



**HAL**  
open science

# Diversité des populations de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* au Mali et recherche de sources de résistance durables chez le manioc

Moussa Kante

► **To cite this version:**

Moussa Kante. Diversité des populations de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* au Mali et recherche de sources de résistance durables chez le manioc. Sciences agricoles. Université Montpellier; Université de Bamako. Institut Supérieur de Formation et de Recherche Appliquée, 2020. Français. NNT : 2020MONTG028 . tel-03157340

**HAL Id: tel-03157340**

**<https://theses.hal.science/tel-03157340v1>**

Submitted on 3 Mar 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Mécanisme des Interactions Parasitaires

École doctorale GAIA

Unité de recherche IPME

En partenariat international avec IPU Ex-ISFRA & Université de Ségou, MALI

**Diversité des populations de *Xanthomonas phaseoli* pv  
*manihotis* (*Xpm*) au Mali et recherche de source de  
résistance durable chez le manioc.**

Présentée par Moussa KANTE

Le 17 Décembre 2020

Sous la direction de Boris SZUREK, Directeur de thèse  
et Ousmane KOITA, Co-Directeur de thèse

Devant le jury composé de

Dr Haby SANOU, Directeur de Recherche, Institut d'Economie Rurale/IER-Bamako

Prof. Claude BRAGARD, Professeur d'Université, Université Catholique de Louvain

Dr Soungalo SARRA, Directeur de Recherche, Institut d'Economie Rurale/IER-Niono-Ségou

Prof. Claire NEEMA, Professeur d'Université, Montpellier SupAgro

Prof. Ousmane KOITA, Professeur d'Université, USTTB-Bamako

Dr Boris SZUREK, Directeur de Recherche, IRD-Montpellier

Présidente

Rapporteur

Examineur

Examinatrice

Co-directeur de Thèse

Directeur de Thèse



UNIVERSITÉ  
DE MONTPELLIER

# TABLES DES MATIERES

TABLES DES MATIERES .....	i
RESUME .....	v
ABSTRACT .....	vi
REMERCIEMENTS .....	vii
LISTE DES FIGURES .....	x
LISTE DES TABLEAUX .....	xii
LISTE DES ENCADRÉS .....	xiii
LISTE DES ANNEXES .....	xiv
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS.....	xv
<b>CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>1</b>
Préambule : De l'importance de l'étude des populations phytopathogènes pour un développement agricole durable.....	1
Partie 1-Epidémiologie moléculaire : comprendre les facteurs favorisant les épidémies pour mieux en maîtriser les impacts .....	5
1.1-De l'espèce à la population bactérienne :.....	6
1.2-Aspects clés de la génétique des populations et de l'épidémiologie moléculaire .....	8
1.2.1-Forces évolutives qui influencent la génétique des populations.....	10
1.2.2-Outils d'études de l'épidémiologie moléculaire .....	12
1.3-Types de marqueurs moléculaires .....	13
1.3.1-Marqueur moléculaire VNTR, technique de génotypage de MVLA.....	18
1.3.2-Avantages et limites de la technique MLVA .....	22
Partie 2-Les interactions plante-pathogène et mécanismes d'action des phytobactéries.....	24
2.1-Comportement de la plante et du pathogène lors d'une interaction .....	26
2.1.1-Généralités .....	28
2.1.2-L'hypothèse de la relation « gène pour gène » .....	29
2.2-Les effecteurs : facteurs de pathogénie et éliciteurs.....	30
2.2.1-Facteurs de pathogénie chez les phytobactéries .....	30
2.2.2-Système de sécrétion de type III et effecteurs de type III .....	31
2.2.3-Les effecteurs de type III : TALEs (cas particulier des Xanthomonas).....	34
2.2.4-Les effecteurs TALs chez les Xanthomonas.....	35
2.3-Résistance des plantes .....	39
2.3.1-Reconnaissance et déclenchement des réactions de défense .....	39
2.3.2-Mécanismes de défense constitutive et induite.....	43

2.3.3-Types de résistance .....	48
<b>Partie 3 - Le modèle d'étude : Le pathosystème <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>manihotis</i> et son impact sur la culture du manioc (<i>Manihot esculenta</i> L. Crantz).....</b>	<b>51</b>
3.1-Le manioc .....	52
3.1.1-Morphologie de la plante de manioc .....	54
3.1.2-Conditions optimales de développement de la culture du manioc .....	54
3.1.3-Origine et distribution du manioc .....	55
3.1.4-Importance de la culture .....	55
3.1.5-Management de la culture de Manioc.....	60
3.2-Le manioc au Mali .....	68
3.2.1-Statut actuel de la production du manioc au Mali : statistique et évolution actuelle .....	70
3.2.2-Zone de production au Mali.....	72
3.2.3-Contraintes de production et leur gestion.....	73
3.3-La bactériose vasculaire du manioc causée par <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>manihotis</i> .....	93
3.3.1-Impact, importance de la maladie .....	93
3.3.2- <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>manihotis</i> : .....	96
3.3.3-Symptomatologie de la bactériose vasculaire du manioc: .....	100
3.3.4-Epidémiologie : Condition favorable et dissémination de la bactériose vasculaire du manioc .....	100
3.3.5-Epidémiologie : Cycle de la maladie.....	102
3.3.6-Epidémiologie moléculaire appliquée à <i>Xpm</i> .....	106
3.3.7- Gestion de la bactériose vasculaire du manioc.....	109
<b>Partie 4-Présentation du sujet de la thèse .....</b>	<b>113</b>
4.1-Approche et Problématique du sujet de la thèse .....	113
4.2-Questions de recherche : .....	116
4.3-Objectifs et stratégie de l'étude: .....	116
<b>CHAPITRE 2- RESULTATS.....</b>	<b>119</b>
<b>Partie 1- Facteurs agronomiques et socio-économiques affectant la culture du manioc au Mali ..</b>	<b>119</b>
1.1-Contexte socio-agronomiques de la production du manioc au Mali .....	119
1.2-Matériels et méthodes .....	120
1.2.1-Zones d'étude au Mali.....	120
1.2.2-Collectes des données.....	120
1.2.3-Traitement des données .....	121
1.3-Résultats et discussions .....	122
1.3.1-Caractéristiques sociodémographiques des acteurs de la filière .....	122
1.3.2-Facteurs de Production dans la culture du Manioc au Mali .....	124

1.3.3-Analyse économique.....	131
1.3.4-Valorisation-utilisation de la production du manioc au Mali.....	133
1.4-Discussion.....	135
1.4.1-Caractéristiques du système de production du manioc : un système de production toujours familial ? .....	135
1.4.2-Le système de production malien est-il vulnérable aux bioagresseurs ? .....	137
1.5-Conclusions .....	139
1.6-Implications personnelles .....	139
1.7-Publications (référence de la publication) .....	139
<b>Partie 2-Connaissance sur <i>Xpm</i> au Mali et ailleurs en Afrique (Nigeria et Cameroun) .....</b>	<b>140</b>
2.1-Statut de la CBB au Mali : Prévalence et épidémiologie .....	140
2.1.1-Contexte .....	140
2.1.2-Implications personnelles .....	140
2.1.3-Publication: First report of <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>manihotis</i> ( <i>Xpm</i> ), the causal Agent of Cassava Bacterial Blight (CBB) in Mali (1 <sup>er</sup> auteur).....	140
2.1.4-Perspectives .....	142
2.1.5-Données supplémentaires .....	142
2.2-Diversité génétique des populations maliennes de <i>Xpm</i> : Structure des populations de <i>Xpm</i> du Mali et épidémiologie.....	145
2.2.1-Contexte .....	145
2.2.2-Implications personnelles .....	145
2.2.3-Publications (référence de la publication) : Article à soumettre dans la revue Applied and Environmental Microbiology (1 <sup>er</sup> auteur).....	146
2.2.4-Perspectives .....	164
2.2.5-Données supplémentaires (DS) / supplementary data (SD): .....	170
2.3-La CBB ailleurs : Cas du Nigeria et du Cameroun .....	184
2.3.1-Contexte .....	184
2.3.2-Matériels et méthodes.....	184
2.3.3-Résultats et discussions .....	188
2.3.4-Conclusions .....	198
2.3.5-Implications personnelles .....	198
2.3.6-Perspectives .....	198
2.3.7-Données supplémentaires(DS) :.....	198
<b>Partie 3- Résistance de variétés maliennes de manioc à <i>Xpm</i> : Evaluation préliminaire de la résistance variétale des populations <i>Xpm</i> du Mali. ....</b>	<b>202</b>
3.1-Contexte.....	202
3.2-Implications personnelles .....	202

3.3-Valorisation : Publication .....	202
3.3.1-Publications : Article (1 <sup>er</sup> auteur) soumis au MSAS 2020 ( <a href="http://msas.ml/bko2020/images/pdf/MSAS2020_Actes_Volume_1.pdf">http://msas.ml/bko2020/images/pdf/MSAS2020_Actes_Volume_1.pdf</a> ) .....	203
3.3.2-Données supplémentaires .....	218
<b>CHAPITRE3-DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION .....</b>	<b>219</b>
1-Discussion sur la contribution des travaux actuels à la compréhension et la lutte contre la CBB .....	219
2-Conclusion générale .....	226
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>227</b>
<b>ANNEXES FINALES .....</b>	<b>256</b>

## RESUME

Malgré son importance dans l'agriculture en milieu tropical, les recherches sur le manioc (*Manihot esculenta*) ont longtemps été négligées. Cette culture occupe aujourd'hui le devant de la scène en matière de recherche agronomique compte tenu de ses atouts en termes de sécurité alimentaire dans un contexte de changements climatiques et d'instabilité économique dans bon nombre de pays du sud. Cependant elle fait face à une contrainte parasitaire de taille, la bactériose vasculaire du manioc (CBB, pour Cassava Bacterial Blight en anglais) provoquée par la bactérie à Gram négatif *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*).

Au Mali dans le but de proposer une source de diversification aux cultures vivrières classiques largement dominées par les céréales, et de promouvoir des cultures résilientes au changement climatique, nous avons mené une étude socio-agronomique sur le manioc complétée par une étude sur l'impact de la CBB au Mali et son statut épidémiologique. Nous nous sommes intéressés : (i) aux caractéristiques socio-agronomiques de la production du manioc dans cinq des plus importantes régions productrices de manioc ; (ii) aux caractéristiques génétiques et pathotypiques des populations de *Xpm* au Mali, et (iii) à la résistance des variétés locales de manioc face à la CBB.

Une série d'enquêtes auprès des producteurs de manioc suivies d'échantillonnage sur le terrain au Mali ont été réalisées. Les souches de *Xpm* ont été isolées à des fins d'études épidémiologiques grâce à l'emploi d'outils de typage moléculaire (MLVA), des tests de pathogénicité, et criblage variétal.

Nos résultats dénotent la présence de la CBB dans les trois pays prospectés, mais surtout permettent de valider la CBB comme une réelle menace à la culture du manioc au Mali. Dans ce pays le système de production reste très vulnérable aux bioagresseurs, dominé par une approche familiale avec de petites superficies avec un usage sur de longues années des mêmes variétés, un usage majoritaire de la main d'œuvre familial et aussi des échanges de boutures entre producteurs du même village qui sont majoritaires (78% des cas d'acquisition de boutures). L'étude de diversité et de structure des populations de *Xpm* du Mali permet de supposer une situation endémique de la maladie dans ce pays. Quant aux variétés locales, elles sont pour la plupart sensibles à *Xpm*, notamment aux haplotypes les plus représentés.

## ABSTRACT

Despite its importance in tropical agriculture, research on cassava (*Manihot esculenta*) has long been neglected. This crop is now at the forefront of agricultural research given its relevance in terms of food security in a context of climate change and economic instability in many developing countries. However, it is facing a major parasitic constraint, Cassava Bacterial Blight (CBB) caused by the gram-negative bacterium *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*).

In Mali in order to offer a source of diversification to conventional food crops largely dominated by cereals, and to promote crops that are resilient to climate changes, we carried out a socio-agronomic study on cassava, supplemented by a study on the analysis of the impact of CBB in Mali and its current epidemiological status. More precisely we carried out the analysis of (i) the socio-agronomic characteristics of cassava production in five of the most important cassava-producing regions in Mali; (ii) the genetic and pathotypic characteristics of Malian *Xpm* populations, and (iii) the resistance status of local cassava varieties to CBB.

A series of interviews among cassava producers followed by field sampling in Mali were carried out. Strains of *Xpm* were isolated for epidemiological studies using molecular typing tools (MLVA), pathogenicity tests, and resistance screening.

Our results denote validate the occurrence of CBB as a real threat to cassava cultivation in Mali where the production system remains very vulnerable to pests, dominated by smallhold farmer families cultivating small areas with long years of use of the same varieties, where a majority of cuttings are acquired through exchanges of cuttings between producers from the same village. The study of the diversity and structure of the *Xpm* populations in Mali suggests that the disease is endemic in this country. As for the local varieties, they are for the most part susceptible to *Xpm*, including the most represented haplotypes.



## REMERCIEMENTS

Cette thèse est avant tout l'expression de divers partenariats actifs, vivants, d'un travail collaboratif entre structures de recherche et d'enseignement supérieur de divers horizons. A ce titre elle est la matérialisation d'un partenariat fécond à travers l'implication de ressources humaines, techniques et surtout financière d'hommes et femmes à travers leurs institutions.

En premier lieu mes reconnaissances vont à l'endroit des institutions suivantes, l'IRD de Montpellier à travers l'UMR IPME, l'USTTB à travers le LBMA de Bamako, l'IER à travers le CRRA-Sotuba et l'Université de Ségou qui m'ont soutenu pour la réalisation de certaines activités de cette thèse.

Un grand merci au principal bailleur de cette thèse le gouvernement français par le biais de la bourse de thèse en alternance du SCAC (Service de Coopération et d'Action Culturelle) de l'Ambassade de France à Bamako au Mali. Je voudrais également remercier les acteurs de la cotutelle de thèse (UMontpellier et IPU, ex-ISFRA de Bamako ), aussi les partenaires du Burkina Faso (INERA, LMI-Pathobios), du Nigeria (IITA-Ibadan), du Cameroun (IITA-Yaoundé), de la Cote d'Ivoire, de la Colombie et surtout un grand merci à ma structure d'appartenance la FAMA(Faculté d'Agronomie et de Médecine Animale) de l'Université de Ségou pour son assistance administrative suite à mes multiples sollicitations.

Au sein de ces institutions, des personnes m'ont soutenu, conseillé, guidé, assisté techniquement, moralement et financièrement. C'est donc le lieu de les adresser un vibrant merci :

-Valérie VERDIER, celle qui a accepté de m'accueillir à l'IRD et m'a mis en relation avec l'homme qui deviendra mon mentor (Boris SZUREK), mais sans oublié la cause originale, car dit-on jamais un effet sans cause, en ce sens je n'oublierai jamais Montpellier SupAgro à travers la Professeur Claire NEEMA, car c'est grâce à elle, que j'ai pu rentrer en contact avec Dr Valérie VERDIER et de là tout est parti, un stage en M2 sur la bactériose du manioc et ensuite une thèse. Je vous suis reconnaissant pour avoir été à l'origine de cette belle aventure et surtout une de mes enseignantes modèles lors de mon passage à SupAgro.

-Les membres de l'équipe IPME (une belle famille scientifique) vous avez rendu plus qu'agréable mes séjours à Montpellier et particulièrement Carolina FLORES, pour son accompagnement constant depuis mes travaux de stage au master jusqu'à la fin de cette thèse, Yassine MOUFID pour son implication sans faille aux activités sur les souches du Nigeria et du Cameroun. Mathilde HUTIN, pour ses contributions par le travail sur les souches du Cameroun.

-Les étudiants stagiaires 2017-2018 de « l'équipe manioc » de la FAMA (Tiecoura DIARRA, Zoumana KANE, Mariam NIANGALY, Koni dite Sitan COULIBALY et Ibrahim DEMBELE), merci pour votre contribution aux enquêtes de terrain pour épauler votre professeur KANTE.

-Issa WONNI, Camilo LOPEZ pour leurs conseils avisés, ces moments de partage, lors de ces séjours à Montpellier et surtout pour leur assistance technique à travers le transfert de compétence jusqu'à Ségou, par mon initiation à la reconnaissance des symptômes de CBB en champ pour le premier et l'assistance documentaire et les échanges (whatsapp, Skype,..) par par moment malgré le décalage horaire depuis la Colombie pour le second.

-Christian VERNIERE et Laurence BLODIN, Ehh ces deux "CIRADIENS", oui puisqu'ils quittaient leur site de travail habituel « le BGPI de Baillarguet » pour se rendre disponibles en m'assistant à l'IRD, à Lavalette sur le site du Campus Agropolis. Depuis mon master jusqu'à la fin de cette thèse, Laurence est celle qui a participé à toutes mes "manips" de génotypage avec par moment une "plus que bonne ambiance comique", une alternative crédible pour évacuer par moment la fatigue engendrée par l'enchaînement des étapes du génotypage MLVA. A toi Christian que je nommerai le PAPA adoptif de cette thèse, tant nous comptons sur son expertise sur le thème de ma thèse. Je ne sais quoi dire pour vous signifier ma reconnaissance. Merci et merci pour tout.

-Ousmane KOITA, qui a accepté volontiers d'être le copilote pour ne pas dire co-directeur de cette aventure scientifique, de cette thèse. Très Cher Professeur KOITA, je vous suis reconnaissant de m'avoir accueilli dans votre laboratoire « le LBMA de Bamako » ; un cadre qui m'a servi de lieu de travail pendant mes périodes de séjours Bamakois. Sa passion pour la recherche surtout avec comme credo « la génération de compétences locales », galvanisait plus d'un membre parmi les équipes de recherche qu'il coordonnait.

-Boris SZUREK, "Super-B" je l'appelais par moment, que de moments forts, intenses, des émotions vécues. Super Boris vous comprendrez que ce nom démontre combien nous étions proches, il a été d'un support incommensurable pour la réussite de ce travail scientifique. Les stress des travaux à finir à la dernière minute dont lui seul a le secret pour tenir bon. Ces suggestions, recommandations, appuis techniques multiformes pour participer à des missions, événements scientifiques, m'ont permis d'être là aujourd'hui. *I NI TIE* pour dire Merci en Bambara (langue la plus parlée au Mali).

-L'équipe GTIPP à travers Ralf KOEBNIK, Lionel GAGNEVIN, Sébastien CUNNAC, Emmanuel WICKER, pour leur conseils et surtout Florence AUGUY et Sandrine FABRE,

toujours disponibles pour nous (moi et d'autres doctorants, stagiaires) guider entre les requêtes d'explication sur une quelconque "manip" ou l'emplacement d'un tel ou tel appareil ou produits qu'on ne retrouvait pas.

-Mes camarades de séjour doctoral Kader BAMOGO, SABIRA, Hamidou TALL, Leydi RACHE, et Carlos ZARATES, pour la joie de vivre constamment adoptée.

-Karim DAGNO et ses auxiliaires (permanents et stagiaires), pour leur constante disponibilité, courtoisie et hospitalité offert lors de mes activités au CRRA de Sotuba à Bamako.

-La famille collaboratrice du LBMA (Ibrahim KEITA, Diariatou DIAGNE, Hinda DOUCOURE, Cheick TEKETE, Lassina DOUMBIA, Ibrahima TRAORE, Youssef DIARRA,...), pour leur assistance technique, sociale.

-La communauté malienne à travers l'Association des Maliens de Montpellier (AMAM), qui à travers ses journées culturelles, diminuait la surdose de nostalgie du pays, le Mali que nous appelons affectueusement « MALIBA ».

-Les très distingués et honorables membres de jury, je les remercie très chaleureusement : Claude BRAGARD, Haby SANOU pour leur lecture attentive de ce manuscrit sur lequel ils ont rédigé un rapport, ainsi que Soungalo SARRA et Claire NEEMA pour avoir accepté de faire partie du jury de soutenance.

-Toute la grande et merveilleuse famille KANTE, papa Kériba pour tes bénédictions constantes, ton accompagnement depuis mes bas âges pour que je puisse être un élève, puis étudiant et enfin un cadre exemplaire ; maman Lallabou SAMAKE pour tes conseils constants et parfois moments d'inquiétudes traduits par des larmes à chaque fois que je devais quitter le sol malien, signe d'un attachement maternel profond à un fils qui malgré son âge actuel est toujours chéri de la sorte. Mes frères et sœurs et leurs affiliations pour leurs soutiens multiformes. Ma femme Flatenin TRAORE, supportrice numéro 1 dans toutes mes épreuves, qui durant cette thèse a connu avec moi un ascenseur émotionnel avec des moments difficiles lors de la perte de notre premier enfant et de joie qui continue avec la venue de notre second enfant, la merveilleuse Teninfin dite Kadidia KANTE. Pour ainsi dire que la vie est comme une dent de scie avec des hauts et des bas, mais surtout des moments inoubliables comme cette thèse.

-Tous ceux et toutes celles que je n'ai pu citer, mais qui de loin ou de près ont contribué à la réalisation ce travail de thèse

Pour finir, en tant que croyant, Merci à Dieu pour m'avoir permis de vivre ces moments et de terminer cette thèse.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Schéma d'une cellule bactérienne.....	7
<b>Figure 2</b> : Représentation schématique des différents types de TRs. ....	19
<b>Figure 3</b> : Schéma évolutif pas-à-pas SSMM (Single Stepwise Mutation Model) des Variable Number of Tandem Repeats (VNTRs).....	19
<b>Figure 4</b> : Visionnage de produit PCR sur Gel d'agarose .....	21
<b>Figure 5</b> : Les facteurs en interaction avec la plante .....	25
<b>Figure 6</b> : Illustration des différents types d'interactions plante-parasite reliés aux déterminants de la reconnaissance du parasite et à la nature des défenses mises en jeu pour chacune d'entre elles. ....	25
<b>Figure 7</b> . Illustration schématique des réactions de défense induites lors d'interactions .....	27
<b>Figure 8</b> : Représentation schématique des systèmes de sécrétion chez <i>Xanthomonas</i> spp. ....	32
<b>Figure 9</b> : Cibles végétales et activités des effecteurs de type III provenant d'agents phyto-bactériens. ....	33
<b>Figure 10</b> : Domaines fonctionnels des effecteurs <i>Xanthomonas</i> TAL.....	36
<b>Figure 11</b> : Mécanismes d'action des protéines TALs dans la cellule végétale : Sensibilité et Résistance. ....	38
<b>Figure 12</b> : Modèle en zig-zag lors de l'interaction plante/agent pathogène (Schéma de modélisation en zig-zag de l'amplitude finale du phénotype de résistance ou de sensibilité suivant l'évolution des interactions entre une plante hôte et un agent pathogène).....	42
<b>Figure 13</b> : Modèle pour l'évolution de la résistance bactérienne des plantes. ....	49
<b>Figure 14</b> : Les différentes parties d'un plant de manioc. ....	53
<b>Figure 15</b> : Historique de l'origine du manioc et de sa distribution dans le monde.....	56
<b>Figure 16</b> : Tendances de la production mondiale de manioc de 1998-2018.....	58
<b>Figure 17</b> : Aire de production du manioc dans le monde de 1998 à 2018 .....	58
<b>Figure 18</b> : Part de la production (de 1998-2018) dans le monde par région .....	58
<b>Figure 19</b> : Dix principaux producteurs mondiaux de manioc ces deux dernières décennies .....	59
<b>Figure 20</b> : Tendances de la production africaine de manioc des 20 dernières années (1998-2018) .....	59
<b>Figure 21</b> : <b>A.</b> Bouture de manioc, <b>B.</b> Développement de la plante de manioc. ....	61
<b>Figure 22</b> : Procédés de transformation des tubercules de manioc.....	67
<b>Figure 23</b> : Illustration de la position du Mali dans le monde, en Afrique et dans la sous-région Ouest-Africaine (Adaptation des cartes issues de maps-mali.com, 12/06/2020).....	69
<b>Figure 24</b> : Différentes zones climatiques présentes au Mali .....	69
<b>Figure 25</b> : Indicateur de productivité (superficie [ha] et Production [tonne]) de manioc au Mali de 1961-2017 .....	71
<b>Figure 26</b> : Evolution des données de production (rendement et superficie) du manioc au Mali de 1998 à 2018 .....	71
<b>Figure 27</b> : Contraintes de la production du manioc en Afrique et leurs pertes de récolte (estimations des écarts de rendements*) .....	74
<b>Figure 28</b> : Groupage photographique de ravageurs du manioc.....	79
<b>Figure 29</b> : Compilation de photos des symptômes des trois principales maladies virales touchant le manioc avec A(CMV), B(CNFD) et C(CBSD).....	83
<b>Figure 30</b> : Compilation de photos des symptômes de quelques maladies fongiques touchant le manioc .....	87
<b>Figure 31</b> : Différents symptômes des maladies bactériennes les plus fréquentes sur le manioc .....	89
<b>Figure 32</b> : Répartition mondiale de la CBB. ....	97

<b>Figure 33</b> : Colonie bactérienne de <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>manihotis</i> de 72 heures sur milieu de culture LPGA .....	97
<b>Figure 34</b> : Illustration de l'évolution symptomatique de la CBB.....	101
<b>Figure 35</b> : Cycle de la maladie CBB.....	105
<b>Figure 36</b> : Représentation circulaire de la séquence du génome de Xam CIO151 (souche Xpm de référence) et ses caractéristiques générales .....	107
<b>Figure 37</b> : Inoculation de feuilles de manioc par infiltration via seringue (A et B), zoom sur la zone infiltrée(C).....	112
<b>Figure 38</b> : Cartographie des zones d'étude Nigeria et Cameroun.....	185
<b>Figure 39</b> : Photographie de l'équipe 1 de collecte avec Moussa KANTE au Centre et 02 agents de l'IITA de Yaoundé (Cameroun).....	187
<b>Figure 40</b> : Feuilles aperçues sur terrain au Cameroun, avec symptômes de CBB(A), face supérieure (B) et face inférieure (C).....	187
<b>Figure 41</b> : Représentation de la caractérisation de la diversité des populations de Xpm.....	193
<b>Figure 42</b> : Réseau de descendance des haplotypes du Nigéria .....	193
<b>Figure 343</b> : Niveau d'agressivité des souches appliquées et de résistance des variétés testées (Diagramme obtenu à partir de la plateforme <i>bioinfo-shiny.ird.fr</i> ) .....	212

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Evolution chronologique de développement de marqueurs ADN.....	14
<b>Tableau 2</b> : Représentation schématique du modèle de Flor.....	27
<b>Tableau 3</b> : Classes importantes de protéines de résistance .....	47
<b>Tableau 4</b> : Liste des variétés de manioc les plus largement diffusées en Afrique de l’Ouest.....	62
<b>Tableau 5</b> : Différents systèmes de culture entrant dans la production du manioc .....	63
<b>Tableau 6</b> : Activité classique de la production du manioc (itinéraire technique) .....	65
<b>Tableau 7</b> : Produits à base de manioc utilisés dans l’alimentation humaine .....	66
<b>Tableau 8</b> : Les contraintes de production impactant sur les écarts de rendements .....	74
<b>Tableau 9</b> : Effets des bioagresseurs sur le rendement du manioc .....	76
<b>Tableau 10</b> : Principaux pathogènes viraux, bactériens et connexes affectant la culture du manioc...	82
<b>Tableau 11</b> : Principaux pathogènes fongiques affectant la culture du manioc .....	85
<b>Tableau 12</b> : Situation de la CBB en Afrique .....	94
<b>Tableau 13</b> : Echantillon d’étude dans cinq régions du Mali. ....	121
<b>Tableau 14</b> : Informations sociales et niveau académiques dans les exploitations enquêtées dans 5 régions du Mali.....	123
<b>Tableau 15</b> : Niveau d’équipement au niveau des exploitations enquêtées dans 5 régions du Mali ...	123
<b>Tableau 16</b> : Type de la main-d’oeuvre utilisée dans la production de manioc dans cinq régions au Mali. ....	123
<b>Tableau 17</b> : Les types de sols recensés dans les cinq zones de production au Mali .....	124
<b>Tableau 18</b> : Lieux favorisés d’installation des cultures dans cinq régions au Mali .....	125
<b>Tableau 19</b> : Mode d’acquisition des boutures de manioc dans cinq régions au Mali.....	125
<b>Tableau 20</b> : Origines des boutures utilisées dans la culture du Manioc et niveau d’importance dans cinq régions au Mali .....	126
<b>Tableau 21</b> : Techniques de conservation des boutures et leurs durées .....	127
<b>Tableau 22</b> : Périodes de plantation, récoltes et d’abondance/marchée de la production du manioc dans cinq régions au Mali .....	127
<b>Tableau 23</b> : Variétés les plus communes de manioc utilisées dans cinq régions au Mali .....	129
<b>Tableau 24</b> : Production de 2015-2018 .....	129
<b>Tableau 25</b> : Problèmes phytosanitaires identifiés et connus par les producteurs.....	130
<b>Tableau 26</b> : Comptes d’exploitation du manioc produit dans quelques exploitations issues de nos 5 régions d’étude au Mali.....	132
<b>Tableau 27</b> : Zones d’écoulements des productions de manioc issues des 05 régions enquêtées au Mali .....	134
<b>Tableau 28</b> : Produits alimentaires et sous-produits du manioc dans les zones de productions au Mali .....	134
<b>Tableau 29</b> : Souches Xpm validées issues des 03 régions d’étude du Nigeria .....	190
<b>Tableau 30</b> : Pouvoir discriminant de plusieurs loci VNTR du schéma 14-MLVA .....	190
<b>Tableau 31</b> : Comparaison de la différenciation génétique entre les régions estimée par l’indicateur Gst/Fst, leurs P-Values .....	190
<b>Tableau 32</b> : Situation globale de la CBB constatée suite à notre échantillonnage .....	195
<b>Tableau 33</b> : Indicateurs de la CBB déterminés au niveau des parcelles expérimentales <sup>(a)</sup> et sites de multiplication <sup>(b)</sup> .....	195
<b>Tableau 34</b> : Renseignements géographiques des 12 souches Xpm du Cameroun issue des collectes de 2017 et en conservation à l’IRD de Montpellier depuis 2018.....	197

## **LISTE DES ENCADRÉS**

<b>Encadré 1</b> : Classification systématique du manioc .....	53
<b>Encadré 2</b> : Déroulement du cycle de la CBB .....	103

## **LISTE DES ANNEXES**

<b>Annexe 1:</b> Protocole d'échantillonnage appliqué au Mali.....	256
<b>Annexe 2:</b> Fiche d'enquête sur la CBB utilisée au Nigeria et Cameroun.....	259
<b>Annexe 3:</b> Protocoles utilisées dans l'étude moléculaire et génétique de <i>Xpm</i> .....	261
<b>Annexe 4:</b> Informations issues de l'activité d'échantillonnage de matériel suspecté d'être infecté par la CBB (ligne de fond gris) dans les zones enquêtées au Cameroun .....	264
<b>Annexe 5:</b> Photos de symptômes/dégâts de bioagresseurs sur le manioc, collectées lors des prospections sur terrain au Mali, Nigeria et Cameroun entre 2016 et 2018. ....	267
<b>Annexe 6 :</b> Valorisation, productions scientifiques issues des travaux de la thèse .....	275



## LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

<b>ACP</b>	Analyse en Composantes Principales.
<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique
<b>AFLP</b>	Amplified Fragment-Length Polymorphism/Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés
<b>ARN</b>	Acide RiboNucléique
<b>AUDPC</b>	Surface sous la courbe de progression de maladie
<b>Bp</b>	Base Pairs. Paires de bases. Unité de longueur pour les séquences d'acides nucléiques.
<b>CBB</b>	Cassava Bacterial Blight
<b>CC</b>	Complexe Clonal
<b>CIRAD</b>	Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement
<b>dNTP</b>	desoxyNucleotide TriPhosphate. Déoxyribonucléotides triphosphates.
<b>DO</b>	densité optique, fait référence à la mesure effectuée par un fluorimètre.
<b>FAMA</b>	Faculté d'Agronomie et de Medecine Animale de l'Université de Ségou, Mali
<b>FAO</b>	Food and Alimentation Organisation./Organisation mondiale pour l'agriculture et l'alimentation
<b>F<sub>ST</sub>, G<sub>ST</sub>, R<sub>ST</sub></b>	Symbole de l'indice de fixation, qui exprime la diminution de l'hétérozygotie d'une sous-population provoquée par la dérive génétique IAM = Infinite Allele Model. Modèle "allèle infini" de mutation des microsatellites.
<b>H<sub>E</sub></b>	Indice de diversité génétique non biaisé de Nei
<b>IRAD :</b>	Institut de Recherche pour l'Agriculture et le Developpement
<b>IRD</b>	Institut de Recherche pour le Developpement
<b>IPME</b>	Unité Mixte de Recherche Interaction Plante Microorganisme et environnement
<b>LBMA</b>	Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée
<b>LV</b>	Locus Variant
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction. Réaction en chaîne de polymérisation
<b>MLVA</b>	Multi Locus VNTR Analysis/Analyse VNTR des Locus Mutiples
<b>MST</b>	Minimum spanning network, terme anglais signifiant réseau à enjambement minimal ou représentation en réseau des haplotypes étudiés
<b>VNTR</b>	Variable Number Tandem Reapeat/ Variable Number appelé des séquences répétées en tandem
<b>RAPD</b>	Amplification aléatoire d'ADN polymorphe
<b>RFLP</b>	Restriction Fragment Length Polymorphism. Polymorphisme de longueur de fragments de restriction.
<b>SMM</b>	Stepwise Mutation Model. Modèle de mutation par étapes des microsatellites.
<b>VNTR</b>	Variable Number Tandem Repeat/Séquence répétée en tandem, en fr.
<b>UM</b>	Université de Montpellier
<b>US</b>	Université de Ségou

## **CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GENERALE**

---

### **Préambule : De l'importance de l'étude des populations phytopathogènes pour un développement agricole durable.**

---

#### **Agricultures actuelles et ses attentes**

L'agriculture qui peut se définir comme le système de production agricole nécessaire à l'alimentation humaine, doit faire face à de nombreux défis tels que (i) une croissance rapide de la population humaine corrélée à une augmentation des besoins en terres et ressources agricoles, (ii) une dépendance vis-à-vis des énergies fossiles et leurs impacts monétaires et environnementaux croissants, (iii) le changement climatique mondial et ses corollaires et (iv) la mondialisation, c'est-à-dire l'interdépendance, l'interconnexion des états avec des échanges commerciaux plus denses (Brown, 2006; Diamond, 2005; Hanson et al, 2007; Oborn et al., 2003). Ces défis sont complexes, car ils sont interdépendants, nécessitent des actions efficaces de la part de nombreux acteurs, dont ceux de la recherche scientifique, car la science a encore à apporter beaucoup de solutions. Parmi ces champs à « sur-explorer » par la science, une certitude est que l'agriculture ayant un rôle à jouer dans de nombreux domaines doit véritablement être au cœur des chantiers de recherches.

En effet par nature très dépendante du climat, l'agriculture doit s'adapter et ses acteurs à eux d'élaborer et mettre en pratique des stratégies pour affronter un monde changeant, en particulier en milieu tropical.

#### **Productions agricoles et menaces actuelles en zone tropicale**

L'agriculture pratiquée dans la zone intertropicale ou tropicale résulte de pratiques extensives et de subsistance et ne parvenant pas à satisfaire convenablement aux besoins alimentaires et économiques des populations concernées, surtout sur le continent Africain (Camerecole.org, 2016). Cette limitation est due à un certain nombre de contraintes, aux nombres desquelles on peut citer ;

(i) les aspects socio-organisationnels, à savoir le vieillissement de la population rurale; les difficultés d'accès à la terre, aux intrants (engrais, semences améliorées, etc...), aux techniques agricoles modernes et aux autres innovations de la recherche agronomique; difficultés d'accès au crédit ; insuffisance des infrastructures d'appui au développement du

secteur rural (pistes, routes, magasins de stockages, abattoirs, chaînes de froid, etc.) ; difficultés de commercialisation de la production et,

(ii) les obstacles naturels tels que les changements climatiques, l'infertilité des terres, l'activité des bioagresseurs, etc.. (Camerecole.org, 2016).

Les maladies des plantes qui sont provoquées par les bioagresseurs, coûtent à l'économie mondiale environ 220 milliards de dollars par an, avec près de 40% des cultures vivrières mondiales perdues chaque année (FAO, 2019). Elles réduisent considérablement le rendement et la qualité des productions agricoles, qui eux à leur tour entraînent ces pertes économiques substantielles et surtout des risques d'insécurité alimentaire à l'échelle des ménages, des pays et même du monde (Savary et *al.*, 2019).

En outre, les risques sanitaires pour les grandes cultures sont très élevés dans un contexte d'échanges internationaux intenses et de changement climatique. L'introduction d'agents pathogènes dans des zones géographiques où ils étaient absents, ou le développement d'une nouvelle culture dans des régions où existe un agent potentiellement pathogène à son égard, ont joué un rôle important dans la genèse et l'extension de nombreuses épidémies. Des exemples historiques tels que le mildiou de la pomme de terre en Europe occidentale au 19ème et 20ème siècles (Fraser, 2003) ; la rouille du blé en Amérique du Nord, Europe, Afrique et en Asie au 20ème et 21ème siècles (Pardey et *al.*, 2013), la Tache Brune de riz (Helminthosporiose du Riz) en Asie du Sud au 20ème siècle (Barnwal et *al.*, 2013), et récemment par exemple le Faux Charbon de riz (causée par *Villosioclava virens* ou *Ustilaginoidea virens* en type anamorphe) en Asie (Meng et *al.*, 2015), la rouille du café en Amérique centrale (Avelino et *al.*, 2015) ou la bactériose de l'olivier en Europe du Sud (Almeida et *al.*, 2019) montrent qu'en multipliant les échanges internationaux de matériel végétal, en favorisant les contacts entre flores, plantes ou cellules, qui sont normalement éloignées dans la nature, l'homme lui-même jette les bases de menaces nouvelles (Lepoivre, 2003).

Par ailleurs, si la population mondiale dépassait les 9 milliards d'ici à 2050, la production agricole mondiale devrait obligatoirement augmenter de 70 % sur la même période afin de les nourrir. Cette nécessité accroît la pression sur la production végétale et toutes leurs ressources (FAO, 2011).

## **Gestion des menaces : Contrôle des maladies végétales et outils de contrôle**

L'agriculture mondiale est soumise à l'augmentation des échanges commerciaux, des flux de matériel biologique et de personnes ayant pour conséquences la migration des microorganismes pathogènes, et plus précisément des microorganismes infectant des espèces végétales. Cette migration peut entraîner l'émergence et la réémergence de microorganismes qui s'adaptent génétiquement et se répandent sur des nouvelles et larges régions géographiques (Grunwald & Goss, 2011).

De plus les parasites et les maladies n'ont pas de passeports et ne respectent pas les exigences en matière d'immigration. Par conséquent, la prévention de la propagation de tels organismes est un engagement international qui nécessite la collaboration de tous les pays (FAO, 2019). Dans ce contexte de globalisation du monde actuel, l'intensification des flux d'organismes vivants (animaux et végétaux), de matériels, exige pour toute nation une certaine maîtrise de la sécurité territoriale, économique et surtout alimentaire (Poulin, 2014).

Pour assurer une productivité agricole efficace, il est nécessaire d'améliorer les systèmes agricoles avec un contrôle adéquat des ravageurs et de microorganismes pathogènes (Savary et *al.*, 2017). En effet l'action des bioagresseurs contribue à aggraver le problème de sécurité alimentaire dans la plupart des pays en voie de développement. C'est pour cette raison qu'une bonne sécurité alimentaire et agricole dans un système agricole durable, exige de réduire les pertes de rendement dues aux bioagresseurs (Gowariker et *al.*, 2014). Surtout que les agents phytopathogènes présentent un risque sérieux pour la stabilité de l'agriculture mondiale (Poulin, 2014; Savary et *al.*, 2017).

Cette menace revêt de nombreuses formes différentes, en fonction de la maladie considérée, de la culture et du contexte de production. Il est donc recommandable de mener des analyses à chaque étape du développement de la plante apportant des informations sur la gestion de la santé des cultures afin d'améliorer la durabilité des agroécosystèmes dans la fourniture de services aux sociétés (Savary et *al.*, 2019).

Afin de proposer des stratégies de gestion des problèmes phytosanitaires actuels, des solutions peuvent être apportées via des programmes de recherche (enquête en milieu paysan, épidémiologie, surveillance, identification, détection et analyse de la génétique des populations pathogènes, etc.), la vulgarisation des résultats générés (déploiement de variétés résistantes, formation à des techniques et technologies innovantes, etc.) et leurs bonnes applications (assistances des services agricoles). Également un autre élément d'importance capitale est la sensibilisation de

l'opinion publique et des décideurs, c'est dans ce cadre que s'inscrit la résolution de l'ONU sur la santé des végétaux qui a proclamé 2020 comme « l'Année internationale de la santé des végétaux » (FAO, 2019).

Dans ce contexte, au nombre des solutions, des mesures adaptées pour éradiquer ou limiter la propagation des agents pathogènes, leur surveillance, et la gestion à l'échelle de la parcelle, de la localité, de la région et des pays, s'avèrent indispensable afin de connaître et d'anticiper la répartition, les routes et facteurs de dispersion des populations phytopathogènes. C'est dans cette logique, que des connaissances générées sur la situation de maladies émergentes ou réémergence dans une zone donnée peuvent apparaître comme cruciales pour maîtriser des situations de crise voir de catastrophes en terme de sécurité alimentaire.

De nos jours, il est indéniable qu'une série de mesures non chimiques peuvent aider les agriculteurs à réduire les pertes tout en protégeant l'écosystème agricole (FAO, 2013b). Parmi ces méthodes l'une des plus recommandables est la lutte génétique à travers l'usage des variétés dites résistantes (FAO, 2013b). Toutefois l'obtention et la durabilité de la résistance variétale sont dépendantes de la connaissance de la diversité et la structure génétique du pathogène (Boyd, 2006), en s'appuyant notamment sur des études d'épidémiologie moléculaire.

---

## **Partie 1-Epidémiologie moléculaire : comprendre les facteurs favorisant les épidémies pour mieux en maîtriser les impacts**

---

En pathologie végétale, une épidémie désigne une maladie infectieuse déclenchée par un agent pathogène, qui se manifeste sous forme de poussées soudaines et inhabituelles et se propage rapidement dans une région ou population végétale donnée pendant une période donnée (Rapilly, 1991). Elle touche alors une part importante de la production et l'incidence de la maladie augmente de manière significative par rapport à la situation sanitaire habituelle, entraînant des conséquences phytosanitaires dramatiques. Il peut arriver qu'une épidémie disparaisse pendant très longtemps. Dans le cas où la maladie est présente en permanence et dont l'incidence s'exprime de façon constante dans une population donnée ou une région précise (foyers infectieux), on a une endémie. Cet état est souvent associé à une coévolution de l'agent pathogène et son hôte sur de longues périodes de temps. Un déséquilibre du système épidémiologique peut induire une endémie à un état d'épidémie. Enfin, une épidémie est qualifiée de pandémie lorsqu'elle touche une très large population sur un vaste territoire géographique, généralement à l'échelle mondiale (Ravelomanantsoa, 2016).

En épidémiologie, on recherche à comprendre l'histoire de la maladie, notamment en apportant un éclairage sur la nature de l'agent pathogène responsable de l'épidémie, les sources et réservoirs possibles d'inoculum, les modes et mécanismes de dispersion de l'agent pathogène, et la prévalence des types particuliers d'une espèce d'agent pathogène donné (Ravelomanantsoa, 2016). C'est pour cela que la connaissance de la structure des populations de l'agent pathogène conditionne toute stratégie d'intervention pour le contrôle d'une épidémie. Les facteurs environnementaux jouent un rôle important, impactant sur la gravité et la propagation de toute maladie. L'hôte favorable, le pathogène et les conditions météorologiques conduisent à l'établissement de la maladie (Agrios, 2005).

Ainsi, avant de proposer la stratégie de gestion de la maladie, une connaissance approfondie en ce qui concerne l'épidémiologie des maladies doit être étudiée (Saxena et *al.*, 2017). De nos jours de nombreux progrès ont été accomplis pour déduire l'historique des populations phytopathogènes à partir des connaissances, outils divers dont les approches moléculaires.

## 1.1-De l'espèce à la population bactérienne :

L'espèce biologique est définie comme un ensemble d'organismes se reproduisant entre eux, mais pas avec ceux d'une autre espèce (Denamur & Picard, 1995). Le concept d'espèce bactérienne comme le concept général d'espèce ont d'abord été définis comme des regroupements phénotypiques (Sokal & Crovello, 1970). Dans cette approche, des traits tels que la dégradation ou le métabolisme de certains composés, la capacité à produire ou à résister à des antibiotiques, la capacité à croître sur certains composés azotés ou carbonés, la coloration de Gram ou le phénotype cellulaire permettaient de différencier les différents groupes (Goodfellow *et al.*, 1997).

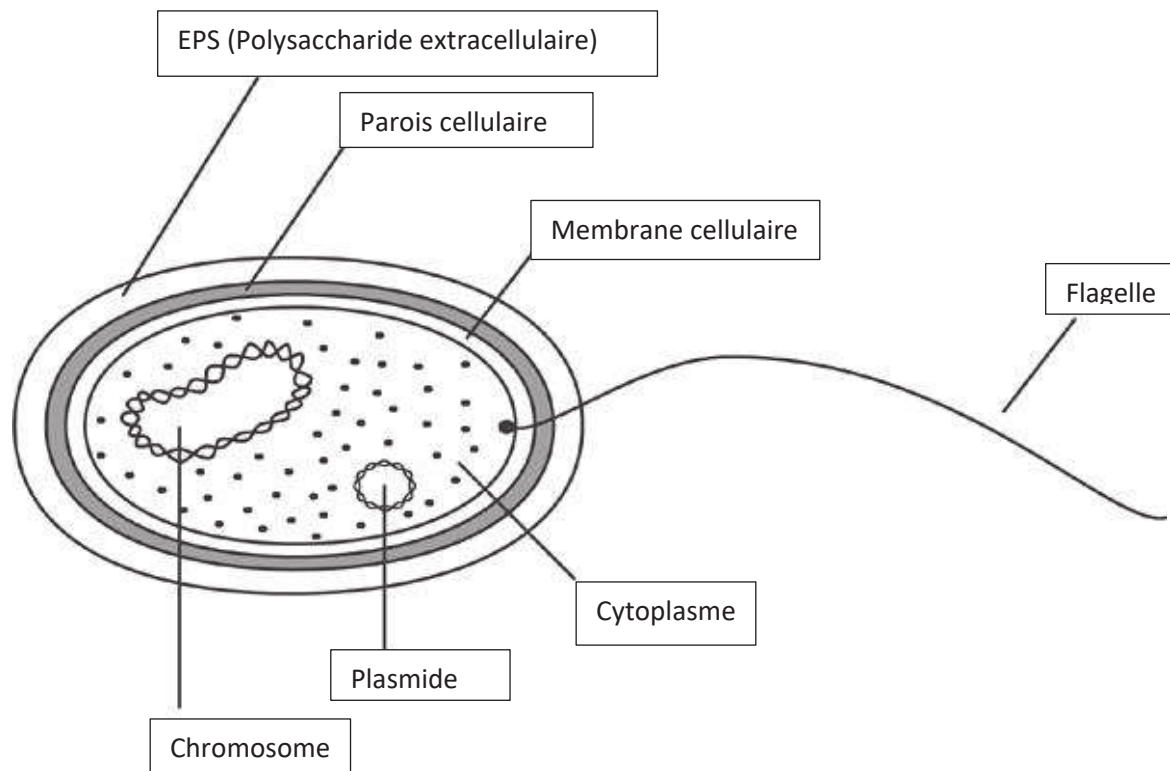
L'espèce était alors déterminée par une approche phénétique basée sur des caractères morphologiques. Les organismes présentant le plus grand nombre de caractères en commun étaient regroupés au sein de la même espèce, sans ascendances communes définies. Avec l'avènement des techniques moléculaires, l'amélioration de nos connaissances et l'émergence du concept d'horloge moléculaire, la systématique bactérienne a adopté depuis les trois dernières décennies des approches basées sur l'observation de variations de séquences nucléotidiques ou protéiques (Toussaint, 2018).

Presque toutes les bactéries (Figure 1) sont des microorganismes unicellulaires, procaryotiques donc ne disposant pas de noyau véritable ou d'autres organites comme la mitochondrie. Toutes possèdent une enveloppe cellulaire (membrane) tandis que la plupart ont une paroi qui détermine dans la plupart des cas la forme de la bactérie : ronde (Cocci ou coque), forme spiralée ou forme allongée (bacilliforme ou Bacillus)(Schumann & D'Arcy, 2010).

Quant au mode de reproduction des bactéries, ce sont des êtres vivants haploïdes à reproduction clonale, c'est-à-dire qu'une bactérie mère donne naissance à deux bactéries filles identiques entre elles et où les filles sont identiques ou génétiquement très proches de la mère si elles ont subi une ou plusieurs mutations pendant la réplication. Les bactéries sont considérées comme des organismes asexués en raison de leur division par fission binaire (Smith *et al.*, 1993; Trevors, 1998).

Mais chez les bactéries, la reproduction et l'échange de gènes chromosomiques sont des fonctions indépendantes, à l'inverse de la majorité des animaux et des plantes où ces deux fonctions sont liées (Dykhuizen & Green, 1991). Ainsi, la reproduction est asexuée chez l'ensemble des bactéries et les recombinaisons entre souches sont dues à des transferts

horizontaux. En conséquence, l'espèce bactérienne a-t-elle une réalité et, dans ce contexte, comment la définir ?



**Figure 1** : Schéma d'une cellule bactérienne

(Adapté de Schumann & D'Arcy, 2010)

Une définition simple indique qu'une espèce bactérienne est une catégorie taxonomique de base des bactéries ; un groupe nommé au-dessous du niveau du genre dont les membres présentent un degré élevé de similitude globale comparé à d'autres souches plus apparentées. Il n'existe actuellement aucune définition d'espèce universellement acceptée dans le contexte de la bactériologie, malgré de nombreuses tentatives (van Belkum *et al.*, 2007).

D'autres définitions connexes sont clone, souche, isolat et type. Un clone désigne un isolat bactérien qui, bien qu'il ait pu être cultivé indépendamment de différentes sources à différents endroits et peut-être à des moments différents, a encore tellement de traits phénotypiques et génotypiques identiques que l'explication la plus probable de cette identité est une origine commune. Une souche est le descendant d'un isolement unique en culture pure, généralement issue d'une seule colonie initiale sur un milieu de croissance solide. Une souche peut être considérée comme un isolat ou un groupe d'isolats qui peuvent être distingués des autres isolats du même genre et de la même espèce par leurs caractéristiques phénotypiques et génotypiques.



Un isolat est une population de cellules bactériennes en culture pure dérivée d'une seule colonie. Un type est un isolat bactérien qui peut être attribué à un groupe nommé selon un schéma de typage existant. Les désignations de types visent à faciliter le traitement et la communication des résultats de typage, ainsi que le développement de bases de données (échangeables) pour des études multicentriques rétrospectives et prospectives à long terme, ainsi que des études de surveillance épidémiologique (van Belkum et *al.*, 2007).

En génétique des populations, une population est constituée des membres d'une espèce qui peuvent se croiser, car ils se trouvent dans la même zone géographique. Étant donné que les bactéries ne se reproduisent pas sexuellement, le terme population ne peut pas être appliqué strictement aux bactéries, et les phytobactériologistes utilisent le terme "population d'agents pathogènes" de manière assez vague. Il est même parfois utilisé pour désigner tous les membres d'une espèce ou tout un complexe d'espèces apparentées (Vinatzer & al, 2014).

## **1.2-Aspects clés de la génétique des populations et de l'épidémiologie moléculaire**

D'un point de vue génétique, la population représente une communauté constituée par l'ensemble des génotypes des individus qui la composent. La population se caractérise donc par un génome collectif ou patrimoine génétique, appelé aussi pool génétique qui est la somme des génotypes individuels pour chacun des gènes. Le pool génétique d'une population présente une continuité à travers les générations, et peut varier au cours du temps. C'est cette évolution que les études de génétique des populations cherchent à comprendre.

Donc, la génétique des populations est une des branches de la génétique, la discipline qui étudie la transmission de l'information héréditaire et son utilisation dans le développement et le fonctionnement des organismes (Taquet, 2007). Les fondements de la génétique des populations est la diversité génétique, considérant les individus en interactions avec leur environnement (Fleury, 2003).

De cette façon la génétique des populations essaie de comprendre les processus évolutifs qui façonnent et maintiennent la variation génétique au sein et entre les populations. A cet effet la génétique des populations a joué un rôle important, en étudiant la variabilité génétique présente dans et entre les populations avec 3 principaux objectifs : (i)- mesurer la variabilité génétique, appelée aussi diversité génétique, par la fréquence des différents allèles d'un même gène ; (ii)- comprendre comment la variabilité génétique se transmet d'une génération à l'autre ; (iii)-

comprendre comment et pourquoi la variabilité génétique évolue au fil des générations (Fleury, 2003; Milgroom & Peever, 2003).

La génétique des populations peut également être défini comme l'étude de la distribution dans l'espace et dans le temps des fréquences alléliques résultant de certaines forces ou processus d'évolution et de façon générale tente de répondre à la question de comment et pourquoi l'information génétique évolue-t-elle au cours du temps au sein des espèces et des populations (Cuguen, 2007, Carbone & Kohn, 2004; Milgroom, 2015).

La connaissance de la génétique des populations d'agents phytopathogènes est importante pour comprendre l'épidémiologie, l'écologie et la trajectoire d'évolution des maladies, pour utiliser efficacement les cultivars résistants et les produits agrochimiques et donc pour contrôler de manière substantielle les maladies des plantes (Zhan, 2016). Aussi la plupart des parasites ne peuvent pas être étudiés par des méthodes directes et leur biologie doit être évaluée par des moyens indirects, notamment à l'aide de marqueurs moléculaires (De Meeus *et al.*, 2007), alors on parle d'épidémiologie moléculaire.

Elle permet de décrire la dynamique évolutive et épidémiologique d'un agent pathogène en relation avec son hôte dans différents environnements. C'est une approche qui est très utilisée en santé humaine, elle est basée sur le typage moléculaire des individus et le pouvoir discriminant de ce typage peut être adapté au niveau de l'échelle analysée, une échelle locale demandant un plus grand pouvoir discriminant (van Belkum *et al.*, 2007).

Cette approche vise à identifier et tracer des espèces, sous-espèces, souches et clones de l'agent pathogène et à suivre leur évolution. Elle a pour but d'évaluer l'impact de la diversité génétique d'un pathogène sur son pouvoir pathogène mais aussi les impacts environnementaux sur les populations. L'épidémiologie moléculaire doit-être une approche répétable, c'est-à-dire que si les manipulations sont effectuées plusieurs fois dans les mêmes conditions les résultats ou profils génétiques obtenus doivent-être identiques ; ainsi que portable, c'est-à-dire que les résultats obtenus doivent-être identiques dans des environnements différents et réalisés par des équipes différentes (Tibayrenc, 1999).

Les objectifs pratiques de l'épidémiologie moléculaire sont d'identifier les microorganismes-parasites (virus, bactéries, champignons, protozoaires, etc..) responsables des maladies infectieuses et de déterminer leurs sources physiques, leurs relations biologiques (phylogénétiques), leurs voies de transmission et celles des gènes et éléments accessoires) responsables de leur virulence, des antigènes pertinents pour les vaccins et de la résistance aux

médicaments (Levin, Lipsitch, & Bonhoeffer, 1999). Aussi un objectif important de l'épidémiologie moléculaire est de déterminer les mécanismes qui sous-tendent l'émergence des pathogènes (Vernière *et al.*, 2014).

La recherche sur l'épidémiologie des bactéries phytopathogènes a consisté principalement en analyses spatiales et/ou temporelles des schémas pathologiques à différentes échelles (Campbell & Madden, 1990). Une telle épidémiologie quantitative a tendance à ignorer la diversité génétique et phénotypique des agents pathogènes. Somme toute, l'épidémiologie bactérienne est l'étude de la dissémination d'agents pathogènes bactériens, y compris leurs modes de transmission, facteurs de risque et de contrôle des maladies infectieuses dans les populations cibles (végétales, humaines, etc.)

### **1.2.1-Forces évolutives qui influencent la génétique des populations**

En génétique des populations il est utile de faire la distinction entre les deux types de diversité génétique qui contribuent à la structure génétique : la diversité des gènes et la diversité des génotypes. La diversité génétique désigne le nombre et la fréquence des allèles au niveau des loci individuels dans une population. La diversité génétique s'accroît à mesure que le nombre d'allèles augmente et que les fréquences relatives de ces allèles deviennent plus égales. La diversité génotypique désigne le nombre et la fréquence des génotypes multilocus, ou des individus génétiquement distincts, dans une population. Cette diversité est un concept important pour les agents pathogènes des plantes qui ont une composante significative de reproduction asexuée dans leur cycle de vie (McDonald & Linde, 2002).

Les forces évolutives sont les processus qui agissent sur les changements de fréquences alléliques qui affectera par conséquent la diversité génétique (Cuguen, 2007). Cette variation de la diversité génétique des agents phytopathogènes résulte de l'interaction entre mutation, flux génétique, recombinaison, dérive génétique aléatoire et sélection naturelle sous les influences collectives des caractères biologiques des hôtes et des agents pathogènes, des environnements, des pratiques agricoles et des activités humaines (Zhan, 2016). Il s'agit de la mutation, migration, sélection et dérive génétique.

**La mutation** est la source fondamentale de variation génétique qui correspond à un changement héréditaire dans le matériel génétique. En exemple on peut avoir des : (i) mutations géniques (changement dans la séquence nucléotidique: mutations ponctuelles, indels (insertions ou délétions d'une ou plusieurs paires de bases), transposons ; (ii) mutations chromosomiques

(réarrangements chromosomiques: inversions, translocations) ; (iii) mutation génomiques (polyploidisations) ; (iv) autres types (mutation somatiques/germinales chez les métazoaires ;mutation neutre/silencieuse, sans impact sur le phénotype ;mutation favorable/délétère, dépendant des conditions du milieu) (Zhan, 2016).

**La migration** est l'échange d'individus (ou de gamètes) entre des sous-populations (qui peuvent présenter des différences génétiques), permettant les flux de gènes entre elles (Patillon, 2014). C'est un mouvement des organismes entre population au sens strict, qui peut être au sens large assimilé à un mouvement des gènes entre populations (flux de gènes). En exemples : (i) chez les animaux, les mouvements des individus, des gamètes en milieu aquatique ; (ii) chez les plantes le mouvement des graines et du pollen.

Le flux de gènes augmente la variation génétique des populations locales, mais diminue la différenciation des populations. Le principal déterminant du flux génétique est le mécanisme de dispersion des agents pathogènes des plantes (Zhan, 2016).

**La sélection** c'est une force évolutive, induit par les changements de fréquences alléliques. En exemple une augmentation en fréquence des allèles qui améliorent la survie et la reproduction, conduit donc à une meilleure adaptation (locale et temporaire) des organismes à leur environnement. Pour différentes populations d'une espèce, on peut avoir dans des environnements très différents, une sélection divergente (différenciation génétique des populations liées à différente adaptation pouvant mener à la spéciation). Cependant dans des environnements similaires, les effets homogénéisant de sélection s'opposant à la dérive génétique, sont qualifié de sélection stabilisatrice. Cette force évolutive est, telle que proposée par Charles Darwin (Darwin, 1859), le mécanisme majeur de transformation et de diversification évolutive des espèces. Elle agit par le tri, au sein d'une population, des individus les mieux adaptés aux contraintes de leur milieu qui, de ce fait, ont une meilleure survie et laissent un plus grand nombre de descendants (fitness augmenté) (Patillon, 2014).

**La dérive génétique** est le processus évolutif de fluctuations aléatoires des fréquences alléliques résultant d'un échantillonnage aléatoire parmi les gamètes. Elle est donc la fluctuation aléatoire des fréquences alléliques dans une population de taille finie au cours des générations (Wright, 1931). La dérive génétique est déterminée par la taille effective de la population. Les populations d'agents pathogènes de grande taille effective ont tendance à avoir moins de dérive génétique, donc une plus grande variation génétique et à être plus stable dans le temps (Zhan, 2016).

### **1.2.2-Outils d'études de l'épidémiologie moléculaire**

Pour comprendre la dynamique spatio-temporelle des individus d'une population bactérienne l'épidémiologie moléculaire utilise la génétique des populations, qui considère l'origine, le maintien et la distribution de la variation génétique des espèces sous l'influence des forces évolutives ( mutation, flux génétique ou migration, recombinaison, dérive et sélection) (Zhan, 2016). Aussi, la détermination de la structure génétique d'une population bactérienne semble être un préalable pour l'étude épidémiologique des maladies infectieuses (Denamur & Picard, 1995).

Par ailleurs, certaines bactéries ont tendance à échanger des morceaux de génomes à travers des mécanismes de conjugaison, transduction et transformation. Ces trois phénomènes qui peuvent générer de la recombinaison brouillent les relations de descendance, il est donc plus compliqué de pratiquer l'épidémiologie moléculaire dans ces cas-là (Lindstedt, 2005) .

Les différentes méthodes de typage, qui permettent de discriminer les isolats bactériens de la même espèce en attribuant un profil génotypique et/ou phénotypique à tous les isolats, sont des outils épidémiologiques essentiels en matière de prévention et de contrôle des infections.

Toutes les sciences sont muables, l'épidémiologie moléculaire ne faisant pas exception à cette règle, elle a évolué à travers le développement de la biologie moléculaire, au gré notamment des progrès dans les techniques de séquençage (allant du simple gène à aujourd'hui des génomes entiers), ont abouti à la mise en évidence de polymorphismes de l'ADN, que ce soit au niveau de séquences codantes, non codantes, intergéniques.

Ces séquences peuvent donc servir de marqueurs génétiques et révéler la diversité génétique dans une population ou une espèce et permettre d'analyser la variation de cette diversité dans l'espace et dans le temps (Toussaint, 2018).

Une des voies pour déterminer la diversité génétique d'un micro-organisme est donc l'estimation de son polymorphisme génétique. Les sources de polymorphismes génétiques utilisés dans le génotypage peuvent comprendre : (i) les mutations ponctuelles, utilisées dans les tests de typage de séquences à plusieurs locus (MLST) et tests de polymorphisme mononucléotidique; ii) insertions et délétions/suppressions («indels»); (iii) la nature et le nombre d'éléments de séquence d'insertion (IS); et (iv) le nombre de répétitions dans un nombre variable de réseaux de répétitions en tandem (VNTR) (Pourcel & Vergnaud, 2011).

Le typage moléculaire appliqué aux bactéries, permet de caractériser des isolats pour élucider leur source et route de propagation. Le typage est une analyse phénotypique et/ou génétique des

isolats bactériens, au-dessous du niveau des espèces / sous-espèces, effectuée afin de générer des profils spécifiques aux souches / clones ou des jeux de données qui peuvent être utilisés, par exemple, pour détecter ou exclure les infections croisées, élucider les modèles de transmission bactérienne et trouver des réservoirs ou des sources d'infection chez les populations cibles (Belkum *et al.*, 2007). Les critères de qualités d'un typage idéal sont la stabilité durant la période de l'étude, la typabilité (testable sur plusieurs souches), le pouvoir discriminant (estimé grâce à l'indice de diversité de Simpson), la concordance épidémiologique, la reproductibilité (Hunter, 1990; Kanduma *et al.*, 2003).

Un marqueur moléculaire ou génétique est une portion d'acide nucléique ou le produit d'une partie d'acide nucléique (protéine) de l'organisme examiné (De Meeus *et al.*, 2007). Il correspond à un fragment d'ADN ou locus déterminé sur le génome et partagé par des individus d'une même espèce, et qui a la vocation d'être transmis de génération en génération.

Il y a certains critères qui qualifient un marqueur comme « idéal », quand ils devraient être suffisamment polymorphe, c-à-d qui présente plusieurs allèles (multiallélique) et varie d'un génome à l'autre (plusieurs variants à un locus donné) permettant de différencier des individus très proches, non épistatique c-à-d le génotype en un locus est indépendant du génotype à d'autres loci, réparti régulièrement dans l'ensemble du génome, neutre (différents allèles ne doivent pas avoir d'effet sur le phénotype de l'individu) et détectable sur un grand nombre d'individus étudiés (de Vienne, 1998 ; Maheswaran, 2004).

### **1.3-Types de marqueurs moléculaires**

Les marqueurs génétiques (Tableau 1) sont divisés en trois catégories différentes (De Meeus *et al.*, 2007):

Les marqueurs cytoplasmiques, correspondent aux loci présents dans les génomes mitochondriaux ou chloroplastiques, qui toutefois ne sont pas recommandés pour les études de génétique des populations, car hérité uniparentalement (typiquement maternel) (Xu, 2005) et pourraient ne pas être neutres (Gerber *et al.*, 2001) et donc ne pas être seulement affectés par des processus démographiques et géographiques.

Les marqueurs nucléaires dominants Ce sont de petites paires d'amorces qui amplifient aléatoirement des portions d'ADN cibles si une correspondance de séquence est trouvée. Comme les marqueurs RAPD concernent une partie aléatoire de l'ADN, il n'y a aucun moyen de savoir si les différents loci impliqués sont équivalents en termes de neutralité et de taux de

mutation. Pour ces raisons, les marqueurs dominants en général et les RAPD en particulier sont peu utilisés en génétique des populations.

Les marqueurs nucléaires codominants, Avec ces marqueurs tous les génotypes (homozygotes et hétérozygotes) se distinguent théoriquement. De nombreuses techniques de visualisation existent pour de tels marqueurs dont parmi les plus connus : les isoenzymes, les polymorphismes de longueur des fragments de restriction (RFLP), les polymorphismes de longueur des fragments amplifiés (AFLP), les microsatellites, les minisatellites, le typage de séquence multilocus (MLST), l'Analyse de séquence multilocus (MLSA) et le polymorphisme conformationnel monocaténaire (SSCP).

**Tableau 1** : Evolution chronologique de développement de marqueurs ADN

Année	Acronyme	Nomenclature
1974	RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
1985	VNTR	Variable Number Tandem Repeats
1986	ASO	Allele Specific Oligonucleotides
1988	AS-PCR	Allele Specific Polymerase Chain Reaction
	OP	Oligonucleotide Polymorphism
1989	SSCP	Single Stranded Conformational Polymorphism
	STS	Sequence Tagged Site
1990	RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA
	AP-PCR	Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction
	STMS	Sequence Tagged Microsatellite Sites
1991	RLGS	Restriction Landmark Genome Scanning
1992	CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
	DOP-PCR	Degenerate Oligonucleotide Primer – PCR
	SSR	Simple Sequence Repeats
1993	MAAP	Multiple Arbitrary Amplicon Profiling
	SCAR	Sequence Characterized Amplified Region
1994	ISSR	Inter Simple Sequence Repeats
	SAMPL	Selective Amplification Of Microsatellite Polymorphic Loci
	SNP	Single Nucleotide Polymorphisms
1995	AFLP (SRFA)	Amplified Fragment Length Polymorphism (selective Restriction Fragment Amplification)
	ASAP	Allele Specific Associated Primers
1996	CFLP	Cleavase Fragment Length Polymorphism
	ISTR	Inverse Sequence-tagged Repeats
1997	DAMD-PCR	Directed Amplification Of Mini Satellite DNA-PCR
	S-SAP	Sequence-specific Amplified Polymorphism
1998	RBIP	Retrotransposon Based Insertional Polymorphism
1999	IRAP	Inter-retrotransposon Amplified Polymorphism
	REMAP	Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism

	MSAP	Methylation Sensitive Amplification Polymorphism
2000	MITE	Miniature Inverted-repeat Transposable Element
	TE-AFLP	Three Endonuclease AFLP
2001	IMP	Inter-MITE Polymorphisms
	SRAP	Sequence-related Amplified Polymorphism

(Adapté de Ravelomanantsoa, 2016)

En règle générale, les marqueurs moléculaires polymorphes de l'ADN sont les plus utilisés, ce sont :

- Les Indels (Insertions-Délétions), ou polymorphismes d'insertion-délétion d'une séquence d'ADN en un site du génome, formant le plus souvent un polymorphisme di-allélique, repérable par étude de la longueur du fragment d'ADN amplifié par PCR, à partir de deux amorces flanquant le site du marqueur (Maralit & Mudjekeewis, 2015) ;
- Les SNP (Single Nucleotide Polymorphism), ou polymorphisme simple nucléotide, substitution d'une paire de bases par une autre paire de bases, en un site du génome, génique ou intergénique, bi-allélique, dont les génotypes (deux homozygotes et un hétérozygote) sont identifiables par diverses méthodes de biologie moléculaire *in vitro* ; Les méthodes basées sur les séquençages par utilisation des SNP (single-nucleotide polymorphism) sont maintenant pratiquées à grande échelle et remplacent couramment les techniques précédentes (Ferguson *et al.*, 2012).
- Les RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), ou polymorphisme de longueur de fragments de restriction, en général dus à un SNP qui fait apparaître ou disparaître un site de reconnaissance spécifique d'une endonucléase en un locus du génome. Le chromosome est digéré avec des enzymes de restriction en plusieurs centaines de petits fragments, qui sont séparés par électrophorèse sur gel horizontal en motifs complexes (Owen, 1989). Les RFLP sont des marqueurs bi-alléliques (présence ou absence du site de restriction), dont le génotype est identifiable par étude de la longueur des fragments d'ADN après digestion et migration

Essentiellement, la RFLP surveille une variété de mutations qui peuvent se produire dans les sites de restriction et, en tant que tel, est une variante de méthode pour détecter la détection de SNPs. Les profils/ bandes numérisés et complexes sont généralement très reproductibles et ont été utilisés avec beaucoup de succès pour le typage moléculaire à haut débit d'un grand nombre d'isolats bactériens (Melles & *al.*, 2004; Wroblewska & *al.*, 2004). Elle est rapide et, dans des conditions standardisées, très reproductible et discriminatoire.



- L'AFLP (Amplified Fragments Length Polymorphism) est une méthode de typage moléculaire à haute résolution qui génère généralement plus de bandes par souche et a abouti à un regroupement discriminatoire plus reproductible et robuste des souches analysées (Zaluga *et al.*, 2013). Développée par Vos *et al.* (1995), cette technique permet d'estimer la variation génétique des populations naturelles. Elle présente en outre l'avantage de ne pas nécessiter d'investissements préalables en termes d'analyses de séquences ou de synthèse d'amorces (Keiper & McConchie, 2000).

- La Rep-PCR (PCR basée sur des éléments répétitifs), une technique relativement facile et rapide, s'est avérée être d'une utilité modérée (Kawaguchi *et al.*, 2010), principalement en raison du manque de base de données et du pouvoir discriminatoire plutôt faible nécessaire pour étudier des souches étroitement apparentées. De plus, la rep-PCR n'est généralement pas transférable entre différents laboratoires (Cangelosi *et al.*, 2004).

- La PFGE (Pulsed-Field Gel Electrophoresis /électrophorèse sur gel à champ pulsé de l'ADN), l'une des plus anciennes techniques utilisées en épidémiologie comme référence pour le typage de certaines espèces bactériennes (Bosch *et al.*, 2010; Kleitman *et al.*, 2008), demande beaucoup de travail et est coûteuse. Cette technique a une résolution similaire à celle obtenue par analyse de séquence des gènes et rep-PCR.

- La méthode MLST (Typage de séquence MultiLocus) est un moyen de génotypage pour les bactéries, avec quelques schémas développés pour plusieurs agents phytopathogènes (Almeida *et al.*, 2010). La méthode a l'avantage de permettre le transfert direct et la comparaison des données générées pour les souches entre les différents laboratoires du monde entier une fois la base de données de souches établie, tandis que des contrôles fastidieux doivent toujours être effectués pour de nombreuses autres méthodes basées sur la PCR (BOX, AFLP, ERIC). Les données générées permettent l'identification et le positionnement phylogénétique des souches étudiées. Pour l'analyse MLST, 5 à 10 gènes dits de ménage sont amplifiés par PCR et séquencés (Maiden, 2006). Les gènes de ménage sont sous sélection stabilisante et sont présents dans toutes les souches d'un genre / espèce à analyser.

Cette méthode s'est avérée présenter un certain nombre d'avantages par rapport à d'autres procédures de typage de l'ADN. Les plus importants sont la reproductibilité, une capacité à détecter les changements au niveau de l'ADN qui n'est pas possible par des

approches phénotypiques et une base de données générée qui peut être partagée entre les laboratoires du monde entier. Ces caractéristiques ont proposé la MLST comme un outil efficace dans les études épidémiologiques, de biologie des populations et de suivi des voies de transmission des agents pathogènes (Maiden, 2006).

- La méthode MLSA « MultiLocus Sequence Analysis » est une technique se basant sur l'analyse du polymorphisme des gènes de ménage (gènes ubiquistes ou conservés) et a pour objectif la reconstitution phylogénétique de l'histoire des organismes (Gevers et al., 2005; Hanage et al., 2006). En effet, cet outil de référence pour la reconnaissance génétique et l'analyse phylogénétique des bactéries, permet d'analyser un petit nombre de gènes de ménage avec un niveau élevé d'informations fournies par une séquence nucléotidique. Par ailleurs, elle constitue également un moyen simple d'identification des souches en tant que membres d'espèces connues ou membres de nouvelles espèces (Young et al., 2008). Cette technique s'est avérée très utile et devient de plus en plus utilisée pour l'étude de l'évolution et de la phylogénie des bactéries pathogènes de l'homme et des plantes (Ah-You et al., 2009; Young et al., 2008). Son principal avantage est qu'elle permet l'analyse des relations phylogénétiques avec une meilleure portabilité que les autres techniques de génotypage telles que la technique AFLP ou rep-PCR (Ngoc et al., 2010).

- Les STR (Short Tandem Repeats), ou polymorphismes de courtes séquences de deux ou trois nucléotides répétés en tandem, encore appelées « séquences microsatellites » (Pourcel & Vergnaud, 2011). Contrairement aux marqueurs précédents, les STR sont multi-alléliques, le nombre d'allèles étant égal au nombre de répétitions existant au locus considéré sur les divers chromosomes homologues de la population ou de l'espèce. Il convient de rappeler alors que le nombre d'homozygotes est alors égal à  $n$ , le nombre d'allèles, que le nombre d'hétérozygotes est égal à  $n(n-1)/2$  et que le nombre total de génotypes possibles est égal à  $n(n+1)/2$  (Wang et al., 1994).

Certaines de ces techniques (RFLP, AFLP, MLST) présentent des inconvénients de résolution pour les pathogènes monomorphes, comme c'est le cas de bactéries phytopathogènes (Juan, 2017) différemment du schéma MLVA, méthode présentée ci-dessous qui semble être mieux adaptée dû à son caractère simple et robuste, mais surtout pour son pouvoir discriminant et sa reproductibilité (Pruvost et al., 2014).

### **1.3.1-Marqueur moléculaire VNTR, technique de géotypage de MLVA**

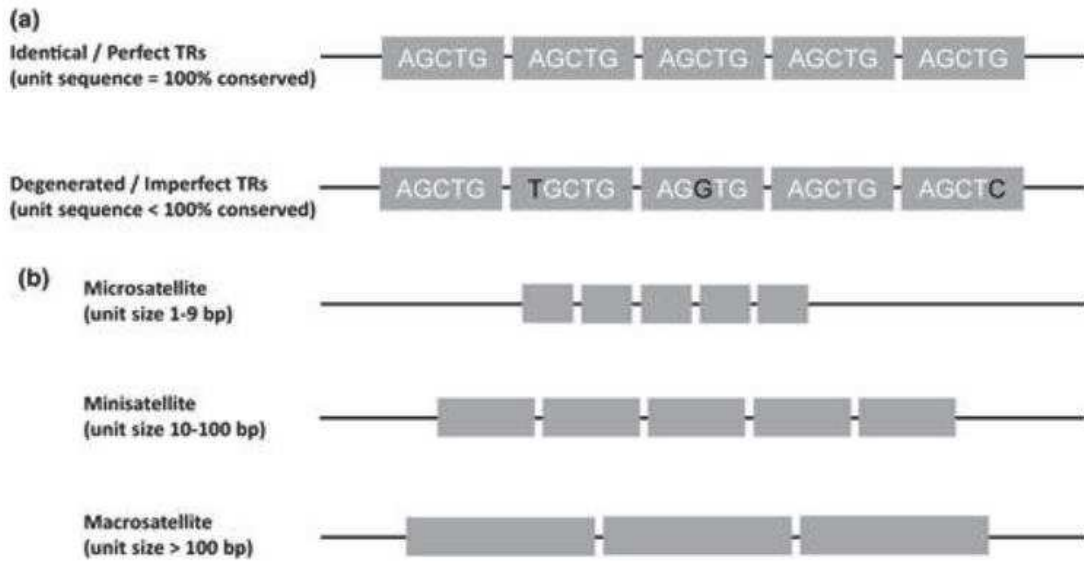
La méthode de Multi Locus Variable number tandem repeat Analysis (MLVA) en anglais, aussi appelée Analyse de plusieurs locus VNTR, repose sur l'analyse de VNTR « Variable Number of Tandem Repeats en anglais » ou nombre variable de répétitions en tandem (Nadon et *al.*, 2017).

L'outil MLVA s'est avéré très utile dans la surveillance épidémiologique (Knetsch et *al.*, 2013; Lindstedt et *al.*, 2013; Sabat et *al.*, 2013). Il profite de la variabilité d'un certain nombre de répétitions en tandem rencontrée dans certaines régions du génome. L'origine des VNTR peut être expliquée par des événements de mésappariement de brins glissés se produisant pendant la duplication de l'ADN, où les motifs répétés sont incorrectement copiés, entraînant la suppression ou l'insertion d'une ou plusieurs copies de la répétition (Van Belkum et *al.*, 1998). Le MLVA peut fournir des informations phylogénétiques même avec un nombre limité de loci (Call et *al.*, 2008).

Le principe de cette technique repose sur le dessin d'amorces de PCR conçues pour amplifier différents locus VNTR d'un génome donné. Elles peuvent être facilement combinées dans une PCR multiplex pour un schéma MLVA. Les différences entre les souches sont évaluées par les différentes tailles des amplicons visualisés par électrophorèse sur gel ou analyse automatisée des fragments sur un séquenceur. De ces tailles, le nombre de motifs répétés de chaque locus peut être déduit. Les informations résultantes forment un code numérique spécifique à la souche qui peut être facilement comparé à une base de données de référence (Poulin, 2014; Skuce et *al.*, 2002).

Les VNTR sont des structures génomiques complexes composées de répétitions identiques et contiguës allant de deux à plusieurs dizaines de nucléotides. Ce sont généralement des fragments intergéniques (localisés entre les gènes), mais peuvent aussi se retrouver dans des fragments codants. Ce sont des séquences hypervariables dont la taille des motifs répétés peut varier de quelques bases à plus d'une centaine (Vergnaud & Pourcel, 2009).

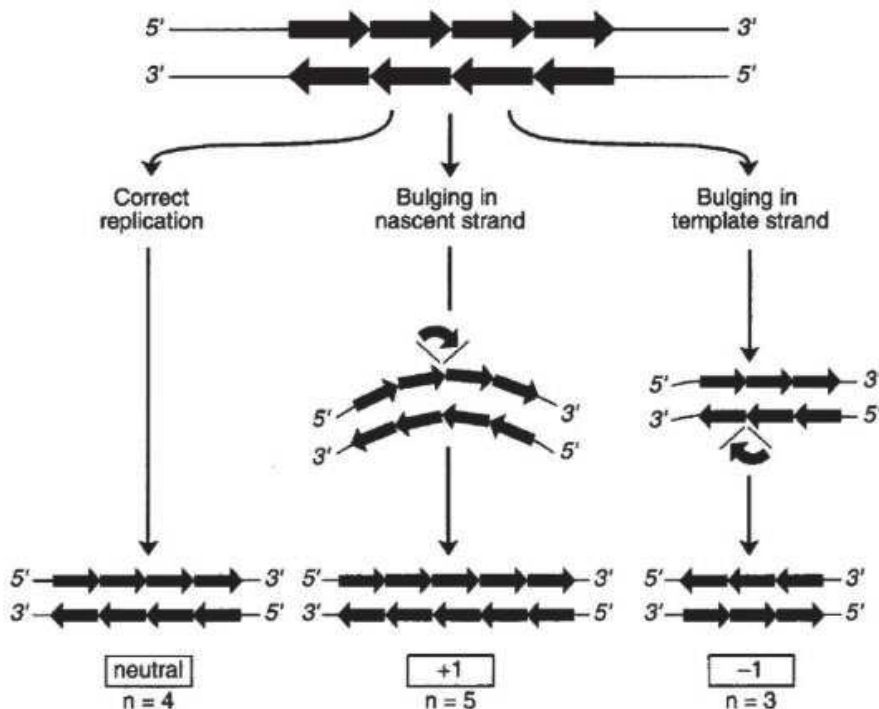
Les répétitions peuvent être parfaitement homologues ou bien imparfaites ou dégénérées (Figure 2a). Chez les procaryotes, les VNTRs ou Short-Sequence Repeats (SSRs) ou Short Tandem Repeats (STRs), sont généralement subdivisés en microsatellites, avec des répétitions de taille inférieure ou égale à 9 nucléotides, et en minisatellites avec des répétitions de 10 à 100 nucléotides. Les microsatellites sont plus rares et avec des tailles supérieures à 100 pb (Figure 2b) (Kang et *al.*, 1994).



**Figure 2 :** Représentation schématique des différents types de TRs.

(a) Les conservations entre les séquences des répétitions homologues parfaites ou imparfaites (>100% identité) (b) Les différentes tailles de répétitions existantes : microsatellites, minisatellites et macrosatellites.

(Kang *et al.*, 1994).



**Figure 3 :** Schéma évolutif pas-à-pas SSMM (Single Stepwise Mutation Model) des Variable Number of Tandem Repeats (VNTRs).

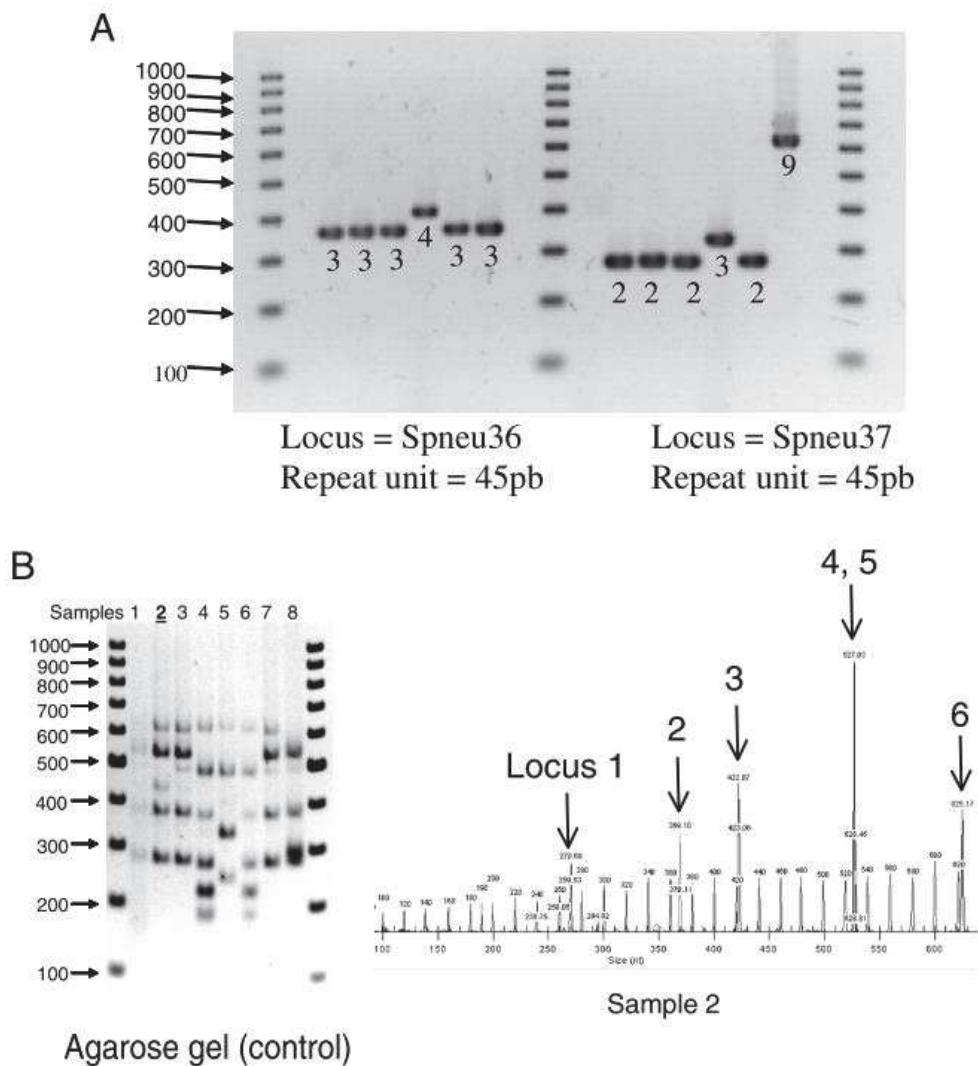
La réplication au niveau des répétitions peut soit être correcte et répliquer le motif exact ou se tromper d'une répétition (parfois plus d'une) en supprimant ou additionnant une ou plusieurs répétitions. (Cornelis & Van Gijsegem, 2000).

L'évolution des VNTRs se fait par des mutations 'pas à pas' (stepwise mutations) par l'ajout ou la perte d'une répétition lors de la de la réplication précédant la génération du génotype mutant (Figure 3), mais aussi par recombinaison entre répétitions (Kang et *al.*, 1994). Leur évolution est beaucoup plus rapide que l'évolution moyenne des mutations ponctuelles, avec un taux de mutation d'environ  $10^{-2}$  à  $10^{-5}$  mutations par génération contre  $10^{-6}$  et  $10^{-7}$  mutations par gène par génération pour les mutations ponctuelles non situées sur des points chauds (hotspots) de mutation (Lu et *al.*, 2008).

Le génotype MLVA d'une espèce bactérienne est un ensemble de nombres qui correspondent au nombre d'unités répétées pour chacun d'une collection de locus VNTR répartis sur le génome de l'organisme. Le nombre d'unités répétées est estimé à partir de la taille des produits de PCR, généralement en utilisant une électrophorèse soit pour chaque locus individuellement (Figure 4A), soit dans une réaction multiplexe (Figure 4B) (Pourcel & Vergnaud, 2011). Bien que le séquençage d'un TR (tandem repeat) puisse fournir des informations supplémentaires sur la variabilité des répétitions internes, cela n'est généralement pas effectué dans le cadre des analyses MLVA car il augmente considérablement le coût de la méthode pour relativement peu de discrimination supplémentaire. Cependant, il convient de noter que pour certaines espèces bactériennes (en exemple *Staphylococcus aureus*), le séquençage d'un ou deux TR uniques peut fournir un niveau élevé de discrimination, en particulier lorsque les variations internes du TR peuvent distinguer une grande variété d'allèles de taille par ailleurs identique.

Il n'y a pas de règle définitive ou théorique sur le nombre et la nature des TR qui devraient être inclus dans un schéma de typage MLVA (Fry et *al.*, 2009; Gomgnimbou et *al.*, 2014). Il peut s'agir de séquences sous haute ou basse pression évolutive à contenu phylogénétique variable. Le défi consiste à sélectionner des VNTRs qui conféreront un pouvoir discriminatoire suffisant aux espèces considérées et à les assembler et à les tester par rapport à une collection appropriée de souches (Pourcel & Vergnaud, 2011).

Le MVLA, c'est une technique de typage basée sur la PCR qui a été largement appliquée en épidémiologie moléculaire (Van Belkum, 2006). C'est ainsi que des marqueurs ciblant des répétitions en tandem ou microsatellites se sont montrés très adaptés et discriminants pour décrire les épidémies et tracer les voies de dispersion d'agents pathogènes divers (humains, animaux, végétaux) (Van Belkum et *al.*, 2007).



**Figure 4 :** Visionnage de produit PCR sur Gel d'agarose. (Pourcel & Vergnaud, 2011)

(A) Analyse de six souches de *S. pneumoniae* avec les deux loci VNTR Spneu36 et Spneu37 par électrophorèse sur gel d'agarose. L'unité de répétition mesure 45 pb. Le nombre de répétitions peut être évalué visuellement et est indiqué sous chaque produit de PCR.

(B) Panneau de gauche, résultat de l'amplification multiplex de 6 VNTR dans huit souches de *S. aureus* comme visualisé par électrophorèse sur gel d'agarose; panneau de droite, analyse par électrophorèse capillaire de l'échantillon 2, dans laquelle chaque locus est individualisé en raison des couleurs et de la plage de tailles de locus connue. (Pourcel & Vergnaud, 2011).

Une autre application de l’outil MLVA est l’analyse de la diversité des populations bactériennes à différentes échelles géographiques (Pays, province, verger) (Van Belkum et *al.*, 2007; Ngoc et *al.*, 2009).

Les VNTRs ont été utilisés pour faire la distinction entre les souches individuelles au sein de nombreux agents pathogènes d'origine alimentaire avec peu de différences génétiques, y compris *Escherichia coli* O157: H7 (Lindstedt et *al.*, 2003) et *Vibrio cholerae* (Danin-Poleg et *al.*, 2007) et pour étudier d'autres agents pathogènes humains importants, tels que *Neisseria gonorrhoeae* (Heymans et *al.*, 2011), *Streptococcus pneumoniae* (van Cuyck et *al.*, 2012) et *Mycobacterium tuberculosis* (Skuce et *al.*, 2002). Le MLVA a été largement utilisé pour suivre les transmissions d'importants agents pathogènes humains et animaux (Hidalgo et *al.*, 2010; Marsh et *al.*, 2006) et pour typer les agents pathogènes bactériens monomorphes, notamment *Bacillus anthracis* (Le Fleche et *al.*, 2001) et *Yersinia pestis* (Li et *al.*, 2009).

À ce jour, plusieurs programmes MLVA ont été publiés sur des agents phytopathogènes tels que *Xanthomonas citri* pv. *citri* (Ngoc et *al.*, 2009), *X. oryzae* pv. *oryzicola* (Poulin et *al.*, 2015) (Zhao et *al.*, 2007) *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* et tomate (Gironde & Manceau, 2012), *Xylella fastidiosa* (Coletta-Filho et *al.*, 2001) et sur les champignons, par ex. *Aspergillus flavus* (Wang et *al.*, 2012).

Dans les agents pathogènes des plantes, tels que *Xanthomonas arborescens* pv. *pruni*, MLVA a été proposé comme méthode de typage moléculaire complémentaire à AFLP, BOX et ERIC-PCR (Bergsma-Vlami et *al.*, 2012). Dans l'étude épidémiologique des pathotypes de *Xanthomonas citri*, la MLVA a été comparée à l'AFLP et à la PCR remédiée par ligature par séquence d'insertion (IS-LM-PCR) et a été trouvée comme la meilleure méthode pour décrire les variations entre les souches originaires du même pays ou groupe de pays voisins (Ngoc et *al.*, 2009).

### **1.3.2-Avantages et limites de la technique MLVA**

La technique MLVA comme toute autre technique, possède également des limites et insuffisances. C’est ainsi que dans la MLVA, il pourrait être nécessaire de développer un nouvel ensemble de loci pour chaque espèce ou sérotype étudié. De plus, certains loci ne sont «pas stables» et peuvent «disparaître» de certaines souches ou lignées, ce qui se traduirait par un allèle «zéro» non informatif (Broschat et *al.*, 2010).

Également, cette technique MLVA est moins coûteuse, son pouvoir discriminant pour de nombreux groupes bactériens en fait un outil de typage particulièrement utile pour les agents

pathogènes monomorphes (Lindstedt et *al.*, 2013; Sabat et *al.*, 2013). En somme le MLVA: (i) est sensible, rapide et fiable ; (ii) présente un pouvoir discriminant élevé parmi les isolats ; (iii) est économique par rapport aux autres outils de typage moléculaire ; (iv) Convient à la manipulation de grands ensembles d'échantillons ; (v) présente des résultats qui peuvent être normalisés dans des jeux de données pour permettre la comparaison entre différents laboratoires (López-Soriano et *al.*, 2016).

Aussi, la méthode MLVA à l'aide de microsatellites ne semble pas être adaptée à une analyse épidémiologique à large échelle en raison de ses taux de mutation et d'homoplasie (réversion ou convergence évolutive) élevés qui existent surtout pour des motifs de petite taille (Achtman, 2008). Malgré le fort pouvoir discriminant du MLVA, le résultat final dépend du groupe et peut varier considérablement entre différentes espèces bactériennes (Harth-Chu, Espejo, Christen, Guzman, & Hofle, 2009).



