'agit de manière spécifique de:

- évaluer l'incidence de la bactériose du manioc dans les principales zones de production;
- élaborer la carte sanitaire de la bactériose du manioc au Burkina Faso;
- analyser la diversité génétique des souches de *Xam*;
- cribler les variétés locales déployées au Burkina Faso avec les souches représentatives de la diversité.

Ces objectifs se basent sur l'hypothèse selon laquelle l'existence d'une grande variabilité de l'agent pathogène aurait un impact sur l'incidence de la maladie en fonction des zones de production au Burkina Faso. Le travail s'articule autour de deux grands axes:

- la revue bibliographique qui comporte deux chapitres dont le premier traite des généralités sur le manioc et le second de la bactériose vasculaire du manioc;
- l'étude expérimentale: qui comporte également deux chapitres qui traitent respectivement du matériel/ des méthodes et des résultats et la discussion.

PREMIERE PARTIE: Revue bibliographique

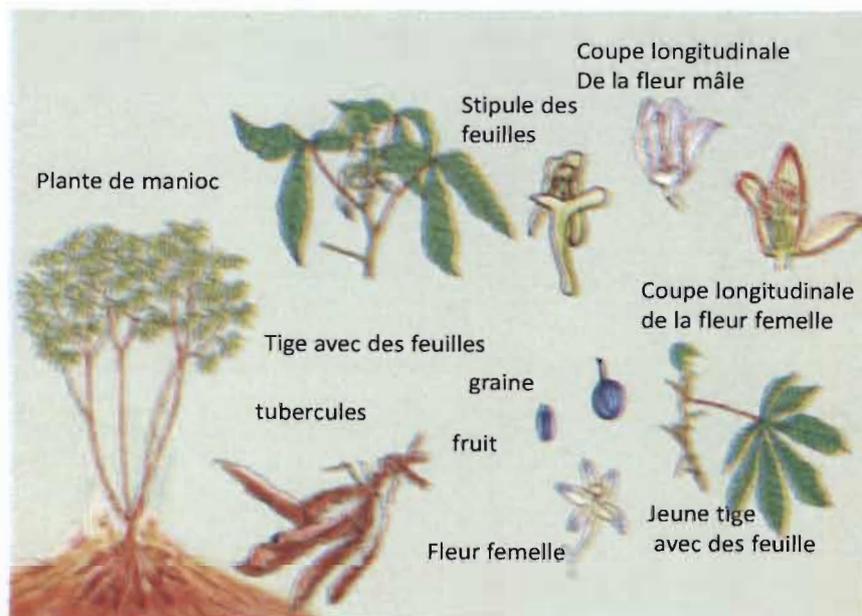
Chapitre I: Généralités sur le manioc

I.1. Origine et description

Le manioc (*Manihot esculenta* Grantz) est une espèce tropicale originaire d'Amérique du Sud. Il a son centre principal de diversification au Brésil. Sa diffusion à partir du continent américain s'est faite en Afrique dès le XVI^e siècle, puis elle a gagné l'Asie et enfin l'Australie à la fin du XIX^e siècle.

Le manioc appartient au genre *Manihot* et à la famille des *Euphorbiaceae*. C'est une plante arbustive pérenne de 1 à 5 m de hauteur (Figure 1). Son appareil racinaire diffère selon le mode de multiplication. Il présente une racine pivotante et des racines secondaires lorsqu'il provient d'une graine. Quand il provient d'une bouture, ses racines sont soit nodales soit basales. Un troisième type de racines, appelé racine de tige s'apparente aux racines nodales.

Il est cultivé dans les régions tropicales et subtropicales pour ses racines comestibles riches en amidon et pour ses feuilles. La récolte des racines commence généralement un an après la plantation. Les rendements moyens tournent autour de 10 tonnes/ha et varient en fonction de la variété et des conditions édapho-climatiques et culturales.



Source: Kouakou *et al.* (2015)

Figure 1: Différents organes de la plante du manioc.

I.2. Classification botanique et diversité variétale

Le manioc antérieurement appelé *Manihot utilissima* Pohlet, *Manihot dulcis* Pax a été renommé *Manihotesculentagrantz* grâce aux travaux de Rogers et Fleming (1973). Conformément à la classification systématique, il appartient à:

Règne:	Plantae
Embranchement:	Magnoliophyta
Classe:	Magnolipsida
Ordre:	Euphorbiaceae
Genre:	<i>Manihot</i>
Espèce:	<i>Manihot esculenta</i> Grantz

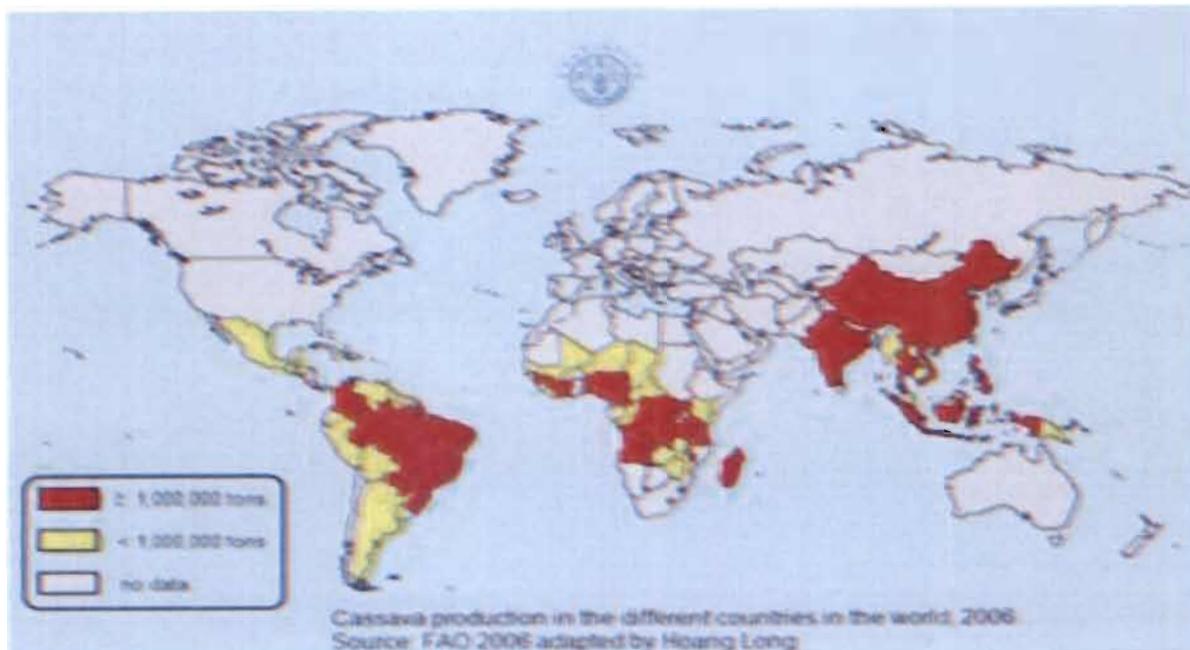
Elle est diploïde avec un nombre de chromosome qui correspond à $2n= 36$. Selon Rogers et Appan (1973), le genre *manihot* renferme 98 espèces réparties en 17 sections:

- une section représentée par l'espèce cultivée; *Manihot esculenta* grantz,
- deux sections renfermant 17 espèces présentes en Amérique centrale et en Amérique du Nord,
- 14 sections constituées de 80 espèces présentes en Amérique du Sud dont 77 présentes au Brésil.

I.3. Ecologie du manioc

Le manioc est cultivé dans toute la zone intertropicale (Figure 2) avec des régimes pluviométriques à une ou deux saisons des pluies et des pluviosités annuelles variant de 600 à plus de 4 000 mm. Il est aussi cultivé dans la zone équatoriale dans les défriches récentes des forêts. Il croît sous des températures allant de 12 à 29 °C (Carter *et al.*, 1992). Il supporte les fortes températures de même que des périodes de sécheresse prolongées (Ekanayake *et al.*, 1997) pourvu qu'il reçoive suffisamment de pluies pendant les trois premiers mois de plantation (IITA et IRAD, 2008). Cependant, un rayonnement faible, un vent fort et une forte pluviométrie avant arrachage peuvent être défavorables à la production.

Le manioc affectionne les sols légers et sablonneux, bien drainant et à fertilité moyenne. Mais les sols hydromorphes et rocaillieux sont impropres à la culture du manioc.



Source: Bodnar (2012)

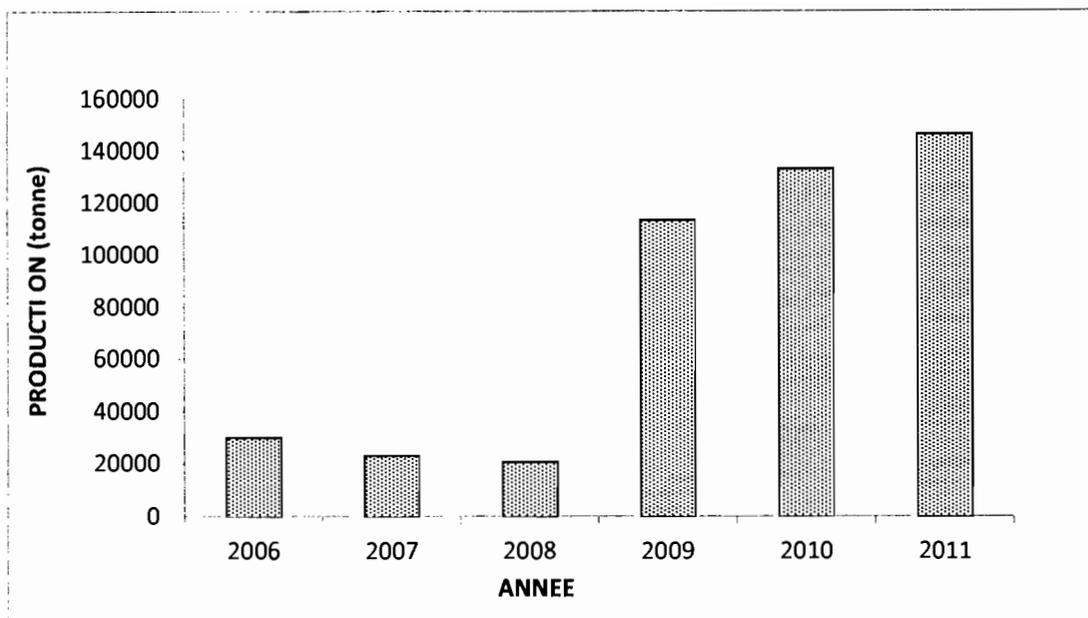
Figure 2: Production de manioc dans le monde en 2006.