---

## Partie 2-Les interactions plante-pathogène et mécanismes d'action des phytobactéries

---

Dans presque tous les milieux que l'on peut trouver à la surface de la terre, les plantes doivent continuellement faire face à de très nombreuses contraintes/stress (Atkinson & Urwin, 2012), surtout qu'elles possèdent un lourd désavantage : leur immobilité. Ces stress inclus dans les facteurs en interaction avec la plante (Figure 5) peuvent être répartis en deux groupes : les stress abiotiques (stress hydrique, thermique, salin,..) et les stress biotiques (ravageurs, micro-organisme phytopathogènes, etc.) (Ramegowda & Senthil-Kumar, 2015). Le second groupe comprend les agents pathogènes tels que les virus, bactéries, champignons, oomycètes et nématodes, qui dans leur diversité possèdent parmi eux certains qui établissent une relation de parasitisme avec leurs hôtes (ici la plante) et sont difficiles à gérer. En réponse à ces pathogènes ; les plantes ont développé un ensemble de stratégies leur permettant de résister et contrer le développement de la maladie (Berger *et al.*, 2007).

Toutefois la plupart des agents pathogènes biotiques des plantes sont des parasites. Les parasites sont une partie importante de chaque écosystème, et les interactions hôte-parasite intéressent les spécialistes des plantes pour la compréhension des écosystèmes agricoles.

La compréhension des interactions entre les plantes et son bioagresseurs nous aide à modifier nos pratiques culturales d'une manière qui profite à la plante et/ou a un impact négatif sur les agents pathogènes (Katan, 2000).

L'interaction d'une plante avec un agent pathogène peut évoluer schématiquement de deux façons (Figure 6): (i) une interaction compatible au cours de laquelle, l'agent pathogène peut pénétrer et se développer aux dépens du végétal, la plante est plus ou moins envahie, elle est dite sensible avec apparition des symptômes de la maladie ; (ii) une interaction incompatible, où l'agent pathogène est dit avirulent et ne réussit pas à infecter la plante qui est alors résistante. (Keen, 1990).

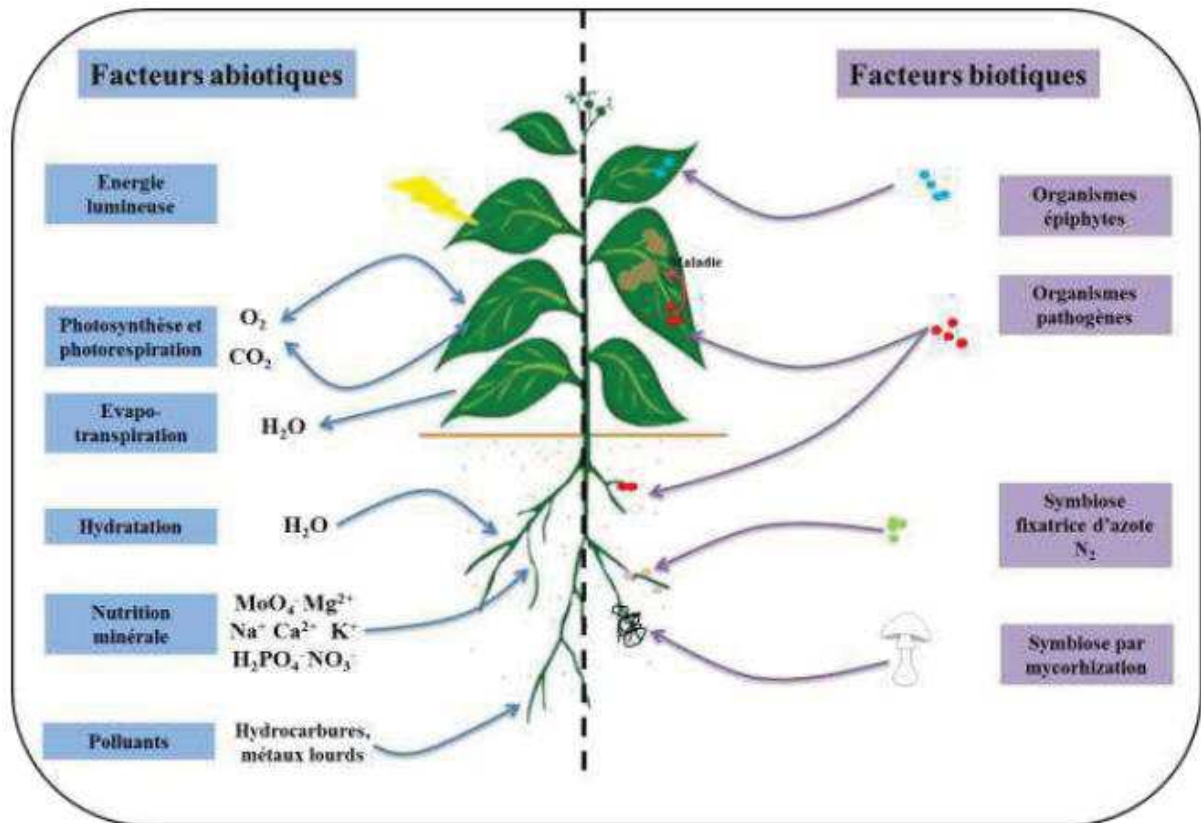


Figure 5 : Les facteurs en interaction avec la plante

(Launay, 2014)

Interaction types	NON-HOST	HOST	
		INCOMPATIBLE	COMPATIBLE
Plant	Immune	Resistant	Susceptible
Pathogen	MAMPs detection - avirulent	Avr effector recognized - avirulent	Effectors / toxins interact with specific host targets - virulent
Plant defences	Preformed structural or biochemical Activation of innate immunity	Basal defence and R protein mediated activation of plant defence with cross-talk	Basal defences only
Outcome	No disease - species incompatibility	No / highly reduced disease levels Gene-for-gene mediated resistance	Disease – prolific pathogen replication and dissemination

Figure 6 : Illustration des différents types d'interactions plante-parasite reliés aux déterminants de la reconnaissance du parasite et à la nature des défenses mises en jeu pour chacune d'entre elles.

(Hammond-Kosack & Kanyuka, 2007)

Parmi les réponses de la plante, les mécanismes de résistance de la plante sont régulés très finement dans le temps et l'espace afin que l'exécution ne soit pas délétère à la physiologie et le développement de la plante. Ces réponses de défense (Figure 7) consistent en une combinaison de réponses constitutives et/ou inductibles qui peuvent être localisées au site d'infection ou être activées au niveau de la plante entière. C'est ainsi qu'en fonction de l'espèce on distingue la résistance hôte (certains génotypes de l'espèce végétale sont résistants à l'agent pathogène) et la résistance non-hôte (tous les génotypes d'une espèce donnée sont résistants à toutes les souches d'un agent pathogène donné) (Wonni, 2013).

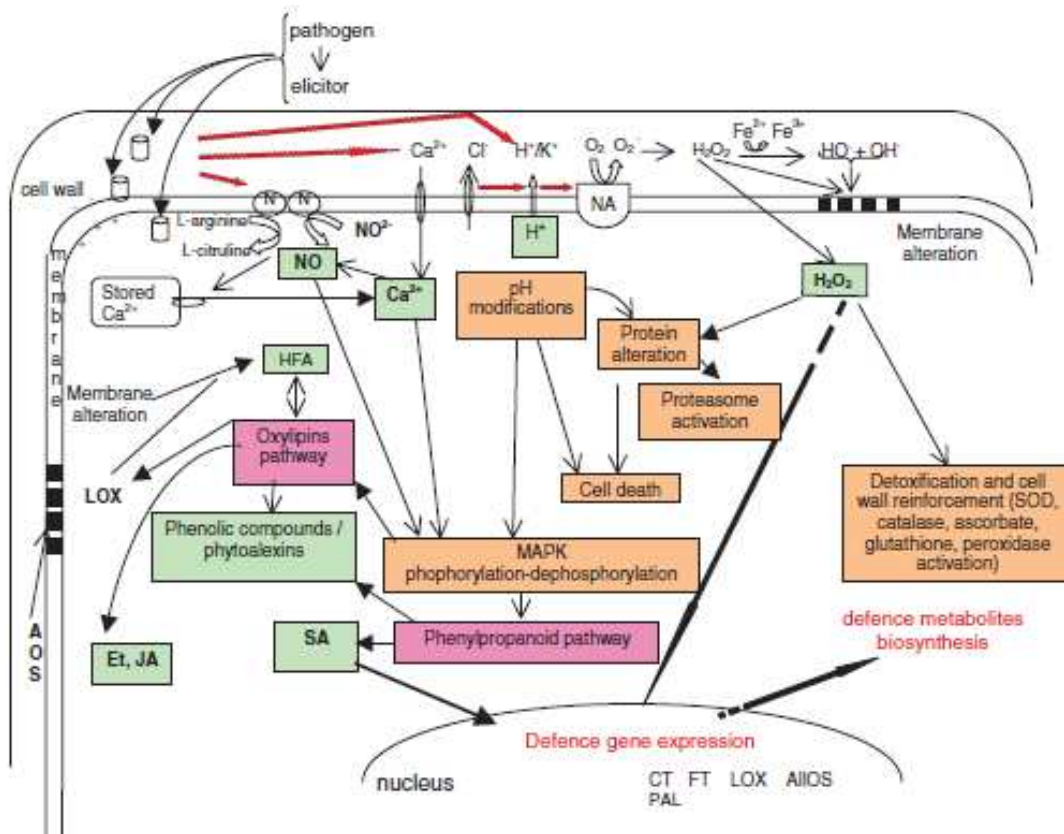
## **2.1-Comportement de la plante et du pathogène lors d'une interaction**

Le pouvoir pathogène peut se considérer de manière quantitative, on parle d'agressivité (ou sévérité), mais aussi d'un point de vue qualitatif, on parle de virulence. La virulence est parfois utilisée pour décrire quelles races d'un agent pathogène donné sont capables d'infecter un certain nombre de cultivars de la plante hôte. A contrario les races de ce même agent pathogène incapables d'infecter la plante hôte sont considérées comme avirulentes (Casadevall & Pirofski, 1999). Le caractère avirulent résulte de la mise en place par la plante hôte de mécanismes de défense, dont on distingue ceux qui sont prédéterminés de celles induites par l'infection

**Tableau 2 :** Représentation schématique du modèle de Flor

		Gène de résistance e la plante	
		+	-
Gène Avr du pathogène	+	R	S
	-	S	S

En présence d'un gène de résistance chez la plante hôte et du gène d'avirulence correspondant chez l'agent pathogène, l'interaction est dite incompatible et conduit à une résistance (R). La réponse hypersensible (HR) déclenche l'accumulation rapide de composés de défense. Si la plante manque de récepteurs ou le pathogène n'a pas d'éliciteurs, la plante sera sensible (S) à ce pathogène et la maladie se développera (Schumann & D'Arcy, 2010).



**Figure 7 .** Illustration schématique des réactions de défense induites lors d'interactions plante/agent pathogène ou éliciteur/plante.

La reconnaissance d'éliciteurs issus d'agents pathogènes induit la production de molécules signaux (rectangles verts), qui activent à leurs tours les voies de défense (rectangles roses) ou de métabolismes cellulaires (rectangles orange). NO : nitric oxide ; HFA : hydroxy fatty acid ; SA : salicylic acid; CT : coumaroyl tyramine ; FT : feruloyl tyramine ; LOX : lipoxygénase ; ALOS : allene oxide synthase ; Et : ethylene ; P : perception. (Desender *et al.*, 2007)

Par rapport à une plante sensible à la maladie, la «résistance» est souvent définie comme la réduction de la croissance du pathogène sur la plante ou dans celle-ci, tandis que l'expression «tolérance aux maladies» décrit des plantes qui présentent moins de lésions dues à la maladie malgré des niveaux similaires de croissance du pathogène (Lepoivre, 2003). Le déclenchement d'une maladie est déterminée par une interaction triple impliquant le pathogène, la plante et le milieu (interaction connue sous le nom de « triangle des maladies ») (Francl, 2011).

### **2.1.1-Généralités**

Les conditions environnementales jouent un rôle essentiel dans le processus d'établissement de la maladie (Agrios, 2005). La pénétration peut se produire de deux manières : pénétration directe (c'est-à-dire à travers les tissus végétaux) et pénétration indirecte (c'est-à-dire à travers les ouvertures ou les blessures naturelles). Cependant, la pénétration n'entraîne pas nécessairement une infection/maladie. Les plantes non-hôtes peuvent être pénétrées sans développement supplémentaire du pathogène. Les agents fongiques, bactériens et nématodes ont besoin de nutriments venant de leurs hôtes pour se développer et se reproduire. Ils réussissent donc à infecter une plante lorsqu'ils obtiennent des nutriments qui leur permettent de croître et de se reproduire. Pendant le processus d'infection, il y a une période entre la pénétration et la première apparition des symptômes, **c'est la période d'incubation**. Elle peut être identique ou différente de **la période de latence**, qui est le temps requis pour la production d'un nouvel inoculum (Schumann & D'arcy, 2010). Le principal objectif du phytopathogène est de se reproduire sans déclencher des réactions de défense des plantes qui lui sont potentiellement fatales. Les nécrotrophes tuent généralement les cellules hôtes et désactivent les réactions de défense. Les biotrophes produisent de l'haustoria ou obtiennent autrement des nutriments sans déclencher de réactions de défense fatales (Ramiro, 2009).

Pour faire face à une grande diversité de parasites, les plantes ont développé un système d'immunité qui leur permet de réagir aux agents pathogènes par une aussi grande diversité de réponses inductibles (de Wit, 2007; Z. Fu & Dong, 2013). En effet, malgré l'existence de barrières constitutives (paroi végétale, métabolites secondaires antimicrobiens etc..) conférant à la plante une résistance générale efficace, l'induction de défenses plus adaptées à l'infection, et à chaque type de parasite, est souvent nécessaire (Ramiro, 2009).

### 2.1.2-L'hypothèse de la relation « gène pour gène »

De nombreuses interactions hôte-pathogène peuvent être comprises sous l'angle de la relation « gène pour gène » (Tableau 2) selon laquelle le produit (récepteur) d'un gène de résistance (R) de la plante interagit avec le produit d'un gène d'avirulence (Avr ou éliciteur) de l'agent pathogène, résultant à la mise en place d'une réaction de résistance qui culmine parfois avec le déclenchement de la réaction d'hypersensibilité (HR) (Ellis & Jones, 2003). L'interprétation moderne du concept gène à gène proposé par Flor (1947) stipule que le gène d'avirulence code pour une protéine qui est spécifiquement «reconnue» par les génotypes de la plante hôte hébergeant le gène de résistance correspondant, indépendamment de la fonction de ce gène d'avirulence dans la pathogénicité (Rouxel & Balesdent, 2010). Le terme interaction gène pour gène a été créé pour tenter de comprendre la dynamique des interactions génétiques entre les plantes et leurs agents pathogènes. Le modèle d'interaction gène à gène s'applique à de nombreuses interactions hôte-pathogène, y compris celles impliquant des bactéries, des champignons, des nématodes, des virus et même certains insectes, mais il ne peut se généraliser à tous les pathosystèmes.

Les protéines codées par les gènes *avr* sont appelées éliciteurs, ou effecteurs, un terme plus récent et plus inclusif. Ce sont des molécules issues des pathogènes, qui sont généralement transloquées dans les cellules hôtes, où elles peuvent agir pour supprimer l'immunité innée de l'hôte et contribuer au pouvoir pathogène en assurant aussi des fonctions nutritionnelles. La réaction incompatible résultant de la reconnaissance des effecteurs du pathogène par les récepteurs des gènes *R* de la plante, ce qui entraîne une réaction de résistance (Chan & Goodwin, 1999), tandis qu'en absence ou mutation soit du gène *avr* ou du gène *R*, aucune reconnaissance ne se produira (Tableau 2). Il en résultera le développement de la maladie et l'interaction est dite compatible (De wit, 1995). Les gènes *avr* ont été découverts pour la première fois dans la bactérie *Pseudomonas syringae* et peu après dans le champignon *Fulvia fulva* (syn. *Cladosporium fulvum*) (Schumann & D'arcy, 2010).

## 2.2-Les effecteurs : facteurs de pathogénie et éliciteurs

En réponse aux facteurs de virulence produits par l'agent pathogène, les plantes ont développé des moyens pour reconnaître ces derniers et répondre à l'attaque par le biais d'un mécanisme de défense inductible robuste et rapide. Ce mécanisme de reconnaissance spécifique implique l'intervention d'une protéine dite d'aviorulence (Avr) de l'agent pathogène et une protéine végétale dite de résistance (R) (Cazaux, 2009; Ramiro, 2009). Les effecteurs sont ainsi les cibles d'un système de surveillance orchestré par les protéines de résistance de la plante. Suite à la reconnaissance de ces effecteurs, les produits des gènes de résistance agissent pour induire un système de mort programmée des cellules végétales en contact ou à proximité de l'agent pathogène. Ce phénomène, dénommé réaction d'hypersensibilité ou HR, a pour effet de confiner l'agent pathogène, empêchant ainsi sa propagation dans les tissus et organes sains de la plante. Le rôle premier des effecteurs n'est toutefois pas d'induire les réactions de défense, mais de participer collectivement au développement de la maladie.

### 2.2.1-Facteurs de pathogénèse chez les phytobactéries

Lors du processus infectieux, différents éléments entrent en jeu permettant aux bactéries de modifier ou de manipuler le métabolisme de la plante et de réprimer ses défenses. On observe notamment l'action programmée de nombreux déterminants du pouvoir pathogène : les adhésines, exo-polypolysaccharide (EPS), lipo-polypolysaccharides (LPS), des toxines, composés hormonaux, des enzymes de dégradation de la paroi végétale ainsi que les protéines effectrices (Launay, 2014). Une infection réussie se traduit par une forte multiplication bactérienne dans les tissus hôtes et est sous-tendue par l'action synergique de l'ensemble de ces composés qui ont en commun d'être sécrétés à l'extérieur de la cellule bactérienne (Büttner & Bonas, 2009). Cette partie donne des détails relatifs à certains de ces déterminants chez les phytobactéries.

- Les toxines végétales ou phytotoxines, qui elles sont généralement produites par les organismes nécrotrophes (un exemple de bactérie phytopathogène qui synthétise et sécrète des toxines est celui de la bactérie *Pseudomonas syringae*) (Launay, 2014). Elles peuvent être réparties entre *les toxines générales* (facteur de virulence contribuant à la sévérité de la maladie mais pas nécessaire dans la survenue de la maladie, par exemple chez les phytobactéries, la phaseolotoxine et la tabtoxine) et des *toxines hôte-spécifiques* (qui sont des facteurs de

pathogénicité responsables de l'infection (HV toxine, pour *Helminthosporium victoriae*, T-toxine) (Andanson, 2010; Berry, 1977).

- Les enzymes de dégradation comme la cellulase (dégradant la cellulose), hémicellulase (hemicellulose), pectinase (pectine), lignase (lignine), lipase (lipide), des protéases, amylase (amidon), etc..

La sécrétion d'enzymes extracellulaires dépend principalement du système de sécrétion de type II, mais aussi du système de sécrétion de type I pour certaines protéases (Büttner & Bonas, 2009; Omori & Idei, 2003).

- Les polysaccharides jouent un rôle clé dans la pathogénèse de certains agents pathogènes. Ils peuvent contribuer à la mécanique de blocage du système vasculaire des flétrissements bactériens provoqués par des bactéries du genre *Erwinia*, *Ralstonia* et *Xanthomonas* qui produisent des quantités importantes d'exopolysaccharides (EPS) en milieu de culture ou in planta (Leigh & Coplin, 1992). Les EPS forment une capsule mucoïde protectrice autour de la cellule bactérienne permettant de maintenir une forte hydratation de la zone colonisée et/ou de séquestrer les molécules toxiques en général chargées positivement. *Xanthomonas* produit un exopolysaccharide appelé «gomme de xanthane» utilisée dans l'industrie agro-alimentaire (Wonni, 2013).

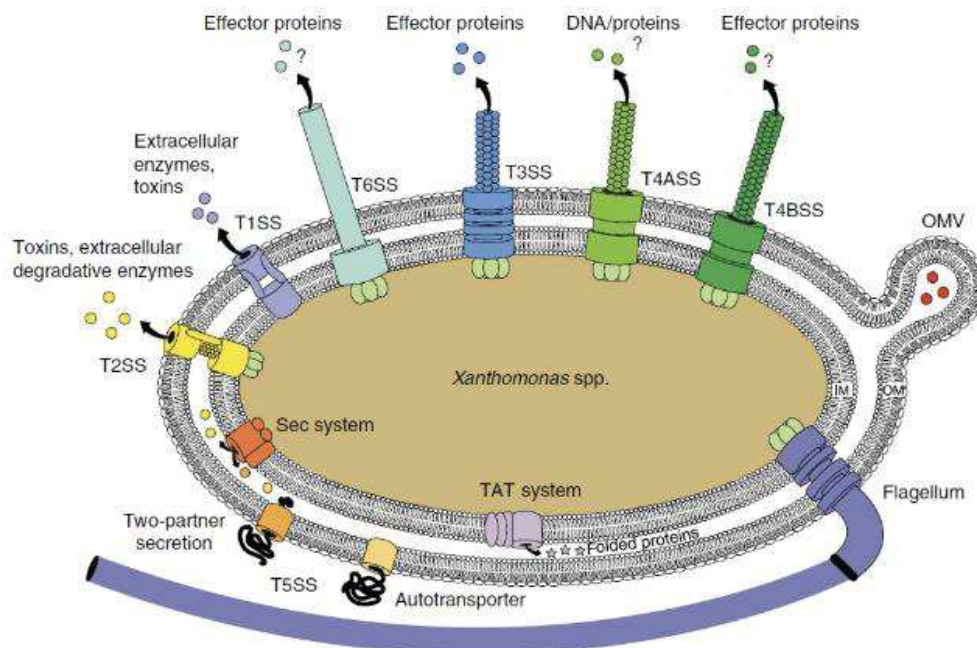
### **2.2.2-Système de sécrétion de type III et effecteurs de type III**

L'un des principaux facteurs de pathogénicité est le système de sécrétion de type III (SST3), il est également appelé Hrp (pour "Hypersensitive response and pathogenicity") chez les phyto bactéries. C'est un système qui injecte des protéines effectrices dans le cytosol de la cellule hôte (Figures 8 et 9) pour manipuler des processus cellulaires endogènes tels que la défense basale au profit du pathogène (Büttner & Bonas, 2009).

Le SST3 est un complexe protéique assimilable à une seringue. Son architecture est proche du flagelle des bactéries. Il est composé de trois grandes parties. Premièrement, il possède un corps basal cylindrique inséré dans les deux membranes plasmiques de la bactérie. Cela permet de faire passer les effecteurs par les deux membranes de la bactérie sans transiter par le périplasme. Le corps basal est surmonté d'un pilus Hrp qui constitue l'aiguille de la seringue et dont la longueur varie selon l'espèce bactérienne. Enfin, le SST3 se termine par un translocon qui s'insère dans la membrane plasmique des cellules hôtes formant ainsi un pore permettant de cette façon aux effecteurs de passer dans le cytoplasme des cellules hôtes (Launay, 2014).

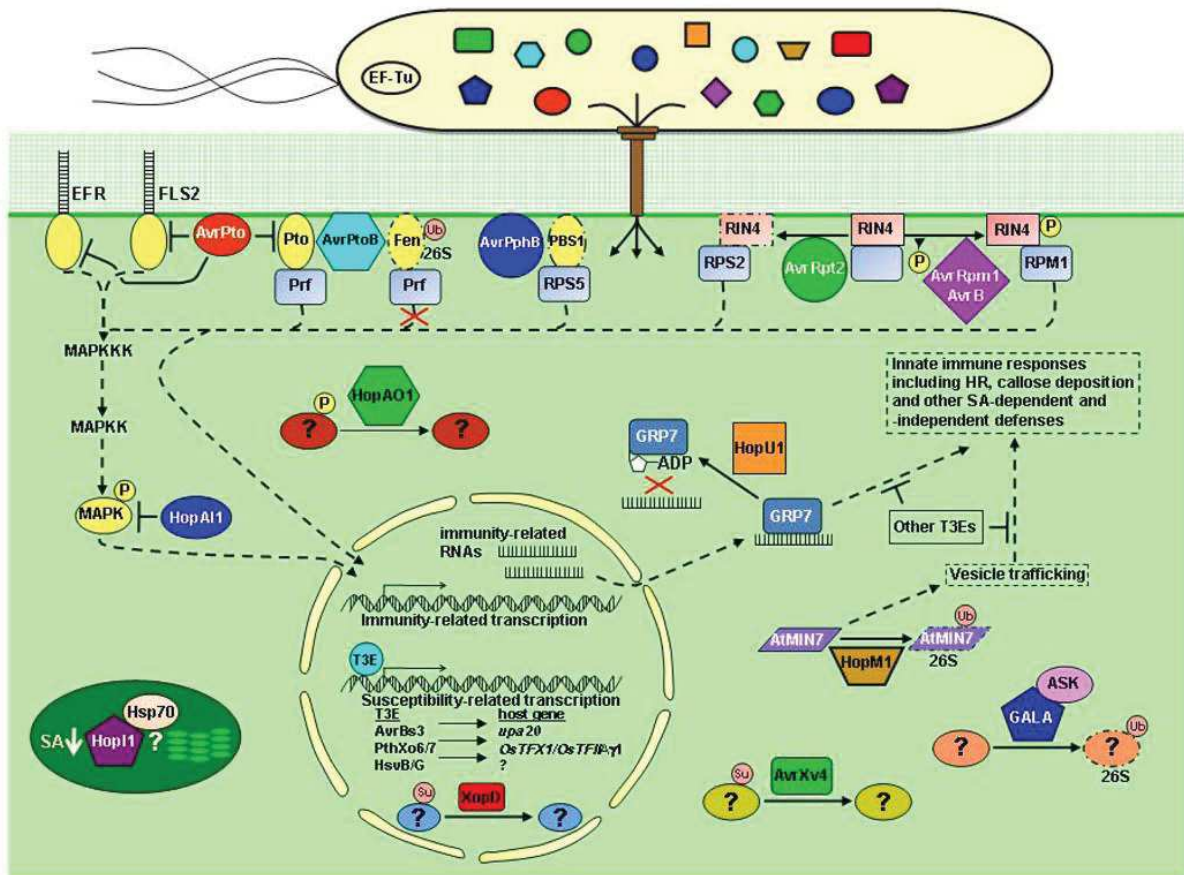
Les bactéries dont le pouvoir pathogène dépend de ce système n'expriment pas de manière constitutive les gènes du cluster *hrp*.





**Figure 8 :** Représentation schématique des systèmes de sécrétion chez *Xanthomonas spp.*

**Le système de sécrétion de type I (T1S)** ou transporteur ABC, est formé de trois protéines membranaires et est reconnu pour sécréter seulement trois protéines à l'extérieur de la cellule soit HasAp, AprX et la protéase alcaline (PrIP). **Le système de sécrétion de type II (T2S)** permet une sécrétion en deux étapes. La première étape est l'exportation des exoprotéines dans le périplasme par le système Sec; la seconde est la sécrétion de ces exoprotéines à travers la membrane externe de la bactérie. **Le système de sécrétion de type III (T3S)** permet l'injection d'effecteurs spécifiques directement dans le cytosol des cellules cibles, en contournant les étapes périplasmiques et extracellulaires, nécessaires aux autres systèmes de sécrétion bactérienne. **Le système de sécrétion de type IV (T4S)** est utilisé par de nombreuses bactéries Gram-négatives pour la translocation de macromolécules (protéines, ADN, complexes ADN-protéine) à travers l'enveloppe cellulaire. Il est impliqué dans l'adhésion et la mobilité bactérienne. **Le système de sécrétion de type V (T5S)** comprend deux voies distinctes, les autotransporteurs et les systèmes de sécrétion à deux composants (TPS). Le système TPS est composé de deux protéines distinctes d'une part la protéine TpsA qui sera exportée hors de la bactérie et d'autre part la protéine membranaire TpsB qui agira en tant que transporteur spécifique. Il a pour substrat des protéines d'adhérence, d'auto-agrégation, d'invasion et de toxicité. **Le système de sécrétion de type VI (T6S)** comme le T3S transporterait les protéines effectrices dans la cellule hôte. OMV: Vésicules de la membrane externe, IM: Membrane interne, OM: Membrane externe, TAT: Twin-Argine Translocation. (Büttner & Bonas, (2009)



**Figure 9 :** Cibles végétales et activités des effecteurs de type III provenant d'agents phytobactériens.

Les pathogènes bactériens des plantes injectent de nombreux effecteurs de type III (T3E) dans les cellules végétales via le système de sécrétion de type III. Les activités des T3E peuvent être reconnues par des protéines de résistance végétale (R) induisant une immunité déclenchée par un effecteur (ETI). La protéine R RPM1 provoque ETI en reconnaissant la phosphorylation (P) de RIN4 par les.

Les plantes peuvent également utiliser des kinases réceptrices ('EFR ou FLS2,...) pour détecter les modèles moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP). Cela conduit à une immunité déclenchée par PAMP (PTI), qui, comme l'ETI, induit des réponses immunitaires innées.

Les lignes pointillées indiquent les réponses des plantes et les activités T3E en lignes pleines (Block et al. , 2008).

Les gènes *hrp* sont nécessaires pour déclencher des maladies chez les plantes sensibles et susciter une résistance chez les plantes résistantes. Ainsi, le résultat de l'interaction bactérie-plante dépend de la façon dont les récepteurs spécifiques de la plante reconnaissent les divers effecteurs bactériens sécrétés dans la cellule hôte. En 1992, l'une des protéines "éliciteurs" d'un gène *hrp* a été identifiée, nommée harpin; elle est maintenant produite comme le produit commercial "Messenger" utilisé pour déclencher la SAR (Systemic Acquire Resistance/Résistance systémique acquise) chez les plantes(Liu *et al.*, 2020).

### **2.2.3-Les effecteurs de type III : TALEs (cas particulier des Xanthomonas)**

Les bactéries phytopathogènes ont recours à un grand nombre d'effecteurs pour assurer l'issue de l'interaction avec l'hôte. Les effecteurs de type III injectés dans la cellule végétale via le système de sécrétion de type III jouent un rôle important dans l'interaction hôte/agent pathogène (Kay & Bonas, 2009; Medina *et al.*, 2018; White *et al.*, 2009).

Chez Xanthomonas, on distingue deux catégories majeures d'effecteurs de type 3 noté ET3: les protéines de type TAL et, par opposition, les effecteurs de type non-TAL qui regroupent près de 40 familles de protéines (White *et al.*,2009).

Ces ET3 sont bien référencés dans une base de données dédiée (<http://www.xanthomonas.org/>; (Rodriguez & Koebnik, 2010)) qui met en évidence l'existence d'un corpus d'ET3 conservés chez un grand nombre d'espèces et de pathovars de Xanthomonas, et d'autres bien plus spécifiques. On parle d'effectome «core» et effectome «variable» (Hajri *et al.*, 2009; Sarkar *et al.*, 2006; Sarkar, 2004). Les effectomes «cores» ou conservés sont impliqués dans le développement des symptômes, la nutrition et la suppression des réponses de défenses basales par opposition aux effectomes «variable» impliqués dans la suppression de la HR et la spécificité d'hôtes (Poueymiro & Genin, 2009).

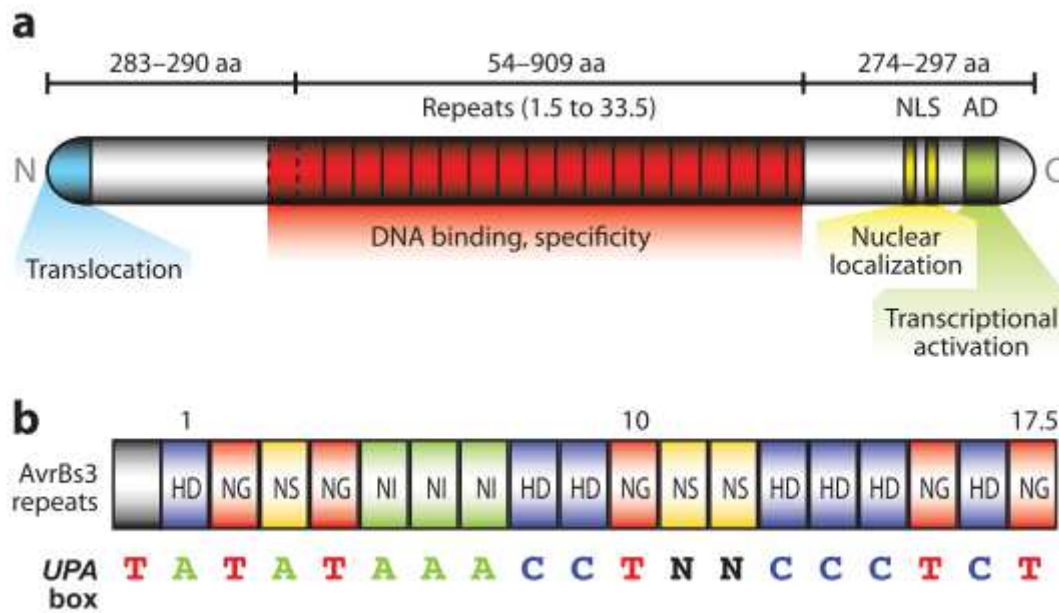
Les effecteurs de type «non-TAL» sont largement distribués dans le génome des bactéries du genre Xanthomonas et en nombre variable au sein d'une même espèce et/ou d'un pathovar (Scholze et Boch, 2011). Dix-huit types d'effecteurs sont communs à la plupart des espèces de Xanthomonas. Ces effecteurs pourraient être impliqués dans la spécificité tissulaire (Rodriguez & Koebnik, 2010).

Malgré le nombre important d'effecteurs non-TAL décrits, très peu de progrès ont été réalisés sur l'identification de leur fonction dans les interactions plantes/agents pathogènes. En tout 40 familles d'effecteurs de Xanthomonas ont des motifs structuraux qui joueraient probablement des activités enzymatiques (White *et al.*, 2009).

#### 2.2.4-Les effecteurs TALs chez les *Xanthomonas*

Les protéines de type TAL pour «Transcription Activator-Like», dites aussi de la famille AvrBs3/PthA du nom des premiers membres qui ont été découverts il y a plus de 20 ans (Bonas *et al.*, 1989; Swarup *et al.*, 1991), présentent de 90 à 97% d'homologie de séquence (Boch & Bonas, 2010) et une structure tout à fait caractéristique (Figure 10) . On distingue un signal de sécrétion via le SST3 de type Hrp dans la partie N-terminale (Figure 10a), une région centrale constituée de plusieurs répétitions en tandem d'un motif de 33/34 acides aminés suivie d'une région C-terminale qui contient deux à trois motifs NLS «Nuclear Localization Signal», ainsi qu'un domaine d'activation de la transcription (AAD pour "Acidic Activation Domain"). Les NLS déterminent le transport de la protéine TAL vers le noyau de la cellule végétale grâce à leur liaison à la sous-unité  $\alpha$  de l'importine (Szurek *et al.*,2001). L'AAD assure le recrutement de la machinerie de transcription, mais la protéine du complexe précisément ciblée reste à ce jour inconnue. Chacun des motifs ou domaine mentionné ci-dessus est indispensable aux fonctions de virulence et d'avirulence des protéines de TAL, la région des répétitions étant impliquée dans la liaison à la séquence d'ADN cible (Doyle *et al.*,2013; Schornack *et al.*, 2013). Les protéines TAL répertoriées dans les bases de données contiennent de 1,5 à 33,5 répétitions avec une moyenne de 17,5 répétitions, dont la dernière (demi) répétition est réduite à 20 acides aminés. Le nombre et l'organisation de ces répétitions sont essentiels car ils déterminent la spécificité d'action des protéines TALs, c'est-à-dire l'activité d'avirulence et/ou la fonction de virulence (Schornack *et al.*,2013). En effet, la modification de l'ordre et/ou du nombre de motifs répétés (qui sont quasi-identiques) peut fortement affecter leur(s) activité(s) (Boch & Bonas, 2010).

Les acides aminés situés en position 12 et 13 de chaque répétition (Figure 10b) sont appelés RVD pour «Repeat Variable Di-residues», car ce sont ceux qui présentent le plus de variabilité (Boch & Bonas, 2010). Récemment, il a été démontré que la succession des RVD détermine la nature et la longueur de la séquence nucléotidique ciblée par l'effecteur TAL (EBE, pour «Effector Binding Element») (Moscou & Bogdanove, 2009). Le «code TAL» selon lequel chaque répétition reconnaît spécifiquement via les RVD un nucléotide donné a ainsi été dévoilé, permettant désormais de prédire les cibles potentielles d'une protéine TAL donnée. Selon Boch et Bonas (2010), un minimum de six répétitions serait indispensable pour l'induction d'une cible.

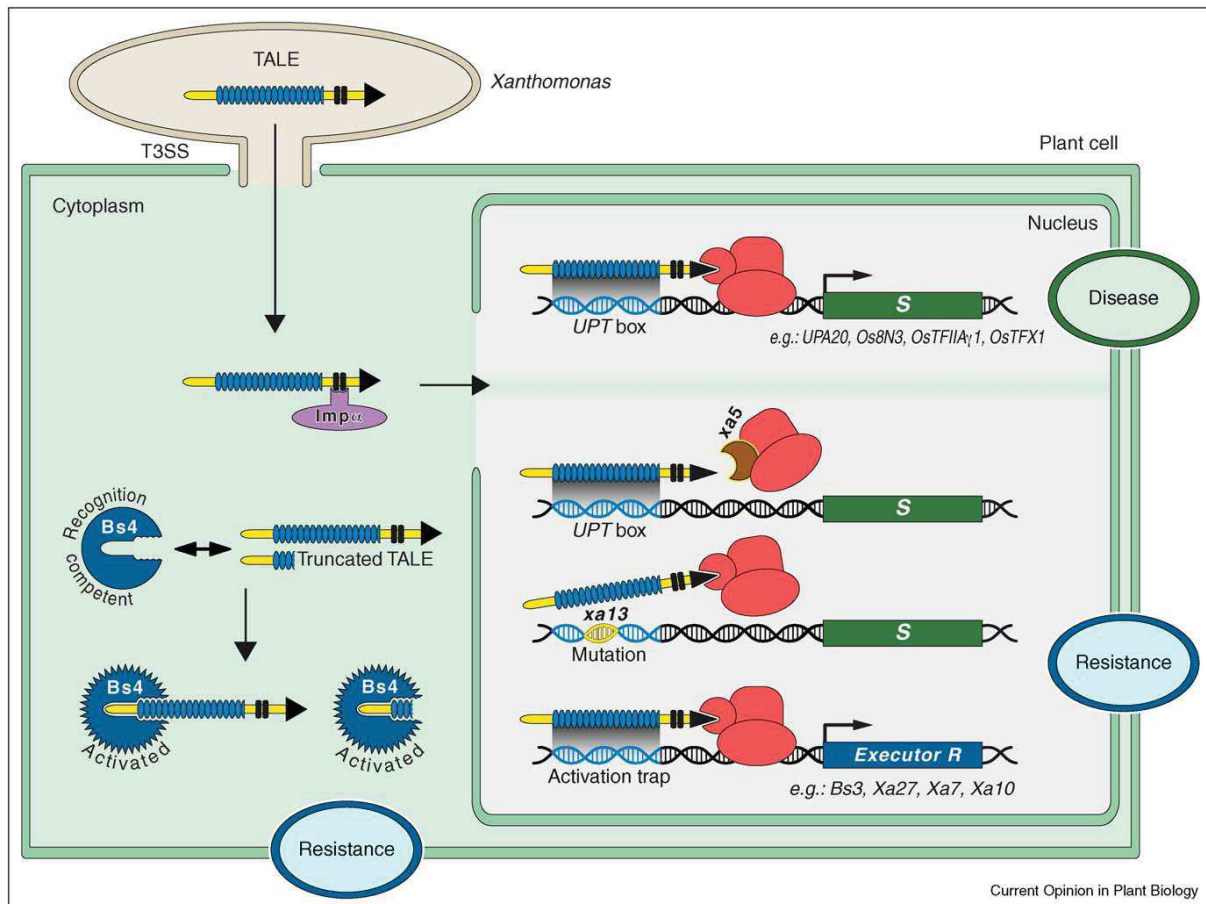


**Figure 10 :** Domaines fonctionnels des effecteurs *Xanthomonas* TAL.

(a) La région N-terminale contient le signal de translocation de type III. Le nombre de répétitions dans les effecteurs TAL varie entre 1,5 et 33,5. Le zéro répétitif prédit a une séquence d'acides aminés (aa) différente, mais contribue à la liaison à l'ADN et est indiqué par des lignes pointillées. NLS, signal de localisation nucléaire; AD, domaine d'activation. (b) Les 17,5 répétitions d'AvrBs3 sont classées en types de répétition selon les acides aminés 12 et 13 par répétition et affichées avec des couleurs spécifiques à la répétition. La boîte UPA consensus correspond aux types de répétition d'AvrBs3. (Boch & Bonas, 2010)

Les modèles quant au mode d'action des effecteurs TAL *in planta* proposent que ces effecteurs une fois injectés à l'intérieure de la cellule hôte (Figure 11), soient transloqués vers le noyau via le système d'import nucléaire de la cellule eucaryote, où les protéines TAL s'associent à des séquences précises au sein de promoteurs de gènes cibles dont ils induisent l'expression via le recrutement de la machinerie de transcription de l'hôte (Bogdanove et *al.*, 2010). Les gènes induits jouent donc potentiellement un rôle dans le développement de la maladie.

Dans le cas d'une interaction incompatible, les protéines TALs agissent aussi comme facteurs d'avirulence, via l'activation d'un gène qui confère la résistance du fait de sa toxicité pour la cellule (Boch & Bonas, 2010).



**Figure 11** : Mécanismes d'action des protéines TALs dans la cellule végétale : Sensibilité et Résistance.

À la suite de l'injection via le système de sécrétion de type III, les TALs interagissent avec l'importine  $\alpha$  ( $imp\alpha$ ) et sont transloqués vers le noyau où ils se lient aux boîtes UPT (upregulated by TAL) correspondantes et activent la transcription des gènes de sensibilité (S) correspondants tels que UPA20, Os8N3, OstFIIY1 ou OsTFX1 entraînant la maladie. L'activation des gènes S peut être supprimée soit du fait d'un manquement au recrutement du complexe ARN polymérase II ( $xa5$ ) ou du fait de mutations dans des boîtes UPT spécifiques ( $xa13$ ). Dans un contexte incompatible, les TALs peuvent être détectés dans le cytoplasme de l'hôte comme illustré par le cas de la protéine Bs4 de type NB-LRR chez la tomate, induisant la résistance. Les plantes ont aussi élaboré des pièges via l'activation de gènes de résistance, parmi lesquels les gènes R dits exécuteurs tels Xa27 ou Bs3, qui sont sous le contrôle transcriptionnel de boîtes UPT normalement localisées dans les promoteurs des gènes S. D'après Bogdanove *et al.* (2010).

## 2.3-Résistance des plantes

La résistance des plantes est fondée sur l'existence d'un répertoire de récepteurs reconnaissant de façon spécifique des signatures moléculaires des parasites. Les protéines codées par les gènes de résistance (gènes *R*) sont les sentinelles d'un système de surveillance mis en place par la cellule végétale pour lutter contre l'infection microbienne (Takken et *al.*, 2006) .

C'est ainsi que lorsqu'un parasite attaque une plante, il est dit *virulent* et la gravité des lésions subies par l'hôte mesure son *agressivité*. Considérons le comportement de races appartenant à la même espèce d'un agent pathogène donné. Deux situations sont possibles : (i) ou bien toutes les races sont virulentes sur toutes les variétés d'un hôte et la résistance de ces variétés ne se traduit que par des variations de l'agressivité du parasite, on parle de *résistance horizontale*, de nature *polygénique* (elle résulte de l'intervention de nombreux gènes); (ii) ou bien chaque race, n'est virulente que sur certaines variétés de l'hôte, mais avirulentes sur les autres, la résistance est alors différentielle, certaines variétés étant sensibles et d'autres immunes ou très faiblement attaquées, on parlera dans ce cas de *résistance verticale*, de nature *mono* ou *oligogénique*. Goujon (1971).

Dans la nature, les exemples de résistance uniquement horizontale sont fréquents. La résistance verticale s'accompagne toujours de résistance horizontale, car l'agressivité d'un parasite n'est jamais totale. *La résistance verticale est commandée par un gène relativement facile à introduire par croisement dans une variété d'intérêt et, de plus, elle se traduit par l'immunité ou l'hypersensibilité de la plante à l'égard du parasite*. Elle paraît donc, de prime abord, beaucoup plus intéressante que la résistance horizontale, souvent imparfaite et que le sélectionneur ne peut manier facilement en raison de son support polygénique (Goujon, 1971). Cependant, l'utilisation de formes de résistance verticale a fréquemment conduit à des désastres. Pour ne citer qu'un exemple, la variété de pomme de terre Kennebec protégée du *Phytophthora infestans* par le gène *R1* depuis 1948, devait s'avérer pleinement sensible au blight dès 1955 (Stevenson et *al.*, 1955). Il est apparu donc que le parasite est capable de s'adapter à son hôte comme l'affirmait Ward (1902).

### 2.3.1-Reconnaissance et déclenchement des réactions de défense

La reconnaissance des composants étrangers chez les plantes est coordonnée par des récepteurs spécialisés, qui déclenchent les réponses de défense de l'hôte après la détection de l'agent pathogène, elle implique une interaction physique entre des éliciteurs du pathogène et des protéines réceptrices de la plante (Jourdan, Ongena, & Thonart, 2008).



**Les éliciteurs** sont des molécules qui induisent les réactions de défense chez les plantes (Montesano et *al.*, 2003) , donc *tout composé, naturel ou de synthèse, capable d'activer les réactions de défense de la plante peut être qualifié d'éliciteur*. Les éliciteurs peuvent avoir une origine microbienne (éliciteurs exogènes : constituant des surfaces, ou molécules sécrétées), ou bien provenir de la dégradation de la paroi cellulaire végétale sous l'action des enzymes hydrolytiques du parasite (éliciteurs endogènes) (Garcia-Brugger et *al.*, 2006; Montesano et *al.*, 2003). Les éliciteurs ont des natures chimiques très variées : protéique, glucidique, glycoprotéique, lipidique...(Cazaux, 2009). Les PAMPs « Pathogen-Associated Molecular Pattern » ou « signaux/motifs moléculaires associés au pathogène » (ou MAMPs pour « Microbe-Associated Molecular Pattern), sont des molécules souvent indispensables à la pathogénicité et à la survie de l'agent pathogène, capables de déclencher des réactions de défense chez la plante. Les MAMPs appartiennent à différentes familles de composés chimiques (oligosaccharides, protéines) et comportent des domaines ou motifs très conservés, (Chen et *al.*, 2007; Segonzac et Zipfel, 2011). Certains MAMPs bien caractérisés sont endogènes tels que les oligogalacturonates issus de la dégradation de la paroi végétale par des enzymes de l'agent pathogène, ou bien exogènes tels que les lipopolysaccharides (LPS), le peptidoglycane, la flagelline et le facteur d'élongation EF-Tu.

Tel que schématiquement représenté dans le modèle en zigzag de co-évolution entre la plante et ses pathogènes (Figure 12), on considère qu'il existe essentiellement deux voies dans le système immunitaire des plantes (Jones & Dangl, 2006) ). En premier lieu, **la résistance basale (ou résistance passive)** est déclenchée par des récepteurs présents dans la membrane végétale capable de reconnaître des PAMPs (Ausubel, 2005; Chisholm et *al.*, 2006). On parle d'**immunité déclenchée par les PAMPs (PTI** – pour «PAMP-Triggered Immunity»). Ces éliciteurs généraux sont reconnues par des récepteurs de la plante hôte appelés PPRs «Patterns Recognition Receptors» appartenant à la classe des RLKs (pour «Receptor Like Kinase») et RLPs (pour «Receptor Like Proteins») (Altenbach & Robatzek, 2007).

Pour contourner la défense basale, les agents pathogènes ont développé des protéines effectrices ou facteurs de virulence qui sont délivrés dans la cellule hôte (Catanzariti et *al.*, 2007; Jones & Dangl, 2006). Il en résulte une sensibilité de la plante déclenchée par les effecteurs appelés ETS (pour «Effector Triggered Susceptibility») (figure 12 et 13). L'analyse de la séquence du génome de bactéries représentatives de l'ensemble des grands groupes de bactéries

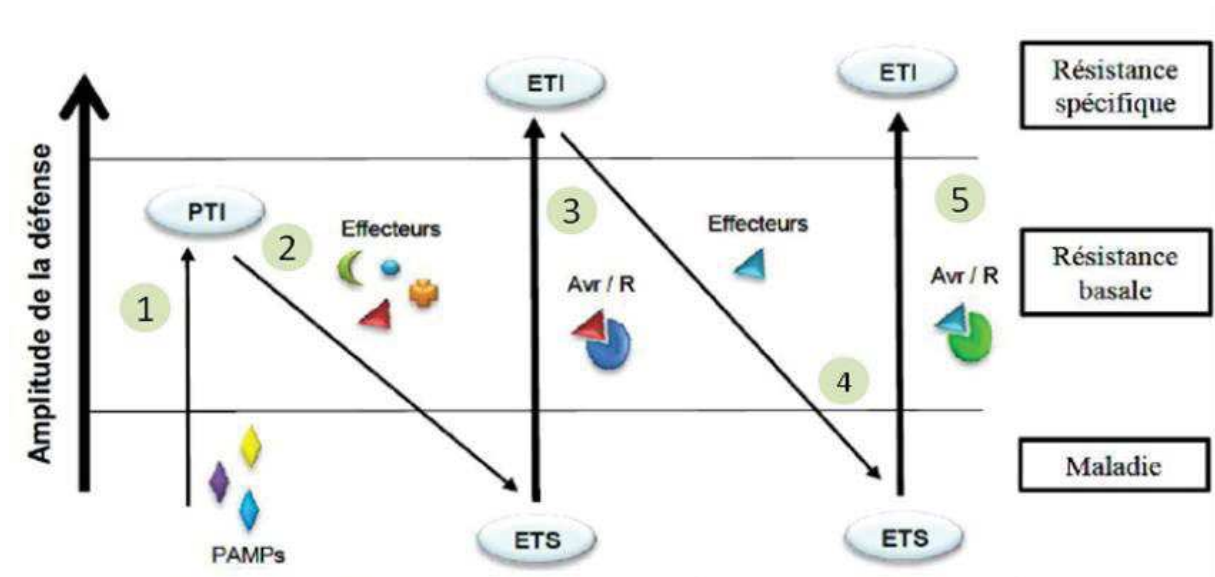
phytopathogènes (*Ralstonia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*) a permis d'établir le répertoire des effecteurs présents dans chacune d'entre elles et de montrer que c'est un cocktail de 10 à 80 protéines différentes qui peuvent être ainsi transloquées par un seul et même organisme (Boucher & Genin, 2008). Il a par ailleurs été établi que ce répertoire était variable non seulement entre espèces, mais aussi au sein des souches d'une même espèce (Block et al., 2008). L'analyse fonctionnelle de certains de ces effecteurs a par la suite démontré leur intervention directe dans le contrôle de la spécificité parasitaire et/ou dans la pathogénie, notamment par le biais de leur capacité à inhiber la mise en place des défenses basales (Block et al., 2008).

Dans l'étape suivante du cycle évolutif, les plantes ont indirectement acquis des moyens pour reconnaître et ainsi neutraliser l'action de ces protéines effectrices, en répondant à l'attaque par le biais d'un mécanisme de défense robuste et rapide. Ce deuxième front de défense est appelé **l'immunité déclenchée par des effecteurs (ETI)** – pour «Effector-Triggered Immunity») et est majoritairement régulé par des protéines de type NB-LRR (« Nucleotide Binding-Leucine-Rich Repeat ») codées par des gènes de résistance. L'ETI répond au concept de reconnaissance « gène pour gène » qui postule que la résistance de la plante dépend de l'interaction entre le produit d'un gène du parasite et le produit d'un gène de la plante. Le système de résistance serait déterminé chez la plante par la présence d'un gène de résistance (gène R) qui, directement ou indirectement, participerait à la reconnaissance du produit d'un gène d'avirulence (gène avr) du parasite (Flor, 1971; Vanderplank, 1984). Si toutefois l'un des deux partenaires ne possède pas de gène de résistance ou le facteur d'avirulence respectif, il n'y aura pas de reconnaissance et l'hôte ne pourra pas réagir pour éviter la colonisation de ses tissus, où se déroulera la maladie (Schumann & D'arcy, 2010).

Lors de l'ETI, la plante met en place une réaction de défense plus efficace via la détection spécifique de certaines races de l'agent pathogène (Jones & Dangl, 2006). Ainsi deux stratégies évolutives principales peuvent être à l'oeuvre chez les agents pathogènes :

-La première vise l'élimination, le masquage ou l'inactivation du gène codant pour le déterminant reconnu par la protéine de résistance végétale, ce qui aura pour conséquence de restaurer la sensibilité de la plante.

-La seconde stratégie opère dans certaines populations d'agents pathogènes afin de développer de nouveaux effecteurs capables d'agir spécifiquement comme « supprimeurs » de l'ETI. Tous ces mécanismes sont sous l'effet de la sélection naturelle qui conduit les agents pathogènes à éviter l'ETI, aboutissant ainsi à un nouveau phénomène d'ETS.



**Figure 12 :** Modèle en zig-zag lors de l'interaction plante/agent pathogène (Schéma de modélisation en zig-zag de l'amplitude finale du phénotype de résistance ou de sensibilité suivant l'évolution des interactions entre une plante hôte et un agent pathogène).

(1) La cellule végétale reconnaît les PAMPs et induit la voie PTI. (2) Les bactéries pathogènes sont capables de contourner le PTI en injectant des protéines effectrices, résultant en une sensibilité accrue, nommée ETS. (3) Un effecteur peut être reconnu par une protéine de résistance en induisant l'ETI. (4) Certaines populations de l'agent pathogène acquièrent un nouvel effecteur permettant de bloquer la voie ETI. (5) Certaines plantes possèdent des protéines capables de reconnaître un des nouveaux effecteurs acquis par l'agent pathogène induisant la voie ETI. (Jones & Dangl, 2006).

**De façon détaillée de gauche à droite :** dès que la colonisation débute, les PAMP du parasite sont reconnus par la plante, permettant le développement d'une résistance basale qui peut retarder l'avancée de l'agent pathogène. Dans une première phase, les agents pathogènes déploient des effecteurs de virulence qui leur permettent de surmonter la résistance basale. On parle d'ETS (pour « effector triggered susceptibility »). Dans une deuxième phase, un effecteur donné (en rouge, Avr) est spécifiquement reconnu par une protéine R et cette reconnaissance permet le développement d'un niveau élevé de résistance, associé à une réaction d'hypersensibilité (HR). On parle alors d'ETI (pour « effector triggered immunity »). Dans une troisième phase, les agents pathogènes parviennent à contourner l'ETI en produisant de nouveaux effecteurs qui ne seront pas reconnus par la première protéine R, et la plante redevient sensible. Enfin, de nouvelles spécificités de reconnaissance via les protéines R sont alors sélectionnées chez la plante, de manière à permettre à nouveau le développement d'une résistance de type ETI. D'après Jones & Dangl (2006) dans Wonni (2013).

### 2.3.2-Mécanismes de défense constitutive et induite

Il existe deux mécanismes de défense : (i) la défense constitutive ou passive et (ii) la défense induite ou active.

-La **défense constitutive** connue comme innée, basale ou passive est la première ligne de défense contre tous les agents pathogènes potentiels. Comme vue précédemment, elle est basée sur la reconnaissance des PAMP (PTI) pour restreindre le développement du pathogène ou le tuer (de Wit, 2007; Jones & Dangl, 2006) (Figure 13).

Les plantes ont une variété de défenses constitutives structurales et biochimiques contribuant à l'incapacité de la plupart des micro-organismes à infecter les plantes. Les défenses constitutives structurales comprennent des composantes familières des plantes : écorce, écailles des bourgeons, collenchyme, trichomes denses (poils), sclérenchyme, couches externes suberisées des bulbes, tubercules, cuticule cireuse, etc... Quant à la défense constitutive chimique, elle se manifeste notamment par la production de glucosides cyanogéniques, glucosides phénoliques, proinhibitines, métabolites secondaires, etc... On peut citer la caféine, la nicotine, la cocaïne. (Schumann & D'arcy, 2010).

Des défenses structurales peuvent se développer au niveau cellulaire ou tissulaire, comme les couches d'abscission, couches de liège, gencives ou résines, papilles de callose, tics et/ou lignification des parois cellulaires, tyloses. Quant aux défenses biochimiques, elles comprennent un éventail de protéines liées à la pathogénèse (PR), en particulier des enzymes (chitinases, gluconases, protéases) et des phytoalexines (composés antimicrobiens, induits par les micro-organismes, les herbivores, les insectes, les blessures et certains produits chimiques). Le terme phytoalexine est un terme grec signifiant "protecteur de plante", spécifique à la plante, mais actif contre un large éventail d'organismes (Schumann & D'Arcy, 2010).

-Les **défenses induites** sont produites avant que les symptômes ne soient observés. C'est après le premier niveau de résistance non-hôte, associé à des défenses passives que les autres niveaux de résistance associés à la défense induite ou active sont mis en œuvre. Les défenses induites se caractérisent par une reconnaissance initiale entre la plante et l'agent pathogène qui peut être générale ou spécifique. Il s'en suit une activation de cascades de signaux conduisant à l'induction des gènes de défense et à la synthèse de plusieurs protéines et autres molécules qui créent un environnement défavorable à l'invasion du parasite (Cazaux, 2009).

### 2.3.2.1-La Réaction d'Hypersensibilité (HR)

La résistance active aux agents pathogènes de type ETI se traduit par une réaction d'hypersensibilité (HR). La HR est associée d'une part, à un processus de mort cellulaire programmée rapide et localisée permettant de circonscrire l'agent pathogène au niveau du site d'infection, et d'autre part, à la stimulation de gènes de défense dans la zone infectée, puis au niveau de la plante entière (Ramiro, 2009). L'élimination des cellules en contact de l'agent pathogène permet à la plante de se protéger contre l'agresseur en créant une barrière physique qui limite l'accès aux ressources nutritionnelles nécessaires au développement du parasite (Greenberg & Yao, 2004). La génération des signaux qui seront transmis à l'ensemble de la plante permettra une réponse plus efficace face à une nouvelle agression en potentialisant les moyens de défense de la plante ou en activant ces mécanismes de défense préventifs (Heath, 2000).

La HR est observée lorsque l'agent pathogène est reconnu spécifiquement et précocement par la plante (Tameling & Takken, 2008). Suite à la reconnaissance spécifique du parasite, de nombreux composants de cascades de signalisation sont activés, et une intense reprogrammation transcriptionnelle au sein des cellules végétales a rapidement lieu (de Torres-Zabala *et al.*, 2007; Yevtushenko, 2019). Des événements cellulaires clés de la HR ont ainsi été identifiés, parmi lesquels *la production de formes réactives de l'oxygène (ROS)*, *la modification des flux ioniques* et *l'activation de cascades de signalisation via des MAP kinases* pour aboutir in fine à *la mort cellulaire et à l'activation de gènes de défense* (Heath, 2000). L'intervention de phytohormones telles que l'acide abscissique, l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène est aussi une des caractéristiques importantes des voies de signalisation de la résistance (de Torres-Zabala *et al.*, 2007; Durrant & Dong, 2004; Fujita *et al.*, 2006).

La HR, en plus de son rôle de confinement de l'agent pathogène, est une source de signaux secondaires permettant l'induction et le maintien d'un état de résistance de la plante contre un large spectre de microorganismes (Durrant & Dong, 2004).

Cependant, même si la HR est performante contre un grand nombre d'agresseurs, elle peut dans certains cas être moins efficace. La mort des cellules lors d'une attaque par un agent pathogène nécrotrophe, peut en effet faciliter le développement de la maladie (Govrin & Levine, 2000). Comme précisé précédemment, aucune résistance de type HR n'a en effet été établie à ce jour vis-à-vis d'un agent pathogène nécrotrophe (Glazebrook, 2005; Zhu & Saltzgeber, 2020).

### **2.3.2.2-Production de formes réactives de l'oxygène**

La production transitoire des espèces réactives de l'oxygène (ROS pour « reactive oxygen species ») constitue une des réponses les plus précoces suivant la reconnaissance gène-pour-gène d'un agent pathogène par la plante. Ces formes activées de l'oxygène sont produites dans les premières minutes, voire quelques heures, après l'élicitation. Elles sont constituées essentiellement du radical superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), du radical hydroxyle (OH) et du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Torres et *al.*, 2006). L'accumulation importante de ces molécules, communément appelée "burst oxydatif", est souvent corrélée au contrôle de la prolifération cellulaire et de la mort cellulaire, au développement des plantes et à l'induction des réponses de défense (Apel & Hirt, 2004). Dans le cas de la réponse à des agents pathogènes, les ROS jouent un rôle à la fois de composés antimicrobiens, dans le renforcement de la paroi cellulaire et dans la signalisation (Gechev & Hille, 2005).

### **2.3.2.3-Les protéines de défense végétale**

Les protéines PR (« Pathogenesis Related ») ont à l'origine été définies comme des protéines s'accumulant à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules végétales suite à une interaction avec le pathogène (Hammond-Kosack & Jones, 1996). Toutefois, le terme a été étendu à d'autres protéines également impliquées dans les mécanismes de défense, mais exprimées de façon constitutive, comme la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) ou la lipoxygénase (LOX) (van Loon et *al.*, 2006).

La synthèse de protéines de défense fait partie des réponses biochimiques que les plantes ont développées pour lutter contre leurs ennemis naturels et contre les stress environnementaux. Les protéines PR représentent un ensemble de protéines dont la production est fortement induite lors de l'infection ou dans des situations similaires (van Loon et *al.*, 2006). elles ont été identifiées chez des plantes mono et dicotylédones appartenant à au moins 13 familles végétales (van Loon et *al.*, 2006). L'accumulation de ces protéines a été observée après infection par des oomycètes, champignons, virus, bactéries et aussi après l'attaque par des insectes et nématodes (van Loon et *al.*, 2006). Cependant, les PRs sont aussi activées en réponse à des situations de stress, telles que les variations d'hydratation, de salinité et de stress thermique, et sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques chez les plantes (Marković-Housley et *al.*, 2003; Seki, Kamei et *al.*, 2003; van Loon et *al.*, 2006) ce qui suggère un rôle de ces protéines dans des situations autres que la défense contre les agresseurs.

Les protéines PR se divisent en 17 familles selon leurs séquences d'acides aminés et, lorsqu'elles sont caractérisées, leurs fonctions ou propriétés biologiques. (Ramiro, 2009).

de type TAL (Wonni, 2013). En fonction de leur structure modulaire, on distingue différentes classes de protéines de résistance (Tableau 3).

**Tableau 3** : Classes importantes de protéines de résistance

Classe	Identités	Rôles, mode d'actions	Références
1	<b>Les protéines NB-LRR:</b>	La très grande majorité des gènes de résistance code pour des protéines cytoplasmiques, possédant un domaine de type NBS (pour «Nucléotide-Binding-Site») impliqué dans la fixation ou l'hydrolyse de nucléotides, et un domaine de type LRR (pour «Leucine-Rich Repeat») composé d'un enchainement de motifs riches en leucine et impliqué dans les interactions protéine-protéine	<b>Collier SM, 2009; Eitas &amp; Dangl, 2010</b>
2	<b>LRR extracellulaire (eLRR)</b>	Correspond aux protéines constituées d'un domaine LRR extracellulaire (eLRR) et d'un court domaine transmembranaire (TM). Les représentants les plus connus de cette classe sont les protéines Cf-2, Cf-4 et Cf-9 de tomate impliquée dans l'interaction avec les effecteurs Avr2, Avr4 et Avr9 du champignon phytopathogène <i>C. fulvum</i>	<b>Collier SM, 2009; Eitas &amp; Dangl, 2010</b>
3	<b>Pto</b>	Possède un domaine sérine thréonine kinase intracellulaire. Pto est une protéine kinase présente chez la tomate qui a été initialement considérée comme la protéine de résistance correspondant à la protéine d'avorulence AvrPto sécrétée par <i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> . En effet, Pto est une protéine prenant part à la reconnaissance d'AvrPto orchestrée par la véritable protéine de résistance appelée Prf qui est une protéine de type NBS-LRR	<b>Century et al., 1999; Dardick &amp; Ronald, 2006; Martin et al., 2003; Mucyn et al., 2006</b>
4	<b>Xa21</b>	Est impliquée dans l'interaction entre le riz et <i>X. oryzae</i> . Elle appartient à une grande famille de gènes conservés chez les plantes et chez les animaux et impliqués dans la reconnaissance d'agents pathogènes et dans l'immunité innée. Sa fonction est contrôlée au cours du développement, mais pas son expression	<b>Song et al., 1997</b>
5	<b>domaines PEST &amp; REM</b>	Représentée par des protéines qui possèdent des structures uniques tels que les domaines PEST (pour «Pro-Glu-Ser-Tyr») et REM (pour «Receptor-Mediated Endocytosis») parmi lesquelles les protéines Ve1 et Ve2 chez la tomate. Le domaine PEST est impliqué dans la dégradation des protéines et le domaine REM impliqué dans l'endocytose couplée à un récepteur	<b>Martin et al., 2003</b>



### **2.3.2.3-Les protéines de résistance**

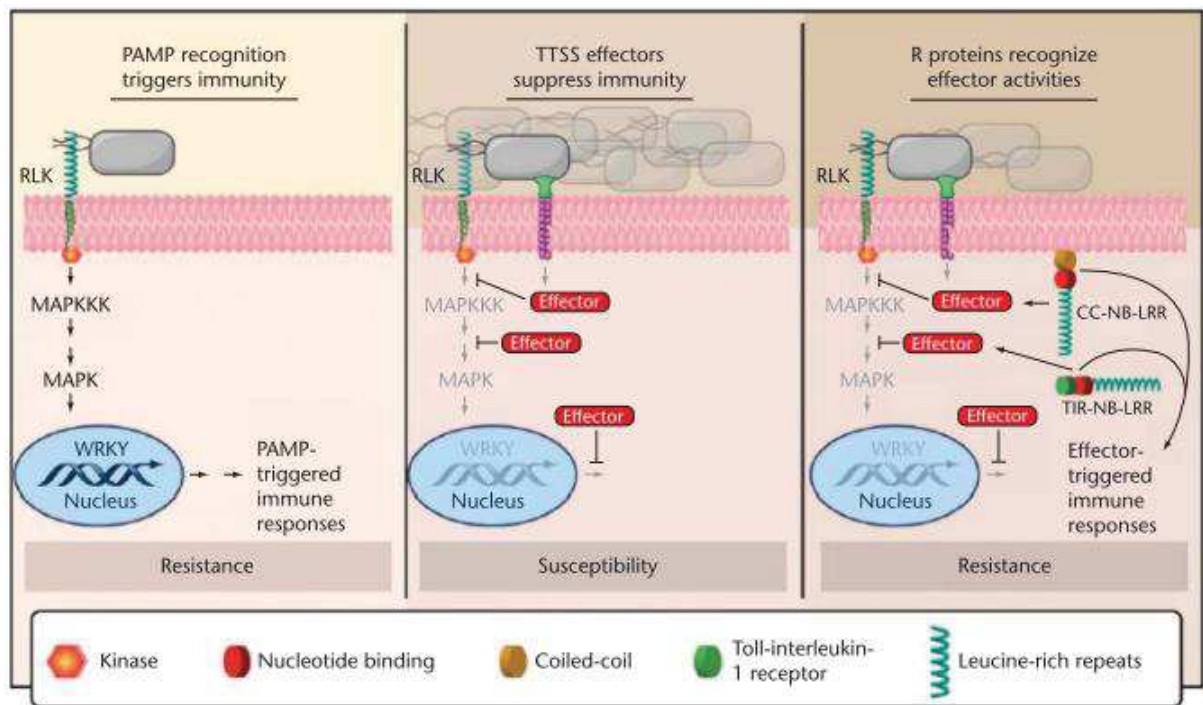
De nos jours, de nombreux gènes de résistance ont été clonés et caractérisés chez différents cultivars végétaux comme *Arabidopsis*, le lin, la tomate, le tabac, le riz, etc... En général, l'analyse de ces gènes montre qu'ils codent pour des protéines présentant des motifs structuraux communs à l'exception des gènes de résistance impliqués dans la reconnaissance des effecteurs de type TAL (Wonni, 2013). En fonction de leur structure modulaire, on distingue différentes classes de protéines de résistance (Tableau 3).

Des effecteurs de microbes pathogènes appartenant à différents règnes (bactéries, champignons, nématodes) sont reconnus par des protéines NB-LRR, et activent des réponses de défense semblables. La résistance de type ETI, basée sur les protéines NB-LRR, est efficace contre les microbes biotrophes, ou hemibiotrophes, mais pas contre les nécrotrophes qui dégradent les tissus de la plante et empêchent donc toute réponse locale de résistance.

### **2.3.3-Types de résistance**

#### **2.3.3.1-La résistance locale acquise ou LAR :**

La LAR (pour «Local Acquired Resistance» /Résistance locale acquise) est induite par les cellules en état de mort via la transmission de signaux vers les cellules voisines situées en marge de la zone nécrotique (Dorey et *al.*, 1998). Cette zone voit la mise en place d'une résistance très forte associée à l'accumulation de molécules antimicrobiennes (saponines, flavonoïdes, anthocyanines, coumarines, phytoalexines) et des protéines PR (pour «Pathogenesis-Related») (Cordelier et *al.*, 2003). La progression de l'agent pathogène est bloquée par les cellules voisines en marge de la zone nécrotique qui mettent également en place des barrières physiques et chimiques aboutissant au renforcement et épaissement des parois. La LAR est considérée comme une étape de résistance intermédiaire entre la HR et la résistance systémique acquise. (Wonni, 2013)



**Figure 13 :** Modèle pour l'évolution de la résistance bactérienne des plantes.

De gauche à droite, la reconnaissance du modèle moléculaire associé au pathogène (PAMP) déclenche l'immunité basale, ce qui nécessite une signalisation via des cascades de MAP kinase et une reprogrammation transcriptionnelle médiée par des facteurs de transcription végétaux. Dans une deuxième étape de la coévolution, un cocktail de protéines effectrices est produit et délivré dans les cellules végétales via le système de sécrétion de type III. Les effecteurs ciblent plusieurs protéines hôtes pour supprimer les réponses immunitaires basales. Dans une troisième étape de coévolution, les protéines de résistance des plantes (CC-NB-LRR et TIR-NB-LRR ici) détectent l'activité effectrice ou la présence de la protéine effectrice, et rétablissent la résistance par une réponse immunitaire déclenchée par l'effecteur. (Rouxel & Balesdent (2010)).

### 2.3.3.2-La résistance systémique acquise ou SAR

La SAR (pour "Systemic Acquired Resistance"/Résistance systémique acquise), cette résistance induite se produit lorsque l'infection déclenche des réactions de défense dans les cellules et les tissus qui n'ont pas encore été infectés. Elle est liée à la capacité de la plante à détecter l'invasion et à provoquer la mort d'une ou de quelques cellules au point d'infection, connue sous le nom de réponse hypersensible (HR). La SAR se produit dans les tissus éloignés et la nouvelle croissance après une HR ou un contact avec un pathogène ; elle peut être déclenchée par une variété d'agents pathogènes et certains produits chimiques. La résistance systémique induite (ISR) est une réponse similaire qui peut être déclenchée par des bactéries de la rhizosphère (Jourdan et *al.*, 2008), elle est donc similaire à la SAR, mais induite par des agents non pathogènes tels que les rhizobactéries, par conséquent les protéines liées à la pathogénèse antimicrobienne (PR) ne sont pas produites (Schumann & D'arcy, 2010).

La SAR est induite par un pathogène déclenchant la HR et la production de certains produits chimiques tels que les protéines liées à la pathogénèse (PR). Le signal est envoyé aux tissus distants pour activer les défenses (peut impliquer l'acide salicylique, l'acide jasmonique, les peroxydases, l'éthylène). En conséquence les tissus éloignés sont protégés contre une variété d'agents pathogènes et même d'insectes.

La HR s'accompagne de la production de messagers secondaires tels que l'acide salicylique (SA), l'acide jasmonique (JA), l'éthylène (ET) et le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Au niveau moléculaire, la SAR est aussi caractérisée par l'activation de gènes codant pour des protéines PR qui sont souvent considérées comme marqueurs de cette résistance (Fu et Dong, 2013). La SAR peut ainsi protéger les différents organes de la plante tels que la tige, les feuilles voire même les fleurs ou les fruits contre une attaque ultérieure par un autre agent phytopathogène. Son activité protectrice peut durer plusieurs semaines après le premier contact entre la plante et l'agent pathogène (Fu et Dong, 2013; van Loon et *al.*, 2006). Au niveau du signal impliqué dans la SAR, il est ainsi communément admis que cette résistance dépend majoritairement de l'accumulation l'acide salicylique (SA) aussi bien au niveau local qu'au niveau systémique (Métraux et *al.*, 2002; Nawrath et *al.*, 2006). En revanche, d'autres études (Park et *al.*, 2007; Pokotylo et Kravets, 2019; Vlot et *al.*, 2008) suggèrent que le méthyl salicylate serait impliqué dans l'induction de la SAR.

---

### **Partie 3 - Le modèle d'étude : Le pathosystème *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* et son impact sur la culture du manioc (*Manihot esculenta* L. Crantz)**

---

De nos jours face aux changements globaux et notamment au réchauffement climatique, cette plante à multiplication végétative qu'est le manioc (*Manihot esculenta*) présente des caractères de résilience qui pourraient encore accroître son importance pour la sécurité alimentaire des pays tropicaux (Vernier et al., 2018). C'est particulièrement le cas dans des régions à condition climatique difficile comme la moitié du territoire malien, pays dans lequel beaucoup d'efforts sont faits pour privilégier ce type de cultures dites résilientes.

Le manioc comme d'autres plantes cultivées à racines et tubercules (pomme de terre et igname notamment) apparaît bien adapté aux changements climatiques attendus grâce à sa résistance à la sécheresse et aux températures élevées. Cependant, sa sensibilité aux ravageurs et aux maladies dans un climat changeant pourrait affecter sa productivité et son aire de culture si ces contraintes ne sont pas maîtrisées (Campos & Ortiz, 2019). Il est donc nécessaire d'augmenter l'effort de recherche sur cette culture pour comprendre les effets du climat sur la dynamique des différents bioagresseurs y compris en ce qui concerne leur propre adaptation encore mal comprise à ces phénomènes climatiques, afin de pouvoir proposer des stratégies de lutte intégrée, efficaces et non dommageables pour l'environnement et la santé (Vernier et al., 2018). Aujourd'hui, cette culture fait face à des risques sanitaires inquiétants en raison de l'émergence de nouvelles souches de bioagresseurs qui menacent sa pérennité. Cette situation justifie qu'on apporte un intérêt accru à l'étude des populations pathogènes responsables en actualisant les données qui y sont liées. Parmi ces bioagresseurs du manioc, la maladie bactérienne la plus importante est la bactériose vasculaire du manioc (« Cassava Bacterial Blight », CBB) (Lozano, 1986). Se trouvant dans toutes la ceinture intertropicale cette maladie peut affecter toutes les parties de la plante : feuille, pétiole, tiges, jusqu'à la mort de la plante entière. Elle est provoquée par *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) (Constantin et al., 2016), une bactérie du genre *Xanthomonas* qui comprend un ensemble d'espèces phytopathogènes affectant une large diversité d'espèces végétales (Poulin, 2014).

Face à cette contrainte phytoparasitaire majeure qu'est la CBB, la meilleure des mesures de contrôle de cette maladie est l'épidémiologie-surveillance, la prévention, associée aux bonnes pratiques culturales et la sélection de variétés de manioc résistantes. Pour optimiser ces

approches, une bonne connaissance du pathogène dans son aire d'évolution est très utile. En effet une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires de pathogénicité de *Xpm* est nécessaire pour un contrôle efficace de cette maladie principalement basé sur la gestion de variétés peu sensibles et du matériel végétal (Begue, 2017). Toutefois dans certaines zones de production comme c'est le cas du Mali, beaucoup de détails sur l'hôte et surtout les populations pathogènes l'affectant comme *Xpm* restent méconnues. De plus, la connaissance des déterminants sur le développement de la maladie est limitée.

De fait, l'absence d'information sur le statut actuel de la CBB au Mali et donc sur la structure génétique de la population de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* témoigne de la nécessité de l'urgence de développer des recherches afin d'y mettre en place des mesures de prévention et de contrôle de la maladie.

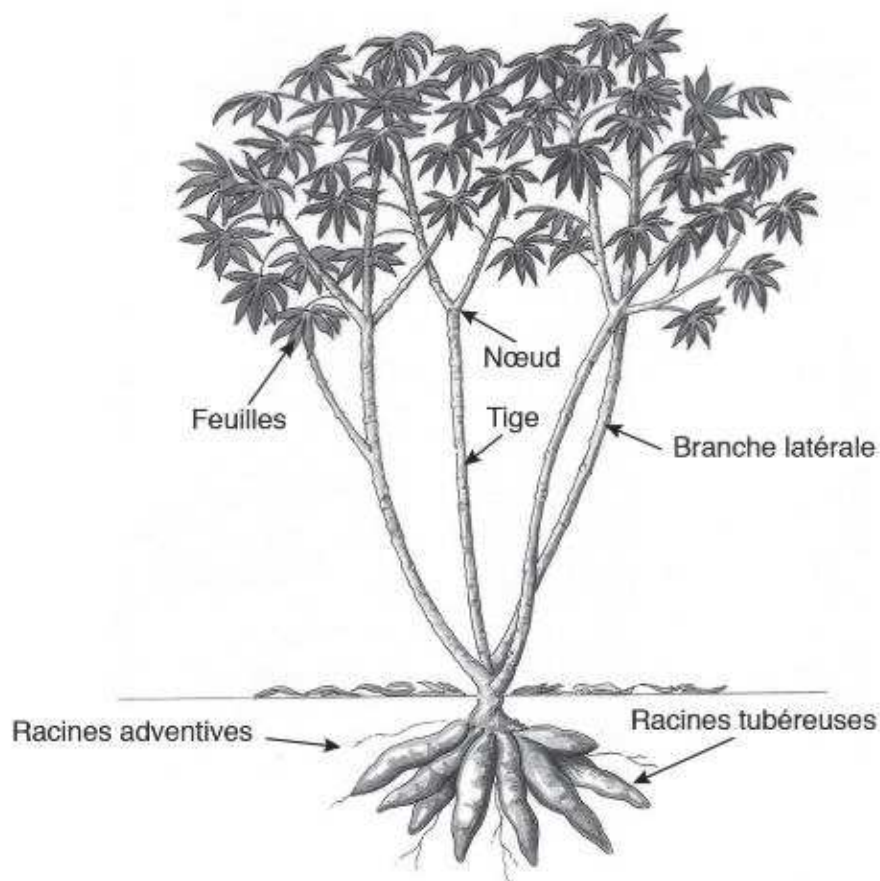
### **3.1-Le manioc**

Le manioc est une plante à tubercule également nommé Cassava (anglais), Yuca (espagnol), Banankou (Malinké) entre autres, qui est essentiellement produite dans toute la ceinture intertropicale pour ses tubercules riches en amidon et ses feuilles riches en protéines. De son nom scientifique *Manihot esculenta* «L. Crantz», il est l'une des cultures vivrières les plus cultivées et les plus consommées dans de nombreuses régions du monde (Kouakou et al., 2015).

#### **Systématique/Taxonomie**

Le genre *Manihot* comprend plus de 200 espèces. Il appartient à l'embranchement des plantes Dicotylédones et à la famille des Euphorbiaceae. La seule espèce cultivée du genre *Manihot* est *M. esculenta*. Plusieurs synonymes existent dont *M. utilissima* Pohl, *M. dulcis* Pax, *M. melanobasis* Mueller, *M. aipi* Pohl, *M. flexuosa* Pax, etc. (Vernier et al., 2018).

La nomenclature (appellation scientifique) du manioc a évolué dans le temps. En effet le nom scientifique du manioc a été donné à l'origine par Crantz en 1766. Par la suite, il a été classé en deux espèces différentes (Pohl, 1927 et Pax, 1910), selon qu'il s'agisse du manioc amer *M. utilissima* ou doux *M. aipi*. Enfin, il a été proposé de diviser l'espèce *M. esculenta* en trois sous-espèces : *M. esculenta*, *M. flabellifolia* et *M. peruviana*.



**Figure 14** : Les différentes parties d'un plant de manioc.

(Vernier *et al.*, 2018)

**Encadré 1** : Classification systématique du manioc (Synthèse de Allem, (1994); Rogers (1963))

Règne.....	Plantae
Embranchement.....	Magnoliophyta
Class.....	Magnoliopsida
Ordre.....	Euphorbiales
Famille.....	Euphorbiaceae
Genre.....	<i>Manihot</i>
Espèce.....	<i>Manihot esculenta</i> Crantz

Les tiges sont essentiellement importantes parce qu'elles sont les moyens de multiplication qui s'utilisent pour de nouvelles cultures. Les feuilles sont simples, alternes et caduques. Elles sont constituées de limbes mesurant de 10 à 20 cm de long et sont rattachées à la tige par des pétioles qui mesurent de 1 à 30 cm. Les limbes sont multilobés (3 à 9 lobes). Les pétioles ont une coloration verte, rouge ou bicolore (Fukuda *et al.*, 2010).

Il est supposé que ces deux dernières sous-espèces sont des formes sauvages de la version cultivée *Manihot* sous-espèce *esculenta esculenta* (Suárez & Mederos, 2011).

### **3.1.1-Morphologie de la plante de manioc**

La plante de Manioc est un arbuste de 1 à 4 mètres de hauteur environ (Figure 14), caractérisée par deux parties bien différenciées (une partie aérienne et une autre souterraine), qui sont très importantes du point de vue de la production agricole. (Howeler et *al.*, 2013).

La partie aérienne est constituée principalement par la tige, qui comprend une succession d'entre-nœuds disposés de manière linéaire ou en ligne brisée. Les nœuds sont le point d'insertion des feuilles et abritent les bourgeons.

### **3.1.2-Conditions optimales de développement de la culture du manioc**

Le manioc est rencontré entre les latitudes 30 Nord et Sud, sa distribution géographique actuelle concerne toute la ceinture intertropicale. Les conditions les plus favorables se rencontrant jusqu'au 15<sup>e</sup> parallèle, en zone équatoriale où il peut être cultivé jusqu'à 2000 m d'altitude, il ne tolère pas les inondations, ni le gel. La température optimale de croissance se situe entre 25 et 30 °C, mais il peut supporter des températures allant jusqu'à 12°C (Oppong-Apene, 2013). Le manioc est majoritairement cultivé dans les zones de faible altitude (Vernier et *al.*, 2018). Le manioc supporte également les périodes de sécheresse prolongées pourvu qu'il reçoive suffisamment d'eau pendant les trois premiers mois de plantation (Koffi et *al.*, 2015).

Le manioc est relativement plastique quant aux conditions édaphiques. Il est peu exigeant en ce qui concerne le sol et peut même pousser sur des sols pauvres en éléments nutritifs, voir acides qui sont souvent défavorables à d'autres cultures (Howeler et *al.*, 2013). Le manioc est considéré comme tolérant aux sols acides (jusqu'à pH 4) ou légèrement basiques, avec une préférence pour des sols faiblement acides (pH 5,5). On le rencontre sur pratiquement tous types de sols, ferrallitiques, ferrugineux, alluvionnaires ou tourbeux. Malgré sa plasticité, la culture de manioc répond très bien aux conditions de bonne fertilité avec des rendements qui peuvent dépasser les 60 t/ha dans des sols riches ou avec une fertilisation suffisante (FAO, 2013). En revanche, il est sensible aux sols hydromorphes et supporte mal l'excès d'eau dans le sol (El-Sharkawy, 2007).

Cette adaptation à un large éventail de milieux (toute la zone intertropicale jusqu'à des régions plus sèches où sa production progresse), en présentant une bonne tolérance au stress hydrique et à l'acidité des sols tout en générant des rendements satisfaisants même sur des terres pauvres et marginalisées, fait de lui une des cultures les plus adaptées au changement climatique (Howeler et *al.*, 2013, Jarvis et *al.*, 2012).

### **3.1.3-Origine et distribution du manioc**

Connu dès la plus haute antiquité en Amérique et importé au XVe siècle par les Portugais dans le continent africain (Hubert & Dupres, 1910), le manioc et ses espèces sauvages apparentées trouvent leurs origines en Amérique centrale et du Sud, plus particulièrement au sud-ouest du bassin amazonien selon plusieurs sources (Howeler et *al.*, 2013; Kouakou et *al.*, 2015; Olsen, 2004).

Il est aujourd'hui largement cultivé et récolté dans les régions tropicales et subtropicales comme plante annuelle qui se multiplie par bouture de tiges (FAO, 2013). Il a été domestiqué par les peuples amazoniens indigènes grâce à la culture de l'ancêtre sauvage *M. esculenta* ssp. *flabellifolia* et est maintenant cultivé dans les régions tropicales à travers le monde (Olsen & Schaal, 1999).

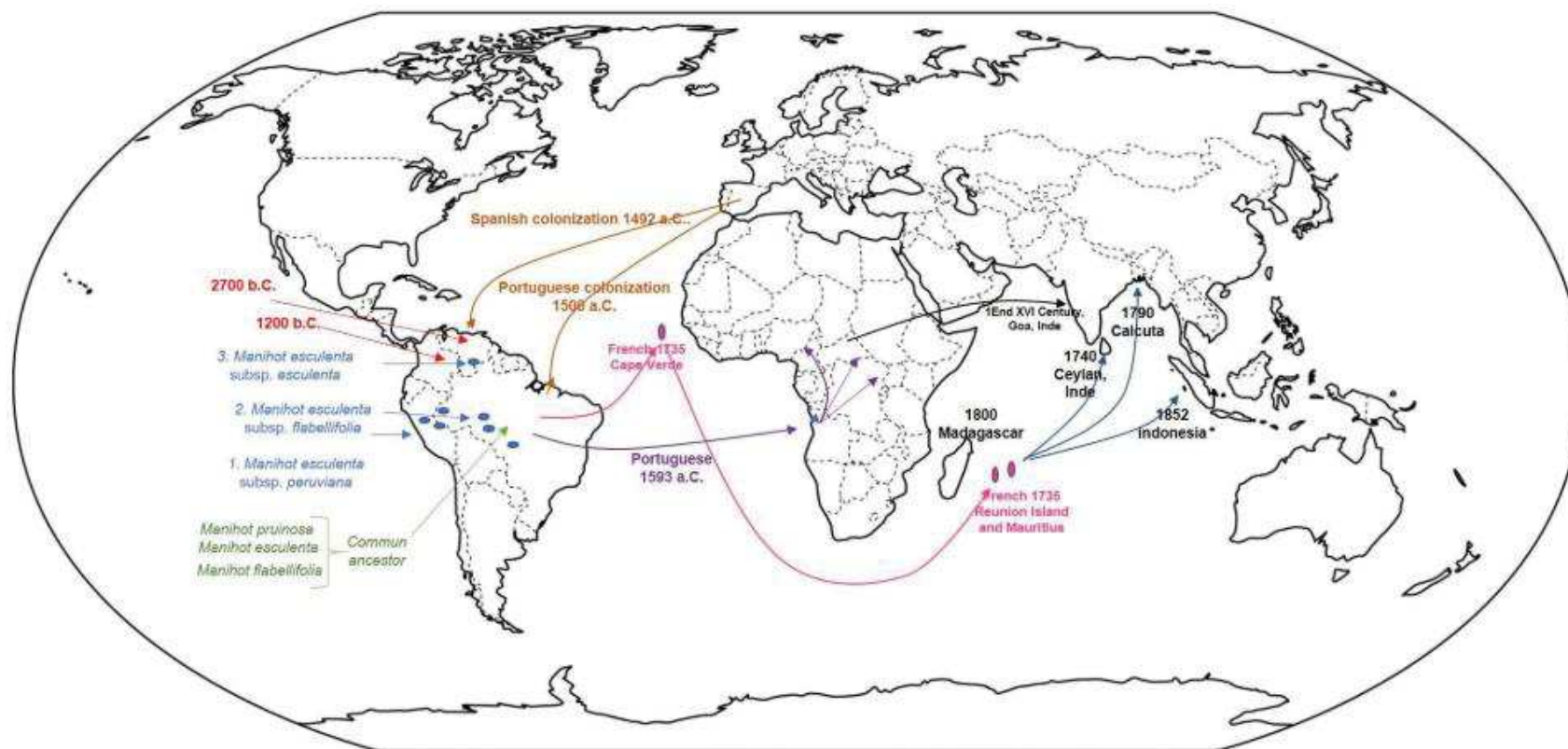
Son expansion de sa région d'origine à l'ensemble des autres régions de la ceinture tropicale s'est essentiellement faite par le biais de voyages. C'est ainsi que la culture fut importée par le biais de voyageurs étrangers comme les négriers portugais sur la côte de l'Afrique occidentale au XVIe siècle, à Sao Tomé et à Fernando Poo à la faveur des conquêtes espagnoles et portugaises, puis au Congo autour des années 1550 (Guthrie, 1990). A partir du XVIIIe siècle, le manioc a été propagé sur la côte de l'Afrique de l'Est, à Madagascar, sur l'Ile de la Réunion, à Zanzibar pour être considérablement diffusé au XIXe siècle à travers tout le continent Africain. Selon Were (2001), c'est par les chemins de nouvelles colonisations que le manioc a atteint l'Asie (Inde, Indonésie et Philippines) (Figure 15).

### **3.1.4-Importance de la culture**

Consommé à la fois par les humains et par les animaux et comptant plus d'une vingtaine de produits dérivés, le manioc offre des avantages considérables en termes de sécurité alimentaire. Par ailleurs le schéma de production vivrière axé le plus sur l'usage alimentaire humaine (attiéké, gari, farine et mets à base de ses feuilles) et animal (alimentation bétail) est toutefois en train d'évoluer dans certains pays (Brésil, Colombie, Chine, etc ...) où il est également une culture extensive industrialisée pour l'obtention de produits industriels à des fins non alimentaires (biocarburant, boissons alcoolisées)(FAO, 2013a; Nouar et *al.*,2013).

D'un rendement stable et élevé, même sur des sols marginaux et dans des conditions de pluviométrie incertaine, il s'agit de l'une des cultures vivrières les plus cultivées et les plus consommées dans de nombreuses régions du monde (Kouakou et *al.*, 2015).





**Figure 15** : Historique de l'origine du manioc et de sa distribution dans le monde.

Les lignes et les lettres en rouge, vert et bleu indiquent trois théories possibles sur l'origine du manioc en Amérique du Sud. Les lignes et les lettres en marron indiquent l'itinéraire et le temps des conquérants espagnols et portugais en Amérique. Les lignes et les lettres en fuchsia indiquent la route de distribution du manioc vers l'Afrique et les îles de l'océan Indien par les Français. Les lignes et les lettres en violet indiquent la distribution du manioc en Afrique par les Portugais. Les lignes et les lettres en noir, indiquent les déroutes et les périodes de distribution du manioc vers le continent asiatique, éventuellement par le portugais ou le français. (D'après Flores, 2017).

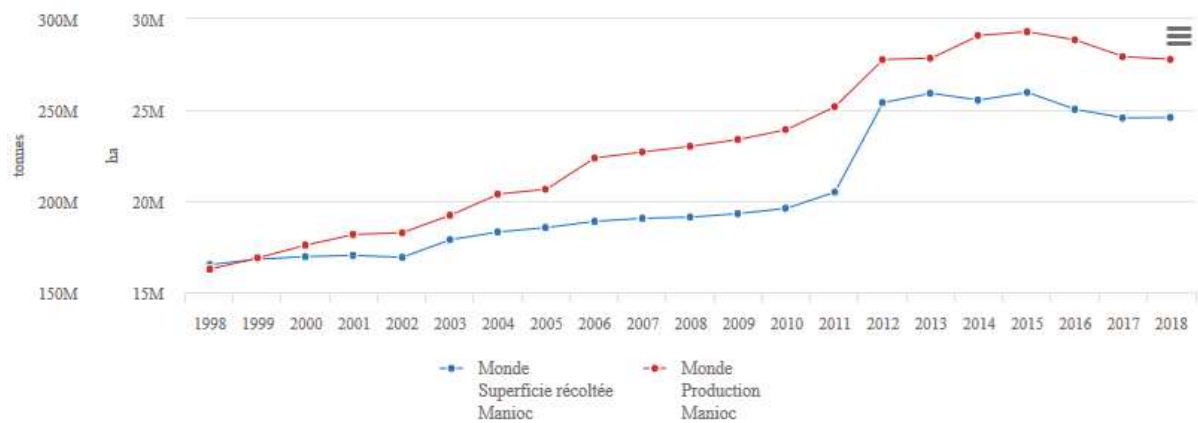
Il est cultivé dans plus de 100 pays (Figures 15 et 16), dans lequel il est source d'alimentation pour plus d'un demi-milliard de personnes (FAO, 2013a).