I.4. Importance de la filière manioc au Burkina Faso

I.4.1. Production de manioc

La production du manioc tend à s'étendre de façon similaire au maïs, à toute la zone de l'Afrique de l'Ouest sauf le nord grâce à la stratégie mondiale de développement du manioc lancée par le FIDA et visant à promouvoir cette importante culture vivrière.

Au Burkina Faso, le manioc est principalement produit dans les régions de la Boucle du Mouhoun, du Sud-Ouest, de l'Est, des Cascades, des Hauts-Bassins, du Centre-Sud, Centre-Ouest et du Centre-Est. Les quantités produites y varient en moyenne autour de 60 000 t par an. La production moyenne de manioc des cinq dernières années connaît une évolution importante depuis 2006 comme l'indique la figure 2. Elle est passée de 30106,7 t en 2006 à 146300 t en 2011(Figure 3).En dehors des variétés locales, six variétés améliorées avec un rendement d'environ 45 t/ ha sont en vulgarisation (Diancoumba, 2008).



Source: CEF COD, (2013)

Figure 3: Production moyenne de manioc des cinq dernières années au Burkina Faso

I.4.2. Utilisations du manioc

Le manioc est essentiellement transformée en tapioca, farine, couscous, gari, cossettes, etc. Ces produits entrent dans la constitution de mets bien appréciés par les populations de l’Afrique de l’Ouest et du Centre. Une bonne partie du produit est cultivé pour l’alimentation humaine (*foufou, attiéké, gari, placali* etc.). En effet, Diancoumba (2008) montre que la production locale d’attiéké en 2007 au Burkina Faso s’élevait à 2200 t contre 3000 t importée. Le gari avait une production locale faible (non estimée) contre 652 t d’importation. La farine de manioc importée s’élevait à 62 t mais le tapioca et le placali connaissaient une faible demande sur le marché.

Dans certaines régions de l’Afrique et de l’Amérique latine, les extrémités et les jeunes feuilles sont cueillies et consommées. Les feuilles, épluchures, cossettes et granulés sont utilisés pour l’alimentation animale tandis que le bois de manioc sert de combustible. Moins de 2% de la production en Afrique est utilisée pour la consommation animale. Les utilisations industrielles du manioc concernent la production de féculé, d’amidon de blanchisserie, de boissons alcoolisées, etc.(CMA/AOC, 2004).

I.5. Contraintes liées à la production du manioc

Les contraintes majeures à la production du manioc sont surtout d'ordre biotiques.

I.5.1. Ravageurs

De nombreux ravageurs attaquent le manioc. Ce sont entre autres l'acarien vert ou *Mononychellus tanajoa* Bondar (Tetranychidae) responsable de l'acariose; le criquet puant *Zonocerus variegatus* Linnaeus (Pyrgomorphidae) qui mange les feuilles; la cochenille encore appelée *Phenacoccus manihotis* Matile-Ferrero (Pseudococcidae).

I.5.2. Adventices

Les adventices engendrent d'énormes pertes de rendement dues à la compétition livrée au manioc pour les éléments nutritifs, l'éclairement et l'espace. Ils peuvent fournir un abri aux ravageurs, aux agents pathogènes, aux ennemis naturels d'insectes nuisibles ou infliger des dégâts physiques aux pieds de manioc et aux racines tubéreuses. Ces adventices sont classées en trois grandes catégories: les graminées (*Imperata cylindrica*), les laiches (*Mariscus alternifolius*) et les latifoliées (*Chromolaena odorata*) (Melifonwu *et al.* 2000).

I.5.3. Maladies du manioc

Les maladies couramment rencontrées sur le manioc sont causées par des virus, champignons, et bactéries.

Les maladies virales du manioc se composent essentiellement de la mosaïque du manioc et la striure brune du manioc (Photo 1) qui peuvent occasionner des chutes de rendements de 20 à 60% ou même une perte totale de récolte (CMA/AOC, 2004). Les principaux moyens de propagation de la mosaïque sont les boutures de manioc contaminées et l'aleurode *Bemisia tabaci* tandis que les plants contaminés constituent la principale source de transmission du virus de la maladie des stries (Msikita *et al.*, 2000).



Source: Msikita *et al.*, 2000

Photo 1: Symptômes de viroses: feuilles de manioc présentant des taches chlorotiques (pâles) causées par la mosaïque du manioc (A) et feuilles de manioc atteintes de la maladie des stries brunes (B).

Les maladies fongiques du manioc sont surtout l'antracnose, la nécrose du bourgeon et les pourritures des racines (Photo 2). Les deux premières maladies sont causées par des champignons qui s'attaquent à la surface des feuilles et des tiges tandis que la dernière est due à différents types de champignons vivant sur ou dans le sol (Msikita *et al.*, 2000). Ces maladies sont importantes de par les pertes diverses qu'elles engendrent notamment les pertes en racines, de boutures et des feuilles.



Source: Msikita *et al.* (2000)

Photo 2: Maladies fongiques du manioc: (A) Anthracnose; (B) Pourriture de tige.

Quant à la bactériose vasculaire du manioc, elle fera l'objet d'une description plus détaillée dans le chapitre suivant.

Chapitre II. Généralités sur la bactériose vasculaire du manioc

II.1. Distribution géographique et importance économique de la bactériose vasculaire du manioc

Selon Lozano et Sequeira (1974), la CBB a été identifiée pour la première fois au Brésil en 1912 puis dans d'autres pays d'Amérique latine. En Afrique, elle a été signalée au Nigeria en 1972 et au Togo en 1975 respectivement selon Daniel (1977) et Boher et Agboli (1992). La maladie a été par la suite observée dans plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre comme le Ghana, Côte d'Ivoire, Burkina Faso, Mali, Cameroun, Gabon, Congo et Zaïre (Maraite et Meye, 1975; EPPO, 2014, Wonni *et al.*, 2014).

La CBB est une maladie qui occasionne des pertes économiques considérables. En effet des pertes en tubercules allant de 12 à 100% ont été signalées en Colombie par Restrepo *et al.* (2000). En Afrique, des dégâts estimés à plus de 75% ont été rapportés au Ghana, Nigeria, Benin, et allant de 90 à 100% en Ouganda (Aklé et Gnonhoué, 1979; Ohunyon et Ogio-Okirika, 1979; Otim-Nape, 1980). Différentes recherches menées en Colombie (Restrepo et Verdier, 1997; Restrepo *et al.*, 2000), au Venezuela (Verdier *et al.*, 1998) et dans certains pays d'Afrique tels que le Togo (Boher et Agboli., 1992), le Congo (Mamba-Mbayi *et al.*, 2014), le Nigeria (Onyeka *et al.*, 2008), le Benin et la Centrafrique (Daniel, 1977) ont permis de mettre en évidence le caractère dévastateur de la maladie. Ces pertes concernent les racines tubéreuses, les feuilles et le matériel de plantation (tiges).

II.2. Systématique et biologie de l'agent pathogène

La bactérie *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* anciennement appelé *Xanthomonas campestris* pv. *Manihotis* (Arthaud-Bertet et Bondar) Starr appartient au phylum des Proteobacteria, à la classe des Gammaproteobacteria à l'ordre des Xanthomonadales, à la famille des Xanthomonadaceae et au Genre *Xanthomonas* (Bradbury, 1986). Elle a été reclassée dans l'espèce *axonopodis* grâce aux travaux de Vauterin *et al.* (1995) sur des hybridations ADN-ADN (Fargier, 2007). *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* est un bacille à Gram négatif, mobile grâce à un flagelle polaire. Sa croissance sur le milieu LPGA (Lévure Peptone Glucose Agar) est lente et les colonies sont visibles au bout de 48 h d'incubation (Daniel, 1977). Leur diamètre après deux jours de culture varie entre 1,5 et 3 mm. La bactérie ne forme pas de spores, ses colonies sont apigmentées, lisses et d'un blanc ivoire scintillant (Photo 3). Elles présentent un aspect convexe

avec des contours réguliers. Le pathogène produit du Xanthane qui donne un aspect visqueux aux colonies. C'est une bactérie aérobie stricte qui ne réduit pas le nitrate et ne dénitrifie pas.