Cette culture est surtout la troisième source la plus importante de calories dans les régions tropicales, précédée par le riz et le maïs (Koffi et *al.*, 2015). Aussi même en cas de troubles civils, le manioc peut demeurer en terre sans surveillance et pourra être récolté ultérieurement sans connaître de réelles détériorations qualitatives. Il présente donc l'intérêt de rester disponible même après le déplacement temporaire d'un ménage.

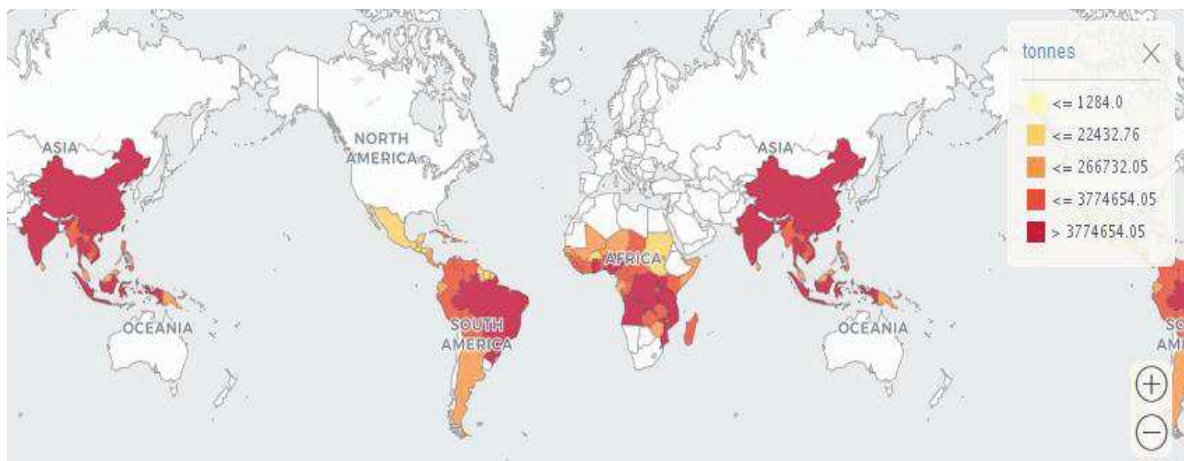
Cette plante riche en glucides, calcium, vitamines B et C, et minéraux essentiels est principalement destinée à la consommation, c'est ainsi que le manioc est l'aliment de base de plus de 800 millions de personnes dans les zones tropicales (dont 500 millions en Afrique) et sa production est en constante augmentation à un rythme supérieur à celui des céréales (Falade & Akingbala, 2010). In facto globalement le manioc est beaucoup plus productif que les céréales en Afrique subsaharienne, notamment sur les sols épuisés et marginaux, avec un rendement moyen de 2,5 t/ha/an de matière sèche contre moins de 1 t/ha pour les céréales (Ugher et *al.*, 2013). En Afrique de l'ouest et du centre cette culture compte parmi les principales cultures vivrières, elle occupe le deuxième rang derrière le riz (Coulibaly et *al.*, 2014).

#### **3.1.4.1-Production dans le monde et en Afrique**

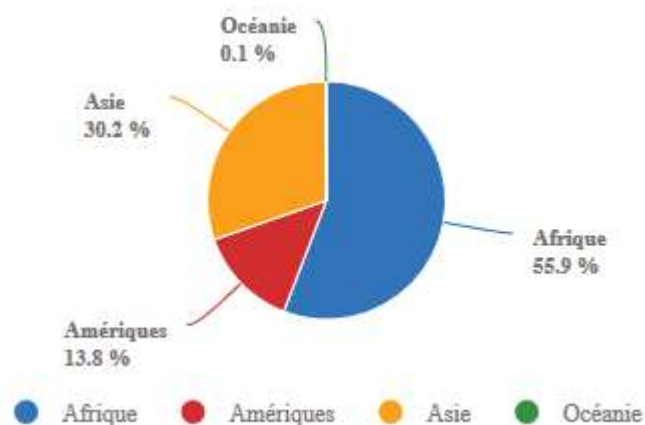
La production mondiale en augmentation moyenne de 1,2 % jusqu'en 2015 (Prakash, 2015) puis une baisse de 2015 à 2018 (Figure 16), provient majoritairement de l'Afrique qui a plus de 50% de la production mondiale (FAOstat, 2020) (Figures 17 et 18). De ce fait, les plus grands producteurs sont essentiellement d'Afrique avec cinq parmi les 10 premiers pays producteurs, notamment le Nigeria (qui représente environ 16% du total), la République démocratique du Congo (~ 8%) respectivement premier et quatrième producteur mondial. Le Nigeria est de loin le premier producteur mondial de manioc avec près de 45 millions de tonnes en 2018 suivi de la Thaïlande avec environ 25 millions de tonnes la même année (FAOstat, 2020) (Figure 19). Avec une production annuelle de plus de 268 millions de tonnes de racines fraîches récoltées en 2014, le manioc représente 32 % de la production mondiale de racines et tubercules alimentaires après la pomme de terre qui contribue pour 45 % du total (Vernier et *al.*, 2018). En Afrique Sub-saharienne, le manioc avec une production en constante évolution (Figure 20) est principalement une culture de subsistance exploitée pour la nourriture par les petits agriculteurs à faible revenu qui vendent les surplus.



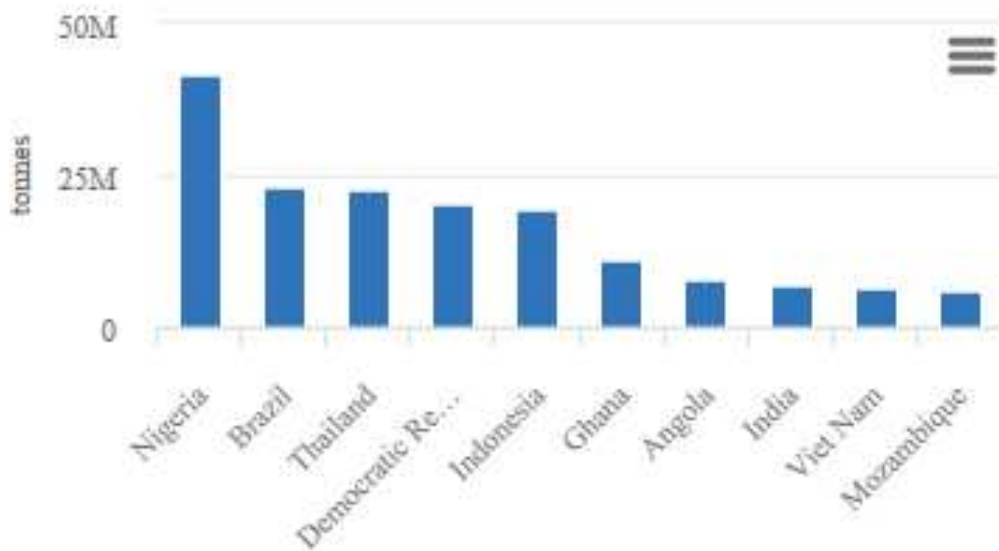
**Figure 16 :** Tendence de la production mondiale de manioc de 1998-2018  
(Adapté de FAOstat, 2/12/2019).



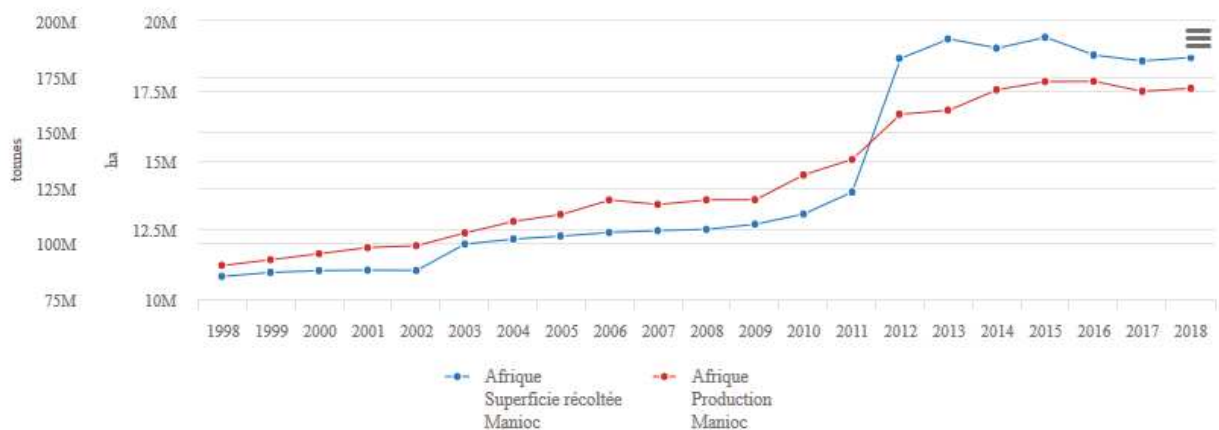
**Figure 17 :** Aire de production du manioc dans le monde de 1998 à 2018  
(FAOstat, 12/06/2020)



**Figure 18 :** Part de la production (de 1998-2018) dans le monde par région  
(Adapté de FAOstat, 12/06/2020)



**Figure 19** : Dix principaux producteurs mondiaux de manioc ces deux dernières décennies (FAOstat, 12/06/2020)



**Figure 20** : Tendence de la production africaine de manioc des 20 dernières années (1998-2018) (FAOstat, 12-06-2020)

Cette pratique s'explique par le fait qu'elle est l'une des rares cultures de base à pouvoir être cultivée efficacement à petite échelle, en n'exigeant ni mécanisation ni achat d'intrants, et pouvant aussi se développer dans des zones marginales à sols pauvres et précipitations aléatoires (Bayitse et *al.*, 2017; Nadjiam et *al.*, 2016).

### **3.1.5-Management de la culture de Manioc**

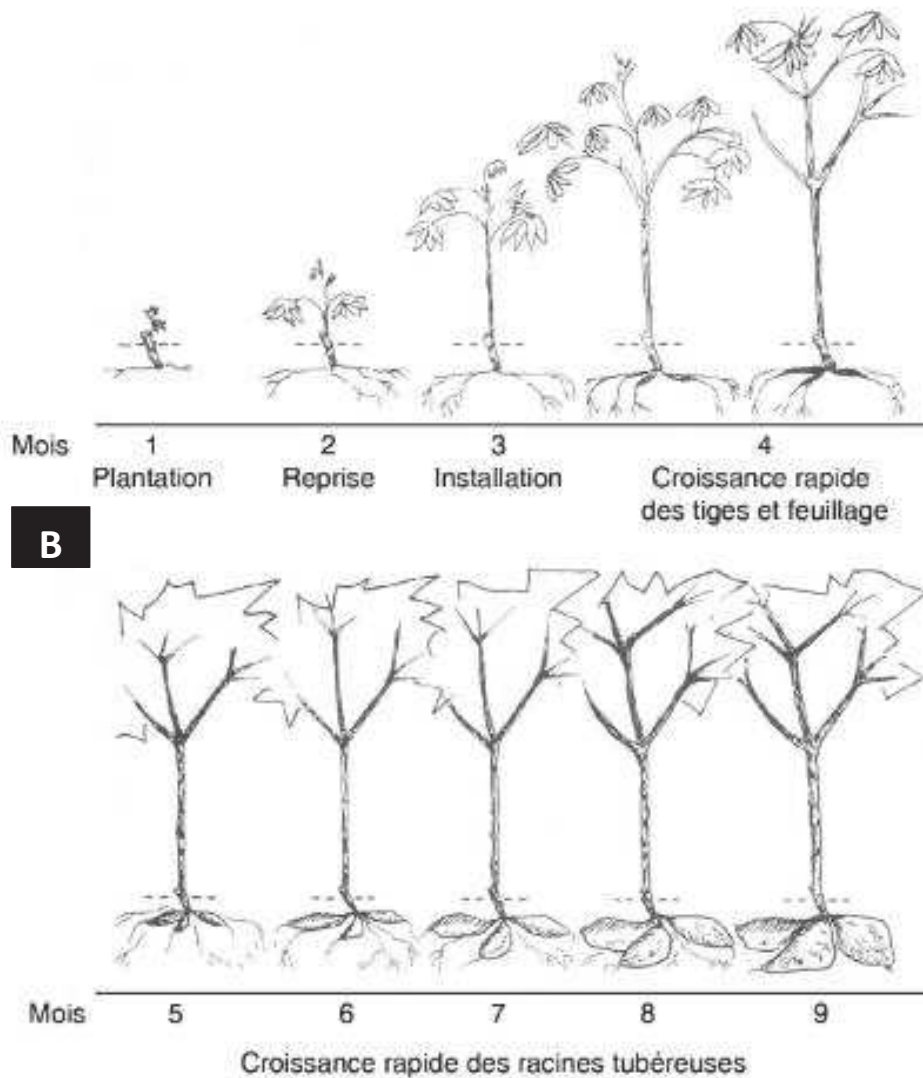
La culture de manioc n'implique pas l'acquisition d'intrants coûteux (engrais, etc.), de même les semences sont le plus souvent multipliées par voie végétative (les boutures) (Figure 21-A) par le producteur agricole lui-même, à partir de ses propres pépinières (Silvestre, 1987). En effet le manioc est une culture à propagation végétative, cela veut dire que les plantes cultivées sont issues de boutures de tige prélevées sur la culture précédente ou dans des pépinières mises en place à cette fin, parfois appelées « parc à bois ». Toutefois il existe le cas assez rare et spécialisé de création de nouvelles variétés issues de graines ou d'hybrides spontanés provenant de germination de graines (Kouakou et *al.*, 2015).

Les systèmes de productions du manioc sont variables et le rendement du manioc dans les systèmes traditionnels est généralement faible et se situe en deçà de 15 t/ha (Vernier et *al.*, 2018).

#### **3.1.5.1-Multiplication et variétés**

La multiplication du manioc se fait de façon courante par voie végétative via des boutures de tige et très exceptionnellement de façon sexuée à travers des graines (existence de différentes entre les géniteurs et la descendance). Les boutures utilisées pour la multiplication des plantes de manioc passent par quatre phases. Une phase de reprise des boutures (3 à 6 jours), une phase d'installation (1 à 2 mois), puis une phase du développement aérien (3 à 4 mois après plantation) et enfin une phase de développement des racines tubérisées (à partir du 5<sup>e</sup> mois), marquée le gonflement des racines tubérisées s'accélère pour atteindre l'optimum entre 9 et 12 mois (ou plus) après plantation (Vernier et *al.*, 2018) (Figure 21-B).

Le manioc comprend un grand nombre de cultivars. Ceux-ci se différencient par la morphologie et la coloration de certains organes tels que les feuilles, les pétioles, la tige et les racines tubérisées. Ils se différencient aussi par le port de la plante, la durée du cycle, le rendement, l'aptitude à la transformation (temps de cuisson, teneur en matière sèche, taux de fibres,..) et le goût (Djaha et *al.*, 2017). En Afrique de l'Ouest, il existe près d'une centaine de variétés de manioc et près de 3400 accessions en tout l'Afrique (CEDEAO-UEMOA-CILSS, 2016; FAO, 2008 ; Fukuda et *al.*, 2010) (Tableau 4)



**Figure 21:** A. Bouture de manioc (Vernier et al., 2018), B. Développement de la plante de manioc (Silvestre, 1987).

**Tableau 4:** Liste des variétés de manioc les plus largement diffusées en Afrique de l'Ouest (Adapté de FAO, 2008).

Dénomination (Synonymes)	Pays (date d'inscription) /Mainteneur	CPM (Mois)	Caractères/ bioagresseurs
97/3982	Ghana (2005) /CRI	SI	SI
97/4414	Ghana (2005)/CRI	SI	SI
97/4489	Ghana (2005)/ CRI	SI	SI
97/4962	Ghana (2005)/CRI	SI	SI
ABASA FITAA	Ghana (1992)/CRI	SI	SI
BEN 86052 10-12	Bénin /INRAB	10-12	SI
BONOUA	Côte d'Ivoire/CNRA	18	SI
CAMEROUN	Togo : ITRA	12	Résistante à la virose
GBAZÉKOUTÉ	Togo ITRA	12	Résistante à la virose
GBLEMO DUADE	Nigeria-Ghana(1992)/IITA	SI	SI
H 3	Côte d'Ivoire/ CNRA	SI	SI
IFAD	Ghana (2001/2002)	SI	SI
KATAOLI	Côte d'Ivoire	16	SI
KOMBO 2	Nigeria-Sénégal (1987) /IITA	12	Sensible au <i>Phenococcus manihotii</i>
LAGOS ITRA	Togo/ITRA	12	Résistante à la virose
NC- SAVANNA	Nigeria (1985) / IITA	SI	Adapté à divers environnements
NC101-OSHE	Nigeria (1984)	SI	SI
NKABON	KNUST Ghana (2001/2002°	SI	SI
NR 41044	Nigeria (1986) : NCRI	SI	SI
8082	Nigeria (1986)/NCRI	SI	Adapté à divers environnements
RB 89509	Bénin : INRAB	10-12	
SLICASS 1	Sierra Leone	SI	SI
SLICASS 2	Sierra Leone	SI	SI
SLICASS 3	Sierra Leone	SI	SI
SLICASS 4	Sierra Leone	SI	SI
SLICASS 5	Sierra Leone	SI	SI
TABOUKA	CNRA Côte d'Ivoire	16	SI
TEKBANKYE	Ghana (1997/1998)/KNUST	SI	SI
TMS 30001	Nigeria IITA	SI	SI
TMS 30-555 6	Nigeria-Sénégal (1987)/IITA	6	Tolérante au CMV
TMS 30572 IITA	Togo, Bénin	12	Résistante à la virose
TMS 312-524	Togo	12	Résistante à la virose
TMS 92/0326	Togo	12	Résistante à la virose
UCC 504	Ghana/CRI	SI	SI
UCC 505	Ghana (2005)	SI	SI

NB : Toutes ces variétés ont pour nature génétique la lignée ; SI =Sans Information ; CPM=Cycle  
Plantation Maturité.

**Tableau 5** : Différents systèmes de culture entrant dans la production du manioc (synthèse, issue de Vernier et *al.* ( 2018))

N°	Système de cultures	Zones / production	Caractéristiques des systèmes de production
1	L'agriculture itinérante traditionnelle sur brûlis avec jachère longue	Les zones forestières de certaines régions d'Amérique du Sud et en Afrique centrale. Guyane	Ce système dit « végécoles » (Saure, 1969), désigne les systèmes de production fondés sur la culture itinérante de plantes majoritairement à multiplication végétative, plantées par propagules (boutures, cormes, tubercules, racines, etc.), généralement par simple trouaison sur brûlis de jachères de longue durée. Les systèmes végécoles, ne pratiquant pas de travail du sol systématique (labour, houage), ont en effet l'avantage d'être moins agressifs pour les sols que les systèmes agricoles « classiques », notamment sur pente forte.
2	Le système avec écobuage maala	Les zones forestières et proches des systèmes Wayapi de Guyane. République du Congo	Ce système se caractérise par une culture semi-permanente à jachère de moyenne durée. C'est un début d'intensification par rapport au système sur simple brûlis. Le maala consiste à nettoyer à la houe en début de saison sèche (juillet à septembre) les herbes de savane (à dominante d' <i>Hyparrhenia diplandra</i> ) regroupées en andains, à les enfouir sous des billons larges de terre puis à les brûler (Nzila et Nyété, 1996).
3	Les systèmes améliorés à jachère de courte durée	Zones forestières et régions côtières au régime pluviométrique bimodal du Nigeria à la Côte d'Ivoire : Bénin et du Nigeria	A partir du régime pluviométrique monomodal jusqu'à des latitudes où la pluviométrie est parfois inférieure à 800 mm/an, notamment sur des zones aux pédoclimats favorables comme les bas-fonds. Comme cultures associées, le manioc est souvent associé aux céréales ou aux légumineuses (niébé, arachide).
4	Des systèmes moyennement intensifiés	Benin	Un début d'intensification est observé avec la diffusion de variétés améliorées à haut rendement en provenance des entités de recherches (IITA, Inrab)
5	Les systèmes intensifs en agriculture familiale en Asie du Sud-Est	Vietnam	Ce système est le fruit d'une politique volontariste de moderniser cette filière, en particulier l'intensification et la mécanisation adaptées aux petites exploitations comme aux grandes coopératives à travers l'introduction de variétés à haut rendement proposées par le CIAT.
6	Les systèmes de cultures industrielles à grande échelle	Paraná au Brésil	La taille des exploitations varie de 50 à plusieurs dizaines de milliers d'hectares pour les plus grosses unités. Le manioc est planté à plat à une densité de 18 000 plants/ha. La récolte intervient généralement entre 16 et 24 mois après la plantation selon les conditions du marché. La culture est entièrement mécanisée, l'usage d'herbicides est généralisé.



La production du manioc dans les zones de production est caractérisée par différents systèmes de culture détaillée dans le Tableau 5. En fonction des zones et des systèmes de production, l'itinéraire technique peut comporter d'une façon générale cinq grandes activités, qui sont mentionnées dans le Tableau 6.

Le manioc est essentiellement utilisé dans l'alimentation humaine (Tableau 7 et Figure 22) à travers ses parties comestibles comme ses racines et ses feuilles. Selon la teneur en composés cyanogéniques de la variété de manioc, la consommation peut être directe (produit cru ou préparation culinaire simple quand les variétés sont douces) ou faire appel à des opérations unitaires et à des procédés de transformation plus ou moins complexes (quand les variétés sont plus ou moins amères) (Bayitse et *al.*, 2017; Kouakou et *al.*, 2015).

**Tableau 6** : Activité classique de la production du manioc (itinéraire technique) (FAO, 2013a; Howeler et *al.*, 2013; Vernier et *al.*, 2018)

Ordre des activités	Activités	Caractéristiques des activités
1	Préparation du sol	En culture manuelle, le travail du sol est généralement réalisé à la houe. En traction animale, les agriculteurs font un ou deux labours pour ameublir le sol et enfouir les résidus.
2	Plantation	En culture manuelle, la bouture peut être plantée de différentes manières (verticale, oblique, horizontale). En culture mécanisée largement répandue dans certaines régions d'Amérique du Sud et d'Asie il existe une large gamme de planteuses, notamment d'origine brésilienne ou chinoise, utilisables pour plantation à plat ou sur billon. Dans les systèmes traditionnels paysans, le manioc est planté en début de saison des pluies.
3	Entretien : La gestion de l'enherbement	En l'absence d'herbicide, il faut souvent pratiquer 3 à 4 sarclages, le premier vers 3 ou 4 semaines après plantation, puis ensuite au 2e, au 4e et au 7e mois. En Afrique, le sarclage manuel nécessite plus d'une trentaine de journées/hectare pour assurer un désherbage correct. Le désherbage mécanique en culture attelée ou mécanisée à l'aide d'outils à dents ou à disques est généralement possible jusqu'au 3e mois, tant que les plants de manioc sont assez souples (1,0 à 1,5 m de hauteur) pour ne pas être trop endommagés par le passage des outils.
4	La fertilisation	-Apport d'engrais chimique, avec les proportions de type 2-1-2, 3-1-2, 2-1-3, par exemple un engrais composé NPK 15-7-20. Il est recommandé d'apporter tout le phosphore et la moitié de l'azote et du potassium à la plantation et le reste d'azote et de potassium après 2 à 3 mois, au moment où le manioc est à sa vitesse de croissance maximale et où s'initie la tubérisation. Si on utilise des engrais phosphatés très solubles comme le phosphate di-ammoniaque (DAP à 48 % de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ), il est préférable de fractionner également l'apport. -Les engrais verts enfouis ou en culture associée comme les légumineuses (herbacée ou à graine, pure ou en mélange, cas du niébé, arachide, pois d'Angole ( <i>Cajanus cajan</i> ), enfouis après récolte des grains à 4 mois, <i>Mucuna pruriens</i> , <i>Canavalia sp.</i> , <i>Zornia latifolia</i> , <i>Pueraria phaseoloides</i> , coupés et enfouis à 6 mois. -Les apports de fumiers et de composts (fumiers d'origine animale)
5	La récolte et transport	La récolte du manioc a l'avantage de pouvoir être largement étalée dans le temps, entre 9 et 24 mois après la plantation selon les destinations des racines.

**Tableau 7** : Produits à base de manioc utilisés dans l'alimentation humaine (synthèse, issue de Vernier et *al.* ( 2018))

Forme		Partie du manioc	Produits obtenus (type alimentaire) [Origine]
Consommation directe		Racines et feuilles	-Racines cuites à l'eau ou à la vapeur : <i>Katkat manioc</i> [Ile Maurice], <i>Peujeum</i> [Indonesie]/-Racines rôties, cuites ou frites : biscuits aromatisés [Île Maurice]/-Feuilles de manioc : Bouillies appelée <i>Mataba</i> [Comores], <i>Matapa</i> [Mozambique], <i>Vatapá</i> [Brésil], <i>Kpwem</i> [Cameroun] ; <i>Mpondu</i> (Sauce)[RD Congo]
Transformations alimentaires du manioc	Produits secs ou semi-secs	Racines	-Cossettes et farines : <i>Cassave</i> , <i>Sispa</i> (galette plate) [Caraïbes et en Amérique du Sud] , <i>Abloyoki</i> [Bénin]; <i>Glapeck</i> [Indonesie], <i>Lafun</i> [Nigeria et au Bénin]/ (farine) /- <i>Attiéké</i> (semoule de manioc fermenté cuite à la vapeur d'eau) [Cote d'Ivoire, Benin]/-Semoules de manioc : <i>Gari</i> , <i>Chive</i> , <i>Farinha</i> /-Pâtes et nouilles à base de manioc [Nigeria, Indonésie]/-Manioc congelé /-Snacks de manioc (aliments de grignotage)
	Produits humides ou liquides	Racines	- <i>Placali</i> , <i>Foufou</i> ou <i>fufu</i> (pâte de manioc fermenté) [Côte d'Ivoire, Togo, Bénin, Nigeria et Ghana]/- <i>Chikwangue</i> (bâtons de manioc) [Congo et en Afrique centrale]/- <i>Miondo/Bobolo</i> (bâton long)/ <i>Mintoumba</i> (boule) [Cameroun]./- <i>Le bononoka</i> (fromage de manioc) [Madagascar]
	Boissons sucrées et bières de manioc	Racines	- <i>Toucoupi</i> (jus de manioc bouilli ou fermenté) [Brésil]/-le <i>Cachiri</i> [Guyane]/- <i>Ouïcou</i> , (bière)[Antille] - <i>Kashiri</i> ou <i>Chicha</i> (bière de manioc) [Amerique tropicale]/- <i>Munkoyo</i> (bière à partir de farine de manioc) [République démocratique du Congo], /- <i>Tiquira</i> (alcool de manioc) [Brésil]/- <i>Impala</i> , bière à base de manioc [Mozambique], /- <i>Kalinago</i> , bière artisanale à base de manioc [Martinique]



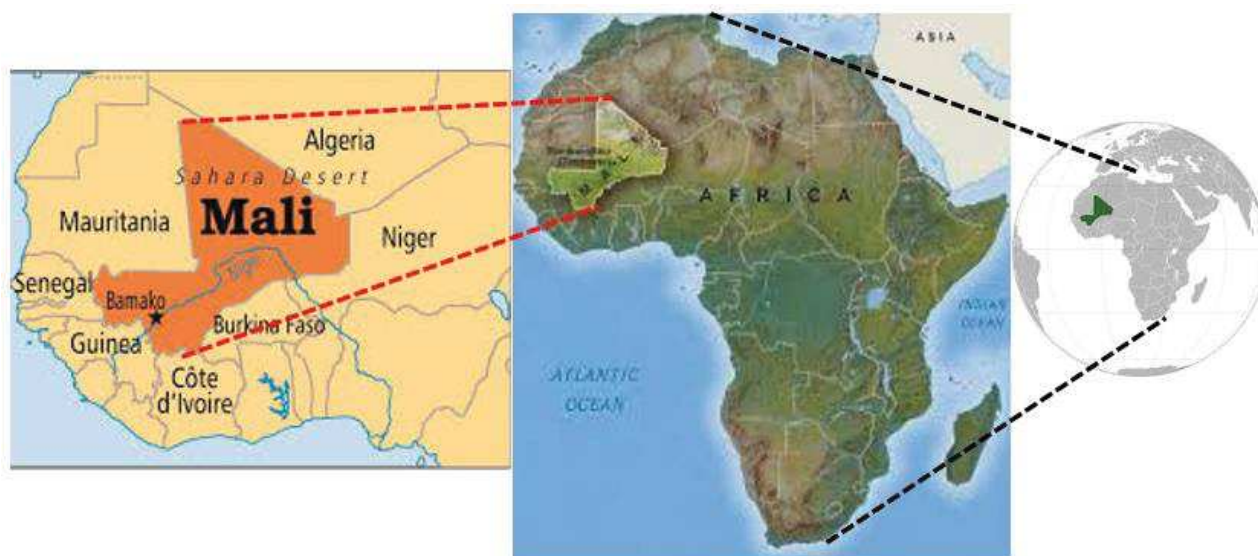
### 3.2-Le manioc au Mali

Situé au cœur de l’Afrique de l’Ouest (Figure 23), le Mali confronté à des crises socio-sécuritaires a récemment vu accroître de façon significative le nombre de ses producteurs et zones de production du manioc. Cet intérêt s’explique par les multiples avantages de ladite culture. En témoigne la mise en place de points-focaux au niveau des services d’encadrement agricoles et surtout du Comité Malien de Développement du Manioc-Comadem (Maliactu.net, 2016), démontrant à suffisance une réelle volonté de dynamiser ce secteur de production en pleine expansion dans le pays (Dembele et *al.*, 2013; Maliactu.net, 2016).

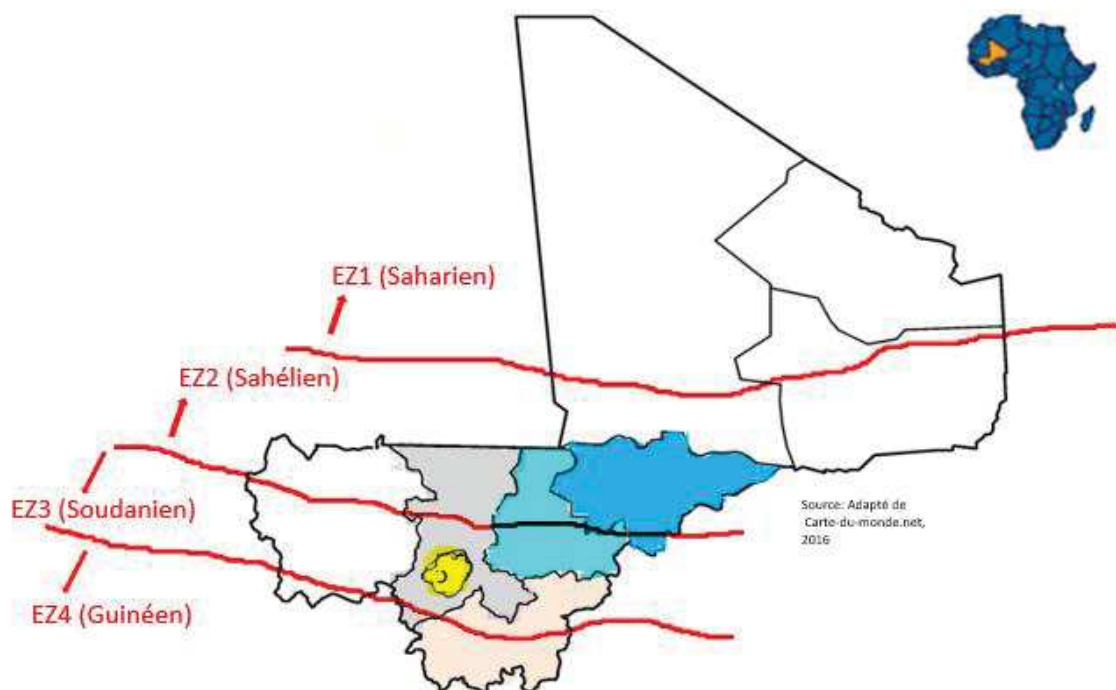
A l’opposé de cet élan d’engagement pour le développement de la production du manioc dans le pays, il règne un vide informationnel (historique, agronomie, situation parasitaire, etc...) sur le manioc au Mali. En effet peu d’information existe sur cette culture qui semble être arrivée au Mali par ses frontières sud, plus précisément par la région de Sikasso. En effet, partie des régions littorales vers l’intérieur du continent par une grande vague d’expansion au XIXe siècle (Guthrie, 1990), la culture du manioc a été probablement introduite au Mali en cette période par les zones agricoles frontalières sud du pays comme la région de Sikasso

Comme ailleurs dans la ceinture intertropicale, la culture du manioc au Mali jouit d’un engouement réel compte tenu de ces nombreux atouts (section 4.1.4). Dans ce pays, la sécurité alimentaire via des productions végétales résilientes fait partie des priorités des politiques publiques surtout que le secteur agricole occupe 75% de la population (Dagno, 2016). Cette agriculture qui depuis fort longtemps est essentiellement basée sur la production des céréales (mil, sorgho, riz et fonio), est de nos jours, en pleine quête de diversification. Dans cette logique de diversification, le manioc fait partie des cultures cibles de premier choix et donc une piste intéressante. D’autant plus que depuis 1961, le manioc a vu sa production mondiale multipliée par 3,5 , alors que la production de l’ensemble des racines et des tubercules l’a été par 1,8 et celle des céréales par 3 (Vernier et *al.*, 2018). Elle est donc une bonne piste pour la diversification des cultures, surtout qu’en zone sahélienne la céréaliculture qui prédomine, est sérieusement impactée par bon nombre de contraintes surtout climatiques.

Cette volonté de diversification via l’usage de production nouvelle, cas du manioc au Mali, est constatée sur le terrain. En effet, les cultures d’application simple à l’échelle des communautés familiales comme le manioc sont très encouragées par les autorités et la FAO, car l’agriculture familiale occupe une place essentielle dans le système agricole du Mali. Aussi, une forte demande alimentaire des dérivées du manioc (Attiéké, Gari, Tapioca) fait de la production intensive du manioc une priorité étatique (Maliactu.net, 2016).



**Figure 23 :** Illustration de la position du Mali dans le monde, en Afrique et dans la sous-région Ouest-Africaine (Adaptation des cartes issues de [maps-mali.com](http://maps-mali.com), 12/06/2020)



**Figure 24 :** Différentes zones climatiques présentes au Mali (Carte adaptée de Carte du monde.net, 2016 et de Kergna & Niallibouly (2020))

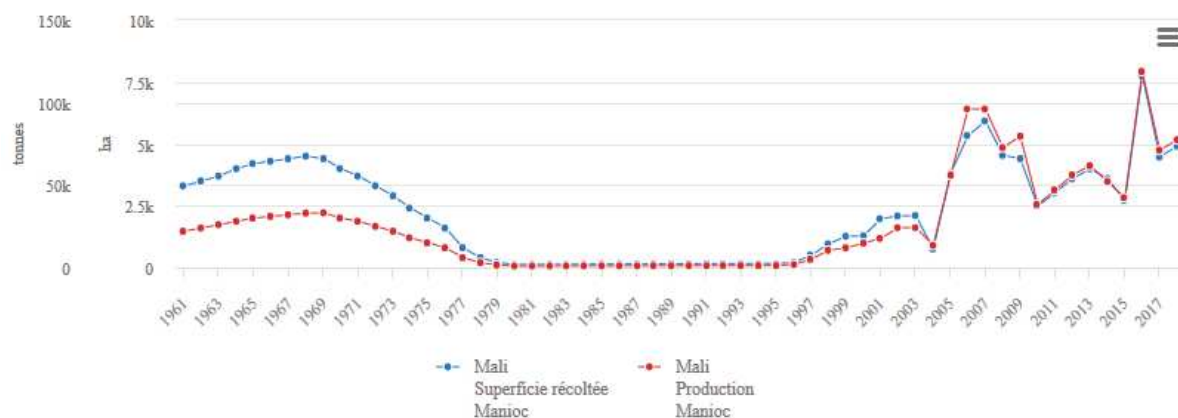
D'où la création en Avril 2016 de la COMADEM (Compagnie Malienne de Développement du Manioc). De facto, cette culture de manioc est en plein développement dans beaucoup de régions du Mali (Maliactu.net, 2016), notamment dans certaines zones au nord (Figure 24), connues pour leurs contraintes climatiques (Dembele et *al.*, 2013) et surtout leurs insécurités élevées. Le manioc est une culture recommandable dans ces zones surtout qu'en plus d'être un bon moyen de lutte contre l'insécurité alimentaire et il peut un vecteur de stabilité sociale « qui dit sécurité sociale dit d'abord sécurité alimentaire ».

### **3.2.1-Statut actuel de la production du manioc au Mali : statistique et évolution actuelle**

La trajectoire des indicateurs de production du manioc au Mali de la période post-colonisation à nos jours, n'est pas du tout stable avec de très fortes variations, ressemblant de fait à une dent-de-scie. Cette tendance à la décroissance des indicateurs de productivité de la culture ces années-ci est due à des contraintes agricoles dont les maladies (FAOstat, 2019) (Figures 25 et 26). Durant la campagne agricole 2014-2015, on a observé 52% de la production totale des superficies cultivées dans la région de Sikasso, 19 % pour Ségou, les régions de Koulikoro et Tombouctou enregistrent chacune 7%. Cependant Mopti, Gao, Kayes, le District de Bamako, Kidal enregistrent respectivement 6, 4, 4,1 et 0% (Maliactu.net, 2016)

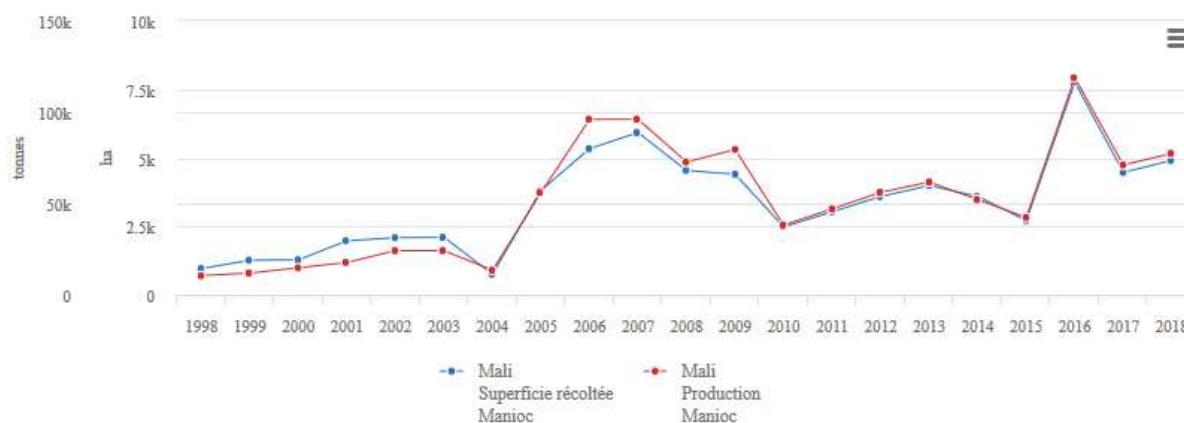
Ces dix dernières années, le pays a connu la campagne agricole la plus abondante jamais vue pour l'instant avec le record de production de 118 863 tonnes sur 7768 ha cultivées pendant la campagne agricole de 2015-2016 (Faostat, 2020).

Au Mali, ont été décrites 24 variétés de manioc selon des enquêtes auprès de producteurs (Coulibaly et *al.*, 2014). Cependant ces variétés sont des écotypes et les producteurs ne connaissent pas toujours leur origine. Seule une caractérisation morphologique et génétique permettra de les différencier. Quelques écotypes parmi les plus cités lors des enquêtes sont à Koulikoro (Gounfing, Attiékié), Sikasso (Bougnouma, Banakoudié, Bouloufing), Ségou (Fanaka, Bouloublé, FidaBanougou, Dougoukouna, Sikasso Banougou, Sébénikoubanougou), Mopti (Fanaka, Locale de Korientzé, Manioc sucré), Kayes (Kalafima, Kalawouléma) (Dembele et *al.*, 2013).



**Figure 25** : Indicateur de productivité (superficie [ha] et Production [tonne]) de manioc au Mali de 1961-2017 (FAOstat, 12/06/2020)

Après des valeurs très satisfaisantes des indicateurs de productivité (2,5 à 7,5.000 Tonne/an) de 1961 à 1968 ; de 1996 à 2003 ; de 2004 à 2005 ; de 2010 à 2013 et enfin la dernière de 2015 à 2016, la culture du manioc a connu des périodes de baisse de productivité (moins de 2,5 000 Tonne/an), comme de 1979 à 1995, de 2007 à 2010 et la dernière en date de 2013 à 2015.



**Figure 26** : Evolution des données de production (rendement et superficie) du manioc au Mali de 1998 à 2018 (FAOstat, 2019)



### **3.2.2-Zone de production au Mali**

Produite généralement de façon extensive, dans système d'agriculture familiale, très rudimentaire, le manioc peut être aperçu dans pratiquement toute les zones de production agricole au Mali, sur des faibles surfaces (vergers, les jardins, en forme de haie autour dans des premiers cités) oscillant autour de 1ha. On le rencontre dans pratiquement toutes les régions du pays à l'exception de la région de Kidal (Dembele et *al.*, 2013).

Il existe deux grands bassins de production de manioc au Mali : le bassin de production de la région de Sikasso et celui de la région de Ségou respectivement dans les zones agroécologiques soudanienne et guinéenne (Figure 24). Dans le bassin de la région de Sikasso situé dans les zones agroécologiques soudanienne et guinéenne, les pratiques culturales sont proches de celles des pays côtiers comme la Cote d'ivoire, avec une tendance à l'intensification (grande parcelle de production, atteignant par moment 9 ha, utilisation de variété améliorée). Au niveau du bassin de production de la région de Ségou, dans la zone agroécologique sahéenne et soudanienne, le manioc est quasiment cultivé en toute période par les producteurs de la zone périurbaine de Ségou (essentiellement Dougoukouna), les villages de la zone office riz Ségou et aussi des zones de production saisonnière comme Siensou (cercle/département de San) constituent un important vivier de production. A côté de ces deux bassins, il existe des localités de production qualifiables de constante dans la production saisonnière, à des proportions de rendement variable, comme Pondori, Korientzé dans la région de Mopti, Labezanga dans la région de Gao. Dans la région de Kayes il existe des foyers de production moyennement importante à Bafoulabe, Didjian dans le cercle de Kita. La région de Koulikoro, ne reste pas en marge, il possède des zones de production notables caractérisées par la pratique du manioculture en association avec le maraichage, c'est le cas à Samanko, Baguineda, des localités proche de Bamako (Dembele et *al.*, 2013).

Dans les zones de production, le manioc est essentiellement cultivé en culture pure. La rotation lorsqu'elle a lieu se fait avec l'arachide et les céréales le plus souvent, tandis qu'elle se fait avec le riz en zone en exondé.

### **3.2.3-Contraintes de production et leur gestion**

Malgré les avantages présentés par la culture du manioc, elle est menacée par plusieurs contraintes biotiques et abiotiques, qui constituent des contraintes de production qui freinent son développement (Herrera-Campo et *al.*, 2011). Il s'agit notamment : des maladies, des ravageurs, la faible productivité de certaines variétés, les pratiques culturales rudimentaires ou inadaptées. Egalement certains aspects technico-organisationnels comme : - la divagation des animaux ;- la faible diffusion de matériel végétal sain ;- le manque de réseau de producteurs de manioc ; - le faible niveau d'encadrement ;- la méconnaissance des problèmes phytosanitaires majeurs par les paysans et les encadrants de base ;- l'absence de l'approche champ-école paysan comme mode de vulgarisation des techniques appropriées ;- le manque de stratégies appropriées d'introduction, de multiplication, d'adoption, de production, de diffusion de matériel végétal performant, résistant à certaines maladies comme la CBB, la mosaïque et à la sécheresse (FAO, 2014).

Les contraintes à la production du manioc peuvent être divisées en 04 groupes avec les proportions des baisses de rendements : biotique (23% de baisse de rendements) ; abiotique (21% de baisse de rendements); gestion (26% de baisse de rendements) et socio-économiques (29 % de baisse de rendements) (Waddington et *al.*, 2010) (Tableau 8).

#### **3.2.3.1-Facteurs abiotiques :**

Dans ce groupe nous avons des problèmes de limitation de la production ayant pour origine :

**-Problème édaphique/ sol :** faiblesse de la fertilité du sol ; Salinité ; érosion ; température à la surface ;

**-Entretien/travaux culturaux :** travaux du sol inadéquat ; faible qualité des boutures ; espacement inadéquat entre les plants ; les mauvaises herbes ;

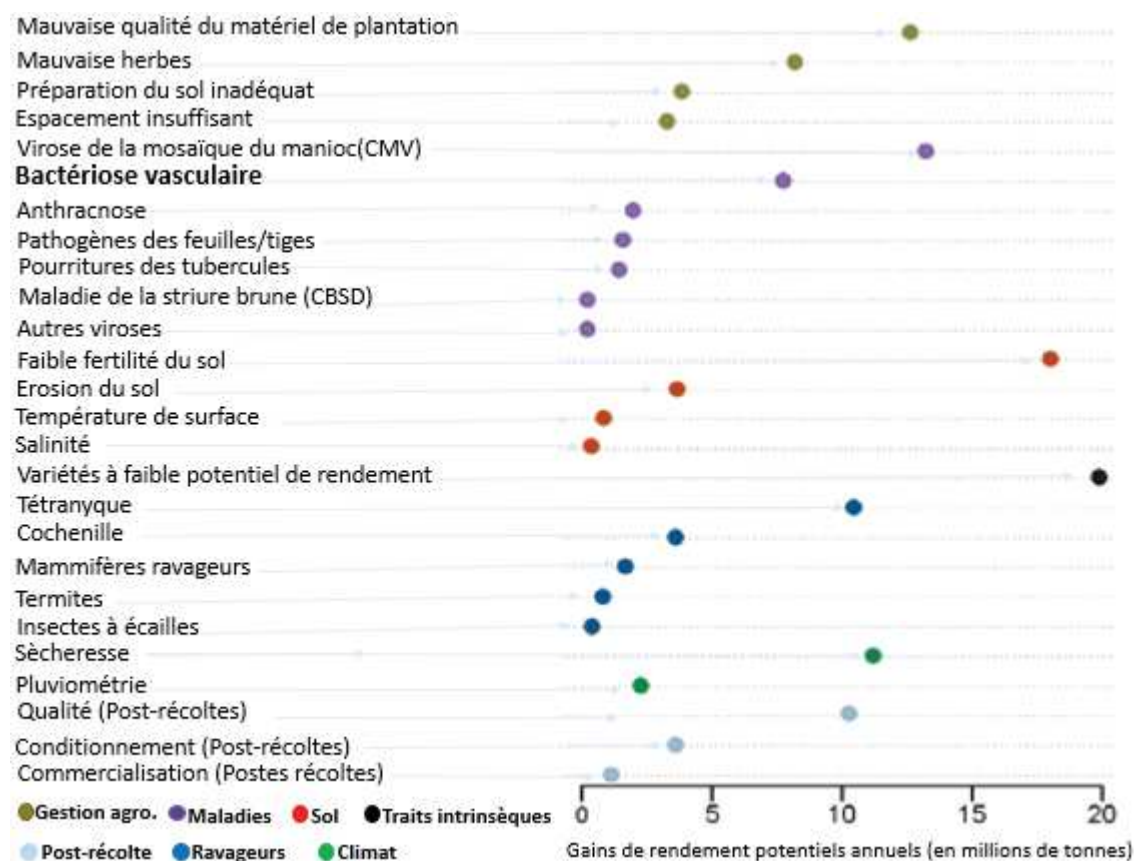
**-Aspects variétaux :** faible potentiel de rendements

**-Aspects climatiques :** sécheresse ; inondation

**-Contraintes au niveau de la production :** Manque de matériel végétal de qualité, de variétés tolérantes ou résistantes aux maladies ; Accès à la terre allant décroissant, fertilité du sol en déclin ; Manque de crédit et d'intrants agricoles ; Goulots d'étranglement sur la main-d'œuvre (pénuries et/ou surcoûts en fonction des endroits) ; Mauvaises pratiques culturales.(Reynolds et *al.*, 2015; Young, 2006)

**Tableau 8** :Les contraintes de production impactant sur les écarts de rendements (Harris et al., 2015 , citant Waddington et al., 2010)

Biotiques	Abiotiques	Gestions agronomiques	Socio-économiques
-Maladies -Mauvaises herbes -Variétés inappropriées	-Déficit nutritionnel -Sècheresse	-Date de plantation inadéquate ou tardive - Mauvais choix de variétés	-Accès difficile au financement -Indisponibilité des marchés -Prix élevé des engrais -Connaissances inadéquates des agriculteurs



**Figure 27**: Contraintes de la production du manioc en Afrique et leurs perte de récolte (estimations des écarts de rendements\*) (Adapté de Henry & Gottret(1996), cité par Harris et al. (2015))

\*Ecart de rendement est définie comme la différence entre le rendement le plus élevé obtenu dans les petites exploitations et le rendement moyen.

### 3.2.3.2-Facteurs biotiques :

Les principales contraintes biotiques du manioc sont les parasites et un large éventail de maladies causées par des virus, bactéries, champignons et nématodes (Herrera-Campo et al., 2011) (Tableau 9). Ces bioagresseurs du manioc sont des contraintes d'autant plus importantes que la culture est souvent trop peu rémunératrice pour que l'usage de pesticides soit économiquement envisageable à grande échelle (Vernier et al., 2018). Parmi la cohorte de bioagresseurs qui peuvent fortement réduire, sinon anéantir, sa croissance et donc son rendement en racines, on a les ravageurs (arthropodes, autres vertébrés, nématodes, etc), les mauvaises herbes et les micro-organismes (virus, champignons, bactéries...)(McCallum et al., 2017).

Parmi les ravageurs du manioc, plus de 200 espèces d'arthropodes s'attaquent, à des degrés divers au manioc (Vernier et al., 2018). Les ravageurs peuvent manger les feuilles et causer d'autres problèmes, les plus importants d'entre eux sont :

-les acariens du genre *Mononychellus* tel l'acarien vert (Figure 28, D), s'alimentent en suçant les sucs de la plante (Vernier et al., 2018), tout en lui injectant une toxine. Les symptômes de ce ravageur sur le manioc ressemblent par moment à celle de la mosaïque. Les acariens sont des ravageurs majeurs du manioc à travers le monde (FAO, 2014) .

-**les cochenilles** : Parmi la quinzaine d'espèces de cochenilles ravageuses du manioc, seule *Phenacoccus manihotis* appelée **cochenille farineuse (mealybug) du manioc**. Lorsque l'infestation est forte, il y a nécrose générale des feuilles, défoliation et distorsion des tiges (Ameu et al., 2013). Quant à la **cochenille des tubercules du manioc**, en Afrique c'est *Stictococcus vayssierei* (Hémiptère: Stictococcidae) qui semble actuellement limitée à certaines régions d'Afrique centrale, dont le Cameroun (FAO, 2014). Aussi il existe **les cochenilles encroûtantes** (scale insects), parmi lesquelles *Aonidonytilus albus* et *Saissetia miranda*. *A. albus* a été signalé dans toutes les régions à manioc et est considéré comme le ravageur le plus répandu sur cette culture à travers le monde (COLEACP, 2011).

-**les aleurodes** (Whiteflies) appelés aussi improprement mouches blanches, sont probablement les insectes les plus dommageables du manioc à la fois par leur dégâts directs sur le feuillage (les pertes de rendement peuvent dépasser les 50 %), mais aussi par le fait qu'ils transmettent des virus (CIAT, 2011).

**Tableau 9** : Effets des bioagresseurs sur le rendement du manioc (Adapté de Harris et *al.* (2015))

Bioagresseurs	Appellation commune/Autres détails	Réductions estimées du rendement des tubercules	Sources
CMD (Cassava mosaic disease)	Mosaïque du manioc	20-90%	EARRNET, 2015
		12-82%	Owor, 2002
		Jusqu'à 47%	Bouwmeester, Heuvelink, Legg, & Stoorvogel, 2012
		37%	Fargette, Fauquet, & Thouvenel, 1988
		30-40%	Thresh, Otim-Nape, Legg, & Fargette, 1997 ; Legg & Thresh, 2003
<i>Xanthomonas phaseoli</i> pv manihotis	CBB (Cassava bacterial blight) Bactériose vasculaire du manioc	13-100%	Hillocks & Wydra, 2002
		30-80%	Lozano, 1986
		20-100%	EARRNET, 2015
		13-50%	Wydra et <i>al.</i> , 2001
Adventices	Mauvaise herbe	Jusqu'à 95%	Melifonwu, 1994
		40-70%	Agahiu et <i>al.</i> , 2011
		50-65%	Fermont et <i>al.</i> , 2009
Sècheresse	Fletrissement, stress hydrique	83%	Vandegeer et <i>al.</i> , 2013
		32-60%	Omonona & Akinpelu, 2012
		39%	Okogbenin et <i>al.</i> , 2011

Pourriture du manioc		Jusqu'à 80%	Okechukwu <i>et al.</i> , 2009
		15-25%	Bandyopadhyay <i>et al.</i> , 2006
<i>Mononychellus tanajoa</i>	Acarien vert du manioc	13-80%	Bellotti, 2002
		Jusqu'à 40%	EARRNET, 2015
<i>Phenacoccus manihoti</i>	Cochenille du manioc	Jusqu'à 80%	EARRNET, 2015
CBSD (Cassava brown streak disease)	Maladie de la striure brune du manioc	60-70%	Hillocks & Thresh, 2001; Zacarias & Labuschagne, 2010
		17-70%	Hillocks & Thresh, 2001
Mouche blanche et agresseurs associés	<i>Bemisia tabaci</i>	13-65%	Gold <i>et al.</i> , 1990
Mouche blanche (dommage direct/alimentation)		12,5-44,6%	Stansly & McKenzie, 2008

\*Les estimations de réduction de rendement proviennent de sources multiples et peuvent ne pas représenter des méthodes d'estimation cohérentes.

**-les foreurs de tiges** sont coléoptères et des lépidoptères, au nombre desquels l'espèce *Lagochirus aranciformes* (Cerambycidae) qui occasionnent des pertes souvent sporadiques et localisées de racines et de boutures. Cependant ce sont surtout les lépidoptères qui occasionnent le plus de dégâts avec les populations de *Chilomima clarkei* (Almonacid et al., 2016).

**-les thrips** avec *Frankliniella williamsi* présente en Afrique et en Asie dans ses actions, les plantes attaquées, les feuilles ne se développent plus normalement (CIAT, 2011; Montaldo, 1991).

**-les vers blancs**, une cohorte de vers blancs (Scarabaeidae) est associée au manioc. En Afrique les espèces les plus fréquentes sont *Euchlora viridis*, *E. pulchripes* et *Heteronychus plebejus*. Les larves de vers blancs endommagent le manioc en s'attaquant à l'écorce et aux bourgeons des boutures, sur les racines tubérisées, creusent des galeries qui favorisent les pourritures bactérienne ou fongique et détériorent leur qualité (COLEACP, 2011).





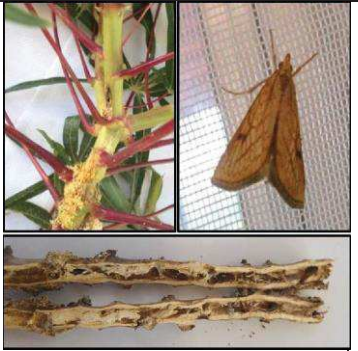




**-les termites**, peuvent endommager le manioc dans toutes les régions du monde, mais plus particulièrement en Afrique (Ogbedeh et al., 2019) ou la principale espèce est *Coptotermes paradoxus* (Sonko et al., 2019). Ils manifestent leurs dégâts en rongant les boutures de manioc, mais aussi en pénétrant dans les tiges des plantes développées et dans les racines tubérisées. Les termites s'attaquent aussi aux boutures durant le stockage (Nadjiam et al., 2016).

**-les criquets (grasshoppers)** (Figure 28, F), concernées par l'attaque du manioc sont *Zonocerus elegans* en Afrique australe, et *Z. variegatus*, le criquet puant en Afrique de l'Ouest et de l'Est (Page et al., 1980).

**-Les fourmis champignonnistes** (Figure 28, H), comme celles des genres *Atta* et *Acromyrmex*, s'attaquent aux feuilles de manioc qu'elles découpent en morceaux semi-circulaires et qu'elles rapportent dans leur fourmilière (Perozo et al., 2007).

**-Les sphinx de manioc (insecte défoliateur):** *Erinnyis ello* (Figure 28, I), la plus importante qui provoque des dégâts importants dans certaines zones de production (Amérique tropicale) ou les dommages les plus sévères s'observent sur les très grandes plantations (> 100 ha) (CIAT, 2011).

**-Les tingidés**, uniquement observés à ce jour en Amérique tropicale et dans les Caraïbes sur manioc. On a des espèces comme *Vatiga spp.*, *Amblystira machalana* (James et al., 2000).

		
<p><b>A-Mouche blanche, <i>B. Tabacci</i></b> (Vernier, 2018)</p>	<p><b>B-Cochenille farineuse</b> (EARRNET,2015)</p>	<p><b>C-Cochenille des tubercules (FAO, 2014)</b></p>
		
<p><b>D-Acarien vert (immature, larve) (<i>Mononychellus</i> spp.)</b> (©Georg Goergen, IITA)</p>	<p><b>E- Foreur de tige :</b> <i>Chilomima clarkei</i> (Almonacid et al., 2016)</p>	<p><b>F-Criquet puant d'Afrique</b> (<i>Zonocerus variegatus</i>) (©Georg Goergen, IITA) dans Vernier et al., 2018</p>
		
<p><b>G-Thrips (CIAT, 2011)</b></p>	<p><b>H-Foumi coupeuse de feuilles</b> (Vernier et al., 2018)</p>	<p><b>I-Insecte defoliateur, (Flores, 2017)</b></p>

**Figure 28** : Groupage photographique de ravageurs du manioc



Dans les moments les plus sensibles de sa croissance, soit au cours des quatre mois suivant sa plantation, il est très facile pour le manioc de se faire rattraper par la concurrence des mauvaises herbes (graminées et des adventices à feuilles larges, dont de nombreuses légumineuses) (Kawooya et al., 2016). En Afrique de l'Est, la pression exercée sur la production par les plantes adventices est souvent plus sérieuse que celle des insectes ravageurs ou des maladies, et peut réduire les rendements de près de 50 pourcent (Vernier et al., 2018). Selon Ezedinma et al. (2007) on peut distinguer 24 mauvaises herbes communes dans les principales zones agroécologiques de culture du manioc. Ils comprennent les mauvaises herbes monocotylédones et dicotylédones des cultures arables et des plantations (Ekeleme et al., 2019). Les plus courantes sont les mauvaises herbes de la famille des Poacées. On peut citer : herbe de Guinée (*Panicum maximum*), herbe de Spear (*Imperata cylindrica*), herbe à grande moquette (*Axonopus compressus*), Fearthey pennisetum (*Pennisetum polystachion*), herbe de roche (*Rottboella conchinchensis*), herbe gamber (*Andropogon gayanus*), herbe du taureau (*Eleusine indica*) et herbe riz de paspalum (*Paspalum commersonii*). Les mauvaises herbes du manioc les plus répandues en Afrique sont *Imperata cylindra*, *Chromolaena odorata* et *Panicum maximum*, *Commelina bengalensis*, *Mimosa paduica*, *Axonopus compressus*, *Cynodon dactylon*, *Penisetum polystachion*, *Dissotis erecta*, *Rottboella conchinchensiss*, *Talinum triangulrae*(Ezedinma et al., 2007).

### **-les maladies du manioc :**

On retrouve essentiellement chez le manioc trois grands groupes de maladie : les maladies virales (viroses), les maladies fongiques (mycoses) et les maladies bactériennes (bactérioses) (Bart & Taylor, 2017) (Tableau 10).

Parmi les plus importantes maladies virales se trouvent :

**-La maladie de la mosaïque du manioc (CMD) :** la mosaïque du manioc (Cassava Mosaic Disease, CMD), causée par un virus transmis par la mouche blanche (*Bemisia tabaci*) (Figure 28, A), est également causée voir aggravée par l'emploi de boutures infectées. Cette maladie peut provoquer jusqu'à 90 % de perte chez les variétés les plus sensibles et même 50 % chez les variétés dites tolérantes (EARRNET, 2015; Vernier et al., 2018). Les symptômes se manifestent par une déformation et une forte décoloration des feuilles (taches jaunes ou vertes pales et des panachures) (Figure 29, A2 et A3), ce qui réduit l'appareil végétatif et une réduction significative de la taille des racines. Cette maladie se manifeste en Afrique avec des variantes du pathogène: le virus de la mosaïque africaine du manioc (African Cassava Mosaic Virus, ACMV), et le virus de la mosaïque est-africaine du manioc (East African Cassava Mosaic Virus, EACMV)(Chikoti et al., 2019; Rey & Vanderschuren, 2017).

**-La striure brune du manioc (CBSD) :** la mosaïque des stries brunes du manioc (Cassava Brown Streak Virus, CBSV) provoque des dégâts importants (Tableau 9). Les symptômes touchent de façon réduite les feuilles (décoloration en mosaïque sur les vieilles feuilles) et les tiges, mais endommagent surtout les racines qui se nécrosent et deviennent inutilisables (Figure 29, C1 et C2). La CBSV est difficile à diagnostiquer car les dégâts sur les feuilles et les tiges n'apparaissent que tardivement, ce qui rend difficile l'identification précoce de la maladie sur les parties aériennes (FAO, 2010; Hillocks et al., 2016).

**- Cassava Frogging Virus,** Il s'agit de l'une des maladies les plus graves des cultures de manioc surtout en Amérique latine, car elle affecte directement la production de racines provoquant des pertes allant jusqu'à 90% ou plus de rendement. Diverses recherches scientifiques révèlent qu'il s'agit probablement d'une maladie d'étiologie virale. Les symptômes (Figure 29, B) sont variables dans la plante en fonction de la température et du génotype. En général, le système radical n'atteint pas le même développement d'une plante saine, les racines restent fines, ligneuses, à coque épaisse et liégeuse, et son contenu en amidon est très faible (Calvert & Thresh., 2002).

**Tableau 10 :** Principaux pathogènes viraux, bactériens et connexes affectant la culture du manioc. (Adapté de COLEACP, 2011; FAO, 2010; Legg *et al.*, 2015; Vernier *et al.*, 2018)

Nom du pathogène	Nom commun de la maladie [% de dommage]	Partie de la plante		
		Feuille	Tige	Racine
<b>Maladies virales</b>				
<i>Cassava Mosaic Virus (CMV)</i> <i>Cassava Mosaic Geminiviruses</i> ( <i>Geminiviridae: Begomovirus</i> ) <i>Indian cassava mosaic virus (ICMV)</i> <i>Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV)</i> <i>African cassava mosaic virus (ACMV)</i>	Mosaïque du manioc (Cassava Mosaic Disease, CMD) [40%]	X		
<i>Cassava Brown Streak Virus</i>	<i>Cassava Brown Streak Disease (CBSD) diseases</i>	X	X	X
<i>Cassava Frogskin Disease</i>	Cassava Frogskin Virus			X
<b>Maladies bactériennes</b>				
<i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>manihotis</i> ( <i>Xpm</i> ), anciennement <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>manihotis</i> ( <i>Xam</i> ),	Bactériose vasculaire du manioc (Cassava bacterial blight, CBB) [90%]	X	X	
<i>Xanthomonas cassavae</i> (anciennement <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>cassavae</i> )	Nécrose bactérienne du manioc (CBN) ou la nécrose bactérienne du manioc ou la tache angulaire des feuilles	X	X	
<i>Pectobacterium</i> (Anciennement <i>Erwinia carotovora</i> ) ssp. <i>carotovora</i> (Ecc)	Pourriture bactérienne ou pourriture molle des tiges et des racines)	X	X	X
<i>Enterobacter cloacae</i>	Enterobacter Cloacae du manioc	X	X	
<b>Maladies à Phytoplasmes</b>				
CFSD <i>Candidatus Phytoplasma</i>	Maladie de la peau de grenouille (Cassava Frogskin Disease, CFSD) [90%]			X
CWB <i>Candidatus Phytoplasma</i>	Maladie du balai de sorcière (Cassava Witches' Broom, CWB)	X	X	



**A1-Symptôme d'acarien vert, semblable à la CMV**  
(FAO,2013)



**A2-Symptômes de la CMV**  
(FAO,2010)



**A3-Symptômes de la CMV sur feuille**  
(Philippe Vernier\_Cirad)



**B-Maladie de la grenouille-FSD)**  
(source : Santana)



**C1-Symptômes de la CBSD sur racine et tige**  
(Vernier et al, 2018)



**C2-Symptômes de la CBSD sur feuille et racine**  
(FAO,2010)



**Figure 29** : Compilation de photos des symptômes des trois principales maladies virales touchant le manioc avec A(CMV), B(CNFD) et C(CBSD)

**Parmi les maladies fongiques du manioc**, les plus connues sont (Tableau 11):

**-Anthracnose du manioc** : causée par un champignon (*Colletotricum gloeosporioides*) transmis par une punaise (*Pseudotheraptus devastans*). L'agent causal porte plusieurs noms : *Glomerella manihotis*, *G. cingulata*, *Colletotrichum gloeosporioides f sp. manihotis*, *Gloeosporium manihotis*, noms qui désignent probablement un seul et même champignon pathogène. Les symptômes (Figure 30, A) se caractérisent par un chancre sur les jeunes tiges et un dessèchement de leurs extrémités. Les attaques apparaissent généralement en début de saison des pluies et se développent avec l'humidité ambiante. En Amérique latine, l'anthracnose attaque surtout les feuilles alors qu'en Afrique, les dégâts se manifestent plutôt sur les tiges. La maladie est aussi transmise par des boutures contaminées (Fokunang et al., 2001).

**-Les nécroses de tiges (Stem Necrosis)** : quand l'air est humide, les boutures de tiges stockées en attente de plantation peuvent être attaquées par deux champignons. *Glomerella cingulata* est plutôt présent en Amérique latine, et *Botryodiplodia theobromae* plutôt en Afrique (Ehui et al., 2019). La pourriture débute à une extrémité coupée de la bouture, puis pénètre dans toute la section de tige durant le stockage. L'incidence de ces pathogènes peut être limitée en évitant de prélever les boutures en saison humide et en les stockant dans des locaux secs et bien ventilés (Ehui et al., 2018).

**-Les pourritures des racines, au compte desquelles** plusieurs formes de pourriture (jusqu'à 80 % de pertes) peuvent affecter les racines de manioc, provoquées par une large gamme d'espèces de champignons pathogènes dont les principales sont : (i) **les pourritures molles des racines (Wet Root Rot)** (Figure 30, F) causées par plusieurs espèces de Phytophthora, telles *P. drechsleri*, *P. erythrospetica*, *P. palmivora*, considérées comme des pseudo-champignons, ils sont responsables de ces pourritures molles. Les racines nourricières sont détruites (Vernier et al., 2018). (ii) **la pourriture sèche des racines (Dry Root Rot)** provoquées par de nombreux champignons soit séparément, soit simultanément, parmi les plus importants, on peut citer : *Rosellinia spp.* (notamment *R. necatrix*), *Armillariella mellea*, *Botryodiplodia theobromae* (Zinsou et al., 2017). Cette forme de pourriture se rencontre dans toutes les régions productrices de manioc, plutôt dans les sols lourds, humides et riches en matière organique (Tata Hangy & Mahungu, 2014).

**Tableau 11** : Principaux pathogènes fongiques affectant la culture du manioc. (Adapté de Vernier et al. ,2018 et de FAO, 2010)

Nom du pathogène	Nom commun de la maladie	Partie de la plante		
		Feuille	Tige	Racine
<b>Maladies fongiques</b>				
<i>Armillariella mellea</i>	Pourriture sèche (Dry Root Rot)			X
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	Stem Rot, Root Rot		X	X
<i>Cercospora henningsii</i>	Maladie des taches brunes (Brown Leaf Spot)	X		
<i>Phaeoramularia manihotis</i> (ex <i>Cercospora caribaea</i> )	Cercosporiose à taches blanches (White Leaf Spot)	X		
<i>Cercospora vicosae</i>	Cercosporiose à taches diffuses ou brûlure foliaire (Diffuse Leaf Spot)	X		
<i>Glomerella manihotis</i> <i>Colletotrichum gloeosporioides f.sp. manihotis</i>	Anthraxnose (Cassava Anthracnose Disease-CAD)	X	X	
<i>Elsinoe brasiliensis</i>	Maladie de la super élancement du manioc (SuperElongation Disease-SED)		X	
<i>Fomes lignosus</i>	Pourritures des racines (Cottony Cassava Rot / White Thread)		X	X
<i>Oidium manihotis</i>	Oidium du manioc ( <i>Cassava Ash</i> )	X		
<i>Phoma spp. (ex Phyllosticta)</i>	Maladie des taches rondes (Concentric Ring Leaf Spot-RLS)	X	X	
<i>Phytophthora spp. (dont P. drechsleri et P. erythrospetica)</i> souvent en association avec <i>Fusarium ssp. (dont F. solani, F. oxysporum)</i> et <i>Pythium spp.</i>	Pourritures molles des racines (Wet Cassava Root Rot)			X
<i>Rosellinia spp. (R. necatrix)</i>	Pourriture noire (Black Root Rot)			X
<i>Uromyces spp.</i>	Rouille du manioc (Cassava Rust) Pourriture	X		
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Pourriture à Sclerotium (Sclerotium Root Rot)		X	X

**-Les cercosporioses** dont les plus marquants sur le manioc sont : la **cercosporiose à taches blanches (White Leaf Spot)** avec pour agent causal *Phaeoramularia manihotis* dont le seul hôte connu est *M. esculenta*, cette maladie a une distribution mondiale, mais elle concerne les zones humides plus froides que la cercosporiose à taches diffuses. Elle provoque une défoliation sévère des cultivars sensibles. Les symptômes sont des taches de 1 à 7 mm, rondes à angulaires, plus petites que celle provoquées par *Cercospora henningsii* (McCallum et al., 2017). **La cercosporiose à taches brunes (Brown Leaf Spot)**, cette maladie est induite par le champignon *Cercospora henningsii* qui s'attaque à plusieurs espèces de Manihot. C'est une des maladies du manioc les plus fréquentes que l'on rencontre sur tous les continents, sa diffusion étant favorisée par les températures élevées (supérieures à 25 °C) en conditions peu humides. Elle se caractérise par l'apparition de taches visibles sur les deux faces des feuilles, de couleur brune avec un centre vert-olive et des bords plus foncés (Figure 30, B) (Vernier et al., 2018). **(iii) cercosporiose à taches diffuses (Diffuse Leaf Spot)**, elle se rencontre dans toutes les zones chaudes et humides, en particulier dans le bassin amazonien où elle provoque des défoliations sévères sur les variétés sensibles, surtout en fin de saison des pluies. Le champignon responsable est *Cercospora vicosae* qui provoque des grosses taches aux bords peu nets, chacune pouvant couvrir plus de 20 % de la surface d'un lobe foliaire (da Costa et al., 2020). Ces symptômes peuvent se confondre avec ceux du flétrissement bactérien (CBB), mais dans ce dernier cas, les lésions présentent un aspect aqueux. (Vernier et al., 2018).

**-La maladie des taches rondes (Concentric Ring Leaf Spot, RLS)**, qui à travers plusieurs champignons, regroupés sous le genre *Phoma spp.* sont responsables de cette maladie. Ils étaient précédemment identifiés comme *Phyllosticta spp.* Les symptômes sont de grosses taches brunes (1 à 3 cm) sur le bord des limbes ou le long des nervures, elles présentent au départ des cercles concentriques disparaissant avec le temps pour devenir uniformément brunes (Tata Hangy & Mahungu, 2014).

**-La maladie de la super élévation (Super Elongation Disease, SED)** (Figure 30, D) est provoquée par le champignon *Elsinoe brasiliensis* (*Sphaceloma manihoticola* étant la forme asexuée). La maladie est fréquente en Amérique latine où les pertes peuvent atteindre 80 % sur les jeunes plantations sans que les plants de six mois ne soient significativement affectés. Elle n'a pas encore été signalée en Afrique ni en Asie, mais le danger qu'elle s'y déclare reste important. La maladie est caractérisée par une élévation exagérée des tiges, la plante infectée devenant beaucoup plus haute et grêle que les plantes saines (McCallum et al., 2017; Vernier et al., 2018).



**A-Anthraxnose sur partie apicale De jeune tige(Vernier et al.,2018)**



**B-Cercosporiose ou maladie des taches brunes (Philippe Vernier-Cirad)**



**C-Cassava Brown leaf spot, (A.A. Seif , Icipe)**



**D-Super élongation du manioc , (Liano G.,2002)**



**E-Phytophthora sur manioc (Vernier et al.,2018)**



**F-Pourritures molles des racines \_wet root rot\_ (Boni N'Zué-CNRA)**

**Figure 30** : Compilation de photos des symptômes de quelques maladies fongiques touchant le manioc



Parmi les maladies bactérienne ou bactérioses du manioc il y a quatre qui sont le plus représentatives, dont la CBB (Cassava Bacterial Blight) est la plus importante. Ces bactérioses sont les suivantes :

**-La maladie des taches foliaires anguleuses (Cassava Angular Leaf Spot, CBN).** Cette maladie, **la nécrose bactérienne du manioc (CBN) ou la tache angulaire des feuilles**, induite par *Xanthomonas cassavae* (*Xc*) (anciennement *Xanthomonas campestris* pv. *cassavae* Wiehe & Dowson) est signalée en Afrique, dans l'est et le sud. La bactérie en cause (*Xc*) provoque la destruction de vastes zones de la lame et une défoliation, mais pas de flétrissement ni d'infection de tige. Elle diffère de *X. phaseoli* pv. *manihotis*, *Xpm* (agent causal de la bactériose vasculaire du manioc) par sa couleur jaune pâle (Maraite & Meyer, 1975). Les symptômes typiques sont des taches foliaires angulaires (Figure 31, B) qui se développent moins rapidement que celles induites par *Xpm* (Flores et al., 2018). Dans les cas graves, la nécrose bactérienne peut entraîner une défoliation de la plante, bien que la maladie ne devienne pas systémique et que l'agent pathogène envahisse uniquement le cortex des tiges, pas les tissus vasculaires. La CBN est rare chez les jeunes plants vigoureux et n'est indiqué que par quelques symptômes foliaires. Les attaques sur les tiges sont plus fréquentes au début de la période de floraison, lorsque la croissance des plantes est ralentie (Flores, 2017).

**-La pourriture bactérienne des tiges du manioc (Cassava Bacterial Stem Rot)** ou pourriture molle des tiges et des racines est une autre bactériose qui présente une certaine importance dans des zones de production en Amérique latine comme le cas de la Colombie. L'agent causal est la bactérie *Pectobacterium* (Anciennement *Erwinia carotovora*) ssp. *carotovora* (Ecc) dont le vecteur est la mouche du manioc (*Anastrepha* spp., Diptère - Tephritidae) (Hillocks & Wydra, 2002). Les symptômes sont d'abord une pourriture interne de la tige et un flétrissement puis un dépérissement des jeunes pousses, une nécrose des extrémités et un développement de chancres sur les parties lignifiées, par moment une pourriture interne des racines de manioc (Montaldo, 1991).

**-L'enterobacter Cloacae du manioc, *Enterobacter cloacae*** dans le manioc est une bactérie qui provoque des symptômes (Figure 31, C) similaires à la CBB montrant des lésions angulaires imbibées d'eau sur la lame des feuilles, qui sont ensuite devenues nécrotiques avec un halo chlorotique. Les stades avancés de la maladie induisent une sénescence précoce des feuilles laissant la tige nue. Les bactéries isolées ont formé de petites colonies beiges, luisantes et lisses avec des marges régulières (Santana et al., 2012).



**A-CBB avec symptômes sur jeunes pousses (Valérie Verdier-IRD)**



**B-Symptômes de la maladie des taches foliaires anguleuses- CBN (Flores,2017)**



**D-Maladie du balai de sorcière-CWB (Source :CIAT)**



**C-Symptômes de *Enterobacter cloacae* (Santana et al., 2012)**



**E-Maladie de la peau de grenouille (Cassava Frogskin Disease - CFSD)  
: racine saine (en haut) ; racine atteinte (en bas).  
(©Hernan Ceballos, CIAT)**

**Figure 31 : Différents symptômes des maladies bactériennes les plus fréquentes sur le manioc**

### 3.2.3.3-Gestion des contraintes : cas des bioagresseurs

Un contrôle efficace des bioagresseurs suppose une démarche intégrée combinant plusieurs approches : techniques culturales, résistance variétale, lutte chimique ou biologique.

#### - Lutte contre les ravageurs

De façon globale le contrôle des ravageurs passe par une série de mesure de lutte agronomique, biologique, qui sont plus préconisées que celle chimique, car l'utilisation d'insecticides chimiques, si elle permet de contrôler le ravageur sur le court terme, conduit à l'apparition de résistance chez l'insecte et ne constitue pas une solution durable, sans parler des risques que cela représente pour l'environnement et la santé humaine (Bellotti et al., 1999; Graziosi et al., 2016).

Pour les arthropodes, en cas de lutte chimique, des applications foliaires de *Thiamethoxam* et d'*Imidaclopride* se sont montrées efficaces. Quant à la lutte biologique, c'est la voie la plus prometteuse et à la fois durable, stable et peu onéreuse pour les agriculteurs. De nombreux ennemis naturels comme la chrysope verte (*Chrysoperla carnea*), s'attaque à *A. socialis* sur le manioc. Aussi, des parasitoïdes, les genres *Encarsia*, *Eretmocerus* et *Amitus*, s'attaquent aux aleurodes du manioc (Neuenschwander, 2001). D'autres parasitoïdes s'attaquent aux œufs, en exemple les micro-hyménoptères *Trichogramma spp.* et *Telenomus sphingis* sont les plus fréquents (James et al., 2000). Egalement plusieurs espèces de phytoséiides se nourrissent d'acariens rouges (*Tetranychus spp.*), notamment *Euseius concordis\**, *Galendromus annectens*, *Neoseiulus anonymous\**, *N. chilensis*, *N. idaeus\**, *Phytoseilus macropilis* et *P. pessimilis*, certaines (\*) attaquant également les acariens verts (*M. tanajoa*). A ces ennemis naturels, on peut ajouter les micro-organismes comme des champignons (*Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* et *Paecilomyces lilacinus*), des bactéries (*Bacillus popilliae* et *Servatia sp.*) ou des nématodes (*Steinernema feltiae*, *S. krausseii* et *Heterorhabditis bacteriophora*) (Vernier et al., 2018). Quant aux méthodes de lutte biologique opérationnelles, des pulvérisations à base de *Bacillus thuringiensis* ont montrées leur efficacité (Ejiofor, 1991).

Aussi les Pratiques comme le suggérait Dordas (2008): -la sélection de bouture saines, le brûlage des tiges résiduelles infestées et l'arrachage de plants de manioc de plus de 2 ans ; -des dates de plantation appropriées, – toutes techniques favorisant la croissance de la plante comme des désherbages réguliers et une fertilisation adéquate quand elle est nécessaire; – les pièges de couleur jaune qui attirent les aleurodes dans des réceptacles contenant du produit insecticide.

La sélection de variétés résistantes aux ravageurs (utilisation de variétés hôtes résistantes (Host Plant Resistance, HPR).

On pourra également mettre en avant les actions de prévention (limiter les déplacements des parcelles infestées vers des parcelles indemnes (outils, machines, matériel végétal) ; – mettre en place une politique de quarantaine pour préserver les territoires encore indemnes ; – traiter les boutures avant plantation en zones infestées par trempage dans une solution insecticide ; – éviter les traitements insecticides en plein champ (pour préserver les auxiliaires). Le Contrôle par : –une surveillance régulière des champs (comptage de ravageurs toutes les 2 à 4 semaines) (Agahiu et *al.*, 2011).

#### **-Lutte contre les mauvaises herbes**

Pour endiguer les mauvaises herbes , il faut des actions comme : (i) le sarclage (en l'absence d'herbicide), il faut souvent pratiquer 3 à 4 sarclages, le premier vers 3 ou 4 semaines après plantation, puis ensuite au 2<sup>e</sup> , au 4<sup>e</sup> et au 7<sup>e</sup> mois ; (ii) la lutte chimique (usage des herbicides, composés de matières actives telles Alachlore Diuron, Fluométuron Linuron, Métribuzine Oxyfluorène, Fluazifop-butyl, S-métolachlore) et aussi la sélection de variétés tolérantes aux herbicides (Ezedinma et *al.*, 2007; Melifonwu, 1994).

#### **-Lutte contre les maladies**

À l'heure actuelle, un certain nombre d'options de lutte culturale, chimique et biologique, ainsi que des approches curatives et préventives, sont disponibles pour lutter contre les différentes maladies du manioc.

**a-Les méthodes agrotechniques:** Les bonnes pratiques culturales (dont l'ensemble est appelé la phytosanitation) comme : destruction des plantes présentant les symptômes, rotation avec des cultures de graminées est préconisée. Faute de matériel végétal exempt de maladie, immerger les boutures dans de l'eau chaude (50°C ) pendant environ 50 minutes, planter sur des sols modérément profonds, à texture légère, avec un bon drainage interne, améliorer le drainage en réduisant le labour et en paillant. Cultiver le manioc en rotation avec des céréales ou des plantes herbacées, après avoir utilisé des outils dans une parcelle contaminée, les stériliser ; planter en fin de saison des pluies à l'eau chaude ou dans une solution diluée de désinfectant tel que l'hypochlorite de sodium. Veiller à une fumure adéquate des plantes, surtout pour le potassium, arracher et brûler tous les plants atteints ainsi que les résidus de récolte contaminés. Pour prévenir la transmission par le sol à la culture suivante, pratiquer des rotations avec d'autres

cultures, ou laisser le champ en jachère au moins six mois entre deux cultures de manioc (Banito, 2003; Banito et al., 2007; Guthrie, 1990).

**b-Résistance variétale** , à travers L'utilisation de variétés résistantes ou tolérantes reste la méthode la plus efficace et la plus économique pour les agriculteurs (Lozano & Sequeira, 1974). La sélection de variétés résistantes est, sur le long terme, une stratégie très efficace pour contenir bon nombre de maladie des végétaux (Ferguson et al., 2019). Les techniques de transformation génétique offrent de grands espoirs pour la création de variétés à forte résistance. L'induction de résistance basée sur l'utilisation des siRNAs (Gene Silencing), il a été clairement démontré que le CBSV et le UCBSV pouvaient être complètement contrôlés (Odipio et al., 2014; Patil et al., 2011).

**c-Lutte prophylactiques et législative**, un système de quarantaine instauré pour éviter l'introduction de matériel végétal depuis les régions infestées. Pour une optimisation de l'utilisation de boutures provenant de plantes saines, il faut des restrictions des mouvements de matériel végétal non certifié (Schumann & D'arcy, 2010).

**d-La lutte biologique** à travers l'usage de vivant pour éliminer les pathogènes, comme la pulvérisation sur les feuilles de manioc de souche de *Pseudomonas putida*, en solution aqueuse, à une concentration en bactéries de 10<sup>9</sup> cellules/ml, à raison de 4 fois par mois en saison des pluies, a donné des résultats encourageants au CIAT, mais demande encore plus d'investigation (CIAT, 2011).

**e-Lutte chimique** : L'utilisation de fongicide à base de cuivre en suspension huileuse permet un bon contrôle. Il faut le plus souvent traiter les boutures par immersion dans : – une solution de fongicide à base de cuivre durant 10 mn ; – un extrait de pépins de citron durant environ 15 mn ; – l'eau chaude à 49 °C durant 49 mn (thermothérapie). Aussi les boutures peuvent être plongées dans une solution fongicide (en Colombie on recommande 10 minutes de trempage dans une solution à 4,8 g/l de captafol). En cas de symptômes foliaires, des pulvérisations sur le feuillage peuvent être appliquées (par exemple, difénoconazole comme matière active). Aussi L'utilisation de produit nématocide à base d'extraits de plantes (par exemple, Sincocin®), en traitement de sol (1 litre/ha) ou par immersion des boutures dans une solution à 1 %, est recommandée par le CIAT (Oerke, 2006; Vernier et al., 2018).

### **3.3-La bactériose vasculaire du manioc causée par *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis***

Selon Lozano et Sequeira (1974), la CBB a été identifiée pour la première fois au Brésil en 1912 puis dans le même pays, dans les années 40 et 50. Par la suite dans d'autres pays d'Amérique Latine, Colombie en 1972 , Venezuela en 1974 , Équateur en 1975 (Ibekwe, 1978; Ortega-Cartaya & Velasquez, 2005). De 1985 à 1987, la maladie a été signalée à Trinidad (Jann & Fritz, 1991).

En Afrique, sa présence a été signalée depuis 1970 au Zaïre , ou avait été observé un dépérissement sévère entraînant un rendement et parfois une destruction complète des jeunes plantations dans la partie sud du pays, au Nigéria en 1972 (Daniel, 1977) , au Niger (1972), au Cameroun (1975) , Ghana (1975), Togo (1975), Bénin (1976), Côte d'Ivoire (1977), Congo (1977), Rwanda (1977), Burundi (1977), Kenya (1978), Tanzanie (1978), Burkina (2015) (Ibekwe, 1978; Maraite & Meyer, 1975; Onyeka et al., 2004; Wonni et al., 2014).

Quant à l'Asie, c'est en 1976 que la CBB avait été signalé en Thaïlande et en Malaisie (Graziosi et al., 2016) . Il a été signalé que la maladie du manioc n'était pas grave en Indonésie en 1975 (Ortega-Cartaya & Velasquez, 2005). En Océanie très récemment 2017, la maladie a été signalé dans les Iles Salomon (Taylor et al., 2017).

La bactériose vasculaire du manioc, Cassava Bacterial Blight, CBB est donc présente tout au long de la ceinture intertropicale depuis les années 1970. En effet il a été trouvé dans la plupart des régions productrices de manioc d'Amérique centrale, d'Amérique du Sud, des Caraïbes, d'Afrique et d'Asie et très récemment d'Océanie (Figure 32). On constate qu'un important nombre de pays touchés sont situés en Afrique (Tableau 12).

#### **3.3.1-Impact, importance de la maladie**

La maladie provoque des pertes de récolte variables en fonction de la sensibilité de la variété de manioc, de la virulence des souches de *Xpm* et des conditions environnementales (Fanou, Zinsou, & Wydra, 2018). L'importance de la CBB est basée sur le degré d'incidence et de gravité de la maladie sur le rendement de la production de manioc (Harris et al., 2015).

**Tableau 12:** Situation de la CBB en Afrique (Adapté de CABI (2019))

	Pays/Région	Distribution	Reference	Récents travaux sur la CBB
<b>Région Ouest</b>				
1	Benin	Présent	Akle & Gnouhoué, 1979; Bradbury, 1986; EPPO, 2020	Fanou <i>et al.</i> , 2018
2	Burkina Faso	Présent	Wonni <i>et al.</i> , 2015	Winnik <i>et al.</i> , no published
3	Côte d'Ivoire	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020; Notteghem <i>et al.</i> , 1980	Toure <i>et al.</i> , 2020
4	Ghana	Présent	CAB-International, 1993; EPPO, 2020; Notteghem <i>et al.</i> , 1980	Abdulai <i>et al.</i> , 2018
5	Mali	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020; Kranz & Hammat, 1979	Kante <i>et al.</i> , 2020
6	Niger	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020; Kranz & Hammat, 1979	
7	Nigeria	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020	Ogunjobi <i>et al.</i> , 2006 Ogunjobi <i>et al.</i> , 2010
8	Afrique du Sud	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020; Manicom <i>et al.</i> , 1981	
9	Togo	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020	Wydra & Verdier, 2002 Verdier <i>et al.</i> , 2007
<b>Région Centre</b>				
10	Cameroun	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020	
11	République Centrafricaine	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; Daniel <i>et al.</i> , 1981; EPPO, 2020	
12	Congo	Présent	Bradbury, 1986; Daniel <i>et al.</i> , 1981; Daniel <i>et al.</i> , 1979; EPPO, 2020	
13	République Démocratique du Congo	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020	
<b>Région Est</b>				
14	Burundi	Présent	Autrique & Perreaux, 1989	
15	Kenya	Widespread	Onyango & Ramos, 1979	Chege <i>et al.</i> , 2017
16	Rwanda	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020	
17	Soudan	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020; Kwaje, 1982	
18	Tanzanie	Présent	Bradbury, 1986; EPPO, 2020; Nyango, 1979	
19	Ouganda	Présent	Bradbury, 1986; EPPO, 2020; Nyango, 1979	
<b>Région Sud</b>				
20	Malawi	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020; Kranz & Hammat, 1979	
21	Afrique du Sud	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020; Manicom <i>et al.</i> , 1981	
<b>Régions insulaires</b>				
23	Comores	Présent	EPPO, 2020	
24	Madagascar	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020	
25	Ile Maurice	Présent	Bradbury, 1986; CAB-International, 1993; EPPO, 2020	
26	Mayotte	Présent	Schotman, 1989	

L'agent causal de la brûlure bactérienne du manioc (CBB) est le sixième pathogène bactérien le plus nuisible au monde s'attaquant aux végétaux (Mansfield et *al.*, 2012), par conséquent la CBB peut occasionner des pertes économiques considérables qui concernent les racines tubéreuses, les feuilles et le matériel de plantation.

La bactériose vasculaire du manioc en tant que l'une des maladies bactériennes les plus répandues du manioc, peut compromettre gravement sa production et donc la sécurité alimentaire pour plus d'un milliard de personnes, qui dépendent de l'amidon de manioc comme principale source de calories (Begue, 2017). Elle se propage facilement lorsque les conditions climatiques sont favorables (humidité et chaleur) et peut décimer totalement un champ si une attaque survient à un stade précoce (Ameu et *al.*, 2013; Verdier et *al.*, 2012). La maladie de la CBB peut entraîner des pertes allant jusqu'à 90 % de la récolte lors d'attaques importantes si les conditions environnementales sont favorables (Lozano, 1986). Par moment les pertes de rendement oscillent de 50 à 100%, selon le génotype et les conditions environnementales (Lozano, 1986; Wydra & Verdier, 2002), et dans des cas graves, contribué à des situations de famine dans certains pays africains (Lozano & Sequeira, 1974; Ogunjobi et *al.*, 2006).

La prévalence et la gravité de la maladie ont diminué au cours des 10 dernières années dans des régions du monde, telles que l'Amérique du Sud, grâce à la mise en place de pratiques culturales adéquates et à l'utilisation de cultivars résistants. Cependant, dans d'autres régions, telles que l'Asie du Sud-Est et l'Afrique subsaharienne, une augmentation considérable de l'incidence du CBB a été observée, probablement en raison d'une augmentation des précipitations et de la température liée au changement climatique mondial (Reynolds et *al.*, 2015).

En Afrique, des dégâts de l'ordre de 75% ont été rapportés au Ghana, au Nigeria, et au Bénin ; et de 90 à 100% en Ouganda (Abaca et *al.*, 2013; Akle & Gnouhoué, 1979; Otim-Nape, 1980). La CBB a provoqué de graves épidémies en Afrique lors de son introduction. Par la suite au cours de l'année 1996, les pertes de rendement due à la CBB dans la principale zone de production de manioc, les basses terres humides d'Afrique, ont été estimées à 3,2 millions de tonnes avec 60% de la superficie affectée (Hillocks & Wydra, 2002; Moses et *al.*, 2007). En Ouganda, on a évalué l'incidence de la CBB sur six variétés de manioc parmi lesquelles la variété TME-14 présentait une incidence de 100% et la plus faible sur la variété NASE 14 avec 73,8%. Cela confirme que le CBB est encore une maladie grave du manioc dans cette région et souvent limitée aux jeunes tissus végétaux de toutes les variétés étudiées (Abaca et *al.*, 2013). Des enquêtes au Bénin montrent que le manioc dans les zones de savane est sujet à une



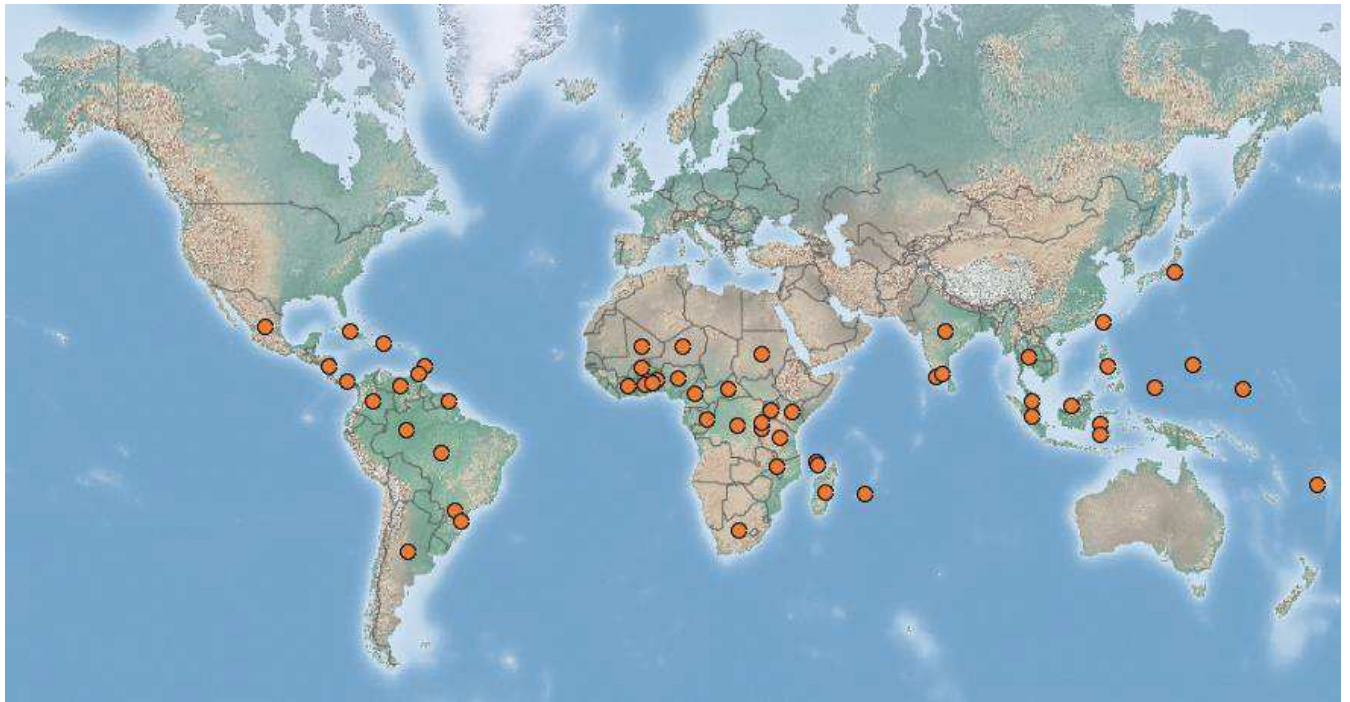
incidence de 34,5 à 84,1% et un pourcentage élevé de plantes présentant des symptômes systémiques (K. Wydra & Verdier, 2002). Au Ghana la CBB prévaut dans plusieurs zones agro écologiques (de la savane à la zone de forêt tropicale), avec des prévalence de 20 à 70% (Abdulai et al., 2018). Au Nigeria, les enquêtes ont mis en évidence une forte variation régionale de l'incidence de la CBB entre les zones agroécologiques de savane (la plus élevée du fait de la survie du pathogène dans les débris végétaux pendant la saison sèche) et la zone de forêt humide (Onyeka et al., 2004). En Côte d'ivoire des niveaux de 100% de pertes de récoltes ont été constaté (Toure et al., 2020).

En Amérique latine, en Colombie, la maladie a été très destructrice en 1971 (Verdier et al., 2012). Dans ce pays les pertes de CBB varient de 12 à 90% et sont les plus sévères pendant les saisons humides (Restrepo et al., 2000) . Quant au Venezuela , la CBB considérée comme une maladie endémique, le gouvernement depuis 1977, avait interdit le transfert de matériel de manioc de l'est (États d'Anzoátegui et Monagas) vers le reste du pays, toutefois la maladie a été signalée dans d'autres régions (Montaldo & Quintero, 1982; Velasquez, 2000). Cette situation au Venezuela, a générée une réduction importante du rendement jusqu'à 60% ou, dans des cas extrêmes, des pertes totales de la récolte (Chirinos et al., 2006)

En Asie, utilisant un cultivar sensible dans un essai, Leu (1978) a rapporté que la perte causée par le CBB dans la région de Puli à Taiwan différait d'un champ à l'autre et a observé une perte de rendement racinaire de 10 à 15% sous 10 à 20% d'incidence de la maladie et une perte de rendement de racine de 25 à 30% lorsque l'incidence de la maladie était de 35 % ou plus. Cette maladie est capable de provoquer des pertes de rendement comprises entre 12 et 92% en Asie du Sud-Est (Persley, 1979).

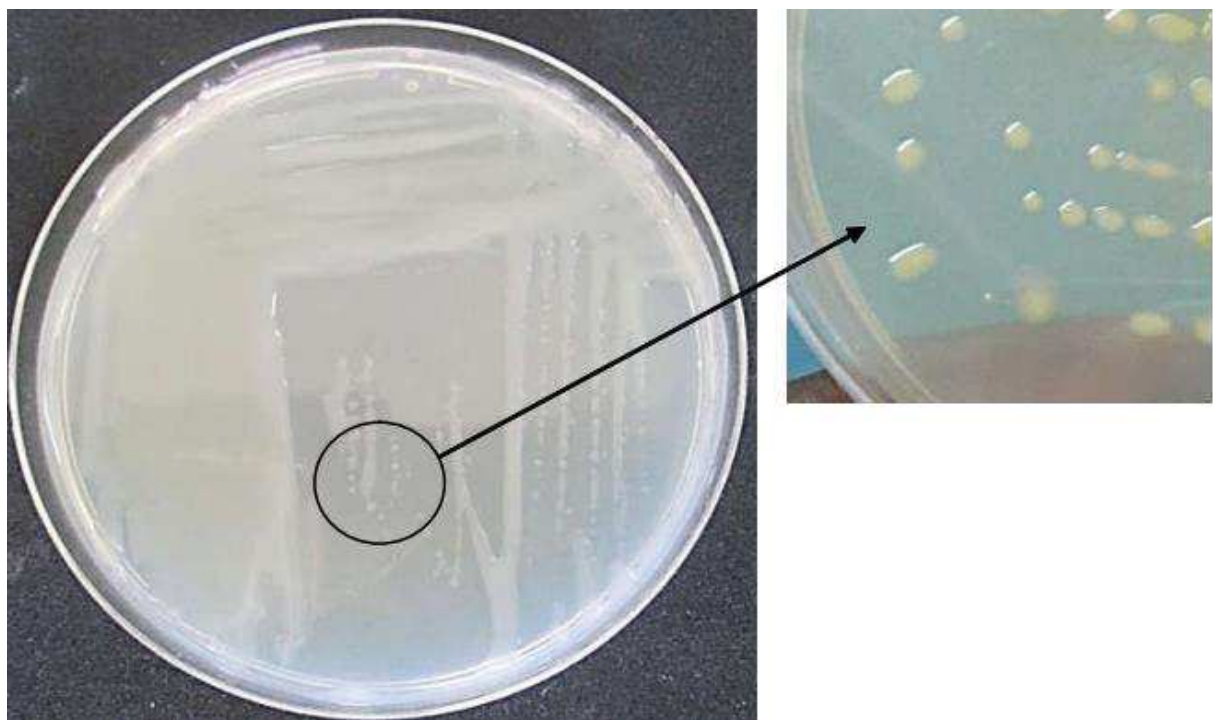
### 3.3.2-*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*:

*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*), une bactérie à Gram négatif du genre *Xanthomonas* a d'abord été nommé *Bacillus manihotis* Arthaud-Berthet, puis *Phytomonas manihotis* (Arthaud-Berthet et Bondar) Viegas, plus tard *Xanthomonas manihotis* (Arthaud-Berthet) Starr, puis *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* (Berthet et Bondar ) (Dye, 1978). Il y a deux décennies, sur la base des investigations génotypiques, Vauterin et al. (1995) ont proposé une reclassification de *Xanthomonas*, renommant le pathogène CBB *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*). Puis récemment, le pathogène s'est vu changer de nom pour *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) étant donné sa forte parenté avec le groupe *X. phaseoli* (Constantin et al., 2016).



**Figure 32** : Répartition mondiale de la CBB.

En point rouge les pays où la maladie a été signalée (Cabi, 2020, consulté le 15-02-2020).



**Figure 33** : Colonie bactérienne de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* de 72 heures sur milieu de culture LPGA (Affery et *al.*, 2018).

Le pathogène est structuré de façon systématique comme suit (Bradbury, 1986; Garrity et al., 2004):

Règne(ou domaine):.....Bacteria

Embranchement (ou Phylum): BXII .....Proteobacteria

Classe:III.....Gammaproteobacteria

Ordre:III.....Xanthomonadales

Famille:I.....Xanthomonadaceae

Genre:.....Xanthomonas (Avec 23 especes)

Espèce :.....*Xanthomonas phaseoli* pv manihotis

### **3.3.2.1-Characteristiques morphologiques et physiologiques de *Xpm*:**

Le test de coloration Gram réalisé par Burholder (1942) montre que *Xpm* est une bactérie aérobie stricte (obligatoire) Gram négatif utilisant l'oxygène comme accepteur d'électrons terminal (Swings et al., 1993), et produit du Xanthane qui donne un aspect visqueux aux colonies (Affery et al., 2018). Les souches ne produisent pas de pigment jaune sur les milieux contenant du sucre, ce qui est exceptionnel pour le genre *Xanthomonas*, qui pousse normalement en colonies jaunes. Elle pousse de façon optimale entre 25 et 30° C. Son développement est favorisé entre pH 6,5 et 7,2 (Fanou et al., 2018). Sa croissance sur le milieu LPGA pour Levure Peptone Glucose Agar (Figure 35) est lente et les colonies sont visibles au bout de 48h d'incubation (Daniel, 1977). Après deux jours de culture, le diamètre de ces dernières varie entre 1,5 et 3 mm (Ogunjobi et al., 2010). Elles ne forment pas de spores, les colonies sont et sont mucoïdes, apigmentées, lisses et d'un blanc ivoire scintillant, lisses, convexes, avec des contours réguliers, non pointues et d'aspect visqueux (Onyeka et al., 2008). Les cellules de *Xpm* sont mobiles et ont une flagellation polaire et monotricheuse (Fanou et al., 2018).

### **3.3.2.2-Techniques d'identification-détection**

Pour l'identification des agents phytopathogènes comme *Xpm*, de nombreuses techniques existent et se fonde essentiellement sur des principes biologiques, biochimiques et moléculaires (Lepoivre, 2003). Pour son identification morphologique après une analyse phénotypique et biochimique, *Xpm* répond aux caractéristiques citées dans la section précédente.

Sur le plan moléculaire, *Xpm* peut être diagnostiqué par des méthodes de détection directe ou indirecte. Au nombre des méthodes directes dont le principe est de procéder à travers l'agent

pathogène et/ou ses composants, tels que les acides nucléiques, les protéines structurales et non structurales, etc. qui seront détectés (Flores, 2017). Les méthodes de détection directe les plus courantes sont : la culture bactérienne (pour cela la culture des bactéries dans des milieux synthétiques sélectifs ou non sélectifs afin de s'enrichir pour le pathogène s'il est cultivable), la microscopie électronique, l'immunofluorescence, l'immunohistochimie ou l'hybridation d'acide nucléique (NAH). Les trois dernières citées sont basées sur la visualisation du pathogène. Aux précédentes méthodes citées, il existe une autre, la plus courante de nos jours, c'est à travers de la PCR (réaction en chaîne par polymérase) basée sur l'amplification des acides nucléiques (Abdulai et al., 2018). Le séquençage des gènes domestiques comme gène *rpoB* dans le cas du genre *Xanthomonas* est un autre moyen rapide et fiable d'identifier les agents pathogènes comme *Xpm* (Ferreira-Tonin et al., 2012).

Quant aux méthodes indirectes, elles se fondent essentiellement sur des techniques biologiques comme le principe anticorps (la détection de molécules induites par des infections). Les méthodes indirectes les plus couramment utilisées pour la détection des agents infectieux comme *Xpm* sont la détection des anticorps par ELISA et les tests d'inhibition de l'hémagglutination (Lepoivre, 2003).

Des études antérieures sur le diagnostic de *Xpm* ont rapporté l'utilisation de tests de routine comme celles physiologiques, biochimiques, sérologiques et moléculaires (Belkum, 2007; Ferreira-Tonin et al., 2012; Flores et al., 2019; Poulin, 2014; Ramcharan et al., 2017; Verdier & Mosquera, 1999; Verdier et al., 2007).

Pour les tests biologiques et biochimiques, on a pu différencier *Xpm* et *X. cassavae* (Flores et al., 2018), soulignant que les deux espèces sont biochimiquement similaires et sérologiquement apparentées, mais distinctes. Alors que *Xpm* était sérologiquement distinct de *Xc*, et les *Xc* colombiens isolés avaient des propriétés antigéniques communes (Elango & Lozano, 1981).

Quant aux techniques moléculaires, des marqueurs moléculaires traditionnellement utilisés (également appelés marqueurs génétiques) sur les bactéries comprennent les gènes codant pour l'ARNr 16S et 23S, les gènes domestiques (tels que *rpoB*, *gyrB*, *dnaK*, *dsrAB*, *amoA*, *amoB*, *mip*, *horA*, *hitA*, *recA*, *ica*, *frc*, *oxc*), régions d'espacement interne de l'ADNr 16S-23S et IS256 (Liu et al, 2012). Plusieurs méthodes de diagnostic ont été développées spécifiquement pour *Xpm*: tests PCR et Nested-PCR, hybridation dot-blot et ELISA (Assigbetsé et al., 1998; Lopez et al., 2007; V. Verdier et al., 2007).

Très récemment des études ont mis au jour l'usage de la PCR multiplex pour identifier *Xpm*, comme Bernal-Galeano et al. (2018) qui a développé une multiplex permettant de détecter l'agent pathogène infectant le manioc. Aussi Flores et al., (2019) qui a pu mettre en place un outil permettant de distinguer *Xpm* et *Xc*.

### **3.3.3-Symptomatologie de la bactériose vasculaire du manioc:**

La bactériose vasculaire du manioc (CBB), selon plusieurs auteurs (Affery et al., 2018; Fanou et al., 2018; Graziosi et al., 2016; Verdier et al., 2007) se manifeste d'abord par des taches foliaires anguleuses, à l'apparence aqueuse (ou huileuse), un exsudat est secrété au niveau des pétioles et des jeunes tiges, les feuilles se flétrissant lentement jusqu'à se dessécher complètement et finir par tomber (Figure 34). Au stade avancé de la maladie, la partie aérienne de la plante meurt en commençant par le haut. En cas d'attaque sur une variété tolérante, celle-ci réagit en produisant des rejets à partir de sa base.

En résumé les symptômes se caractérisent par des taches anguleuses sur le limbe, des brûlures foliaires avec production d'une toxine ; un flétrissement des feuilles, des lésions sur tiges avec production d'exsudat, une défoliation des rameaux et un dessèchement des sommités.

### **3.3.4-Epidémiologie : Condition favorable et dissémination de la bactériose vasculaire du manioc**

La bactériose vasculaire se développe le mieux en période de température et d'humidité élevée (au-delà de 23°C, avec HR supérieur à 80%), son développement est favorisé entre pH 6,5 et 7,2 (Fanou et al., 2018). Elle se répand rapidement quand les conditions météorologiques sont favorables (humidité et chaleur), d'où pour certains paysans, elle est causée par le tonnerre (FAO, 2014).

La maladie frappe davantage dans des conditions de culture marginales, avec un sol pauvre ou une forte concurrence des adventices. Elle se développe bien en écologie de savane et lors des périodes chaudes et humides (lors de fortes précipitations, l'humidité de l'air devient considérable) (Onyeka et al., 2008; Wydra et al., 2007). La sensibilité à la maladie dépend de la variété (Banito et al., 2008; Banito et al., 2007; Jorge & Verdier, 2002).

La maladie se transmet facilement par des bactéries (*Xpm*) présentes dans les exsudats secrétés par la plante. Ces bactéries se disséminent par différents moyens : pluie (éclaboussures), instruments aratoires (machettes, houes, cisailles etc.) ; animaux ; et humains. Donc la transmission se fait de préférence de façon naturelle par la pluie et le vent, via l'action de l'homme qui favorise le plus la dispersion de cette maladie par échange de boutures.



**Figure 34** : Illustration de l'évolution symptomatique de la CBB.

Avec feuille saine (A), lésions angulaires sur face supérieure d'une feuille (B) , face inferieure avec taches foliaires anguleuses (C1) , lésion à l'apparence aqueuse ou huileuse(C2), exsudation gommeuse sur tige (D), flétrissement et dessèchement de feuilles du plant attaqué (E1) et défoliation complète et mort du plant (E2) [Assemblage par Kanté (2020)].

Aussi elle est transmise par les boutures infectées, mais aussi par les opérations culturales (outils de travail, sol...), les pluies, les vents, et les insectes vecteurs notamment le *Zonocerus variegatus* (orthoptère), souvent impliqué dans la transmission de la bactériose du manioc (Fanou et al., 2018).

Les boutures sont la principale source de contamination, car les bactéries *Xpm* vivent à l'intérieur de la plante, et c'est pourquoi l'utilisation de boutures saines réduit la contamination de manière significative (Mora et al., 2019). *Xpm* survit épiphytiquement sur certaines mauvaises herbes présentes dans et autour des champs de manioc (*Brachiaria deflexa*, *Commelina benghalensis*, *Cyathula prostrata*, *Dactyloctenium aegyptium*, *Digitaria horizontalis*, *Euphorbia heterophylla*, *Mariscus alternifolius*, *Physalis angulata*, *Pupalia lappacea*, *Solanum nigrum*, *Talinum triangulare*, *Tridax procumbens*) sans développer de symptômes de brûlure. Elle survie plus de 5 mois dans les débris de manioc non pourris. (Fanou et al., 2018).

### **3.3.5-Epidémiologie : Cycle de la maladie**

Fanou et al, 2018, a décrit le cycle de vie de la CBB (encadré 4). Selon eux, le cycle du CBB (Figure 35) est caractérisé par deux phases, une phase parasitaire pendant la saison des pluies et une phase de survie pendant la saison sèche (Daniel, 1991).

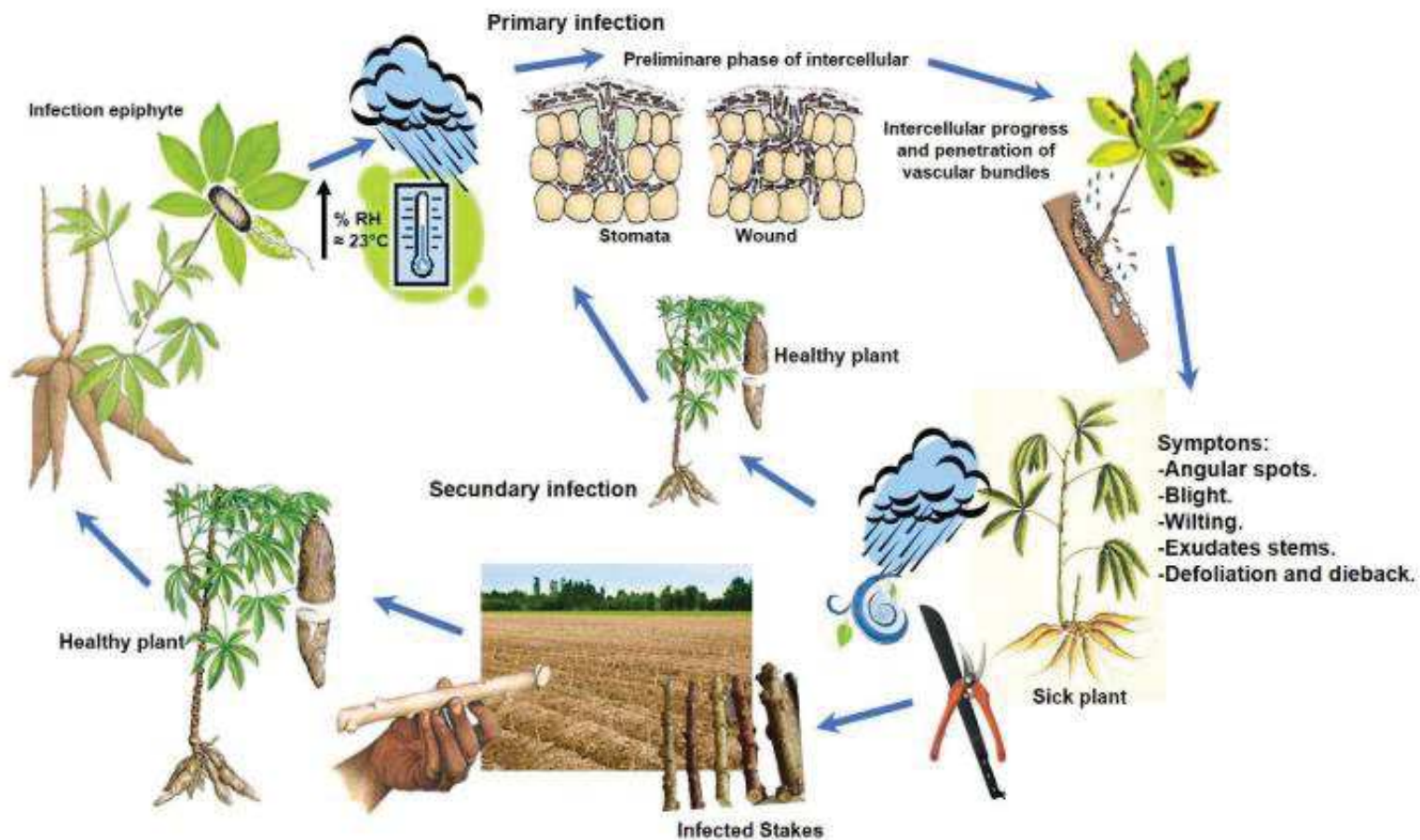
La phase de survie a lieu essentiellement en saison sèche et assure le maintien de la bactérie jusqu'à la nouvelle saison des pluies. La période de survie est marquée par un arrêt de l'expression de la bactériose. On observe également une baisse importante des populations bactériennes. *Xpm* se maintiendrait durant cette phase au niveau de débris végétaux à la surface du sol, des tiges, feuilles, fruits et semences de la plante hôte jusqu'à la saison des pluies. *Xpm* se retrouve aussi dans les plantes hôtes réservoirs telles que *Manihot glaziovii*, *Euphorbia pulcherima* (Euphorbiacées) et *Amaranthus dubius* (Amaranthacées). Daniel et Boher (1982) ont détecté 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.

## **Encadré 2 : Déroulement du cycle de la CBB (Adapté de Fanou et al. ,2018)**

Avec le début des précipitations à la fin de la saison sèche, la population résiduelle épiphyte de *Xpm* (Daniel & Boher, 1985; Persley, 1978) se multiplie et pénètre dans les tissus des feuilles par des plaies épidermiques et par des ouvertures naturelles comme des stomates. Après quelques jours à 1 semaine, les premiers symptômes sont visibles sous forme de taches translucides imbibées d'eau lorsqu'ils sont observés à contre-jour. Ces taches translucides sur la surface abaxiale des feuilles deviennent des taches vert foncé anguleuses limitées par des nervures et sont irrégulièrement réparties sur la lame. Plus tard, les taches s'élargissent, les taches voisines se rejoignent pour former de grandes taches brunes. Dans les lésions, des gouttelettes d'exsudats blanc crème qui deviennent jaunes sont observées. Ces exsudats sont également visibles sur les tiges et souvent sur les pétioles foliaires sous une forte humidité de l'air. Les jours suivants, les parties affectées des feuilles fusionnent et montrent, y compris aussi les pointes des feuilles, une apparence superficiellement brûlée, les symptômes de la brûlure. La brûlure foliaire est due à la production de toxines par la bactérie, telles que l'acide 3-(méthylthio) propionique (Perreaux et al., 1986) l'acide tiglique, l'acide phénylacétique, l'acide cyclopentanecarboxylique (Ewbank, 1992). À partir des feuilles, les bactéries se déplacent systématiquement dans le pétiole et la tige et continuent de se multiplier de manière discontinue dans toute la plante, bloquant le mouvement de l'eau et des nutriments dans le système vasculaire de la tige ligneuse et induisant le flétrissement des feuilles. Les pétioles des feuilles fanées restent généralement attachés horizontalement à l'axe de la tige principale pendant un certain temps, avant que la base du pétiole ne s'effondre. Progressivement, les feuilles fanées tombent provoquant une défoliation de la pointe des pousses. Enfin, les tissus mous non lignifiés au sommet de la pousse en croissance meurent, donnant aux plantes un symptôme caractéristique de bâton de bougie ou un dépérissement de la pointe. Les pousses nouvellement en croissance à la partie inférieure de la tige ou à la base de la tige commencent également à flétrir et montrent rapidement un dépérissement de l'extrémité. En raison de la nature systémique de la maladie, une décoloration brunâtre caractéristique du système vasculaire peut facilement être observée dans les tiges. Dans les champs nouvellement plantés, les principaux symptômes du CBB sont le flétrissement des jeunes germes en germination, suivi d'un dépérissement de la pointe juste après la plantation des boutures infectées.



Pendant la phase parasitaire, l'expression de la maladie est plus importante : à la faveur de précipitations intenses, les bactéries conservées pendant la saison sèche se multiplient et la population bactérienne augmente (Verdier, 1988). Des symptômes ultérieurs se produisent sur les parties aériennes de la plante de manioc. Le développement des symptômes est favorisé par les précipitations, les températures élevées, une humidité relative élevée, la présence d'insectes vecteurs et de plaies sur les feuilles, ainsi que de fortes différences entre les températures diurnes et nocturnes. Les outils de travail, la cueillette des feuilles et le sol jouent également un rôle dans la dissémination de la bactérie, sachant que le matériel végétal contaminé est le principal facteur de dissémination (Verdier et Restrepo, 1997). L'agent pathogène CBB peut être disséminé par plusieurs moyens qui servent de sources d'inoculum (voir 4.3.4).



**Figure 35 : Cycle de la maladie CBB**

(Source : composition photographique par Flores, 2017 basée sur des images de Agrios, 2005; Howeler *et al.*, 2013 ; <https://www.pyroenergy.com/articles08/cassava-cyanide-poisoning.htm> ,<https://thekebun.wordpress.com/2008/10/01/feeding-your-goats-cassava/>, [https://es.123rf.com/stock-photo/cassava\\_leaf.html](https://es.123rf.com/stock-photo/cassava_leaf.html)).

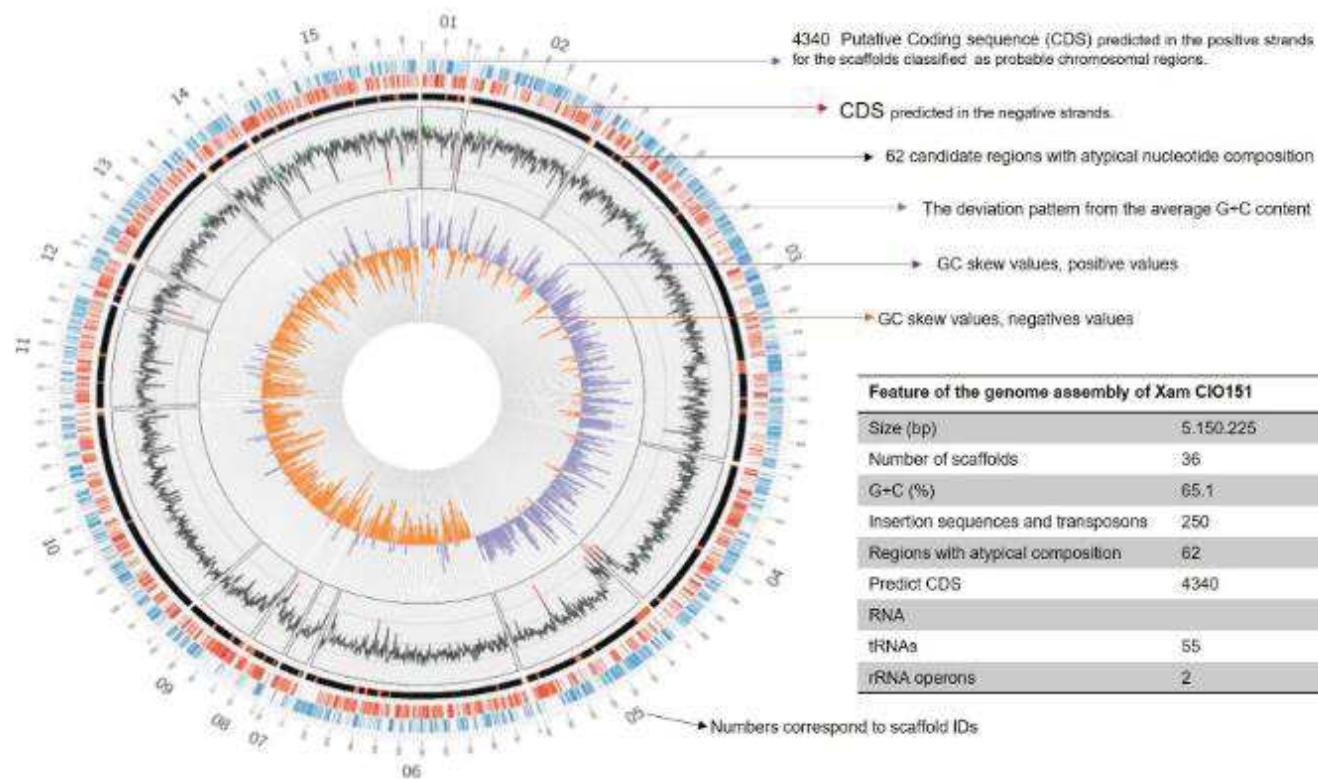
### 3.3.6-Epidémiologie moléculaire appliquée à *Xpm*

Considérée comme une bactérie vasculaire, une fois à l'intérieur de la plante, les bactéries *Xpm* colonisent le mésophylle tout en produisant en abondance du polysaccharide extracellulaire (EPS) lors de la colonisation du manioc (Boher et al., 1995), générant des taches angulaires comme premiers symptômes. Puis, la population pathogène augmente et peut atteindre les tissus vasculaires, bloquant le flux de nutriments et générant un flétrissement qui, dans les cas graves, se termine par la mort de la plante. Cette obturation se fait notamment grâce aux composés polysaccharidiques et pectiques entourant la bactérie (Lozano, 1986). Quand elles sont en phase épiphyte, sur les feuilles de manioc, la nervure médiane a d'abondants trichomes qui sont souvent le site d'adhésion et de multiplication bactériennes (Kemp et al., 2004).

Comme de nombreuses espèces de *Xanthomonas*, le pouvoir pathogène de *Xpm* dépend d'un système de sécrétion de type III (développé plus en détails dans le § 3.3.2..) impliqué dans l'injection à l'intérieur de la cellule hôte de facteurs de virulence appelés effecteurs de type III (T3E) (An et al., 2019). Près de 22 familles d'ET3 ont été identifiées suite au séquençage du génome de la souche de référence de *Xam* CIO151 (Arrieta-Ortiz et al., 2013a). On note chez *Xpm* le rôle important des effecteurs de type TAL (Transcriptional Activator-Like) qui agissent comme des facteurs de transcription transférés au niveau du noyau où ils régulent l'expression de gènes hôtes à la faveur de l'agent pathogène (Castiblanco et al., 2013).

Des approches génomiques comparatives ont révélé que le génome procaryote (bactérien) est une entité dynamique, différente à bien des égards des génomes eucaryotes multicellulaires plus stables. La génomique microbienne a jeté les bases d'un large éventail d'applications, par exemple pour comprendre les processus biologiques de base, les interactions hôte-pathogène ou découvrir des variations d'ADN qui peuvent être utilisées dans le génotypage (Fraser-Liggett, 2005).

On peut noter que la séquence complète du génome de la souche de référence CIO151 a été générée (Arrieta-Ortiz et al., 2013a). La souche CIO151 a été choisie en raison de son utilisation dans la cartographie QTL des marqueurs de résistance dans une population de cartographie du manioc, son agressivité contre plusieurs cultivars de manioc et ses effets sur l'expression des gènes du manioc étant caractérisés. Les auteurs ont rapporté que la séquence du génome avait une longueur totale de 5,15 Mb, une teneur en G + C (65%) et 4340 séquences codantes putatives (CDS) et 2 gènes d'ARNr (Figure 36). Les échafaudages non cartographiés ont été classés en deux catégories ; séquence plasmidique candidate de petite longueur et séquence d'origine inconnue.



**Figure 36 :** Représentation circulaire de la séquence du génome de Xam CIO151 (souche *Xpm* de référence) et ses caractéristiques générales (Adapté par Flores ,2017 à partir d'Arrieta-Ortiz et *al.*, 2013)

126 gènes de protéines ont été identifiés comme uniques à *Xam* CIO151, 81% sont des protéines hypothétiques, sept sont des protéines potentiellement sécrétées et quatre sont des protéines membranaires putatives.

En comparant à l'époque la structure du génome de la souche *Xpm* appelée *Xam* CIO151 avec d'autres xanthomonades grâce à des alignements génomiques, il a été constaté que *Xam* CIO151 est le plus similaire à *Xac* (*Xanthomonas axonopodis* pv. citri) et *Xeu* (*Xanthomonas euvesicatoria*) (Arrieta-ortiz et al., 2013). Dans une autre étude sur le génome de 65 souches collectées entre 1941 et 2011 dans dix pays de trois continents (Amérique, Asie et Afrique), où la production de manioc est importante, a montré que les souches bactériennes présentaient une grande différenciation temporelle et spatiale, en raison de l'origine géographique diversifiée (Bart et al., 2012; Medina et al., 2013).

### **3.3.6.1-Diversité génétique de *Xpm*:**

Le mode de reproduction particulier des bactéries, ne se reproduisant pas seulement en passant l'ADN clonalement d'une génération à l'autre, par conséquent les mutations ne sont pas la seule source de variation génétique. Au contraire, les bactéries échangent également de l'ADN entre elles par un processus appelé recombinaison homologue, par lequel les bactéries acquièrent l'ADN d'autres bactéries par transformation, conjugaison ou transduction, puis remplacent une région de leur propre chromosome par l'ADN acquis (Smith et al., 2000). Ces mécanismes peuvent être essentiels pour augmenter la diversité génétique au niveau d'une population (Vinatzer et al., 2014). Inversement, les modèles de variation génétique trouvés parmi les populations existantes peuvent également être utilisés pour déduire l'histoire évolutive des populations (Robinson et al., 2010).

Pour se faire quant aux connaissances actuelles sur la diversité génétique de la bactérie *Xpm*, les données restent encore incomplètes et estimées avec des outils différents, ce qui ne facilite pas les comparaisons (Flores, 2017). Traditionnellement, les isolats bactériens ont été typés par diverses techniques comme RFLP, AFLP, (Restrepo et al., 2000; Trujillo, Arias-rojas et al., 2014; Verdier & Restrepo, 1997). Mais ces techniques d'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) ou des fragments amplifiés (AFLP) sont lourdes à mettre en oeuvre ou apportent une information limitée dans les relations de descendance entre les individus (Begue, 2017). En pratique il est à noter que *Xpm* montre une diversité génétique importante en Amérique latine, et plus faible en Afrique, car la maladie n'a été reportée qu'à partir des années 1970 (Bart et al., 2012).

Différemment de l'Amérique latine ou divers travaux ont été menés sur le sujet de la diversité génétique des populations *Xpm* (Rache et al., 2019; Trujillo, Arias-rojas, et al., 2014; Trujillo, Ochoa, et al., 2014), en Afrique peu de travaux ont été menés sur la diversité des populations *Xpm* des zones de productions africaines (Ogunjobi et al., 2006) en générale et spécifiquement aucune donnée liée au cas malien. Les quelques rares études sur *Xpm* menées avec des outils moléculaires restent à approfondir vu qu'elles sont contradictoires, l'une soutient une diversité importante avec l'usage de la technique RAPD (Ogunjobi et al., 2010) et l'autre révèle une faible diversité (Assigbetsé et al., 1998) en utilisant la même technique. Également une étude menée au Kenya en utilisant la technique répétitive Réaction en Chaîne par Polymérase (Rep-PCR), ne révèle aucune différence significative dans le regroupement et la relation avec l'origine géographique des *Xpm* étudiées (Chege et al., 2017).

### **3.3.7- Gestion de la bactériose vasculaire du manioc**

Il existe plusieurs méthodes usuelles de luttés, en effet selon plusieurs travaux menés vers les années 2000 (Banito et al., 2008; Sikirou, 1999; Wydra & Verdier, 2002; Zinsou et al., 2001) pour la réduction de la maladie il existe des méthodes de contrôle intégrées dont les plus recommandées sont : (i) la résistance des plantes et (ii) les mesures agro-techniques.

-La résistance du manioc est dans la littérature, la stratégie de lutte contre le CBB la plus souvent citée est l'utilisation de cultivars résistants (Trujillo et al., 2014). Cependant, plusieurs facteurs rendent complexe la résistance au CBB dans le manioc. La résistance est quantitative, ce qui signifie que les tissus vasculaires dans les cultivars résistants sont colonisés par les bactéries *Xpm* à un rythme plus lent que dans les cultivars sensibles; en d'autres termes, l'infection à *Xpm* est limitée, mais pas complètement évitée (Jorge & Verdier, 2002; McCallum et al., 2017; Soto et al., 2018). Il est également possible que les cultivars de manioc soient résistants à certaines souches de bactéries *Xpm*, mais pas à d'autres (Sanchez et al., 1999), ou résistants à l'inoculation des feuilles mais pas à l'inoculation des tiges, ou vice versa (Wydra et al., 2007; Zinsou et al., 2005). Plus important encore, la résistance des cultivars au CBB varie selon l'écozone, aucun cultivar n'étant jugé comme résistant à travers la transition forêt-savane, la savane humide et la savane sèche au Bénin (Zinsou et al., 2005). Une analyse très préliminaire des données non publiées récentes de Bart et al. (R. Bart, communication personnelle, 23 mars 2015) ne révèle aucune différence significative de sensibilité au CBB entre 14 variétés de manioc diverses, y compris certaines variétés largement considérées comme «sensibles au CBB» et d'autres autrefois considérées comme «résistantes au CBB» (Harris et al., 2015).

De façon générale, l'évaluation de la résistance des variétés cultivées de manioc se fait par criblage (screening) à travers l'inoculation de la souche bactérienne sur certaines parties comme la feuille, la tige (Mbaringong et *al.*, 2017; Toure et *al.*, 2020). Toutefois la méthode d'inoculation de la tige a été signalée comme la méthode appropriée pour sélectionner les cultivars de manioc pour la résistance à la CBB (Maraité et *al.*, 1981; Restrepo et *al.*, 2000).

En pratique le criblage des génotypes de manioc pour la résistance à la CBB s'effectue en observant le développement des symptômes au champ sous une forte pression de la maladie sur plusieurs cycles de culture (Boher & Verdier, 1995) et dans des conditions contrôlées sous serre (Akinola et *al.*, 2012).

Selon des études récentes les méthodes d'inoculation les plus appliquées pour évaluer la résistance des cultivars sont :

**(1) Méthode d'inoculation par la coupe des feuilles (Leaf-clipping inoculation)** - La région apicale du lobe central des feuilles est coupée sous leur extrémité à l'aide d'une paire de ciseaux. Un cure-dent stérile peut être utilisé pour appliquer une colonie de bactéries directement de la boîte de Petri à l'apex du lobe de la feuille coupée (Mbaringong et *al.*, 2017).

La troisième ou la quatrième feuille complètement déployée en partant de l'apex est inoculée par la méthode de la coupe des feuilles comme décrit par Lozano & Laberry (1982). Chaque lobe foliaire doit être coupé en deux avec des ciseaux qui préalablement plongés dans une suspension de cellules bactériennes de  $1-3 \times 10^9$  cellules/ml (Tappiban et *al.*, 2018).

**(2) Méthode d'inoculation par ponction** – Au niveau des feuilles, une incision sur les nervures principales du lobe central des feuilles de manioc est pratiquée à l'aide d'une aiguille de calibre 27. Un cure-dent stérile peut être utilisé pour appliquer une colonie de bactéries directement de la boîte de Petri à la section perforée des feuilles (Mbaringong et *al.*, 2017). Au niveau de la tige l'application de l'inoculation consiste en à l'utilisation d'un bâton en bois stérile (cure-dent) qui est inséré dans une culture bactérienne pendant 24h et utilisé pour inoculer par piqure la tige de manioc entre le troisième et quatrième feuille du haut. Des plantes vigoureuses d'un mois sont perforées par piqûre de la tige à l'aide d'un cure-dent stérile avec un inoculum prélevé (Maraité et *al.*, 1981; Restrepo et Verdier, 1997).

**(3) Méthode d'inoculation par Perforation de la tige** - Une lame stérile montée sur un scalpel stérile est utilisée pour faire des incisions sur la tige des plantes. Un cure-dent stérile peut être

utilisé pour appliquer une colonie de bactéries directement de la boîte de Petri à la plantule blessée (Mbaringong et *al.*, 2017).

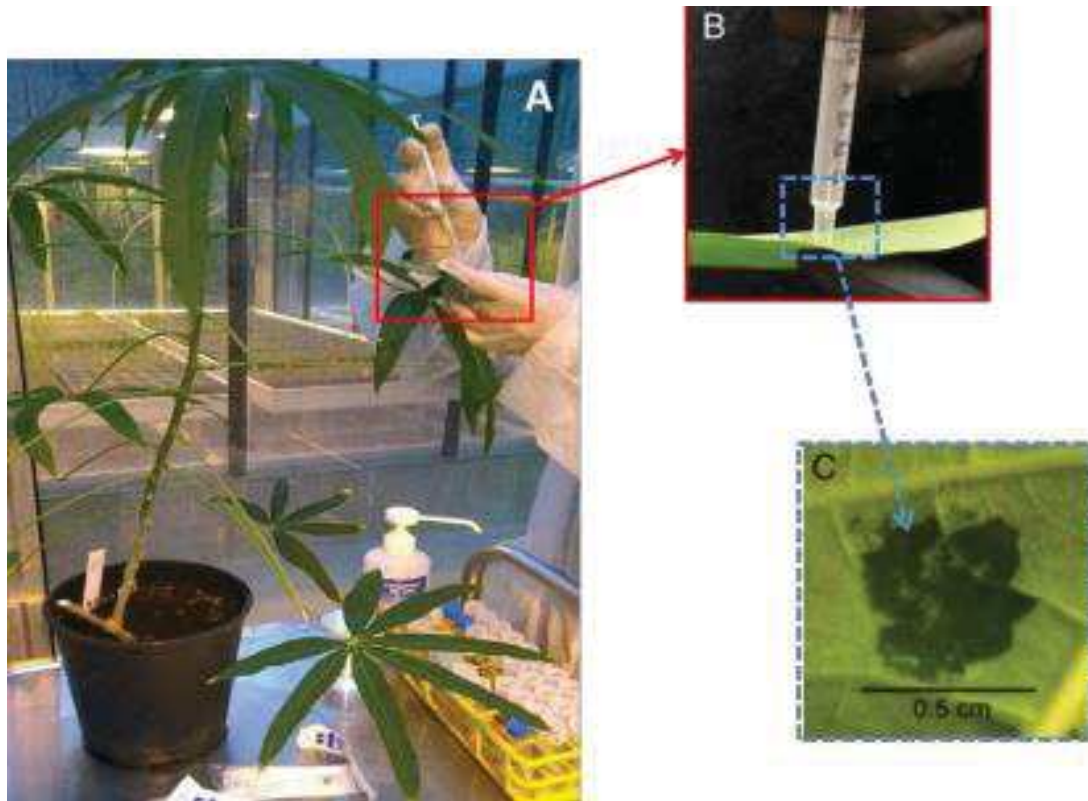
**(4) Méthode d'inoculation par pulvérisation-**Des plants de manioc âgés d'un mois peuvent être inoculés avec une suspension bactérienne en pulvérisant la surface abaxiale des feuilles à l'aide d'un pulvérisateur motorisé (Banito, 2003). Cette technique d'inoculation se fait généralement sous infection naturelle en plein champ avec une culture bactérienne de *Xpm* à des concentrations plus élevées  $10^8$  cells.ml<sup>-1</sup> (Flood et *al.*, 1995).

**(5) Méthode d'inoculation par infiltration-**Pour la feuille, l'inoculation est réalisée à partir de l'inoculum préparé, sur des plants de 06 semaines, l'inoculation se passe par une infiltration directe d'un millilitre de la suspension bactérienne par seringue (Figure 37) qui est inoculée sur le troisième et quatrième feuille à partir de l'apex de la plante. Cette technique permet d'éviter des dommages mécaniques aux feuilles (Akinola et *al.*, 2012). Une différenciation entre les génotypes sensibles et résistants après infiltration foliaire n'a été observée qu'à une concentration d'inoculum inférieure à  $10^2$  ufc/ml (Flood et *al.*, 1995). Au contraire Zinsou et *al.* (2005) ont identifié une concentration d'inoculum de  $10^5$  ufc/ml comme le plus apte à différencier les génotypes pour l'évaluation de la résistance par criblage

-Les mesures agro-techniques : pour pouvoir gérer efficacement la maladie de la CBB, il est nécessaire d'en comprendre les causes. En montrant aux paysans de quelle façon se produit la contamination, cela leur permet de se familiariser avec des approches pour gérer la maladie, telles que :

- utilisation de matériel végétal sain ;
- passage à des pratiques améliorées (planter aux premières pluies, bonne fumure, lutte contre la concurrence des adventices, etc.). Ces pratiques telles que la culture intercalaire, la taille des feuilles infectées, changements de date de plantation, traitements des semences et mesures d'assainissement des cultures (Harris et *al.*, 2015).





**Figure 37** : Inoculation de feuilles de manioc par infiltration via seringue (A et B), zoom sur la zone infiltrée(C).

Photos B et C adaptées de Cohn et *al.* (2015).

---

## Partie 4-Présentation du sujet de la thèse

---

### 4.1-Approche et Problématique du sujet de la thèse

Le manioc est une culture d'importance capitale dans la ceinture tropicale pour ses attributs nutritifs comme source d'amidon, et industriels comme source de biocarburant (Howeler et *al.*, 2013). Il s'agit de la culture vivrière la plus importante de la zone tropicale humide grâce à sa plasticité, au volume de sa production et de sa consommation. Son aire de production s'étend même à la zone tropicale sèche, car il est extrêmement adaptatif voir ubiquiste. En Afrique de l'Ouest le manioc occupe une place de choix dans les habitudes alimentaires, en effet elle est la deuxième culture vivrière (N'zué et Zohouri, 2005). Le Mali, pays Ouest-africain à climat tropical sec ne fait pas exception à cette règle : on note la présence de zones de production de manioc dans presque toutes les régions du pays (Dembele et *al.*, 2013).

Au Mali, la culture de manioc semble être confrontée à des contraintes liées à la pression parasitaire (Dembele et *al.*, 2013), ayant potentiellement pour conséquence la baisse de rendement constatée depuis quelques années. Constamment, des cas de symptômes dont les causes restent mal connues par la plupart des acteurs (paysans et agents vulgarisateurs), sont rapportés. L'insuffisance jusque-là d'études référencées au Mali, permettant une meilleure connaissance de ces problèmes parasitaires est donc un paramètre aggravant cette baisse de rendement.

Dans tout pathosystème on observe une compétition entre la plante et l'agent pathogène agresseur concerné (Atkinson & Urwin, 2012; Toussaint, 2018). Pour aider la plante à sortir victorieuse de ce duel, la science agronomique surtout celle de la phytopathologie étudie les agents pathogènes concernés afin de favoriser une lutte plus efficace. La lutte variétale qui se fonde sur l'usage de variétés résistantes semble être la plus performante dans bon nombre de maladies bactériennes (Lozano, 1986). Cependant, un des défis majeurs de cette lutte est sans doute la question de la durabilité de la résistance. Pour se faire, une étude de diversité de l'agent pathogène est d'un intérêt capital pour appréhender ce qui détermine son évolution. Notre présent travail concerne le manioc, une culture d'une très grande importance économique en zone tropicale (Vernier et *al.*, 2018), et la bactériose vasculaire, classée parmi les 10 maladies bactériennes les plus dommageables aujourd'hui (Mansfield et *al.*, 2012).

Cependant en tant que culture à propagation clonale, le manioc est particulièrement vulnérable aux agents pathogènes et à certaines formes de stress abiotiques (McCallum et *al.*, 2017). La bactériose vasculaire du manioc (CBB, Cassava Bacterial Blight), causée par *Xanthomonas*

*phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*), est la maladie bactérienne la plus importante affectant cette culture (Harris et al., 2015). Dans plusieurs pays de production du manioc, des études ont fait cas des importants dégâts dus à la CBB, notamment au Venezuela (Restrepo & Verdier, 1997), en Colombie (López & Bernal, 2012; Trujillo et al., 2014), au Congo RD (Mamba-Mbayi et al., 2014), au Nigeria (Ogunjobi et al., 2006; Ogunjobi et al., 2010), au Togo (Banito, 2003) et en Côte d'Ivoire (Affery et al., 2018; Ehui et al., 2019; Toure et al., 2020).

Les régions frontalières situées au sud du Mali font l'objet d'échanges dynamiques du fait de communautés aux langues, pratiques agricoles, zones climatiques et identités culturelles proches (Labazée, 1993). Ces flux importants de matériel agricole, végétale, et de populations pourraient contribuer à la dissémination de l'agent pathogène (Savary et al., 2017; Savary et al., 2019). La confirmation récente quant à l'occurrence de la CBB dans des pays voisins comme le Burkina Faso (Wonni et al., 2015) et la Côte d'Ivoire (Kone et al., 2015), est un indicateur de la très forte probabilité de la présence de cette maladie au Mali. L'importance du flux d'échanges entre ces pays accroît considérablement le risque d'introduction et de dissémination du pathogène, d'où une possible diversité génétique. C'est d'autant plus le cas pour un pathogène comme *Xpm* qui colonise la tige et peut donc être propagé par bouture (Banito et al., 2008), principale source de multiplication du manioc.

Ce contexte propice à l'émergence d'épidémies fait qu'une surveillance continue de la dynamique des populations de l'agent pathogène est nécessaire pour développer un programme de gestion efficace des maladies. Pour adopter une gestion efficace d'une maladie dans une zone donnée, il est nécessaire de disposer d'informations adéquates sur la présence, la distribution, et l'importance de la maladie dans cette zone ou localité d'intérêt. C'est dans cette optique que nous avons initié ce travail de thèse en vue d'obtenir des informations relatives à la présence de la CBB au Mali et permettant de faire une analyse de la diversité génétique des souches isolées.

Sachant que dans les systèmes agricoles la durabilité de la résistance peut être menacée si la diversité des populations pathogènes est significative (Jorge & Verdier, 2002), l'étude de cette diversité peut être considérée comme un outil d'aide à la lutte. Pour ce faire la surveillance épidémiologique s'appuie sur des méthodes de typage moléculaire, on parle d'épidémiologie moléculaire. Parmi ces outils, le MLVA - (pour Multi Locus VNTR Analysis) ou analyse VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) des locus multiples - est une approche basée sur l'étude de la différence de taille des séquences des allèles d'un locus donné. Il s'agit là d'un

outil de typage moléculaire en pleine émergence, qui sert à mieux comprendre la diversité génétique et la dynamique des populations bactériennes (Gilmour et *al.*, 2013). Nous avons exploité cet outil récemment mis en place sur *Xpm* (Arrieta-Ortiz et *al.*, 2013), afin de mieux appréhender la diversité des populations en Afrique de l'Ouest, et en particulier au Mali où aucune étude sur la CBB n'avait été réalisée jusqu'à cette étude.

En outre, les connaissances sur les caractéristiques agronomiques dont la résistance des variétés locales aux maladies étaient quasi-inexistantes, d'où un grand risque face à la récurrence des épidémies telle la CBB sous l'impulsion du changement climatique. Dans l'optique de combler cette insuffisance, des prospections ont été menées en fin 2016 et 2017 dans différentes zones de production du Mali (Mopti, Ségou, Sikasso, Koulikoro, Bamako et Kayes, pour collecter des boutures de variétés locales (cultivars) qui ensuite seraient testées durant une année sur parcelle expérimentale. Puis de sélectionner parmi elles celles qui offriraient les meilleures caractéristiques agronomiques (rendement, résistance aux stress hydriques, aux maladies) et organoleptiques. Ces résultats une fois consolidés et vulgarisés (promotion des cultivars résistants) pourraient permettre une pratique plus rentable et durable du manioc, une culture de base, bioénergétique et donc d'avenir.

Cette thèse traite d'une problématique fondamentale actuelle en protection des végétaux dans les pays de la zone tropicale : comment peut-on prévenir les risques d'épidémies dommageables sur les cultures cibles à travers une meilleure connaissance (diversité génétique, mécanismes d'action) des populations phytopathogènes ?

Cette thèse intitulée «Diversité des populations *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) du Mali et recherche de source de résistance durable chez le manioc» vise à combler ces manquements dans le but final d'anticiper les futures épidémies de bactériose vasculaire et mettre en place des stratégies de lutte durables. Au regard de tout ce qui précède, les objectifs de cette thèse pour répondre aux différentes questions de recherche issues de l'analyse de ce contexte sont détaillés dans la section suivante.

## **4.2-Questions de recherche :**

### **Questions de recherche**

En résumé, ce projet de recherche ambitionne de répondre aux questions suivantes :

- ❑ **Quelle est la prévalence de la CBB suivant les zones de production du manioc au Mali ?**
- ❑ **Quelle est la diversité, la structure génétique des populations de *Xpm* au Mali et quelle est l'histoire évolutive de ces populations et le lien épidémiologique de la maladie avec les pays frontaliers producteurs ?**
- ❑ **Quelles sont les variétés de manioc qui offrent une meilleure tolérance-résistance face à *Xpm* dans le contexte malien de production ?**

## **4.3-Objectifs et stratégie de l'étude:**

### **Objectifs scientifiques :**

#### **1-Description des pratiques agricoles et du profil-socio-économique des producteurs de manioc au Mali :**

- Prospections et collectes de matériel végétal de multiplication (boutures) dans les principales zones de production de manioc
- Enquêtes sur les caractéristiques agronomiques et socio-économiques du manioc auprès des acteurs de la filière manioc dans les principales zones de production de manioc

#### **2-Amélioration des connaissances sur *Xpm* :**

->Evaluation du statut de la bactériose vasculaire (CBB) au Mali :

- Echantillonnage de la CBB dans les majeures régions productrices de manioc au Mali (étude d'incidence et collecte) – distribution géographique de la maladie ;
- Isolement des souches de *Xpm*
- Validation des souches isolées utilisant des outils de diagnostic moléculaire

->Diversité génétique des populations de *Xpm* du Mali:

- Evaluation de la diversité génétique
- Etablissement de la structure génétique de cette population

#### **3-Tests de résistance sur les germoplasmes maliens à partir d'une collection représentative de la diversité de *Xpm* :**

- Criblage des variétés locales avec des souches représentatives de la diversité
- Choix des variétés la plus aptes (résistance/tolérance) à la culture au Mali.

### **Stratégie de recherche et moyens mis en œuvre:**

Pour répondre aux questionnements de cette thèse intitulée « Diversité des populations de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* au Mali et recherche de sources de résistances durables chez le manioc » une série d'échantillonnage plus large couvrant toutes les zones importantes (superficies, producteurs, rendements et autres) de productions a été initiée en 2016 au Mali. Par la suite en 2017, d'autres zones ont été considérées dans les sous-régions Ouest et Centre de l'Afrique, en particulier au Nigeria et au Cameroun. Les échantillons collectés ont été soumis à l'isolement de *Xpm* candidates puis à la phase de validation par PCR et test de pathogénie.

Dans un second temps, il a s'agit d'utiliser les souches de *Xpm* validées pour l'analyse de la diversité suivant une nouvelle méthode de génotypage dite MLVA. Cette approche cible des microsatellites de 14 loci (dits marqueurs VNTR), qui ont été conçus par les unités de recherche de l'Université de Los Andes en Colombie, de BGPI et IPME en France (Rache et *al.*, soumis). Cette analyse permettra d'identifier parmi les souches étudiées, celles qui sont les plus représentatives de la diversité de *Xpm* au Mali. Cette sous-collection permettra de tester la résistance des variétés localement cultivées. Cet autre aspect de notre projet de thèse constituera le dernier axe principal de notre travail.

En somme les approches mises en œuvre comprennent :

- La description des pratiques agricoles et du profil-socio-économique des producteurs ;
- L'analyse de la diversité génétique des variétés de manioc cultivées chez les producteurs suivis;
- L'analyse de la diversité génétique de la bactérie pathogène dans les parcelles atteintes de la maladie ;
- L'évaluation primaire de la résistance des variétés de manioc produites localement au Mali.

**Ce document, manuscrit de la thèse est divisé en 03 chapitres qui se déclinent comme suit:**

- Chapitre 1-introduction générale : composé de (i) un préambule, dans lequel, nous présentons le contexte global et scientifique, les défis et enjeu qui ont motivé la thèse ; (ii) 03 parties axées sur la synthèse bibliographique, qui est un ramassé des généralités sur les concepts et notions utiles à la bonne compréhension de notre sujet afin de répondre aux objectifs fixés. Ainsi une vue générale sur la culture du manioc et les différentes contraintes biotiques à sa production, l'état des connaissances relatives aux souches de *Xpm*, un état de l'art sur les systèmes de génotypage des souches

bactériennes, et d'indispensables notions sur la relation hôte pathogène et la résistance au CBB. Nous terminons ce chapitre par une présentation de notre étude, en se fondant du contexte global, puis sur la problématique globale en découle, nous dressons les questions de recherche auxquelles cette étude tentera de répondre, et les grandes lignes des différentes approches adoptées pour répondre aux questionnements scientifiques de la thèse.

- Chapitre 2-Resultats, qui est le lieu de la mise en évidence des acquis de cette thèse, de leur valorisation. Il comporte 03 sous-chapitres ou parties: (i) Le manioc au Mali ; (ii) Connaissances sur *Xpm* au Mali (prévalence et diversité génétique des populations maliennes de *Xpm*); (iii) Etude préliminaire sur la résistance des variétés maliennes de manioc qui rend compte des propriétés de résistance des variétés de manioc cultivées au Mali vis-à-vis de souches représentatives de la diversité génotypique identifiée.
- Chapitre3- Discussion et conclusion générales, qui (i) argumente sur les connaissances apportées par nos travaux à la compréhension de la diversité génétique au Mali, en Afrique de l'Ouest et plus largement au Cameroun, (ii) puis dresse une conclusion générale, qui est une synthèse finale des aboutissements de cette thèse et des perspectives qui en découlent.

## CHAPITRE 2- RESULTATS

---

### Partie 1- Facteurs agronomiques et socio-économiques affectant la culture du manioc au Mali

---

#### 1.1-Contexte socio-agronomiques de la production du manioc au Mali

Le Mali est un pays résolument tourné vers l'agriculture avec les deux tiers de sa population qui sont essentiellement ruraux, donc l'économie du Mali repose sur le secteur agricole, qui occupe près de 80 % de la population active et contribue pour 33 % au PIB et 15% aux recettes d'exportation (Koné et *al.*, 2019; PDA, 2014).

Ce domaine agricole tarde toutefois à se moderniser du fait de circonstances climatiques, économiques, sociales et/ou culturelles. De ce fait la majorité des producteurs sont de petits agro-éleveurs n'ayant pas forcément accès aux dernières avancées technologiques et pratiques culturelles innovantes (Sanogo & Diallo, 2017). De plus l'agriculture malienne est peu diversifiée, en effet elle est essentiellement basée sur la production des céréales (mil, sorgho, riz, maïs et fonio). Cette agriculture est surtout pluviale, par conséquent, elle est très sensible aux changements climatiques (Fondation Friedrich Ebert Stiftung, 2018).

Partant de ces constatations sus mentionnées, la culture du manioc non encore pratiquée intensivement et géographiquement diffusée sur presque la totalité du pays, s'adapte bien au changement climatique et peut donc contribuer à la diversification de la production agricole, à l'amélioration de la sécurité alimentaire et les revenus des acteurs de sa chaîne de valeurs.

Cette culture a de nombreux avantages. En effet le manioc est généralement cultivé par de petits exploitants agricoles et des femmes pour la plupart. En outre, il est vital à la fois pour la sécurité alimentaire et source de diversification de revenus de ses producteurs (FAO, 2013). Il devient une culture de plus en plus incontournable face aux effets néfastes du changement climatique et aussi par la commercialisation de ses sous-produits (amidon, gari, attiéké, etc.) (Kouakou et *al.*, 2015; Jarvis et *al.*, 2012).

A cause de ces nombreux atouts, le manioc est en train de prendre de l'envergure au Mali, pour preuve l'augmentation des indicateurs de sa production, les superficies récoltées passant de 2713 ha en 2015 à 4908 ha en 2018, la production passant de 42345 tonnes en 2015 à 77440 tonnes en 2018 et également la création en 2016 d'une entité nationale dédiée au secteur, en occurrence la compagnie Malienne de développement du manioc (Comadem) en 2016 (FAOstat, 2020; Maliactu.net, 2016).



Afin de soutenir cet élan, l'accompagnement des acteurs du maillon de production en termes d'appuis techniques nécessite des informations, des données, des connaissances actualisées issues de travaux de recherche scientifique. D'où la pertinence de fournir un appui documentaire s'appuyant sur des résultats scientifiques et pour ainsi permettre à des agents vulgarisateurs et chercheurs, une meilleure assistance en appui-conseil aux producteurs.

Cependant, la bibliographie consacrée à la pratique de la production du manioc "Manioculture" à l'échelle nationale reste très pauvre, et celle sur les caractéristiques socio-économiques et agricoles des acteurs de la production quasi-inexistante, d'où un secteur sevré en termes de documentation nationale.

A la lumière de tout ce qui précède, notre étude a pour objectif de déterminer la situation actuelle, les conditions socio-économiques liées à la production de la culture de manioc au Mali

## **1.2-Matériels et méthodes**

### **1.2.1-Zones d'étude au Mali**

Cette étude concerne les zones de productions de manioc des 05 plus importantes régions agricoles du Mali : Koulikoro Région et Bamako District, les régions de Kayes, Sikasso, Ségou et Mopti (Voir donnée supplémentaire de la partie résultats sur l'évaluation de la résistance).

Ces régions sont situées dans les zones agroécologique guinéenne majoritairement pour la région de Sikasso, la zone agroécologique soudanienne comportant la grande partie de la région de Kayes (entre les isohyètes 550 et 1150 mm) et une partie nord de cette région de Sikasso (la plus arrosée du pays avec 700 à 1500 mm/an), aussi la région de Koulikoro (avec 200 à 400 mm et le climat tropical allant de 400 à 1200 mm) autour du District de Bamako (climat tropical assez humide avec un total des précipitations annuelles moyennes de 878 millimètres), et la région de Ségou (pluviométrie oscillant entre 400 et 500 mm par an). La région de Mopti quant à elle se trouve dans la zone agroécologique sahélienne, avec une moyenne pluviométrique de 350 à 550 mm (Kergna & Niallibouly, 2020; Soumaré et *al.*, 2019).

### **1.2.2-Collectes des données**

L'étude a utilisé une combinaison de technique d'échantillonnage (aléatoire simple, stratifié). Les données ont été collectées par la méthode des enquêtes individuelles (Diop, 2013), et complétées dans certains cas par des entretiens. La taille de l'échantillon a été déterminée de façon raisonnée donc non probabiliste par jugement ou échantillonnage au jugé avec un effectif de 142 personnes (Tableau 13).

Cette population d'étude constituée d'acteurs de la filière dans les zones de productions des 5 régions d'études, nous a permis la collecte des données (socio-économiques, agronomiques)

entre Juillet et Novembre 2018. Les questionnaires d'enquête de type semi-structurés ont été conçus et exploités dans chacune des régions pour et avec les acteurs de la filière manioc auxquels nous avons eu accès, et choisis de façon aléatoire parmi eux. Le nombre de personnes enquêtés dans chaque groupe d'acteur (Tableau 13) dépendait de leur impact/importance dans la filière manioc.

### 1.2.3-Traitement des données

Les données collectées ont été dépouillées sous Excel® 2010 et leur traitement a été effectué en fonction des variables notées sur le terrain. Les indicateurs clés nous intéressant comme la moyenne et souvent l'écart type ont été calculés pour la construction de tableaux. L'essentiel des analyses ont été faites avec les logiciels de calcul EXCEL et de statistique XLStat.

**Tableau 13** : Echantillon d'étude dans cinq régions du Mali.

Régions	Acteurs de la filière manioc <sup>2</sup>									Total
	P	EA	CG	CDG	CD	OP	C	Tf	Tp	
Kayes	8	3	2	3	3	2	6	0	3	30
Kkro-Bko <sup>1</sup>	8	2	2	2	4	1	5	2	1	27
Sikasso	8	2	2	2	4	1	5	2	1	27
Ségou	8	3	2	2	4	2	8	2	2	33
Mopti	8	2	3	3	3	00	3	1	2	25
<b>Total</b>	<b>40</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>18</b>	<b>6</b>	<b>27</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>142</b>
<b>%</b>	<b>28</b>	<b>8,5</b>	<b>8</b>	<b>8,5</b>	<b>13</b>	<b>4</b>	<b>19</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>100</b>

<sup>1</sup>, Koulikoro-Bamako, tandem formant une même région d'étude. <sup>2</sup>P : Producteurs ; EA : Exploitations agricoles ; CG: Commerçants grossistes ; CDG: Commerçants demi-grossistes ; CD: Commerçants détaillants ; OP: Organisations paysanne ; C:Consommateurs ; Tf: Transformateurs ; Tp : Transporteurs.

## **1.3-Résultats et discussions**

### **1.3.1-Caractéristiques sociodémographiques des acteurs de la filière**

#### **a- Les producteurs**

La proportion des actifs (âge compris entre 15 et 60 ans) par rapport à l'effectif total dans l'exploitation est très variable d'une zone de production à une autre (Tableau 14), soit de 33% (Kayes) à 77% (Bamako-Koulikoro et Sikasso) selon nos enquêtes. Ce qui pourrait se traduire en pratique par une mobilisation réduite de main d'œuvre dans les activités liées à la manioculture. Aussi il a été constaté que la proportion des paysans produisant le manioc est faible (généralement inférieur à 25% dans les régions de production) par rapport à d'autres spéculations comme le coton, les céréales (riz, maïs sorgho et petit mil) qui occupent généralement plus de 50% des producteurs.

Quant au niveau d'instruction du chef de l'exploitation, qui est le principal responsable et animateur des activités, il est très faible : ils sont majoritairement non scolarisés. En considérant qu'un nombre important était encore apte pour les activités (plus de 2/5 âgés de moins de 55 ans), cet état de fait est très important et doit être pris en compte dans le cadre des activités de vulgarisation en procédant par un travail de proximité axé sur des explications dans les langues locales.

#### **b- Niveau d'équipement**

Suivant la catégorisation modifiée de Dembele et *al.*, 2017 , le niveau de mécanisation est très insignifiant (Tableau 15), ce qui fait que le travail manuel domine les activités des producteurs enquêtés. Cela démontre le caractère très traditionnel du système de production adoptée en manioculture dans les différentes zones de production au Mali.

#### **c- Main d'œuvre**

La main-d'œuvre (Tableau 16) repose essentiellement sur les membres de l'exploitation productrice, cependant cette tendance est moindre dans la région de Sikasso, où la production sur de très vastes superficies concourt à un usage de salariés à des taux très élevés soit 60% de la main-d'œuvre employée. En somme nous pouvons dire que ces exploitations sont dynamiques et dégagent du capital.

**Tableau 14 :** Informations sociales et niveau académiques dans les exploitations enquêtées dans 5 régions du Mali.

Variables		Proportions *					Total
		Kayes	Bko-Koulikoro	Sikasso	Ségou	Mopti	
Genre	Homme	8	7	10	8	9	42
	Femme	13	6	10	10	7	46
Activités	Actifs H	5	7	4	5	6	27
	Actifs F	2	3	5	4	4	18
	Total Actifs (H+F)	7(33%)	10(77%)	9(77%)	9(50%)	10(63%)	45(51%)
Classe d'âge (ans) du CE	18-35	0	0	0	0	0	0
	36-55	100%	0	0	0	100%	40%
	Plus de 55	0	100%	100%	100%	0	60%
Niveau d'instruction du CE	Pas instruit	0	1	1	0	1	60%
	Primaire	1	0	0	1	0	40%
	Secondaire	0	0	0	0	0	0%
	Supérieur	0	0	0	0	0	0%

C.E : Chef d'exploitation ; \*Pour chaque région une exploitation familiale (EF) a été tiré au hasard dans le lot de 2 à 3 EF enquêtées et le niveau d'instruction coorespondant est soit effectif pour 1 ou non pour 0.

**Tableau 15:** Niveau d'équipement au niveau des exploitations enquêtées dans 5 régions du Mali

Caractéristiques	Niveau d'équipement			
	A <sup>a</sup>	B	C	D
Kayes	0 <sup>b</sup>	1	2	3
Bko-Koulikoro	0	0	1	2
Sikasso	1	0	2	2
Ségou	1	0	2	0
Mopti	0	0	2	1
Total	2[1]	1[1]	4[2] ; 1[1]	1[3] ; 2[2] ; 1[1]

<sup>a</sup>Echelle de mécanisation avec A, Très mécanisé, plus de 2 engins motorisés du même type (comme 2 tracteurs); B, 2 engins motorisés distincts; C, location d'engin motorisé; D, travail total ou complément manuel ; <sup>b</sup>Ordre d'importance avec 0= Nul ; 1=faible ; 2=moyen ; 3=fort.

**Tableau 16 :** Type de la main-d'oeuvre utilisée dans la production de manioc dans cinq régions au Mali.

Caractéristiques	Type de la main-d'oeuvre (%)		
	Familiales	Salariées	Entraides
Kayes	65	20	15
Bko-Koulikoro	30	70	0
Sikasso	40	60	0
Ségou	88	10	2
Mopti	100	0	0
<b>Moyenne</b>	<b>64,6</b>	<b>32</b>	<b>3,4</b>

## 1.3.2-Facteurs de Production dans la culture du Manioc au Mali

### 1.3.2.1-Pratiques agricoles et mode de culture

Au Mali de façon générale, le manioc est produit en culture pure. C'est le cas dans la région de Mopti ou, il est exclusivement en culture pure, et dans celle de Sikasso, à 93%. Du côté du bassin de production de Ségou, majoritairement, le manioc est produit en culture pure avec quelques rares cas de culture associée (niébé, pastèque...). Quant aux zones de production de Bamako-Koulikoro et de Kayes, la manioculture se fait par moment en association avec d'autres cultures qui n'ont aucune nuisance sur la production, ni sur la qualité du manioc (exemples de l'échalote, la tomate, le gombo) dans le cadre du maraichage.

Selon plusieurs auteurs (Tobodawolo Jones & Nuhu Issaka, 2017; Uzokwe et *al.*, 2016; Weerarathne et *al.*, 2017), il est courant de trouver dans les exploitations à petites échelles des cultures de légumineuses (comme le niébé, le soja et les arachides) souvent associées avec le manioc en Afrique. On pourra se demander alors si ces associations de telles cultures n'ont pas un effet sur la propagation des mauvaises herbes ou des maladies. Dans le cas des légumineuses, elles ont en général une bonne couverture du sol qui pourrait gêner le développement des adventices et donc les neutraliser. Toutefois on ne peut exclure qu'elles puissent constituer une niche ou un réservoir supplémentaire pour les bioagresseurs du manioc, donc de potentielles sources de conservation des pathogènes et même une niche pour des vecteurs de maladie comme les sauteriaux dans le cas de la bactériose vasculaire du manioc (Fanou et *al.*, 2018).

### 1.3.2.2-Types de sol et niveau de répartition des terres

Le manioc est cultivé sur plusieurs types de sol dans les différentes zones de production (Tableaux 17), d'argileux en passant par limoneux, sableux, sableux-limoneux, limoneux-sableux, jusqu'à limono-argileux. Cependant, un fort penchant pour les sols de types sablo-argileux a été constaté.

Parmi les endroits privilégiés pour la production du manioc (Tableau 18), les périmètres maraichers, potagers sont les plus appréciés, ce qui témoigne d'une tendance de la production sur de petites surfaces de culture. En outre pour une production sur de grandes superficies, les plaines, bas-fonds et lits de cours d'eau en décrue sont utilisés comme champs de manioc.

**Tableau 17** : Les types de sols recensés dans les cinq zones de production au Mali

Variables	Sols recensées					
	Argileux	Sableux	Sableux argileux	Limoneux	Limoneux sableux	Limoneux-argileux

<b>Kayes</b>			<b>3</b>			
<b>Bko-Kkro</b>	<b>1</b>		<b>3</b>			
<b>Sikasso</b>		<b>2</b>	<b>2</b>		<b>2</b>	
<b>Ségou</b>		<b>2</b>	<b>2</b>			<b>2</b>
<b>Mopti</b>		<b>3</b>		<b>1</b>		

<sup>a</sup>Degré de présence du type de sol, avec 1=faible ; 2=moyen ; 3=forte.

**Tableau 18** : Lieux favoris d'installation des cultures dans cinq régions au Mali

<b>Zones d'étude</b>	<b>Lieux favoris</b>
Kayes	Périmètres maraichers
Bko-Koulikoro	Potagers, périmètres maraichers
Sikasso	Potagers, périmètres maraichers, bas-fonds et dans les plaines
Ségou	Plaines, bas-fonds
Mopti	Zones de plaines d'inondation, lit de cours d'eau en décrue

### 1.3.2.3-Acquisition des boutures

#### -Mode d'acquisition des boutures

Pour l'acquisition des boutures (Tableau 19), le mode le plus fréquent est l'échange entre producteurs et cela dans toutes les zones de production. En plus de ce mode, divers autres comme les dons pour implantation de nouvelles variétés par les services de vulgarisation et d'ONG existent. Dans de rare cas on observe des achats de boutures.

**Tableau 19**: Mode d'acquisition des boutures de manioc dans cinq régions au Mali.

Lieux	<b>Mode d'acquisition (%)</b>		
	Echanges entre producteur	Achat	Autres modes <sup>a</sup>
Kayes	100	0	0
Bko-Koulikoro	34	33	33
Sikasso	60	20	20
Ségou	70	10	20
Mopti	90	0	10
<b>Moyenne</b>	<b>71</b>	<b>13</b>	<b>17</b>
<b>Ecart type</b>	<b>26</b>	<b>14</b>	<b>12</b>

<sup>a</sup>Autres mode d'acquisition : Don, vulgarisation/services techniques et ONG

#### -Lieux d'origine des boutures utilisées

La part des boutures issue de la localité (village) du producteur représente l'origine la plus importante avec un total de 78% dont 44% proviennent des autres parcelles dans le village et 34% des parcelles du producteur (Tableau 20). Les boutures provenant des autres zones comme d'autres localités, même rapprochées (16%) et autres régions et pays sont très faibles. Ces

tendances démontrent un faible tût de renouvellement des variétés utilisées et surtout un usage continu de la même variété présente dans les localités de production. Aussi malgré les faibles proportions de boutures importées d'autres pays, cette voie peut toutefois être suffisante pour importer des pathogènes.

**Tableau 20 :** Origines des boutures utilisées dans la culture du Manioc et niveau d'importance dans cinq régions au Mali

Lieux	Origine des boutures utilisées (%)			
	Parcelles (même producteur)	Autres producteurs. (même village)	Autres villages, localités voisines	Autres régions, pays
Kayes	67	33	0	0
Bko-Koulikoro	13	37	50	0
Sikasso	38	36	10	16
Ségou	11	56	22	11
Mopti	40	60	0	0
<b>Moyenne</b>	<b>34</b>	<b>44</b>	<b>16</b>	<b>5</b>
<b>Ecart type</b>	<b>23</b>	<b>13</b>	<b>21</b>	<b>8</b>

#### - Conservation des tiges

A la fin de la récolte, les producteurs des différentes zones de production adoptent plusieurs techniques (Tableau 21) pour conserver le germoplasmes (sources de multiplication), donc les boutures. Parmi ces techniques, la plus fréquente est la conservation sur pépinière qui se traduit par la plantation de quelques boutures en certains points du champ pour en récupérer en cas de besoins. Aussi le placement de boutures dans des fosses en zone humide ou à proximité des points d'eau est fréquemment pratiqué sauf que la durée dans ce cas est très limitée, au maximum trois mois.

Majoritairement les producteurs réservent une place dans leurs propres champs pour conserver les boutures qu'ils utiliseront lors des prochaines campagnes. Les caractéristiques de cet endroit sont généralement (i) moins d'exposition à l'insolation, (ii) humidité, (iii) faible exposition aux bioagresseurs. Aussi, les boutures des plants les plus vigoureux, physiquement de taille meilleure sont sectionnées pour la conservation. Il s'opère donc une forme de sélection massale in situ.

**Tableau 21** : Techniques de conservation des boutures et leurs durées

Zones d'étude	Techniques de conservations	Durée de conservations (mois)
Kayes	-Endroits assez humides	3
	-Fosses arrosées	3
Bko-Kkro	Pépinière /maraichage	Indéfinie
Sikasso	Endroit humide, Pépinière	3-6 ; Indéfinie
Ségou	Pépinière	Indéfinie
Mopti	Fosses en bordure de zone humide (cours d'eau)	3

#### 1.3.2.4-Périodes clés pour la production du manioc

La période de plantation du manioc est variable d'une zone à une autre, de façon globale elle s'étale sur plus de 06 mois de Juin à Février, avec une fréquence marquée en Aout-Septembre-Octobre (Tableau 22).

La récolte quant à elle, est fortement tributaire des variétés utilisées (cycle variable de 6 à 12 mois) et en de moindres cas des urgences financières, alimentaires. En conséquence elle peut être très variable, mais en général le trio des mois de Juillet-Aout-Septembre et le duo Février-Mars sont les périodes au cours desquelles les récoltes sont généralement effectuées. Ces périodes de récolte ont une certaine incidence sur la disponibilité du manioc sur le marché. Cette situation fait que les périodes d'abondance du manioc sur le marché malien sont de Juillet à Octobre avec un pic en Septembre.

Ces périodes (plantation et récolte) s'appliquent à toutes les variétés (locales et améliorées) avec une influence de la demande alimentaire (plats et recettes à base de manioc) et financière (vente sur les marchés).

**Tableau 22**: Périodes de plantation, récoltes et d'abondance/marchée de la production du manioc dans cinq régions au Mali

Caractéristiques	Périodes		
	Plantations	Récoltes	Période d'abondance/marché
Kayes	Novembre	Mi-Septembre	Septembre-Octobre
Bko-Koulikoro	Aout	Juillet	Juillet en Avril
Sikasso	Juin-Juillet-Aout-Sept	Juin-Juillet-Aout-Septembre	Juillet-Aout-Sept
Ségou	Aout-Septembre- Octobre-Novembre- Décembre	Janvier-Février-Mars- Avril-Mai ; Sept-Oct-Nov-Déc	Septembre-Octobre
Mopti	Janvier, Février ; Septembre-Octobre	Juin-Juillet-Aout ; Février-Mars	Juillet, Mars



### **1.3.2.5-Variétés cultivées**

Nous avons recensé près d'une trentaine de variétés lors de nos enquêtes (Tableau 23), parmi ces variétés une très forte proportion sont des variétés implantées depuis très longtemps au point qu'elles sont assimilées à des variétés locales (qui connaît l'histoire du manioc, on sait qu'elle est une culture implantée en Afrique autour des années 1550 (Guthrie, 1990) et propagé vers l'intérieur du continent au XIX<sup>e</sup> siècle (Coppens d'Eeckenbrugge et *al.*, 2019)). Nos estimations font état de près du  $\frac{3}{4}$  des variétés produites qui seraient des variétés voire génotypes locaux. Cependant les problèmes de baisse de rendement et phytosanitaires (maladies, insectes, mauvaises herbes) incitent les producteurs à adopter des variétés nouvelles, génétiquement améliorées. De façon spécifique les variétés les plus répandues sont : Gounfing (22%), Banakoudjè (19%), Banakounblen ou Attiéké (16%), et nouvelles variétés (20%), autres (23%).

### **1.3.2.6-Situation de la production de ces dernières années (tendance 2015-2018)**

La tendance évolutive des indicateurs de production du manioc est très inconstante ces dernières années (Tableau 24). C'est ainsi que la production qui avait atteint des records en 2017 a chuté dans de nombreuses régions en 2018. On constate aussi que la taille des superficies est très fluctuante d'une année à une autre, ce qui peut s'expliquer par la position secondaire du manioc parmi les cultures mises en production par les paysans. En opposition à ce constat dans la région de Sikasso, il y a une constante évolution des indicateurs de production (superficie, production, rendement). Sachant que les zones de production de cette région sont les rares à ne pas être touchées par les crises sociales sécuritaires du Mali, on pourrait dire que dans les autres régions, cette situation a impacté négativement la manioculture.

**Tableau 23** : Variétés les plus communes de manioc utilisées dans cinq régions au Mali

Zones d'étude	Appellations locales des variétés utilisées [degré de présence]
Kayes	Sélection (nouvelle variété) [+/-] <sup>a</sup> ; Gounfing [++]; Attiéké [-]; Banangoublé [-]; Manioc sucré [-]; Kayes banakouba [+/-]
Bko-koulikoro	Manioc blanc (Banankoun dje) [+]; Manioc rouge (Banankoun bleni ou tieke banakoun) [-], Gounfing [+/-]
Sikasso	Attiéké [+], Sika, Bougnouma [+], Korowarika [+/-], Bouloufing [+/-], Nouvelles variétés [-], Banakoudié [+/-]
Ségou	Fana ka [+]; VG [+/-]; V5 [+/-]
Mopti	Locale de Korientzé [+]; Kalafima [+/-]; Variété Ghana [-], Variété Cote d'Ivoire [-]

<sup>a</sup>, + présence très importante ; +/- présence moyenne ; - présence rare ;

**Tableau 24** : Production de 2015-2018

Zones d'étude	Campagnes	Productions (t)	Superficies (ha)	Rdmt (Kg/ha)	Evolution
Kayes	2015-2016	13014	723	7000	<i>Stable</i>
	2016-2017	12750	750	7867	
	2017-2018	10170	678	8333	
	<b>Total</b>	<b>35934</b>	<b>2151</b>	<b>23200</b>	
Bko-Koulikoro	2015-2016	4074	339	12018	<i>Instable</i>
	2016-2017	16241	896	18126	
	2017-2018	8750	733	11937	
	<b>Total</b>	<b>29065</b>	<b>1968</b>	<b>42081</b>	
Sikasso	2015-2016	40658	2697	15075	<i>Instable</i>
	2016-2017	47956,6	3172	15119	
	2017-2018	49338	3376	14614	
	<b>Total</b>	<b>137952,6</b>	<b>9245</b>	<b>44808</b>	
Ségou	2015-2016	25034	1377	18233	<i>Instable</i>
	2016-2017	32639,13	1957	16678	
	2017-2018	26564,5	1592	16686	
	<b>Total</b>	<b>84237,63</b>	<b>4926</b>	<b>51597</b>	
Mopti	2015-2016	18745	1136	16501	<i>Instable</i>
	2016-2017	11216	654	17150	
	2017-2018	12213	718	17010	
	<b>Total</b>	<b>42174</b>	<b>2508</b>	<b>50661</b>	
<b>Total global 2015-18</b>	2015-2016	101525	6272	68827	<b>Instable</b>
	2016-2017	120802,73	7429	74940	
	2017-2018	107035,5	7097	68580	
	<b>Totaux</b>	<b>329363,23</b>	<b>20798</b>	<b>212347</b>	

Rdmt : Rendement

### 1.3.2.7. Problèmes phytosanitaires

Les producteurs des différentes zones de productions méconnaissent la nature des problèmes phytosanitaires, qui par moment impactent très négativement la production de manioc. Parmi les rares cas qu'ils connaissaient (Tableau 25), la virose (CMV) appelée localement « Fala », qui est la maladie la plus fréquente, et surtout certains insectes nuisibles comme les sauterelles, termites, les cochenilles qui posent des problèmes récurrents. Cependant des maladies comme la bactériose vasculaire du manioc (CBB), la cercosporiose, la CBSV sont méconnus et qui pourtant sont présentes.

Aussi il a été constaté un usage quasi-inexistant de pesticide et très limité des fertilisants, ce qui signifie que le manioculture au Mali est majoritairement biologique, écologique, et donc respectueuse de l'environnement.

On pourrait alors se demander si ces méthodes traditionnelles (pas de pesticides, peu de fertilisant) s'appliquant lors des saisons des pluies, favorisent-elles la fertilité des sols et empêchent-elles la propagation d'agents pathogènes? En réponse nous savions qu'un usage continu d'un même sol, l'affaiblit en termes de capacité de restitution des éléments utilisés et un sol appauvrit donne des plants moins vigoureux donc sensibles et sources de propagation de pathogène.

**Tableau 25** : Problèmes phytosanitaires identifiés et connus par les producteurs

Lieux	Biogresseurs		
	Maladies	Ravageurs/insectes	Adventices
Kayes	Inconnues (maladie foliaire)	Cochenille farineuse	ND
Bko-Koulikoro	Virose	Mouche blanche	Monocotylédones : <i>NI</i>
Sikasso	Virose (ACMV)	Termites, coléoptère noirs ("Ngoboni finn").	Monocotylédones : <i>Panicum maximum</i> , <i>Imperata cylindrica</i> <i>Pennisetum polystachion</i> , <i>Rottboella conchinchensis</i> , <i>Eleusine indica</i> , <i>Paspalum commersonii</i>
Ségou	Virose (ACMV, "Falla <sup>1</sup> ")	Sauterelles, Termites, animaux en divagation*	Monocotylédones : <i>Imperata cylindrica</i> , <i>Rottboella conchinchensis</i>
Mopti	Maladie à fumagine (Mycose NI)	Insectes piqueurs	ND

<sup>1</sup>Appellation locale de la maladie CMD ; ND : Non déterminée ; NI : Non Identifié

### **1.3.3-Analyse économique**

#### **1.3.3.1. Compte d'exploitation : Cas des EF des zones d'études**

La production du manioc est rentable avec une marge bénéficiaire variant de 172750 à 1645400 Fcfa dans les différentes zones au Mali, cela est démontré dans le tableau 26 qui résume les comptes d'exploitation de producteurs sélectionnés dans nos échantillons d'étude dans les régions respectives. Cela étant, si on se focalise sur les prix de ventes respectifs d'une région à une autre, on constate qu'ils ne sont pas standards, même si d'une manière générale on a le sentiment d'une production à moindre coût. La fixation des prix de vente uniforme est essentielle, car si le prix de vente est attractif sur le marché cela motive plus d'un, soit à se lancer dans la production soit à augmenter sa superficie de production, ce qui constitue dans ce cas une force pour la filière.

#### **1.3.3.2. Forces et faiblesses de la filière**

La filière est doublement caractérisée par :

##### **-Les Forces et atouts**

**a) Pour les producteurs :** (i) Production à moindre coût (nécessite pas d'intrant coûteux); (ii) Disponibilité de boutures (échanges entre producteurs) ; (iii) Résistance à la sécheresse et au changement climatique, (iv) Diversification des revenus, (v) Existence d'un marché local où les consommateurs apprécient le manioc et ses sous- produits transformés.

**b) Pour les commerçants** (grossistes, demi-grossistes, détaillants) : les atouts de la filière résident en l'existence de la demande assez élevée.

##### **-Les faiblesses et inconvénients**

**a) Pour les producteurs :** (i) La faible productivité des mêmes variétés longuement utilisées sans renouvellement ; (ii) La faible organisation des producteurs ; (iii) Problèmes de conservation ; (iv) Insuffisance de matériels adéquats pour la transformation et les emballages de qualité; (v) L'inexistence des structures d'appui en conseils, technique et financier ; (vi) Insuffisance de matériel d'irrigation; (vii) Insuffisance des terres réservées à la culture du manioc; (viii) La pauvreté des sols en général et ceux réservés pour la culture du manioc ; (ix) Manque d'attention de la part des partenaires et de l'Etat comparé à d'autres cultures (riz, maïs, coton,..) ;(x) La non maîtrise des itinéraires techniques appropriés.

**Tableau 26** : Comptes d'exploitation du manioc produit dans quelques exploitations issues de nos 5 régions d'étude au Mali

Libellés /Rubriques	Kayes		Kkro-Bko		Sikasso		Ségou		Mopti	
	EF 1	EF 2	EF 1	EF 2	EF 1	EF 2	EF 1	EF 2	EF 1	EF 2
Superficie-parcelles (Ha)	0,25	0,25	0,5	0,25	7,25	7	1,5		0,5	0,5
1 - Production (kg)	3500	4000	9000	10000	10000	10000	17000		6000	5000
2- Produit brut (F CFA)	420000	480000	900000	400000	500000	750000	1700000		300000	250000
Prix de vente du Kg (F CFA)	120	120	100	40	50	75	100		50	50
3. Coût de production										
Main d'œuvre salariée	150000	150000	179000	240000	17500	29167				
Désherbage <sup>a</sup> -Herbicide <sup>b</sup>	2000 <sup>a</sup>	2000	5000 <sup>b</sup>	5000	10000	15000	16000 <sup>b</sup>			
Achat sac	5250	6000	21750	12500	12500	12500			15000	12500
Autres <sup>c</sup>	86500	86500			62850	99167	32500			
4. Amortissements (F CFA/ha)										
Equipement 1(ex. Pompe d'arrosage)			30000	30000						
Equipement 2(ex. Dabas)	3500	2500	2000	2000						
Equipement 3 (ex. Matériel de traitement phytos)			7000	7000						
Total amortissement	3500	2500	39000	39000	9667	6334	14200		63000	24500
Total coût de production	<b>247250</b>	<b>247000</b>	<b>244750</b>	<b>296500</b>	<b>100017</b>	<b>149667</b>	<b>54600</b>		<b>78000</b>	<b>37000</b>
5. Valeur de la production (FCFA)	<b>420000</b>	<b>480000</b>	<b>900000</b>	<b>400000</b>	<b>500000</b>	<b>750000</b>	<b>1700000</b>		<b>300000</b>	<b>250000</b>
6. Autoconsommation (FCFA)					15464	25000				
7. Marge bénéficiaire nette	172750	233000	655250	103500	399983	600333	1645400		222000	213000
9. RATIO <sup>d</sup>	0,69	0,94	2,67	0,34	3,99	4	30,13		2,84	5,75

EF: Exploitation Familiale ; <sup>a</sup>Désherbage ; <sup>b</sup>Herbicide ; <sup>c</sup>Autres=Montant pour Irrigation (66000) +Labour (6000) +Engrais (21500) + Récolte (2000) ; <sup>d</sup>Ratio= Marge Bénéficiaire/ Coût de production

**b) Pour les commerçants (grossistes, demi-grossistes, détaillants) :** (i) La faible organisation de cette commercialisation ; (ii) La non-harmonisation de la fixation des prix de vente, grande instabilité des prix entre acteurs du marché (grossiste, demi-détaillants) ; (iii) L'absence de partenariat formel entre producteurs et commerçants ; (iv) Coûts de transport élevés ; (v) Accès difficile aux zones de production ; (vi) La non-existence de véritable contrat entre les différents acteurs, pas de garantie ; (vii) Difficulté de conservation en cas de mévente (surtout en saison froide, moins de trois jours); (viii) Difficultés d'écoulement des produits dans certaines zones à accès difficile ; (ix) Insuffisance de moyens de transport adéquat pour diminuer les pertes ; (x) Absence des marchés extérieurs (exportations).

**c) Pour les organisations paysannes :** une faible organisation des acteurs **\*pour les transformateurs :** (i) Insuffisance de variétés performantes pour transformer idéalement le manioc ; (ii) Insuffisance d'équipements adéquats ; (iii) Insuffisance de structure d'appui-conseil et de politique de soutien pour la promotion du manioc ; (iv) La non-existence de technologie de conservation et de transformation ; (iv) Disproportion de la disponibilité dans le temps avec périodes de forte concentration de la production , ce qui influe défavorablement sur les prix ; (v) Concurrence des produits étrangers (la pâte de manioc et l'attiéké importés de la Côte d'Ivoire) ; (vi) Mauvaise organisation des acteurs des filières, notamment des commerçants ; (vii) Faible niveau des technologies post récolte (stockage, emballage).

**d) Pour les transporteurs,** le mauvais état des routes.

### **1.3.4-Valorisation-utilisation de la production du manioc au Mali**

#### **1.3.4.1-Zones d'écoulements des productions**

La production à l'échelle locale dans les régions (Tableau 27) est globalement sujette à la commercialisation. C'est ainsi que les deux plus grandes régions productrices à savoir Sikasso et Ségou exportent plus de la moitié de leur production dans d'autres régions du pays et même à l'international dans des pays voisins (fréquemment le Sénégal et la Mauritanie). Cependant les régions de production moyenne comme Mopti et Bamako voient leur production vendue à l'échelle locale (régionale), donc sans exportation ni dans les autres zones du pays, ni à l'étranger.