(YAMEOGO F. 2015)

Photo 3: Colonie de *Xam* sur milieu LPGA après 72 h d'incubation

II.3. Variabilité génétique de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*

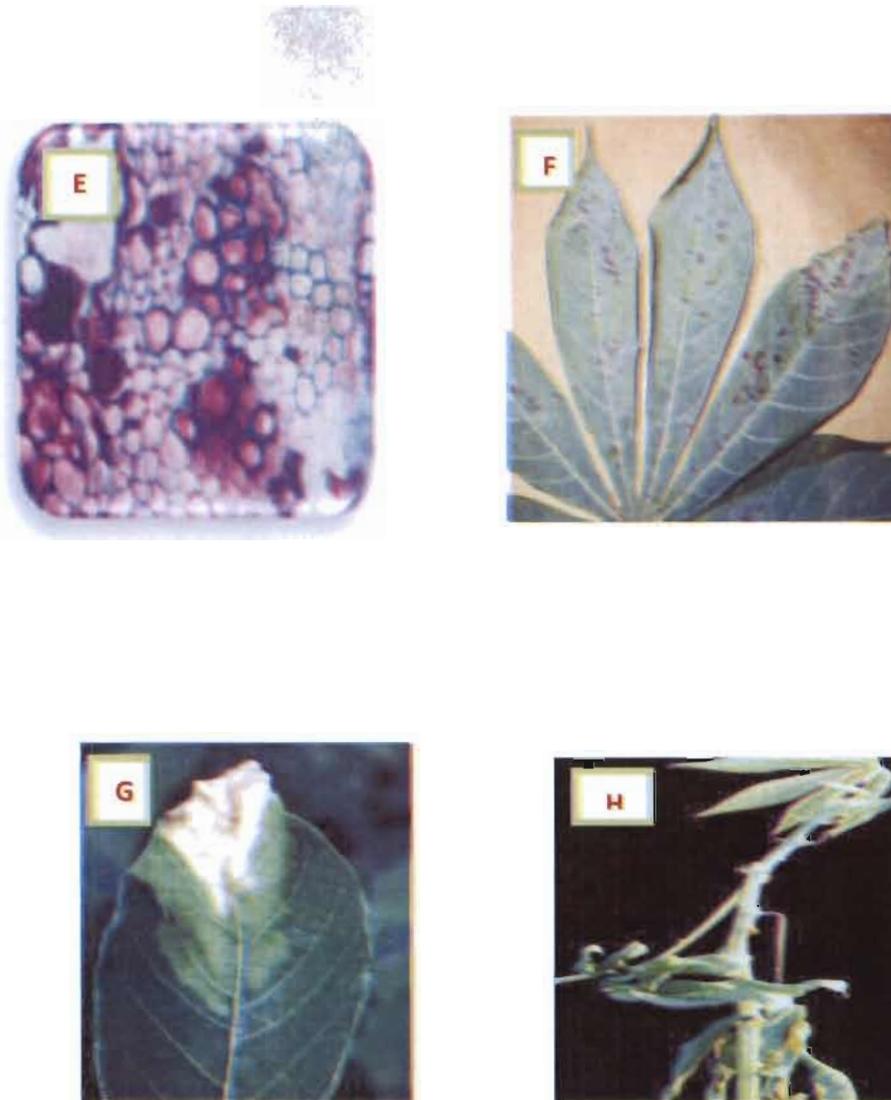
Plusieurs études de diversité ont été menées sur des souches originaires d'Amérique Latine et d'Afrique à l'aide de différents marqueurs moléculaires dont la VNTR, l'AFLP, RLFP, la caractérisation Rep-PCR et diverses pratiques spécifiques à l'ADN du pathogène ou à l'ARN ribosomal (Boher et Verdier, 1994 ; Verdier *et al.*, 1998 ; Restrepo *et al.*, 2000 ; Trujillo *et al.*, 2014). Ces études révèlent une très grande diversité des souches d'Amérique latine contrairement à celles d'Afrique. Des études sur les souches de *Xam* du Nigéria et du Togo montrent une dissemblance entre les haplotypes africains analysés (Restrepo et Verdier, 1997; Restrepo *et al.*, 2000; Bodnar, 2012). Verdier *et al.* (1997) signalent que le plasmide P44 jouerait le rôle de facteur de virulence chez les souches de *Xam*. Chez les clones avirulents, un fragment de 8 kb est absent de ce plasmide. Une étude récente sur la souche CIO151 de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* montre qu'elle possède 10 groupes de facteurs de virulence conservés à l'intérieur du genre *Xanthomonas* (Arrieta-Ortiz *et al.*, 2013).

II.4.Epidemiologie

II.4.1. Mode d'infection et symptômes

Xam est une bactérie vasculaire qui pénètre dans la plante à travers des ouvertures naturelles notamment les stomates et les blessures. Les tiges peuvent également être infectées suite à des piqûres d'insectes ou à des lésions d'antracnose. Une fois à l'intérieur de la plante, elle se multiplie dans les espaces intercellulaires grâce aux cellules environnantes (Photo4E). Elle se déplace progressivement à travers les tissus vasculaires jusqu'à empêcher la circulation de la sève brute. Cette obturation se fait grâce aux protéines polysaccharidiques et pectiques entourant la bactérie. Celles-ci proviennent à la fois du pathogène et de l'hôte. L'arrêt du transport de la sève brute se traduit par le flétrissement et le dessèchement des tiges (Verdier,1988).

La bactériose vasculaire se manifeste par des taches anguleuses huileuses et translucides sur les feuilles entourées ou non d'un halo chlorotique (Photo4F). Elles sont plus visibles sur la face inférieure des feuilles. Ces taches se développent, deviennent brunes et s'entourent d'une plage circulaire de brûlure (Photo4G). Cela conduit au flétrissement et à la chute des feuilles atteintes (Photo4H). L'infection vasculaire de la plante se traduit par la présence d'exsudat gommeux sur les nervures, les pétioles et les tiges, de chancre sur les tiges et la nécrose vasculaire.



Source: Msikita *et al.* (2000)

Photo 4: Symptômes de la bactériose: (E) Multiplication de *Xam* dans les espaces intercellulaires de l'hôte; (F) Taches anguleuses huileuses et translucides sur les feuilles entourées ou non d'un halo chlorotique, (G) Brûlure de la feuille de manioc causée par la bactériose, (H) flétrissement des feuilles.

II.4.2 Cycle infectieux

Le cycle infectieux de la bactérie se compose d'une phase de survie et d'une phase parasitaire. La phase de survie se rencontre essentiellement en saison sèche et assure le maintien de la bactérie jusqu'à la nouvelle saison des pluies alors que les deux ont lieu simultanément en saison pluvieuse (Daniel et Boher, 1982).

La période de survie est marquée par un arrêt de l'expression de la bactériose. On observe également une baisse importante voire même une absence temporaire de la population bactérienne (Daniel et Boher, 1982). Toutefois, le pathogène se maintient dans la semence, les débris végétaux à la surface du sol, les tiges, les feuilles, les fruits de la plante hôte jusqu'à la saison des

pluies (Daniel et Boher 1982). Selon Dedal *et al.* (1980), Elango et Lozano (1981), Ikotun (1981), il peut aussi être conservé dans les plantes hôtes réservoirs telles que *Manihot glaziovii*, *Euphorbia pulcherima* (Euphorbiacées) et *Amaranthus dubius* (Amaranthacées) (Verdier, 1988).

Aussi, Daniel et Boher, (1982) a détecté la présence de la bactérie dans les insectes broyeurs et piqueurs tels que *Chrysolagria cuprina* Thomson, *Gonocephalum simplex* Fab., *Ischnothrachelus* sp. Thomson, *Zonocerus variegatus* L., *Pseudotherapus devastans* Distant et un hétéroptère non identifié. La phase de survie est importante pour la mise en place de l'inoculum primaire. Cet inoculum engendre l'inoculum secondaire, utile pour la survenue de la maladie.

La phase parasitaire correspond par contre à l'expression de la maladie. Suite à la pluie, les bactéries conservées pendant la saison sèche se multiplient et la population bactérienne augmente (Daniel et Boher, 1985 ; Verdier, 1988). Les parasites pénètrent alors dans les feuilles et provoquent les symptômes caractéristiques de la bactériose.

II.4.3. Facteurs de dissémination et de développement du pathogène et de la maladie

Le matériel végétal est le principal facteur de dissémination de l'agent pathogène (Restrepo et Verdier, 1997). Les temps humides et les températures élevées sont favorables à la multiplication du parasite. Daniel et Boher, 1985a signalent un taux d'inoculum important au champ variant entre 10^6 à 10^8 bactéries/feuille dans des conditions d'humidité relative et de température très élevées. D'autres facteurs comme la cueillette des feuilles, les insectes vecteurs, le sol ou les plantes hôtes contribuent à la dissémination de la maladie (Daniel et Boher, 1985b).

II.5. Lutte contre la bactériose vasculaire du manioc

Plusieurs méthodes de lutte ont été développées contre la bactériose du manioc. Il s'agit essentiellement de:

- la lutte préventive qui consiste à prendre des précautions pour éviter l'introduction et la propagation de la maladie ;
- la lutte curative qui consiste à trouver des moyens pour éradiquer la maladie.

Quelle que soit la nature de la lutte, elle peut combiner plusieurs méthodes (lutte intégrée) pour être efficace. D'après Verdier (1988), l'utilisation de variétés résistantes associée à la sélection de matériel végétal sain restent les méthodes de lutte les plus efficaces contre la bactériose vasculaire du manioc. Ces méthodes de lutte nécessitent avant tout la connaissance de la diversité de l'agent responsable de la maladie.

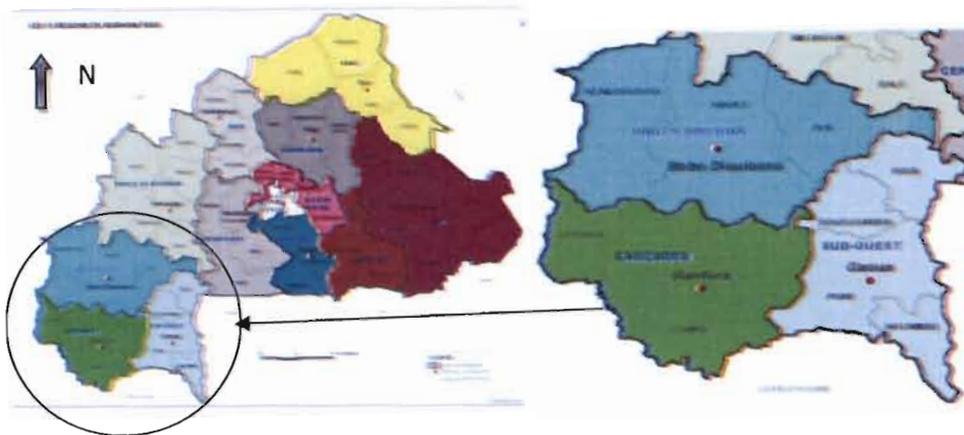
**DEUXIEME PARTIE: MATERIEL ET
METHODES**

Chapitre I: Matériel et méthodes

I. Matériel

I.1. Présentation du site de l'étude

Les prospections collectes ont été effectuées dans les régions des Cascades, des Hauts-Bassins et du Sud-ouest (Figure 4). Ces sites choisis sur la base des études récentes sur la filière manioc réalisées par Diancoumba (2008), sont des zones de production par excellence.