**Tableau 27** : Zones d'écoulements des productions de manioc issues des 05 régions enquêtées au Mali

Lieux	Destination d'exportation		
	Régionales	Ailleurs-Nationales	Internationales
Kayes	72,5%	17,5%(Bamako)	10% (Sénégal, Mauritanie)
Bko-Koulikoro	100% (Bamako)	0	0
Sikasso	3%(Sikasso)	66%(Bamako, Kayes, Koutiala, Niono)	31%(Burkina Faso, Sénégal, Mauritanie)
Ségou	(10%) Niono, Bla,	70% (Mopti, Bamako et Kayes)	20%(Sénégal et la Mauritanie)
Mopti	100%( Mopti ville, Sévaré, Korientzé, Bagui, Takouti et Dèrè Badiangara)	0	0

#### 1.1.3.5.2. Utilisations alimentaires

Plusieurs usages sont faits du manioc dans les zones de productions (Tableau 28). La tendance majoritaire est l'utilisation du manioc pour l'alimentation humaine avec des mets comme l'attiéké, le gari, Toh et diverses sauces comme le *sagasaga*.

**Tableau 28** : Produits alimentaires et sous-produits du manioc dans les zones de productions au Mali

Zones d'étude	Produits alimentaires	Autres Sous-produits
Kayes		Jeunes feuilles; fourrage pour le bétail
Bko-Koulikoro	Mets (To), Sauces diverses ( <i>sagasaga</i> ), attiéké, le gari	Fertilisation (pleures)
Sikasso	Toh, couscous, Attiéké, amidon, farine.	Bois de chauffe; fourrage (feuilles)
Ségou	Attiéké, toh, amidon, Gari	Tige (bouture), bois de chauffe, Les épluchures(compost, aliment bétail)
Mopti	Attiéké, Farine, Gari	

Au Mali, près de 86% de la production de manioc est consommée à l'état cru.

## **1.4-Discussion**

### **1.4.1-Caractéristiques du système de production du manioc : un système de production toujours familial ?**

Les enquêtes socio-agronomiques menées d'octobre à décembre 2016 puis de juillet à novembre 2018 dans les zones de productions de manioc de cinq régions et d'un district administratif (régions de Kayes, Koulikoro, Sikasso, Ségou et Mopti puis district de Bamako) répartis en cinq zones d'étude (Koulikoro et Bamako étant regroupées en une même zone d'étude) en se fiant à la structuration des services déconcentrés d'agriculture.

Nous avons constaté que les systèmes de production dans les différentes zones d'études sont essentiellement fondés sur des pratiques rudimentaires sur de petites superficies associées à des modes de production de type familiale. Cela a été signalé ailleurs dans le monde dans beaucoup de zone ou également le manioc est produit de façon traditionnelle par opposition aux modes de cultures conventionnelles soumis aux pressions du marché (Mckey et *al.*,2010).

En outre cette culture traditionnelle peut être réalisée avec une certaine facilité car pratiquée sur des terres collectives et par des producteurs ne dépendant pas de la commercialisation du manioc pour leur subsistance (c'est un cas fréquent chez les peuples indigènes en particulier en Amazonie). Il est donc très intéressant que, bien que les producteurs soient obligés de répondre aux pressions du marché, ils maintiennent des pratiques proches des modes de vie traditionnels. C'est une grande contribution du point de vue social, car ils conservent ainsi leur mémoire bioculturelle à travers "la manioculture" (Dario Perez, communication personnelle).

Nos résultats indiquent que près d'une trentaine de variétés de manioc sont présentes dans ces zones de production, majoritairement des variétés très anciennes (par leur présence de plus de 20 ans) dites locales représentant 80% et seulement 20% pour les nouvelles variétés dites étrangères et/ou améliorées.

Ce qui démontre une conservation sur de longues périodes des variétés utilisées. Cette information contribue à l'évaluation de la mémoire bioculturelle des paysans comme l'indiquent les travaux du groupe de Victoria Reyes-García(Reyes-García & Benyei, 2019), qui montre que l'exploitation agricole de la diversité génétique contribue à la conservation biologique et aux connaissances écologiques traditionnelles (Dario Perez, communication personnelle). Il est donc intéressant que les paysans conservent autant de variétés différentes, car cela signifie qu'ils ont une connaissance approfondie des utilisations de celles-ci et c'est ainsi que les paysans maintiennent la diversité locale en vigueur pour maintenir en vie leurs coutumes, habitudes alimentaires et autres préférences.



Ces résultats confortent l'évidence de l'existence d'une grande diversité génétique sinon morphologique chez le manioc, représenté par un large répertoire de variétés, qui est associé aux zones dans lesquelles, les habitudes, les pratiques traditionnelles ont permis une conservation pérenne. (Elias et *al.*, 2001; Elias et *al.*, 2004; Emperaire & Peroni, 2007; Heckler & Zent, 2008).

Aussi il est important de reconnaître que malgré le nombre important des études menées sur les variétés auprès des communautés autochtones, des problèmes de synonymie et d'homonymie persistent. C'est ainsi que dans ces communautés chaque famille s'approprie et identifie elle-même ses variétés, ce qui atteste d'une certaine connaissance locale d'une part, mais aussi complexifie la différenciation des variétés (Pérez, Mora, & López Carrascal, 2019).

Les études sur la diversité génétique indiquent une très grande diversité du manioc surtout dans la zone amazonienne (qui serait le centre de diversification du manioc) avec plus de 130 variétés distinctes (Peña-venegas et *al.*, 2014), proportions très supérieures à nos résultats actuels, ce qui sous-entend que la diversité des variétés maliennes est moyenne. Cependant de façon globale ailleurs en Afrique, des études menées montrent une grande variabilité des populations de manioc dans certaines zones de grande production comme au Nigeria, qui pour lequel dans certains cas, sont associées à un système de gestion des cultures traditionnelles (Kizito et *al.*, 2005). Cette tendance de haute diversité trouvée en Afrique a conduit à la considérer comme un deuxième centre de diversification (Fregene et *al.*, 2003).

On pourrait penser qu'au Mali, si l'hypothèse d'une pratique récente n'est pas la plus plausible, on connaît des cas d'introduction récente avec une forte diversification comme au Vanuatu (Sardos et *al.*, 2008) et en Thaïlande (Fu et *al.*, 2014; Wangsomnuk et *al.*, 2013), où malgré une introduction relativement récente du manioc, un niveau relativement élevé de la diversité a été constaté. Cette variabilité génétique intraspécifique, est généralement associée aux systèmes de petites exploitations (comme cela est le cas majoritaire au Mali) qui permettent pour les espèces à reproduction sexuée des possibles croisements aléatoires entre variétés. Parmi les éléments qui influence ou aide beaucoup à conserver la diversité génétique nous avons le lien que les producteurs ont pour une telle ou telle variété. Ils les conservent aussi parce que les variétés rappellent ou sont spécifiques à certaines préparations culinaires, mais aussi parce que toutes les variétés disponibles sont vendues sur le marché. Le maintien de différentes variétés sur une même parcelle est une forme de sélection végétale participative et une autre source de diversité intraspécifique.

A contrario, des cas d'introduction récents du manioc dans une zone et aussi de la pratique de la manioculture intensive à des fins commerciales sont source d'une diversité faible. Cela a été démontré par des études sur la diversité de Wang et *al.* (2014) et aussi de Lamprecht (2015), montrant une diversité génétique plus faible du manioc en Asie.

Nos résultats indiquent également que le manioc au Mali est généralement implanté sur de petites superficies (0,25-2ha) dans des périmètres maraichers, potagers, de fait ne nécessite pas l'implication de beaucoup de main d'œuvre (généralement familiale) et n'utilisant pas d'équipements sophistiqués (mécanisation absente) et surtout l'absence quasi-totale de traitements phytosanitaires et d'apport de fertilisants. C'est donc une agriculture familiale essentiellement faite par de petits producteurs. De tels systèmes de productions familiales (ou traditionnelles) dans des systèmes de production extensive garantissent la conservation sur le long terme des pratiques (traditionnelles) sur de faibles superficies associées comme chez les peuples autochtones de l'Amazonie (Pérez et al; 2019) .

En somme, le système de production au Mali, ici décrit présente une grande diversité bien qu'une analyse génétique soit nécessaire (où nous trouverons probablement que la majorité sont des clones), aussi l'utilisation de différents noms communs dans les variétés commercialisées peut indiquer la conservation de la diversité culturelle entre les agriculteurs et les consommateurs en général.

#### **1.4.2-Le système de production malien est-il vulnérable aux bioagresseurs ?**

Quant à la situation du matériel végétal de multiplication, elle est majoritairement axée sur les cas d'échange entre producteurs, avec 74% des cas d'acquisition, suivi des cas d'achat pour 14% et des autres modes (don de services techniques -vulgarisation et recherche- et ONG pour adoption, promotion de nouvelles variétés) qui sont de 12%. De façon générale la multiplication du manioc se fait par voie asexuée à travers les boutures, bien que la présence de cas de reproduction sexuée (*semis volontaires*) ai été signalée dans les systèmes de culture de manioc traditionnels au niveau des tribus amérindiennes et même en Afrique, toutefois ces cas sont considérés comme marginaux et très peu pratiqués (Emperaire & Pinton, 1998; Salick et *al.*, 1997; Chiwona et *al.*, 1998).

On a constaté que pour les origines, les parts de boutures issues d'une même localité (village du producteur) sont les plus importantes avec un total de 78% (44% provenant des autres parcelles dans le village et 34% de la parcelle du producteur) et que les boutures provenant des autres zones sont moins fréquentes (les villages/localités voisins (16%) et autres (régions et pays voisins) (5%)). Ces tendances démontrent un faible taux de renouvellement des variétés

utilisées et surtout un usage continu d'une même variété, situation qui pourrait d'une part permettre un goulot d'étranglement (probabilité de trouver dans une culture donnée des individus avec un ou très peu de génotypes, de cette façon seule une petite fraction de ces génotypes est multipliée) contribuant à la perte de diversité après quelques cycles de production et aussi favoriser l'adaptation des populations pathogènes d'autant plus que ces producteurs déploient en général une seule variété et sans association avec d'autres cultures.

Notre type de réseaux de circulation de bouture est dit «informel» selon (Delaquis et *al.*, 2018), est important pour la souveraineté alimentaire et notre étude est la première étape du suivi de ce système spécifique. Avec nos résultats, un processus participatif de sélection végétale peut être programmé, il servira à surveiller les maladies et à améliorer les productions. Dans la littérature des travaux de recherches documentent des réseaux qui ont des dimensions proches de celui existant au Mali. Par ailleurs une étude menée auprès de certains producteurs de manioc de la côte caraïbe colombienne, a permis de constater qu'une seule variété, appelée "Vénézuélienne" représente le quart des variétés semées (Alzate et *al.*, 2010), d'où l'existence de cas de dominance d'une même variété dans certaines zone de production. Toutefois en règle générale pour introduire une nouvelle culture/variété dans une zone, les paysans apprécient fortement son niveau de consommation et c'est pourquoi dans notre cas ils ont conservé une trentaine de variétés avec une certaine fréquence de plantation. En se fiant aux intentions qu'ils ont de conserver les boutures en raison de leurs caractéristiques physiologiques, il semble qu'ils ont une bonne connaissance sur les potentialités de leurs boutures qui doivent satisfaire aux exigences du marché.

Par ailleurs les producteurs majoritairement méconnaissent la nature des problèmes phytoparasitaires, qui par moment impactent très négativement leur production de manioc. Parmi les rares cas qu'ils connaissaient, la virose (CMD) appelée localement "Fala", qui est la maladie la plus fréquente, et surtout certains insectes nuisibles comme les termites, les cochenilles. Cependant des maladies comme la bactériose vasculaire du manioc (CBB), la cercosporiose sont mal connues et qui pourtant sont généralement présentes symptomatiquement.

Sur le plan économique, nos données collectées prouvent à suffisance que la production du manioc est rentable dans toutes les zones de production du Mali toutefois une meilleure maîtrise du système de production à travers une bonne sélection des variétés permettrait de mieux rationaliser cet acquis (Buddenhagen et *al.*, 2017; Nduwumuremyi et *al.*, 2016).

## **1.5-Conclusions**

La production du manioc au Mali est basée sur un mode de production largement extensif, caractérisé par une acquisition du matériel végétale de multiplication (bouture), par échange entre producteurs et un usage continu de mêmes variétés avec pour conséquence une très grande exposition, un important risque d'émergence de bioagresseurs.

## **1.6-Implications personnelles**

J'ai eu à participer à l'ensemble des activités ayant généré les présents résultats, à savoir l'élaboration des questionnaires, la coordination des enquêtes sur terrain (essentiellement menées par des étudiants que j'ai encadrés dans le cadre de leur stage de fin étude), le dépouillement, le traitement et l'analyse des résultats et enfin la valorisation de ces résultats dans ce manuscrit.

## **1.7-Publications (référence de la publication)**

Les résultats de cette partie pourront être publiés sous forme d'un article de vulgarisation sur la production du manioc au Mali et d'un article spécialisé sur l'évaluation du système de production intitulé "La production du manioc au Mali, un système vulnérable au bioagresseurs".

---

## Partie 2-Connaissance sur *Xpm* au Mali et ailleurs en Afrique (Nigeria et Cameroun)

---

### 2.1-Statut de la CBB au Mali : Prévalence et épidémiologie

#### 2.1.1-Contexte

La culture du manioc ayant sérieusement pris un coup d'accélérateur au Mali ces vingt dernières années (Dembélé et al, 2013), la bibliographie sur cette culture à l'échelle nationale reste très pauvre, et celle sur les maladies est quasi-inexistante, d'où un secteur sevré en termes de documentation nationale.

Par ailleurs, la CBB qui sévit sur plusieurs continents de la ceinture intertropicale, et notamment en Afrique de l'Ouest, restait jusqu'à nos récents travaux avec un statut inconnu au Mali, sans aucune note en lien avec la CBB, donc n'a été jusqu'à ce jour établie officiellement. De plus la menace de son émergence au Mali suite aux constats de sa présence en Côte d'Ivoire (Koné et al, 2015) et au Burkina Faso (Wonni et al, 2015) nous a amené à faire une étude préliminaire sur des échantillons issus de deux zones de production (Bamako et Ségou). Les échantillons collectés ont servi pour la caractérisation moléculaire et de pathogénicité des souches de *Xanthomonas phaseoli* pv *manihotis* isolées, parmi lesquelles certaines ont été valorisées sous forme de report disease dans la revue *Plant Disease*.

#### 2.1.2-Implications personnelles

J'ai été impliqué dans l'ensemble des activités qui ont abouti à cet article, entre autres la collecte des échantillons, les expériences en laboratoires (isolement, caractérisation moléculaire des souches), et serres (test pathogénique) et finalement la rédaction du manuscrit en collaboration des autres co-auteurs.

#### 2.1.3-Publication: First report of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*), the causal Agent of Cassava Bacterial Blight (CBB) in Mali (1<sup>er</sup> auteur).

Disease Note

Diseases Caused by Bacteria and Phytoplasmas

#### First Report of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*, the Causal Agent of Cassava Bacterial Blight, in Mali.

M. Kante,<sup>1,2</sup> C. Flores,<sup>1</sup> Y. Moufid,<sup>1</sup> I. Wonni,<sup>3</sup> M. Hutin,<sup>1</sup> E. Thomas,<sup>1</sup> S. Fabre,<sup>1,4</sup> L. Gagnevin,<sup>1,4</sup> K. Dagno,<sup>5</sup> V. Verdier,<sup>1</sup> O. Koita,<sup>2</sup> and B. Szurek<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>IPME, Univ Montpellier, CIRAD, IRD, Montpellier, France

<sup>2</sup> Université des Sciences Techniques et Technologiques, Faculté des Sciences et Techniques, LBMA, Bamako, Mali

<sup>3</sup> INERA, Institut de l'Environnement et Recherches Agricoles, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

<sup>4</sup> CIRAD, UMR IPME, F-34398 Montpellier, France

<sup>5</sup> IER, Institut d'Economie Rurale, Laboratoire de Phytopathologie, CRRA de Sotuba, BP 258 Bamako, Mali

Plant Dis. 0:1, 2020; published online as <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-19-2611-PDN>. Accepted for publication 4 February 2020.

Cassava bacterial blight (CBB), which is a vascular disease caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*), previously known as *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, poses a major threat to cassava (*Manihot esculenta*) production worldwide. Typical symptoms include angular leaf lesions, blight, wilting, stem exudates, and stem cankers. Stem cuttings are used to propagate cassava and play a crucial role in *Xpm* dissemination. In line with a growing interest of smallholder farmers for cassava in West Africa, recent surveys revealed the occurrence of CBB in Burkina Faso (Wonni et al. 2015) and Ivory Coast (Kone et al. 2015). In Mali, which shares borders with these two countries, CBB was reported in the early 1980s, but the available information is quite limited: there is no description of symptoms nor of the causal agent, and no strain of the pathogen had been isolated (CABI 2018). To fill this gap, cassava fields were surveyed in the regions of Segou (site of Bla) and Bamako (sites of Sotuba and Samanko) from December 2015 to January 2016. Approximately 80 leaves exhibiting typical angular translucent spots were collected at the three sites and processed for bacterial isolation. White *Xanthomonas* like colonies were isolated from ground diseased leaf tissues 48 h after incubation at 28°C on LPGA medium (yeast, 5 g; peptone, 5 g; glucose, 5 g; Bacto agar, 15 g; distilled water, 1 liter). Fifty candidate *Xpm* strains were then tested using a diagnostic multiplex PCR (Bernal-Galeano et al. 2018) using the *Xpm* reference type strain CFBP 7661 as a positive control.

The two bands expected for *Xpm* were obtained for 40 candidate strains, as well as for CFBP 7661. *Xpm* strains CIX2484, CIX2492, CIX2502, CIX2504, CIX2497, and CIX2498 were further analyzed by sequencing of the housekeeping gene *gyrB*, resulting into 98 to 100% identity with the *gyrB* sequence of 66 *Xpm* strains available at NCBI, including the type strain CFBP 7661. Pathogenicity tests were performed on 4-week-old cassava plants of the MCOL1522 cultivar. CIX2484, CIX2492, CIX2502, CIX2504, CIX2497, and CIX2498 strains were grown overnight in LPGA medium and resuspended in sterile water at  $1 \times 10^8$  CFU/ml. Bacterial suspensions were inoculated into cassava leaves and stems as previously described (Wonni et al. 2015), whereas sterile water and *Xpm* strain CFBP 7661 were used as negative and positive controls, respectively. After 7 days of incubation under greenhouse conditions (28°C, 70% relative humidity, and a photoperiod of 12 h), cassava leaves developed typical CBB watersoaked lesions. Wilted leaves and stem exudates were also visible 30 days after stem inoculation, with symptoms being reminiscent of those typically seen in the field. By contrast, plants inoculated with water remained symptomless. White colonies with a typical *Xanthomonas*-like morphology were next reisolated from diseased leaves and confirmed as *Xpm* using the diagnostic PCR assay, thus fulfilling Koch's postulates. Strains CIX2484, CIX2492, and CIX2504 were deposited in the French Collection for Plant-Associated Bacteria (CIRM-CFBP). Information on *Xpm* strains as well as *gyrB* sequences is available through CIRM-CFBP: [https://www6.inra.fr/cirm\\_eng/CFBP-Plant-Associated-Bacteria](https://www6.inra.fr/cirm_eng/CFBP-Plant-Associated-Bacteria). To our knowledge, this is the first report of CBB in Mali supported by molecular diagnostic methods. Given the growing importance of cassava for human consumption, CBB could represent a major threat in Mali, as well as in neighboring countries.

Further surveys at the national level will help to evaluate the prevalence of CBB in Mali and help orientate adapted control strategies.

**Keywords: Xanthomonas, cassava bacterial blight, Mali**

### References

- Bernal-Galeano, V., Ochoa, J. C., Trujillo, C., Rache, L., Bernal, A., and López, C. A. 2018. Development of a multiplex nested PCR method for detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Cassava. *Trop Plant Pathol* 43:341-350.
- CABI. 2018. *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (Cassava Bacterial Blight). in: *Invasive Species Compendium CABI*.
- Kone, D., Dao, S., Tekete, C., Doumbia, I., Koita, O., Abo, K., Wicker, E., and Verdier, V. 2015. Confirmation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* causing Cassava Bacterial Blight in Ivory Coast. *Plant Dis* 99:1445-1445.
- Wonni, I., Ouedrago, L., Tekete, C., Szureck, B., and Verdier, V. 2015. First report of Cassava Bacterial Blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Burkina Faso. *Plant Dis* 99:551-551.

### 2.1.4-Perspectives

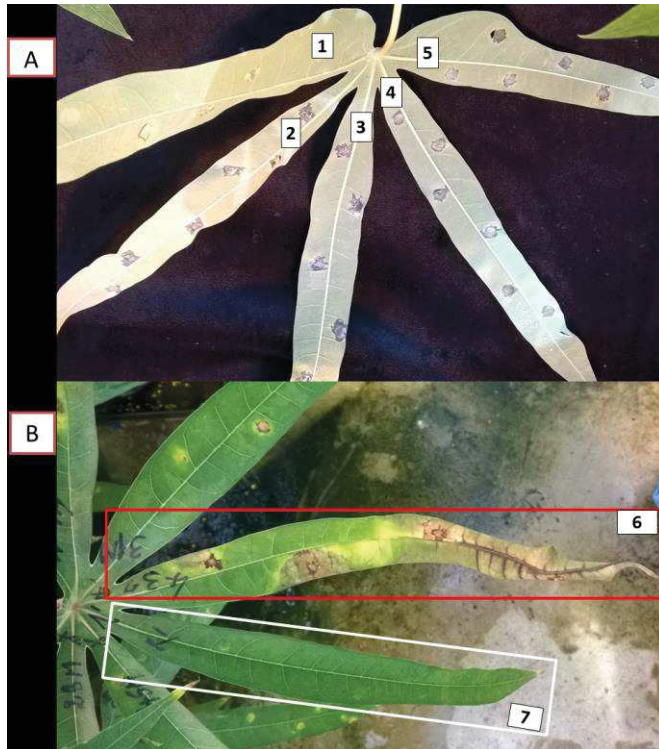
Les résultats actuels confirmant la prévalence de la CBB au Mali, nous permettront d'entreprendre des travaux plus poussés dans la compréhension de la dynamique de cette maladie et donc de l'agent pathogène *Xpm*.

Il s'agira entre autres :

- d'étude de plus approfondie sur la caractérisation des souches maliennes, pour savoir s'il existe d'autres variantes ;
- d'étude de génétiques de populations malienne de *Xpm* à travers la détermination de leur diversité et structure génétique ;
- d'étude sur l'aptitude des souches maliennes en termes de virulence, agressivité et donc le degré de résistance ou sensibilité des variétés locales face aux variétés les plus populaires au Mali.

### 2.1.5-Données supplémentaires

**DS1:** Symptômes observés suite à l'infiltration de feuilles de manioc de la variété SG107 avec de l'eau (1,7), la souche de référence *Xpm* appelée *Xam* CIO151 servant de témoin positif (2), les souches candidates 4M (3), 5M (4) ,6M (5) et 43M (6). Les photos ont été prises 10 (A) et 25 (B) jours après infiltration.



**DS2:** Alignement multiple des séquences de *gyrB* des 6 souches de *Xpm* du Mali analysées dans cette étude et la souche de référence CIO151 via CLUSTAL O (1.2.2).

```

Xam_8M  TCCGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTT
Xam_16M TCCGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTT
Xam_24M TCCGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTT
Xam_26M TCCGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTT
Xam_62M TCCGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTT
Xam_70M TCCGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTT
Xam_CIO151 TCCGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAATTGTTGATGCTGTT
*****
Xam_8M  CACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAACGCCACCCTACGACCCGGCCCTGCTCAC
Xam_16M CACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAACGCCACCCTACGACCCGGCCCTGCTCAC
Xam_24M CACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAACGCCACCCTACGACCCGGCCCTGCTCAC
Xam_26M CACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAACGCCACCCTACGACCCGGCCCTGCTCAC
Xam_62M CACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAACGCCACCCTACGACCCGGCCCTGCTCAC
Xam_70M CACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAACGCCACCCTACGACCCGGCCCTGCTCAC
Xam_CIO151 CACCAGCGCCAACGAAGCGATCGCGCGCAACGCCACCCTACGACCCGGCCCTGCTCAC
*****
Xam_8M  CGCGCTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGTGGAAAAGCTGCAGGTGGAAGGCGACCAGCA
Xam_16M CGCGCTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGTGGAAAAGCTGCAGGTGGAAGGCGACCAGCA
Xam_24M CGCGCTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGTGGAAAAGCTGCAGGTGGAAGGCGACCAGCA
Xam_26M CGCGCTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGTGGAAAAGCTGCAGGTGGAAGGCGACCAGCA
Xam_62M CGCGCTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGTGGAAAAGCTGCAGGTGGAAGGCGACCAGCA
Xam_70M CGCGCTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGTGGAAAAGCTGCAGGTGGAAGGCGACCAGCA
Xam_CIO151 CGCGCTGATCGACCTGCCGCCATTGGATGTGGAAAAGCTGCAGGTGGAAGGCGACCAGCA
*****
Xam_8M  CCCGACCCTGGATGCACTGCAGGCAGTGCTCAACCGCGGCACCCTGGGTACCGCGCGCTA
Xam_16M CCCGACCCTGGATGCACTGCAGGCAGTGCTCAACCGCGGCACCCTGGGTACCGCGCGCTA
Xam_24M CCCGACCCTGGATGCACTGCAGGCAGTGCTCAACCGCGGCACCCTGGGTACCGCGCGCTA
Xam_26M CCCGACCCTGGATGCACTGCAGGCAGTGCTCAACCGCGGCACCCTGGGTACCGCGCGCTA
Xam_62M CCCGACCCTGGATGCACTGCAGGCAGTGCTCAACCGCGGCACCCTGGGTACCGCGCGCTA
Xam_70M CCCGACCCTGGATGCACTGCAGGCAGTGCTCAACCGCGGCACCCTGGGTACCGCGCGCTA
Xam_CIO151 CCCGACCCTGGATGCACTGCAGGCAGTGCTCAACCGCGGCACCCTGGGTACCGCGCGCTA
*****
Xam_8M  TCAGTTGCGCTTCGACCCGGGCAGCGACAATGCACCTGCCACCCTGGTGGCCATCCGCCG
Xam_16M TCAGTTGCGCTTCGACCCGGGCAGCGACAATGCACCTGCCACCCTGGTGGCCATCCGCCG
Xam_24M TCAGTTGCGCTTCGACCCGGGCAGCGACAATGCACCTGCCACCCTGGTGGCCATCCGCCG
Xam_26M TCAGTTGCGCTTCGACCCGGGCAGCGACAATGCACCTGCCACCCTGGTGGCCATCCGCCG
Xam_62M TCAGTTGCGCTTCGACCCGGGCAGCGACAATGCACCTGCCACCCTGGTGGCCATCCGCCG
Xam_70M TCAGTTGCGCTTCGACCCGGGCAGCGACAATGCACCTGCCACCCTGGTGGCCATCCGCCG
Xam_CIO151 TCAGTTGCGCTTCGACCCGGGCAGCGACAATGCACCTGCCACCCTGGTGGCCATCCGCCG
*****

```



Xam\_8M CCACATGGGGCAAGAGTTACCCAGGTGCTGCCGATGGGTGCGTTCGAAAGCGGGCAGCT  
 Xam\_16M CCACATGGGGCAAGAGTTACCCAGGTGCTGCCGATGGGTGCGTTCGAAAGCGGGCAGCT  
 Xam\_24M CCACATGGGGCAAGAGTTACCCAGGTGCTGCCGATGGGTGCGTTCGAAAGCGGGCAGCT  
 Xam\_26M CCACATGGGGCAAGAGTTACCCAGGTGCTGCCGATGGGTGCGTTCGAAAGCGGGCAGCT  
 Xam\_62M CCACATGGGGCAAGAGTTACCCAGGTGCTGCCGATGGGTGCGTTCGAAAGCGGGCAGCT  
 Xam\_70M CCACATGGGGCAAGAGTTACCCAGGTGCTGCCGATGGGTGCGTTCGAAAGCGGGCAGCT  
 Xam\_CIO151 CCACATGGGGCAAGAGTTACCCAGGTGCTGCCGATGGGTGCGTTCGAAAGCGGGCAGCT  
 \*\*\*\*\*  
 Xam\_8M GCGTCCGCTGCGTGAGGTCTCGTTGGCCTTGACACGACCTGGTGCGCGAAGGCGCCCAGAT  
 Xam\_16M GCGTCCGCTGCGTGAGGTCTCGTTGGCCTTGACACGACCTGGTGCGCGAAGGCGCCCAGAT  
 Xam\_24M GCGTCCGCTGCGTGAGGTCTCGTTGGCCTTGACACGACCTGGTGCGCGAAGGCGCCCAGAT  
 Xam\_26M GCGTCCGCTGCGTGAGGTCTCGTTGGCCTTGACACGACCTGGTGCGCGAAGGCGCCCAGAT  
 Xam\_62M GCGTCCGCTGCGTGAGGTCTCGTTGGCCTTGACACGACCTGGTGCGCGAAGGCGCCCAGAT  
 Xam\_70M GCGTCCGCTGCGTGAGGTCTCGTTGGCCTTGACACGACCTGGTGCGCGAAGGCGCCCAGAT  
 Xam\_CIO151 GCGTCCGCTGCGTGAGGTCTCGTTGGCCTTGACACGACCTGGTGCGCGAAGGCGCCCAGAT  
 \*\*\*\*\*  
 Xam\_8M CGTGCGCGGCAACAAGAGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCCACGCCTGGTTGCT  
 Xam\_16M CGTGCGCGGCAACAAGAGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCCACGCCTGGTTGCT  
  
 Xam\_24M CGTGCGCGGCAACAAGAGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCCACGCCTGGTTGCT  
 Xam\_26M CGTGCGCGGCAACAAGAGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCCACGCCTGGTTGCT  
 Xam\_62M CGTGCGCGGCAACAAGAGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCCACGCCTGGTTGCT  
 Xam\_70M CGTGCGCGGCAACAAGAGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCCACGCCTGGTTGCT  
 Xam\_CIO151 CGTGCGCGGCAACAAGAGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCCACGCCTGGTTGCT  
 \*\*\*\*\*  
 Xam\_8M GGACGAGGCCAAGAAGGGCCGCCAGGTACAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAATGC  
 Xam\_16M GGACGAGGCCAAGAAGGGCCGCCAGGTACAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAATGC  
 Xam\_24M GGACGAGGCCAAGAAGGGCCGCCAGGTACAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAATGC  
 Xam\_26M GGACGAGGCCAAGAAGGGCCGCCAGGTACAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAATGC  
 Xam\_62M GGACGAGGCCAAGAAGGGCCGCCAGGTACAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAATGC  
 Xam\_70M GGACGAGGCCAAGAAGGGCCGCCAGGTACAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAATGC  
 Xam\_CIO151 GGACGAGGCCAAGAAGGGCCGCCAGGTACAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAATGC  
 \*\*\*\*\*  
 Xam\_8M CGAGCAGCTGTGGGAAACCACGGTCAACCCCGACACGCGTCTGTGTCAGGTGCGCAT  
 Xam\_16M CGAGCAGCTGTGGGAAACCACGGTCAACCCCGACACGCGTCTGTGTCAGGTGCGCAT  
 Xam\_24M CGAGCAGCTGTGGGAAACCACGGTCAACCCCGACACGCGTCTGTGTCAGGTGCGCAT  
 Xam\_26M CGAGCAGCTGTGGGAAACCACGGTCAACCCCGACACGCGTCTGTGTCAGGTGCGCAT  
 Xam\_62M CGAGCAGCTGTGGGAAACCACGGTCAACCCCGACACGCGTCTGTGTCAGGTGCGCAT  
 Xam\_70M CGAGCAGCTGTGGGAAACCACGGTCAACCCCGACACGCGTCTGTGTCAGGTGCGCAT  
 Xam\_CIO151 CGAGCAGCTGTGGGAAACCACGGTCAACCCCGACACGCGTCTGTGTCAGGTGCGCAT  
 \*\*\*\*\*  
 Xam\_8M CGAGGACGCGGTGGCCCGCCGACCAGATCTT  
 Xam\_16M CGAGGACGCGGTGGCCCGCCGACCAGATCTT  
 Xam\_24M CGAGGACGCGGTGGCCCGCCGACCAGATCTT  
 Xam\_26M CGAGGACGCGGTGGCCCGCCGACCAGATCTT  
 Xam\_62M CGAGGACGCGGTGGCCCGCCGACCAGATCTT  
 Xam\_70M CGAGGACGCGGTGGCCCGCCGACCAGATCTT  
 Xam\_CIO151 CGAGGACGCGGTGGCCCGCCGACCAGATCTT  
 \*\*\*\*\*

## **2.2-Diversité génétique des populations maliennes de *Xpm*: Structure des populations de *Xpm* du Mali et épidémiologie.**

### **2.2.1-Contexte**

Le manioc (*Manihot esculenta*), plante à tubercules, est une des plus importantes sources d'alimentation et de revenu surtout pour de nombreux petits producteurs de la ceinture intertropicale (Prakash, 2015). Cependant sa production est menacée par la bactériose vasculaire du manioc communément appelée CBB ou Cassava Bacterial Blight (Fanou et al., 2018). L'agent causal de la CBB est la bactérie phytopathogène *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) (Constantin et al., 2016).

Au Mali malgré qu'elle a été signalée depuis fort longtemps (Bradbury, 1986; Kranz & Hammat, 1979), il n'existait aucune souche en conservation ou du moins répertoriées dans les archives. Cette situation contribuait à accentuer le grand manque de connaissance sur l'épidémiologie de la maladie, surtout que d'importants échanges existent avec deux de ces pays voisins (Labazée, 1993), où récemment la CBB a été confirmée de façon moléculaire (Burkina Faso (Wonni et al., 2015) et Cote d'Ivoire (Kone et al., 2015)).

Dans ce présent travail, 14 marqueurs VNTRs ont été appliqués à un lot de souches *Xpm* issues de différentes zones de "manioculture" du Mali dans l'optique de déterminer si ces souches de *Xpm* maliennes sont génétiquement similaires d'une région à une autre, donc issue d'une seule introduction accidentelle à partir des pays voisins, ou si elles ont évolué indépendamment dans les différentes régions. Pour cela il s'agissait de : (i) Mesurer l'adaptabilité et la robustesse de la technique MLVA appliquée à la collection de *X. phaseoli* pv. *manihotis* provenant de différentes zones géographiques de production au Mali; (ii) Caractériser en évaluant la diversité génétique de la collection malienne de souches *Xpm* par le nouveau schéma MLVA-14; (iii) déterminer la structure de la population *Xpm* du Mali à des échelles géographiques plus petites (parcelles, localités, régions).

Les résultats de cette partie sont présentés sous forme d'article.

### **2.2.2-Implications personnelles**

J'ai été impliqué dans l'ensemble des activités liées à la production de ces résultats (échantillonnage, caractérisation moléculaire, génotypage, analyse des données, rédaction de manuscrit) avec l'assistance des personnes associées comme collaborateurs dans l'équipe de recherche GTIPP à l'IRD, BGPI au Cerad et au LBMA au Mali.

**2.2.3-Publications (référence de la publication) : Article à soumettre dans la revue Applied and Environmental Microbiology (1<sup>er</sup> auteur)**

**Multilocus Variable-Number-Tandem-Repeats Analysis (MLVA) epidemiological surveillance of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* highlights a high diversity of the pathogen population in Mali**

Moussa KANTE<sup>1,2,3</sup>, Laurence BLONDIN<sup>4</sup>, Yassine MOUFID<sup>2</sup>, Carolina FLORES<sup>2</sup>, Leidy Yanira RACHE CARDENAL<sup>5</sup>, Emilie THOMAS<sup>2</sup>, Issa WONNI<sup>6</sup>, Karim DAGNO<sup>7</sup>, Silvia RESTREPO<sup>5</sup>, Adriana J. BERNAL<sup>5</sup>, Ralf KOEBNIK<sup>2</sup>, Valerie VERDIER<sup>2</sup>, Ousmane KOITA<sup>3</sup>, Olivier PRUVOST<sup>8</sup>, Boris SZUREK<sup>2</sup> and Christian VERNIERE<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Université de Segou, Segou, Mali, <sup>2</sup>IRD, Cirad, Université de Montpellier, IPME, Montpellier, France, CIRAD, <sup>3</sup>University of Sciences, Techniques and Technologies of Bamako (USTTB), LBMA, Bamako, Mali, <sup>4</sup>BGPI, INRAE, CIRAD, Institut Agro, Univ Montpellier, Montpellier, France, <sup>5</sup>Universidad de los Andes, Bogota, Colombia, <sup>6</sup>Institut de l'Environnement et de la Recherche Agricole (INERA), Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, <sup>7</sup>Institut d'Economie Rurale (IER), Prog. Sorgho/ Lab de Phytopathologie, CRRRA de Sotuba, Bamako, Mali, <sup>8</sup>CIRAD, UMR PVBMT, Saint-Pierre, La Réunion, France.

**Abstract:**

Cassava Bacterial Blight (CBB) caused by the plant pathogenic bacteria *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) is spread all over the tropics including in West-Africa leading often to heavy yield losses. Here we report a study on the genetic diversity of *Xpm* in Mali, a country bordering both Burkina Faso and Côte d'Ivoire where CBB was reported recently. Sampling of leaf material with typical angular leaf spots CBB symptoms was achieved from 2015 to 2018 in several cassava-producing regions leading to the isolation of up to 346 *Xpm* strains. A Multilocus Variable-Number-Tandem-Repeats (VNTR) Analysis (MLVA) scheme based on 14 microsatellites highlighted a relatively high level of genetic diversity, allowing to discriminate 40.5% of haplotypes in the Malian population. Twenty four clonal complexes (groups of strains that are evolutionarily and epidemiologically related) that belonged to 19 genetic groups, and 13 singletons (unique strains differing from the others by 3 or more loci) could be identified. Moreover a highly significant linkage disequilibrium was evidenced among *Xpm* populations. Our analysis of the genetic differentiation of the populations at different geographic levels, plots and localities, and of genetic groups including more or less closely related isolates highlight higher pathogen circulation in a small scale level. Altogether our study is in favor of an endemic situation of CBB in Mali.

**Key words:** *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*, Mali, genetic diversity, molecular epidemiology, MLVA.

## **Introduction:**

Cassava (*Manihot esculenta*), a tuberous plant, is a major source of food and income especially for smallholder farmers in the tropics (Prakash, 2015). However, its production is threatened by cassava bacterial blight (CBB) which often leads to significant yield losses and is caused by the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) (previously known as *X. axonopodis* pv. *manihotis*) (Constantin et al., 2016). Typical symptoms are angular leaf spots. *Xpm* penetrates the host via hydathodes and or wounds, and systematically colonize the vascular system (López & Bernal, 2012). The pathogen is mainly spread by cuttings collected from field of the previous season, as clonal propagation is the most common way of cassava multiplication between fields and on a large scale (Harris et al., 2015). *Xpm* can survive for several months inside the host plant allowing for its establishment in new fields or areas from infected cuttings thus promoting the emergence and/or re-emergence of epidemics. At the field level, *Xpm* is transmitted mainly by rain and wind and by contaminated tools (Lozano, 1986).

CBB was firstly reported in Brazil in 1912, but the disease was also described in Africa since the early 1970s with the first cases reported in the Democratic Republic of Congo and soon after in other countries in West and Central Africa (Pershley, 1976; Lozano, 1986) (Boher and Verdier, 1994; Verdier et al., 1993). In Mali, as well as in neighboring countries such as Niger and Ivory Coast, CBB was reported in the late 1970s, but little information was available and no strains isolated (Verdier et al., 1993). By contrast, cassava bacterial vascular bacterial disease has recently been described in Burkina Faso, another country bordering Mali (Wonni et al., 2015). Two other recent surveys have confirmed the disease in Ivory Coast, Ghana and Mali upon characterization of the pathogen and completion of the Koch's postulate (Abdulai et al., 2018; Kante et al., 2020; Kone et al., 2015).

The most effective method to control CBB is the use of resistance varieties, but most of the commercial cassava cultivars are susceptible to the most prevalent *Xpm* strains (López & Bernal, 2012; Lozano, 1986). Cultivation practices, including the use of healthy propagation material, can reduce the incidence and development of the disease (Lozano, 1986). Sustainable management of plant diseases requires a good knowledge of the structure and dynamics of pathogen populations in production areas, which allows the estimation of risks and possible determination of epidemic situations.

Molecular epidemiology through an appropriate genotyping of pathogenic populations allows to (i) identify transmission ways or invasion routes, (ii) to characterize the diversity of strains and their distribution profile and possibly identify new strains and finally, (iii) to identify sources of inoculum (Milgroom and Peever, 2003; Tibayrenc, 2005). This approach can contribute to the development or optimization of control measures, for example by focusing on the monitoring of potential inoculum sources (Guillemaud *et al.*, 2011). Molecular tools with an adapted level of resolution must be selected to answer the questions posed at different space and time scales (Tibayrenc, 2005; Van Belkum *et al.*, 2001). For epidemiological studies of "monomorphic" pathogenic bacteria, i.e. species with a low level of genetic variability, high-resolution molecular typing systems should be used (Achtman, 2008). The use of markers targeting a single locus can be informative, offering possibilities for allele frequency analysis or gene genealogy to facilitate population genetics or molecular epidemiology studies based on evolutionary relationships between alleles (Sunnucks, 2000; Van Belkum *et al.*, 2007; Vogler *et al.*, 2016). VNTRs markers are tandem repeats whose copy number may vary between strains. Their discriminating power can be adapted for small- or large-scale epidemiological issues, in particular by developing multi-locus VNTR Analysis (MLVA) and/or by selecting larger or smaller basic pattern sizes. For example, ideally, in population analysis during epidemics, isolates from the same outbreak should share a common MLVA profile with some changes that may occur during the formation of the outbreak and be distinguished from isolates that are not related to the outbreak (Van Belkum *et al.*, 2007).

The MLVA technique has been used successfully in molecular epidemiology approaches to type and trace pathogenic bacteria in humans and animals (Lindstedt, 2005; Van Belkum, 2006) but also in plants (Colleta-Filho *et al.*, 2001; Cuntly *et al.*, 2015; Leduc *et al.*, 2015; Lopez-Soriano *et al.*, 2016; Pruvost *et al.*, 2015; Pruvost *et al.*, 2019; Ravelomanantsoa *et al.*, 2018; Richard *et al.*, 2016; Verniere *et al.*, 2014; Zombre *et al.*, 2016).

The first studies essentially describing the genetic diversity of *Xpm* were carried out using the weakly discriminating RFLP technique targeting ribosomal RNA, other chromosomal fragments or a fragment of the plasmid born pathogenicity gene *pthB* (a.k.a *tale1*) (Verdier *et al.*, 1993; Restrepo and Verdier 1997; Restrepo *et al.* 1999; Restrepo *et al.*, 2000; Verdier *et al.*, 1998). The AFLP technique revealed a greater diversity of the *Xpm* populations studied in Colombia (Restrepo *et al.*, 1999; Restrepo *et al.*, 2000, 2004; Trujillo *et al.* 2014a, b), aiming analyzing the diversity of the pathogen at the locality, regional or ecozone level. Only one study

has been carried out considering populations at the field level but was not been very informative due to the low discriminating power of the RFLP tool used (Restrepo et al., 2000). A MLVA scheme targeting only five VNTRs was first developed, showing a similar discriminating power when compared to the AFLP technique, although the VNTRs offered a better discrimination within regions and between genetic groups (Trujillo et al., 2014). New VNTR loci have been designed and added in a recently developed MLVA scheme to increase its discriminating power and limit the risk of homoplasia (Rache et al., 2019).

A few studies on *Xpm* genetic diversity have been carried out in Africa. Based on RFLP a single pattern could be observed on strains originating from nine African countries and shared with a Colombian strain, while a second minor profile could be observed in only two countries also found in one strain from Brazil (Verdier et al., 1993). This low diversity of African strains was confirmed upon the analysis of 65 *Xpm* genomes further pointing to a genetic relationship with South American strains (Bart et al., 2012). Limited studies of genetic diversity have been carried out in Nigeria, Togo or Kenya (Chege et al., 2017; Ogunjobi et al., 2006; Verdier et al., 2004) based on poorly discriminating techniques such as RAPD or Rep-PCR analysis which show low inter-laboratory or inter-assay reproducibility (Sunnucks, 2000; Verdier et al., 2004; Vogler et al., 2016).

Here we used 14 VNTR markers to genotype a large collection of *Xpm* strains originating from localities in different regions and assess a population genetics analysis of *Xpm* in Mali where little data on CBB is available. The description of the disease was reported in Mali in the 1970s and confirmed very recently based on modern molecular diagnostic tools (Kante et al., 2020). Yet question as to the status of CBB in Mali and its epidemiological context remain unanswered. : are the Malian *Xpm* populations endemic and widely distributed, or associated to a recent outbreak. To address this, we have carried out a national scale CBB sampling to: (i) determine the genetic structure of the Malian *Xpm* population at different geographic scales (plots, localities, regions), and (ii) characterize the genetic relationships between individuals within and between these populations with the aim of describing the epidemiological context.

## **2. Materials and methods:**

### **2.1. Constitution of the collection of *Xpm* Malian strains**

Cassava samples showing symptoms of CBB were collected in 2015 and 2016 from plots in four regions of Mali, namely Bamako, Koulikoro, Sikasso and Ségou (Figure 1). Two to four localities per region were visited and 346 isolates were isolated (Table 1, suppl. data) upon plating on LPGA or Phi medium (Trujillo et al., 2014). Colonies were validated using a multiplex PCR combining 2 pairs of primers aimed at specifically amplifying a fragment of the *rpoB* housekeeping gene (944 bp) (Bernal-Galeano et al. 2018) and a 570 bp fragment encoding the C-terminal part of PthB (Castiblanco et al. 2013).

Whenever possible, populations were sampled ( $n \geq 10$ ) at the level of the established plots, i.e. 20 plot populations comprising a total of 287 individuals (Table 1, suppl. data). The 10 localities analyzed grouped together all the isolates obtained (Table 1, suppl.data). The sampling was carried out in regions which are located in three of the four agroecological zones of Mali: the Guinean zone (regions of Sikasso, part of Koulikoro), the Soudanese zone (part of Koulikoro and Bamako, and of Ségou, Bamako) and the Sahelian zone (part of Koulikoro and Sikasso).

### **2.2. Bacterial lysis and MLVA typing**

One colony for each of the different *Xpm* isolates was suspended in 100  $\mu$ l of PBS using microplates, homogenized and lysed at 94°C for 15 min in a thermal cycler (PTC-200).

#### **Amplification of VNTR/MLVA:**

Fourteen VNTRs were used in an MLVA-14 scheme, and the different primer pairs were used in a multiplex PCR format (Multiplex PCR kit, Qiagen, Courtaboeuf, France) (Rache et al., 2019). One of each PCR primer was 5'-labelled using one of the following fluorochromes FAM, NED, PET and VIC (Applied Biosystems, Life Technologies, Saint Aubin, France). PCR reactions were performed using 20-50 ng of target genomic DNA in mixtures containing 0.2  $\mu$ M of each primer, 1 x Qiagen multiplex mastermix (containing a hot start Taq DNA polymerase), 0.5 x Q-solution, and RNase-free water to a volume of 10  $\mu$ l. The Colombian reference *Xpm* strain CIO151 was used as a positive control.

The amplification cycles were performed using the following conditions: initial denaturation at 94°C for 15 min followed by 35 cycles at 94°C for 30 sec (denaturation), a hybridization step at 60°C for 1.5 min, and an extension step at 72°C for 1 min, with a final extension at 72°C for 20 min.

The amplicons were diluted to standardize the PCR products and prepared as follows: a mixture of 1.5 µl of diluted amplicon, an internal size marker (0.3 µl) (GeneScan™ -500 LIZ® internal size standard, Applied Biosystems) and 14.7 µl of Formamide Hi-Di™ (for GeneScan™ -500 LIZ®) was analyzed by capillary electrophoresis performed on an ABI PRISM-3500 sequencer (Applied Biosystems). The fragments are separated using the POP-4 polymer, after an initial injection of 66 s at 15000V, the migration is done at the same voltage, at 60°C for 20 min. The size of the fragments was obtained with GENEMAPPER v.4.0 (Applied Biosystems) and translated into number of repetitions of the VNTR pattern used as data.

### **Analysis of the diversity and population structure of *Xpm***

The different indices of genetic and genotypic diversity were calculated with Harlequin version 3.5 (Excoffier et al., 2005) and with the poppr 2.2.1 package in R (Kamvar et al., 2014). The genetic differentiation index (GDI) and the analysis of molecular variance AMOVA were estimated using Arlequin 3.5 (Excoffier et al., 2005). Estimates of allelic richness and private allelic richness were performed by the rarefaction method using HP-rare software (Kalinowski, 2005).

### **Construction of haplotype networks of progeny trees**

Phylogenetic relationships between MLVA haplotypes of Malian populations were studied by generating Minimum Spanning Trees (MST) using PHYLOViZ v1.0 (Francisco et al. 2012). MSTs trees were constructed using the recommended algorithm for tandem replicate data by combining the “global optimal eBURST” (goEBURST) and Euclidean distances in PHYLOViZ v1.1 (Francisco et al., 2012). Clonal complexes (CCs) were defined as networks of haplotypes varying at a single locus (Single Locus Variant, SLV), i.e. groups of strains differing by one TR locus.

### **Linkage disequilibrium**

The multilocus linkage disequilibrium index (rd) was estimated using the poppr suite in R (Agapow & Burt, 2001; Kamvar et al., 2014). The significance level of rd was tested by



comparing the observed variance to the variance distribution expected under the null hypothesis of panmixia (999 permutations). The non-random association of alleles was evaluated on both strains and haplotypes (i.e. corrected data of the clones) to minimize the effect of haplotypes common in some local populations.

### 3. Results

#### 3.1. Diversity of *Xpm* in Mali

After culturing the samples, 346 strains were identified as *Xpm* by PCR yielding two 944 bp and 570 bp amplicons corresponding to the targeted *rpoB* and *tale* gene fragments (Table S1, suppl. information). These strains come from four cassava-producing regions (Bamako, Koulikoro, Sikasso and Segou).

All strains were typed on all loci of the MLVA-14 scheme. All loci were polymorphic on the collection of *Xpm* Malian strains revealing 3 to 15 alleles, respectively for loci Xpm1-06 and Xpm1-08 with an average of 37.07 alleles per locus (Table SD3). The genetic diversity of Nei estimated for each locus ranged from 0.14 to 0.88 for Xpm1-30 and Xpm1-15 loci, respectively (Table SD3).

The indices of Nei's genetic and Simpson's haplotypic diversity for the *Xpm* Malian collection (n=346) estimated using the MLVA-14 scheme were respectively of  $H_T = 0.62$  and  $\lambda = 0.98$ , resolving 140 distinct multilocus haplotypes (Table 1). Ninety-four haplotypes (n=277 strains) were grouped into 24 clonal complexes, i.e. groups of single-locus variants (SLVs), and 46 haplotypes are singletons without SLVs. Considering genetically related strains different by one or two loci (Single- and Double-Locus variants) that have probably diverged recently, the number of single-repeat variants (SRVs) represented 77.9% of the polymorphisms associated with a locus. Double-repeat variants were observed in 14.5% of the cases. These percentages are very similar when the estimate is made from SLVs alone, suggesting a stepwise mutation model. More precisely, ten out of 14 loci have a percentage of SRVs  $\geq 73\%$  considering both SLVs and DLVs. The two loci Xpm1-8 and 1-15, among the three loci with the strongest polymorphism (Table SD3), showed 66.6% and 60% of SRVs, respectively. These two loci showed variations of two (16.6 and 30%, respectively) or three repeats (16.6 and 10%,

respectively) and even a 4 repeats variant for Xpm1-15 suggesting these loci to follow a less strict stepwise mutation model. The Xpm1-6 locus did not reveal polymorphism in only SLVs and DLVs but showed 3 consecutive alleles (12, 13 and 14 repeats) in all 140 haplotypes with the median allele present in 83.8% of haplotypes. The Xpm1-38 locus was not very polymorphic in only SLVs and DLVs (two DRV's observed) and showed five alleles in the 140 haplotypes for an allelic rank of 6 alleles (7 to 12 repeats) with the allele 9 present in 66% of haplotypes.

### **3.2. Genetic diversity and structure of *Xpm* populations**

The populations of the 10 localities (Table 1) showed varying levels of diversity. The allelic richness and the number of multilocus haplotypes estimated by the rarefaction method varied from 1.99 to 4.14 and from 4.60 to 11.34 for the localities of Bla and Sotuba, respectively. The Sotuba locality includes two samples collected in 2015 and 2016 from the same site that were not genetically differentiated ( $R_{ST} = 0.017$ ,  $P = 0.204$ ). The locality of Loulouni whose plots belong to the same producer also showed high diversity estimators and the highest private allelic richness with  $A_p = 0.62$  (Table 1). Surprisingly, nine of the 13 haplotypes differing by more than 3 loci from the other 127 Malian haplotypes were present among the 21 haplotypes identified in this locality ( $n = 26$ ) and particularly in plot lou1 (Table S1). This locality is close to Burkina Faso and Ivory Coast where CBB is present.

An analysis of molecular variance subdividing several geographic levels showed that little genetic variation was explained between provinces (18.24%,  $P = 0.083$ ) (Table 2). Most of the genetic variation was found between localities within provinces (36.8%) or within localities (45%). Indeed, estimation of  $R_{ST}$  allowed to significantly differentiate genetically the vast majority of the pairs of localities (43 out of 45) (Table SD4). Only two pairs of localities from different provinces, Bougouba/Baguineba ( $R_{ST} = 0.018$ ,  $P = 0.211$ ) and Sotuba/Loulouni ( $R_{ST} = 0.031$ ,  $P = 0.075$ ), located respectively about 25 and 320 km apart, were not significantly differentiated.

At an intra-local level, there is a high variability in diversity estimators between plots ranging from ksa3/Samanko for the lowest, to plots showing higher allelic richness (bso1/Sotuba, sdk1 and sdk4/Dougoukouna, lou1/Loulouni) (Table 3 and SD5). Most of the populations issued from plots of a same locality were not genetically differentiated according to the  $R_{ST}$  index ( $P \geq 0.01$ ) (Table SD6). These plots belonging to different farmers were separated by less than

three kilometers within the same locality (Baguineba, Dougoukouna and Selingué). In the Dougoukouna locality, the two plots sd2-1 and sd2-2 were fields used for cassava varieties multiplication with the aim of being distributed to members of the local village cooperative. Plots from different localities located in the same province, separated from each other by a dozen of kilometers (Dougoukouna-Segou), or in different provinces (Bougouba-Baguineba, ~25 Kms or Bougouba-Selingue, ~115 Kms and Baguineba-Selingue, ~120 km) were also not genetically differentiated.

### **3.3. Evolutionary relationships across Xpm strains: analysis of haplotypes network**

Haplotypes network analysis was performed by grouping phylogenetically closely related haplotypes differing by a single allele (SLV) within clonal complexes (CC) i.e. linking isolates that share the same alleles at 13/14 loci studied with at least one other CC member. Twenty-four CCs representing 244 isolates out of 346 were resolved linking 2 to 11 haplotypes and grouping 3 to 33 strains (Table SD1). Twelve CCs have strains isolated in multiple localities and originating from different regions for seven of them. The three largest CCs (CC1, CC2 and CC3) with 10 or 11 haplotypes ( $n = 25$  to 33 strains) are distributed in three to five localities and two to four regions. The greatest geographic distances between sites within each of these CCs are  $\geq 100$  Kms. However, the majority of multi-regional CCs, with the exception of CC1 and CC3, include a very large proportion of strains from the same region.

Twelve CCs are distributed in a single locality ( $\leq 7$  haplotypes,  $n \leq 24$  isolates) of which six are present in only one plot (CCs  $\leq 3$  haplotypes,  $n \leq 10$  strains) and probably derived from local clonal diversification. These plots belong to different producers. Only two plots (sd2-1 and sd2-2) in the locality of Dougoukouna (Segou province) were cassava multiplication plots belonging to a cooperative distributing plant material to its village members. Interestingly, six clonal complexes (CCs 2, 10, 11, 13, 17, 18) intimately associate strains from the sd2 cooperative with other plots in Dougoukouna and sometimes in the neighboring Segou-post locality. Isolates from this cooperative sometimes share the same haplotype as other strains from Dougoukouna (e.g. haplotypes #1, 3, 26, 32, 52) but also from a plot in the Bamako region (haplotype #1).

We also grouped haplotypes differing by up to three loci into genetic groups (GGs), representing haplotypes assumed to be closely related genetically. Nineteen genetic groups comprising a number of haplotypes  $\geq 2$  have been identified and 13 GGs are singletons that

differ from other haplotypes by more than 3 loci. The three largest GGs (GG1, GG2 and GG3) account for 50% of the strains and 50.7% of the haplotypes in the collection. Five GGs bring together several CCs that are most often double-locus variants highlighting a small number of evolutionary links between these haplotypes (GGs 1, 2, 3, 4, 5). These GGs are composed of strains from the same province (11 GGs) or mostly from the same province (6 GGs). Only the two largest GGs have a clear multi-province origin. Genetic group GG2 consists of 28 haplotypes (n = 58 isolates) from two distinctly separate provinces within the group (Figure 2). Group GG1 (29 haplotypes, n = 77) consists of isolates from the four sampled provinces that are shared by two CCs (CC1 and CC3) and three of their haplotypes (H4, H6 and H7). GG2 (28 haplotypes, 58 isolates) is comprised mostly of strains from two provinces, Bamako and Segou, which are distinctly separated within this genetic group. Isolates from Sotuba collected in 2015 and 2016 are linked only in GG2 at the CC6 level and the genetically closest isolates were collected in 2016 in Segou province about 200 Kms away. The remaining isolates collected in 2015 from the localities of Bla and Sotuba formed distinct GGs originating from only one (GG9, GG13, GG16) or both (GG17) of these localities. GG1 and GG3 include almost all the isolates from one locality, Baguineba and Siensou, respectively, as well as GG9 with the isolates from Bla. In addition, all the different plots of the same locality can be grouped within the same CCs (CC3, CC5 and CC20 in groups GG1 and GG14 for Selingue) or GGs (GG2, GG4, GG5, GG10 for Dougoukona).

#### *3.4. A pronounced linkage disequilibrium*

The  $r_D$  multilocus association index calculated for the entire collection, at the population level of each locality or plot showed significant linkage disequilibrium ( $P < 0.001$ ). Only the population of plot Ksa3 (Samanko locality) did not show a significant  $r_D$  value which probably results of a very low genetic variability where only two out of 14 loci were polymorphic, but the Ksa3 strains are grouped in a clonal complex including one majority haplotype and two SLVs (i.e. CC16).

### **Discussion:**

Cassava bacterial blight was reported in Mali in the 1970s without characterization of the causal agent, until our recent study (Kante et al., 2020). The limited information available on the disease and its distribution in Mali and the absence of strains in collections prevented to address the question of the endemic or epidemic status of this disease, its prevalence and circulation in

Mali. Its possible long standing existence suggested a large distribution with a wide diversity and the presence of different groups or strains (Spratt *et al.*, 1999). A recent introduction with an epidemic situation would lead to a profile of clonal expansion of a few lines consisting of an over-represented common ancestor and many descendants resulting from the accumulation of mutation according to a clonal model (Spratt *et al.*, 1999; Spratt *et al.*, 2004). Studies to describe *Xpm*'s genetic diversity and population structure have always focused on the ecozone or locality scale, although sampling may have been conducted at the field level (Restrepo and Verdier, 1997; Restrepo *et al.*, 1999 *Can J Microbiol*; Restrepo *et al.*, 1999 *Microbiol*; Trujillo *et al.*, 2014 *BMC*; Trujillo *et al.*, 2014 *Microbiol Ecol*; Verdier *et al.*, 1998). In this study, we describe the genetic diversity and structure of *Xpm* populations isolated from cultivated cassava fields of different localities that we analyzed with the recently developed MLVA-14 scheme (Rache *et al.*, 2019).

#### *A probable and preponderant clonal evolution of Xpm*

*Xpm* populations showed highly significant linkage disequilibrium regardless of the scale analyzed from plot to plot across the country on data considering isolates and after clone correction. Only one population (ksa3) did not show a significant LD probably explained by its very low diversity while all its isolates were gathered within the same clonal complex (CC16). During its life cycle *Xpm* alternates between an aerial phase and a phase in the vascular tissues of the plant (Lozano, 1986). This latter phase could favor the encounter between strains infecting the same plant and increase the probability of genetic exchanges compared to strictly aerial pathogenic bacteria (Pruvost *et al.*, 2019). Our results do not support the presence of significant recombination events that could modify a clonal signature. However, LD may result from the existence of admixture between strains from different populations within the same site and our data showed the presence of genetically distant strains colonizing the same plot. Despite this, we can hypothesize a highly asexual and clonal nature of our populations, which simplifies the analysis of genetic relationship linkages between strains, and the tracing of genotypes to identify sources and pathways of inoculum dispersal (Milgroom and Peever, 2003).

#### *Xpm is not emergent in Mali and rather has an endemic status.*

The level of genetic diversity observed by MLVA genotyping targeting 14 VNTR loci was relatively high, allowing for the discrimination of 40.5% of haplotypes in the Malian population. Twenty-four clonal complexes showing close genetic relatedness were grouped into

19 genetic groups and 13 singletons separated from each other by more than three loci. Nineteen genetic groups distinct from each other by more than three loci and 13 singletons have been described. These GGs include 24 clonal complexes showing close genetic relationship. In recent outbreak situations, MLVA analysis of pathogenic plant bacterial populations revealed the existence of a major clonal complex sometimes associated with rare CCs connected to it by DLVs or TLVs supporting close genetic relationship, or potentially resulting from sampling bias. For example, emergences of populations of the Citrus pathogen *X. citri* pv. *citri* DAPC1 in Mali or VN6 in Vietnam were assumed to be recent according to epidemiological data, or that of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar III on kiwi fruit in France, have been characterized by a major CC and some strains with  $\leq$  TLVs (Cunty et al., 2015; Leduc et al., 2015; Vernière et al., 2014). Similarly, the population of *Ralstonia solanacearum* phylotype IIB-1, which causes Bacterial Wilt of potato in Madagascar, has been grouped into a main CC and a minor CC which is a DLV of the former. Conversely, the population of *Rs* phylotype III which was described earlier in Madagascar was composed of 11 CCs and 37 singletons, the vast majority of which were quadruple or even more variant locus (Ravelomanantsoa et al., 2018).

Therefore, there is no CC or GG in the *Xpm* Malian population which resembles a clonal lineage with large scale invasive feature following a pattern of clonal expansion from a common ancestor (Feil, 2004; Spratt and Maiden, 1999). The strains of *Xpm* did not show such a large and recent epidemic profile but rather several small groups of genotypes with little or no genetic relationship. This profile could result of a sampling bias where part of the transmission chain would be missing, however our data rather support the existence of sub-populations with localized diversification processes associated with local epidemics. While the characterization of the pathogen is quite recent, our data rather favor a long-standing presence of *Xpm* in Mali in agreement with the possible emergence of CBB in this country in the 1970's if not before.

#### *Circulation of Xpm is predominant within localities*

Analysis of the genetic differentiation of populations at different geographical levels, plots and localities, and of genetic groups of more or less closely related isolates suggested a greater circulation of bacteria on a small scale. Only two pairs of localities were not significantly genetically differentiated between them. In the first case, strains from the two geographically distant Sotuba and Loulouni localities share neither haplotypes nor clonal complexes and group

only in one genetic group, GG12, with a single Sotuba strain. This lack of genetic relatedness signature does not support a strong recent epidemiological link between Sotuba and Loulouni. Conversely, the localities of Bougouba and Baguineba, from different regions, are only 25 km apart. Moreover, none of the 3 plots of Baguineba taken individually has been genetically differentiated from the plot of Bougouba. Moreover, the vast majority of strains from these localities (Bougouba / 83% and Baguineba / 93%) belong to two CCs, CC1 and CC3, of the genetic group GG1 which supports genetic and probably epidemiological relationships. The great genetic proximity between the Bougouba and Baguineba populations suggests exchanges of infected plant material related to human activities between these localities and regions. These strains are found in two CCs (CC1 and CC3 regrouping respectively 9.5 and 7.8 % of the Malian strains) of the genetic group GG1 that link strains originating from four regions. The other CCs or GGs are much less widely distributed geographically in relation to the high inter-local and inter-regional diversity observed in our data, confirming the genetic differentiation often described between localities and ecozones in Colombia (Restrepo and Verdier, 1997; Restrepo *et al.*, 2000; Trujillo *et al.*, 2011a; Trujillo *et al.*, 2014b).

On a smaller scale, for the five localities where several plots could be compared, the plots of the same locality, except for one plot in Sélingué, were not genetically differentiated between them. In addition, the populations of the plots in Dougoukouna and Segou, separated by about 10 km, were not differentiated, except for 2 pairs out of 11. These strains from different plots in the same locality are found within the same clonal complexes of varying sizes, also grouping together strains from plots in neighboring Dougoukouna and Segou localities. This shared genetic similarity and the existence of numerous progeny links between *Xpm* populations from the plots of different farmers in the same locality suggests numerous exchanges between farmers. Indeed, while natural dispersal can explain the clonal diversification observed on different plants in the same plot, it cannot explain all the relationships observed between strains from different plots. It is likely that social links within a locality favor local non-commercial exchange of cuttings that promote the circulation of the pathogen between producers. In addition, local and collective production structures for cassava cuttings such as the Dougoukouna cooperative may have acted as a source of inoculum.

*The processes of extinction and recontamination, probable drivers of the structuring of local populations*

We can hypothesize that the annual cassava harvest leads to an extinction of the *Xpm* populations. Indeed, the bacterium's capacity to survive outside its host is very low and its ability to colonize other plant species limited, and the notable role of these compartments in the epidemiology of CBB has not been demonstrated so far (Lozano, 1986). A recolonization of the plots will mainly take place during planting from cuttings from the plot, which is probably the case of a Sotuba plot sampled in two consecutive years, or from neighbouring plots or more rarely from an origin external to the locality. These migration events will therefore contribute to the diversity observed within the plots. After colonization, clonal diversification may occur. Two stochastic processes will thus contribute to population differentiation, mutation and genetic drift, which is the random sampling of genes or genotypes between generations (Haubold and Rainey, 1997 Adv Bot Res; McDonald et al., 1989 ARP). Migration events on a local scale throughout the crop and more rarely on an inter-regional scale will tend to erase differences between populations (Slatkin, 1977 Theor Pop Biol). Migration events at a local scale throughout the culture and more rarely at an inter-regional scale will tend to erase the differences between populations (Slatkin, 1977). These events are more strongly associated with a geographical proximity between plots favoring natural dispersion by wind and rain and / or with human activities associated with the exchange of cuttings which can preferably take place between producers within the same locality. These events probably contributed to the diversity of populations at the level of plots or localities resulting from the mixture of several local or regional sources and possibly from neighboring countries.

In conclusion the wide genetic diversity observed within the Malian population of *Xpm*, both widely distributed geographically and sometimes specific to a few sites, suggests (i) a relatively old presence of *Xpm* with active circulation through the propagation material and, (ii) the existence of subpopulations probably resulting from stochastic processes and / or probable introduction events from other populations.



## Références bibliographiques :

- Abdulai, M., Basım, H., Basım, E., Baki, D., & Öztürk, N. (2018).** Detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, the causal agent of cassava bacterial blight diseases in cassava (*Manihot esculenta*) in Ghana by polymerase chain reaction. *European Journal of Plant Pathology*, 150(2), 471–484. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1297-3>
- Achtman, M. (2008).** Evolution, Population Structure, and Phylogeography of Genetically Monomorphic Bacterial Pathogens. *Annual Review of Microbiology*. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162832>
- Agapow, P. M., & Burt, A. (2001).** Indices of multilocus linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Notes*, 1, 101–102. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8278.2000.00014.x>.
- Bart, R., Cohn, M., Kassen, A., McCallum, E. J., Shybut, M., Petriello, A., ... Staskawicz, B. J. (2012).** High-throughput genomic sequencing of cassava bacterial blight strains identifies conserved effectors to target for durable resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208003109>
- Belkum, A. van, Tassios, P. T., Dijkshoorn, L., Haeggman, S., Cookson, B., Fry, N. K., ... Struelens, M. (2007).** Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, CMI, 13(Suppl. 3), 1–46. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01786.x>
- Belkum, Alex Van. (2007).** Tracing isolates of bacterial species by multilocus variable number of tandem repeat analysis ( MLVA ). 49, 22–27. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00173.x>
- Bernal-Galeano, V., Ochoa, J. C., Trujillo, C., Rache, L., Bernal, A., & López, C. A. (2018).** Development of a multiplex nested PCR method for detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Cassava. *Tropical Plant Pathology*, 43(4), 341–350. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0214-4>
- Boher, B., & Verdier, V. (1995).** Cassava bacterial blight in Africa: the state of knowledge and implications for designing control strategies. *Afr Crop Sci J*, 2(4), 505–509. Retrieved from <https://www.ajol.info/index.php/acsj/article/view/136008>
- Castiblanco, L. F., Gil, J., Rojas, A., Osorio, D., Gutiérrez, S., Muñoz-Bodnar, A., ... Bernal, A. J. (2013).** TALE1 from *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis* acts as a transcriptional activator in plant cells and is important for pathogenicity in cassava plants. *Molecular Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00830.x>
- Chege, M. N., Wamunyokoli, F., Kamau, J., & Nyaboga, E. N. (2017).** Phenotypic and genotypic diversity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* causing bacterial blight disease of cassava in Kenya. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(02), 38–44. <https://doi.org/10.7324/jabb.2017.50206>
- Coletta-Filho, D. H., Takita, M. A., De Souza, A. A., Aguilar-Vildoso, C. I., & Machado, M. A. (2001).** Differentiation of Strains of *Xylella fastidiosa* by a Variable Number of Tandem Repeat Analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9), 4091–4095. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.4091-4095.2001>
- Constantin, E. C., Cleenwerck, I., Maes, M., Baeyen, S., Van Malderghem, C., De Vos, P., & Cottyn, B. (2016).** Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. *Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/ppa.12461>
- Cunty, A., Poliakoff, F., Rivoal, C., Cesbron, S., Fischer-Le Saux, M., Lemaire, C., ... Vanneste, J. L. (2015).** Characterisation of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) isolated from France and assignment of strains Psa

biovar 4 to a de novo pathovar: *Pseudomonas syringae* pv. *actinidifoliorum* pv. nov. *Plant Pathology*, 64(2015), 582–596. <https://doi.org/10.1111/ppa.12297>

**Excoffier, L., Laval, G., And, & Schneider, S. (2005).** Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 1, 47–50. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2658868/pdf/ebo-01-47.pdf>

**Fanou, A. A., Zinsou, V. A., & Wydra, K. (2018).** Cassava Bacterial Blight: A Devastating Disease of Cassava. In *Cassava*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71527>

**Feil, E. J. (2004).** Small change: keeping pace with microevolution. *Nat Rev Gen*, 2(June), 483–495. Retrieved from [www.nature.com/reviews/micro](http://www.nature.com/reviews/micro)

**Francisco A. P, Vaz C., Monteiro P. T., Melo-Cristino J., Ramirez M., and C. J. A. (2012).** “PHYLOViZ : Phylogenetic inference and data visualization for sequence based typing methods.” *BMC Bioinformaticx*, 13(1), 87. Retrieved from <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/13/87>.

**Guillemaud, T., Ciosi, M., Lombaert, E., & Estoup, A. (2011).** Biological invasions in agricultural settings: insights from evolutionary biology and population genetics. *Comptes Rendus Biologies*, 334(3), 237–246. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.12.008>

**Harris, K. P., Martin, A., Novak, S., Kim, S.-H., Reynolds, T., & Anderson, C. L. (2015).** Cassava Bacterial Blight and Postharvest Physiological Deterioration Production Losses and Control Strategies.

**Haubold, B., & Rainey, P. (1997).** Population genetics of plant colonizing bacteria. *Plant Pathology/Advances in Botanical Research*, 24, 342–351.

**Kalinowski, S. T. (2005).** hp-rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes*, 5(1), 187–189. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00845.x>

**Kamvar, Z. N., Tabima, J. F., & Gr, N. J. (2014).** Poppr : an R package for genetic analysis of populations with clonal , partially clonal , and / or sexual reproduction. 1–14. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>

**Kante, M., Flores, C., Moufid, Y., Wonni, I., Hutin, M., Thomas, E., ... Koita, O. (2020).** First Report of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*, the Causal Agent of Cassava Bacterial Blight, in Mali. *Plant Disease*, 104(6), 1852.

**Kone, D., Dao, S., Tekete, C., Doumbia, I., Koita, O., Abo, K., ... Verdier, V. (2015).** Confirmation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* Causing Cassava Bacterial Blight in Ivory Coast . *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/pdis-02-15-0172-pdn>

**Kranz, J., & Hammat, H. (1979).** New records of phytopathogens on cultivated plants. *FAO Plant Protection Bulletin*, 27(3), 97–99.

**Leduc, A., Traoré, Y. N., Boyer, K., Magne, M., Grygiel, P., Juhasz, C. C., ... Pruvost, O. (2015).** Bridgehead invasion of a monomorphic plant pathogenic bacterium: *Xanthomonas citri* pv. *citri*, an emerging citrus pathogen in Mali and Burkina Faso. *Environmental Microbiology*, 17(11), 4429–4442. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12876>

**Lindstedt, B. A. (2005).** Multiple-locus variable number tandem repeats analysis for genetic fingerprinting of pathogenic bacteria. *Electrophoresis*, 26(13), 2567–2582. <https://doi.org/10.1002/elps.200500096>

**López-Soriano, P., Boyer, K., Cesbron, S., Morente, M. C., Peñalver, J., Palacio-Bielsa, A., ... Pruvost, O. (2016).** Multilocus variable number of tandem repeat analysis reveals multiple introductions in Spain of *Xanthomonas arboricola* pv. *Pruni*, the causal agent of bacterial spot disease of stone fruits and almond. *PLoS*

- López, C. E., & Bernal, A. J. (2012).** Cassava Bacterial Blight: Using Genomics for the Elucidation and Management of an Old Problem. *Tropical Plant Biology*. <https://doi.org/10.1007/s12042-011-9092-3>
- Lozano, J. (1986).** Cassava Bacterial Blight: A manageable disease. *Plant Disease*, 70, 1089–1093.
- McDonald, B. A., McDermott, J. M., Goodwin, S. B., & Allard, R. W. (1989).** The population biology of host-pathogen interactions. *Annual Review of Phytopathology*, 27(1), 77–94. Retrieved from [https://www.researchgate.net/profile/Bruce\\_Mcdonald2/publication/234838009\\_The\\_Population\\_Biology\\_of\\_Host-Pathogen\\_Interactions/links/54cf69370cf298d656636d6f/The-Population-Biology-of-Host-Pathogen-Interactions.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Bruce_Mcdonald2/publication/234838009_The_Population_Biology_of_Host-Pathogen_Interactions/links/54cf69370cf298d656636d6f/The-Population-Biology-of-Host-Pathogen-Interactions.pdf)
- Milgroom, M. G., & Peever, T. L. (2003).** Population Biology of Plant Pathogens. *Plant Disease*, 87(6), 608–617. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-501-5\\_20](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-501-5_20)
- Ogunjobi, A. A., Fagade, O. E., & Dixon, A. G. O. (2006).** Molecular variation in population structure of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in the south eastern Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 5(October), 1868–1872. <https://doi.org/10.4314/ajb.v5i20.55891>
- Persley, G. J. (1976).** Distribution and importance of cassava bacterial blight in Africa. In *Cassava bacterial blight*. In M. R. Persley G., T.E.R. (Ed.), *Interdisciplinary Workshop on Cassava Bacterial Bligh* (pp. 9–14). Retrieved from <http://hdl.handle.net/10625/19033>
- Prakash, A. (2015).** Global Cassava Trends. State of cassava global and in the region. In : *Regional Conference on cassava in the Caribbean and Latin America*.
- Pruvost, O., Boyer, K., Ravigné, V., Richard, D., & Vernière, C. (2019).** Deciphering how plant pathogenic bacteria disperse and meet: Molecular epidemiology of *Xanthomonas citri* pv. *citri* at microgeographic scales in a tropical area of Asiatic citrus canker endemicity. *Evolutionary Applications*, 12(8), 1523–1538. <https://doi.org/10.1111/eva.12788>
- Pruvost, Olivier, Magne, M. \*, Boyer, K., Leduc, A., Tourterel, C., Drevet, C., ... Vernière, C. (2014).** A MLVA Genotyping Scheme for Global Surveillance of the Citrus Pathogen *Xanthomonas citri* pv. *citri* Suggests a Worldwide Geographical Expansion of a Single Genetic Lineage. 9(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098129>
- Rache, L., Blondin, L., Flores, C., Trujillo, C., Szurek, B., Restrepo, S., ... Vernière, C. (2019).** An Optimized Microsatellite Scheme for Assessing Populations of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* . *Phytopathology*, 109(5), 859–869. <https://doi.org/10.1094/phyto-06-18-0210-r>
- Ravelomanantsoa, S., Vernière, C., Rieux, A., Costet, L., Chiroleu, F., Arribat, S., & Guérin, F. (2018).** Molecular epidemiology of bacterial wilt in the Madagascar highlands caused by Andean (Phylotype IIB-1) and African (Phylotype III) brown rot strains of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2258. Retrieved from <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02258>
- Restrepo, S., Duque, M.C., & Verdier, V. (2000).** Resistance Spectrum of Selected *Manihot Esculenta* Genotypes under Field Conditions. *Field Crops Research*, 65(1), 69–77.
- Restrepo, S., Valle, T. L., Duque, M. C., & Verdier, V. (1999).** Assessing genetic variability among Brazilian strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* through restriction fragment length polymorphism and amplified fragment length polymorphism analyses. *Canadian Journal of Microbiology*, 45(9), 754–763.

- Restrepo, S., Velez, C. M., Duque, M. C., & Verdier, V. (2004).** Genetic structure and population dynamics of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia from 1995 to 1999. *Appl Environ Microbiol.*, 70(1), 255–261. <https://doi.org/10.1128/aem.70.1.255-261.2004>.
- Restrepo, S., & Verdier, V. (1997).** Geographical Differentiation of the Population of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(11), 4427–4434. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1389287/>
- Slatkin, M. (1977).** Gene flow and genetic drift in a species subject to frequent local extinctions. *Theoretical Population Biology*, 12(3), 253–262. Retrieved from [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(77\)90045-4](https://doi.org/10.1016/0040-5809(77)90045-4)
- Spratt, B. G., & Maiden, M. C. (1999).** Bacterial population genetics, evolution and epidemiology. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 354(1384), 701–710. <https://doi.org/https://doi.org/10.1098/rstb.1999.0423>
- Spratt, Brian G, Hanage, W. P., Li, B., Aanensen, D. M., & Feil, E. J. (2004).** Displaying the relatedness among isolates of bacterial species – the eBURST approach. *FEMS Microbiology Letters*, 241(2), 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.11.015>
- Spratt, Brian G, & Maiden, M. C. J. (1999).** Bacterial population genetics , evolution and epidemiology.
- Sunnucks, P. (2000).** Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(5), 199–203.
- Tibayrenc, M. (2005).** Bridging the gap between molecular epidemiologists and evolutionists. *Trends Microbiol.*, 13(12), 575–580. Retrieved from 10.1016/j.tim.2005.09.004.
- Trujillo, C. A., Arias-Rojas, N., Poulin, L., Medina, C. A., Tapiero, A., Restrepo, S., ... Bernal, A. 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*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-161>
- Trujillo, C. A., Ochoa, J. C., Mideros, M. F., Restrepo, S., López, C., & Bernal, A. (2014).** A Complex Population Structure of the Cassava Pathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Recent Years in the Caribbean Region of Colombia. *Microbial Ecology*. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0411-8>
- Van Belkum, Alex. (2006).** Tracing isolates of bacterial species by multilocus variable number of tandem repeat analysis (MLVA). *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 49(1), 22–27. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00173.x>
- Van Belkum, Alex, Struelens, M., Visser, A. de, Verbrugh, H., & Tibayrenc, M. (2001).** No Title. *Clin Microbiol Rev.*, 14(3), 547–560. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.3.547-560.2001>
- Verdier, V., Dongo, P., & Boher, B. (1993).** Assessment of genetic diversity among strains of *Xanthomonas campestris* pv *manihotis*. *J Gen Microbio*, 139(11), 2591–2601. Retrieved from <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301487002>
- Verdier, V., Restrepo, S., Mosquera, G., Duque, M. C., Gerstl, A., & Laberry, R. (1998).** Genetic and pathogenic variation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Venezuela. *Plant Pathology*, 47(5), 601–608.
- Verdier, Valérie, & Restrepo, S. (1997).** Répartition géographique de la bactériose vasculaire du manioc en Colombie et variabilité de l'agent pathogène. *Les Cahiers de La Recherche Développement*, 44, 16–26.
- Verdier, Valérie, Restrepo, S., Mosquera, G., Jorge, V., & Lopez, C. (2004).** Recent progress in the characterization of molecular determinants in the *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*-cassava interaction. *Plant Molecular Biology*. <https://doi.org/10.1007/s11103-004-5044-8>

**Vogler, A. J., Nottingham, R., Busch, J. D., Sahl, J. W., Shuey, M. M., Foster, J. T., ... Wagner, D. M. (2016).** VNTR diversity in *Yersinia pestis* isolates from an animal challenge study reveals the potential for in vitro mutations during laboratory cultivation. *Infection, Genetics and Evolution*, 45(2016), 297–302. Retrieved from <https://sci-hub.st/https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.09.019>

**Wonni, I., Ouedraogo, L., Dao, S., Tekete, C., Koita, O., Taghouti, G., ... Verdier, V. (2015).** First Report of Cassava Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Burkina Faso. *Plant Disease*, 99(4), 551. <https://doi.org/10.1094/pdis-03-14-0302-pdn>

**Zombre, C., Sankara, P., Ouédraogo, S. L., Wonni, I., Boyer, K., Boyer, C., ... Terville, M. (2016).** Natural Infection of Cashew (*Anacardium occidentale*) by *Xanthomonas citri* pv. *mangiferae indicae* in Burkina Faso. *Plant Disease*, 100(4), 718–723. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-15-1137-RE>. 169

#### **2.2.4-Perspectives**

Dans un système de production comme celui du Mali pour mieux maîtriser les risques d'émergence de bioagresseurs et surtout de la maladie CBB, il faudra plus de connaissances à travers des études sur : (i) les sources de contamination, (ii) les leviers de contrôle.

Aussi, il faudra étudier plus largement *Xpm* à travers l'analyse de : (i) Corrélation entre le pouvoir pathogène et diversité génétique (haplotype), (ii) la relation entre CBB Mali et CBB autres pays (typages avec plus de souches), (iii) aspect temporel des épidémies (comparaison sur plusieurs années).

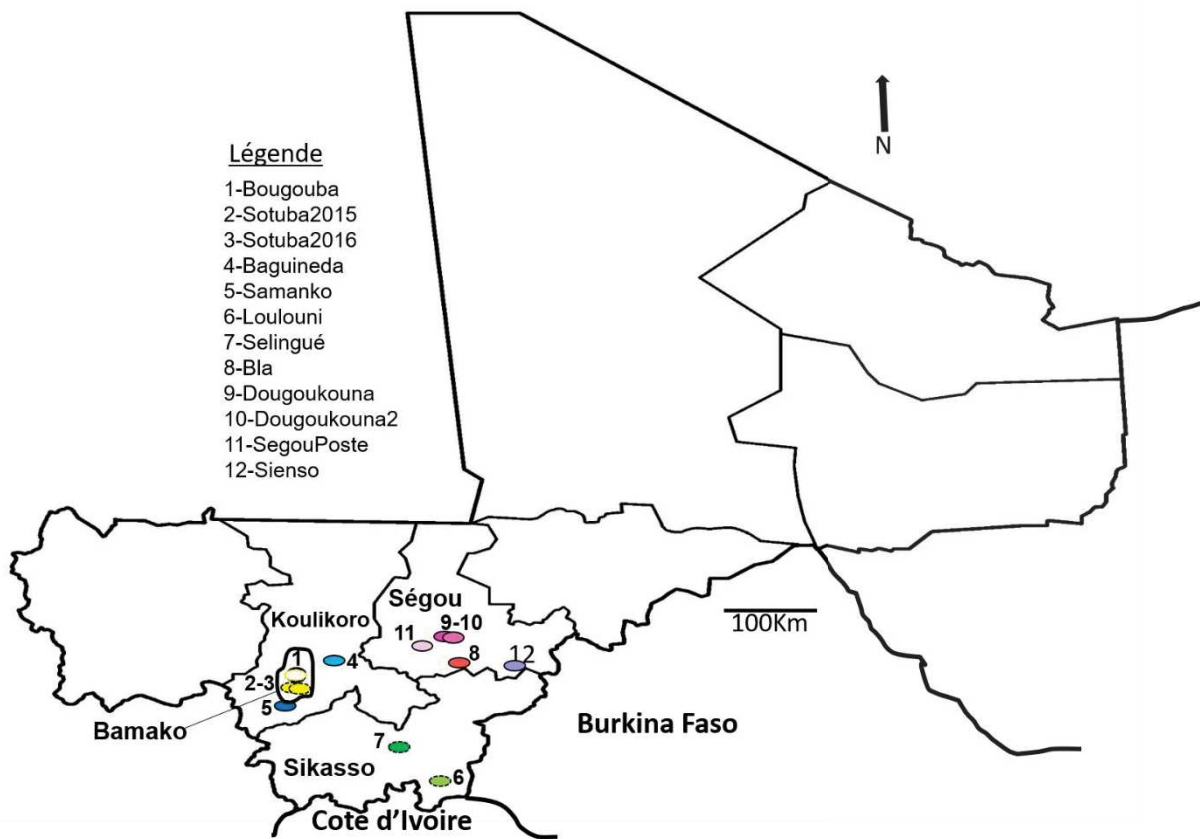


Figure 1: Map of Mali indicating localities that were sampled.

Table 1: Estimated genetic diversity of *X. phaseoli* pv. *manihotis* from the 10 localities surveyed in 2015 and 2016 using the MLVA-14 scheme

Régions	Localitiés	N	PL	H <sub>E</sub>	A	Ap	MLG	eMLG	G/N ratio	Lambda	Even	G/N ratio	rbarD <sup>c</sup>
Bamako	Bougouba	13	11	0.35	2.29	0.05	6	6	0.46	0.757	0.804	0.46	0.652
	Sotuba	46	14	0.56	4.14	0.21	29	11.34	0.63	0.956	0.876	0.63	0.126
	Sotuba 2015	20	13	0.48	2.75	0.07	12	9.18	0.60			0.60	0.239
	Sotuba 2016	26	14	0.54	4.06	0.17	17	10.45	0.65			0.65	0.154
Koulikoro	Baguineda	41	13	0.29	2.78	0.16	16	8.92	0.39	0.905	0.808	0.39	0.297
	Samanko	15	13	0.28	2.84	0.05	6	5.33	0.40	0.533	0.512	0.40	0.623
Segou	Bla 2015	15	10	0.20	1.99	0.02	5	4.60	0.33	0.667	0.776	0.33	0.553
	Dougoukouna	82	14	0.51	3.11	0.06	32	9	0.38	0.898	0.527	0.38	0.284
	Poste-Segou	28	13	0.40	2.89	0.07	15	9.43	0.54	0.903	0.803	0.54	0.207
	Sienso	39	13	0.26	2.58	0.17	17	8.28	0.44	0.876	0.679	0.44	0.376
Sikasso	<b>Loulouni</b>	<b>26</b>	<b>14</b>	<b>0.51</b>	<b>3.98</b>	<b>0.62</b>	<b>20</b>	<b>11.23</b>	<b>0.77</b>	<b>0.935</b>	<b>0.850</b>	<b>0.77</b>	<b>0.116</b>
	Selingué	41	13	0.51	2.98	0.05	16	7.45	0.39	0.827	0.579	0.39	0.526
Total Mali		346	14	0.621 <sup>a</sup>	2.29 <sup>b</sup>		140		0.40	0.981	0.594	0.40	0.106

**N**: Number of strains; **PL**: Number of polymorphic loci; **He**: Nei diversity index ; **A**: Allelic richness et **Ap** private allelic richness based on rarefaction method (n=13); **MLG** Number of multilocus genotypes multilocus; **eMLG**: Number of multilocus genotypes based on rarefaction method (n = 13); G/N or MLG/N ratio; **rbarD**: Indice de desequilibre de liaison .

<sup>a</sup> HT Nei's total genetic diversity

<sup>b</sup> Mean number of alleles

<sup>c</sup> All indices of association are significant ( $P \leq 0.01$ ) – We reject the null hypothesis of no linkage among genetic markers.

Table 2: Analysis of molecular variance (AMOVA) of populations of Xpm from Mali isolated in 10 localities within four provinces.

Source of variation	df	Sum of squares	Variance components	% of variation	P value
- Among regions	3	3048.1	6.31	18.2	0.083
- Among localities within regions	6	2404.9	12.7	36.8	< 0.001
- Within localities	336	5230.8	15.6	45.0	< 0.001
Total	345	10683.8	34.6		

<sup>a</sup>Genetic variation is analyzed between provinces with populations, localities and individuals / strain. We therefore have 4 groups (regions of Segou, Bamako, Koulikoro and Sikasso). <sup>b</sup> RST= indices de différenciation et la signification a été déterminée par 1 000 permutations aléatoires. Les données corrigées par clone ont été utilisées pour AMOVA.

<sup>b</sup> RST = differentiation index, the significance was determined by 1000 random permutations. Clone-corrected data was used for AMOVA.

For information. AMOVA molecular variance analysis of Xpm populations from Mali isolated from 20 cassava plots distributed in four regions based on the RST estimate.

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	P value
Among regions	3	2622.182	10.64302	29.99	0.002
Among plots within regions	16	2861.816	11.68020	32.92	< 0.001
Within plots	267	3513.639	13.15970	37.09	< 0.001
Total	286	8997.638	35.48292		



Table 3: Estimators of Diversity generated by MLVA-14 scheme application on *Xpm* population (N> 10) of Mali at plot-level (N = 287) to 2015 and 2016 Mali.

Regions	Localities	Plots	n	PL	A	Ap	He	Lambda	Even	MLG	eMLG	r <sub>D</sub>	r <sub>D_cc</sub> (P value)
Bamako	Bougouba	Bbo	13	11	2.28	0.00	0.349	0.757	0.804	6	5.27	0.652	0.660 (≤ 0.001)
	Sotuba	Bso15	20	13	2.70	0.08	0.480	0.890	0.857	12	7.64	0.239	0.171 (≤ 0.001)
		Bso1	12	13	2.98	0.00	0.512	0.819	0.877	7	6.32	0.186	0.065 (0.025)
Koulikoro	Baguineda	Kba1	11	10	2.07	0.14	0.312	0.793	0.888	6	5.73	0.311	0.215 (≤ 0.001)
		Kba2	13	11	2.42	0.00	0.349	0.828	0.824	8	6.77	0.615	0.521 (≤ 0.001)
		Kba3	17	6	1.75	0.07	0.215	0.844	0.893	8	6.34	0.272	0.184 (≤ 0.001)
	Samanko	Ksa3	10	2	1.14	0.01	0.028	0.340	0.576	3	3	-0.111	- 0.5 (> 0.100)
	Bla	Bla15	15	10	1.92	0.02	0.199	0.667	0.776	5	4	0.553	0.553 (≤ 0.001)
Ségou	Dougoukouna	Sdk1	27	13	3.15	0.00	0.552	0.859	0.727	13	6.71	0.312	0.141 (≤ 0.001)
		Sdk3	16	12	2.85	0.06	0.533	0.836	0.804	9	6.61	0.340	0.119 (≤ 0.001)
		Sdk4	12	11	2.07	0.00	0.437	0.903	0.958	11	9.32	0.252	0.224 (≤ 0.001)
	Ségou-Poste	Sd2-1	10	12	2.43	0.03	0.444	0.680	0.734	5	5	0.455	0.171 (0.027)
		Sd2-2	15	12	2.68	0.00	0.472	0.880	0.903	10	7.69	0.281	0.205 (≤ 0.001)
	Sienso	Pos1	10	12	2.14	0.00	0.463	0.720	0.922	4	4	0.454	0.336 (≤ 0.001)
		Pos3	10	10	2.43	0.00	0.360	0.820	0.866	7	7	0.258	0.252 (≤ 0.001)
Sikasso	Loulouni	Sie3	24	13	1.87	0.14	0.157	0.799	0.698	10	5.71	0.287	0.698 (≤ 0.001)
	Selingué	Lou1	11	13	3.21	0.71	0.465	0.843	0.868	8	7.45	0.167	0.077 (0.014)
		Sel1	14	13	2.82	0.00	0.423	0.878	0.887	10	7.86	0.359	0.284 (≤ 0.001)
		Sel2	12	12	2.28	0.07	0.498	0.722	0.824	5	4.65	0.712	0.559 (≤ 0.001)
		Sel3	15	13	2.30	0.00	0.471	0.684	0.772	5	4.23	0.723	0.500 (≤ 0.001)

N : Number of strains ; He: Nei's genetic diversity index, Lambda: Simpson's Index of genotypic diversity;

r<sub>D\_cc</sub> Multilocus Linkage Disequilibrium Index for clone corrected data.

A : Allelic Richness et Ap : private allelic richness based on rarefaction method (n=10);.

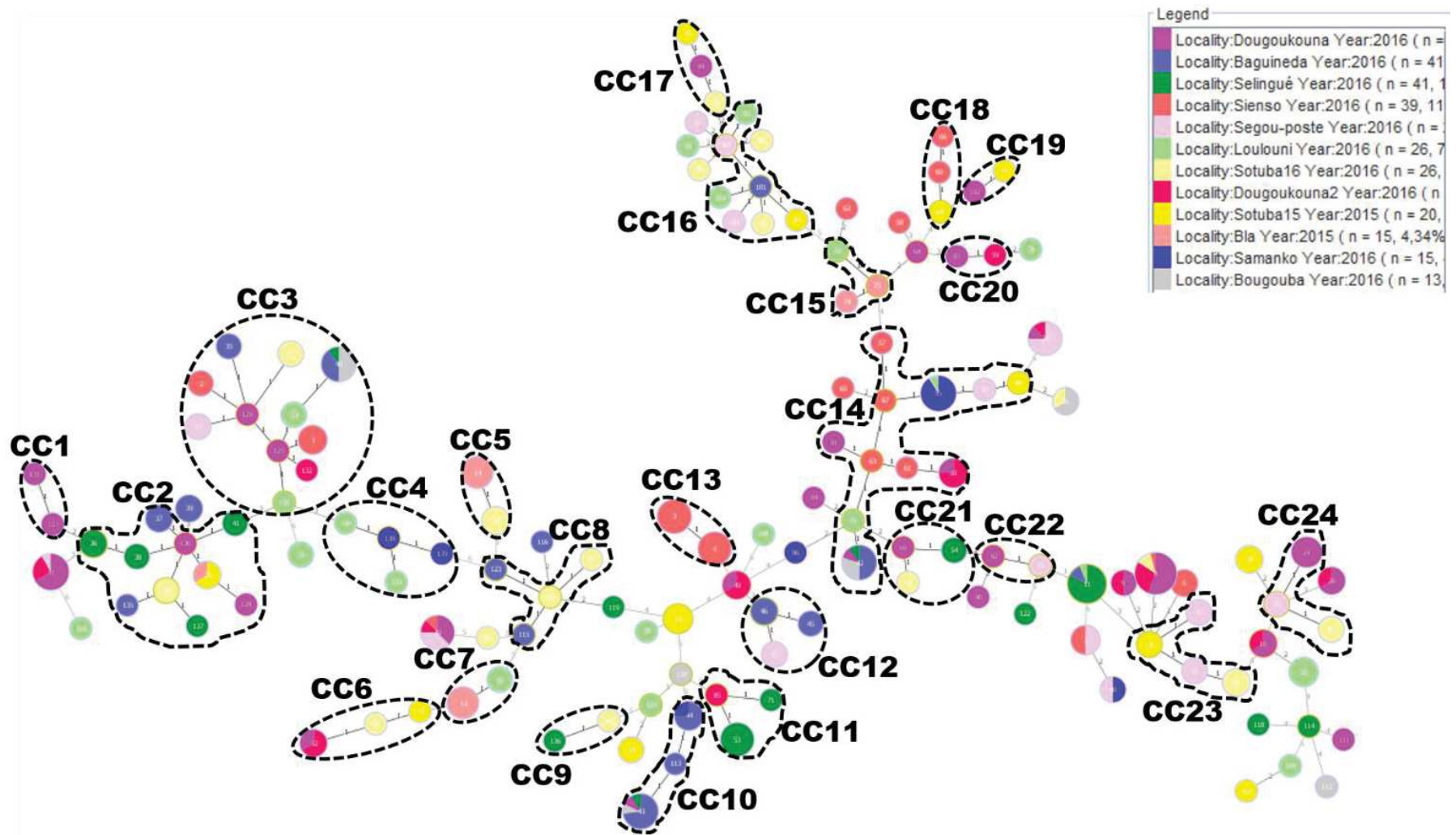


Figure 2: Malian *Xpm* haplotypes network made of 24 clonal complexes composed from SLVs..

## 2.2.5-Données supplémentaires (DS) / supplementary data (SD):

SD1. Collection of Malian strains of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (n = 346) analyzed in this study and sampling information

Strain	Province	Locality	Plot	Year	Haplotype	CC	GG
Bbo2-7	Bamako	Bougouba	bbo	2016	4	CC1	GG1
Bbo1-2	Bamako	Bougouba	bbo	2016	6	CC3	GG1
Bbo1-4	Bamako	Bougouba	bbo	2016	6	CC3	GG1
Bbo1-6	Bamako	Bougouba	bbo	2016	6	CC3	GG1
Bbo1-8	Bamako	Bougouba	bbo	2016	6	CC3	GG1
Bbo2-8	Bamako	Bougouba	bbo	2016	6	CC3	GG1
Bbo1-3	Bamako	Bougouba	bbo	2016	7	CC1	GG1
Bbo1-5	Bamako	Bougouba	bbo	2016	7	CC1	GG1
Bbo3-4	Bamako	Bougouba	bbo	2016	7	CC1	GG1
Bbo3-2	Bamako	Bougouba	bbo	2016	56	CC21	GG15
Bbo3-3	Bamako	Bougouba	bbo	2016	56	CC21	GG15
Bbo2-11	Bamako	Bougouba	bbo	2016	113	CC1	GG1
Bbo1-10	Bamako	Bougouba	bbo	2016	121	CC1	GG1
Bso1-15	Bamako	Sotuba	bso1	2016	1	CC17	GG5
Bso1-16	Bamako	Sotuba	bso1	2016	1	CC17	GG5
Bso1-6	Bamako	Sotuba	bso1	2016	1	CC17	GG5
Bso1-7	Bamako	Sotuba	bso1	2016	29	singl	GG18
Bso1-4	Bamako	Sotuba	bso1	2016	29	singl	GG18
Bso1-5	Bamako	Sotuba	bso1	2016	29	singl	GG18
Bso1-13	Bamako	Sotuba	bso1	2016	33	singl	singl
Bso1-9	Bamako	Sotuba	bso1	2016	33	singl	singl
Bso1-1	Bamako	Sotuba	bso1	2016	56	CC21	GG15
Bso1-2	Bamako	Sotuba	bso1	2016	76	CC21	GG15
Bso1-17-2	Bamako	Sotuba	bso1	2016	107	singl	singl
Bso1-3	Bamako	Sotuba	bso1	2016	118	CC1	GG1
019M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	19	CC19	GG13
020M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	19	CC19	GG13
002M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	22	CC22	GG16
003M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	22	CC22	GG16
004M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	22	CC22	GG16
005M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	22	CC22	GG16
007M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	34	CC6	GG2
008M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	34	CC6	GG2
013M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	34	CC6	GG2
014M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	35	singl	GG2
015M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	35	singl	GG2

017M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	38	singl	GG17
018M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	38	singl	GG17
011M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	64	singl	GG2
016M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	70	CC19	GG13
001M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	78	CC22	GG16
006M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	89	singl	GG2
010M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	96	singl	GG17
009M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	100	CC6	GG2
012M	Bamako	Sotuba	bso15	2015	108	singl	GG2
Bso2-5	Bamako	Sotuba	bso2	2016	36	CC6	GG2
Bso2-9	Bamako	Sotuba	bso2	2016	36	CC6	GG2
Bso2-1	Bamako	Sotuba	bso2	2016	39	singl	singl
Bso2-2	Bamako	Sotuba	bso2	2016	39	singl	singl
Bso2-6	Bamako	Sotuba	bso2	2016	94	singl	GG18
Bso2-4	Bamako	Sotuba	bso2	2016	99	CC6	GG2
Bso3-3	Bamako	Sotuba	bso3	2016	24	CC14	GG7
Bso3-4	Bamako	Sotuba	bso3	2016	24	CC14	GG7
Bso3-6	Bamako	Sotuba	bso3	2016	24	CC14	GG7
Bso3-2	Bamako	Sotuba	bso3	2016	90	CC14	GG7
Bso3-10	Bamako	Sotuba	bso3	2016	91	CC14	GG7
Bso3-7	Bamako	Sotuba	bso3	2016	92	singl	GG7
Bso3-5	Bamako	Sotuba	bso3	2016	101	singl	GG7
Bso3-8	Bamako	Sotuba	bso3	2016	122	singl	GG12
Kba1-4	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	7	CC1	GG1
Kba1-6	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	7	CC1	GG1
Kba1-1	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	45	CC3	GG1
Kba1-1-2	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	45	CC3	GG1
Kba1-2	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	45	CC3	GG1
Kba1-10	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	48	CC3	GG1
Kba1-5	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	49	CC1	GG1
Kba1-7	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	49	CC1	GG1
Kba1-9	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	49	CC1	GG1
Kba1-8	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	116	CC3	GG1
Kba1-3	Koulikoro	Baguineda	kba1	2016	136	singl	singl
Kba2-3	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	2	CC20	GG14
Kba2-5	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	2	CC20	GG14
Kba2-10	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	4	CC1	GG1
Kba2-2	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	4	CC1	GG1
Kba2-8	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	4	CC1	GG1
Kba2-9	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	4	CC1	GG1
Kba2-1	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	6	CC3	GG1
Kba2-4	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	7	CC1	GG1
Kba2-12	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	41	CC1	GG1

Kba2-12-2	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	41	CC1	GG1
Kba2-13	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	47	CC3	GG1
Kba2-6	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	117	CC1	GG1
Kba2-7	Koulikoro	Baguineda	kba2	2016	124	CC3	GG1
Kba3-12	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	4	CC1	GG1
Kba3-12-2	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	4	CC1	GG1
Kba3-3	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	4	CC1	GG1
Kba3-8	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	4	CC1	GG1
Kba3-2	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	6	CC3	GG1
Kba3-2-2	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	6	CC3	GG1
Kba3-2-3	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	6	CC3	GG1
Kba3-1-2	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	7	CC1	GG1
Kba3-9	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	7	CC1	GG1
Kba3-4	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	43	singl	GG1
Kba3-5	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	43	singl	GG1
Kba3-6	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	43	singl	GG1
Kba3-13	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	47	CC3	GG1
Kba3-4-2	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	47	CC3	GG1
Kba3-10	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	48	CC3	GG1
Kba3-7	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	102	CC1	GG1
Kba3-1	Koulikoro	Baguineda	kba3	2016	114	CC3	GG1
Ksa1-5	Koulikoro	Samanko	ksa1	2016	47	CC3	GG1
Ksa1-6	Koulikoro	Samanko	ksa1	2016	51	CC24	GG4
Ksa2-11	Koulikoro	Samanko	ksa2	2016	5	CC16	GG11
Ksa2-9	Koulikoro	Samanko	ksa2	2016	5	CC16	GG11
Ksa2-2-2	Koulikoro	Samanko	ksa2	2016	87	CC2	GG2
Ksa3-1	Koulikoro	Samanko	ksa3	2016	5	CC16	GG11
Ksa3-10	Koulikoro	Samanko	ksa3	2016	5	CC16	GG11
Ksa3-11	Koulikoro	Samanko	ksa3	2016	5	CC16	GG11
Ksa3-12	Koulikoro	Samanko	ksa3	2016	5	CC16	GG11
Ksa3-15	Koulikoro	Samanko	ksa3	2016	5	CC16	GG11
Ksa3-2	Koulikoro	Samanko	ksa3	2016	5	CC16	GG11
Ksa3-3	Koulikoro	Samanko	ksa3	2016	5	CC16	GG11
Ksa3-8	Koulikoro	Samanko	ksa3	2016	5	CC16	GG11
Ksa3-14	Koulikoro	Samanko	ksa3	2016	139	CC16	GG11
Ksa3-13	Koulikoro	Samanko	ksa3	2016	140	CC16	GG11
021M	Segou	Bla	Bla15	2015	20	CC12	GG9
022M	Segou	Bla	Bla15	2015	20	CC12	GG9
023M	Segou	Bla	Bla15	2015	20	CC12	GG9
024M	Segou	Bla	Bla15	2015	20	CC12	GG9
026M	Segou	Bla	Bla15	2015	20	CC12	GG9
027M	Segou	Bla	Bla15	2015	20	CC12	GG9
040M	Segou	Bla	Bla15	2015	21	singl	GG9

041M	Segou	Bla	Bla15	2015	21	singl	GG9
042M	Segou	Bla	Bla15	2015	21	singl	GG9
046M	Segou	Bla	Bla15	2015	21	singl	GG9
047M	Segou	Bla	Bla15	2015	21	singl	GG9
051M	Segou	Bla	Bla15	2015	21	singl	GG9
036M	Segou	Bla	Bla15	2015	38	singl	GG17
025M	Segou	Bla	Bla15	2015	74	CC12	GG9
029M	Segou	Bla	Bla15	2015	75	CC12	GG9
SDKr1-1	Segou	Dougoukouna	sd2-1	2016	1	CC17	GG5
SDKr1-12	Segou	Dougoukouna	sd2-1	2016	1	CC17	GG5
SDKr1-13	Segou	Dougoukouna	sd2-1	2016	1	CC17	GG5
SDKr1-14	Segou	Dougoukouna	sd2-1	2016	1	CC17	GG5
SDKr1-6	Segou	Dougoukouna	sd2-1	2016	1	CC17	GG5
SDKr1-7	Segou	Dougoukouna	sd2-1	2016	3	CC11	GG10
SDKr1-2	Segou	Dougoukouna	sd2-1	2016	26	CC2	GG2
SDKr1-3	Segou	Dougoukouna	sd2-1	2016	52	singl	GG4
SDKr1-4	Segou	Dougoukouna	sd2-1	2016	52	singl	GG4
SDKr1-5	Segou	Dougoukouna	sd2-1	2016	86	CC13	GG2
SDKr2-15	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	1	CC17	GG5
SDKr2-6	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	1	CC17	GG5
SDKr2-3	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	3	CC11	GG10
SDKr2-9	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	3	CC11	GG10
SDKr2-11	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	10	CC13	GG2
SDKr2-10	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	11	CC2	GG2
SDKr2-13	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	18	CC17	GG5
SDKr2-4	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	32	CC18	GG2
SDKr2-12	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	53	CC10	GG4
SDKr2-7	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	53	CC10	GG4
SDKr2-8	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	53	CC10	GG4
SDKr2-1-2	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	54	CC10	GG4
SDKr2-5	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	54	CC10	GG4
SDKr2-14	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	59	CC11	GG10
SDKr2-2-2	Segou	Dougoukouna	sd2-2	2016	133	CC10	GG4
SDK1-13	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	1	CC17	GG5
SDK1-14	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	1	CC17	GG5
SDK1-14-2	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	1	CC17	GG5
SDK1-17	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	1	CC17	GG5
SDK1-3-3	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	1	CC17	GG5
SDK1-6	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	1	CC17	GG5
SDK1-9	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	1	CC17	GG5
SDK1-1	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	3	CC11	GG10
SDK1-11	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	3	CC11	GG10
SDK1-19	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	3	CC11	GG10

SDK1-8	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	3	CC11	GG10
SDK1-3-2	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	4	CC1	GG1
SDK1-11-2	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	7	CC1	GG1
SDK1-4	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	10	CC13	GG2
SDK1-10	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	26	CC2	GG2
SDK1-15	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	30	CC2	GG2
SDK1-15-2	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	30	CC2	GG2
SDK1-16	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	30	CC2	GG2
SDK1-2	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	30	CC2	GG2
SDK1-7	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	30	CC2	GG2
SDK1-10-2	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	32	CC18	GG2
SDK1-10-3	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	32	CC18	GG2
SDK1-19-2	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	68	CC9	GG8
SDK1-12	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	82	CC2	GG2
SDK1-5	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	95	CC13	GG2
SDK1-16-2	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	112	singl	GG1
SDK1-3	Segou	Dougoukouna	sdk1	2016	131	CC11	GG10
SDK2-2	Segou	Dougoukouna	sdk2	2016	1	CC17	GG5
SDK2-1	Segou	Dougoukouna	sdk2	2016	11	CC2	GG2
SDK3-14	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	1	CC17	GG5
SDK3-17	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	1	CC17	GG5
SDK3-8	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	1	CC17	GG5
SDK3-9	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	1	CC17	GG5
SDK3-1	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	3	CC11	GG10
SDK3-12	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	3	CC11	GG10
SDK3-15	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	3	CC11	GG10
SDK3-4	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	3	CC11	GG10
SDK3-11	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	10	CC13	GG2
SDK3-13	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	10	CC13	GG2
SDK3-5	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	18	CC17	GG5
SDK3-3	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	54	CC10	GG4
SDK3-2	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	84	CC2	GG2
SDK3-10	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	103	singl	GG2
SDK3-7	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	126	CC24	GG4
SDK3-6	Segou	Dougoukouna	sdk3	2016	132	singl	GG4
SDK4-10	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	1	CC17	GG5
SDK4-4	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	1	CC17	GG5
SDK4-2	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	26	CC2	GG2
SDK4-1	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	52	singl	GG4
SDK4-12	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	53	CC10	GG4
SDK4-5	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	69	singl	GG4
SDK4-3	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	81	CC2	GG2
SDK4-6	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	83	CC2	GG2

SDK4-9	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	85	CC15	GG5
SDK4-7	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	128	CC15	GG5
SDK4-8	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	129	singl	GG2
SDK4-11	Segou	Dougoukouna	sdk4	2016	130	CC15	GG5
Sp3-3	Segou	Ségou-Poste	pos3	2016	3	CC11	GG10
Sp1-2	Ségou	Ségou-Poste	pos1	2016	11	CC2	GG2
Sp1-3	Ségou	Ségou-Poste	pos1	2016	11	CC2	GG2
Sp1-5	Ségou	Ségou-Poste	pos1	2016	11	CC2	GG2
Sp1-9	Ségou	Ségou-Poste	pos1	2016	11	CC2	GG2
Sp1-4	Ségou	Ségou-Poste	pos1	2016	16	CC9	GG8
Sp1-7	Ségou	Ségou-Poste	pos1	2016	16	CC9	GG8
Sp1-10	Ségou	Ségou-Poste	pos1	2016	17	CC9	GG8
Sp1-12	Ségou	Ségou-Poste	pos1	2016	17	CC9	GG8
Sp1-11	Ségou	Ségou-Poste	pos1	2016	50	single	GG4
Sp1-6	Ségou	Ségou-Poste	pos1	2016	50	single	GG4
Sp2-2	Ségou	Ségou-Poste	pos2	2016	11	CC2	GG2
Sp2-5	Ségou	Ségou-Poste	pos2	2016	11	CC2	GG2
Sp2-7	Ségou	Ségou-Poste	pos2	2016	25	CC2	GG2
Sp2-8	Ségou	Ségou-Poste	pos2	2016	25	CC2	GG2
Sp2-4	Ségou	Ségou-Poste	pos2	2016	31	CC18	GG2
Sp2-9	Ségou	Ségou-Poste	pos2	2016	31	CC18	GG2
Sp2-6	Ségou	Ségou-Poste	pos2	2016	88	single	GG2
Sp2-3	Ségou	Ségou-Poste	pos2	2016	98	single	single
Sp3-6	Ségou	Ségou-Poste	pos3	2016	10	CC13	GG2
Sp3-8	Ségou	Ségou-Poste	pos3	2016	10	CC13	GG2
Sp3-9	Ségou	Ségou-Poste	pos3	2016	10	CC13	GG2
Sp3-1	Ségou	Ségou-Poste	pos3	2016	28	single	GG2
Sp3-2	Ségou	Ségou-Poste	pos3	2016	28	single	GG2
Sp3-10	Ségou	Ségou-Poste	pos3	2016	51	CC24	GG4
Sp3-4	Ségou	Ségou-Poste	pos3	2016	73	single	GG2
Sp3-7	Ségou	Ségou-Poste	pos3	2016	105	CC2	GG2
Sp3-5	Ségou	Ségou-Poste	pos3	2016	106	CC2	GG2
Ssi1-2	Ségou	Sienso	sie1	2016	8	CC4	GG3
Ssi1-7	Ségou	Sienso	sie1	2016	8	CC4	GG3
Ssi1-8	Ségou	Sienso	sie1	2016	10	CC13	GG2
Ssi1-3	Ségou	Sienso	sie1	2016	13	CC8	GG3
Ssi1-4	Ségou	Sienso	sie1	2016	13	CC8	GG3
Ssi1-9	Ségou	Sienso	sie1	2016	14	CC8	GG3
Ssi1-6	Ségou	Sienso	sie1	2016	57	CC8	GG3
Ssi1-5	Ségou	Sienso	sie1	2016	58	single	GG3
Ssi2-5	Ségou	Sienso	sie2	2016	8	CC4	GG3
Ssi2-7	Ségou	Sienso	sie2	2016	13	CC8	GG3
Ssi2-7-2	Ségou	Sienso	sie2	2016	13	CC8	GG3



Ssi2-6	Ségou	Siensso	sie2	2016	14	CC8	GG3
Ssi2-2	Ségou	Siensso	sie2	2016	17	CC9	GG8
Ssi2-3	Ségou	Siensso	sie2	2016	17	CC9	GG8
Ssi2-1	Ségou	Siensso	sie2	2016	63	CC4	GG3
Ssi3-4	Ségou	Siensso	sie3	2016	1	CC17	GG5
Ssi3-1	Ségou	Siensso	sie3	2016	8	CC4	GG3
Ssi3-11	Ségou	Siensso	sie3	2016	8	CC4	GG3
Ssi3-11-2	Ségou	Siensso	sie3	2016	8	CC4	GG3
Ssi3-6	Ségou	Siensso	sie3	2016	8	CC4	GG3
Ssi3-7	Ségou	Siensso	sie3	2016	8	CC4	GG3
Ssi3-9	Ségou	Siensso	sie3	2016	8	CC4	GG3
Ssi3-12	Ségou	Siensso	sie3	2016	9	CC4	GG3
Ssi3-1-2	Ségou	Siensso	sie3	2016	9	CC4	GG3
Ssi3-15-2	Ségou	Siensso	sie3	2016	9	CC4	GG3
Ssi3-16-2	Ségou	Siensso	sie3	2016	9	CC4	GG3
Ssi3-17	Ségou	Siensso	sie3	2016	9	CC4	GG3
Ssi3-17-2	Ségou	Siensso	sie3	2016	9	CC4	GG3
Ssi3-2	Ségou	Siensso	sie3	2016	9	CC4	GG3
Ssi3-3	Ségou	Siensso	sie3	2016	9	CC4	GG3
Ssi3-10	Ségou	Siensso	sie3	2016	15	CC4	GG3
Ssi3-18	Ségou	Siensso	sie3	2016	15	CC4	GG3
Ssi3-18-2	Ségou	Siensso	sie3	2016	15	CC4	GG3
Ssi3-13	Ségou	Siensso	sie3	2016	60	single	GG3
Ssi3-15	Ségou	Siensso	sie3	2016	61	single	GG3
Ssi3-13-2	Ségou	Siensso	sie3	2016	62	single	GG3
Ssi3-16	Ségou	Siensso	sie3	2016	65	CC4	GG3
Ssi3-5	Ségou	Siensso	sie3	2016	66	CC4	GG3
Ssi3-8	Ségou	Siensso	sie3	2016	67	CC4	GG3
SiL1-12	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	23	singl	singl
SiL12-4	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	23	singl	singl
SiL1-10	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	27	singl	singl
SiL1-11	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	27	singl	singl
SiL1-5	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	27	singl	singl
SiL1-7	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	72	singl	singl
SiL1-3	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	77	singl	GG19
SiL1-8	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	79	singl	singl
SiL1-9	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	93	singl	singl
SiL1-1	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	97	singl	singl
SiL1-2	Sikasso	Loulouni	lou1	2016	127	singl	GG19
SiL2-11	Sikasso	Loulouni	lou2	2016	5	CC16	GG11
SiL2-3	Sikasso	Loulouni	lou2	2016	27	singl	singl
SiL3-1	Sikasso	Loulouni	lou3	2016	40	CC7	GG6
SiL3-8	Sikasso	Loulouni	lou3	2016	40	CC7	GG6

SiL3-5	Sikasso	Loulouni	lou3	2016	80	singl	singl
SiL3-6	Sikasso	Loulouni	lou3	2016	104	singl	GG6
SiL3-2	Sikasso	Loulouni	lou3	2016	109	singl	GG6
SiL3-3	Sikasso	Loulouni	lou3	2016	110	CC7	GG6
SiL3-10	Sikasso	Loulouni	lou3	2016	111	CC7	GG6
SiL3-9	Sikasso	Loulouni	lou3	2016	125	singl	singl
SiL3-7	Sikasso	Loulouni	lou3	2016	134	singl	GG12
SiL4-2	Sikasso	Loulouni	lou4	2016	2	CC20	GG14
SiL4-10	Sikasso	Loulouni	lou4	2016	37	singl	GG12
SiL4-14	Sikasso	Loulouni	lou4	2016	37	singl	GG12
SiL4-13	Sikasso	Loulouni	lou4	2016	135	CC7	GG6
Sis1-3	Sikasso	Selingue	sel1	2016	2	CC20	GG14
Sis1-8	Sikasso	Selingue	sel1	2016	2	CC20	GG14
Sis1-10	Sikasso	Selingue	sel1	2016	4	CC1	GG1
Sis1-6	Sikasso	Selingue	sel1	2016	6	CC3	GG1
Sis1-4	Sikasso	Selingue	sel1	2016	7	CC1	GG1
Sis1-5	Sikasso	Selingue	sel1	2016	12	CC5	GG1
Sis1-1	Sikasso	Selingue	sel1	2016	42	CC23	GG1
Sis1-1-2	Sikasso	Selingue	sel1	2016	42	CC23	GG1
Sis1-7	Sikasso	Selingue	sel1	2016	42	CC23	GG1
Sis1-2	Sikasso	Selingue	sel1	2016	46	CC3	GG1
Sis1-2-2	Sikasso	Selingue	sel1	2016	46	CC3	GG1
Sis1-11	Sikasso	Selingue	sel1	2016	119	CC1	GG1
Sis1-9	Sikasso	Selingue	sel1	2016	120	CC1	GG1
Sis1-12	Sikasso	Selingue	sel1	2016	123	CC23	GG1
Sis2-10	Sikasso	Selingue	sel2	2016	2	CC20	GG14
Sis2-2	Sikasso	Selingue	sel2	2016	2	CC20	GG14
Sis2-2-2	Sikasso	Selingue	sel2	2016	2	CC20	GG14
Sis2-4	Sikasso	Selingue	sel2	2016	2	CC20	GG14
Sis2-4-2	Sikasso	Selingue	sel2	2016	2	CC20	GG14
Sis2-1	Sikasso	Selingue	sel2	2016	12	CC5	GG1
Sis2-3-2	Sikasso	Selingue	sel2	2016	12	CC5	GG1
Sis2-5	Sikasso	Selingue	sel2	2016	12	CC5	GG1
Sis2-7	Sikasso	Selingue	sel2	2016	44	CC3	GG1
Sis2-9	Sikasso	Selingue	sel2	2016	44	CC3	GG1
Sis2-8	Sikasso	Selingue	sel2	2016	137	CC5	GG1
Sis2-3	Sikasso	Selingue	sel2	2016	138	CC5	GG1
Sis3-12	Sikasso	Selingue	sel3	2016	2	CC20	GG14
Sis3-3	Sikasso	Selingue	sel3	2016	2	CC20	GG14
Sis3-3-2	Sikasso	Selingue	sel3	2016	2	CC20	GG14
Sis3-4	Sikasso	Selingue	sel3	2016	2	CC20	GG14
Sis3-7	Sikasso	Selingue	sel3	2016	2	CC20	GG14
Sis3-8	Sikasso	Selingue	sel3	2016	2	CC20	GG14

Sis3-9	Sikasso	Selingue	sel3	2016	2	CC20	GG14
Sis3-11	Sikasso	Selingue	sel3	2016	12	CC5	GG1
Sis3-13	Sikasso	Selingue	sel3	2016	12	CC5	GG1
Sis3-4-2	Sikasso	Selingue	sel3	2016	12	CC5	GG1
Sis3-5	Sikasso	Selingue	sel3	2016	12	CC5	GG1
Sis3-2	Sikasso	Selingue	sel3	2016	55	CC5	GG1
Sis3-6	Sikasso	Selingue	sel3	2016	55	CC5	GG1
Sis3-1	Sikasso	Selingue	sel3	2016	71	CC20	GG14
Sis3-10	Sikasso	Selingue	sel3	2016	115	CC3	GG1

SD2. Multiplex scheme and primer pairs targeting the microsatellites used in the MLVA-14 scheme. (Rache *et al.* 2019).

Pool	TR Locus	Label	Forward Sequence 5'-3'	Reverse Sequence 5'-3'	AT
1	Xpm1 -37	PET-	CGACATCAGCAGGTGGCGAC	CGACGCAGAGACAGGCGATG	61
	Xpm1 -08	VIC-	CGACGTTTCATCGCGAGCAG	CAGCGAGCGTCTCGTCCTCA	61
	Xpm1 -15	NED-	GTCTTGGCCTTGGCCACAG	ACAAGGCCGAGGGTGAGCAG	61
2	Xpm1 -18	6-FAM-	GTCCATCCTTGGCGCGACCT	CAAGAGCGCCCGTTGAAAA	60
	Xpm1 -21	NED-	GGGAGAAGGACGCGGACTGC	GCGAGCAGGTGCAATCGGTT	60
	Xpm1 -31	PET-	TCGCAACCGCGATACGCTTT	GTTACGCTGGATCAGCCGG	60
	Xpm1 -35	VIC-	GGCGTTTTTCGGTGGGAAGC	CTGAGCAACGCACGGCTCAG	60
3	Xpm1 -06	6-FAM-	GCGATAGGCCGAGGTCACCA	CCGGCGTGCATAGATGATGC	61
	Xpm1 -07	NED-	ACTGCCACTCGTGCAGCAGC	TGATGTTCCGGCAGTGGCGAT	61
	Xpm1 -38	VIC-	TTGCGGACGCTATGGGGAAC	TATTGGTGACCTGCACGCGG	61
4	Xpm1 -19	6-FAM-	GCGGCGAACAGCAGTAGCGT	CCAGCAATCACCCGTCCGTC	61
	Xpm1 -25	NED-	ATGCTCACTCCCACGGGCAT	ACCACCGGTGCGTCCATCTC	61
	Xpm1 -27	PET-	ATCAAGGTATCGCGGCTGGC	AATGCATCGGCATCGCCAAC	61
	Xpm1 -30	VIC-	GCCGTGGGCGAATACGCTTC	CTGAAGATCGGGCCACGCAG	61

AT: Annealing temperature.

SD3. Discriminating power of several VNTR loci of the 14-MLVA Locus scheme evaluated on the collection of Malian *Xpm* (n = 346).

Locus	Na	He
Xpm1-37	66	0.65
Xpm1-08	15	0.80
Xpm1-15	813	0.88
Xpm1-18	25	0.59
Xpm1-21	46	0.76
Xpm1-31	25	0.58
Xpm1-35	513	0.81
Xpm1-06	13	0.28
Xpm1-07	34	0.63
Xpm1-38	25	0.53
Xpm1-19	26	0.53
Xpm1-25	57	0.78
Xpm1-27	47	0.74
Xpm1-30	14	0.14
Moyenne	37.07	0.62

Na : Nombre d'allèles ; He : indice de diversité de Nei

SD4. Genetic differentiation between populations of Xpm isolated in 10 localities estimated by RST.

Regions	Bamako		Koulikoro		Ségou			Sikasso		
Localities	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 Bougouba	-									
2 Sotuba	0.538***	-								
3 Baguineda	0.018 <sup>NS</sup>	0.635***	-							
4 Samanko	0.643***	0.498***	0.752***	-						
5 Bla	0.806***	0.213***	0.843***	0.764***	-					
6 Dougoukouna	0.716***	0.484***	0.758***	0.383***	0.592***	-				
7 Poste-Segou	0.763***	0.415***	0.809***	0.475***	0.596***	0.081***	-			
8 Sienso	0.839***	0.600***	0.860***	0.579***	0.783***	0.403***	0.487***	-		
9 Loulouni	0.439***	0.031 <sup>NS</sup>	0.578***	0.306*	0.130***	0.312***	0.207***	0.459***	-	
10 Selingue	0.368***	0.339***	0.475***	0.268***	0.519***	0.344***	0.360***	0.529***	0.185***	-

Level of significance \*\*\* P value < 0.001; \* P value < 0.05; NS not significant P ≥ 0.05.

DS5 : Complements to Table 3

Regions	Localities	Plots	n	PL	Evenness	r <sub>D</sub>
Bamako	Bougouba	Bbo	13	11	0.804	0.652
	Sotuba	Bso15	20	13	0.857	0.239
		Bso1	12	13	0.877	0.186
Koulikoro	Baguineda	Kba1	11	10	0.888	0.311
		Kba2	13	11	0.824	0.615
		Kba3	17	6	0.893	0.272
	Samanko	Ksa3	10	2	0.576	-0.111
	Ségou	Bla	Bla15	15	10	0.776
Sdk1			27	13	0.727	0.312
Sdk3			16	12	0.804	0.340
Dougoukouna		Sdk4	12	11	0.958	0.252
		Sd2-1	10	12	0.734	0.455
		Sd2-2	15	12	0.903	0.281
Poste		Pos1	10	12	0.922	0.454
		Pos3	10	10	0.866	0.258
Siensou		Sie3	24	13	0.698	0.287
Sikasso		Loulouni	Lou1	11	13	0.868
	Sel1		14	13	0.887	0.359
	Selingué	Sel2	12	12	0.824	0.712
		Sel3	15	13	0.772	0.723

n : Number of strains ; PL : Number of polymorphic loci; E Evenness or clonal heterogeneity ( $\sim 0$  = overrepresented haplotype and 1 same frequency; Multilocus Linkage Disequilibrium Index r<sub>D</sub>, all values with P < 0.001 except for Ksa3.

SD6. Genetic differentiation between pairs of populations of Xpm from plots estimated by RST. NS pairs not significantly differentiated ( $P \geq 0.01$ ) otherwise significantly differentiated pairs ( $P < 0.01$ ) (in gray, comparison of plots within the same locality).

Region	Bamako			Koulikoro				Segou							Sikasso				
	Bougouba	Sotuba		Baguineba	Samako			Bla	Dougoukona			Segou	Siensou	Loulouni	Selingué				
Plot	bbo	bso1	Bso15	kba1	kba2	kba3	ksa3	Bla15	sdk1	sdk3	sdk4	sd2-1	sd2-2	pos1	pos3	sie3	lou1	sel1	sel2
bbo	-																		
bso1	0.357	-																	
Bso15	0.665	0.125 <sup>NS</sup>	-																
kba1	-0.030 <sup>NS</sup>	0.4982	0.781	-															
kba2	0.016 <sup>NS</sup>	0.338	0.632	0.079 <sup>NS</sup>	-														
kba3	0.064 <sup>NS</sup>	0.552	0.793	0.012 <sup>NS</sup>	0.121 <sup>NS</sup>	-													
ksa3	0.762	0.437	0.731	0.924	0.788	0.899	-												
Bla15	0.8063	0.382	0.279	0.9151	0.786	0.901	0.921	-											
sdk1	0.616	0.177	0.418	0.713	0.604	0.722	0.471	0.540	-										
sdk3	0.705	0.299	0.558	0.813	0.704	0.812	0.596	0.680	0.013 <sup>NS</sup>	-									
sdk4	0.756	0.326	0.611	0.881	0.757	0.868	0.748	0.770	0.070 <sup>NS</sup>	0.020 <sup>NS</sup>	-								
sd2-1	0.740	0.321	0.625	0.870	0.743	0.858	0.722	0.784	0.066 <sup>NS</sup>	0.012 <sup>NS</sup>	0.013 <sup>NS</sup>	-							
sd2-2	0.700	0.254	0.529	0.825	0.699	0.819	0.667	0.673	0.018 <sup>NS</sup>	0.001 <sup>NS</sup>	0.071 <sup>NS</sup>	0.129 <sup>NS</sup>	-						
pos1	0.742	0.320	0.566	0.860	0.738	0.853	0.724	0.682	0.108 <sup>NS</sup>	0.057 <sup>NS</sup>	0.062 <sup>NS</sup>	0.086 <sup>NS</sup>	0.110 <sup>NS</sup>	-					
pos3	0.723	0.231	0.445	0.868	0.715	0.855	0.760	0.637	0.066 <sup>NS</sup>	0.137 <sup>NS</sup>	0.253	0.321	0.092 <sup>NS</sup>	0.141 <sup>NS</sup>	-				
sie3	0.859	0.604	0.755	0.939	0.862	0.925	0.857	0.886	0.505	0.580	0.678	0.711	0.601	0.714	0.672	-			
lou1	0.544	0.194	0.169	0.633	0.482	0.670	0.678	0.121 <sup>NS</sup>	0.465	0.521	0.534	0.540	0.477	0.450	0.395	0.713	-		
sel1	0.044 <sup>NS</sup>	0.257	0.593	0.155 <sup>NS</sup>	0.056 <sup>NS</sup>	0.170	0.664	0.743	0.478	0.585	0.644	0.623	0.580	0.634	0.605	0.794	0.492	-	
sel2	0.529	0.182	0.458	0.669	0.506	0.688	0.463	0.644	0.192	0.328	0.381	0.367	0.362	0.391	0.340	0.646	0.458	0.342	-
sel3	0.620	0.221	0.444	0.746	0.595	0.756	0.528	0.634	0.210	0.354	0.401	0.398	0.393	0.406	0.350	0.661	0.477	0.460	0.048 <sup>NS</sup>



## 2.3-La CBB ailleurs : Cas du Nigeria et du Cameroun

### 2.3.1-Contexte

La bactériose vasculaire du manioc (CBB) causé par l'agent bactérien *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* est une des maladies les plus dommageables sur la culture du manioc. Afin de pouvoir contrôler de telle maladie, une connaissance de la situation épidémiologique grâce à une surveillance épidémiologique en amont dans une zone de production donnée est une des meilleures pistes de contrôle. L'enquête sur terrain est une des étapes clés du diagnostic phytosanitaire donc de la surveillance épidémiologique.

Compte tenu de l'importance de la culture du manioc en termes de production et de consommation au Nigeria (premier producteur mondial) et au Cameroun, et surtout des opportunités de collaboration avec l'IITA à travers ses antennes d'Ibadan (Nigeria) et de Yaoundé (Cameroun) nous avons envisagé dans ces deux pays une étude de la CBB marquée par une phase d'enquête sur terrain suivi de l'exploitation des données (statistiques et moléculaires) afin de connaître la situation actuelle de cette maladie dans les zones de productions de ces deux pays.

C'est ainsi que nous nous sommes déployés pour étudier la problématique de la diversité génétique des populations de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) à l'échelle du Nigeria, plus spécifiquement la diversité des populations de *Xpm* issues de trois régions (Ogun, Osun et Oyo) situées à l'Est du Nigeria. Ce travail dans le but ultime de mieux cibler et développer des résistances adaptées à l'échelle de la population et/ou de la localité mais aussi d'anticiper le risque potentiel d'émergence ou réémergence de souches plus virulentes.

Quant au Cameroun, le jeu de données recueilli nous aidera à une meilleure compréhension de la dynamique du pathogène dans la zone Afrique centrale.

### 2.3.2-Matériels et méthodes

#### 2.3.2.1-Approches déployées au Nigeria

-Collecte des échantillons : L'échantillonnage a été effectué avec des collaborateurs de l'IITA durant le mois de novembre 2017 au niveau de parcelles expérimentales de l'IITA situées sur la localité d'Ikenné et d'autres zones de production des 03 régions d'étude à savoir Ogun, Osun et Oyo, toutes situées à l'Est du Nigeria (Figure 38). Dans chacune des régions, l'échantillonnage a été conduit de telle manière que chaque région puisse comporter au moins deux localités prospectées et pour chaque localité trois sites/champs ou parcelles sont prospectés de telles manières que 15 à 20 feuilles symptomatiques (Figure 40) puissent être collectées. Les feuilles sont ensuite conservées dans des enveloppes de papier afin de les laisser sécher. Pour chaque prélèvement, ont été notés les coordonnées GPS de la parcelle, la date de collecte, le nom de la variété de manioc et le code d'identification.

-Isolement de *Xpm*: L'isolement des souches de *Xpm* à partir de feuilles symptomatiques de manioc est effectué en se fondant sur la technique décrite par Verdier et al. (1998) décrite en annexe 3

-Caractérisation des souches de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* provenant du Nigeria et du Cameroun par (i) validation de l'identité des isolats grâce à une approche de diagnostic moléculaire (PCR Duplex) et (ii) Tests de pathogénicité sur des plants sains de manioc. Voir l'annexe 3.

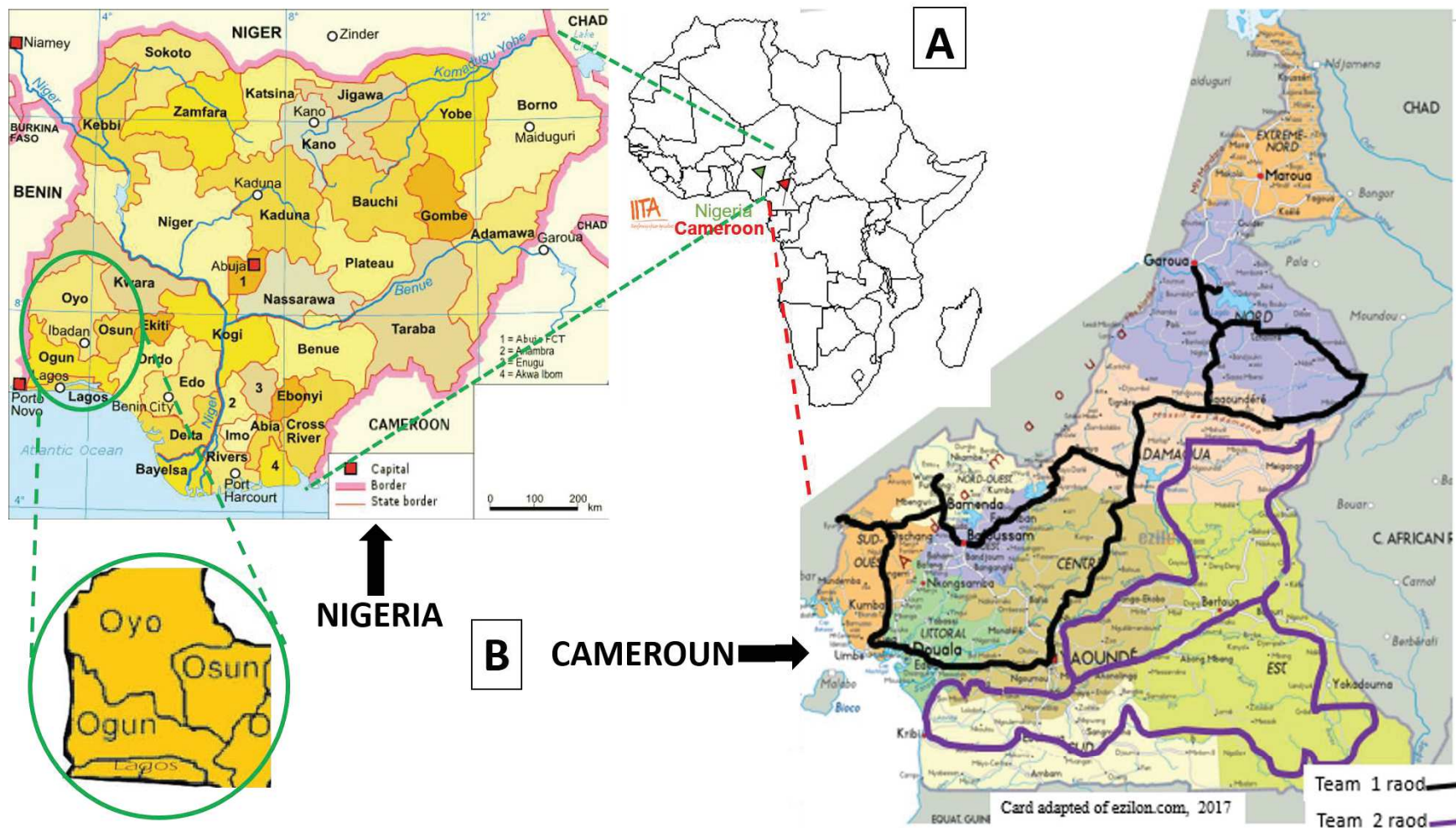


Figure 38 : Cartographie des zones d'étude Nigeria et Cameroun (Cartes Adaptées de Ezilon.com, 2017)

En A) la situation géographique des deux pays Nigeria et Cameroun en Afrique et en B) la carte du Nigeria à gauche avec un focus sur les trois régions d'étude Oyo, Osun et Ogun et à gauche la carte du Cameroun avec les itinéraires de l'équipe 1 (circuit en noir) et de l'équipe 2 (circuit en maron).

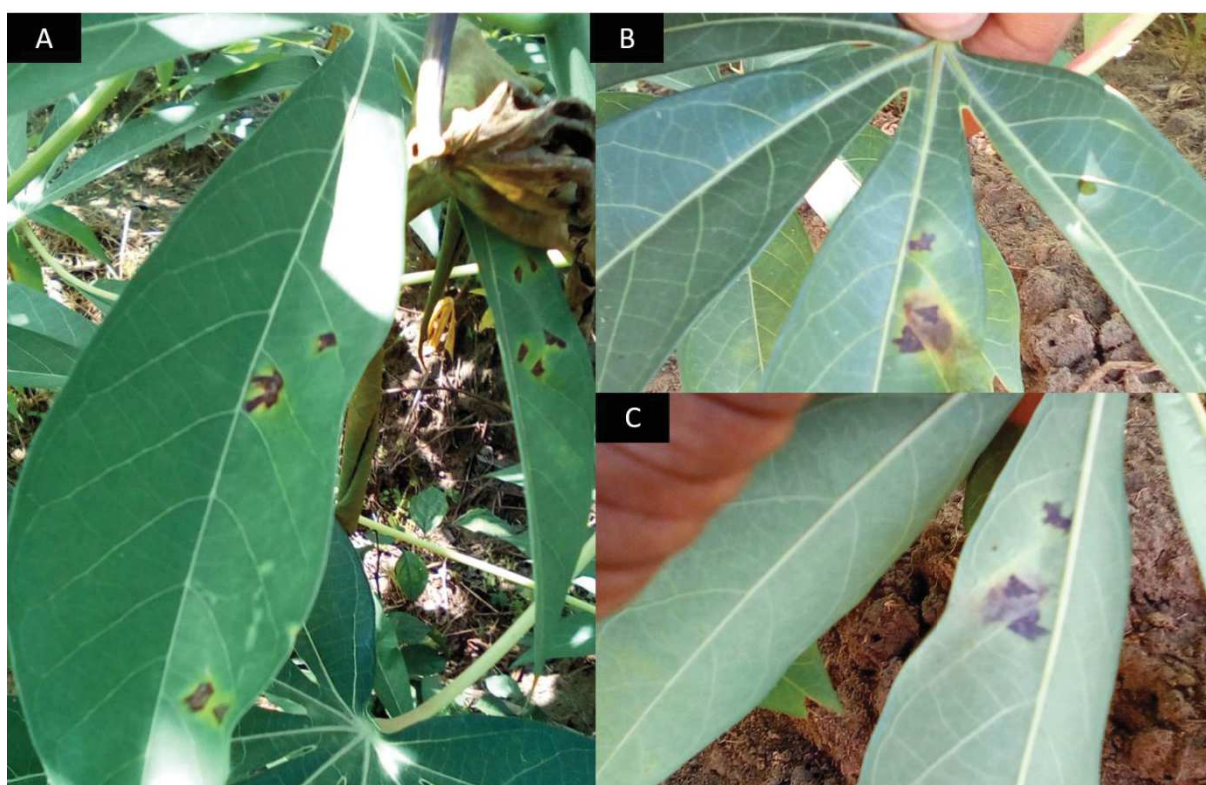
- Caractérisation de la diversité des populations bactériennes de *Xpm* via l'analyse d'un échantillon de 64 souches collectées dans les trois régions du Nigéria suivantes (Osun avec les localités d'Olupouna et d'Ago-Owu), (Oyo avec les localités d'Ibadan et d'Ado-Awaye) ainsi que (Ogun avec les localités d'Ikenné et d'Abeokuta). Pour se faire nous avons procéder à un : (i) Typage moléculaire grâce à la méthode MLVA basé sur l'étude du polymorphisme de 14 loci VNTR. Et (ii) Calculs des paramètres populationnels à l'aide de plusieurs logiciels d'analyse de données de géotypage des populations.

### **2.3.2.2-Déroulement et principe des collectes d'échantillon au Cameroun**

Deux équipe d'enquête ont été formées et instruites pour enquêter dans les champs de manioc des différentes zones de productions du manioc dans les neuf régions productrices du pays. L'équipe 1 (Figure 39) à laquelle j'appartenais a suivi un trajet (Figures 38, B) et Donnée Supplémentaire 3) qui lui a permis de couvrir 07 des 10 régions du pays à savoir dans l'ordre de parcours les régions Centre, Adamaoua, Nord , Ouest , Nord-Ouest , Sud-Ouest et Littoral. L'équipe 2 a suivi un tracé qui permettait de quadriller l'ensemble des zones de productions, toute chose qui l'a emmené à parcourir en plus de certaines zones de régions précédemment cités, les zones de productions des 02 autres régions restantes l'Est et le Sud. Une enquête (prévalence, fréquences, incidence, sévérité) sur les bioagresseurs (maladies et ravageurs) du manioc et plus spécifiquement la bactériose vasculaire du manioc CBB a été l'objet de notre travail. Cela à consister à diagnostiquer chaque champ de manioc trouvé à tous les 20 km le long de notre trajet. Une observation visuelle de 100 plants à l'hectare au niveau desquels était noté des informations , données en lien avec des paramètres comme le rattachement administratif (localité , arrondissement, région), la localisation géographique (longitude, latitude, altitude), la prévalence (proportion d'unité de production, le nombre de champ dans notre cas, dans laquelle la maladie est trouvée), l'incidence (la proportion ou le pourcentage de plants présentant les symptômes de la maladie par rapport au nombre total de plants d'une parcelle), la sévérité (pour décrire l'intensité de l'expression des symptômes ou encore la surface ou le volume de tissus malade de la plante. Ici elle est notée sur une échelle de 0-5 (0=Pas de symptômes ; 1= uniquement des lésions angulaire sur feuille; 2= étendu à des brûlure sur feuille; 3= flétrissement des feuille, défoliation et exsudation de sève (gommose) sur tige et pétioles ; 4= défoliation et dépérissement de la tige; 5= défoliation complète and dépérissement de l'extrémité de la tige (des pousses)), les variables agronomiques (Age, taille, type de sol) et les niveaux d'échange de boutures. Les données, informations obtenus sur terrain ont été rapportés sur une fiche conçue pour l'occasion (annexe 2).



**Figure 39:** Photographie de l'équipe 1 de collecte avec Moussa KANTE au Centre et 02 agents de l'IITA de Yaoundé (Cameroun).



**Figure 40 :** Feuilles aperçues sur terrain au Cameroun, avec symptômes de CBB(A), face supérieure (B) et face inférieure (C)

### 2.3.3-Résultats et discussions

#### 2.3.3.1-Au Nigeria:

Les données ici présentées sont issues de l'enquête des parcelles de manioc observées dans 03 régions de production du pays (Oyo-Ogun-Osun), de l'analyse de certaines souches issues de ces parcelles.

##### a) Situation de la CBB

L'emploi de la PCR duplexe (dite aussi multiplex) reposant sur l'amplification de deux fragments de gènes spécifiques de *Xpm* (Bernal *et al.*, 2018), nous a permis d'identifier avec succès près de 106 souches *Xpm*. Parmi les faux positifs, 17 souches ont été inoculées sur une variété de manioc sensible. Comme attendu, aucune n'ont conduit au développement des symptômes de la maladie, contrairement à la souche de référence CIO151 utilisée comme contrôle positif (données non montrées).

Suite à cette première série d'analyses, nous sommes donc en mesure de confirmer la présence de la CBB au Nigéria et plus particulièrement dans les 03 régions d'étude à savoir Ogun, Osun et Oyo. Ainsi dans la partie suivante, nous allons à présent étudier la diversité des populations de *Xpm* au Nigéria en utilisant une approche moléculaire de type MLVA.

##### b) Diversité des populations de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* issues des trois régions d'étude:

La diversité des populations de *Xpm* à l'échelle des trois régions vise une extrapolation à l'échelle nationale pour comprendre la structuration de la diversité des *Xpm* du Nigeria.

Nos résultats dévoilent au total 30 haplotypes qui ont pu être identifiés dans notre collection de 64 souches. Aussi pour les indices permettant de caractériser les échantillons, l'ensemble des résultats concernant les calculs d'indices de pouvoir discriminant (nombre d'allèles dans un échantillon :  $N_a$ ), de diversité ( $u_{He}$ ) et de différenciation ( $G_{st}$ ) sont résumés dans les Tableaux 29, 30,31 et la Figure 41. Pour rappel le pouvoir discriminant permet de caractériser les marqueurs et d'évaluer s'ils sont adaptés à notre échantillon et aux questions de recherche, car on se base sur l'étude du nombre d'allèles révélant une diversité plus ou moins forte, l'indice de diversité permet quant à lui de caractériser les populations individuellement c'est-à-dire représenter si une population est très homogène (peu d'haplotypes différents, en fréquences hypervariables) ou très diverse (beaucoup d'allèles variables, en fréquences plutôt équitables). Enfin l'indice de différenciation permet de comparer des populations deux à deux ou pour une région entière. Il se base sur des tirages aléatoires pour vérifier statistiquement si deux échantillons sont similaires ou pas. Deux échantillons peu différenciés sont considérés comme une même population et sont soit issus d'un même fondateur, soit échangent beaucoup d'individus. Deux échantillons fortement différenciés n'ont aucun lien génétique entre eux et sont en général issus de deux populations différentes. D'après les résultats, les indices de différenciation ( $G_{st}$ ) indiquent que toutes les populations sont différentes deux à deux ce qui pourrait s'expliquer par leurs positionnements géographiques plus ou moins proches (Figure 38).

Cependant afin de confirmer nos propos, on construit un réseau d'haplotype nous permettant de structurer, de visualiser et d'émettre des hypothèses épidémiologiques en ce qui concerne la diversité des populations de *Xpm* au niveau du Nigéria.

**Tableau 29:** Souches *Xpm* validées issues des 03 régions d'étude du Nigeria

Régions	Osun		Ogun		Oyo	
Localités	Ago-Owu	Oluponna	Ikenné	Abeokuta-Funab	Eleré Akiro Village	IITA_Ibadan Fields
Nombre d'isolat candidat	31	27	26	16	28	19
Nombre de souches <i>Xpm</i>	18	16	16	16	14	15
Total <i>Xpm</i> /région	34		32		29	
Total global souches <i>Xpm</i> /analyse MLVA					95	

**Tableau 30 :** Pouvoir discriminant de plusieurs loci VNTR du schéma 14-MLVA

Locus	Na	uHe
VNTR-37	6,0	0,777
VNTR-8	6,0	0,761
VNTR-15	7,0	0,727
VNTR-18	3,0	0,559
VNTR-21	5,0	0,413
VNTR-31	5,0	0,711
VNTR-35	8,0	0,785
VNTR-6	3,0	0,174
VNTR-7	7,0	0,736
VNTR-38	4,0	0,472
VNTR-19	5,0	0,456
VNTR-25	8,0	0,802
VNTR-27	7,0	0,801
VNTR-30	4,0	0,473
Total	5,57	0,618

En gris, valeur minimale et maximale de Na et uHe

**Tableau 31 :** Comparaison de la différenciation génétique entre les régions estimée par l'indicateur  $G_{st}/F_{st}$ , leurs P-Values

Populations	$G_{st}$	Pvalue $G_{st}$
Nigeria	0,186	0,001
Osun-Ogun	0,205	0,001
Osun-Oyo	0,094	0,001
Ogun-Oyo	0,143	0,001

Dans ce réseau chaque haplotype est représenté par des cercles de différentes tailles suivant le nombre d'individus le composant et les localités sont représentées par les différentes couleurs (Figure 42). Dans cette figure les haplotypes différant entre eux par un seul locus (Single locus Variant SLV en anglais) forment un complexe clonal (entouré d'un cercle). On compte 3 complexes clonaux contenant entre 3 et 5 individus pouvant avoir la même origine géographique ou une origine différente, en revanche les autres haplotypes ne sont pas reliés à un proche parent, car ils présentent entre eux de nombreuses variations de locus (allèles). On peut remarquer que la diversité dans la région d'Ogun est peu structurée (alors que c'est la moins diverse), car on retrouve des individus dans plusieurs complexes clonaux, ce qui pourrait signifier que la région d'Ogun soit à l'origine de la dispersion de la maladie au sein des autres régions, car on sait que dans localité d'Ikenné se trouve le centre des ressources génétiques. On suppose donc que la dispersion de la maladie se fait par l'introduction de matériel infecté notamment lors d'échanges de boutures. A l'inverse les populations de Oyo et Osun sont plus diverses et mieux structurées. Grâce à notre réseau d'haplotype, nous avons pu caractériser la diversité des populations de *Xpm* ceci dit il faudra confirmer l'origine et les moyens de dispersions de la maladie en effectuant un échantillonnage plus ciblé.

A l'aide d'un schéma MLVA (basé sur 14 marqueurs VNTR), nous avons donc pu mettre en évidence la diversité génétique des populations de *Xpm* au Nigéria. Ces 14 marqueurs sont capables de différencier chacun 3 à 8 haplotypes au sein des populations que nous étudions, ce qui est un bon pouvoir discriminant, d'autant plus que les combinaisons d'allèles des 14 marqueurs permet de différencier 30 haplotypes pour 64 souches. La caractérisation des populations se fait sur la base des indicateurs (Na), (uHe) et (Gst). Cela nous a permis de montrer que la région d'Oyo était plus diversifiée que les autres régions et quasiment aussi diversifiée que l'ensemble du Nigéria. Une hypothèse expliquant ce résultat serait que la présence de la maladie pourrait être plus ancienne au niveau de cette région et/ou qu'il existe beaucoup d'échanges de matériel végétal contaminé entre cette région et d'autres régions. À l'inverse la région d'Ogun est peu diversifiée, ce qui n'était pas attendu, car il s'agit d'une région où se trouve un centre de ressources biologiques (avec une grande diversité de variétés de manioc), ce qui suggère qu'il n'y a eu qu'une ou peu d'introductions et que les populations actuelles descendent de quelques fondateurs. Ce résultat est inhabituel, car le plus souvent les centres de multiplication végétale disséminent (et reçoivent) également les populations d'agents pathogènes lorsque des méthodes de quarantaine et de diagnostic fiables ne sont pas disponibles. Ici la diversité est faible, mais on peut voir dans le réseau haplotypique des souches de la région d'Ogun (en particulier d'Ikenné, le centre de ressources biologiques, en noir sur le réseau) que celles-ci se retrouvent à divers endroits du réseau, ce que l'on peut mettre quand même en relation avec une distribution d'inoculum en provenance de cette région vers les autres régions du Nigéria. En ce qui concerne la différenciation, on remarque que les régions sont plus ou moins différenciées entre elles. Pour les régions peu différenciées, on suggère un transfert de matériel contaminé comme les boutures du fait de la proximité des régions. Pour les régions différenciées, on suppose la présence de populations différentes, car les régions sont éloignées géographiquement. On constate aussi grâce au réseau d'haplotypes que la diversité est structurée, car on peut mettre en évidence 3 complexes clonaux corrélés à l'origine géographique des souches, avec quelques exceptions comme le cas d'Ikenné décrit ci-dessus.



Cependant les populations provenant de certaines localités sont peu structurées et on retrouve leurs haplotypes dans plusieurs branches du réseau.

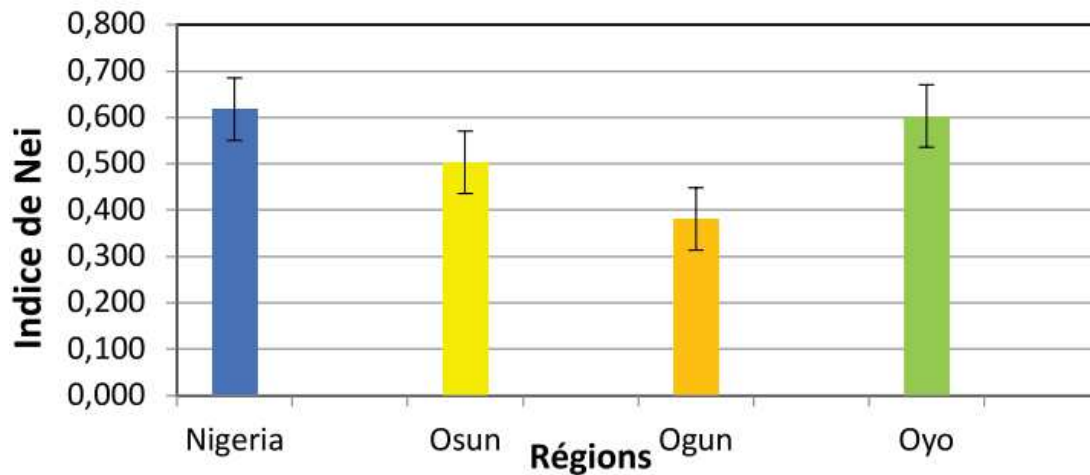


Figure 41 : Représentation de la caractérisation de la diversité des populations de *Xpm*

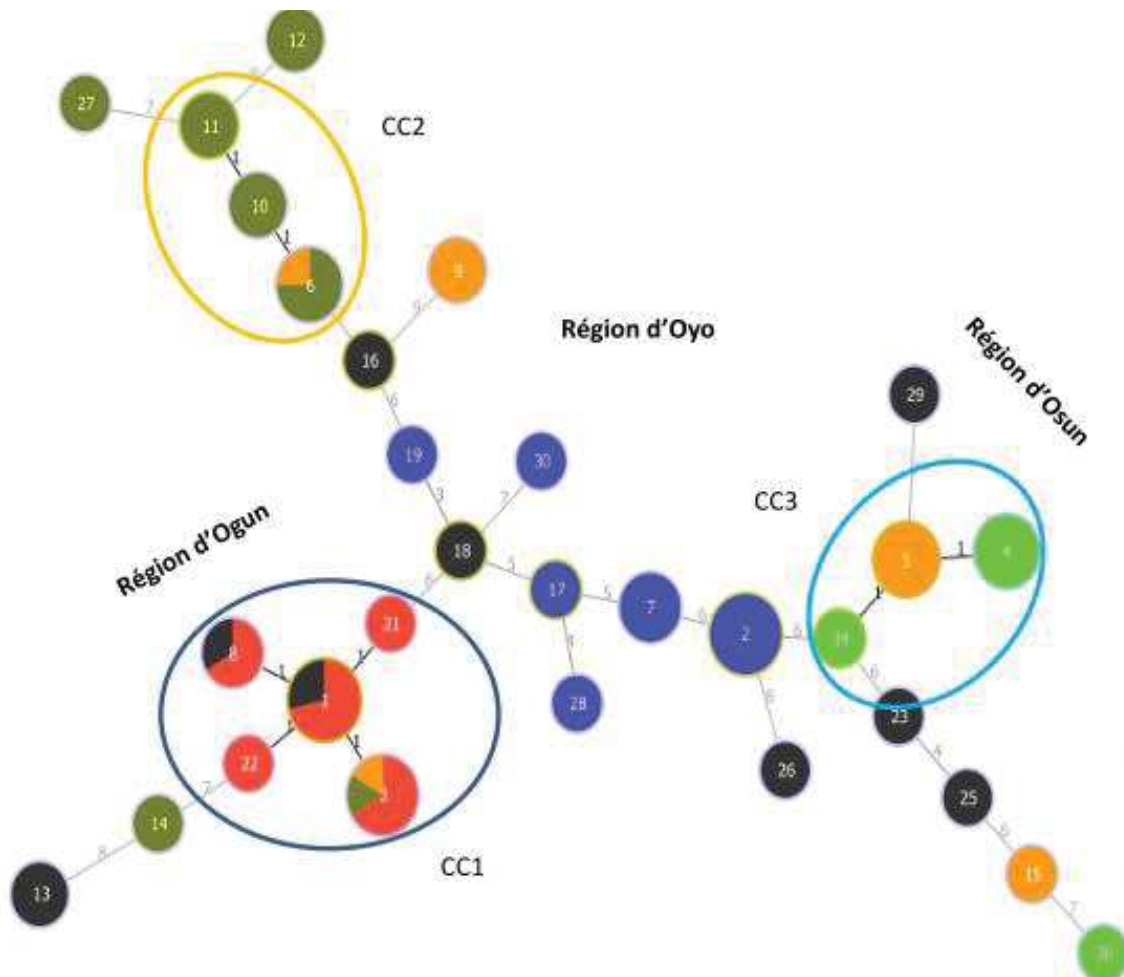


Figure 42 : Réseau de descendance des haplotypes du Nigéria

Réseau d'haplotypes des populations du Nigéria avec les trois régions que nous avons étudiées. Les trois cercles représentent les trois complexes clonaux et les petits cercles de couleur représentent les différents haplotypes. La taille des cercles est proportionnelle au nombre de souches partageant l'haplotype représenté.

### **2.3.3.2. Au Cameroun :**

Les échantillons prélevés et les informations collectées dans les régions prospectées dans ce pays d'Afrique centrale (Figure 38, A), nous ont permis de générer les résultats ci-dessous dans l'optique d'une meilleure connaissance de la CBB au Cameroun.

#### **a) Situation de la CBB**

Dans l'ensemble des 09 régions sujettes à ce travail d'enquête, il a été constaté partout la prévalence de la CBB par la présence de symptômes caractéristique à savoir les taches angulaires à la surface de feuilles, des exsudats bactérien à la face inférieure (Figure 40).

La fréquence de prévalence de la CBB toutefois était très variable d'une région à une autre (Tableau 32). C'est ainsi que nous avons observé la plus forte fréquence de la CBB dans la région du nord avec une prévalence de 75% (6 des 8 champs observés) suivi de la région de l'Adamaoua avec 60% de fréquence tandis que la plus faible fréquence a été constaté dans la région Ouest avec 1 des 4 champs observés soit 25% de prévalences dans cette région. Pour l'ensemble des observés (56 champs), la fréquence de prévalence de la CBB a été de 43%.

Quant à l'incidence de la maladie elle était généralement faible, le plus souvent inférieur à 20% de la totalité des plants du champ. Toutefois il a été constaté de forte très forte incidence de la CBB ( $I_{CBB} > 40\%$  des plants du champ) dans quelques champs comme à Wum dans le nord-Ouest et à l'Ouest sur une des variétés en essai à la station de l'IRAD de Foumbot.

Quant à la sévérité de la maladie, elle était généralement moyenne à modérée, variant de l'indice 1 à 3 sur une échelle de 0 à 5 dans la quasi-totalité des champs présentant des symptômes suspects de la maladie. C'est dans la région de l'Adamaoua que nous avons constaté les plus fortes sévérités.

#### **b) Situation au niveau des essais de l'IITA visités**

Au cours de notre enquête, les observations pour diagnostiquer la situation de la CCB dans 03 stations de l'IRAD portant les essais de l'IITA et un site de multiplication de variété améliorées de manioc (Tableau 33) nous a permis de constater que la CBB était très faiblement présente sur les variétés en cultures dans ces parcelles.

C'est ainsi que les essais au niveau des stations IRAD de Bambui (Tubah-Bamenda, région du Nord-Ouest), Ekono (Buea, région du Sud-Ouest) ne présentaient aucune plantes atteintes de CBB, tandis que les rares cas de CBB ont été constaté dans la station de Foumbot (Foumbot, région de l'Ouest), ou 4 variétés ( ) sur les 18 présentaient des pieds atteints. Aussi dans la localité de Ngok-Maboub (Libel-Ligoi, région du Centre), le site de multiplication de variété amélioré présentait des symptômes de CBB.

#### **c) Confirmation de la prévalence de la CBB au Cameroun**

La campagne de 02 semaines d'enquête sur la CBB dans des parcelles paysannes et dans quelques essais en stations expérimentales de 09 des 10 régions du pays du Cameroun, nous a permis de faire un diagnostic national sur la prévalence de cette maladie.

**Tableau 32** : Situation globale de la CBB constatée suite à notre échantillonnage

N°	Régions	N champs enquêtés	Fields avec CBB	Champs sans CBB	% CBB	N de souches
1	Nord	8	6	2	75,00	2
2	Adamaoua	10	6	4	60,00	2
3	Centre	9	4	5	44,44	
4	Ouest	4	1	3	25,00	4
5	Nord-Ouest	9	2	7	22,22	2
6	Sud-Ouest	10	3	7	30,00	1
7	Littoral	6	2	4	33,33	0
8	Est	NI	7	NI		1
9	Sud	NI	14	NI		0
<b>Total</b>	9/10	>57	47	≥32		12

NI=Non Indiqué

**Tableau 33** : Indicateurs de la CBB déterminés au niveau des parcelles expérimentales <sup>(a)</sup>et sites de multiplication<sup>(b)</sup>

Date (2017)	Localisation			Aires (Ha)	Var. avec CBB	Inc. Sev. CBB	Cordonnées GPS		
	Sites/ Localités	communes	Régions				N	E	H(m)
26/11	Foumbot IRAD <sup>(a)</sup>	FOUMBOT	Ouest	0,5*	4/18	2	05.48 195°	010.55 587°	1017
27/11	Bambui IRAD <sup>(a)</sup>	TUBAH- BAMENDA	Nord-Ouest	0,5	0/18	0	06.04 228°	010.21 923°	1232
01/12	Ekono- IRAD <sup>(a)</sup>	EKONA- BUEA	Sud-Ouest	0,5	0/18	0	04.20 892	009.32 256°	453
04/12	LIBEL- LIGOI <sup>(b)</sup>	NGOK- MABOUBI	Centre	2	1/2	1	03.89 862°	010.91 494°	373

(a) indique les parcelles en station de recherche ; (b) indique les sites de multiplications en champ.

Nous avons identifiés et collectés dans chacune des régions enquêtées des symptômes caractéristiques de la CBB sur plants de manioc en culture. L'incidence de la maladie est relativement faible, certainement du faite de la pratique de manioc à avec plusieurs variétés dans un même champ (2 à 4 en moyenne par champs)

Les travaux de diagnostic moléculaire nous ont permis de confirmer cette indication de prévalence à l'échelle nationale de la CBB. En effet nous avons pu isoler 12 souches issues de sept (07) régions (Tableau 34).

**Tableau 34** : Renseignements géographiques des 12 souches *Xpm* du Cameroun issue des collectes de 2017 et en conservation à l'IRD de Montpellier depuis 2018.

N°	Code/ID souches	Région	Commune	Localités	Superficie /parcelles (ha)	Coordonnées GPS	
						Nord	Est
1	CA12F2	Adamaoua	TIBATI	Mafo zaoroatikou	0,5	06.80 060°	012.68 069°
2	CA16F2	Adamaoua	MBE	KARNA MANGA	1,5	07.78 953°	013.55 219°
3	CA24F1	Nord	NGONG	DJEFATO	0,25	09.16 402°	013.50 103°
4	CA30F3	Nord	TOUBORO	MBEING	1	07.87 962°	014.89 424°
5	CA36F1	Ouest	FOUMBOT	Station IRAD-Poste de Foumbot	0,5	05.48 195°	010.55 587°
6	CA37	Ouest	FOUMBOT	Station IRAD-Poste de Foumbot	0,5	05.48 195°	010.55 587°
7	CA38F2	Ouest	FOUMBOT	Station IRAD-Poste de Foumbot	0,5	05.48 195°	010.55 587°
8	CA39F3	Ouest	FOUMBOT	Station IRAD-Poste de Foumbot	0,5	05.48 195°	010.55 587°
9	CA41F4	Nord-Ouest	WUM	WUM sortie Ouest	1	06.44.692°	010.09 849°
10	CA42F1	Nord-Ouest	WUM	WUM sortie Ouest	1	06.44.692°	010.09 849°
11	CA46F2	Sud-Ouest	EKOCK	BAKWELLE	0,5	05.69 416°	009.20 300°
12	CA58F1	Est	ABONG-MBANG	ABONG-MBANG peripherie	1	03.99 287°	013.16 079°

### **2.3.4-Conclusions**

Ce travail nous a permis d'étudier la diversité des populations de *Xanthomonas phaseoli* pv. manihotis au niveau de plusieurs régions de l'Ouest du Nigéria et de confirmer la présence de la CBB au Nigéria dont les dernières études remontent à 2008 et sur un nombre très réduit d'échantillons (Ogunjobi et al., 2008). Dans cette étude, nous avons pu isoler les souches de *Xpm* issues de trois régions différentes et analysé la diversité génétique de six populations grâce à l'utilisation d'un outil de typage moléculaire MLVA-14. Cet outil s'est révélé comme étant un bon indicateur de la diversité au sein des populations Nigériennes de *Xpm* étudiées mettant en évidence le pouvoir discriminant des loci utilisés.

Au Cameroun, la présence de la CBB a été attestée par la validation moléculaire de 12 souches issues de ce pays.

### **2.3.5-Implications personnelles**

J'ai été impliqué dans l'ensemble des activités qui ont abouties à ces résultats, entre autre la collecte des échantillons, les expériences en laboratoires (isolement, caractérisation moléculaire des souches), et la valorisation des résultats dans le manuscrit de thèse.

Il faut noter qu'une partie des résultats de cette section (travaux sur le Nigeria) ont également servi élaboré le rapport de stage DUT, d'un étudiant que j'ai co-encadrer en 2018, en coencurence Yassine MOUFID , de l'UIT de Bezier.

### **2.3.6-Perspectives**

Les souches issues de ces deux pays (Nigeria et Cameroun) rentreront dans un ensemble de souches africaines pour les y appliquer une analyse inter-pays, pour voir l'évolution, la dynamique des populations *Xpm* en fonction des zones de production. Ce travail sera facilité par la disponibilité de souches d'autres pays africain, déjà en conservation à l'IRD de Montpellier.

### **2.3.7-Données supplémentaires(DS) :**

**DS1:** Localités avec champs enquêtés avec chronologies détaillant les localités enquêtées par l'équipe 1

Jours	Date	Localités-sites de collecte/Arrondissements/[Code du region d'appaterm
1	17/11/2017	<b>MINKAMA(OBALA[A])</b>
2	18/11/2017	<b>EZEZAN(MONATELE) [A]-BETAMBA(NTUI)[A]-BETAMBA(NTUI)[A]-YALONGO(NTUI) [A] - NDOGAN_YASSEM(YOKO) [A]</b>
3	19/11/2017	<b>MANKIM(YOKO) [A]-NDIYENE(YOKO) [A]-LENA(YOKO) [A]</b>
4	20/11/2017	<b>MEDJAMBA(TIBATI) [B]-MAFO ZAOROATIKOU(TIBATI) [B]</b>
5	21/11/2017	<b>SABA-Barriere(NGAOUNDERE) [B]-KARNA MANGA(MBE) [B]-BANDOURI(LAKDO) [C]</b>
6	22/11/2017	<b>VALLE bord BENOUE(GAROUA) [C]-DJEFATO(NGONG) [C]-WAFANGO(TIOLLORI) [C]</b>
7	23/11/2017	<b>MAROUN(MAYORY) [C]-MBEING(TOUBORO) [C]-TOUBORO PEAGE(TOUBORO) [C]-MANBERE(TOUBORO) [C]</b>
8	24/11/2017	<b>DJABE-FOULBE(MARTAP) [B]</b>
9	25/11/2017	<b>SALASA(TIBATI) [B]-KAHABAM(BANGNO) [B]-BON-MARCHE(BANGNO) [B]</b>
10	26/11/2017	<b>MBANDO(A BANKIM) [B]-NGOUNSO(MAGBA) [D]-NKOSSAM(NJIMOM-FOUMBAN) [D]-Station IRAD-Poste de contrôle Foubot(FOUMBOT) [D]</b>
11	27/11/2017	<b>BAMEKOUMBO(BAFOUSSAM) [D]-MEFEBE(SANTA) [E]-BAMBUI IRAD Station-Bamenda(TUBAH-BAMENDA) [E]</b>
12	28/11/2017	<b>BAINGO(BELO) [E]-BOJI(/No determined ) [E]-NTOM-KUK(WUM) [E]-WUM sortie Ouest(WUM) [E]</b>
13	29/11/2017	<b>BALINYONGA(Mile 87)(BAMENDA) [E]-NGYEM-MUWAH(MOGHAM) [E]-WIDIKUM extension road (WIDIKUM)- [E]BAKWELLE(EKOCK) [F]- EYUMOJOCK (EYUMOJOCK) [F]</b>
14	30/11/2017	<b>BAKEBE(MANU) [F]-NGUTTI extrension (NGUTTI) [F]-BABENSI II(NGUTTI) [F]-KWEME-BONGUE(KOGNYE) [F]- MABONDJI(KUMBA) [F]</b>
15	01/12/2017	<b>BANGA-BAKUNDU(/No determined) [F]-Station IRAD-Ekono BUEA(EKONA-BUEA) [F]-BASSA(BEKOKO) [G]-PK 24(DOUALA) [G]</b>
16	02/12/2017	<b>BONEPOUPA(DIBANBA) [G]-KOPONGO(EDEA) [G]-NDOKOK-LOGBAMAL(POUMA) [G]-NGWEI(POUMA) [G]</b>
17	03/12/2017	<b>LIBEL-LIGOI(NGOK-MABOUBI)[A]</b>

Differentes regions prospectées par l'équipe 1\*: [A]= Centre ; [B]= Adamaoua ; [C]=Nord ; [D]=Ouest ; [E]=Nord-Ouest ; [F]=Sud-Ouest ; [G]=Littoral ; Equipe 1\* : équipe de collecte dont j'étais membre



**DS2:Informations sur la collecte des echantillons au Nigeria**

	Localités	Code	Region /Etats	Nb champs	Nb Parcelles	Surface (Ha)	Nb Feuilles sympt.	Nb Souches Xpm Candidates
1	Ago-Owu	Nixam2-1_1	Osun	2	3	3,5	14	
2	Oluponna	Nixam2-3-1	Osun	3	6	1,5	7	
3	Agoora village	Nixam2-2-1-1	Osun	2	3	1,5	13	
4	Abeokuta-FUNAB (Federal University of Agriculture of Abeokuta)	Nixam 3-1-1	Ogun	2	4	3	72	
5	Kobape_OBA Road off Abeokuta Sagamu Express way	Nixam 3-5-1	Ogun	1	1	4	3	
6	IKENNE (station-IITA et farmers)	Nixam 3-3-1_5	Ogun	14	34	7	222	
7	Ido(Akinsola Village et Eléré)	Nixam 1-1-1_1	Oyo	6	13	8	67	
8	PSALTRY FARM (Alayide-wassimi) _Ado Awaye Village	Nixam 1-3_1_X	Oyo	1	8	4	52	
9	IITA_Ibadan_Field	Nixam 1-4_1_1	Oyo	5	11	11	65	
Total	9		3	36	83	43,5	515	229

**DS3** : Plan de la plaque soumis à l'analyse MLVA des souches de 03 regions d'étude

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A102	A-107-1-R	A207	AL204	B203(2)	B211-1	B411	B416	P2C3-1	P2D6-2 (ou P2D7-1)	C307	C305
B	A103	A-107-3-R	A214	Aa202-1(1)	B211-1(2)	B211-3	B408(2)*	B417	P2C3-2	P2D1-2	C310	C318
C	<b>A106-1-R</b>	A-107-2-R (A107-2-R)	A205	A-203-2(1)	B205-1	B213	B409	B418(2)*	P2D2-1	P1B1-4	C314	XXXXX
D	A105	A111	A204	A-203-2(2)	B206-1	B216	B411	B419	P2D2-2	C302	C314(2)	XXXXX
E	A-105-5-R	A113	A203-7-R	Aa203-1(1)	B207	B217-2	B412	P2C1-2	P2D3-1 bis	C303	C315	XXXXX
F	A-106-2-R	A115	A213	Aa203-1(2)	B207-1	B403	B413	P2C1-3	P2D3-1	C301	C316	XXXXX
G	A-106-4-R	A117	A209	B201-2	B208-1	B404	B414	P2C1-4	P2D3-2	C311	C320	XXXXX
H	A-109	A203-6-R	AL207	B202-1	B211	B405*	B419(2)	P2C2-1	P2D4-2	C309	C316-1	XXXXX

Populations	Regions	Sites/Localités	Code (de xxx à yyy)	Effectifs sur plaques VNTR
Pop 1	Osun	Ago-Owu	A102-----A117	15
Pop 2	Osun	Oluponna	A203-6-R-----Aa203-1(2)	15
Pop 3	Ogun	Farmers Fiels Around-Station Ikenné	B201-2-----B217-2	15
Pop 4	Ogun	Abeokuta FUNAB 2	B403-----B419	15
Pop 5	Oyo	Psalty farm _Ado Awaye Village	P2C1-2-----P1B1-4	15
Pop 6	Oyo	IITA _Ibadan Fields	C302-----C318	15
6	3	6	/	90

---

## **Partie 3- Résistance de variétés maliennes de manioc à *Xpm* : Evaluation préliminaire de la résistance variétale des populations *Xpm* du Mali.**

---

### **3.1-Contexte**

Avant nos présents travaux, on ne connaissait pas l'aptitude à résister à la CBB des variétés de manioc les plus cultivées, plus populaires au Mali.

Dans l'optique de combler cette insuffisance, notre présent travail vise à répondre à la question suivante : Quelles sont les variétés de manioc qui offrent une meilleure tolérance-résistance à *Xpm* dans le contexte malien de production ? Pour se faire les objectifs assignés étaient de: (i) Recenser et collectionner les variétés de manioc cultivées localement (cultivars maliens) pour déterminer leur vraie identité, leur lien génétique ; (ii) Tester la résistance à la CBB des variétés locales et préconiser (vulgariser) les plus adaptées;

Les résultats de ce chapitre seront présentés sous forme d'articles.

### **3.2-Implications personnelles**

J'ai été impliqué dans l'ensemble des activités qui ont abouties à cet article, entre autre la collecte des boutures de manioc dans les zones de production, les expérimentations en laboratoires (préparation de l'inoculum) et serres (test de criblage variétal par les souches sélectionnées) et finalement la rédaction du manuscrit en collaboration des autres co-auteurs.

### **3.3-Valorisation : Publication**

### 3.3.1-Publications : Article (1<sup>er</sup> auteur) soumis au MSAS 2020

([http://msas.ml/bko2020/images/pdf/MSAS2020\\_Actes\\_Volume\\_1.pdf](http://msas.ml/bko2020/images/pdf/MSAS2020_Actes_Volume_1.pdf))

## **Le manioc au Mali: évaluation préliminaire de la résistance variétale à la bactériose vasculaire (CBB) causée par *Xanthomonas phaseoli* pv *manihotis*.**

Moussa KANTE<sup>1-4-5\*</sup>, Karim DAGNO<sup>2</sup>, Camilo E. LOPEZ-CARRASCAL<sup>3</sup>, Ousmane KOITA<sup>4</sup>, Boris SZUREK<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Université de Ségou, Faculté d'Agronomie et de Médecine Animale-FAMA, BP 24, Ségou, Mali.

<sup>2</sup>IER, Institut d'Economie Rurale, Programme Sorgho-Laboratoire de Phytopathologie, CRRRA de Sotuba, BP 258 Bamako, Mali.

<sup>3</sup>Université Nationale de Colombie - Siège de Bogotá - Faculté des sciences - Département de biologie - Groupe Manihot Biotec, Bogotá D.C., Colombie.

<sup>4</sup>LBMA, Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée de la Faculté des Sciences et Techniques de l'USTTB, BP 3206, Bamako, Mali.

<sup>5</sup>IRD, Institut de Recherche pour le Développement, IPME, UMR 186 IRD-Univ.Montpellier-Cirad, 911 avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier, France.

\* Adresse de correspondance: moussa4ml@yahoo.fr

**RESUME:** Le changement climatique avec son corollaire d'effets néfastes sur l'environnement et ses acteurs n'épargne pas les végétaux d'intérêt agronomique. Parmi les effets du changement climatique sur ces végétaux, l'un des plus néfastes est l'augmentation de leur sensibilité aux maladies dites phytoparasitaires. Dans ce contexte, pour une meilleure exploitation agronomique, des études d'évaluation de la résistance variétale identifiant les plus aptes à une pratique durable sont d'une importance capitale. C'est ainsi qu'une série de travaux de recherche sont menés un peu partout dans le monde sur des cultures d'importance comme le manioc (*Manihot esculenta*), culture connue pour sa grande résilience, sa plasticité (peu exigeante quant à la qualité des sols et aux conditions climatiques). Cependant au Mali les travaux sur la culture du manioc restent très limités, bien que des constatations fassent état d'un intérêt accru pour sa production avec une augmentation continue du nombre de producteur. En outre, les connaissances sur les caractéristiques agronomiques dont la résistance des variétés locales aux maladies sont quasi-inexistantes, d'où un grand risque face à des maladies impulsées par le changement climatique comme la bactériose vasculaire du manioc(CBB) confirmée en 2016 dans le pays. Dans l'optique de combler cette insuffisance, des prospections menées en fin 2016 et 2017 dans les zones de production de Mopti, Ségou, Sikasso, Koulikoro, Bamako et Kayes, ont permis de collecter des boutures d'une vingtaine de variétés locales (cultivars) qui ensuite testées durant une année sur parcelle expérimentale. Puis de sélectionner 09 d'entre elles qui offraient les meilleures caractéristiques agronomiques (rendement, résistance au stress hydrique, aux maladies) et organoleptiques. Ces cultivars ont été inoculés dans des conditions semi-contrôlées (serre avec température ambiante) avec des souches de la bactérie *Xpm* responsables de la CBB, qui précédemment avaient été isolées à partir d'échantillons issus des zones de production. Nos séries d'observation à 7, 15, 21 et 28 JAP (Jour après plantation), notées suivant l'échelle de 1 à 5 [1], générant des données analysées avec l'approche AUDPC (Area Under Disease Progress Curve (surface sous la courbe de progression de la maladie)) nous indiquent que ces variétés locales maliennes sont globalement sensibles à l'exception d'une seule variété, V14 appelée Sotuba R ou Bla qui est tolérante/modérément résistante ( $39 < \text{AUDPC} < 44\%$ ). Ces résultats actuels une fois consolidés et vulgarisés (promotion des meilleurs cultivars) peuvent permettre une pratique plus rentable et durable du manioc, une culture de base, bioénergétique, résiliente et donc d'avenir.

**Mots clés:** Manioc, résistance variétale, bactériose, changement climatique, Mali

## I. INTRODUCTION

Le manioc (*Manihot esculenta*) est une plante à tubercules présente tout au long de la ceinture inter-tropicale [2], source importante d'alimentation, elle est très appréciée pour sa facilité culturale, sa résilience au changement climatique et surtout comme une source non négligeable de revenu pour de nombreux petits producteurs [3]. En effet la culture de manioc n'implique pas l'acquisition d'intrants coûteux (engrais, etc..), de même les semences sont le plus souvent multipliées par voie végétative par le producteur agricole lui-même, à partir de ses propres pépinières. Par ailleurs, le manioc s'adapte à un large éventail de milieux en présentant une bonne tolérance au stress hydrique et à l'acidité des sols tout en générant des rendements satisfaisants même sur des terres pauvres et marginalisées, ce qui fait de lui une des cultures les plus adaptées au changement climatique [4]. Il est très prisé à travers ces produits finis comme l'Attiéké, le Gari, la semoule, ce qui fait qu'il représente la quatrième source de calories dans les pays tropicaux où plus de 700 millions de personnes en dépendent pour leur sécurité alimentaire [5]. Aussi même en cas de troubles civils, le manioc peut demeurer en terre sans surveillance et pourra être récolté ultérieurement sans connaître de réelles détériorations qualitatives. Il présente donc l'intérêt de rester disponible même après le déplacement temporaire d'un ménage [3]. L'importance du manioc pour la sécurité alimentaire dans ces régions productrices d'Afrique sub-saharienne comme la majeure partie des zones de production agricole au Mali tient à ses caractéristiques intrinsèques.

Situé au cœur de l'Afrique de l'Ouest, le Mali confronté à des crises socio-sécuritaires a récemment vu accroître de façon significative le nombre de ses producteurs et zones de production du

manioc [5]. Cet intérêt s'explique tout d'abord par le besoin de diversification des productions agricoles (jusque que là essentiellement céréalière) et aussi par les multiples avantages du manioc détaillés plus haut, surtout l'aspect résilience climatique très souhaité dans un contexte sahélien. En outre cet intérêt s'est manifesté par la mise en place de points-focaux au niveau des services techniques agricoles et surtout la création de la Comité Malien de Développement du Manioc-Comadem, démontrant à suffisance une réelle volonté de dynamiser ce secteur de production en pleine expansion dans le pays [6,7]. Toutefois, de nombreuses contraintes demeurent dans les zones de productions, comme la méconnaissance de la nature des problèmes phytosanitaires, qui par moment impactent très négativement la production de manioc. Parmi les ennemis du manioc, la maladie bactérienne dite bactériose vasculaire du manioc (CBB, Cassava Bacterial Blight en Anglais) causé par *Xanthomonas phaseoli* pv *manihotis* (Xpm) [8] a été identifié sur des échantillons provenant de zones de production du Mali [9].

En effet au Mali comme dans bon nombre de pays producteur, le manioc est menacé par la CBB [10] l'une des plus importantes bactérioses du manioc [11] avec par moment des effets très dommageable sur la production (13 à 100 % de réduction [12]. Cette maladie est essentiellement propagée par les boutures [12,13], la voie de multiplication du manioc la plus utilisée en Afrique et dans les autres régions de production [14]. Ce qui fait que le risque d'expansion de la maladie est amplifié, surtout par le contexte actuel de la mondialisation qui a considérablement accru les mouvements internationaux de végétaux et de produits végétaux par le biais des échanges commerciaux et des déplacements humains [15]. Cela a pour

conséquence, l'introduction d'agents pathogènes dans de nouvelles zones agricoles, d'où une augmentation des risques épidémiologiques à la fois en termes de fréquence et de variabilité des origines géographiques. En Afrique de l'Ouest, le Mali en tant que pays enclavé, ayant d'importants échanges avec ces pays voisins surtout avec deux d'entre eux, où récemment la CBB a été confirmée de façon moléculaire (Burkina Faso [16] et Cote d'Ivoire [17], a vu à son tour (Mali) la maladie être confirmée [18] toutefois sans grande connaissance sur ses populations *Xpm*.

La gestion durable de toutes maladies végétales est fortement liée à l'usage de variétés résistance [19]. En raison du long cycle de croissance et de la multiplication végétative du manioc, l'approche la plus appropriée pour lutter contre la CBB consiste à cultiver des cultivars résistants, en tant qu'élément d'un système de lutte intégré [20]. Des géotypes avec différents niveaux de tolérance à l'infection ont été signalés lors de travaux antérieures [21]. Aussi des études menées indiquent que la résistance des cultivars de manioc africains à la CBB est polygénique et héréditaire [22], car introgressé à partir de croisements interspécifiques avec l'espèce sauvage *Manihot glaziovii*. Un haut niveau de polymorphisme dans la diversité génétique et la résistance à la CBB a été observé parmi les géotypes de manioc. Jorge & Verdier (2002) [23] ont identifié six régions du génome du manioc contrôlant la résistance aux souches *Xpm*, confirmant le caractère polygénique de la résistance. Les mécanismes de défense du manioc contre *Xpm* ont été observés dans le système vasculaire des tiges de plants de manioc infectés, avec des réactions différentes comparant les cultivars sensibles et résistants [24]. De plus, une forte variabilité des réponses des plantes a été observée en comparant les géotypes de manioc après

inoculation artificielle de tiges et de feuilles dans des conditions contrôlées [25].