Source: http://www.insd.bf/n/images/cartes/carte_burkina.png

Figure 4: Sites d'échantillonnage de la bactériose au Burkina

I.2. Matériel biologique

Le matériel biologique est composé de:

- échantillons de feuilles de manioc infectées collectées sur différents sites de production (Tableau1);
- souche de référence de *Xam* CFBP7945 collectée dans les Cascades en 2012 au Burkina Faso;
- six (06) variétés de manioc homologuées et diffusées par l'INERA, utilisées pour le criblage variétal et la variété 30/572 pour le test du pouvoir pathogène. Il s'agit des variétés: 92/0325, 94/0270, 92/0067, 92/0427, 91/02312, 4(2)1425 vulgarisées au Burkina Faso par l'INERA depuis 1998. Le cycle de ces variétés varie de 6 à 12 mois selon la maîtrise d'eau et le rendement de 25 à 45t/ha si l'itinéraire technique est suivi correctement. Ces variétés présentent une tolérance aux ravageurs et maladies.

Tableau 1: Nombre d'échantillons collectés par localité et par région

Région	Province	Localité	Nombre d'échantillons	Date de collecte
Hauts Bassins	Houet	Bama	151	29/10/2015
		Santidougou	75	03/12/2015
	Kéné Dougou	Orodara	40	04/12/2015
		Dou	10	04/12/2015
Cascades	Comoé	Karfiguela	40	28/10/2015
		Beregadougou	32	28/10/2015
		Takeledougou	31	28/10/2015
		Banfora	60	28/10/2015
	Léraba	Sindou	90	05/12/2015
Sud ouest	Poni	Sidoumcare	0	16/11/2015
		Lou	0	16/11/2015
		Périghan	0	16/11/2015
TOTAL		12	529	

II. Méthodes

II.1. Prospection et collecte des échantillons

L'échantillonnage a été réalisé entre octobre et décembre 2015 dans les régions des Hauts Bassins, des Cascades et du Sud-ouest. Il consiste à prélever une trentaine de feuilles infectées par champ à raison d'une feuille/plante suivant une diagonale ou selon un schéma en zig-zag. Par ailleurs, le nombre d'échantillons peut varier en fonction du niveau d'infection du champ. Les coordonnées des différents champs ont été relevées au moyen d'un GPS. Les échantillons ont été conditionnés dans des enveloppes portant le nom de la localité, la date de collecte et un code d'identification. Au laboratoire, les échantillons ont été conservés à -20° C avant l'isolement des souches.

Au cours de l'échantillonnage, l'incidence de la maladie a été évaluée selon la formule:

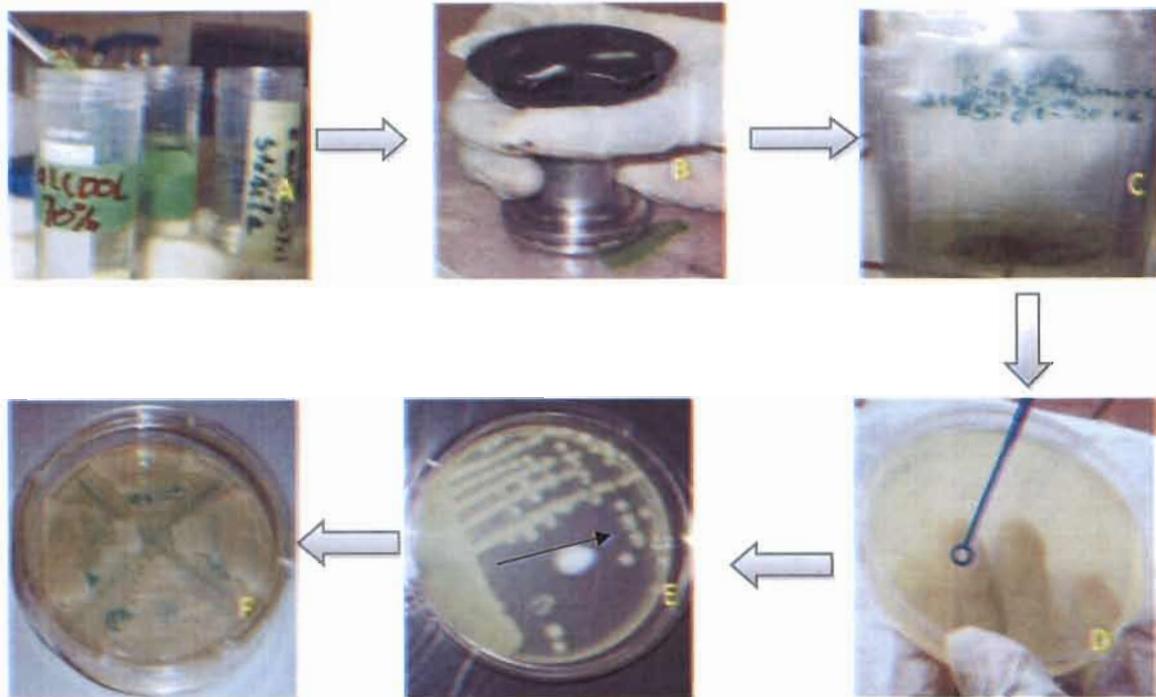
$$I = (\text{nombre de plantes infectées} / \text{nombre total de plantes observées}) * 100.$$

II.2. Caractérisation et identification des souches de *X. axonopodis* pv. *manihotis*

II.2.1. Isolement des souches de *Xam*

Les isolements ont été effectués sur les fragments de feuilles présentant les symptômes de la maladie comportant une partie saine (Photo 5). Il a consisté à les désinfecter successivement dans de l'éthanol (70%), de l'eau de javel à (0,1%) et à les rincer dans l'eau distillée stérile. Les fragments sont ensuite broyés et suspendus dans 1 ml d'eau distillée stérile. La suspension est laissée pendant au moins 30 mn à température ambiante et agitée périodiquement pour favoriser la diffusion bactérienne. Cinquante (50) µl de la suspension sont étalés sur du milieu de culture LPGA (pour 1000 ml d'eau distillée à pH= 7,2 on a: 7 g de levure, 7 g du peptone, 7 g du glucose et 18 g d'Agar) auquel sont additionnés des antibiotiques dont la kasugamycine (20 mg/l), la cephalexine (40 mg/l) et le propiconazole (fongicide à 40 mg/l).

Elles sont mises en incubation pendant 48 à 72h. La souche de référence de *Xam* CFBP7945a été également étalée pour servir de témoin. Les colonies bactériennes qui ont présenté les caractéristiques morphologiques (blanc-ivoire) similaires à celles de la souche de référence *Xam* CFBP7945 sont purifiées et utilisées pour les tests du pouvoir pathogène.



(YAMEOGO F. 2015)

Photo 5: Différentes étapes de la méthode d'isolement des bactérie: (A) Désinfection du fragment de feuille infectée; (B) Broyage du fragment; (C) Repos de la suspension pendant une trentaine de minutes pour favoriser une meilleure diffusion des bactéries; (D) Etalement sur du milieu LPGGA; (E) Colonies suspectes au bout de 72 h d'incubation; (F) Souches pures de *Xam*.

II.2. 2. Caractérisation moléculaire des souches de *Xam*

La PCR a été réalisée soit sur colonies bactériennes, soit sur l'ADN génomique des souches de *Xam* extraites avec le kit «Bacteria DNA Preparation» de la structure Jena Bioscience selon le protocole recommandé.

La PCR décrite par Verdier *et al.* (1998) a été utilisée pour l'identification moléculaire des souches de *Xam*. Quant à l'analyse de la diversité des souches, nous avons amplifié deux gènes conservés (*atpD* et *gyrB*) de 19 souches de *Xam* choisies en fonction de leur origine géographique (Annexe 2). Le produit de PCR a été séquencé par Cogenics. Les séquences obtenues sont comparées par BLAST (Annexes 3 et 4). Les séquences des amorces utilisées sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 2: Amorces (F: forward et R: reverse) utilisées pour les différentes PCR.

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	850 bp
rpoD	F: TGG-AAC-AGG-GCT-ATC-TGA-CC C: ATT-CYA-GGT-TGG-TCT-GRT-T	
XV/XK	F: TTC-GGC- AAC-GGC-AGT-GAC-CAC-C R: TCA-ATC-GGA-GAT-TAC-CTG-AGC-G	900 bp
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

Pour les différentes PCR réalisées (diagnostic et amplification des gènes conservés), un mélange réactionnel de 25 µl est préparé. Les amplifications sont réalisées dans un thermocycleur de marque BIOMETRA. Le programme PCR est de 30 cycles réactionnels comprenant une dénaturation à 95 °C pendant 30 s, une hybridation à 61 °C en 30 s et une élongation à 72 °C pour 1,5 mn.

Pour l'électrophorèse 10 µl de chaque produit PCR est utilisé. Ce dernier se réalise sur un gel d'agarose à 1 % contenant du Gel red, à 100 V pendant 25 mn. La visualisation des bandes se fait sous une table à lumière UV. La taille de l'amplicon est d'environ 900 pb.

II.2.3. Tests du pouvoir pathogène

Ils sont réalisés sur des jeunes feuilles de manioc de la variété 30/572.

II.2.3.1. Méthodes d'inoculation

Des plantes de manioc élevées en conditions semi contrôlées sont utilisées pour les tests du pouvoir pathogène des souches de *Xam*. Les feuilles sont inoculées par infiltration avec une suspension bactérienne de 10^8 bactéries/ml correspondant à une densité optique (DO) de 0,2 à 600 nm (Photo 6). La DO est mesurée en mettant 1 ml de la suspension bactérienne dans une cuve à spectrophotomètre et calibrée à 0,2 avec une incertitude de 10% selon la formule suivante:

Volume d'eau distillée stérile à ajouter = (DO obtenue - DO voulue) / DO voulue * Vr.

Avec Vr = Volume de la suspension bactérienne restante après prélèvement de 1ml pour mesurer la DO.

Une plante est inoculée avec de l'eau distillée stérile pour servir de témoin. Les plantes inoculées sont incubées en conditions semi-naturelles: 28-30 °C sous une humidité relative de 65-90% avec une alternance de lumière (12h) et d'obscurité (12h) pendant 48h. Les symptômes sont observés visuellement à partir du 7e JAI.



(YAMEOGO F. 2015)

Photo 6: Méthode d'inoculation des feuilles à l'aide d'une seringue sans aiguille

II.3. Elaboration de la carte sanitaire

La carte a été construite sur la base de l'incidence de la maladie dans chaque zone de production après confirmation des agents pathogènes à partir des symptômes collectés. Le Logiciel QGIS version 2.12 a été utilisé pour l'élaboration de la carte à partir des points GPS.

II.4. Test de résistance variétale

Un dispositif split plot avec deux répétitions a été utilisé. Quatre souches dont deux (02) souches par région de collecte ont été utilisées pour cribler les six variétés homologuées de l'INERA. Les plantes d'un mois ont été inoculées dans la tige en dessous des cinq dernières feuilles (Photo 7A) avec une suspension bactérienne de 10^8 CFU/ml. L'infiltration de la suspension bactérienne est réalisée à l'aide d'une seringue d'un millimètre de contenu et 0.5 mm de diamètre. Pour chaque variété, une plante est inoculée avec de l'eau distillée stérile pour servir de témoin. Les plantes sont maintenues en conditions semi contrôlées favorables à l'infection durant la durée de l'expérimentation (Photo 7B).

Les plantes inoculées sont suivies quotidiennement et leur niveau de résistance est évalué un mois après inoculation en utilisant une échelle de 0-5 que nous avons définie:

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



(YAMEOGO F. 2015)

Photo 7: Méthode d'inoculation des plantes à l'aide d'une seringue à aiguille (A);
Incubation des plantes après inoculation (B).

Chapitre II. RESULTATS-DISCUSSION

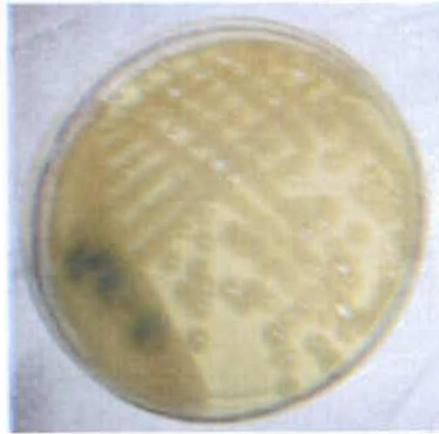
I. RESULTATS

I.1. Caractérisation et identification des souches de *X. axonopodis* pv. *manihotis*

Trois cent quarante deux (342) souches de *Xam* ont été isolées et mises en conservation. Une population de souche par parcelle a été constituée. La taille minimale d'une population obtenue par parcelle est de 5 souches et la taille maximale est 30 souches et ceux en fonction du niveau d'infection des parcelles prospectées. Sur la base des caractéristiques morphologiques (Photo 8), du test de pathogénicité (Photo 9) et la PCR (Photo 10), 294 souches de *Xam* ont été identifiées. Le nombre de souches/localité varie de 6 à 86 comme l'indique le tableau 4 ci-dessous et ont été isolées sur diverses variétés de manioc (traditionnels et celles diffusées par l'INERA).

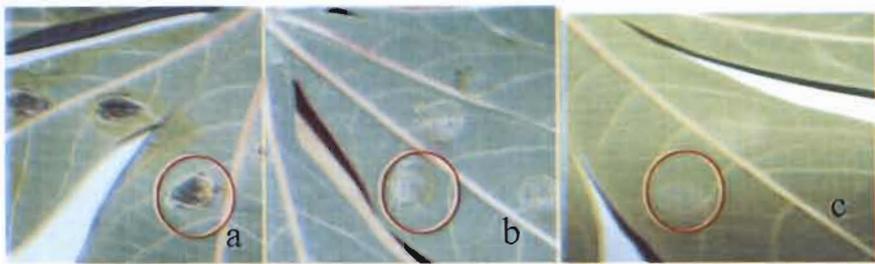
Tableau 3: Souches de *Xam* issues de l'isolement et la caractérisation

Localités	Nombre de souches obtenues	Test de Pathogénicité		PCR	
		Nombre de <i>Xam</i> virulente	Nombre de <i>Xam</i> avirulente	Positive	Négative
Karfiguela	27	22	5	23	4
Bérégadougou	24	18	6	21	6
TakéléDougou	6	6	0	6	0
Banfora	26	23	3	24	3
Vallée du Kou	70	51	19	53	19
Santidougou	59	52	7	55	4
Orodara	35	30	5	31	4
Dou	9	7	2	7	2
Sindou	86	72	14	74	
Total	342	281	61	294	48



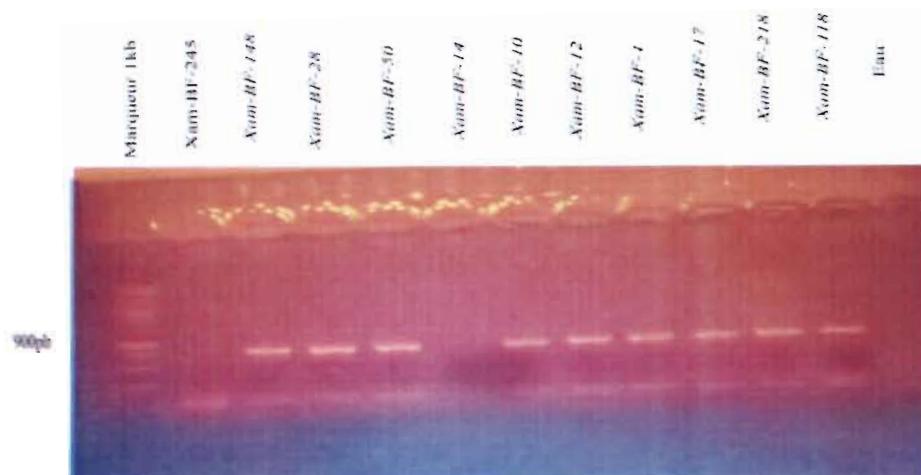
(YAMEOGO F. 2015)

Photo 8: Souche pure de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*



(YAMEOGO F. 2015)

Photo 9: Symptômes induits par les souches de *Xam* après inoculation. (A) positif, (B) négatif, (C) témoin)



(YAMEOGO F. 2015)

Photo 10: Profil des bandes des souches de *Xam* sur gel d'agarose à 1% amplifiés avec les amorces XV/XK

I.2. Distribution géographique de la bactériose vasculaire du manioc dans la zone d'étude

La carte (figure 5) élaborée sur la base de l'incidence de la maladie nous donne la distribution spatiale de la bactériose vasculaire du manioc dans les différentes régions prospectées. Il s'agit essentiellement des localités de Karfiguela, Takélé Dougou, Béré Dougou, Sindou, Banfora, Bama, Santidougou, Orodara et Dou. 529 échantillons ont été collectés principalement dans les régions des Hauts Bassins et des Cascades. Il faut signaler que dans le Sud-Ouest, notamment dans les plantations du Poni, qu'aucun symptôme de CBB n'a été observé au cours de la prospection. Par ailleurs, l'incidence de la bactériose varie d'une région à une autre et ce en fonction de la variété cultivée. Les plus fortes incidences (supérieur à 80%) ont été observées dans les Cascades précisément à Karfiguela, Banfora, Béré Dougou, Takélé Dougou et Sindou. Cependant, on note une incidence moyenne (comprise entre 10% et 50%) de la maladie dans les Hauts Bassins particulièrement dans les plantations paysannes du Houet et du Kéné Dougou. De manière surprenante, il a été constaté sur le site de conservation des variétés homologuées par L'INERA à la Vallée du Kou, une très forte incidence foliaire de la CBB atteignant 100% sur cinq des six variétés implantées. La figure 4 ci-dessous nous donne un aperçu visuel de l'incidence de la CBB dans les trois régions prospectées.



Figure 5: Carte sanitaire de la bactériose vasculaire du manioc dans les régions des Hauts Bassins, des Cascades et du Sud- Ouest.

I.3. Diversité génétique des souches de *Xam*

L'analyse des séquences de deux gènes conservés (*gyrB* et *atpD*) n'a pas révélé de polymorphisme (Annexe 3 et 4) au sein des 19 souches de *Xam* provenant de la région des Hauts Bassins et des Cascades, collectées entre octobre et novembre 2015. Mieux, ces souches ont des séquences identiques à la souche CFBP1851 de la Colombie.

I.4. Tests de la résistance variétale

Toutes les variétés testées se sont révélées résistantes aux quatre (04) souches utilisées. Cependant, les souches Xam_BF_1, Xam_BF_17 des cascades, Xam_BF_118 et Xam_BF_218 des Hauts Basins ont induit le flétrissement d'au plus deux (02) feuilles sur l'ensemble des variétés testées.

Le tableau 4 présente le comportement des variétés testées vis-à-vis des souches de *Xam* originaire de la région des Cascades et des Hauts Bassins.

Tableau 4: Comportement des variétés vis-à-vis des souches de *Xam*.

Variétés	Souches	Nombre de feuilles flétries	Comportement
92/0325	Xam_BF_17	1	Résistante
	Xam_BF_1	1	Résistante
	Xam_BF_218	2	Résistante
	Xam_BF_118	2	Résistante
91/0312	Xam_BF_17	1	Résistante
	Xam_BF_1	2	Résistante
	Xam_BF_218	2	Résistante
	Xam_BF_118	2	Résistante
92/0427	Xam_BF_17	0	Résistante
	Xam_BF_1	1	Résistante
	Xam_BF_218	0	Résistante
	Xam_BF_118	1	Résistante
4(2)1425	Xam_BF_17	1	Résistante
	Xam_BF_1	0	Résistante
	Xam_BF_218	0	Résistante
	Xam_BF_118	1	Résistante
94/0270	Xam_BF_17	0	Résistante
	Xam_BF_1	0	Résistante
	Xam_BF_218	0	Résistante
	Xam_BF_118	2	Résistante
92/0067	Xam_BF_17	0	Résistante
	Xam_BF_1	0	Résistante
	Xam_BF_218	0	Résistante
	Xam_BF_118	1	Résistante

Résistance aux *Xam* de la région des cascades

Les variétés 92/0427, 92/0067, 94/0270 n'ont développé aucun signe de flétrissement face à la souche Xam_BF_17 comme les plantes témoins. De même que la 4 (2)1425, 94/0270, 92/0067 face à Xam_BF_1. Par contre la 92/0325, 91/0312, 4(2)1425, 92/0427 ont montré au plus deux(02) feuilles flétries à 30 JAI avec ces souches (Photo 11).