Compte tenu de tout ce qui précède, des actions afin d'amoinrir les obstacles au développement du manioc au Mali et surtout pour mieux entretenir les initiatives de développement de sa production, sont pertinentes. C'est ainsi que nous jugeons comme action stratégique dans un premier temps, de mieux encadrer ce secteur en le dotant des outils adéquats en termes de connaissance et de compétences technico-scientifiques sur sa production, afin de conseiller au mieux les producteurs pour une pratique durable et raisonnée. Dans un second temps il est opportun de doter les producteurs de matériel végétal sain apte à une production satisfaisante et durable, résiliente aux contraintes bio et abiotiques.

C'est dans cette optique que notre présent travail vise à répondre à la question suivante : Quelles sont les variétés de manioc qui offrent une meilleure tolérance-résistance à *Xpm* dans le contexte malien de production ? Pour se faire les objectifs assignés étaient de: (i) Recenser et collectionner les variétés de manioc cultivées localement (cultivars maliens) pour déterminer leur vraie identité, leur lien génétique ; (ii) Tester la résistance à la CBB des variétés locales et préconiser (vulgariser) les plus adaptées;

## II. MATERIELS ET METHODES

### 2.1 Matériel de plantation (variétés utilisées)

Les boutures utilisées (Tableau 1) sont issues d'une campagne de collecte dans les différentes zones agroécologiques (ZAE) de production de manioc au Mali. Elles ont permis de mettre en place une collection nationale de variétés de manioc cultivées (locales et améliorées), implantée en plein champ à la station du CRRA-Sotuba pour servir réserve pour les tests (agronomique, criblage variétale). Cette collection a servi pour constituer l'échantillon (16 cultivars)

soumis au génotypage. Aussi, c'est à partir d'elle qu'a été sélectionné une sous collection de huit variétés (ce nombre a été fonction de la logistique présente (serre, pot,...)), qui se comportait comme les plus

aptes sur le plan agronomique, alimentaire/organoleptique et surtout phytoparasitaire (résistance-tolérance).

Tableau 1 : Collection de manioc mise en essai à la station du CRRA-Sotuba

N°	Code	Appellations locales (ID)	Région d'origine	ZAE	Génotypage
1	V01	Ségou 1_poste (V3)	Ségou	3	Oui
2	V02	Farako 2 (Ampong)	Sikasso	4	Oui
3	V03	Loulouni (Bonoua)	Sikasso	4	Oui
4	V04	Farako locale	Sikasso	4	Oui
5	V05	Farako 1 (Ghana N1)	Sikasso	4	Oui
6	V06	Inconnu (Sika)	Sikasso	4	Oui
7	V07	Fanaka	Ségou	3	Oui
8	V08	Faux Billet	Mopti	2	Oui
9	V09	Ségou 2_poste(VG)	Ségou	3	Oui
10	V10	Farako 3 (Ghana N2)	Sikasso	4	Oui
11	V11	Dabokan	Ségou	3	Oui
12	V12	Sikasso	Sikasso	4	Oui
13	V13	Farako local 2	Sikasso	4	Oui
14	V14	Sotuba R (Bla)	Bamako	3	Oui
15	V15	Samanko locale	Koulikoro	3	Non
16	V16	Kita Moha	Kayes	3	Oui
17	V17	Kita 1	Kayes	3	Non
18	V18	Kita 2	Kayes	3	Oui
19	V19	Kita 3	Kayes	3	Non
20	V20	SG107	Colombie-France		Non

ZAE=Zone Agroécologique ; 2=ZAE Sahélienne ; 3=ZAE Soudanienne ; 4=ZAE Soudano-guinéenne

Tableau 2 : Différentes variétés sélectionnées pour les tests d'inoculation

Test 1		Test 2	
Code	Appellations locales	Code	Appellations locales
V12	Sikasso	V01	Ségou 1_Poste ou V3
V05	Farako1 ou Ghana N1	V02**	Farako2 ou Ampong**

V14	Sotuba R. ou Bla	V09**	Segou2-Poste ou VG**
V09**	Ségou 2-Poste ou VG **	V14	Sotuba R. ou Bla
V04	Farako locale	V15	Samanko locale
V02**	Farako 2 ou Ampong**	V20	SG107

\*\*Variétés présents dans les 02 tests

Les critères de choix de ces huit variétés sont entre autres: (i) le comportement morphologique dans la collection de germoplasme, (ii) la disponibilité d'un effectif permettant le test de criblage (screening); (iii) la popularité de la variété côté utilisation (qualité/appréciation organoleptique) par les populations des zones productrices.

## 2.2 Génotypage des cultivars maliens

Pour chaque variété sélectionnée, des échantillons de feuilles ont été prélevés dans la parcelle expérimentale et séchés avec du gel de silice dans un récipient et amenés au Centre bioscience de l'IITA à Ibadan (Nigeria) pour l'extraction d'ADN et le génotypage. Les marquages moléculaires (génotypage) ont été réalisées à l'aide de marqueurs SSR (Simple Sequence Repeat) (Tableau 3), au nombre de 24, qui sont connus pour être hautement polymorphes et ont un fort potentiel de discrimination entre les variétés étroitement apparentées, en particulier lorsque la méthode d'électrophorèse capillaire est utilisée pour l'analyse des fragments et la détermination des d'allèles.

## 2.3. Criblage/screening de cultivars maliens:

### 2.3.1. Dispositif experimental, plantation et observation:

Les variétés utilisées pour les tests de screening (Tableau 2) sont au nombre de 09 dont 08 cultivars locaux et améliorés parmi la collection malienne et d'un génotype résistant, la variété SG107 [54] originaire de la Colombie (Tableau 1), obtenue dans la

collection de l'IRD de Montpellier en France. Les boutures ont été plantées dans des pots en plastique contenant de la terre et placées dans une serre en condition semi-controlé (25 à 30°C et une humidité relative de 90%) au niveau du CRRRA-Sotuba de Janvier à Mars 2019 (test 1) et de Mai à Juillet 2019 (test 2). Chaque pot contenant une bouture était quotidiennement arrosé avec l'eau de robinet. Nous avons effectué deux tests qui pour des modalités pratiques liées à la logistique ne pouvaient contenir chacun que six génotypes de manioc. Chacun des six génotypes, était répété cinq fois (05 plants) et donc inoculé en groupe de 30 avec chacune des 03 souches. Les plants témoins ont été percés à l'aide de cure-dents stériles sans inoculum.

### 2.3.2. Inoculation des plantes

Trois souches hautement virulentes de *Xpm* ont été utilisées. Il s'agissait de S1=CIO151, la souche de référence originaire de la Colombie et de deux (02) du Mali, à savoir S2=SDK1-6 et S3=Ksa3-11. Ces souches ont été choisies, pour celles maliennes parce qu'elles sont parmi les plus représentatives de la diversité génétique des *Xpm* du Mali. Quant à la CIO 151, c'est une souche de référence puisque connue pour sa grande virulence et complètement séquencée.

L'inoculum s'obtient à partir du stock de conservation, ainsi les trois souches bactériennes sont préalablement cultivées pendant 48 h sur du milieu LPGA (Extrait de levure 5 g l<sup>-1</sup>, Peptone 5g l<sup>-1</sup>, Glucose 5 g l<sup>-1</sup>, Agar 15 g l<sup>-1</sup>) [23] puis dilué dans du MgCl<sub>2</sub> pour préparer un inoculum de 10<sup>6</sup> UFC / ml (DO<sub>600 nm</sub>: 0,002). Pour cela



ajouter 10 ul de la suspension bactérienne à 10 mL MgCl<sub>2</sub> (10 mM). Par la suite, des plantes vigoureuses de six semaines (un mois et demi) ont été inoculées au niveau de leur tige, à l'aide de cure-dent stérile imbibé d'inoculum de chacune des trois *Xpm* [27].

Pour précision la perforation a eu lieu entre le deuxième et la troisième feuille en comptant à partir du sommet.

Tableau 3 : Ensemble des marqueurs SSR utilisés pour le génotypage des 16 cultivars maliens, leurs groupes de liaison et leurs positions et séquences d'amorces.

SSR	Taille [26]	Position	Amorce gauche (avant 5' - 3')	Amorce droite (Reverse 5' - 3')
SSRY98	1	41,371	ACCAATCCAAGCTGCAAATC	GTGATTGGTAGTGGTGGCCT
NS166	1	92.179	ACAAAAGCAATCAGGCAAGC	TTGTGCACCATGAAACCAT
SSRY81	2	84,64	GGCGATTTCATGTGTCATGCTT	TGATTTCTGCGTGATGAGC
SSRY27	4	77.028	CCATGATTGTTAAGTGGCG	CCATTGGAGAAGTGGCAAC
SSRY12	5	79,67	AACTGTCAAACCATTCTACTTGC	GCCAGCAAGGTTTGCTACAT
SSRY191	5	21.418	TTTCATGAACAACITTTCTGGGTA	TGTTGGCTGAGAAAGCAAGA
SSRY83	6	28.049	TGGCTAGATGGTATTATTGCTT	TGCTTACTCTTTGATTCCACG
SSRY184	6	41.082	TCATCCAAAAATACCTCTAACA	CTCCGACAAGCATGTGAATG
SSRY272	7	13,762	ACTCGTGGGATCTTCCCTTT	CTGGAACCTCTGGCTCTCAC
SSRY69	7	111.909	CGATCTCAGTCGATACCCAAG	CACTCCGTTGCAGGCATTA
NS300	8	37,867	TGAGAATTGTTGATTCCCAAGTT	GCCAGGCTTCTCTGTGATAG
NS1052	8	60.452	GAGTGTGTCCGGCAGTTTC	CCATTCCATGGGTTTGTITT
SSRY119	10	20,781	AACATAGGCATTAAGTTGGCA	GCAAATGTGTTTCAATATAAGGC
NS928	10	70,98	GATACCCACAAGCCCAAAGA	GACCCACCCATCCACTAGAA
SSRY19	11	37.073	GAGAAGTGGTTGGGTTTCA	TCAAGAGCTGGACTTGAGGAA
SSRY66	11	56,558	ATCTCAGCTTCCAACCTTTTCAGT	CGAAATGCTTGAGACAGGTATAG
SSRY295	11	75.199	GCTTAGCTTATCCTTGGACCTTG	AGACAAGCACCCACCAGAAT
SSRY251	11	77.068	AGTCTCTACAGCCAAGTAGCATCT	GCGTTGACGACGTCCATAAT
NS717	11	91,7	GCCAAATCGCCAAGGTAATA	GGTGAGTGATAAGGTTACGGC
SSRY182	12	5.249	GGAATCTTTGCTTATGATGCC	TTCTTTACAATTCTGGACGC
SSRY1	13	37,383	GCAGCTGCCGTAATAGTTT	CCAAGAGATTGCACTAGCGA
SSRY169	14	22.157	ACAGCTCTAAAACTGCAGCC	AACGTAGGCCCTAACTAACCC
NS1021	14	58.015	TCACAATGAAGCCAGTGAA	TTGTATCTGAGCCTTGCCTG
SSRY107	15	0,234	CCATTTCTCTTGCTTCTGTCA	TGGTTGAAGTCTATAAAATCCTT

### 2.3.3.Évaluation des souches/plantes sélectionnées : Techniques d'évaluation, paramètres évaluation/cribleage

L'évaluation des symptômes est effectuée conformément à la proposition de Restrepo *et al.* [21], dans laquelle aux 7, 15, 21 et 30 JAI (Jour Apres Inoculation), avec pour échelle de notation : 0 = Pas de symptômes; 1 = Zone translucide et nécrose au point d'inoculation ; 2 = exsudation au niveau de la tige; 3 = Une ou deux feuilles flétries; 4 = Trois feuilles flétries ou plus; 5 = Plante morte. Une fois que les symptômes évalués ; le calcul de l'AUDPC (Area Under Disease Progress Curve (surface sous la courbe de progression de la maladie)) se fera selon la formule suivante :

$$AUDPC = \sum_i \frac{(D_i + D_{i-1}) * (t_i - t_{i-1})}{2}$$

Où D correspond à l'ampleur de la maladie en fonction des jours de symptômes observés et t après l'inoculation, avec  $i = 7, 15, 21$  et  $30$  jours. Suivant la base du pourcentage d'AUDPC de chaque souche (moyenne des valeurs AUDPC les plus élevées des trois souches considérées comme 100%) établit par Banito *et al.*, 2008[13] modifiée par Rache *et al.* (En prep.) , des groupes de résistants (0-39%), modérément résistants (39-44%), modérément sensible (44-49%) et des génotypes sensibles (49-100%), sont formés. Après avoir ajouté les valeurs AUDPC des trois souches (total AUDPC), des groupes de génotypes résistants, modérément résistants, modérément sensibles et sensibles ont été définis en utilisant les mêmes plages de pourcentage que ci-dessus.

## III.RESULTATS ET DISCUSSIONS

### 3.1. Résultats

#### 3.1.1. Génotypage des cultivars maliens

A partir de l'analyse de l'arbre de descendance ou dendrogramme déterminant la relation génétique entre les variétés de manioc testées en station (Figure 1) , on constate que l'échantillon V12 est isolé des autres variétés de manioc, ce qui pourrait signifier qu'il a une ascendance très différente des autres variétés. Tandis que les échantillons V01 et V08 sont identiques et que les échantillons V10, V14 et V16 sont également identiques. C'est ainsi que sur les seize cultivars locaux emmenés à l'IITA d'Ibadan, tous originaires des zones de cultures concernées par nos prospections, au final nous distinguons douze génotypes (selon le typage SSR). Ce résultat contredit l'hypothèse des seize génotypes selon les appellations des agriculteurs. Toute chose qui montre qu'un même génotype peut avoir des appellations distinctes d'une zone de production à une autre. Ces résultats nous ont permis une optimisation du criblage, à travers un choix des variétés à tester fonction des groupes (cluster obtenu) (Figure 2).

Le dendrogramme obtenu à partir de l'estimation de la distance génétique (Figure 2) nous indique que les 16 variétés de manioc forment trois groupes représentés par la couleur jaune (Groupe 3), rouge (Groupe 2) et bleu (Groupe 1). C'est ainsi que le groupe 1 ne comprend qu'une seule variété (V12), qui serait très éloigné en termes de descendance des autres variétés; le groupe 2 comprend 10 variétés: V01, V05, V06, V07, V 08, V10, V11, V13 et V16 ; le groupe 3 comprend 5 variétés: V02, V03, V04, V09 et V18.

Une analyse croisée (Tableau 1 ; Figures 1 et 3), nous permet de dire que les génotypes de manioc présents au Mali, sont déployés

de façons hétérogènes dans les différents ZAE, toutefois la région de Sikasso est celle

qui possède la plus grande diversité donc de ressource génétique de manioc.

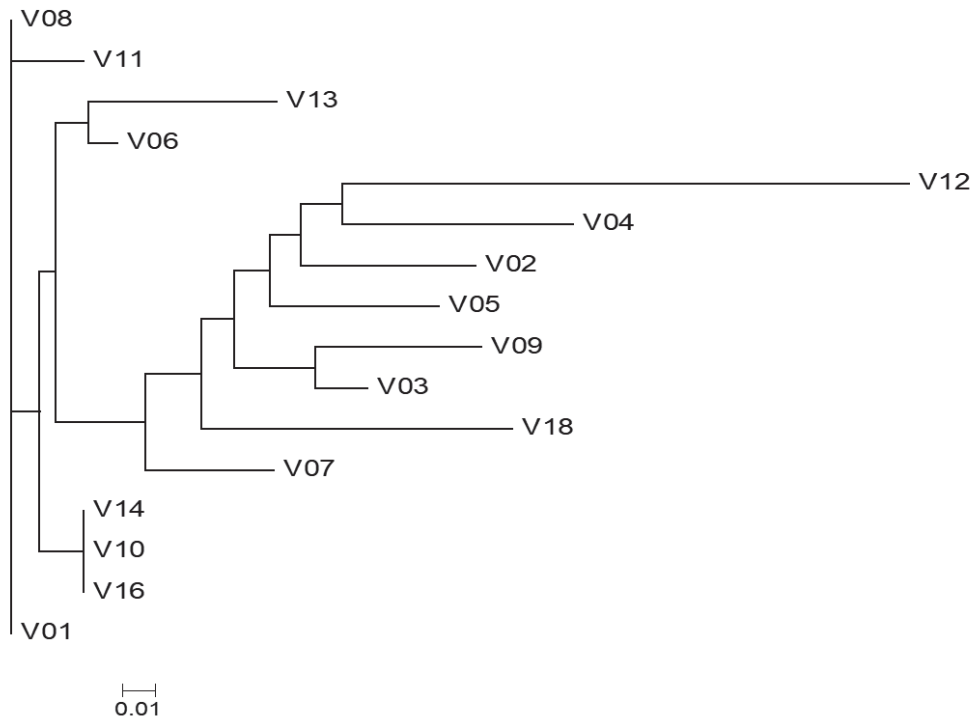


Figure 1: Arborecence UPGMA de regroupement hiérarchique (dendrogramme) calculée à partir de la distance de partage des allèles par paire à l'aide de 24 SSR.

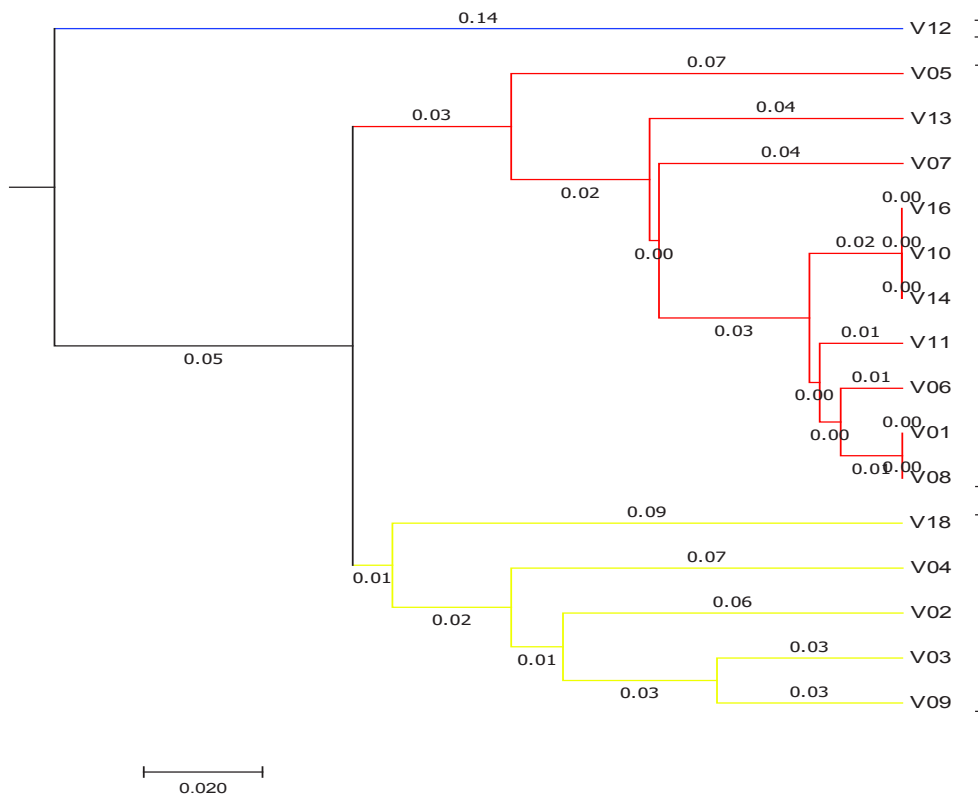


Figure 2 : Un clustering hiérarchique (dendrogramme) montrant les trois clusters différents.

Tableau 4 : Comportement (AUDPC) des variétés du Test 1 de criblage variétal

Souches	V12	V05	V14	V09	V04	V02	GV	Provenance
S1	S (76,6±8,8)	NE	S (75,7 ±9,4)	S (76,3±13,9)	S (74,3 ±14,0)	S (57,4±15,4)	I	Colombie
S2	S (73,5±ND)	<b>R</b> <b>(31,5±24,7)</b>	MS (46,7±5,3)	S (66,5±9,9)	S (77±7)	S (51,3±2)	II	Ségou/Mali
S3	S (73,5±19,8)	S (64,2±8,3)	S (57,7±7,9)	S (57,8±42,1)	S (74,9±9,1)	S (75,8±8,8)	II	Koulikoro/Mali

Tableau 5: Comportement (AUDPC) des variétés du Test 2-repetition 1 de criblage variétal

Souches	V01	V02	V09	V14	V15	V20	GV	Provenance
S1	S (66,5±19,8)	<b>R (35±ND)</b>	S (50,2 ±20,5)	S (59,5±ND)	S (54,3 ±17,5)	S (58,3±22,8)	I	Colombie
S2	S (73,5±ND)	<b>R</b> <b>(31,5±24,7)</b>	MS (46,7±5,3)	S (66,5±9,9)	S (77,0±7)	S (51,3±2)	II	Ségou/Mali
S3	S (73,5±19,8)	S (64,2±8,3)	S (59,5±9,9)	S (57,8±42,1)	S (72,1±11,5)	NE	II	Koulikoro/Mali

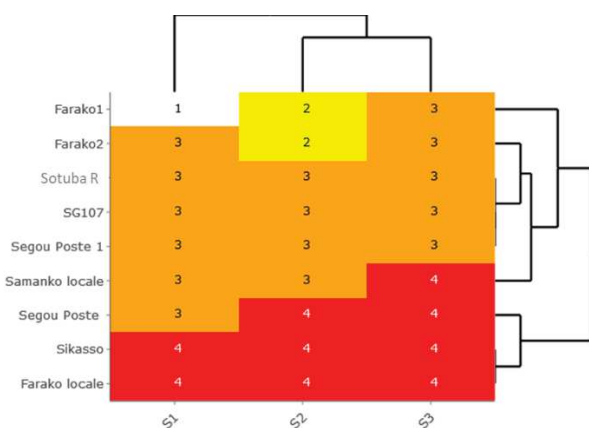
S1=CIO151 ; S2=SDK1-6 ; S3=Ksa 3-11 ; GV : Groupe de virulence relative

Tableau 6: Comportement (AUDPC) des variétés du Test 2- répétition 2 de criblage variétal

Souches	V01	V02	V09	V14	V15	V20	GV	Provenance
S1	S(56,5±14,8)	S (70±14,8)	S (55,1 ±16)	MS (47,3±37,3)	S (49±19,6)	S (59,5±18,5)	I	Colombie
S2	S (61,3±7,4)	S (50,2±26,7)	S (57,6±16,1)	S (52,5±11,9)	S (44,8±14,6)	<b>R (35±ND)</b>	II	Ségou/Mali
S3	S (77±4,9)	MS (45,5±19,8)	S (65,3±8,8)	<b>MR</b> <b>(42,7±16,5)</b>	S (72,6±18,2)	S (58,6±25,6)	II	Koulikoro/Mali

S1=CIO151 ; S2=SDK1-6 ; S3=Ksa 3-11 ; GV : Groupe de virulence relative

Les données présentées sont la moyenne de la somme d'AUDPC à partir de cinq répétitions par génotype. En référence à **Rache et al. (En préparation)** un génotype a été considéré comme résistant (R) si  $\sum \text{AUDPC} \leq 39$ , modérément résistant (MR) si  $39 < \sum \text{AUDPC} < 44$ , modérément sensible (MS) lorsque  $44 < \sum \text{AUDPC} < 49$  et sensible (S) lorsque  $\sum \text{AUDPC} \geq 49$ , NE: non évalué.



**Figure 343:** Niveau d'agressivité des souches appliquées et de résistance des variétés testées (Diagramme obtenu à partir de la plateforme [bioinfo-shiny.ird.fr](http://bioinfo-shiny.ird.fr))

### 3.1.2. Sélection des meilleurs cultivars (génotype tolérant-résistant) :

Nos résultats (Tableaux 4, 5,6) indiquent une plus forte sensibilité des variétés locales, en comparaison avec la variété de référence V20 (SG107). La meilleure en termes de tolérance parmi les variétés testées, était la V02 (Farako2 ou Ampong).

Une analyse de l'agressivité des trois souches utilisées (Figure 3) nous donne par ordre d'importance: S3(sdk1-6), S2(Ksa3-11) puis S1(CIO151). Ces résultats permettent de dire que les souches de profils génétiques les plus présents au Mali (sdk1-6, Ksa3-11) sont plus agressives que la souche de référence (CIO151).

Quant à la résistance des variétés testées, dix au total (Tableau 2), dans le premier test (Tableau 4) la V05 (Farako1 ou Ghana N1) qui est une variété améliorée originaire du Ghana est celle qui offre un meilleur comportement face aux souches *Xpm* utilisées. Quant aux tests 2 (répétitions 1 et 2) c'est la V02 (Farako 2 ou Ampong) également une variété améliorée originaire du Ghana, qui offre un meilleur comportement comparativement à V20 (SG107), qui est la variété témoin qui est connue (la variété de référence) pour sa résistance face à *Xpm*. Nos résultats actuels (Tableau 5 et 6) indiquent que cette variété

(V20, qui est SG107) est plutôt tolérante que résistance.

Parmi toutes les variétés locales, c'est la V14 (Sotuba R. ou Bla) qui est la seule variété locale plus tolérante par rapport à SG107 (variété témoin).

Les variétés V01, V04, V12, V15, sont très sensibles aux *Xpm* utilisées lors de ces tests. Tandis que V14, V09, peuvent être perçue comme peu sensible (donc modérément tolérant), V20, V14 comme tolérant. Celles qui offrent un meilleur comportement à l'analyse des trois tableaux sont : V05 et V02.

Cependant en comparant les variétés présentes dans les 02 tests, en coccurrence V02 et V09 on se rend compte d'une très grande variabilité dans les résultats d'un test à un autre. Nos résultats indiquant que peu de résistance sont manifestés par les variétés locales, et parmi elle Sotuba R., est la meilleure variété face à *Xpm*. En somme à l'échelle locale, la Sotuba R. ou Bla peut être considéré comme le cultivar maliens d'intérêt, à mieux explorer et si confirmation, promouvoir et diffuser

### 3.2 Discussion

La culture du manioc ayant sérieusement pris un coup d'accélérateur au Mali ces vingt dernière année [7], la bibliographie sur cette culture à l'échelle nationale reste très pauvre, et celle sur les maladies est quasi-inexistante, d'où un secteur sevré en termes de documentation nationale. En conséquence au Mali rarement des notes en lien avec les maladies du manioc sont disponibles et spécifiquement sur la CBB, aucune n'a été jusqu'à ce jour établie officiellement. D'où l'intérêt des études récentes à l'IRD et l'IER, qui ont permis de démontrer que *Xpm* est présente dans plusieurs zones de production du manioc [18].

Par ailleurs, à l'heure actuelle, des études de diversité de *Xpm* ont principalement été menées sur des souches originaires d'Amérique Latine [53] témoignant d'une forte variabilité de l'agent pathogène dans cette région du monde proche des centres d'origines du manioc Tandis qu'en Afrique, les quelques rares études sur *Xpm* menées sont contradictoires [28], [29], [30].

Quant à la diversité des variétés de manioc, des travaux récents comme celui de [31], indique que traditionnellement, la caractérisation de la diversité des variétés de manioc se fait à partir des attributs morphologiques, compte tenu de la façon dont ils sont reconnus par les producteurs. Ainsi, bien que le critère plus général et largement utilisé par les différentes communautés locales qui stipulent l'existence de deux types de manioc : doux et amer. A cela s'ajoute l'usage des marqueurs moléculaires qui a beaucoup évolué avec l'ascension de la biologie moléculaire. Pour ce second cas particulier, les premières études au début des années 1990 reposaient sur des analyses d'AFLP [32, 33]. Plus tard, ils ont commencé à utiliser les microsatellites ou SSR, qui sont encore utilisés aujourd'hui [34], [35], [36], [37], [38], [39] comme le cas de notre étude, suivis des SNP [40], [41], sans oublier le cas de la technique AFLP [33], [42].

Quel que soit le type de marqueur utilisé, les études sur la diversité génétique du manioc ont révélé surtout une grande diversité trouvée en Amérique du Sud, en particulier dans la région de l'Amazonie, comme prévu pour être le centre d'origine géographique du manioc cultivé [35], [42], [43], [44], [45]. Les études sur la diversité génétique en Afrique montrent également une grande variabilité des populations de manioc de cette région [37]. Ce constat conduit à considérer cette région comme le deuxième centre de diversification [36] surtout que les études sur la diversité en Asie ont montré qu'il existe une diversité génétique plus faible du manioc, qui est peut-être liée à sa récente

introduction et à la gestion commerciale de la culture [46], [47]. Nos résultats issus du génotypage des variétés récoltées en zone de production au Mali, confirme la diversité existante en Afrique.

Etant donné qu'une connaissance fondamentale de l'interaction entre les cultivars/variétés de manioc et les souches bactériennes devrait aider à la sélection de cultivars présentant une résistance durable [48], des travaux de criblage de variétés de manioc avec des souches locales sont nécessaires [23], [49], [50]. C'est ainsi que les cultivars locaux et améliorés, sont ici caractérisés pour examiner leur réaction à *Xpm*, afin de trouver des génotypes ayant un bon niveau de résistance, qui pourraient être recommandés aux producteurs dans le cadre d'un système intégré de contrôle de la CBB. Pour se faire lors de la présente étude des génotypes de manioc sélectionnés et un témoin issu de la collection internationale ont été inoculés avec 03 souches *Xpm* du Mali et leur réaction a été évaluée.

Ce travail qui constituait le screening ou criblage variétal, a permis de constater une forte sensibilité de la plupart des variétés adoptées dans les zones de production au Mali. Cette constatation est à confirmer par une étude complémentaire étant entendu son importance, vu qu'elle peut servir d'outil de décision dans le choix des variétés vulgarisables. Surtout que des travaux en Colombie [21] ont montrés que la plupart des cultivars présentant une résistance en serre ont également manifesté une résistance en champ. Et qu'au Bénin [13], il a été démontré que la sévérité de la bactériose du manioc est corrélée négativement au rendement en racines de manioc dans les parcelles inoculées artificiellement dans différentes zones agroécologiques. Au Nigeria [50], Togo [20], Côte d'Ivoire [51] des travaux de criblages ont été menés avec succès pour identifier certaines des variétés tolérantes à *Xpm*.

### **Exigence actuelle : nécessité de variétés résistantes pour une meilleure résilience au changement climatique**

Le réchauffement climatique s'accompagnera d'une augmentation du CO<sub>2</sub> atmosphérique [4], et bien que les deux facteurs favorisent la productivité végétale de C<sub>3</sub> chez des plantes à tubercules comme les pommes de terre, le manioc, cette productivité accrue s'accompagnera de fortes augmentations des défis biotiques (maladies et ravageurs) et abiotiques (sécheresse, chaleur, conditions météorologiques défavorables et non saisonnières) qui pourraient diminuer le rendement des plantes et accroître l'incertitude des cultures [52]. Les variétés précédemment adaptées peuvent ne plus être robustes dans la même localité géographique en raison d'un manque de résistance / tolérance à ces facteurs biotiques et abiotiques. Ces facteurs sont interdépendants, les variétés de résistance stressées peuvent avoir une résistance atténuée dans différents environnements, une résistance peut être nécessaire à des stades de développement différents de ceux précédemment requis, la résistance peut être dépassée par la taille de la population des ravageurs et des maladies, et de nouveaux ravageurs et maladies peuvent apparaître [52]. Une connaissance fondamentale de l'interaction entre les cultivars de manioc et les souches bactériennes devrait aider à la sélection de cultivars présentant une résistance durable.

#### **IV. CONCLUSION**

A la lumière des résultats obtenus, nous déduisons une plus forte sensibilité à la CBB des variétés locales maliennes, en comparaison avec la variété de référence V20 (SG107), qui elle est améliorée, tout comme la plus performante en termes de tolérance à l'issue de notre étude : V02

(Farako2 ou Ampong), originaire du Ghana. En conséquence pour une pérennisation de la productivité du manioc au Mali, la V14 (Sotuba R. ou Bla), qui est la meilleure parmi les variétés maliennes testées, mérite une plus large vulgarisation à travers un déploiement massif dans les zones de production.

#### **REMERCIEMENTS**

Ce travail a été réalisé grâce à l'appui multiforme et constant de l'IRD, du CRRRA de Sotuba à travers le staff du Dr Karim DAGNO, particulièrement Seguerema OUOLOGUEME, aussi grâce à l'assistance technique d'Ibrahim KEITA au LBMA et surtout aux soutiens financiers et administratifs de la JEAI-COANA et de l'Université de Ségou. Un Merci spécial aux collaborateurs de l'IITA d'Ibadan au Nigeria (Ruth, Dr I. Rabbi, Dr P. Kulakow).

#### **REFERENCES**

- [1] Restrepo S., Velez C. M., and V. Verdier, 2000. *Measuring the genetic diversity of Xanthomonas axonopodis pv. manihotis within different fields in Colombia*. *Phytopathology*, 90(7), 683–690. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.7.683>.
- [2] Prakash A., 2015. *Global Cassava Trends. State of cassava global and in the region*. In : *Regional Conference on cassava in the Caribbean and Latin America*. Conference Report 10-12 February 2014. FAO. In line: <http://www.fao.org/3/a-i4548e.pdf>.
- [3] FAO, 2013. *Produire plus avec moins: Le manioc Guide pour une intensification durable de la production 3* : 129p.
- [4] Jarvis A., Villegas J. R., Campo B. V. H., Navarro-racines C., 2012. *Is Cassava the Answer to African Climate Change Adaptation?* Published in *Tropical Plant Biology*, DOI: 10.1007/s12042-012-9096-71\*Original paper available at <http://www.springerlink.com/content/n36675226277455j/>
- [5] Kouakou J., Nangananga S., Plagne-ismail C., Mazalo Pali A., et Ognakossan K.E, 2015. *Production et transformation du manioc*, Collection PRO-AGRO, ISF-Cameroun et CTA, Wageningen, Pays-Bas, 40 p., texte intégral en ligne.
- [6] FAO, 2016. *Cassava in the Caribbean region "A look at the potential of the crop to promote agricultural development and economic growth Cassava"*. Bridgetown: Food and Agriculture Organization of the United Nations and Clayuca

Corporation and Inter American Institute for Cooperation on Agriculture.

[7] Dembele D., Diarra B., Sanogo F., Bengali M., Ballo A., Samake O., Sissoko M., 2013. *Evaluation de variétés locales de manioc et de patate douce au Mali*, Rapport final de projet (PPAAO/WAAPP), 52p.

[8] Constantin E. C., Cleenwerck I., Maes M., Baeyen S., Van Malderghem C., De Vos P., & Cottyn B. 2016. *Genetic characterization of strains named as Xanthomonas axonopodis pv. dieffenbachiae leads to a taxonomic revision of the X. axonopodis species complex.* Plant Pathology. <https://doi.org/10.1111/ppa.12461>.

[9] Kanté M., 2016. *Analyse de la diversité de Xanthomonas axonopodis pv manihotis (Xam) au Mali*. Mémoire master 2. Montpellier SupAgro-France. 77P.

[10] Lozano J.C., 1986. *Cassava Bacterial Blight: A manageable disease.* Plant Dis. 70: 1089-1093.

[11] Mansfield J., Genin S., Magori S., Citovsky V., Sriariyanum M., Ronald P., ... & Toth I. A. N. (2012). *Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology.* Molecular plant pathology, 13(6), 614-629.

[12] Harris K. P., Martin A., Novak S., Kim S.H., Reynolds T., & Anderson C. L. , 2015. *Cassava Bacterial Blight and Postharvest Physiological Deterioration Production Losses and Control Strategies.*

[13] Banito A., Kpemoua K. E., & 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(4), 152-161. <https://doi.org/10.1007/BF03356261>.

[14] Vernier, P., N'Zué, B., & Zakhia-Rozis, N. (2018). *Le manioc , entre culture alimentaire et filiere agro-industrielle* (Éditions Q; Agricultures tropicales en poche, Ed.). Retrieved from <https://www.quaeopen.com/produit/87/9782759227099/le-manioc-entre-culture-alimentaire-et-filiere-agro-industrielle>.

[15] Savary S., Willocquet L., Pethybridge S. J., Esker P., McRoberts N., & Nelson A. (2019). *The global burden of pathogens and pests on major food crops.* Nature Ecology and Evolution, 3(3), 430-439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>.

[16] Wonni I., Ouedraogo L., Dao S., Tekete C., Koita O., Geradine T., Portier P., Szurek B. and Verdier V. ,2014. *First Report of Cassava Bacterial Blight caused by Xanthomonas axonopodispv.*

*manihotis in Burkina Faso.* Plant Disease, 99(4), p 551.

[17] Koné , D., Dao, S., Tekete, C., Doumbia, I., Koita, O., Abo, K., ... & Verdier, V. (2015). *Confirmation of Xanthomonas axonopodis pv. manihotis Causing Cassava Bacterial Blight in Ivory Coast.* Plant Disease.

[18] Kante, M., Flores, C., Moufid, Y., Wonni, I., Hutin, M., Thomas, E., ... & Koita, O. (2020). *First Report of Xanthomonas phaseoli pv. manihotis, the Causal Agent of Cassava Bacterial Blight, in Mali.* Plant Disease, PDIS-12.

[19] Castiblanco L. F., Juliana G. , Rojas A., Osorio D., Gutiérrez S., Bodnar A. M., Perez-Quintero A. L., Koebnik R., Szurek B., López C., Restrepo S., Verdier V., Berna A. J., 2013. *TALE1 from Xanthomonas axonopodis pv. manihotis acts as a transcriptional activator in plant cells and is important for pathogenicity in cassava plants.* Molecular plant pathology (2013). vol. 14, no 1, p. 84- 95.

[20] Wydra K., Banito A., & Kpemoua K. E. (2007). *Characterization of resistance of cassava genotypes to bacterial blight by evaluation of leaf and systemic symptoms in relation to yield in different ecozones.* Euphytica. <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9335-9>.

[21] Restrepo, S., Duque, M. C., & Verdier, V. (2000). *Resistance spectrum of selected Manihot esculenta genotypes under field conditions.* Field Crops Research, 65(1), 69-77.

[22] Hahn, S. K., Terry, E. R., Leuschner, K., Akobundu, I. O., Okali, C., & Lal, R. (1979). *Cassava improvement in Africa.* Field Crops Research, 2, 193-226.

[23] Jorge, V., & Verdier, V. (2002). *Qualitative and quantitative evaluation of cassava bacterial blight resistance in F1 progeny of a cross between elite cassava clones.* Euphytica, 123(1), 41-48. <https://doi.org/10.1023/A:1014400823817>.

[24] Kpémoua, K., Boher, B., Nicole, M., Calatayud, P., & Geiger, J. P. (1996). *Cytochemistry of defense responses in cassava infected by Xanthomonas campestris pv. manihotis.* Canadian Journal of Microbiology, 42(11), 1131-1143.

[25] Zinsou, V., Wydra, K., Ahohuendo, B., & Hau, B. (2005). *Genotype x environment interactions in symptom development and yield of cassava genotypes with artificial and natural cassava bacterial blight infections.* European Journal of Plant Pathology, 111(3), 217-233.

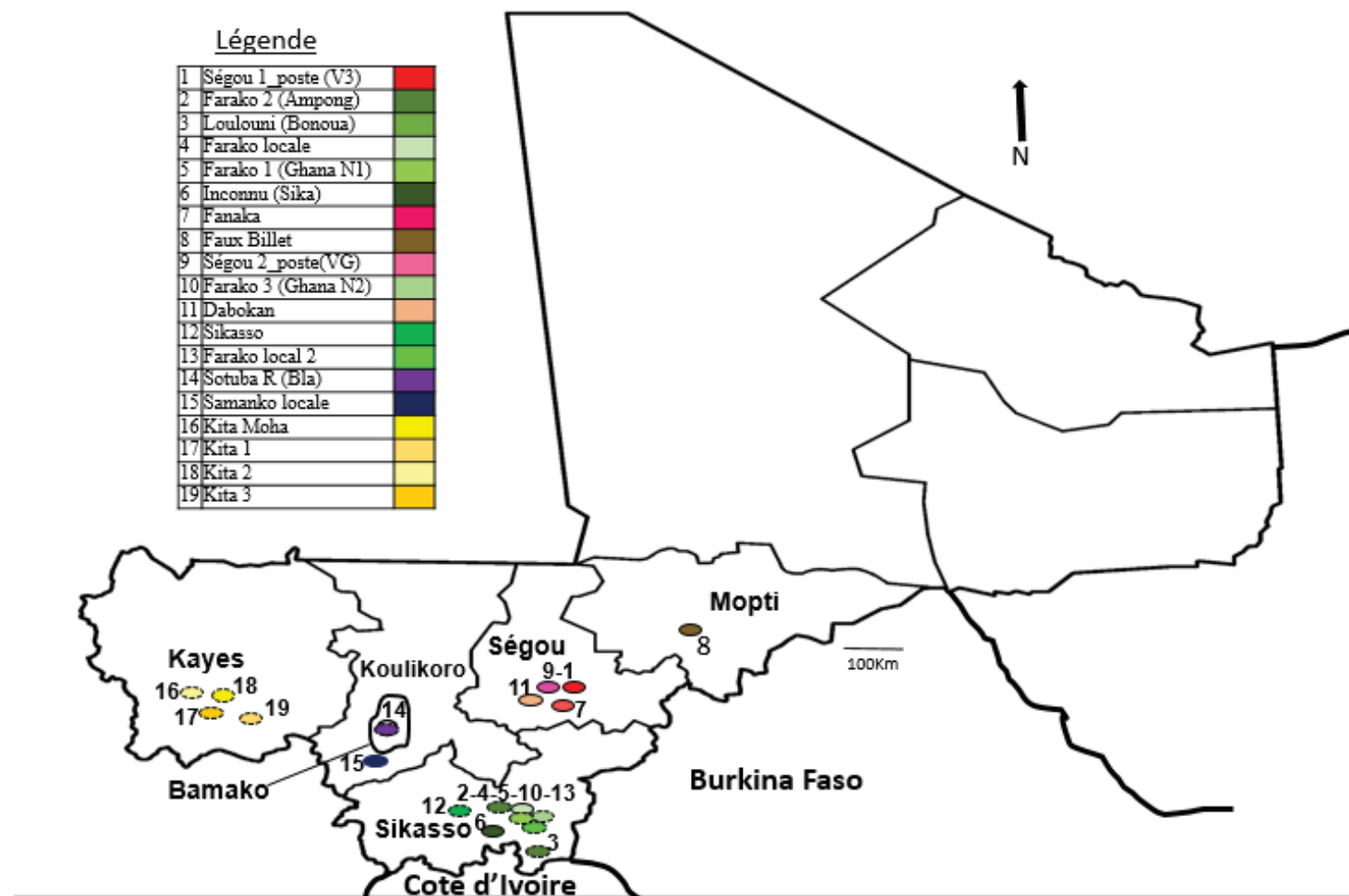


- [26] Rabbi, I. Y., Kulembeka, H. P., Masumba, E., Marri, P. R., and Ferguson, M. (2012). *An EST-derived SNP and SSR genetic linkage map of cassava (Manihot esculenta Crantz)*. Theoretical and Applied Genetics, 125(2), 329-342.
- [27] Verdier, V., & Restrepo, S., 1997. *Répartition géographique de la bactériose vasculaire du manioc en Colombie et variabilité de l'agent pathogène*. Les Cahiers de La Recherche Développement, 44, 16–26.
- [28] Ogunjobi A. A., Fagade O. E., & Dixon A. G. O., 2006. *Molecular variation in population structure of Xanthomonas axonopodis pv manihotis in the south eastern Nigeria*. African Journal of Biotechnology, 5(October), 1868–1872. <https://doi.org/10.4314/ajb.v5i20.55891>
- [29] Assigbetsé K., Verdier V., Wydra K., Rudolph K. & Geiger J. P., 1998. *Genetic variation of the cassava bacterial blight pathogen, Xanthomonas campestris pv. manihotis, originating from different ecoregions in Africa*. In : IX International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Madras, India. p. 223-229.
- [30] Chege M. N., Wamunyokoli F., Kamau J., & Nyaboga E. N. (2017). *Phenotypic and genotypic diversity of Xanthomonas axonopodis pv. manihotis causing bacterial blight disease of cassava in Kenya*. Journal of Applied Biology & Biotechnology, 5(02), 38–44. <https://doi.org/10.7324/jabb.2017.50206>.
- [31] Perez D., Mora R., & Lopez-Carrascal C., 2019. *Conservation of the cassava diversity in the traditional cultivation systems of the Amazon*. Acta Biologica Colombiana, 24(2), 202–212. <https://doi.org/10.15446/abc.v24n2.75428>.
- [32] Roa AC, Maya MM, Duc MC, Tohme J, Allem AC, Bonierbale MW, 1997. *Analyse AFLP des relations entre manioc et autres espèces de Manihot*. Théor Appl. Genet; 95: 741-750. Doi: <http://doi.org/10.1007/s001220 050620>.
- Ogunjobi A. A., Dixon A. G. O., et Fagade O. E., 2007. *Molecular Genetic Study Of Cassava Bacterial Blight Casual Agent In Nigeria Using Random Amplified Polymorphic DNA*. Elecron J Environ Agr Food Chem, 6, 2364-2376.
- [33] Elias M., Panauda O., Roberta T., 2000. *Évaluation de la variabilité génétique dans une culture traditionnelle de manioc (Manihot esculenta Crantz) système, en utilisant des marqueurs AFLP*. L'héritage: 85: 219-230.
- [34] Chavarriaga AP, MM Maya, Bonierbale MW, Kresovich S, Fregene MA, Tohme J, et al., 1998. *Microsatellites dans le manioc (Manihot esculenta Crantz): Découverte, héritage et variabilité*. Théor Appl. Genet : 97 (3): 493–501. Doi: <http://doi.org/10.1007/s001220050922>.
- [35] Elias M, MCKey D, 2001. *L'écologie de la reproduction non gérée de plantes domestiquées dans les agro-écosystèmes traditionnels: exemple impliquant le manioc et un appel de données*. Loi Oecol.; 21 (3): 223-230. Doi: [http://doi.org/10.1016/S1146-609X\(00\)00053-9](http://doi.org/10.1016/S1146-609X(00)00053-9)
- [36] Fregene MA, Suarez M, Mkumbira J, Kulembeka H, Ndedya E, Kulaya A et al., 2003. *Diversité de marqueurs de répétition de séquence simple dans les variétés locales de manioc: diversité génétique et différenciation dans une culture à reproduction asexuée*. Théor Appl. Genet; 107 (6): 1083-1093. Doi: <http://doi.org/10.1007/s00122-003-1348-3>
- [37] Kizito EB, Bua A, Fregene M, Egwang T, U Gullberg, Westerbergh A. (2005). *L'effet de la maladie de la mosaïque du manioc sur le patrimoine génétique diversité du manioc en Ouganda*. Euphytica.(2005); 146 (45): 45–54. Doi: <http://doi.org/10.1007/s10681-005-2959-3>
- [38] Montero RM, Correa AM, Siritunga D., 2011. *Différenciation moléculaire et diversité du manioc (Manihot esculenta ) pris à partir de 162 endroits à travers Porto Rico et évalué avec des marqueurs microsatellites*. Plantes AoB; 11: 1–13. Doi: <http://doi.org/10.1093/aobpla/plr010>.
- [39] Tovar E, Bocanegra JL, C Villafaña, Fory L, Velasquez A, Gallego G, Moreno R, 2015. *Diversité et structure génétique de variétés locales de manioc et leurs espèces sauvages apparentées ( Manihot spp.) en Colombie révélé par répétition de séquence simple*. Plante Genet Resour-C. 2015; 14 (3): 200-210. Doi: <http://doi.org/10.1017/S1479262115000246>
- [40] Kawuki RS, Ferguson M, Labuschagne M, Herselman L, Kim DJ, 2009. *Identification, caractérisation et application de single polymorphismes nucléotidiques pour l'évaluation de la diversité chez le manioc (Manihot esculenta Crantz)*. Mol. Race 2009; 23 (4): 669–684. Doi: <http://doi.org/10.1007/s11032-009-9264-0>.
- [41] Peña-venegas C, Stomph TJ, Verschoor G, Lopez-lavalle LAB, Struik PC, 2014. *Différences de diversité parmi Cinq ethnies de l'Amazonie colombienne*. La diversité; 6 (4): 792–826. Doi: <http://doi.org/10.3390/d6040792>.
- [42] Tiago AV, Rossi AAB, Tiago PV, Carpejani AA, Silva BM, Hoogerheide ESS, et al. 2016. *Diversité génétique dans les races locales de manioc cultivé dans des fermes d'Alta Floresta-MT, au Brésil*. Genet Mol. Res.; 15 (3): 1–10. Doi: <http://doi.org/10.4238/gmr.15038615>

- [43] Olsen KM, Schaal BA. *Preuve de l'origine de Manioc: Phylogéographie de Manihot esculenta*. PNAS.1999; 96 (10): 5586-5591. Doi: <http://doi.org/10.1073/pnas.96.10.5586>
- [44] Allem AC, 2002. *Les origines et la taxonomie du manioc*. Dans: Buttes RJ, Thresh JM, Bellotti A, éditeur (s). *Manioc: biologie, Production et utilisation*. Brasilia: CABI. p. 1–16. Doi: <http://doi.org/10.1079/9780851995243.0001>
- [45] Peroni N, Hanazaki N, 2002. *Diversité actuelle et perdue de cultures variétés, en particulier le manioc, cultivé en culture cachée dans la forêt atlantique brésilienne*. Agric Écosystème. Environ. 2002; 92 (2-3): 171-183. Doi: [http://doi.org/10.1016/S0167-8809\(01\)00298-5](http://doi.org/10.1016/S0167-8809(01)00298-5).
- [46] Wang W, Feng B, Xiao J, Xia Z, Zhou X, Li P, et al., 2014. *Manioc: génome d'un ancêtre sauvage aux variétés cultivées*. Nat. Commun. 5.5110: 1-9. Doi: <https://doi.org/10.1038/ncomms6110>
- [47] Lamprecht M., 2015. *Diversité génétique et sélection de variétés de manioc (Manihot esculenta Crantz) produites à petite échelle par des agriculteurs de fermes du nord et du centre du Vietnam (mémoire de maîtrise)*. Uppsala: Département du développement urbain et rural, Université suédoise des sciences agricoles; 2015. 55 p.
- [48] Adhikari, T. B., Gurung, S., Hansen, J. M., & Bonman, J. M. (2012). *Pathogenic and Genetic Diversity of Xanthomonas translucens pv. undulosa in North Dakota*. Phytopathology, 102(4), 390–402. <https://doi.org/10.1094/phyto-07-11-0201>.
- [49] Mamba-Mbayi, G., Tshilenge-Djim, P., Nkongolo, K., & Kalonji-Mbuyi, A. (2014). *Characterization of Congolese Strains of Associated with Cassava Bacterial Blight*. American Journal of Plant Sciences, 5(April), 1191–1201. Retrieved from [http://file.scirp.org/pdf/AJPS\\_2014040411011121.pdf](http://file.scirp.org/pdf/AJPS_2014040411011121.pdf)
- [50] Akinola, P., Olanloye, R., & Olufunmilayo, A. (2012). *Rapid screenhouse assessment of bacterial blight in cassava genotypes in Nigeria*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 45(5), 574–584. <https://doi.org/10.1080/03235408.2011.588048>.
- [51] Affery A. M., Abo K., N'guessan A. C., Bolou, B. B. A., Tuo S., Wonni I., ... Kone D. ,2018. *Caractérisation moléculaire et sélection de variétés de manioc résistantes contre Xanthomonas axonopodis PV. Manihotis EN COTE D'IVOIRE*. Agronomie Africaine, 30(December), 261–269. <https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/330422126> ...
- [52] Campos, H., & Ortiz, O. (2019). The Potato Crop. In Hugo Campos - Oscar Ortiz (Ed.), *The Potato Crop*. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-2340-2>.
- [53] Restrepo S., Vélez C. M., and Verdier V. (2000). *Measuring the genetic diversity of Xanthomonas axonopodis pv. manihotis within different fields in Colombia*. Phytopathology, 90(7), 683–690. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.7.683>
- [54] Bodnar, A. M., Mariel, L., Gómez, C., Bernal, A., Szurek, B., Ernesto, C., & Carrascal, L. (2014). *Xanthomonas axonopodis pv. manihotis on cassava Plants Comparación de métodos de inoculación para evaluar el crecimiento de Xanthomonas axonopodis pv. manihotis en plantas de yuca*. 20(2), 47–55.

### 3.3.2-Données supplémentaires

DS1 : Cartographie des zones de production et variétés recensées



Les numeros 1 à 19 sont affectés à différentes couleurs correspondant à des variétés dont les noms sont indiqués dans la légende ci-dessus

## **CHAPITRE3-DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION**

### **1-Discussion sur la contribution des travaux actuels à la compréhension et la lutte contre la CBB**

#### **1.1-Le manioc au Mali : système de production efficace ou vulnérable face aux contraintes climatiques et phytoparasitaires?**

##### **->Evolution de la production du manioc fonction des décisions politiques ?**

Les indicateurs de productions (superficies, productions, rendement) de manioc au Mali ont connu diverses tendances (croissance, baisse) depuis ces vingt dernières années (FAOstat, 2020). Pour maintenir la dynamique de l'augmentation des indicateurs de production , pour une stabilité de la tendance évolutive, et surtout pour mieux accompagner la volonté politique affichée de promouvoir cette production végétale longtemps marginalisée (Maliactu.net, 2016b), une meilleure connaissance à tous les niveaux (agronomiques, sociologiques, économiques, etc. ) de ce végétal est nécessaire.

Nos résultats nous montrent que le système de production du manioc au Mali est très traditionnel, avec de petites surfaces et surtout la quasi-inexistence de l'utilisation d'engrais chimique au profit d'engrais vert tels que les résidus de récoltes, fumure organique, toute chose encourageant dans le cadre de l'agroécologie nonobstant leurs limites de faible productivité avec 1,4T à 4T/ha au Mali, quand la norme dans les champs utilisant la mécanisation et des variétés améliorées est de 40 à 60T/ha selon Vernier et al ( 2018). Aussi, l'âge des producteurs indique que ce sont majoritairement des hommes adultes (36 à plus de 55 ans), cette caractéristique révèle que les agriculteurs matures et responsables sont impliqués dans la culture du manioc comme le montrent les travaux de Touré (2019) en Côte d'Ivoire.

Par ailleurs on pourrait se demander si les producteurs ont forcément besoin de mécanisation pour subvenir à leurs besoins alimentaires et économiques parce que de nos jours, avec les enjeux de la protection de l'environnement et face aux périls de l'utilisation abusive des produits chimiques, l'usage sur une longue durée des terres agricoles, leurs pratiques traditionnelles restent valables et efficaces.

## **--> Pourquoi le manioc est très apprécié ? Est-ce une conséquence du soutien du gouvernement malien ?**

Le manioc a la réputation d'être une « culture du pauvre » du fait d'être principalement produit par de petits exploitants sur des terres à faible entretien et très faibles rendements dans les zones tropicales humides et semi-humides. C'est aussi une culture extensive industrialisée, notamment pour la production d'amidon à des fins non alimentaires comme le biocarburant (Howeler et *al.*, 2013). Nos enquêtes dénotent toutefois l'absence d'industrie dédiée au manioc au Mali, révélant un secteur de transformation de type artisanal principalement assuré par des femmes, et quelques cas de projets encore à l'état embryonnaire comme une usine construite par le gouvernement Danois dans la localité de Loulouni (région de Sikasso) visant à valoriser en papier, les pellicules (enveloppe externe) à partir de tubercules de manioc.

La culture de manioc n'implique pas l'acquisition d'intrants coûteux (engrais, pesticides, etc..), de même les semences sont le plus souvent multipliées par voie végétative par le producteur lui-même, à partir de ses propres pépinières. Par ailleurs, le manioc s'adapte à un large éventail de milieux en présentant une bonne tolérance au stress hydrique et à l'acidité des sols tout en générant des rendements satisfaisants même sur des terres pauvres et marginalisées, ce qui fait de lui une des cultures les plus adaptées au changement climatique (Jarvis et *al.*, 2012). L'importance du manioc pour la sécurité alimentaire dans ces régions productrices d'Afrique sub-saharienne comme la majeure partie des zones de production au Mali tient à ses caractéristiques intrinsèques. Il est très prisé à travers ces produits finis comme l'Attiéké, le Gari, la semoule, ce qui fait qu'il représente la quatrième source de calories dans les pays tropicaux où plus de 700 millions de personnes en dépendent pour leur sécurité alimentaire (Kouakou et al, 2015).

Pour résumer, le manioc est un aliment bon marché qui compose l'essentiel de l'alimentation des populations pauvres dans plus de cent pays dans le monde. Aussi même en cas de troubles civils, le manioc peut demeurer en terre sans surveillance et pourra être récolté ultérieurement sans connaître de réelles détériorations qualitatives. Il présente donc l'intérêt de rester disponible même après le déplacement temporaire d'un ménage. Par contre tout cet enthousiasme au tour du manioc pourrait se réduire au vu des autres facettes moins reluisantes de la culture: une culture qui abîme les sols, vu le mode d'utilisation récurrent et répété des mêmes parcelles au Mali. Le manioc est également peu rentable d'un point de vue nutritionnel, car contient peu de vitamines, peu de protéines et doit donc être consommé en complément.

Malgré ces désavantages, le manioc est une production végétale très en vogue de nos jours, d'où l'intérêt des gouvernants pour sa production.

### **->Impact de la CBB sur la production du manioc en Afrique**

La production du manioc reste menacée par la bactériose vasculaire du manioc (López & Bernal, 2012) qui en Afrique a été signalée dans près de 25 pays (CABI, 2019) parmi lesquels les premiers cas au Nigéria en 1972 (Daniel, 1977) et au Togo en 1975 (Boher et Agboli, 1992). Le caractère destructeur de cette maladie a été à l'origine de très fortes baisses de rendement au Ghana, Nigeria, et au Benin ainsi qu'en Ouganda (Aklé et Gnonhoué, 1979; Otim-Nape, 1980 ; Abaca et al ,2013). En outre la CBB a fortement contribué à la famine qui durement frappé la RD Congo dans les années 1970(Ogunjobi & al. , 2006).

Au vu de tous ces dommages, des travaux sur la compréhension de la maladie ont été menés ces dernières années en Ouganda (Abaca et al., 2013), RD Congo (Mamba-Mbayi et al., 2014), Nigeria (Onyeka et al., 2008), Benin (Fanou et al., 2018), Burkina Faso(Wonni et al., 2015), Cote d'Ivoire (Kone et al., 2015), Kenya (Chege et al., 2017) , Ghana (Abdulai et al., 2018). Egalement, notre étude qui vient compléter ce panorama au Mali (Kanté et al., 2020), pays dans lequel la CBB avait été signalée depuis fort longtemps (Kranz and Hammat, 1979; Bradbury, 1986; IMI, 1993), a permis de répertorier son statut actuel dans les archives.

Notre présent travail d'épidémiosurveillance de la CBB contribue à une meilleure acquisition de connaissances sur l'épidémiologie de la maladie au Mali, qui a d'importants échanges avec ses pays voisins surtout avec deux d'entre eux (Labazée, 1993), où récemment la CBB a été confirmée, en occurrence au Burkina Faso (Wonni et al., 2015) et Cote d'Ivoire (Kone et al., 2015). De façon intéressante nous avons remarqué que les souches maliennes sont plus diversifiées que celle du Burkina Faso (Kanté, 2016), ce qui laisse penser que les populations maliennes sont plus anciennes que celle du Burkina , ou bien que les échanges de matériel végétal sont plus dynamiques du côté malien. En nous référant à la cartographie des variétés collectées sur le terrain, nous avons constaté que le bassin de production des régions frontalières du Burkina Faso et de la Cote d'Ivoire en occurrence Sikasso est le plus riche en variété.

D'où la nécessité de mettre en place une ressource disponible en termes de matériel biologique (souches et données de prévalence) pour un contrôle adéquat de la maladie puisant leur fondement dans la connaissance des mécanismes d'action et d'évolution du pathogène.

**-->Quelle influence des impacts du changement climatique sur la maladie, la virulence, l'agressivité de *Xpm*.**

L'un des indicateurs du changement climatique est la baisse des ressources en eau (pluie, nappes phréatiques, sources de cours d'eau,..), dont le stress hydrique qui affaiblit tout végétal, le rendant plus vulnérable aux attaques de bioagresseurs. De ce fait le changement climatique peut favoriser les maladies. En effet des températures plus élevées devraient accélérer la dégradation de la résistance aux maladies des plantes par une pression de maladie plus élevée et/ou une modification de l'efficacité du gène de résistance chez de nombreux systèmes hôte-pathogène (Webb et *al.*, 2010). C'est ainsi que Paul et *al.*(2020), révèlent qu'en raison du déséquilibre entre les différents facteurs environnementaux tels que la température, les concentrations de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), la concentration d'ozone (O<sub>3</sub>), l'humidité, le pH du sol, les rayonnements UV, la sécheresse, etc., le taux d'infection et la propagation de diverses maladies augmentent.

De plus les populations pathogènes peuvent être confortées et peuvent facilement muter pour engendrer différents variants génétiques, contournant les résistances connues. Cependant des études sur une espèce de *Xanthomonas* pathogène du riz (*X. oryzae* pv. *oryzae*), démontre que l'augmentation des températures agit sur la durabilité de la résistance en rendant l'efficacité plus accrue d'un gène de résistance à la maladie de la brûlure bactérienne du riz (Cohen et *al.*, 2017; Webb et *al.*, 2010). Bien que classiquement, le manioc est très tolérant à la sécheresse et a été considéré comme une culture résiliente face au changement climatique (Jarvis et *al.*, 2012), la dynamique des populations pathogènes peut impacter la résistance des variétés.

Quant à *Xpm*, nos travaux indiquent que les souches les plus fréquentes au Mali, suivant l'analyse de la diversité n'ont pas les mêmes degrés d'agressivité, ni de virulence, selon les zones agroécologiques (généralement distinguables par leurs caractéristiques climatiques). On pourra creuser encore plus pour savoir s'il existe un lien entre le changement climatique et cette constatation de variabilité de l'agressivité et de la virulence en fonction des zones agroécologiques. Pour cela il sera donc intéressant de mener une étude plus approfondie sur (i) les sources de contamination comme les boutures déjà infectées, les insectes vecteurs comme

les sauterelles panachées, sautereaux *Zonocerus variegatus* (Fanou et al., 2018) pour déterminer leur degré d'implication dans la chaîne de transmission, (ii) les leviers de contrôle comme la mise en place de test de dépistage rapide (LAMP-PCR, TEST ELISA), pour aider à un meilleur diagnostic comme préconisé au Venezuela par la mise au point de tests PCR plus sélectifs entre *Xpm* et *X. cassavae* (Flores et al., 2019) . Pour l'heure au Mali on se focalisera sur l'obtention d'outils de diagnostic concernant uniquement *Xpm*, d'autant plus que *X. cassavae* n'a pas été reporté dans ce pays (communication personnelle). En effet il est à noter que pour l'instant l'on ne trouve *X. cassavae* que dans les zones de hauts plateaux comme au Rwanda par exemple. Toutefois, après avoir obtenu des outils de diagnostic sur *Xpm* on pourra en faire d'autres plus diversifiés, incluant *X. cassavae* et d'autres pathogènes récurrents (tests de diagnostic multi-pathogènes). En somme, avec les changements climatiques, on ne sait pas comment la dynamique des pathogènes peut évoluer et donc mieux vaut être armé.

Aussi, il faudra étudier plus largement *Xpm* à travers l'analyse de : (i) la corrélation entre le pouvoir pathogène et diversité génétique des haplotypes détectés, (ii) la relation entre la CBB au Mali et les autres pays voisins (typages avec plus de souches), (iii) déterminer les aspects temporels des épidémies à travers une comparaison sur plusieurs années.

## **1.2- Relation entre les contraintes de production et la structure / diversité actuelle des *Xpm* du Mali**

### **->Quelle information apporte la diversité actuelle?**

Nos données suggèrent une situation endémique de la maladie au Mali, comme l'indiquait également Leduc et al. (2012) lors d'une étude similaire sur la diversité de *Xanthomonas citri*, agent du chancre bactérien des agrumes. Cette constatation en plus de la compréhension sur la structure de la population malienne de *Xpm*, ainsi que des caractéristiques agronomiques actuelles du manioc aideront à une meilleure gestion de la CBB. A travers la connaissance du niveau de résistance des variétés déployées actuellement, les déploiements futurs se feront en fonction de notre connaissance sur le niveau de virulence des haplotypes cartographiés par région. L'outil MLVA-14 nous a permis de constater que le niveau de diversité génétique est relativement élevé permettant de discriminer environ 40% d'haplotypes dans la population malienne de *Xpm*. Aussi l'analyse de la différenciation génétique des populations à différents niveaux géographiques, parcelles et localités, et de groupes génétiques regroupant des isolats plus ou moins étroitement liés a suggéré une circulation des bactéries plus importante à petite



échelle, ce qui corrobore avec le taux élevé d'échange de matériel végétal (boutures) constaté au Mali.

### -> **Quelles informations apportées par la diversité génétique de *Xpm* ?**

Nos travaux actuels étant les premiers sur les *Xpm* du Mali en termes de diversité et de structuration génétique, nous envisageons pour une meilleure analyse de la dynamique des populations maliennes, des nouvelles séries d'échantillonnage et de génotypage qui permettront dans l'avenir de mieux appréhender cette question de l'évolution des *Xpm* du Mali. Il ressort de cette étude que les programmes de sélection de variétés résistantes devraient davantage se fonder sur les connaissances sur les dynamiques des populations phytopathogènes. Pour cela, un équilibre dynamique entre la population de l'hôte et celle du parasite est nécessaire et donc tout décalage entraîne une modification de cet équilibre.

La pression exercée par le parasite sur l'hôte est fonction des caractéristiques environnementales, comme le climat. Un des illustres exemples est le cas de la culture du maïs en Afrique. Laissée plusieurs siècles à l'écart de la rouille (*Puccinia polysora*), cette plante a perdu tous ses gènes de résistance et l'introduction en 1950 de *P. polysora* s'est traduite par une vague de destruction qui n'a épargné que quelques pieds. Les anciens gènes qui permettaient la végétation du maïs en présence d'un parasite ancestral (la rouille comme la plante sont originaires d'Amérique du Sud) s'étaient dilués (Goujon, 1971). Il faut donc retenir qu'il est essentiel de suivre la dynamique des populations pathogènes, pour un suivi des gènes de résistance actifs voir efficaces.

### **1.3-Questionner la résistance :**

#### ->**Quid des variétés locales maliennes ?**

La majorité des variétés déployées au Mali, que nous avons pu collecter lors de nos prospections (vingtaine de variétés) sont sensibles à la bactériose vasculaire du manioc, avec quelques exceptions, en l'occurrence la variété V02 (Farako2 ou Ampong), originaire du Ghana. Cette variété améliorée et déployée au Ghana à partir de 2010 a un cycle de 12 mois, un rendement potentiel en tubercule de 40 à 50 Tonnes à l'hectare et un taux de matière sèche estimé à 36% du poids total (<https://nobowa.com/facts-improved-cassava-varieties-ghana/>). Au Mali sa vulgarisation a commencé en 2013, dans les régions de Sikasso et Koulikoro, avant cette date elle n'était pas présente dans le pays.

Ce résultat dénote de l'utilité des programmes de sélection, puisque cette variété est une parmi celles améliorées. Toutefois l'absence de la maladie constatée dans le bassin de production du

lac Korientzé en région de Mopti, là où ce sont des variétés locales qui sont largement utilisées depuis de nombreuses années nous mène à questionner la spécificité de cette localité, ou même à penser une faille dans notre stratégie d'échantillonnage d'où la perspective de mieux scruter cette zone dans des études futures.

Les observations sur le terrain lors des enquêtes dans les zones de production de manioc en Afrique ont révélé que la maladie est plus répandue et plus dévastatrice dans la savane et la zone de transition de la savane forestière que dans la zone de forêt dense (Wydra et *al.*, 2007), nous pourrions donc dire que le Mali en tant que pays majoritairement aride fournit des conditions optimales de développement de cette maladie, d'où la nécessité de déployer des variétés résistantes.

### ->Quel degré de résistance?

Connaissant la forte sensibilité démontrée par les variétés maliennes face à *Xpm* à l'inverse des variétés améliorées comme la variété CM6438-14 qui est également résistante à sept différentes souches de *Xpm* de Colombie lors d'étude en serre (Trujillo et *al.*, 2014) et sur des plantes cultivées *in vitro* (Mora et *al.*, 2019), les politiques de vulgarisation de la production de manioc seront bien éclairées par la préconisation de variétés autres que celles constatées sensibles.

A ce jour des études de criblage variétal ont permis de se faire une idée sur le niveau de résistance de bon nombre de variétés, comme au Nigeria, ou sur la base des scores moyens de maladies, un certain nombre de génotypes de manioc ont été classés comme résistants à la CBB (Akinola et *al.*, 2012). Au Togo sur la base d'une étude comparative sur 24 variétés locales et sélectionnées, deux variétés sélectionnées ont été retenues (Banito et *al.*, 2010). De même, en Côte d'Ivoire des variétés de manioc utilisées par les agriculteurs ivoiriens sont sensibles à la CBB à des degrés différents dans les différentes zones agroécologiques selon Touré (2020).

Donc une bonne connaissance du degré de résistance des variétés de manioc à *Xpm* signifie une meilleure compréhension des enjeux phytoparasitaires liés à la CBB et donc un meilleur accompagnement des producteurs des zones de production. En ce moment toute variété qui pourrait être recommandée aux agriculteurs devrait se faire en tenant compte des aspects de sélection et de tolérance des variétés sachant qu'il est probable que les conditions climatiques extrêmes aggravent l'expression de la brûlure bactérienne du manioc.

## 2-Conclusion générale

A l'issue de cette étude, au Mali, force est de constater que le manioc confronté à la CBB, se trouve dans un système de production traditionnelle bien que respectueuse de l'environnement (avec des rendements minimes). Ce système rend les plants de manioc plus exposés aux bioagresseurs avec d'importants risques d'émergence ou de réémergence de ces derniers, surtout de la CBB qui est endémique dans ce pays.

Les variétés cultivées dans les régions de productions sont majoritairement sensibles, d'où la nécessité de chercher d'autres, plus tolérantes et aptes à de bonne production.

Sachant que le fait d'appréhender la diversité des populations pathogènes à l'échelle d'une région est d'une importance cruciale en amont du développement de stratégies de contrôle durable des maladies des plantes, la continuité de nos travaux de recherche sur l'épidémiologie (caractérisation, statut de prévalence, évaluation de la maladie), la génétique de populations de *Xpm* du Mali et d'autres pays africains nous permettront de (i) concevoir des outils portables de diagnostic moléculaire et des systèmes d'aide à la décision pour l'alerte précoce et (ii) aider à l'obtention de variétés de manioc pourvue de résistance durable face à la CBB.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abaca, A., Kiryowa, M., Awori, E., Andema, A., Dradiku, F., Moja, A. S., & Mukalazi, J. (2013). Cassava Pests and Diseases' Prevalence and Performance as Revealed by Adaptive Trial Sites in North Western Agro-Ecological Zone of Uganda. *Journal of Agricultural Science*, 6(1), 116–122. <https://doi.org/10.5539/jas.v6n1p116>
- Abdulai, M., Basim, H., Basim, E., Baki, D., & Öztürk, N. (2018). Detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, the causal agent of cassava bacterial blight diseases in cassava (*Manihot esculenta*) in Ghana by polymerase chain reaction. *European Journal of Plant Pathology*, 150(2), 471–484. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1297-3>
- Achtman, M. (2008). Evolution, Population Structure, and Phylogeography of Genetically Monomorphic Bacterial Pathogens. *Annual Review of Microbiology*. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162832>
- Affery, A. M., Abo, K., N'guessan, A. C., Bolou, B. B. A., Tuo, S., Wonni, I., ... Kone, D. (2018). CARACTERISATION MOLECULAIRE ET SELECTION DE VARIETES DE MANIOC RESISTANTES CONTRE *Xanthomonas axonopodis* PV. *Manihotis* EN COTE D'IVOIRE. *Agronomie Africaine*, 30(December), 261–269. [https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/330422126\\_CHARACTERISATION\\_MOLECULAIRE\\_ET\\_SELECTION\\_DE\\_VARIETES\\_DE\\_MANIOC\\_RESISTANTES\\_CONTRE\\_Xanthomonas\\_axonopodis\\_PV\\_Manihotis\\_EN\\_COTE\\_D%27IVOIRE](https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/330422126_CHARACTERISATION_MOLECULAIRE_ET_SELECTION_DE_VARIETES_DE_MANIOC_RESISTANTES_CONTRE_Xanthomonas_axonopodis_PV_Manihotis_EN_COTE_D%27IVOIRE)
- Agahiu, A. E., Udensi, U. E., Tarawali, G., Okoye, B. ., Ogbuji, R. O., & Baiyeri, K. P. (2011). Assessment of weed management strategies and intercrop combinations on cassava yield in the middle belt of Nigeria. *African Journal of Agricultural Research*, 6(26), 5729–5735.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology* (5th ed.; E. Science, ed.). Dana Dreibelbis.
- Ah-You, N., Gagnevin, L., Grimont, P. A. D., Brisse, S., Nesme, X., Chiroleu, F., ... et al. (2009). Polyphasic characterization of xanthomonads pathogenic to members of the Anacardiaceae and their relatedness to species of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 306–318.
- Akinola, P., Olanloye, R., & Olufunmilayo, A. (2012). Rapid greenhouse assessment of bacterial blight in cassava genotypes in Nigeria. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45(5), 574–584. <https://doi.org/10.1080/03235408.2011.588048>
- Akle, J., & Gnouhoué, H. (1979). Cassava bacterial blight development in Benin. In E. Terry, G. Persley, & S. Cook (Eds.), *Cassava Bacterial Blight in Africa, Past, Present and Future*. (p. 43). London, UK: Centre for Overseas Pest Research: IITA-Report of an interdisciplinary workshop.
- Allem, A. C. (1994). The origin of *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae). *Genet Resour Crop Evol*, 41, 133–150. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/BF00051630>
- Almeida, N. F., Yan, S., Cai, R., Clarke, C. R., Morris, C. E., & Al. Et. (2010). PamDB, a multilocus sequence typing and analysis database and website for plant-associated microbes. *Phytopathology*, 100, 208–215.
- Almeida, R. P. P., De La Fuente, L., Koebnik, R., Lopes, J. R. S., Parnell, S., & Scherm, H. (2019). Addressing the New Global Threat of *Xylella fastidiosa*. *Phytopathology*, 109(2), 172–174. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-18-0488-FI>
- Almonacid, R. C., Aguirre, M. R. A., Velozo, L., & Caceres, S. (2016). The stem borer: cassava crop pest/El barrenador del tallo : plaga del cultivo de mandioca. In *Hoja de divulgación / EEA Bella Vista*. Buenos Aires, Argentina.
- Altenbach, D., & Robatzek, S. (2007). Pattern recognition receptors: from the cell surface to intracellular dynamics. *Mol Plant Microbe Interact.*, 20(9), 1031-1039.

<https://doi.org/10.1094/MPMI-20-9-1031>

- Alzate, A., Vallejo, F., Ceballos, H., Perez, J., & Fregene, M. (2010). variabilité génétique du manioc cultivé par de petites les agriculteurs de la région des caraïbes en colombie. *Loi Agron.*, 59(4), 385–393.
- Ameu, M., Hire, J., Kamalandua, D., Ndambi, C., & Oduori, W. (2013). *Cassava Farmer Field Schools: Resource Material for Facilitators in Sub-Saharan Africa*. (FAO, ed.). Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i3447e.pdf>
- An, S.-Q., Potnis, N., Dow, M., Vorhölter, F.-J., He, Y.-Q., Becker, A., ... Tang, J.-L. (2019). Mechanistic insights into host adaptation, virulence and epidemiology of the phytopathogen *Xanthomonas*. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(1), 1–32. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz024>
- Andanson, A. (2010). *Evolution de l'agressivité des champignons phytopathogènes, couplage des approches théorique et empirique*. Université Nancy I - Henri Poincaré.
- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol.*, 55, 373-399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
- Arrieta-Ortiz, M. L., Rodríguez-R, L. M., Pérez-Quintero, Á. L., Poulin, L., Díaz, A. C., Rojas, N. A., ... Bernal, A. (2013a). Genomic survey of pathogenicity determinants and VNTR markers in the cassava bacterial pathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* strain CIO151. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079704>
- Arrieta-Ortiz, M. L., Rodríguez-R, L. M., Pérez-Quintero, Á. L., Poulin, L., Díaz, A. C., Rojas, N. A., ... Bernal, A. (2013b). Genomic survey of pathogenicity determinants and VNTR markers in the cassava bacterial pathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* strain CIO151. *PLoS ONE*, 8(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079704>
- ASSIGBETSÉ K., VERDIER V., WYDRA K., R. K. & G. J. P. (1998). Genetic variation of the cassava bacterial blight pathogen, *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, originating from different ecozones in Africa. *IX International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, 223–229. Madras, India.
- Atkinson, N. J., & Urwin, P. E. (2012). The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany*, 63(10), 3523–3543. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers100>
- Ausubel, F. M. (2005). Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? *Nat Immunol.*, 6(10), 973-979. <https://doi.org/doi:10.1038/ni1253>
- Autriqué, A., & Perreaux, D. (1989). Maladies et ravageurs des cultures de la région des grands lacs d'Afrique Centrale. In *Publications du Service Agricole*. Brussels, Belgium.
- Avelino, J., Cristancho, M., Georgiou, S., Imbach, P., Aguilar, L., Bornemann, G., Läderach, P., Anzueto, F., Hruska, A. J., & Morales, C. (2015). The coffee rust crises in Colombia and central America (2008–2013): impacts, plausible causes and proposed solutions. *Food Security*, 7(2), 303–321.
- Bandyopadhyay, R., Mwangi, M., Aigbe, S. O., & Leslie, J. F. (2006). Fusarium species from the cassava root rot complex in West Africa. *Phytopathology*, 96(6), 673–676.
- Banito, A., Kpemoua, K. E., & 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(4), 152–161. <https://doi.org/10.1007/BF03356261>
- Banito, A, Kpémoua, K. E., & Wydra, K. (2010). Screening of cassava genotypes for resistance to bacterial blight using strain x genotype interactions. *Journal of Plant Pathology*, 92(1), 181–186. <https://doi.org/10.4454/jpp.v92i1.28>
- Banito, Agnassim. (2003). *Integrated control of cassava bacterial blight in West Africa in relation to ecozones , host plant resistance and cultural practices* *Doktors der*

*Gartenbauwissenschaften Integrated control of cassava bacterial blight in West Africa in relation to ecozones*. University of Hannover.

- Banito, Agnassim, Verdier, V., Kpemoua, K. E., & 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(9), 418–428.
- Bart, R., Cohn, M., Kassen, A., McCallum, E. J., Shybut, M., Petriello, A., ... Staskawicz, B. J. (2012). High-throughput genomic sequencing of cassava bacterial blight strains identifies conserved effectors to target for durable resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208003109>
- Bart, R. S., & Taylor, N. J. (2017). New opportunities and challenges to engineer disease resistance in cassava, a staple food of African small-holder farmers. *PLoS Pathogens*, Vol. 13. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006287>
- Bart, Rebecca, Cohn, M., Kassen, A., McCallum, E. J., Shybut, M., Petriello, A., ... Staskawicz, B. J. (2012). Erratum: High-throughput genomic sequencing of cassava bacterial blight strains identifies conserved effectors to target for durable resistance (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (2012) 109, (E1972-E1979) DOI: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(32), 13130. <https://doi.org/10.1073/pnas.1211014109>
- Bayitse, R., Tornyie, F., & Bjerre, A. B. (2017). Cassava cultivation, processing and potential uses in Ghana. In C. Klein (Ed.), *Handbook on Cassava* (pp. 313–333). Retrieved from [https://www.researchgate.net/profile/Richard\\_Bayitse/publication/320234151\\_Cassava\\_cultivation\\_processing\\_and\\_potential\\_uses\\_in\\_Ghana/links/5c347ea5299bf12be3b6a4c1/Cassava-cultivation-processing-and-potential-uses-in-Ghana.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Richard_Bayitse/publication/320234151_Cassava_cultivation_processing_and_potential_uses_in_Ghana/links/5c347ea5299bf12be3b6a4c1/Cassava-cultivation-processing-and-potential-uses-in-Ghana.pdf)
- Begue, K. (2017). *Diversité génétique et épidémiologie moléculaire des populations colombiennes de X. axonopodis. pv. manihotis (Xam), bactérie pathogène du manioc*. Toulouse.
- Belkum, A. van, Tassios, P. T., Dijkshoorn, L., Haeggman, S., Cookson, B., Fry, N. K., ... Struelens, M. (2007). Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases, CMI*, 13(Suppl. 3), 1–46. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01786.x>
- Belkum, Alex Van. (2007). *Tracing isolates of bacterial species by multilocus variable number of tandem repeat analysis ( MLVA )*. 49, 22–27. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00173.x>
- Bellotti, A. C. (2002). Arthropod pests. In R. J. Hillocks, J. M. Thresh, & A. Bellotti (Eds.), *Cassava: Biology, Production and Utilization* (CABI, pp. 209–235). Wallingford, UK. Blagbrough: CABI Publishing.
- Bellotti, A. C., Smith, L., & Lapointe, S. L. (1999). Recent advances in cassava pest management. *Annual Review of Entomology*, 44(1), 343–37.
- Berger, S., Sinha, A. K., & Roitsch, T. (2007). Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant–pathogen interactions. *Journal of Experimental Botany*, 58(15–16), 4019–4026. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm298>
- Bergsma-Vlami, M., Martin, W., Koenraadt, H., Teunissen, H., Pothier, J., Duffy, B., & van Doorn, J. (2012). Molecular typing of Dutch isolates of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* isolated from ornamental cherry laurel. *J Plant Pathol*, 94((1):), S1. 29–S21. 35.
- Bernal-Galeano, V., Ochoa, J. C., Trujillo, C., Rache, L., Bernal, A., & López, C. A. (2018). Development of a multiplex nested PCR method for detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Cassava. *Tropical Plant Pathology*, 43(4), 341–350. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0214-4>
- Berry, L. (1977). Bacterial toxins. *CRC Crit Rev Toxicol*, 5(3), 239–318. <https://doi.org/doi:10.3109/10408447709082601>

- Block, A., Li, G., Fu, Z. Q., & Alfano, J. R. (2008). Phytopathogen type III effector weaponry and their plant targets. *Current Opinion in Plant Biology*, *11*(4), 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.06.007>
- Boch, J., & Bonas, U. (2010). Xanthomonas AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function. *Annu Rev Phytopathol.*, *48*, 419-436. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081936>
- Bogdanove, A. J., Schornack, S., & Lahaye, T. (2010). TAL effectors: finding plant genes for disease and defense. *Current Opinion in Plant Biology*, *13*(4), 394–401. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.04.010>
- Boher, B., Kpemoua, K., Nicole, M., Luisetti, J., & Geiger, J. P. (1995). Ultrastructure of interactions between cassava and *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*: Cytochemistry of cellulose and pectin degradation in a susceptible cultivar. *Phytopathology*, *85*(7), 777-788.
- Boher, B., & Verdier, V. (1995). Cassava bacterial blight in Africa: the state of knowledge and implications for designing control strategies. *Afr Crop Sci J*, *2*(4), 505–509. Retrieved from <https://www.ajol.info/index.php/acsj/article/view/136008>
- Bonas, U., Stall, R., & Staskawicz, B. (1989). Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Mol Gen Genet*, *218*(1), 127–136. <https://doi.org/10.1007/BF00330575>
- Bosch, T., de Neeling, A., Schouls, L., Zwaluw, K., Kluytmans, J., Grundmann, H., & Huijsdens, X. (2010). PFGE diversity within the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal lineage ST398. *BMC Microbiol*, *10*(1), 40.
- Boucher, C., & Genin, S. (2008). La cellule végétale: un champ de bataille pour les agents phytopathogènes. *La Lettre de l'Académie Des Sciences*, 11. Retrieved from [www.academie-sciences.fr](http://www.academie-sciences.fr)
- Bouwmeester, H., Heuvelink, G. B. M., Legg, J. P., & Stoorvogel, J. J. (2012). Comparison of disease patterns assessed by three independent surveys of cassava mosaic virus disease in Rwanda and Burundi. *Plant Pathology*, *61*(2), 399-412.
- Boyd, L. A. (2006). Perspective Can the durability of resistance be predicted? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *86*(15), 2523–2526. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Bradbury, J. F. (1986). *Guide to plant pathogenic bacteria*. (xviii). Farnham Royal, Slough, UK: CAB International.
- Broschat, S., Call, D., Davis, M., Meng, D., Lockwood, S., Ahmed, R., & Besser, T. (2010). Improved identification of epidemiologically related strains of *Salmonella enterica* by use of a fusion algorithm based on pulsed-field gel electrophoresis and multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis. *J Clin Microbiol*, *48*(11), 4072–4082.
- Brown, L. R. (2006). *Plan B 2.0: Rescuing a planet under stress and a civilization in trouble*. (W.W. Norton; W. N. & Co, Ed.). New York.
- Buddenhagen, C., Hernandez Nopsa, JF Andersen, K., Andrade-Piedra, J., Forbes, G., Kromann, P., Thomas-Sharma, S., ... Garrett, K. (2017). Epidemic Network Analysis for Mitigation of Invasive Pathogens in Seed Systems: Potato in Ecuador. *Phytopathology*, *107*(10), 1209–1218. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-17-0108-FI>
- Burholder, W. (1942). Three bacterial plant pathogens: *Phytomonas caryophylli* sp.n., *Phytomonas alliicola* sp.n., and *Phytomonas manihotis* (Arthaud-Berthet et Bondar Viegas. *Ibid.*, *32*, 141–192.
- Büttner, D., & Bonas, U. (2009). Regulation and secretion of *Xanthomonas* virulence factors. *FEMS Microbiol Rev.*, *34*(2), 107–133. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00192.x>
- CAB-International. (1993). *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. [*Distribution map*]. (No. Map 521.). Wallingford, , UK.

- CABI. (2019). Invasive Species Compendium Detailed coverage of invasive species threatening livelihoods and the environment worldwide. Retrieved August 9, 2019, from Datasheet on *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (cassava bacterial blight) website: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/56952>
- Call, D., Orfe, L., Davis, M., Lafrentz, S., & Kang, M.-S. (2008). Impact of compounding error on strategies for subtyping pathogenic bacteria. *Foodborne Pathog Dis*, 5(4), 505–516.
- Calvert, L. A., & Thresh, J. M. (2002). The viruses and virus diseases of cassava. In R. J. Hillocks, J. M. Thresh, & A. C. Bellotti (Eds.), *Cassava: Biology, Production and Utilization*. (pp. 237-260.). Oxon, UK and New York, USA: CABI Publishing.
- Camerecole.org. (2016). Les problèmes de l’agriculture tropicale : le cas du Cameroun (obstacles naturels, techniques, économiques). Retrieved July 21, 2019, from Les problèmes de l’agriculture tropicale : Le cas du Cameroun website: <https://www.camerecole.org/classes/303-les-problemes-de-l-agriculture-tropicale-le-cas-du-cameroun.html>
- Campbell, C. L., & Madden, L. V. (1990). Temporal analysis of epidemics. I: Description and comparison of disease progress curves. In *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. (pp. 161–202). New York, NY, USA: John Wiley & Sons.
- Campos, H., & Ortiz, O. (2019). The Potato Crop. In Hugo Campos - Oscar Ortiz (Ed.), *The Potato Crop*. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-2340-2>
- Cangelosi, G., Freeman, R., Lewis, K., Livingston-Rosanoff, D., Shah, K., Milan, S., & Goldberg, S. (2004). Evaluation of a high-throughput repetitive- sequence-based PCR system for DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex strains. *J Clin Microbiol*, 42(6), 2685–2693.
- Carbone, I., & Kohn, L. (2004). Inferring process from pattern in fungal population genetics. *Appl. Mycol. Biotechnol.*, 4, 29–58.
- Casadevall, A., & Pirofski, L. A. (1999). Host-pathogen interactions: redefining the basic concepts of virulence and pathogenicity. *Infection and Immunity*, 67(8), 3703–3713.
- Castiblanco, L. F., Gil, J., Rojas, A., Osorio, D., Gutiérrez, S., Muñoz-Bodnar, A., ... Bernal, A. J. (2013). TALE1 from *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis* acts as a transcriptional activator in plant cells and is important for pathogenicity in cassava plants. *Molecular Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00830.x>
- Catanzariti, A., Dodds, P., & Ellis, J. (2007). Avirulence proteins from haustoria-forming pathogens. *FEMS Microbiol Lett.*, 269(2), 181-188. <https://doi.org/doi:10.1111/j.1574-6968.2007.00684.x>
- Cazaux, M. (2009). *Etude de la résistance de la légumineuse modèle*. Université Toulouse III – Paul Sabatier.
- Century, K., Lagman, R., Adkisson, M., & Al., E. (1999). Short communication: developmental control of Xa21-mediated disease resistance in rice. *Plant J.*, 20(2), 231-236. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1999.00589.x>
- Chan, J. W., & Goodwin, P. H. (1999). The molecular genetics of virulence of *Xanthomonas campestris*. *Biotechnology Advances*, 17(6), 489–508. [https://doi.org/10.1016/s0734-9750\(99\)00025-7](https://doi.org/10.1016/s0734-9750(99)00025-7)
- Chege, M. N., Wamunyokoli, F., Kamau, J., & Nyaboga, E. N. (2017). Phenotypic and genotypic diversity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* causing bacterial blight disease of cassava in Kenya. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(02), 38–44. <https://doi.org/10.7324/jabb.2017.50206>
- Chege, M., Wamunyokoli, F., ... J. K.-J. of A., & 2017, undefined. (n.d.). Phenotypic and genotypic diversity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* causing bacterial blight disease of cassava in Kenya. *Jabonline.In*. Retrieved from [http://www.jabonline.in/admin/php/uploads/191\\_pdf.pdf](http://www.jabonline.in/admin/php/uploads/191_pdf.pdf)



- Chen Z, Agnew JL, Cohen JD, He P, Shan L, Sheen J, K. B. (2007). Pseudomonas syringae type III effector AvrRpt2 alters Arabidopsis thaliana auxin physiology. *Proc Natl Acad Sci*, 104(50), 20131–20136. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704901104>
- Chikoti, P. C., Mulenga, R. M., Tembo, M., & Sseruwagi, P. (2019). Cassava mosaic disease: a review of a threat to cassava production in Zambia. *Journal of Plant Pathology*, 101, 467–477. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00267-w>.
- Chirinos, J., Montilla, J., & Vaccarino, L. (2006). Manejo integrado de las principales enfermedades que afectan al cultivo de la yuca (Manihot esculenta Crantz), en la zona sur del estado anzoátegui. Retrieved from Revista Digital CENIAP HOY website: [www.ceniap.gov.ve](http://www.ceniap.gov.ve).
- Chisholm, S. T., Coaker, G., Day, B., & Staskawicz, B. J. (2006). Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell*, 124(4), 803-814. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.008>
- CIAT. (2011). *The Cassava Handbook: A Reference Manual Based on the Asian Regional*. (R. H. Howeler, Ed.). Retrieved from [http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos\\_Ciat/biblioteca/The\\_Cassava\\_Handbook\\_2011.pdf](http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/The_Cassava_Handbook_2011.pdf).
- Cohen, S. P., Liu, H., Argueso, C. T., Pereira, A., Vera Cruz, C., Verdier, V., & Leach, J. E. (2017). RNA-Seq analysis reveals insight into enhanced rice Xa7-mediated bacterial blight resistance at high temperature. *PLoS One*, 12(11), e0187625. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187625>
- Cohn, M., Shybut, M., Dahlbeck, D., & Staskawicz, B. (2015). Assays to Assess Virulence of Xanthomonas axonopodis pv. manihotis on Cassava. *Bio-Protocol*, 5(13), e1522. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1522>.
- COLEACP. (2011). *Guide de Bonnes Pratiques Phytosanitaires Pour La Production de Manioc (Manihot Esculenta)*. (P. C. PIP, Ed.). Brussels, Belgium.
- Coletta-Filho, H., Takita, M., De Souza, A., Aguilar-Vildoso, C., & Machado, M. (2001). Differentiation of strains of Xylella fastidiosa by a variable number of tandem repeat analysis. *Appl Environ Microbiol*, 67(9), 4091–4095.
- Collier SM, M. P. (2009). NB-LRRs work a “bait and switch” on pathogens. *Trends Plant Sci*, 14(10), 521-529. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.08.001>
- Constantin, E. C., Cleenwerck, I., Maes, M., Baeyen, S., Van Malderghem, C., De Vos, P., & Cottyn, B. (2016). Genetic characterization of strains named as Xanthomonas axonopodis pv. dieffenbachiae leads to a taxonomic revision of the X. axonopodis species complex. *Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/ppa.12461>
- Coppens d’Eeckenbrugge, G., Schiavo, M., Caron, E., Ongwen, D., Ileri Kamau, J., Rono, B., & Leclerc, C. (2019). Worldwide interconnections of Africa using crops as historical and cultural markers. *Les Cahiers d’Afrique de l’Est/The East African Review*, 52(2019), 7–41. Retrieved from <https://journals.openedition.org/eastafrika/456>
- Cordelier, S., de Ruffray, P., Fritig, B., & Kauffmann, S. (2003). Biological and molecular comparison between localized and systemic acquired resistance induced in tobacco by a Phytophthora megasperma glycoprotein elicitor. *Plant Mol Biol*, 51(1), 109-118. <https://doi.org/10.1023/a:1020722102871>
- Cornelis, G., & Van Gijsegem, F. (2000). Assembly and function of type III secretory systems. *Annu Rev Microbiol*, 54, 735–774.
- Coulibaly, O., Arinloye, A. D., Faye, M., Abdoulaye, T., Calle-Goulivas, A., & Ahoyo, R. (2014). *Analyse des chaînes de valeur régionales du manioc en Afrique de l’Ouest. Étude de cas de la Côte-d’Ivoire*. <https://doi.org/DOI:10.13140/2.1.3427.7446>.
- Crantz, H. (1766). Institutiones rei herbariae. In *Institutiones rei herbariae iuxta nutum naturae digestae ex habitu tomus: Vol. Vol. 2*.
- Cuguen, J. (2007). *Génétique des populations*. Lille.