Résistance aux *Xam* de la région des Hauts-Bassins

Les variétés 92/0427, 4(2)1425, 94/0270, 92/0067 ne développent aucun symptôme face à Xam_BF_218. Deux (02) feuilles flétries ont été observées chez la 92/0325 et 91/0312. Face à la souche Xam_BF_118, toutes les six variétés ont montré au plus deux (02) feuilles flétries à 30 JAI.

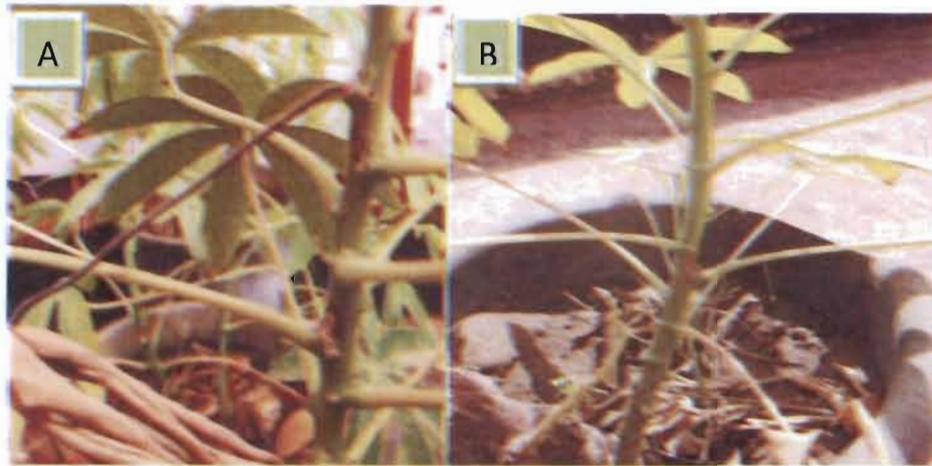


Photo 11: Flétrissement foliaire induit par la souche Xam-BF-118 sur la variété 92/0427 à 30 JAI (A) comparativement au témoin infiltré avec l'eau distillée stérile(B).

II. Discussion

De la prévalence de la bactériose vasculaire dans les zones prospectées

La bactériose vasculaire du manioc a été détectée dans neuf (09) localités avec des incidences variées. De fortes incidences ont été observées dans six (06) localités dont cinq (05) de la région des Cascades et un (01) dans les Hauts-Bassins; contrairement dans le Sud-Ouest où elle est faiblement exprimée. Il s'agit de Banfora, Karfiguela, Bérégadougou, Takélé Dougou, Sindou et Vallée du Kou. Cela pourrait s'expliquer par l'adaptabilité de l'agent pathogène à la zone. Aussi, ces localités sont caractérisées par une production intensive du manioc et ce, depuis l'introduction des variétés améliorées par l'INERA. Par conséquent, on assiste à un épuisement des sols, favorable à l'expression de la maladie. Ces résultats sont en adéquation avec ceux de Jorge (2000) qui montre qu'une forte incidence de la maladie est fonction de l'adaptabilité de l'agent pathogène à la zone. De même, Banito *et al.* (2007) démontre que l'expression de la maladie est fonction des facteurs agro écologiques tels que l'écozone, l'âge de la plante, la densité de plantation, le système de culture, le type de sol, et l'humidité. En effet, les cinq sites fortement infectés sont soit implantés dans des rizières (Vallée du Kou, Karfiguela, Sindou), soit en bordure des champs de canne à sucre (Banfora, Takélé Dougou). Par conséquent, ces sites enregistrent une humidité relative très forte pouvant favoriser l'émergence de la bactériose vasculaire. Il faut cependant signaler, que l'absence de symptômes dans les plantations visitées à Gaoua serait liée à la nature (résistance) des variétés produites, au système de culture mais surtout aux conditions climatiques qui, pendant la prospection n'étaient pas favorables au développement de la maladie.

Des souches de *Xam* isolées

L'isolement et la caractérisation de souches de *Xam* sur la base de certains caractères ont permis d'identifier trois cent quarante deux (342) souches. Il s'agit des caractères morphologiques dont la forme ronde, lisse, apigmentée, la couleur blanc ivoire et l'aspect muqueux des colonies. Ces caractères distinctifs sont spécifiques des souches de *Xam*.

Quant au test du pouvoir pathogène, 294 sur les 342 souches de *Xam* testées ont provoqué des symptômes typiques de la bactériose sur la variété 30/572 utilisée. Les souches non virulentes auraient une interaction incompatible avec la variété testée contrairement aux autres souches ayant induit des symptômes. Cependant, parmi les souches avirulentes sur la variété 30/572, 13 souches ont été amplifiées par PCR spécifique à *Xam*. Ceci confirme le caractère avirulent de ces souches sur la variété 30/572. Les autres souches, morphologiquement identiques à *Xam*, mais non

amplifiées par PCR doivent être caractérisées afin de comprendre leur similarité avec les souches de *Xam*.

De la résistance des variétés homologuées

Le criblage des six variétés homologuées avec les souches de *Xam* a révélé des niveaux de résistance très variables. Le critère de choix de ces souches est la distance géographique qui peut être un facteur de variabilité de la virulence du pathogène. Les conditions climatiques au cours du criblage (faible hygrométrie, forte température) n'ont pas permis d'apprécier le niveau réel de résistance de ces variétés. Par ailleurs, la variabilité du niveau de résistance/tolérance est fortement corrélée avec la nature de (s) gène(s) de résistance de la plante et de virulence/avirulence chez l'agent pathogène. Pour induire une maladie, une bactérie pathogène doit être capable d'adhérer, de coloniser et d'envahir l'hôte, de se multiplier et par conséquent d'adapter son métabolisme à l'environnement de l'hôte, d'échapper aux systèmes de défense de l'hôte et de résister aux différents stress rencontrés et enfin de survivre entre deux cycles infectieux (Boulanger, 2009). Mais la plante possède des mécanismes naturels ou induits de défense contre les agents pathogènes. Dans le cas spécifique du manioc, Sanchez *et al.* (1999) ont signalé plusieurs génotypes impliqués dans la résistance de la plante à la bactériose et Jorge *et al.* (2000) ont mis en exergue six (06) régions génomiques du manioc intervenant dans la résistance. Une interaction hôte incompatible s'impose alors dans ce cas. Elle se produit en présence d'une paire de gènes dominants dont les (s) gènes de résistance et le gène d'avirulence correspondant. Suite à l'agression par les souches, la plante développe une réaction d'hypersensibilité (Fargier, 2007) se traduisant par la libération de molécules de défense. Par conséquent une reconduite du criblage en période favorable et en intégrant les accessions traditionnelles est nécessaire pour mieux apprécier le comportement des variétés.

De la diversité génétique des souches de *Xam*

L'analyse des séquences des gènes *gyrB* et *atpD* n'a révélé aucun polymorphisme au sein des souches de *Xam*. Par ailleurs, ces souches sont identiques à la souche colombienne CFBP1851 mais très distantes de la souche de *X. oryzae* pv. BLS256 utilisée comme «out group». Ces résultats confirment d'une part que ces souches sont des *Xam*, et d'autre part l'absence de polymorphisme au sein des souches de *Xam* d'origine africaine révélée par plusieurs études (Restrepo et Verdier, 1997; Restrepo *et al.*, 2000; Bodnar, 2012). Aussi, les marqueurs utilisés ne seraient pas discriminant et l'utilisation d'autres marqueurs de type VNTR, AFLP permettrait de structurer les populations de *Xam* du Burkina Faso en fonction de leur origine géographique.

Conclusion et recommandations

La bactériose vasculaire est l'une des principales maladies qui limite la production du manioc dans le monde et surtout en Afrique. Signalée au Burkina Faso en 2014 dans la région des Cascades, elle n'a pas fait l'objet d'une étude approfondie. Les travaux effectués dans le cadre de notre étude avaient pour but de contribuer à améliorer la productivité du manioc au Burkina Faso à travers une meilleure connaissance de l'agent causal de la maladie et l'identification de variétés résistantes au sein des variétés déployées en milieu paysan.

Ces travaux ont permis d'avoir un aperçu global de la répartition géographique de la CBB dans les régions des Hauts-Bassins, des Cascades et du Sud-Ouest du pays. Les plus fortes incidences ont été observées dans la région des Cascades, des Hauts-Bassins (supérieure à 80%) contrairement à la région du Sud-Ouest qui a enregistré une très faible incidence voire nulle. En effet, les fortes incidences de la maladie sont observées dans les zones à forte humidité relative telles que les rizières et les bordures de champs de cannes à sucre.

Par ailleurs, 342 souches de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* ont été obtenues, enrichissant ainsi la collection de souches de *Xam* du Burkina Faso. La caractérisation par PCR et test du pouvoir pathogène ont permis de confirmer l'implication de cette bactérie dans l'expression de la maladie. Par contre, ces souches présentent un niveau de diversité génétique très faible au niveau des gènes conservés dont *gyrB* et *atpD*.

En outre, le criblage des six variétés vulgarisées par l'INERA avec quelques souches de *Xam* n'a pas permis d'appréhender le niveau de résistance réel des variétés en collection.

Cependant ces travaux ont connu des limites, et les perspectives suivantes s'imposent dans le cadre d'un contrôle efficace de la maladie au Burkina Faso:

- Elargir la prospection à d'autres localités et même dans les localités déjà visitées notamment en début de saison humide (favorable à l'expression de la maladie) en évaluant la sévérité de la maladie pour une meilleure appréciation de son ampleur;
- Développer la LAMP PCR pour la caractérisation des souches de *Xam*;
- Reconduire le criblage variétal en conditions favorables au développement de la maladie;
- Analyser la diversité génétique des souches de *Xam* à l'aide de marqueurs VNTR;
- Sensibiliser les paysans à l'utilisation des boutures saines.

BIBLIOGRAPHIE

- AKLE J. GNONHOUE H. 1979.** CBB development in Benin. In cassava Bacterial Blight in Africa : past, present and future. Report of Interdisciplinary Workshop, IITA, Ibadan, Nigeria. Centre of overseas Pest Research, London, 43p.
- ARRIETA-ORTIZ M, RODRIGUEZ R, PEREZ QUINTERO A, POULIN L, DIAZ A. 2013.** Genomic survey of pathogenicity determinants and VNTR Markers in the Cassava Bacterial Pathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* Strains CLO151.14P
- BANITO A, VERDIER V, KPÉMOUA K, WYDRA K. 2007.** Assessment of major cassava diseases in Togo in relation to agronomic and environmental characteristics in a systems approach. *African Journal of Agricultural Research* **2**: 418-428.
- BANITO A, KPÉMOUA K, WYDRA K, 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.
- BOHER B, AGBOBLI C.1992.** La bactériose vasculaire du manioc au Togo: caractérisation du parasite, répartition géographique et résistance variétale. *L'Agronomie Tropicale*. 6p.
- BOHER B, VERDIER.V.1994.** Cassava bacterial blight in Africa: the state of knowledge and implications for designing control strategies. *African crop science journal*. Vol.2;pp: 505-509
- BODNAR A. 2012.** Function of TALE1Xamin cassava bacterial blight: a transcriptomic Approach. Thèse de doctorat. Colombie.193p.
- BRADBURY J. 1986.** Guide to Plant Pathogenic Bacteria. International Mycological Institute.332p.
- BOULANGER A. 2009.** Analyse d'un nouveau système CUT impliqué dans l'acquisition et l'utilisation du N-acétylglucosamine par *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris*.
- BRICAS N, THIRION M, ZOUNGRANA B. 2009.** Bassins de production et de consommation des cultures vivrières en Afrique de l'Ouest et du Centre. Rapport provisoire.
- CARTER S, FRESCO L, JONES P, 1992.** An atlas of cassava in Africa: historical, agroecological and demographic aspects of crop distribution. CIAT, Cali, Columbia, 86 p
- CEFCOD. 2013.** Situation de référence des principales filières agricoles au Burkina Faso. Ministère de l'agriculture et de la sécurité alimentaire. Burkina Faso. 208p.
- CMA/AOC, 2004.** Note technique sur le manioc dans la zone CMA/AOC 15p.
- DANIEL J, BOHER B.1985a.** Epiphytic phase of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* in aerial parts of cassava. *Agronomie* **5**: 111-116.

- DANIEL J, BOHER B. 1985b.** Etude des modes de survie de l'agent causal de la bactériose vasculaire du manioc *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* . Agronomie, 5, (4), 339-346.
- DANIEL J, BOHER B.1982.**Quelques aspects de la survie et de la dissémination de l'agent causal de la bactériose vasculaire du manioc: *Xanthomonas campestris* pathovar.*Manihotis*O.R.S.T.O.M. 10p.
- DANIEL J.1977.** Un nouveau dépérissement en Empire Centrafricain: la bactériose vasculaire à *Xanthomonas manihotis*, 3, 14p.
- DEDAL O, PALOMAR M, NAPIERE C. 1980.** Host range of *Xanthomonas manihotis* Starr. Annal of tropical research 2: 149-155.
- DIANCOUMBA D.2008.** Promotion de la chaîne de valeur ajoutée «attiéké»; Rapport de consultation, MAHRH, Burkina Faso, 51p.
- EKANAYAKE I,1997.** Agronomy of cassava. IITA research guide, 60, 1-30.
- ELANGO F, LOZANO J. 1981.** Epiphytic survival of *Xanthomonas campestris* on common weeds in Columbia. In: Proc. Fifth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria,, CIAT, Cali, Colombie, 640p.
- FAO.2013.** Produire plus avec moins. Le manioc guide pour une intensification durable de la production 3:129p.
- FAO.2014.**Crop production data 2013. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization United Nations, Rome, Italy, <http://www.fao.org>.
- FARGIER E 2007.** L'étude de la pathologie de *Xanthomonas campestris* et de la structure génétique de ses pathovars a permis l'amélioration de la détection du pathogène dans les semences de Brassicacées, Ecole doctorale d'Angers, 65, 66-67: 236p.
- HAMZA A.2010.**Taxonomie et diagnostic des espèces de *Xanthomonas* associées à la gale bactérienne de la tomate et des *Capsicum* spp.: Situation dans les Iles du Sud-Ouest de l'océan Indien. Agricultural sciences. Université de la Réunion. 264p.
- IITA, IRAD. 2008.** Production et transformation du manioc (*Manihot esculenta*) 1: 13p.
- IKOTUN I.1981.** Some characteristics that distinguish *Xanthomonas manihotis* to *Xanthomonas cassavae*. Fitopathologia Brasileira, 6: 15-21.
- JORGE V, FREGENE M, VELEZ C, DUQUE MC, TOHME J, VERDIER V.2000.**QTL analysis of field resistance to *Xanthomonas axonopodi* spv. *Manihoti* sin cassava. Theor Appl Genet 102:564–571.
- KOUAKOU J, NANGA S, PLAGNE-ISMAIL C, PALI A, OGNAKOSSAN K. 2015.** Production et transformation du manioc.Yaoundé – Cameroun. 40p.

- LOZANO J, SEQUEIRA L. 1974.** Bacterial blight of cassava in Colombia. Etiology. *Phytopathology*, 64:74-82p.
- MAMBA-MBAYI G, TSHILENGE-DJIM P, NKONGOLO KK, KALONJI-MBUYI A. 2014.** Characterization of Congolese Strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* Associated with Cassava Bacterial Blight. *American Journal of Plant Sciences*, 5, 1191-1201.
- MARAITE H, MEYER J. 1975.** *Xanthomonas manihotis* (Arthaud-Berthet) Starr, Causal Agent of Bacterial Wilt, Blight and Leaf Spots of Cassava in Zaire. *PANS Pest Articles & News Summaries*, 21, 27-37.
- MELIFONWU A, JAMES B, AÏHOU K, WEISE S, AWAH E, GBAGUID B. 2000.** Lutte contre les adventices dans les champs de manioc: guide de la pratique de lutte intégrée à l'usage des vulgarisateurs. IITA. 27p.
- OGUNJOBI A. 2005.** Molecular fingerprinting of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* Bondar 1915 isolated in Nigeria. Ph.D. Thesis, University of Ibadan, Nigeria, pp: 160.
- OGUNJOBI A, DIXON A, FAGADE O. 2007a.** Pathological Variation in Cassava Bacterial Blight (CBB) isolates in Nigeria *World Appl. Sci. J.*, 2(6): 587-593.
- OHUNYON P, OGIO-OKIRIKA J. 1979.** Eradication of cassava bacterial blight/ cassava improvement Niger delta of Nigeria. In *Cassava Bacterial Blight in Africa, Past, Present and Future*. Report of Interdisciplinary Workshop, IITA, Ibadan, Nigeria. Centre of overseas Pest Research, London, 55-57p.
- ONYEKA T, OWOLADE O, OGUNJOBI A, DIXON A, OKECHUKWU R, BANDYOPADHYAY R, BAMKEFA R. 2008.** Prevalence and severity of bacterial blight and anthracnose diseases of cassava in different agroecological zones of Nigeria. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 3 (4), pp. 297-304.
- OTIM-NAPE G. 1980.** Cassava bacterial blight in Uganda. *Tropical Pest Management*, 26: 274-277p.
- RESTREPO S, VÉLEZ C, VERDIER V. 2000.** Measuring the Genetic Diversity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* Within Different Fields in Colombia *Phytopathology* 90, 683: 683-690p.
- RESTREPO S, VERDIER V. 1997.** Geographical Differentiation of the Population of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia. *Applied and Environmental Microbiology*, 63. 4427-4434.
- ROGERS D, APPAN M. 1973.** *Manihot* And *Manihotoides* (Euphorbiaceae). A Computer-Assisted Study. *Flora Neotropica*, Monograph No. 13. Hafner Press, New York. 274p.

- ROGERS D, FLEMING H. 1973.** A monograph of *manihot esculenta* with an explanation of taximetrics methods used. Economic Botany. 27: 1-113p.
- SILLA S, YANDIA S, ZINGA I, KOSH KE, DETHOUA M, LONGUE DR, MOITA NM, BALLOT C, TOCKO MB, VALAM ZANGO A. 2009.** Etude de l'état phytosanitaire du manioc en republiquecentrafricaine et de la variabilite des souches virales encirculation. Université de Bangui. 22p.
- SANCHEZ G, RESTREPO S, DUQUE, MC, FREGENE M, BONIERBALE M, VERDIER V. 1999.** AFLP Assessment of Genetic Variability in Cassava Accessions (*manihot esculenta*) Resistant and Susceptible to the Cassava Bacterial Blight (CBB). *Genome/National Research Council Canada*, 42pp, 163-172.
- TOURE H. 2014.** La bactériose vasculaire du manioc en Côte d'Ivoire: Distribution, Incidence, Caractérisation moléculaire et biologique des souches de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. Mémoire pour l'obtention du Master 2 Biotechnologie, Biosécurité et Bioressources de l'Université Félix Houphouët Boigny, 56p.
- TRUJILLO A, ARIAS-ROJAS N, POULIN L, CÉSAR A, TAPIERO A, RESTREPO S, KOEBNIK R, BERNAL J. 2014.** Population typing of the causal agent of cassava bacterial blight in the Eastern plains of Colombia using two types of molecular markers. *BMC Microbiology* 2014, 14:161.
- VAUTERIN L, HOSTE B, KERSTERS K, SWINGS J. 1995.** Reclassification of *Xanthomonas*. *Int. Syst. Bacteriol.* 45:472–489.
- VERDIER V, RESTREPO.S, MOSQUERA.G, DUQUE MC, GERSTLC A, LABERRYC R. 1998.** Detection of the Cassava Bacterial Blight Pathogen, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, by Polymerase Chain Reaction. *Plant Dis.* 82pp:79-83.
- VERDIER V, RESTREPO S, BOHER B, NICOLE M, GEIGER JP, ALVAREZ E, BONIERBALE M. 1997.** Cassava bacterial blight: Recent achievement in understanding the disease. *Afr. J. Root Tuber Crops*, 2: 64-68.
- VERDIER V. 1988:** Contribution à l'étude de la variabilité de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* (Arthaud Bertet et Bondar) Starr, agent causal de la bactériose vasculaire du manioc (*Manihot esculenta* Grantz). *Phytopathologie.* 231p.
- VERDIER V, DONGO P, BOHER B. 1993.** Assessment of genetic diversity among strains of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. *J Gen Microbiol* 139:2591–2601.
- VERDIER V, RESTREPO S, MOSQUERA G, DUQUE MC, GERSTL A, LABERRY R. 1998.** Genetic and pathogenic variation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Venezuela. *Plant Pathol* 47pp:601–608.