- da Costa, G. A., Freitas-Lopes, R. L., Lino, J. B., Julião, E. C., Michereff, S. J., & Lopes, U. P. (2020). An efficient method for inducing sporulation of cercosporoid fungal species causing leaf spots in cassava. *Journal of Plant Pathology*, 102(1), 201-204. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s42161-019-00404-5>
- Dagno, K. (2016). *Consolidation du schéma d'agrégation des agriculteurs familiaux conformément aux règles de l'OHADA. Cas des régions soudano-sahéliennes du Mali*. Liège, Belgique.
- Daniel, J.-F., Boher, B., & Kohler, F. (1981). Les maladies bactériennes du manioc (*Manihot esculenta* Crantz) en République Populaire du Congo et en République Centrafricaine. *Agronomie*, 1(9), 751–756. <https://doi.org/10.1051/agro:19810906>
- Daniel, J. (1991). *Contribution à l'étude de la Biologie de Xanthomonas campestris Pathovar manihotis (Arthaud-Berthet et Bondar) Starr, Agent Responsable de la bactériose Vasculaire Du Manioc, Manihot esculenta Crantz*. Université de Paris-Sud Centre D'Orsay.
- Daniel, J., & Boher, B. (1985). Epiphytic phase of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* on aerial parts of cassava. *Agronomie*, 5, 111–116.
- Daniel, J. F. (1977). Un nouveau dépérissement en Empire Centrafricain, La bactériose vasculaire à *Xanthomonas manihotis*. *ORSTOM*, 3, 14p.
- Daniel, J. F., & 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*. (No. Mars, 1.).
- Daniel JF; Boher B; Mabanza J; Makambila C. (1979). Cassava bacterial blight in the Congo: etiology, epidemiology and control. In *Cassava Bacterial Blight in Africa; Past, Present and Future*. IITA, Ibadan, Nigeria.
- Danin-Poleg, Y., Cohen, L., Gancz, H., Broza, Y., Goldshmidt, H., Malul, E., ... Kashi, Y. (2007). *Vibrio cholerae* strain typing and phylogeny study based on simple sequence repeats. *J Clin Microbiol*, 45(3), 736–746.
- Dardick, C., & Ronald, P. (2006). Plant and animal pathogen recognition receptors signal through non-RD kinases. *PLoS Pathog.*, 2(1), e2. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0020002>
- Darwin, C. (1859). On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life. In Ktoczyta.pl (Ed.), *Nature*.
- De Meeus, T., McCoy, K. D., Prugnolle, F., Chevillon, C., Durand, P., Hurtrez-Bousses, S., & Renaud, F. (2007). Population genetics and molecular epidemiology or how to “debusquer la bete.” *Infection, Genetics and Evolution*, 7(2), 308–332. <https://doi.org/doi:10.1016/j.meegid.2006.07.003>
- de Torres-Zabala, M., Truman, W., Bennett, M., & Al., E. (2007). *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* hijacks the Arabidopsis abscisic acid signalling pathway to cause disease. *EMBO J.*, 26(5), 1434-1443. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601575>
- de Vienne, D. (1998). *Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales*. (1ere ed.; INRA, Ed.). INRA.
- de Wit, P. J. (2007). How plants recognize pathogens and defend themselves. *Cell Mol Life Sci.*, 64(21), 2726-2732. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7284-7>
- De wit, P. J. (1995). Fungal avirulence genes and plant resistance genes: unraveling the molecular basis of gene-for-gene interactions. *Advances in Botanical Research*, 21, 147–185.
- Delaquis, E., Andersen, K., Minato, N., Le Cu, T., Karssenberg, M., Sok, S., & Al., E. (2018). Raising the Stakes: Cassava Seed Networks at Multiple Scales in Cambodia and Vietnam. *Front Sustain Food Syst.*, 2, 73. Retrieved from <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00073>
- Dembele, B., Bett, H. K., Mutai, M., & Le Bars, M. (2017). Dynamics and adaptation of

- agricultural farming systems in the boost of cotton cropping in southern Mali. *African Journal of Agricultural Research*, 12(18), 1552–1569. <https://doi.org/10.5897/ajar2017.12159>
- Dembele, D., Diarra, B., Sanogo, F., Bengali, M., Ballo, A., Samake, O., & Sissoko, M. (2013). *Evaluation de variétés locales de manioc et de patate douce au Mali*. Bamako.
- Denamur, E., & Picard, B. (1995). De la génétique des populations bactériennes. *Medecine/Sciences*, 11, 1399–1406.
- Desender, S., Andrivon, D., & Val, F. (2007). Activation of defence reactions in Solanaceae: where is the specificity?. *Cell Microbiol.*, 9(1), 21–30. <https://doi.org/doi:10.1111/j.1462-5822.2006.00831.x>
- Diamond, J. (2005). *Collapse: How societies choose to fail or succeed*. (Penguin Bo; P. Books, Ed.). New York.
- Diop, A. (2013). *Diagnostic des pratiques d'utilisation et quantification des pesticides dans la zone des Niayes de Dakar (Sénégal)*. Université du Littoral Côte d'Opale, Dunkerque (France).
- Djaha, K. E., Abo, K., Bonny, B. S., Kone, T., Amouakon, W. J. L., Kone, D., & Kone, M. (2017). Caractérisation agromorphologique de 44 accessions de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) cultivés en Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 11(1), 174–184. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i1.14>
- Dordas, C. (2008). Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 28, 33–46. <https://doi.org/10.1051/agro:2007051>
- Dorey, S., Baillieul, F., Saindrenan, P., Fritig, B., & & Kauffmann, S. (1998). Tobacco class I and II catalases are differentially expressed during elicitor-induced hypersensitive cell death and localized acquired resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11(11), 1102–1109. Retrieved from <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/MPMI.1998.11.11.1102>
- Doyle EL, Stoddard BL, Voytas DF, B. A. (2013). TAL effectors: highly adaptable phyto-bacterial virulence factors and readily engineered DNA-targeting proteins. *Trends Cell Biol.*, 23(8), 390-398. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2013.04.003>
- Durrant, W. E., & Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annu Rev Phytopathol.*, 42, 185-209. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421>
- Dye, D. B. (1978). Genus *Xanthomonas* Dowson. A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. *New Zealand Journal of Agricultural Research.*, 21(1), 53–177.
- Dykhuisen, D., & Green, L. (1991). Recombination in *Escherichia coli* and the definition of biological species. *Bacteriol*, 173, 7257–7268.
- EARRNET. (2015). Ecologically sustainable plant protection. Retrieved February 1, 2015, from [http://www.asareca.org/earrnet/plant\\_health.htm](http://www.asareca.org/earrnet/plant_health.htm)
- Ehui, Kouadio Jean Nestor Toure, H. M. A. C., Kouame, K. G., Abo, K., & Kone, D. (2018). Identification and Characterizations of Pathogenic Fungal Species Associated with Symptoms of Cassava Anthracnose in Ivory Coast. *Annual Research & Review in Biology*, 30(4), 1–9. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2018/v30i430017>
- Ehui, K. J. N., Toure, H. M. A. C., Kakou, D. J., Yeo, F. E., Abo, K., & Kone, D. (2019). Assessing the impact of agronomic, geographical and climatic variables on the spread of cassava anthracnose disease in Cote d'Ivoire. *Agronomie Africaine*, 31(2), 223–233.
- Eitas, T., & Dangl, J. (2010). NB-LRR proteins: pairs, pieces, perception, partners, and pathways. *Curr Opin Plant Biol.*, 13(4), 472-477. <https://doi.org/doi:10.1016/j.pbi.2010.04.007>
- Ejiofor, A. O. (1991). Production of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 as bioinsecticide using a mixture of 'spent' brewer's yeast and waste cassava starch as the fermentation

- medium. *Disc Innovation*, 3(2), 85–88.
- Ekeleme, F., Atser, G., Dixon, A., Hauser, S., Chikoye, D., Olorunmaiye, P. M., ... Olojede, A. O. (2019). Assessment of weeds of cassava and farmers management practices in Nigeria. *Tropicultura*, 37(2). <https://doi.org/10.25518/2295-8010.586>
- El-Sharkawy, M. A. (2007). Physiological characteristics of cassava tolerance to prolonged drought in the tropics: Implications for breeding cultivars adapted to seasonally dry and semiarid environments. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(4), 257–286.
- Elango, F., & Lozano, J. C. (1981). Pathogenic variability of *Xanthomonas manihotis*, the causal agent of cassava bacterial blight. *Fitopatologia Brasileira*, 6, 57–63.
- Elias, M., Penet, L., Vindry, P., MCKey, D., Panaud, O., & Robert, T. (2001). Unmanaged sexual reproduction and the dynamics of genetic diversity of a vegetatively propagated crop plant, cassava (*Manihot esculenta* Crantz), in a traditional farming system. *Mol. Ecol.*, 10(8), 1895–1907. Retrieved from <http://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01331.x>
- Elias, M., Santos-mühlen, G., MCKey, D., Roa, A. C., & Tohme, J. (2004). Genetic diversity of traditional South American landraces of cassava (*Manihot esculenta* Crantz): an analysis using microsatellites. *Econ. Bot.*, 58(2), 242–256.
- Ellis, J. G., & Jones, D. A. (2003). Plant disease resistance genes. In R. A. B. Ezekowitz & J. A. Hoffmann (Eds.), *Innate Immunity* (pp. 27–45). Humana Press, Totowa, NJ.
- Emperaire, L., & Peroni, N. (2007). Traditional management of agrobiodiversity in Brazil: a case study of *Manioc*. *Hum. Ecol.*, 35(6), 761–768.
- Emperaire, L., & Pinton, F. (1998). Second G. Gestion dynamique de la diversité variétale du manioc en Amérique du Nord-Ouest. *Nat. Sci. Soci.*, 6(2), 27–42. Retrieved from [https://doi.org/10.1016/S1240-1307\(98\)80006-X](https://doi.org/10.1016/S1240-1307(98)80006-X).
- EPPO. (2020). EPPO Global database. Retrieved July 16, 2020, from EPPO Global database website: <https://gd.eppo.int/>
- Ewbank, E. (1992). *Etude du catabolisme d'acides aminés conduisant à la formation de phytotoxines par Xanthomonas campestris pv. manihotis (agent pathogène de la bactériose du manioc)*. Université Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgium.
- Ezedinma, C., Udensi, U., Ukechukwu, R., Ibana, S., Akoroda, M., Ilona, P., ... Dixon, A. G. O. (2007). *Cassava weeds and management in Nigeria*. Ibandan, Nigeria.
- Falade, O. K., & Akingbala, J. O. (2010). Utilization of Cassava for Food. *Food Reviews International*, 27(1), 51–83. <https://doi.org/10.1080/87559129.2010.518296>
- Fanou, A. A., Zinsou, V. A., & Wydra, K. (2018). Cassava Bacterial Blight: A Devastating Disease of Cassava. In *Cassava*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71527>
- FAO. (2008). *Catalogue ouest africain des espèces et variétés végétales* (FAO, Ed.). Rome, Italie: FAO.
- FAO. (2010). *Cassava diseases in Africa: A major threat to food security*. (No. ISBN 978-92-106519-8 All). <https://doi.org/ISBN 978-92-106519-8 All>
- FAO. (2011). La production. In FAO (Ed.), *In Vino Veritas* (FAO). <https://doi.org/10.4000/books.pum.7888>
- FAO. (2013a). *Produire plus avec moins: Le manioc Guide pour une intensification durable de la production* (3rd ed.).
- FAO. (2013b). *Produire plus avec moins de*. Rome.
- FAO. (2014). *Champs-écoles paysans sur le manioc: Ressources à l'intention des facilitateurs d'Afrique sub-saharienne* (FAO; FAO, Ed.). Retrieved from <http://www.fao.org>
- FAO. (2019). Nouvelles résolutions de l'ONU sur la santé des végétaux, la sécurité alimentaire et les légumineuses. *Nouvelles Résolutions de l'ONU Sur La Santé Des Végétaux, La Sécurité Alimentaire et Les Légumineuses*. Retrieved from <http://www.fao.org/news/story/fr/item/1175488/icode/>
- FAOstat. (2020). Données de productions agricoles. Retrieved June 12, 2020, from Culture

- website: <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC/visualize>
- Fargette, D., Fauquet, C., & Thouvenel, J.-C. (1988). Yield losses induced by African cassava mosaic virus in relation to the mode and date of infection. *Tropical Pest Management*, 34, 89–91.
- Ferguson, M. E., Shah, T., Kulakow, P., & Ceballos, H. A. (2019). global overview of cassava genetic diversity. *PLoS One*, 14.(11), e0224763. <https://doi.org/doi:10.1371/journal.pone.0224763>
- Ferguson, M., Rabbi, I., Kim, D., Gedil, M., Lopez-Lavalle, L., & Okogbenin, E. (2012). Molecular markers and their application to cassava breeding: past, present and future. *Tropical Plant Biology*, 5(1), 95–109. <https://doi.org/10.1007/s12042-011-9087-0>
- Fermont, A. M., Van Asten, P. J. A., Tittonell, P., Van Wijk, M. T., & Giller, K. . (2009). Closing the cassava yield gap: an analysis from smallholder farms in East Africa. *Field Crops Research*, 112(1), 24-36.
- Ferreira-Tonin, M., Rodrigues-Neto, J., Harakava, R., & Destéfano, S. (2012). Phylogenetic analysis of Xanthomonas based on partial rpoB gene sequences and species differentiation by PCR-RFLP. *Int J Syst Evol Microbiol.*, 62(6), 1419–1424. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.028977-0>
- Fleury, F. (2003). Précis de génétique des populations. *Biofutur*, 2000(199), 49. [https://doi.org/10.1016/s0294-3506\(00\)88891-2](https://doi.org/10.1016/s0294-3506(00)88891-2)
- Flood, J., Cooper, R., Deshappriya, N., & Day, R. (1995). Resistance of cassava (Manihot esculenta) to Xanthomonas blight in vitro and in planta. *Asp Appl Biol*, 42, 277–284.
- Flor, H. (1971). Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9, 275–296.
- Flor, H. H. (1947). Inheritance of pathogenicity in Melampsora lini. *Phytopathology*, 32, 653–669.
- Flores, C., Zarate, C., Triplett, L., Maillot-Lebon, V., Moufid, Y., Kanté, M., ... Robène, I. (2018). Development of a duplex-PCR for differential diagnosis of Xanthomonas phaseoli pv. manihotis and Xanthomonas cassavae in cassava (Manihot esculenta). *Physiological and Molecular Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.07.005>
- Flores, Carolina. (2017). *Cassava Bacterial Blight : Development of a performant molecular detection tool and diversity analysis of Xanthomonas axonopodis pv. manihotis populations in Venezuela*. Université de Montpellier.
- Flores, Carolina, Zarate, C., Triplett, L., Maillot-Lebon, V., Moufid, Y., Kanté, M., ... Robène, I. (2019). Development of a duplex-PCR for differential diagnosis of Xanthomonas phaseoli pv. manihotis and Xanthomonas cassavae in cassava (Manihot esculenta). *Physiological and Molecular Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.07.005>
- Fokunang, C. N., Dixon, A. G., Ikotun, T., Tembe, E. A., Akem, C. N., & Asiedu, R. (2001). Anthracnose: An economic disease of cassava in Africa. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4(7), 920–925.
- Fondation Friedrich Ebert Stiftung. (2018). *Reformer la politique agricole du Mali*. Bamako.
- Francl, L. (2011). The Disease Triangle: A Plant Pathological Paradigm Revisited. *Plant Heal. Instr.* Retrieved May 26, 2020, from Plant Heal. Instr. website: <https://www.apsnet.org/edcenter/foreducators/TeachingNotes/Pages/DiseaseTriangle.aspx>
- Fraser-Liggett, C. (2005). Insights on biology and evolution from microbial genome sequencing. *Genome Res*, 15, 1603–1610.
- Fraser, E. D. G. (2003). Social vulnerability and ecological fragility: building bridges between social and natural sciences using the Irish potato famine as a case study. *Conservation Ecology*, 7(2). Retrieved from <http://www.consecol.org/vol7/iss2/art9> Accessed 28

January 2016.

- Fregene, M., Suarez, M., Mkumbira, J., Kulembeka, H., NDEDYA, E., KULAYA, A., & Et Al. (2003). Simple sequence repeat marker diversity in cassava landraces: genetic diversity and differentiation in an asexually propagated crop. *Theor. Appl. Genet.*, 107(6), 1083–1093. Retrieved from <http://doi.org/10.1007/s00122-003-1348-3>
- Fry, N., Savelkoul, P., & Visca, P. (2009). Amplified fragment-length polymorphism analysis. *Methods Mol. Biol.*, 551, 89–104.
- Fu, Y., Wangsomnuk, P., & Ruttawat, B. (2014). Thai elite cassava genetic diversity was fortuitously conserved through farming with different sets of varieties. *Conserv Genet.*, 15(6), 1463–1478. Retrieved from <http://doi.org/10.1007/s10592-014-0631-y>
- Fu, Z., & Dong, X. (2013). Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. *Annu Rev Plant Biol.*, 64, 839-863. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606>
- Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2006). Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(4), 436–442. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.05.014>
- Fukuda, W. M. G., Guevara, C. L., Kawuki, R., & Ferguson, M. E. (2010). *Selected morphological and agronomic descriptors for the characterization of cassava*. Retrieved from IITA website: [www.iita.org](http://www.iita.org)
- Garcia-Brugger, A., Lamotte, O., Vandelle, E., & Al., E. (2006). Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. *Mol Plant Microbe Interact.*, 19(7), 711-724. <https://doi.org/doi:10.1094/MPMI-19-0711>
- Garrity, G. M., Bell, J. A., Lilburn, T. G., & Lansing, E. (2004). *Taxonomic outline of the prokaryotes bergey's manual of systematic bacteriology*. (2nd ed.; Springer-Verlag, Ed.). <https://doi.org/10.1007/bergeysoutline200405>
- Gechev, T., & Hille, J. (2005). Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *J Cell Biol*, 168(1), 17-20. <https://doi.org/10.1083/jcb.200409170>
- Gerber, A. S., Loggins, R., Kumar, S., & Dowling, T. E. (2001). Does nonneutral evolution shape observed patterns of dna variation in animal mitochondrial genomes? *Ann. Rev. Genet.*, 35, 539–566.
- Gevers, D., Cohan, F. M., Lawrence, J. G., Spratt, B. G., Coenye, T., Feil, E. J., ... Vandamme, P., Thompson, F.L., et al. (2005). Re-evaluating prokaryotic species. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 733–739.
- Gilmour, M., Graham, M., Reimer, A., & Van Domselaar, G. (2013). Public health genomics and the new molecular epidemiology of bacterial pathogens. *Public Health Genomics*, 16(1–2), 25–30. <https://doi.org/10.1159/000342709>
- Gironde, S., & Manceau, C. (2012). Housekeeping Gene Sequencing and Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis To Identify Subpopulations within *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* That Correlate with Host Specificity. *Appl Environ Microbio*, 78(9), 3266–3279.
- Glazebrook, J. (2005). Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annu Rev Phytopathol.*, 43, 205-227. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923>
- Gold, C. S., Altieri, M. A., & Bellotti, A. C. (1990). Direct and residual effects of short duration intercrops on the cassava whiteflies *Aleurotrachelus socialis* and *Trialeurodes variabilis* (Homoptera: Aleyrodidae) in Colombia. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 32(1), 57–67.
- Gomgnimbou, M., Ginevra, C., Peron-Cane, C., Versapuech, M., Refrégier, G., Jacotin, N., ... Jarraud, S. (2014). Validation of a Microbead-Based Format for Spoligotyping of

- Legionella pneumophila*. *J. Clin. Microbiol.*, 52, 2410-5.
- Goodfellow, M., Manfio, G. P., & Chun, J. (1997). Towards A Practical Species Concept for Cultivable Bacteria. In M. F. Claridge, H. A. Dawah, & M. R. Wilson (Eds.), *In Species: The Units of Biodiversity* (pp. 25–59). Chapman & Hall.
- Goujon, M. (1971). CONSIDERATIONS A PROPOS DE LA RÉSISTANCE DES PLANTES LE CAS PARTICULIER DES CAFÉIERS ATTAQUÉS PAR LES ROUILLES ORANGÉE ET FARINEUSE. *Café, Cacao, Thé*, 15(4), 308–328.
- Govrin, E., & Levine, A. (2000). The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea*. *Curr Biol.*, 10(13), 751-757. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)00560-1](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)00560-1)
- Gowariker, V., Krishnamurthy, V. N., Gowariker, S., & Paranjape, K. (2014). *The Pesticide Encyclopedia* (CABI, Ed.). Wallingford, Oxfordshire.
- Graziosi, I., Minato, N., Alvarez, E., Ngo, D. T., Hoat, T. X., Aye, T. M., ... Wyckhuys, K. (2016). Emerging pests and diseases of South-east Asian cassava: a comprehensive evaluation of geographic priorities, management options and research needs. *Pest Management Science*, 72(6), 1071–1089.
- Graziosi, Ignazio, Minato, N., Alvarez, E., Ngo, D. T., Hoat, T. X., Aye, T. M., ... Wyckhuys, K. A. (2016). Emerging pests and diseases of South-east Asian cassava: A comprehensive evaluation of geographic priorities, management options and research needs. *Pest Management Science*, 72(6), 1071–1089. <https://doi.org/10.1002/ps.4250>
- Greenberg, J., & Yao, N. (2004). The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cell Microbiol.*, 6(3), 201-211. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2004.00361.x>
- Grunwald, N., & Goss, E. (2011). Evolution and population genetics of exotic and re-emerging pathogens: novel tools and approaches. *Annu Rev Phytopathol*, 49, 249–267. Retrieved from <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095246>.
- Guthrie, J. (1990). *Contrôler la mosaïque du manioc*, Centre technique de coopération agricole et rurale (1st ed.; CTA, Ed.). CTA.
- Hajri, A., Brin, C., Hunault, G., Lardeux, F., Lemaire, C., Manceau, C., ... Poussier, S. (2009). A “repertoire for repertoire” hypothesis: repertoires of type three effectors are candidate determinants of host specificity in *Xanthomonas*. *PLoS One*, 4(8), e6632.
- Hammond-Kosack, K., & Jones, J. (1996). Resistance gene-dependent plant defense responses. *Plant Cell.*, 8(10), 1773-1791. <https://doi.org/10.1105/tpc.8.10.1773>
- Hammond-Kosack, K., & Kanyuka, K. (2007). Resistance Genes (R Genes) in Plants. *Encyclopedia of Life Science*, 1–21. <https://doi.org/doi:10.1002/9780470015902.a0020119>
- Hanage, W. P., Fraser, C., & Spratt, B. G. (2006). Sequences, sequence clusters and bacterial species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361, 1917–1927.
- Hanson J.D., Liebig M.A., Merrill S.D., Tanaka D.L., Krupinsky J.M., S. D. E. (2007). Dynamic cropping systems: increasing adaptability amid an uncertain future,. *Agron. J.*, 99(Decembre), 939–943.
- Harris, K. P., Martin, A., Novak, S., Kim, S.-H., Reynolds, T., & Anderson, C. L. (2015). *Cassava Bacterial Blight and Postharvest Physiological Deterioration Production Losses and Control Strategies*.
- Harth-Chu, E., Espejo, R., Christen, R., Guzman, C., & Hofle, M. (2009). Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for clonal identification of *Vibrio parahaemolyticus* isolates by using capillary electrophoresis. *Appl Environ Microbiol*, 75(12), 4079–4088.
- Heath, M. C. (2000). Hypersensitive response-related death. *Plant Mol Biol.*, 44(3), 321-334.

<https://doi.org/10.1023/a:1026592509060>

- Heckler, S., & Zent, S. (2008). Piaroa manioc varieties: Hyperdiversity or social currency? *Hum. Ecol.*, 36(5), 679–697.
- Henry, G., & Gottret, V. (1996). *Global Cassava Trends: Reassessing the Crop's Future*. (No. Document No. 157.). Cali, Colombia.
- Herrera-Campo, V., Hyman, G., & Bellotti, A. (2011). Threats to cassava production known and potential geographic distribution of four key biotic constraints. *Food Security*, 3(3), 329–345. <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0141-4>
- Heymans, R., Schouls, L., van der Heide, H., Schim van der Loeff, M., & Bruisten, S. (2011). Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol*, 49(1), 354–363.
- Hidalgo, A., Carvajal, A., La, T., Naharro, G., Rubio, P., Phillips, N., & Hampson, D. (2010). Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis of the swine dysentery pathogen, *Brachyspira hyodysenteriae*. *J Clin Microbiol*, 48(8), 2859–2865.
- Hillocks, R. J., & Thresh, J. M. (2001). Cassava mosaic and cassava brown streak virus diseases in Africa: a comparative guide to symptoms and etiologies. *Roots*, 7(11).
- Hillocks, R. J., & Wydra, K. (2002a). Bacterial, Fungal, and Nematode Diseases. In *Cassava: Biology, Production and Utilization* (A. Bellott, pp. 261–280). Wallingford, UK.: CABI.
- Hillocks, R. J., & Wydra, K. (2002b). Bacterial, fungal and nematode diseases in Cassava: Biology, Production and Utilization. *Cabi*, P261-280.
- Hillocks, R., Maruthi, M., Kulembeka, H., Jeremiah, S., Alacho, F., Masinde, E., & et al. (2016). Disparity between leaf and root symptoms and crop losses associated with cassava brown streak disease in four countries in Eastern Africa. *Phytopathology*, 164(2), 86–93. <https://doi.org/10.1111/jph.12430>.
- Howeler, R., Lutaladio, N. and Thomas, G. (2013). *Save and Grow: Cassava: a guide to sustainable production intensification*. FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Hubert, P., & Dupres, E. (1910). *L e m a n i o c* (H. D. et E. PINAT, Ed.). Paris , 47 et 49 Quai, des grands Augustins: Bibliotheque pratique du colon.
- Hunter, P. (1990). Reproducibility and indices of discriminatory power of microbial typing methods. *J Clin Microbiol*, 28, 1903–1905.
- Ibekwe, G. O. (1978). Cassava Bacterial Blight. *Abstracts of Literature*.
- James, B., Yaninek, J., Neuenschwander, P., Cudjoe, A., Modder, W., Echendu, N., & Toko, M. (2000). *Lutte contre les ravageurs du manioc - Guide de la pratique de lutte intégrée à l'usage des vulgarisateurs*.
- Jann, J., & Fritz, E. (1991). The Status of Cassava Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* in Trinidad. *Journal of Phytopathology*, 133(4), 320–327.
- Jarvis, A., Villegas, J. R., Campo, B. V. H., & Navarro-Racines, C. (2012). Is Cassava the Answer to African Climate Change Adaptation? *Tropical Plant Biology*, 5(1), 9–29. <https://doi.org/DOI: 10.1007/s12042-012-9096-7>
- Jones, J. D., & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444(7117), 323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Jorge, V., & Verdier, V. (2002). Qualitative and quantitative evaluation of cassava bacterial blight resistance in F1 progeny of a cross between elite cassava clones. *Euphytica*, 123(1), 41–48. <https://doi.org/10.1023/A:1014400823817>
- Jourdan, E., Ongena, M., & Thonart, P. (2008). Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *BASE [En Ligne]*, 12(4), 437–449 U. Retrieved from <https://popups.uliege.be:443/1780-4507/index.php?id=3304>
- Juan, F. R. (2017). *Développement d'un schéma MLVA pour l'analyse des populations de Xanthomonas vasicola pv musacearum Rapport de stage présenté par Juan Fuentes Rojas*.



Montpellier.

- Kanduma, E., McHugh, T., & Gillespie, S. (2003). Molecular methods for Mycobacterium tuberculosis strain typing: a user's guide. *J Appl Microbiol*, *94*, 781–791.
- Kang, Y., Huang, J., Mao, G., He, L., & Schell, M. (1994). Dramatically reduced virulence of mutants of *Pseudomonas solanacearum* defective in export of extracellular proteins across the outer membrane. *MPMI*, *7*, 370–377.
- KANTE, M. (2016). *Analyse de la diversité de Xanthomonas axonopodis pv. manihotis au Mali*. Montpellier.
- Kante, M., Flores, C., Moufid, Y., Wonni, I., Hutin, M., Thomas, E., ... Koita, O. (2020). First Report of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*, the Causal Agent of Cassava Bacterial Blight, in Mali. *Plant Disease*, *104*(6), 1852.
- Katan, J. (2000). Physical and cultural methods for the management of soil-borne pathogens. *Crop Protection*, *19*(8–10), 725–731.
- Kawaguchi, A., Tanina, K., & Inoue, K. (2010). Molecular typing and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in greenhouses in Japan. *Plant Pathol*, *59*(1), 76–83.
- Kawooya, R., Wamani, S., Magambo, S., & Nalugo, R. (2016). Weed flora of cassava in west Nile zones of Uganda. *African Crop Science Journal*, *24*(1), 145–148. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4314/acsj.v24i1.16S>
- Kay, S., & Bonas, U. (2009). How *Xanthomonas* type III effectors manipulate the host plant. *Current Opinion in Microbiology*, *12*(1), 37–43. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.12.006>
- Keen, N. T. (1990). Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions. *Annual Review of Genetics*, *24*(1), 447–463. Retrieved from [www.annualreviews.org](http://www.annualreviews.org)
- Keiper, R., & McConchie, F. J. (2000). An analysis of genetic variation in natural populations of *Sticherus flabellatus* [R. Br. (St John)] using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Molecular Ecology*, *9*, 571–581.
- Kemp, B. P., Horne, J., Bryant, A., & Cooper, R. M. (2004). *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* gumD Gene Is Essential for EPS Production and Pathogenicity and Enhances Epiphytic Survival on Cassava ( *Manihot esculenta* ) . *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *64*, 209–218. <https://doi.org/doi:10.1016/j.pmpp.2004.08.007>
- Kergna, A., & Niallibouly, O. (2020). *Potential and Drivers of Livestock Production in Mali*. Retrieved from <https://library.faraafrica.org/wp-content/uploads/2020/03/FRR-Vol-5-No-7-2020-1.pdf>
- Kizito, B., Bua, A., Fregene, M., Egwang, T., Gullberg, U., & Westerbergh, A. (2005). The effect of cassava mosaic disease on the genetic diversity of cassava in Uganda. *Euphytica*, *146*, 45–46.
- Kleitman, F., Barash, I., Burger, A., Iraki, N., Falah, Y., Sessa, G., ... Eichenlaub, R. (2008). Characterization of a *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* population in Israel. *Eur J Plant Pathol*, *121*(4), 463–475.
- Knetsch, C. W., Lawley, T. D., Hensgens, M. P., Corver, J., Wilcox, M. W., & Kuijper, E. J. (2013). Current application and future perspectives of molecular typing methods to study *Clostridium* infections. *Eurosurveillance*, *18*, 203–281.
- Koffi, K. E., N'Zué, B., Brou, K. G., Koussi, K. M., Kouakou, A. M., Koua, A. G., & Zohoury, G. P. (2015). Enzymatic polymorphism of genetic diversity in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) accessions in Côte d'Ivoire. *Greener Journal of Biochemistry and Biotechnology*, *2*(1), 9–17. <https://doi.org/10.15580/GJBB.2015.1.090814351>
- Kone, D., Dao, S., Tekete, C., Doumbia, I., Koita, O., Abo, K., ... Verdier, V. (2015). Confirmation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* Causing Cassava Bacterial Blight in Ivory Coast . *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/pdis-02-15-0172-pdn>
- Koné, Y., Thériault, V., & Smale, M. (2019). *La Subvention Des Engrais Au Mali: Origines,*

- Contexte Et Evolution* (No. 1879-2020–444). <https://doi.org/10.22004/ag.econ.303045>
- Kouakou, J., Nanga Nanga, S., Plagne-Ismail, C., Pali, A. M., & Ognakossan, K. E. (2015). *Production et transformation du manioc* (collection). Yaoundé et Wageningen: collection PRO-AGRO, CTA et ISF.
- Kouakou, Justin, Nanga Nanga, S., Plagne-Ismail, C., Pali, A. M., & Ognakossan, K. E. (2015). *Production et transformation du manioc* (Collection). Retrieved from [https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/76821/1866\\_PDF.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/76821/1866_PDF.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Kranz, J., & Hammat, H. (1979). New records of phytopathogens on cultivated plants. *FAO Plant Protection Bulletin*, 27(3), 97–99.
- Kwaje, S. (1982). Bacterial blight on cassava. *FAO Plant Protection Bulletin*, 30(2), 82–83.
- Labazée, P. (1993). Les échanges entre le Mali, le Burkina Faso et le nord de la Côte-d'Ivoire : L'économie marchande à l'état pratique. In IRD (Ed.), *Grands commerçants d'Afrique de l'Ouest*. (IRD Editio). Retrieved from [http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/pleins\\_textes\\_7/b\\_fdi\\_03\\_05/40027.pdf](http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_7/b_fdi_03_05/40027.pdf)
- Lamprecht, M. (2015). *Genetic diversity and farmers selection of cassava (Manihot esculenta Crantz) varieties on small-scale farms in Northern and Central Vietnam*. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Launay, A. (2014). *Recherche de supprimeurs de la toxicité induite chez Arabidopsis thaliana par l'effecteur de type 3 DspA/E et étude du stress oxydant au cours de l'infection*. (Université Paris Sud - Paris XI). Retrieved from <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01063409/document>
- Le Fleche, P., Hauck, Y., Onteniente, L., Prieur, A., Denoeud, F., Ramiise, V., ... Vergnaud, G. (2001). A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiol*, 1(1), 2.
- Legg, J.P., & Thresh, J. M. (2003). Cassava virus diseases in Africa. *First International Conference on Plant Virology in Sub-Saharan Africa (4–8 June 2001, Ibadan, Nigeria)*, 517–522. IITA, Ibadan, Nigeria.
- Legg, James P., Kumar, P. L., Makesh Kumar, T., Tripathi, L., Ferguson, M., Kanju, E., ... Cuellar, W. (2015). Cassava virus diseases: biology, epidemiology, and management. In N. I. K. Gad Loebenstein (Ed.), *Control of Plant Virus Diseases: Vegetatively-Propagated Crops* (Advances in, pp. 85–142). <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2014.10.001>
- Leigh, J. A., & Coplin, D. L. (1992). Exopolysaccharides in plant-bacterial interactions. *Annu Rev Microbiol*, 46, 307–346. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.46.100192.001515>
- Lepoivre, P. (2003). *Principe de Phytopathologie* (DE BOECK S; D. B. SUPERIEUR, Ed.).
- Leu, L. (1978). Cassava bacterial blight in Taiwan. In H. Maraite & J. Meyer (Eds.), *In: Diseases of Tropical Food Crops, Proc. of an Intern. Symp. U.C.L.* (pp. 119–129). Louvain-La-Neuve, Belgium.
- Levin, B. R., Lipsitch, M., & Bonhoeffer, S. (1999). Population Biology, Evolution, and Infectious Disease: Convergence and Synthesis. *Science*, 283(5403), 806–809. <https://doi.org/10.1126/science.283.5403.806>
- Li, Y., Cui, Y., Hauck, Y., Platonov, M., Dai, E., Song, Y., ... Anisimov, A. (2009). Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS One*, 4(6), e6000.
- Lindstedt, B.-A., Torpdahl, M., Vergnaud, G., Le Hello, S., Weill, F. X., Tietze, E., ... Lista, R. F. (2013). *Use of multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) in eight European countries*.
- Lindstedt, B. A. (2005). Multiple-locus variable number tandem repeats analysis for genetic fingerprinting of pathogenic bacteria. *Electrophoresis*, 26(13), 2567–2582. <https://doi.org/10.1002/elps.200500096>

- Lindstedt, B. A., Heir, E., Gjernes, E., Vardund, T., & Kapperud, G. (2003). DNA fingerprinting of shiga-toxin producing *Escherichia coli* O157 based on multiple-locus variable-number tandem-repeats analysis (MLVA). *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-2-12>
- Liu, W., Li, L., Khan, M. A., & Zhu, F. (2012). Popular Molecular Markers in Bacteria. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 27(3), 103–7. <https://doi.org/10.3103/S0891416812030056>.
- Liu, Y., Zhou, X., Liu, W., Huang, J., Liu, Q., Sun, J., ... Miao, W. (2020). HpaXpm, a novel harpin of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*, acts as an elicitor with high thermal stability, reduces disease, and promotes plant growth. *BMC Microbiology*, 20(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1691-4>
- López-Soriano, P., Boyer, K., Cesbron, S., Morente, M. C., Peñalver, J., Palacio-Bielsa, A., ... Pruvost, O. (2016). Multilocus variable number of tandem repeat analysis reveals multiple introductions in Spain of *Xanthomonas arboricola* pv. *Pruni*, the causal agent of bacterial spot disease of stone fruits and almond. *PLoS ONE*, 11(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163729>
- López, C. E., & Bernal, A. J. (2012). Cassava Bacterial Blight: Using Genomics for the Elucidation and Management of an Old Problem. *Tropical Plant Biology*. <https://doi.org/10.1007/s12042-011-9092-3>
- Lopez, C. E., Quesada-Ocampo, L. M., Bohorquez, A., Duque, M. C., Vargas, J., Tohme, J., & Verdier, V. (2007). Mapping EST-derived SSRs and ESTs involved in resistance to bacterial blight in *Manihotesculenta*. *Genome*, 50(12), 1078–1088. <https://doi.org/10.1139/G07-087>
- Lozano, J. (1986). Cassava Bacterial Blight: A manageable disease. *Plant Disease*, 70, 1089–1093.
- Lozano, J. C., & Laberry, R. (1982). Screening for resistance to cassava bacterial blight. *Plant Dis.*, 66, 316-318.
- Lozano, J. C., & Sequeira, L. (1974). Bacterial Blight of Cassava in Colombia-Epidemiology and Control. *Phytopathology*, 64, 83–88. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-64-83>
- Lu, H., Patil, P., Van Sluys, M., White, F., Ryan, R., & Al., E. (2008). Acquisition and evolution of plant pathogenesis-associated gene clusters and candidate determinants of tissue-specificity in *Xanthomonas*. *PLoS One* 3: E3828., 3, e3828.
- Maheswaran, M. (2004). Molecular Markers: History Features and Applications. *Advanced Biotech*, (August), 17–24.
- Maiden, M. C. J. (2006). Multilocus sequence typing of bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 60, 561–588.
- Maliactu.net. (2016a). Filière manioc : ORGANISER LES PRODUCTEURS POUR BOOSTER LA PRODUCTION. Retrieved August 30, 2016, from Journal Essor du 08-04-2016. website: <https://maliactu.net/mali-agriculture-la-filiere-manioc-sorganise/>
- Maliactu.net. (2016b). La filière manioc s'organise avec la comadem, Article journal du 08 Avril 2016. Retrieved April 10, 2016, from ESSOR Journal, 2016 website: <http://maliactu.net/mali-agriculture-la-filiere-manioc-sorganise>
- Mamba-Mbaya, G., Tshilenge-Djim, P., Nkongolo, K., & Kalonji-Mbuyi, A. (2014). Characterization of Congolese Strains of Associated with Cassava Bacterial Blight. *American Journal of Plant Sciences*, 5(April), 1191–1201. Retrieved from [http://file.scirp.org/pdf/AJPS\\_2014040411011121.pdf](http://file.scirp.org/pdf/AJPS_2014040411011121.pdf)
- Manicom, B., Becker, M., & Deschodt, C. (1981). First report of cassava bacterial blight in South Africa. *Phytophylactica*, 13(4), 195-196.
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., ... Foster, G.

- D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x>
- Maraite, H., & Meyer, J. A. (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.
- Maraite, H., Weyns, J., Yimkwan, O., Lipembra, P., & Perreux, D. (1981). Physiological and pathogenic variations in *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. In CIAT-Centre international d'agriculture tropicale (Ed.), *lant Pathogenic Bacteria. 5th Intern. Conf.* (pp. 358-368.). Cali, Colombia.
- Maralit, B. A., & Mudjekeewis, D. S. (2015). Molecular markers for understanding shrimp biology and populations. In M. B. I. B.-M. and F. F. F. Christopher Marlowe A. Caipang (Ed.), *Biotechnological Advances in Shrimp Health Management in the Philippines*, (pp. 135–148). Quezon City 1103, Philippines: Research Signpost 37/661 (2), Fort P.O. Trivandrum-695 023 Kerala, India.
- Marković-Housley, Z., Degano, M., Lamba, D., von Roepenack-Lahaye, E., Clemens, S., Susani, M., & ... & Breiteneder, H. (2003). Crystal structure of a hypoallergenic isoform of the major birch pollen allergen Bet v 1 and its likely biological function as a plant steroid carrier. *Journal of Molecular Biology*, 325(1), 123-133.
- Marsh, J., O'Leary, M., Shutt, K., Pasculle, A., Johnson, S., Gerding, D., ... Harrison, L. (2006). Multilocus variable-number tandem-repeat analysis for investigation of *Clostridium difficile* transmission in hospitals. *J Clin Microbiol* 2006, 44(7), 2558–2566.
- Martin, G. B., Bogdanove, A. J., & and Sessa, G. (2003). Understanding the functions of plant disease resistance proteins. *Annual Review of Plant Biology*, 54, 23–61. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.135035>
- Mbaringong, G. A., Nyaboga, E. N., Wang'ondou, V., & Kanduma, E. (2017). Evaluation of Selected Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Cultivars Grown in Kenya for Resistance to Bacterial Blight Disease. *World Journal of Agricultural Research*, 5(2), 94-101. <https://doi.org/10.12691/wjar-5-2-5>
- McCallum, E. J., Anjanappa, R. B., & Gruissem, W. (2017). Tackling agriculturally relevant diseases in the staple crop cassava (*Manihot esculenta*). *Current Opinion in Plant Biology*, 38, 50-58. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.008>
- McCallum, Emily J., Anjanappa, R. B., & Gruissem, W. (2017, August 1). Tackling agriculturally relevant diseases in the staple crop cassava (*Manihot esculenta*). *Current Opinion in Plant Biology*, Vol. 38, pp. 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.008>
- McDonald, B., & Linde, C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review Phytopathology*, 40, 349–379.
- Mckey, D., Elias, M., Pujol, M., & Duputie, A. (2010). The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. *New Phytol.*, 186(2), 318–332. Retrieved from <http://doi.org/10.1111Vj.1469-8137.2010.03210.x>
- Medina, C. A., Reyes, P. A., Trujillo, C. A., Gonzalez, J. L., Bejarano, D. A., Montenegro, N. A., ... Bernal, A. (2018). The role of type III effectors from *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in virulence and suppression of plant immunity. *Molecular Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/mpp.12545>
- Medina, C., Cesar, A., & Bernal-Giraldo, A. J. (2013). El Uso de Nuevas Tecnologías de La Genómica Para Defender Nuestros Cultivos. *Hipotesis. Apuntes Científicos Uniandinos*, 50–57.
- Melifonwu, A. A. (1994). Weeds and their control in cassava. *African Crop Science Journal*, 2(4), 519–530.
- Melles, D., Gorkink, R., Boelens, H., & Al., E. (2004). Natural population dynamics and expansion of pathogenic clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*, 114, 1732–1740.

- Meng, J., Sun, W., Mao, Z., Xu, D., Wang, X., Lu, S., Lai, D., Liu, Y., Zhou, L., & Zhang, G. (2015). Main ustilaginoidins and their distribution in rice false smut balls. *Toxins*, 7(10), 4023–4034.
- Métraux, J. P., Nawrath, C., & Genoud, T. (2002). Systemic acquired resistance. *Euphytica*, 124(2), 237-243. Retrieved from [https://doc.rero.ch/record/311053/files/10681\\_2004\\_Article\\_405434.pdf](https://doc.rero.ch/record/311053/files/10681_2004_Article_405434.pdf)
- Milgroom, M. G. (2015). *Population Biology of Plant Pathogens: Genetics, Ecology, and Evolution*. Retrieved from <https://doi.org/10.1094/9780890544525>
- Milgroom, Michael G., & Peever, T. L. (2003). Population Biology of Plant Pathogens. *Plant Disease*, 87(6), 608–617. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-501-5\\_20](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-501-5_20)
- Montaldo, A. (1991). *Cultivo de Raices Y Tuberculos Tropicales*. (2nd ed.; I. Servicio Editorial, Ed.). Retrieved from <http://repiica.iica.int/docs/B4130e/B4130e.pdf>.
- Montaldo, A., & Quintero, F. (1982). Reglamentación Cuarentenaria Sobre La Semilla Sexual Y Asexual En Venezuela. In W. M. Roca, C. D. Hershey, & O. S. Malamud (Eds.), *In Primer Taller Latinoamericano Sobre Intercambio de Germoplasma de Papa Y Yuca. Memorias* (CIAT, p. 295). Cali Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT.
- Montesano, M., Brader, G., & Palva, E. T. (2003). Pathogen derived elicitors: searching for receptors in plants. *Mol Plant Pathol.*, 4(1), 73-79. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00150.x>
- Mora, R. E., Rodriguez, M. A., Gayosso, L. Y., & López, C. E. (2019). Using in vitro plants to study the cassava response to *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* infection. *Tropical Plant Pathology*, 44, 423–429. <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00296-x>
- Moscou, M., & Bogdanove, A. (2009). A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science*, 326(5959), 1501. <https://doi.org/10.1126/science.1178817>
- Moses, E., Asafu-Agyei, J. N., Adubofour, K., & Adusei, A. (2007). *Guide to Identification and Control of Cassava Diseases An Extension Guide for Farmers, Extension Agents and Students of Tropical Agriculture*. (P. Scott, Ed.). Retrieved from [www.isppweg.org](http://www.isppweg.org).
- Mucyn, T., Clemente, A., Andriotis, V., & Al., E. (2006). The tomato NBARC-LRR protein Prf interacts with Pto kinase in vivo to regulate specific plant immunity. *Plant Cell.*, 18(10), 2792-2806. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.044016>
- N'zué Boni, Zohouri Goli Pierre, Y.-G. V. *Bien cultiver le manioc en Côte d'Ivoire.*, 4 § (2005).
- Nadjiam, D., Diallo, M., Mbaiguinam, J. M. M., & Guisse, A. (2016). Pratiques paysannes de gestion des cultivars de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) au Sud du Tchad. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(3), 1098-1113.
- Nadon, C. A., Trees, E., Ng, L. K., Nielsen, E. M., Reimer, A., Maxwell, N., ... and the MLVA Harmonization Working Group. (2017). Development and application of MLVA methods as a tool for inter-laboratory surveillance. *Euro Surveill.*, 18(35), 205-265.
- Nawrath, C., Métraux, J. P., & Genoud, T. (2006). Chemical signals in plant resistance: salicylic acid. In Springer (Ed.), *Multigenic and Induced Systemic Resistance in Plants* (pp. 143–165). Boston, MA: Springer.
- Nduwumuremyi, A., Melis, R., Shanahan, P., & Asimwe, T. (2016). Participatory appraisal of preferred traits, production constraints and postharvest challenges for cassava farmers in Rwanda. *Food Security*, 8(2), 375–388. <https://doi.org/10.1007/s12571-016-0556-z>
- Neuenschwander, P. (2001). Biological control of the cassava mealybug in Africa: a review. *Biological Control*, 21(3), 214–229.
- Ngoc, L. B. T., Vernière, C., Jarne, P., Brisse, S., Guérin, F., Boutry, S., ... Pruvost, O. (2009). From local surveys to global surveillance: Three high-throughput genotyping methods for epidemiological monitoring of *Xanthomonas citri* pv. *citri* pathotypes. *Applied and Environmental Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/AEM.02245-08>

- Ngoc, L. B. T., Vernière, C., Jouen, E., Ah-You, N., Lefeuvre, P., Chiroleu, F., ... Pruvost, O. (2010). Amplified fragment length polymorphism and multilocus sequence analysis-based genotypic relatedness among pathogenic variants of *Xanthomonas citri* pv. *citri* and *Xanthomonas campestris* pv. *bilvae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.009514-0>
- Notteghem, J. L., Chatenet, M., & Pouzet, D. (1980). Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, pathogen of cassava decline in the Ivory Coast. (Mise en évidence de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, agent du deperissement du manioc en Côte d'Ivoire.). *Agronomie Tropicale*, 35(2), 189–191.
- Nouar, M., Decreux, Y., & Marty, O. (2013). *Evaluation du potentiel à l'exportation du manioc en Côte d'Ivoire*.
- Nyango, A. (1979). Cassava bacterial blight in four regions of the United Republic of Tanzania. *Cassava Bacterial Blight in Africa. Workshop Held at IITA.*, 44–48. Ibadan, Nigeria, 26–30 Jun 1978. London, UK: Centre for Overseas Pest Research.
- Oborn I., Edwards A.C., Witter E., Oenema O., Ivarsson K., Withers P.J.A., Nilsson S.I., R. S. A. (2003). Element balances as a toll for sustainable nutrient management: a critical appraisal of their merits and limitations within an agronomic and environmental context. *Eur. J. Agron.*, 20, 211–225.
- Odipio, J., Ogwok, E., Taylor, N. J., Halsey, M., Bua, A., Fauquet, C. M., & Alicai, T. (2014). RNAi-derived field resistance to Cassava brown streak disease persists across the vegetative cropping cycle. *GM Crops & Food*, 5(1), 16–19. Retrieved from <https://doi.org/10.4161/gmcr.26408>
- Oerke, E. C. (2006). Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>
- Ogbedeh, K., Epidi, T., Dialoke, S., Bosah, B., Emenyonu, C., Cookey, C., & Nnebue, M. (2019). Determination of Socioeconomic Influence of Tillage and Termite on Incidence, Severity and Yield of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Selected Owerri Agricultural Zones, Southeast Nigeria. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research*, 10(1), 1–8. Retrieved from <https://doi.org/10.9734/ajaar/2019/v10i130022>
- Ogunjobi, A. A., Fagade, O. E., & Dixon, A. G. O. (2006). Molecular variation in population structure of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in the south eastern Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 5(October), 1868–1872. <https://doi.org/10.4314/ajb.v5i20.55891>
- Ogunjobi, A. A., Fagade, O. E., & Dixon, A. G. O. (2010). Comparative analysis of genetic variation among *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* isolated from the western states of Nigeria using RAPD and AFLP. *Indian Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.1007/s12088-010-0037-6>
- Okechukwu, R. U., Dixon, A. G. O., Akoroda, M. O., Mwangi, M., & Bandyopadhyay, R. (2009). Root rot resistance in new cassava varieties introduced to farmers in Nigeria. *Experimental Agriculture*, 45(1), 15–24.
- Okogbenin, E., Setter, T. L., Ferguson, M., Mutegi, R., Alves, A. C., Ceballos, H., & Fregene, &. (2011). Phenotyping cassava for adaptation to drought. In *Drought Phenotyping in Crops: From Theory to Practice*. (pp. 381–400). CGIAR Generation Challenge Programme.
- Olsen, K. M. (2004). SNPs, SSRs and inferences on cassava's origin. *Plant Mol Biol.*, 56(4), 517–526. <https://doi.org/doi:10.1007/s11103-004-5043-9>
- Olsen, K., & Schaal, B. (1999). Evidence on the origin of cassava: phylogeography of *Manihot esculenta*. *Proc Natl Acad Sci*, 96(10), 5586–5591. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.96.10.5586>
- Omonona, B. T., & Akinpelu, A. . (2012). Water, environment and health: Implications on

- cassava production. *Continental Journal of Agricultural Science*, 4, 29–37.
- Omori, K., & Idei, A. (2003). Gram-negative bacterial ATP-binding cassette protein exporter family and diverse secretory proteins. *J Biosci Bioeng*, 95, 1-12.
- Onyango, D., & Ramos, A. (1979). Bacterial blight of cassava in Kenya. In E. Terry, G. Persley, & S. Cook (Eds.), *Report of an interdisciplinary workshop "Cassava Bacterial Blight in Africa; Past, Present and Future"*. London, UK: Centre for Overseas Pest Research.
- Onyeka, T. J., Dixon, A. G. O., Bandyopadhy, R., Okechukwu, R. U., & Bamkefa, B. (2004). *Distribution and current status of bacterial blight and fungal diseases of cassava in Nigeria* (International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ed.). Ibandan, Nigeria: International Institute of Tropical Agriculture (IITA).
- Onyeka, T. J., Owolade, O. F., Ogunjobi, A. A., Dixon, A. G., Okechukwu, R. U., & Bamkefa, B. (2008). Prevalence and severity of bacterial blight and anthracnose diseases of cassava in different agroecological zones of Nigeria. *African Journal of Agricultural Research*, 3(4), 297–304. Retrieved from <http://www.academicjournals.org/AJAR>
- Oppong-Apane, K. (2013). *Cassava as animal feed in Ghana: past, present and future*. (FAO; B. Bedane, C. Ly, & H. P. S. Makkar, Eds.). Accra: CAB International.
- Ortega-Cartaya, E., & Velasquez, E. (2005). La Bacteriosis O Anublo Bacterial: Principal Desafio Para La Produccion Exitosa de Yuca. Retrieved July 16, 2019, from INIA Divulga website: [https://agris.fao.org/agris-search/search.do;jsessionid=2423F5881DD7D3EC614708696F4FCF15?request\\_locale=fr&recordID=VE2007400013&query=&sourceQuery=&sortField=&sortOrder=&agrovo cString=&advQuery=&centerString=&enableField=&aggregatorField=&typeresultsFiel](https://agris.fao.org/agris-search/search.do;jsessionid=2423F5881DD7D3EC614708696F4FCF15?request_locale=fr&recordID=VE2007400013&query=&sourceQuery=&sortField=&sortOrder=&agrovo cString=&advQuery=&centerString=&enableField=&aggregatorField=&typeresultsFiel)
- Otim-Nape, G. W. (1980). Cassava Bacterial Blight in Uganda. *Tropical Pest Management*, 26, 274–277.
- Owen, R. (1989). Chromosomal DNA fingerprinting: a new method of species and strain identification applicable to microbial pathogens. *J Med Microbiol*, 30, 89–99.
- Owor, B. (2002). *Effect of cassava mosaic geminiviruses (CMGs) on growth and yield of a cassava mosaic disease (CMD) susceptible cultivar in Uganda and cross protection studies*. Kampala, Uganda.
- Page, W. W., Harris, J. R., & Youdeowei, A. (1980). Defoliation and consequent crop loss in cassava caused by grasshopper *Zonocerus variegatus* in Southern Nigeria. *Bulletin of Entomological Research*, 70, 151–163. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0007485300009858>
- Pardey, P. G., Beddow, J. M., Kriticos, D. J., Hurley, T. M., Park, R. F., Duveiller, E., ... Hodson, D. (2013). Right-sizing stem-rust research. *Science*, 340, 147–148.
- Park, S., Kaimoyo, E., Kumar, D., Mosher, S., & Klessig, D. (2007). Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. *Science*, 318(5847), 113-116. <https://doi.org/doi:10.1126/science.1147113>
- Patil, B. L., Ogwok, E., Wagaba, H., Mohammed, I. U., Yadav, J. S., Bagewadi, B., ... Fauquet, C. (2011). RNAi-mediated resistance to diverse isolates belonging to two virus species involved in Cassava brown streak disease. *Molecular Plant Pathology*, 12(1), 31–41. Retrieved from <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00650.x>
- Patillon, B. (2014). *Différenciation génétique des populations humaines pour les gènes de la réponse aux médicaments*. Université Paris Sud.
- Paul, A., Pradhan, P., & Chakraborty, N. (2020). Plant, disease and climate change. In K. A. and V. K. S. H. K. Chourasia (Ed.), *Precision Agriculture and Sustainable Crop Production* (pp. 353–390). Retrieved from <file:///C:/Users/kante/Downloads/PrecisionAgricultureandSustainablecrop-F-24-1-2020.pdf>
- Pax, F. (1910). *Manihot Adans. Engler Pflanzereich IV, IV(147 Heft)*, 21–111.

- PDA. (2014). *Politique de Développement Agricole du Mali*.
- Peña-venegas, C., Stomph, T., Verschoor, G., Lopez-lavalle, L., & Struik, P. (2014). Differences in Manioc Diversity Among Five Ethnic Groups of the Colombian Amazon. *La Diversité*, 6(4), 792–826. <https://doi.org/10.3390/d6040792>
- Pérez, D., Mora, R., & López-Carrascal, C. (2019). Conservation of the cassava diversity in the traditional cultivation systems of the Amazon. *Acta Biologica Colombiana*, 24(2), 202–212. <https://doi.org/10.15446/abc.v24n2.75428>
- Pérez, D., Mora, R., & López Carrascal, C. (2019). Conservación de la diversidad de yuca en los sistemas tradicionales de cultivo de la Amazonía. *Acta Biológica Colombiana*, 24(2), 202–212. <https://doi.org/10.15446/abc.v24n2.75428>
- Perozo, J., Fuenmayor, F., & Valles, P. M. (2007). Manejo de Insectos-Plaga En El Cultivo de La Yuca. *FONAIAP DIVULGA*, 52–58.
- Perreux, D., Maraite, H., & Meyer, J. (1986). Detection of 3 (methylthio) propionic acid in cassava leaves infected by *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 28, 323–328.
- Persley, G. (1978). Epiphytic survival of *Xanthomonas manihotis* in relation to the disease cycle of cassava bacterial blight. *4th Int. Conf. Plant. Path. Bact. INRA, Angers*, 773–777. Angers.
- Persley, G. J. (1979). Studies on the survival and transmission of *Xanthomonas manihotis* on cassava seed. *Ann Appl Biol* 93, 159–166.
- Pohl, J. E. (1927). Plantarum Brasiliae Icones et Descriptiones. *Vindobonae-Manihot*, 1(1), 1–136.
- Pokotylo I, Kravets V, R. E. (2019). Salicylic Acid Binding Proteins (SABPs): The Hidden Forefront of Salicylic Acid Signalling. *Int J Mol Sci.*, 20(18), 4377. <https://doi.org/doi:10.3390/ijms20184377>
- Poueymiro, M., & Genin, S. (2009). Secreted proteins from *Ralstonia solanacearum*: a hundred tricks to kill a plant. *Current Opinion in Microbiology*, 12(1), 44–52. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.11.008>
- Poulin, L., Grygiel, P., Magne, M., Gagnevin, L., Rodriguez-R, L. M., Forero Serna, N., ... Koebnika, R. (2015). New multilocus variable-number tandem-repeat analysis tool for surveillance and local epidemiology of bacterial leaf blight and bacterial leaf streak of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 81. <https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14>
- Poulin, Lucie. (2014a). *Génotypage à haut niveau de résolution des xanthomonades phytopathogènes à l'aide de marqueurs de type CRISPR et VNTR : de la preuve de principe à l'application*. UNIVERSITE MONTPELLIER 2.
- Poulin, Lucie. (2014b). *Génotypage à haut niveau de résolution des xanthomonades phytopathogènes à l'aide de marqueurs de type CRISPR et VN*. Université de Montpellier 2.
- Pourcel, C., & Vergnaud, G. (2011). *Strain Typing Using Multiple “ Variable Number of Tandem Repeat ” Analysis and Genetic Element CRISPR*. 179–197.
- Prakash, A. (2015). Global Cassava Trends. State of cassava global and in the region. In : Regional Conference on cassava in the Caribbean and Latin America.
- Pruvost, O., Magne, M. \*, Boyer, K., Leduc, A., Tourterel, C., Drevet, C., ... Vernière Re, C. (2014). *A MLVA Genotyping Scheme for Global Surveillance of the Citrus Pathogen Xanthomonas citri pv. citri Suggests a Worldwide Geographical Expansion of a Single Genetic Lineage*. 9(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098129>
- Rache, L., Blondin, L., Flores, C., Trujillo, C., Szurek, B., Restrepo, S., ... Vernière, C. (2019). An Optimized Microsatellite Scheme for Assessing Populations of *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* . *Phytopathology*, 109(5), 859–869. <https://doi.org/10.1094/phyto-06-18->



- Ramcharan, A., Baranowski, K., McCloskey, P., Ahmed, B., Legg, J., & Hughes, D. P. (2017). Deep Learning for Image-Based Cassava Disease Detection. *Frontiers in Plant Science*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01852>
- Ramegowda, V., & Senthil-Kumar, M. (2015). The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: mechanistic understanding from drought and pathogen combination. *Journal of Plant Physiology*, 176, 47–54. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2014.11.008>
- Ramiro, D. (2009). *CARACTERISATION DES MECANISMES DE RESISTANCE IMPLIQUES DANS LES REPNSES DU CAFEIER (Coffea arabica) A L'AGENT DE LA ROUILLE ORANGEE (Hemileia vastatrix). De la formation des haustoria à l'expression quantitative des gènes*. MONTPELLIER SUPAGRO.
- Rapilly, F. (1991). *L'épidémiologie en pathologie végétale. Mycoses aériennes*. (Quae). Retrieved from <https://www.quae.com/produit/385/9782759212231/l-epidemiologie-en-pathologie-vegetale-mycoses-aerienes>
- Ravelomanantsoa, S. H. (2016). *Biologie des populations du complexe d'espèces Ralstonia solanacearum appliquée à l'épidémiologie de la bactériose vasculaire de la pomme de terre à Madagascar*. UNIVERSITÉ DE LA RÉUNION & UNIVERSITÉ D'ANTANANARIVO.
- Restrepo, S., Duque, M.C., & Verdier, V. (2000). Resistance Spectrum of Selected Manihot Esculenta Genotypes under Field Conditions. *Field Crops Research*, 65(1), 69–77.
- Restrepo, S., & Verdier, V. (1997). Geographical Differentiation of the Population of Xanthomonas axonopodis pv. manihotis in Colombia. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(11), 4427–4434. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1389287/>
- Rey, C., & Vanderschuren, H. (2017). Cassava mosaic and brown streak diseases: current perspectives and beyond. *Annual Review of Virology*, 4., 429–452.
- Reyes-García, V., & Benyei, P. (2019). Indigenous knowledge for conservation. *Nature Sustainability*, 2(8), 657–658. <https://doi.org/10.1038/s41893-019-0341-z>
- Reynolds, T. W., Waddington, S. R., Anderson, C. L., Chew, A., True, Z., & Cullen, A. (2015). Environmental impacts and constraints associated with the production of major food crops in Sub-Saharan Africa and South Asia. *Food Security*, 7(4), 795–822. *Food Security*, 7(4), 795–822.
- Robinson, A., Falush, D., & Feil, E. (2010). Bacterial Population Genetics in Infectious Disease. In Ashley Robinson, D. Falush, & E. Feil (Eds.), *Bacterial Population Genetics in Infectious Disease*. <https://doi.org/doi:10.1002/9780470600122.ch14>.
- Rodriguez, R. L. M., & Koebnik, R. (2010). The Xanthomonas resource. Retrieved May 27, 2020, from The Xanthomonas resource website: <http://www.xanthomonas.org/>.
- Rogers, D. J. (1963). Studies of Manihot esculenta Crantz and related species. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 43–54.
- Rouxel, T., & Balesdent, M.-H. (2010). Avirulence Genes. *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, (Jan). <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0021267>
- Sabat, A. J., Budimir, A., Nashev, D., Sá-Leão, R., van Dijl, J. M., Laurent, F., ... Friedrich, A. W. (2013). Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Euro Surveillance*, 18, 203–280.
- Salick, J., Cellinese, N., & Knapp, S. (1997). Indigenous diversity of cassava: Generation, maintenance, use and loss among the Amuesha, peruvian upper amazon. *Econ. Bot.*, 51, 6–19.
- Sanchez, G., Restrepo, S., Duque, M.C., 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*, 42(2), 163–172. <https://doi.org/10.1139/g98-124>
- Sanogo, Z. J.-L., & Diallo, B. (2017). Etat des lieux et facteurs-clés pour un meilleur accès des producteurs maliens à la mécanisation. In Ageconsearch (Ed.), *Conférence sur la transformation de l'agriculture ouest-africaine par le Développement de la mécanisation : quelles politiques publiques ?* (p. 15). <https://doi.org/10.22004/ag.econ.260443>
- Santana, M. A., Rodriguez M., J. Mateus, J. G. Faks, A. M. Bocsanczy, A. Gerstl, G. Romay, J. Montilla, C.E. Fernandez, N. M. Z. and D. M. (2012). A New Bacterial Disease of Cassava in Venezuela Caused by *Enterobacter cloacae*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 14(2), 183–189.
- Sardos, J., McKey, D., Duval, M., Malapa, R., Noyer, J., & Lebot, V. (2008). Evolution of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) after recent introduction into a South Pacific Island system: the contribution of sex to the diversification of a clonally propagated crop. *Genome*, 51(11), 912–921.
- Sarkar, S., Gordon, J., Martin, G., & Guttman, D. (2006). Comparative genomics of host-specific virulence in *Pseudomonas syringae*. *Genetics*, 174(2), 1041-1056. <https://doi.org/10.1534/genetics.106.060996>
- Sarkar SF, G. D. (2004). Evolution of the core genome of *Pseudomonas syringae*, a highly clonal, endemic plant pathogen. *Appl Environ Microbiol.*, 70(4), 1999-2012. <https://doi.org/DOI: 10.1128/AEM.70.4.1999-2012.2004>
- Savary, S., Bregaglio, S., Willocquet, L., Gustafson, D., Mason D’Croz, D., Sparks, A., ... Garrett, K. (2017). Crop health and its global impacts on the components of food security. *Food Security*, 17. <https://doi.org/10.1007/s12571-017-0659-1>
- Savary, Serge, Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology and Evolution*, 3(3), 430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>
- Saxena, R. K., Kale, S. M., Kumar, V., Parupali, S., Joshi, S., Singh, V., ... & Varshney, R. K. (2017). Genotyping-by-sequencing of three mapping populations for identification of candidate genomic regions for resistance to sterility mosaic disease in pigeonpea. *Scientific Reports*, 7(May), 1813. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01535-4>
- Schornack S, Moscou MJ, Ward ER, H. D. (2013). Engineering plant disease resistance based on TAL effectors. *Annu Rev Phytopathol.*, 51, 383-406. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102255>
- Schotman, C. (1989). Plant pests of quarantine importance to the Caribbean. *RLAC-PROVEG*, 80 pp.
- Schumann, G. L., & D’arcy, C. J. (2010). *Essential Plant Pathology* (2nd ed.; C. J. Schumann, G. L.; D’Arcy, Ed.). Retrieved from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20063185422>
- Segonzac, C., & Zipfel, C. (2011). Activation of plant pattern-recognition receptors by bacteria. *Current Opinion in Microbiology*, 14(1), 54–61. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.12.005>
- Seki, M., Kamei, A., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2003). Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(2), 194–199. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(03\)00030-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0958-1669(03)00030-2)
- Sikirou, R. (1999). *Epidemiological investigations and development of integrated control methods of bacterial blight of cowpea caused by Xanthomonas campestris pv. vignicola (Burkholder) Dye*. University of Göttingen, Germany.
- Silvestre, P. (1987). *Manuel pratique de la culture du manioc*. (Maisonneuv). Retrieved from

- <http://www.nzdl.org/gsdmod?e=d-00000-00---off-0unesco--00-0----0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-en-50---20-about---00-0-1-00-0--4----0-0-11-10-0utfZz-8-00&cl=CL1.85&d=HASH01d7460b7393cef9f1df9d83&gt=2>
- Skuce, R., McCorry, T., McCarroll, J., Roring, S., Scott, A., Brittain, D., ... Neill, S. (2002). Discrimination of Mycobacterium tuberculosis complex bacteria using novel VNTR-PCR targets. *Microbiology*, *148*(2), 519–528.
- Smith, J. M., Feil, E. J., & Smith, N. H. (2000). Population structure and evolutionary dynamics of pathogenic bacteria. *BioEssays*, *22*(12), 1115–1122.
- Smith, J. M., Smith, N. H., Rourke, M. O., & Spratt, B. G. (1993). How clonal are bacteria? *PNAS*, *90*(May), 4384–4388. <https://doi.org/https://doi.org/10.1073/pnas.90.10.4384>
- Sokal, R. R., & Crovello, T. J. (1970). The Biological Species Concept: A Critical Evaluation. *The American Naturalist*, *104*(936), 127–153.
- Song WY, Pi LY, Wang GL, Gardner J, Holsten T, R. P. (1997). Evolution of the rice Xa21 disease resistance gene family. *Plant Cell*, *9*(8), 1279-1287. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.8.1279>
- Sonko, A. M., Sall, D., & Ndiaye, A. B. (2019). Les termites (Termitoidae Latreille 1802) ravageurs du manioc (Manihot esculenta Crantz 1766) dans la zone de Tivaouane (Sénégal). *IJBACS/Int. J. Biol. Chem. Sci.*, *13* 2(4), 2005–2020. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v13i4.8>
- Soto Sedano, J. C., Mora Moreno, R. E., Mathew, B., Léon, J., Gómez Cano, F. A., Ballvora, A., & López Carrascal, C. E. (2018). Major Novel QTL for Resistance to Cassava Bacterial Blight Identified through a Multi-Environmental Analysis. *Frontiers in Plant Science*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01169>
- Soumaré, M., Diakité, C. H., Havard, M., Traore, S. S., Diakite, M., & Traoré, A. K., ... & Tangara, B. (2019). *Atlas des zones cotonnières du Mali*. (M. Soumare, Ed.). Retrieved from <https://agritrop.cirad.fr/593115/>
- Stansly, P. A., & McKenzie, C. L. (2008). Fourth International Bemisia Workshop International Whitefly Genomics Workshop. *Journal of Insect Science*, *8*(4), 2–54.
- Stevenson, F. J., Akeley, R. V., Et, & Webb, R. L. (1955). Reactions of potato varieties to late blight and insect injury as reflected in yields and percentage solids. *Am. Pofafo J*, *32*, 215-221.
- Suárez, L., & Mederos, V. R. (2011). Apuntes sobre el cultivo de la yuca (Manihot esculenta crantz). tendencias actuales. *Cultivos Tropicales*, *32*(3), 27–35. Retrieved from [www.inca.edu.cu/otras\\_web/revista/EDICIONES.htm](http://www.inca.edu.cu/otras_web/revista/EDICIONES.htm). 113
- Swarup, S., De Feyter, R., Brlansky, R. H., & Gabriel, D. W. (1991). A pathogenicity locus from Xanthomonas citri enables strains from several pathovars of X. campestris to elicit cankerlike lesions on citrus. *Phytopathology*, *81*, 802–809.
- Swings, J., Vauterin, L., & Kersters, K. (1993). The bacterium Xanthomonas. In JG Swings & E. Civerolo (Eds.), *Xanthomonas*. (pp. 121–156). London: Chapman & Hall.
- Szurek, B., Marois, E., Bonas, U., & Van den Ackerveken, G. (2001). Eukaryotic features of the Xanthomonas type III effector AvrBs3: protein domains involved in transcriptional activation and the interaction with nuclear import receptors from pepper. *Plant J.*, *26*(5), 523–534. <https://doi.org/doi:10.1046/j.0960-7412.2001.01046.x>
- Takken, F. L. W., Albrecht, M., & Tameling, W. I. L. (2006). Resistance proteins: molecular switches of plant defence. *Current Opinion in Plant Biology*, *9*(4), 383–390. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.05.009>
- Tameling, W., & Takken, F. (2008). Resistance proteins: scouts of the plant innate immune system. *Eur. J. Plant Pathol.*, *121*, 243–255. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9187-8>
- Tappiban, P., Sraphet, S., Srisawad, N., Smith, D. R., & Triwitayakorn, K. (2018). Identification and expression of genes in response to cassava bacterial blight infection.

- Journal of Applied Genetics*, 59(4). <https://doi.org/10.1007/s13353-018-0457-2>
- Taquet, C. (2007). *Diversité et différenciation génétiques des populations de tortues vertes (Chelonia mydas) dans les sites de ponte et d'alimentation du sud-ouest de l'océan Indien : Application aux stratégies de conservation de l'espèce* Thèse (Université de la Réunion). Retrieved from <https://archimer.ifremer.fr/doc/2007/these-3532.pdf>
- Tata Hangy, K. W., & Mahungu, N. M. (2014). Les principales maladies du manioc en République Démocratique du Congo et leurs moyens de lutte. In *Manuel de formation destiné aux agents de terrain 1, Module 2*.
- Taylor, R. K., Griffin, R. L., Jones, L. M., Pease, B., Tsatsia, F., Fanai, C., ... Davis, R. I. (2017). First record of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Solomon Islands. *Australasian Plant Disease Notes*, 12(1), 10–13. <https://doi.org/10.1007/s13314-017-0275-0>
- Thresh, J. M., Otim-Nape, G. W., Legg, J. P., & Fargette, D. (1997). African cassava mosaic disease: The magnitude of the problem? In A. M. T. and M. O. A. (Eds.) (Ed.), *Cassava Biotechnology Network, Third International Scientific Meeting* (pp. 13–19). Kampala, Uganda, 26–31 August 1996: African Journal of Root and Tuber Crops (Special Issue).
- Tibayrenc, M. (1999). *EPIDEMIOLOGY OF PARASITIC PROTOZOA*. 33, 449–477.
- Tobodawolo Jones, M., & Nuhu Issaka, R. (2017). “Effects of Fertilizer and Cassava-Legume Cropping Systems on Root Yields in Two Agro-Ecological Zones of Ghana.” *African Journal of Plant Science*, 11(10), 377–384. Retrieved from <https://doi.org/10.5897/AJPS2017.1566>
- Torres, M., Jones, J., & Dangl, J. (2006). Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiol.*, 141(2), 373-378. <https://doi.org/10.1104/pp.106.079467>
- TOURE, H. M. A. C. (2019). *Cassava bacterial blight development in the agro-ecological zones of Cote d'ivoire*. UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DESTECNOLOGTES DE BAMAKO (USTTB).
- Toure, H. M. A. C., Ehui, K. J. N., Abo, K., & Al., E. (2020). Four years assessment of Cassava Bacterial Blight expression according to weather conditions in Côte d'Ivoire. *SN Appl. Sci.*, 2, 1301. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s42452-020-3135-z>
- Toussaint, M. (2018). *Exploitation et exploration de la diversité génétique d'une population naturelle de Streptomyces issue d'un micro-habitat sol*. Université de Lorraine.
- Trevors, J. T. (1998). Review: Bacterial population genetics. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14(1), 1–5. <https://doi.org/10.1023/A:1008897128837>
- Trujillo, C. A., Arias-rojas, N., Poulin, L., Medina, C. A., Tapiero, A., Restrepo, S., ... Bernal, A. J. (2014). *Population typing of the causal agent of cassava bacterial blight in the Eastern Plains of Colombia using two types of molecular markers*. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-161>
- Trujillo, C. A., Arias-Rojas, N., Poulin, L., Medina, C. A., Tapiero, A., Restrepo, S., ... Bernal, A. 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*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-161>
- Trujillo, C. A., Ochoa, J. C., Mideros, M. F., Restrepo, S., López, C., & Bernal, A. (2014). A Complex Population Structure of the Cassava Pathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Recent Years in the Caribbean Region of Colombia. *Microbial Ecology*. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0411-8>
- Ugher, C., Ahmadi, N., Asiedu, E. A., Baris, P., Boirard, H., Bricas, N., ... Zoungrana, B. (2013). *Rainfed food crops in West and Central Africa: Points for analysis and proposals for action*. Retrieved from [http://publications.cirad.fr/une\\_notice.php?dk=570213](http://publications.cirad.fr/une_notice.php?dk=570213) Rainfed food crops in West and Central Africa: Points for analysis and proposals for action. AFD, 186 p. (AFD, 6) USAID/Paraguay

- Uzokwe, V. N. E., Mlay, P. D., Masunga, H. R., Kanju, E., Odeh, I. O. A., & Onyeka, J. (2016). Combating Viral Mosaic Disease of Cassava in the Lake Zone of Tanzania by Intercropping with Legumes. *Crop Protection* 84, 84(2016), 69–80. Retrieved from <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S026121941630028X?token=4201E67A58B29D2592FA0BE7F13917CBDBBBFE0DE2982964051E947A6C79F5FB12B0088AF4412AB0B16368AE1E3CF47D>
- Van Belkum, A, Scherer, S., Van Alphen, L., & Verbrugh, H. (1998). Short-sequence DNA repeats in prokaryotic genomes. *Microbiol Mol Biol Rev*, 62(2), 275.
- Van Belkum, Alex. (2006). Tracing isolates of bacterial species by multilocus variable number of tandem repeat analysis (MLVA). *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 49(1), 22–27. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00173.x>
- van Cuyck H, Pichon B, Leroy P, Granger-Farbos A, Underwood A, Soullie B, K. J.-L. (2012). Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis of *Streptococcus pneumoniae* and comparison with multiple loci sequence typing. *BMC Microbiol*, 12(1), 241.
- van Loon, L., Rep, M., & Pieterse, C. (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu Rev Phytopathol.*, 44, 135-162. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425>
- Vandegeer, R., Miller, R. E., Bain, M., Gleadow, R. M., & Cavagnaro, T. R. (2013). Drought adversely affects tuber development and nutritional quality of the staple crop cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Functional Plant Biology*, 40(2), 195–200.
- Vanderplank, J. (1984). *Disease resistance in plants*. Orlando: Academic Press.
- Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K., & Swings, G. J. (1995). Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(3), 472–789.
- Velasquez, E. (2000). El Casabe I\_ Alimento Aborigen , En Una Economía Global. *FONAIAP DIVULGA*.
- Verdier, V. (1988). *Contribution à l'étude de la variabilité de Xanthomonas campestris pv. manihotis (Arthaud Berthet et Bondar) Starr. agent causal de la bactériose vasculaire du manioc (Manihot esculenta Crantz)*. Université de Paris 11/Université de Paris-Sud.
- Verdier, V., Lopez, C., & Bernal, A. (2012). “Cassava Bacterial Blight, Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*.” In B. Ospina & H. Ceballos (Eds.), *Cassava in the Third Millennium, Modern Production, Preprocessing, Use, and Marketing Systems*. (p. 569). Cali , Colombia.: CIA, CLAYU.
- Verdier, V., & Mosquera, G. (1999). Specific Detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* with a DNA Hybridization Probe. *Journal of Phytopathology*, 147(7–8), 417–423. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1999.tb03843.x>
- Verdier, V., Mosquera, G., & Assigbétsé, K. (2007). Detection of the Cassava Bacterial Blight Pathogen, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* , by Polymerase Chain Reaction . *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/pdis.1998.82.1.79>
- Verdier, Valérie, & Restrepo, S. (1997). Répartition géographique de la bactériose vasculaire du manioc en Colombie et variabilité de l'agent pathogène. *Les Cahiers de La Recherche Développement*, 44, 16–26.
- Vergnaud, G., & Pourcel, C. (2009). *Chapter 12 Multiple Locus Variable Number of Tandem Repeats Analysis*. 1–18. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-999-4>
- Vernier, P., N’Zué, B., & Zakhia-Rozis, N. (2018). *Le manioc , entre culture alimentaire et filiere agro-industrielle* (Éditions Q; Agricultures tropicales en poche, Ed.). Retrieved from <https://www.quae-open.com/produit/87/9782759227099/le-manioc-entre-culture-alimentaire-et-filiere-agro-industrielle>
- Vernière, C., Bui Thi Ngoc, L., Jarne, P., Ravigné, V., Guérin, F., Gagnevin, L., ... Pruvost, O. (2014). Highly polymorphic markers reveal the establishment of an invasive lineage of the citrus bacterial pathogen *Xanthomonas citri* pv. *citri* in its area of origin. *Environmental*

- Microbiology*, 16(7), 2226–2237. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12369>
- Vinatzer, B. A., Monteil, C. L., & Clarke, C. R. (2014). Harnessing Population Genomics to Understand How Bacterial Pathogens Emerge, Adapt to Crop Hosts, and Disseminate. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 52, 19–43. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045907>
- Vlot, A., Liu, P., Cameron, R., & Al., E. (2008). Identification of likely orthologs of tobacco salicylic acid-binding protein 2 and their role in systemic acquired resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 56(3), 445–456. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03618.x>
- Vogler, A. J., Keys, C. E., Allender, C., Bailey, I., Girard, J., Pearson, T., ... Keim, P. (2007). Mutations, mutation rates, and evolution at the hypervariable VNTR loci of *Yersinia pestis*. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.11.007>
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., ... and et al. (1995). AFLP: an technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res*, 23, 4407–4414.
- Waddington, S. R., Li, X., Dixon, J., Hyman, G., & de Vicente, M. C. (2010). Getting the focus right: Production constraints for six major food crops in Asian and African farming systems. *Food Security*, 2(1), 27–48.
- Wang, D., Hadj-Henni, L., Thierry, S., Arna, P., Chermette, R., Botterel, F., ... Ranque, S. (2012). Simple and Highly Discriminatory VNTR-Based Multiplex PCR for Tracing Sources of *Aspergillus flavus* Isolates. *PLoS One*, 7(9), e44204.
- Wang, W., Feng, B., Xiao, J., Xia, Z., Zhou, X., Li, P., & Al, E. (2014). Cassava genome from a wild ancestor to cultivated varieties. *Nat. Commun.*, 5(5110), 1–9.
- Wang, Z., Weber, J. L., Zhong, G., & Tanksley, S. D. (1994). Survey of plant short tandem DNA repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, 88(1), 1–6. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF00222386>
- Wangsomnuk, P., Ruttawat, B., & Wongtiem, P. (2013). Identification of Genetically Distinct Cassava Clones from On-Farm Plantations to Widen the Thai Cassava Breeding Gene Pool. *Am. J. Plant Sci.*, 4(8), 1574–1583.
- Ward, M. H. (1902). On the relations between host and parasite in bromes and their brown rust, *P. dispersa* (Eriths). *Ann. Bo*, 16, 233–315.
- Webb, K. M., Oña, I., Bai, J., Garrett, K. A., Mew, T., Vera Cruz, C. M., & Leach, J. E. (2010). A benefit of high temperature: increased effectiveness of a rice bacterial blight disease resistance gene. *The New Phytologist*, 185(2), 568–576. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03076.x>
- Weerarathne, L. V. Y., Marambe, B., & Chauhan, B. S. (2017). Does Intercropping Play a Role in Alleviating Weeds in Cassava as a Non-Chemical Tool of Weed Management? – A Review. *Crop Protection*, 95(2017), 81–88. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.08.028>
- Were, K. H. (2001). *Serological and molecular characterization of begomoviruses infecting cassava (Manihot esculenta Crantz) in Africa*. Busia, Kenia.
- White, F., Potnis, N., Jones, J., & Koebnik, R. (2009). The type III effectors of *Xanthomonas*. *Molecular Plant Pathology*, 10(6), 749–766. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00590>
- Wonni, I. (2013). *Les bactérioses du riz dues à Xanthomonas oryzae au Burkina Faso*. UNIVERSITE MONTPELLIER II SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC.
- Wonni, I., Ouedraogo, L., Dao, S., Tekete, C., Koita, O., Taghouti, G., ... Verdier, V. (2015). First Report of Cassava Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Burkina Faso. *Plant Disease*, 99(4), 551. <https://doi.org/10.1094/pdis-03-14-0302-pdn>

- Wright, S. (1931). Evolution in Mendelian Populations. *Genetics*, *16*(97–159).
- Wroblewska, M., Dijkshoorn, L., Marchel, H., & *Al.*, E. (2004). Out- break of nosocomial meningitis caused by *Acinetobacter baumannii* in neurosurgical patients. *J Hosp Infect*, *57*, 300–307.
- Wydra, K., Fanou, A., & Rudolph, K. (2001). Effect of Cassava Bacterial Blight on Cassava Growth Parameters and Root Yield in Different Ecozones and the Influence of the Environment on Symptom Development. *7th Triennial Symposium of International Society of Tropical Root Crops*, 562–569.
- Wydra, K., & Verdier, V. (2002). Occurrence of cassava diseases in relation to environmental, agronomic and plant characteristics. *Agriculture, Ecosystems & Environment.*, *93*, 211–226.
- Wydra, Kerstin, Banito, A., & Kpémoua, K. E. (2007a). Characterization of resistance of cassava genotypes to bacterial blight by evaluation of leaf and systemic symptoms in relation to yield in different ecozones. *Euphytica*, *155*(3), 337–348. <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9335-9>
- Wydra, Kerstin, Banito, A., & Kpémoua, K. E. (2007b). Characterization of resistance of cassava genotypes to bacterial blight by evaluation of leaf and systemic symptoms in relation to yield in different ecozones. *Euphytica*. <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9335-9>
- Xu, J. (2005). The inheritance of organelle genes and genomes: patterns and mechanisms. *Genome*, *48*, 951–958.
- Yevtushenko, D., & Misra, S. (2019). Enhancing disease resistance in poplar through modification of its natural defense pathway. *Plant Mol Biol.*, *100*(4–5), 481–494. <https://doi.org/10.1007/s11103-019-00874-2>
- Young, J. M., Park, D.-C., Shearman, H. M., & Fargier, E. (2008). A multilocus sequence analysis of the genus of *Xanthomonas*. *Systematic and Applied Microbiology*, *31*, 366–377.
- Zacarias, A. M., & Labuschagne, M. T. (2010). Diallel analysis of cassava brown streak disease, yield, and yield-related characteristics in Mozambique. *Euphytica*, *176*, 309–320.
- Zaluga, J., Stragier, P., Van Vaerenbergh, J., Maes, M., & De Vos, P. (2013). Multilocus Variable-Number-Tandem-Repeats Analysis (MLVA) distinguishes a clonal complex of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* strains isolated from recent outbreaks of bacterial wilt and canker in Belgium. *BMC Microbiology*, *13*, 126–141. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-126>
- Zhan, J. (2016). Population Genetics of Plant Pathogens. In *Encyclopedia of Life Science*. (p. 8). <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0021269.pub2>
- Zhao, W., Chen, H., Zhu, S., Xia, M., & Tan, T. (2007). One-step detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in symptomless tomato seeds using a Taqman probe. *J Plant Pathol*, *89*(3), 349–351.
- Zhu, Y., & Saltzgeber, M. (2020). A systematic analysis of apple root resistance traits to *Pythium ultimum* infection and the underpinned molecular regulations of defense activation. *Hortic Res.*, *7*, 62. <https://doi.org/doi:10.1038/s41438-020-0286-4>
- Zinsou, V. A., Afouda, L. A. C., Ahohuendo, B. C., & Wydra, K. (2017). Importance of fungal root rot pathogens of cassava in Benin. *Pak. J. Bot*, *49*(5), 2023–2028.
- Zinsou, V., Wydra, K., Agbicodo, E., Ahohuendo, B., & Rudolph, K. (2001). Studies on Resistance of Cassava Genotypes to Bacterial Blight. In *Plant Pathogenic Bacteria*. [https://doi.org/10.1007/978-94-010-0003-1\\_69](https://doi.org/10.1007/978-94-010-0003-1_69)
- Zinsou, V., Wydra, K., Ahohuendo, B., & Hau, B. (2005). Genotype x Environment Interactions in Symptom Development and Yield of Cassava Genotypes with Artificial and Natural Cassava Bacterial Blight Infections. *European Journal of Plant Pathology*,

111(3), 217–233. Retrieved from <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10658-004-2877-6.pdf>



## ANNEXES FINALES

### Annexe 1: Protocole d'échantillonnage appliqué au Mali

#### ->Collecte des données

Une série de collecte s'appliquera au niveau des cinq plus importantes régions de production du pays à savoir Kayes, Koulikoro, Sikasso ; Ségou et Mopti.

Pour chaque région on prendra deux (02) sites, au niveau de chaque site trois parcelles seront sélectionnées en fonction de leurs tailles et seront soumis à la collecte de 30 feuilles présentant les symptômes typiques de CBB. Les échantillons seront conditionnés dans des enveloppes portant le nom de la localité, la date de collecte et un code d'identification. Au laboratoire, les échantillons seront disposés à l'ombre à température ambiante avant l'isolement des souches.

Pour les 05 régions nous auront 900 feuilles collectées, comme base pour la constitution de stock de souche après l'isolement.

Au final nous souhaitons après isolement obtenir un effectif de souche d'au moins 1/3 de la proportion des feuilles symptomatologiques soit 300 souches.

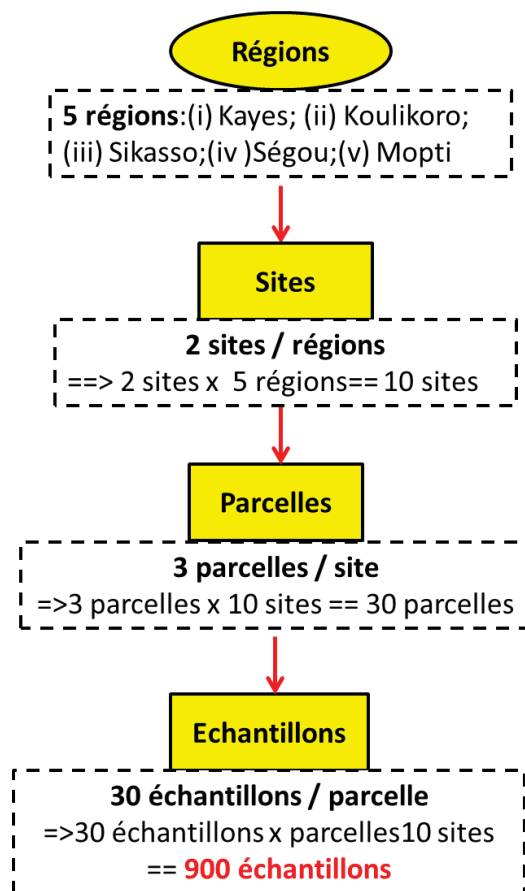


Figure 1 : Principe de l'échantillonnage

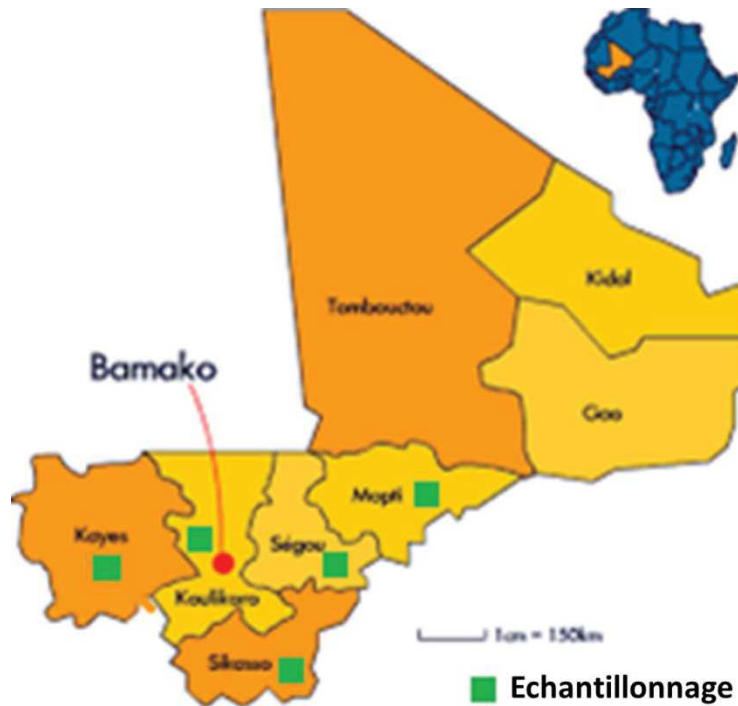


Figure 2 : Carte du Mali avec les différentes régions d'échantillonnage (adapté d'Afriquimage ,2016)

Lors de cette phase d'échantillonnage, nous procéderons à l'évaluation de l'incidence de la maladie dans chaque parcelle suivant la technique de cadrage en " W" (Szurek et Verniere, communication personnelle). Pour les 05 régions nous auront 900 feuilles collectées, comme base pour la constitution de