WONNI I, OUEDRAOGO L, DAO S, TEKETE C, KOITA O, TAGHOUTI G, PORTIER P, SZUREKB. 2014. First Report of Cassava Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Burkina Faso. Plant Disease, 99(4), p551.

WYDRA K, MSIKITA W. 1998. An Overview of the present situation of cassava diseases in West Africa. In: Akoroda MO, Ngeve JV (eds.) Root crops in the 21 st century. Proceedings of the 7th Triennial Symposium of the International Society of the Tropical Root Crops Africa Branch (ISTRAC-AB). ISTRAC-AB/IITA, Ibadan, Nigeria. pp.1 98–206

MSIKITA W, BRAIMA J, NNODU E, LEGG J, WYDRA K, OGBE F. 2000. Lutte contre les maladies du manioc: Guide de la pratique de lutte intégrée à l’usage des vulgarisateurs IITA. 27p.

Sites WEB consultés

EPPO. 2014. PQR database. Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. <http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm> consulté le 26 Mars 2016 à 17h 15mn.

Institut National de la statistique et de la démographie. 2015. La carte des 13 régions. http://www.insd.bf/n/images/cartes/carte_burkina.png: consulté le 20 Janvier 2016 à 10h 45mn

ANNEXES

Annexe 1. Chronogramme d'activités

Activités	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Janv	Fevr	Mars
Rédaction validation protocole										
Prospection et collecte										
Isolement caractérisation										
Extraction d'ADN, PCR										
Mise en Place de l'essai et criblage variétale										
Analyse de données										
Rédaction du mémoire										
Dépôt du rapport										

Annexe 2. Liste des souches amplifiées et séquencées

Code de souche	Souche	Origine de la souche
Xam1A	Xam-BF-12	Takélé Dougou
Xam2A	Xam-BF-17	Banfora
Xam3A	Xam-BF-72	Karfiguela
Xam4A	xam-BF-37	Béré Dougou
Xam5A	xam-BF-50	Banfora
Xam6A	xam-BF-28	Béré Dougou
Xam7A	xam-BF-148	Santidougou
Xam8A	xam-BF-125	Bama
Xam9A	xam-BF-118	Bama
Xam10A	xam-BF-344	Sindou
Xam11A	xam-BF-8	Takélé Dougou
Xam12A	xam-BF-219	Orodara
Xam13A	xam-BF-264	Sindou
Xam14A	xam-BF-1	Karfiguela
Xam15A	xam-BF-154	Santidougou
Xam16A	xam-BF-159	Santidougou
Xam17A	xam-BF-229	Sindou
Xam18A	xam-BF-123	Bama
Xam19A	xam-BF-129	Bama

Annexe 3. Séquences atpD des souches de *Xam*

CLUSTAL multiple sequence alignment by MUSCLE (3.8)

Gene atpD

```
BSZ55915_4 -----GTGCCGAAGGTGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_6 ATCCGCGCATGAAGTGCCGAAGGTGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_7 -----CACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_8 -----TGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_11 -----AAGTGCCGAAGGTGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_13 ATCCGCGCATGAAGTGCCGAAGGTGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_14 ATCCGCGCATGAAGTGCCGAAGGTGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_15 -----AAGTGCCGAAGGTGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_16 -----GCCGAAGGTGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_17 -----GCCGAAGGTGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_19 -----AAGTGCCGAAGGTGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
BSZ55915_2 -----AGTGCCGAAGGTGTATCACGCGCTGAAGGTCGACGGCACCGACATCAC
*****
```

```
BSZ55915_4 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_6 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_7 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_8 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_11 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_13 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_14 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_15 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_16 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_17 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_19 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
BSZ55915_2 TCTGGAAGTGCAGCAGCAGCTCGGCGACGGCGTCGTGCGCACGATTGCGCTCGGCTCCAC
*****
```

```
BSZ55915_4 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_6 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_7 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_8 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_11 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_13 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_14 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_15 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_16 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_17 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_19 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
BSZ55915_2 CGATGGCCTGAAGCGCAACCTGGTCGCCACCAACACCGAACCGCGCCATTTTCGGTGCCGGT
*****
```

```
BSZ55915_4 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_6 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_7 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_8 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_11 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_13 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_14 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_15 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_16 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_17 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_19 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
BSZ55915_2 CGGTGCCGGTACGCTGGGTTCGCATCATGGACGTGCTGGGCGCCCGATCGACGAAGCCGG
```

BSZ55915_4 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_6 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_7 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_8 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_11 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_13 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_14 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_15 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_16 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_17 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_19 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA
BSZ55915_2 CGACGTGCAGGCCTCGGACCATTGGGAAATCCATCGCGGCGCACCGTCGTACGAAGACCA

BSZ55915_4 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_6 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_7 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_8 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_11 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_13 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_14 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_15 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_16 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_17 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_19 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT
BSZ55915_2 GTCCTCCAGCACC GAATTGCTGGAAACC GG CATCAAGGTCATCGACCTGATGTGTCCGTT

BSZ55915_4 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_6 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_7 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_8 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_11 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_13 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_14 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_15 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_16 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_17 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_19 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT
BSZ55915_2 CGCCAAGGGCGGCAAGGTCGGCCTGTTTCGGCGGCGCCGGCGTCGGCAAGACCGTCAACAT

BSZ55915_4 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_6 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_7 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_8 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_11 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_13 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_14 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_15 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_16 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_17 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_19 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT
BSZ55915_2 GATGGAGCTGATCAACAACATCGCCAAGGGCGCACAGCGGCTTGTCCGTGTTTCGCCGGCGT

BSZ55915_4 GGGCGAGCGTACCCGCGAGGGCAACGACTTCTACCACGAGATGAAGGACTCCAACGTCTT

BSZ55915_14 AGTGTCCGCGCTGCTCGGCCGTATGCCGTCGGCGGTGGGTTACCAGCCGACCCTGGCCGA
 BSZ55915_15 AGTGTCCGCGCTGCTCGGCCGTATGCCGTCGGCGGTGGGTTACCAGCCGACCCTGGCCGA
 BSZ55915_16 AGTGTCCGCGCTGCTCGGCCGTATGCCGTCGGCGGTGGGTTACCAGCCGACCCTGGCCGA
 BSZ55915_17 AGTGTCCGCGCTGCTCGGCCGTATGCCGTCGGCGGTGGGTTACCAGCCGACCCTGGCCGA
 BSZ55915_19 AGTGTCCGCGCTGCTCGGCCGTATGCCGTCGGCGGTGGGTTACCAGCCGACCCTGGCCGA
 BSZ55915_2 AGTGTCCGCGCTGCTCGGCCGTATGCCGTCGGCGGTGGGTTACCAGCCGACCCTGGCCGA

BSZ55915_4 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACCTCGAACCCAAGAGCAA
 BSZ55915_6 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACCTC-AACCCAAGAGCAA
 BSZ55915_7 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACCTC-----
 BSZ55915_8 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACCTC-----
 BSZ55915_11 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACCTC-----
 BSZ55915_13 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACTCA-----
 BSZ55915_14 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACTCA-----
 BSZ55915_15 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACTCG-----
 BSZ55915_16 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACTCC-ACCCAAGAGCAA
 BSZ55915_17 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACTCC-AACCCA-----
 BSZ55915_19 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACTC-----
 BSZ55915_2 GGAAATGGGCGTGCTGCAGGAGCGCATCACTC-----

Annexe 4. Séquences *gyrB* des souches de *Xam*

CLUSTAL multiple sequence alignment by MUSCLE (3.8)

IW-G_10_GYRB-F_K06 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_11_GYRB-F_M06 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_12_GYRB-F_O06 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_14_GYRB-F_C08 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_15_GYRB-F_E08 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_16_GYRB-F_G08 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_17_GYRB-F_I08 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_18_GYRB-F_K08 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_19_GYRB-F_M08 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_2_GYRB-F_O08 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_3_GYRB-F_A10 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_4_GYRB-F_C10 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_6_GYRB-F_G10 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_7_GYRB-F_I10 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA
 IW-G_8_GYRB-F_K10 CGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTTCCACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAA

IW-G_10_GYRB-F_K06 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_11_GYRB-F_M06 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_12_GYRB-F_O06 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_14_GYRB-F_C08 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_15_GYRB-F_E08 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_16_GYRB-F_G08 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_17_GYRB-F_I08 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_18_GYRB-F_K08 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_19_GYRB-F_M08 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_2_GYRB-F_O08 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_3_GYRB-F_A10 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_4_GYRB-F_C10 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_6_GYRB-F_G10 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_7_GYRB-F_I10 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT
 IW-G_8_GYRB-F_K10 CGCCCACCGCTACGACCCGGCCCTGCTCACCGCGTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGT

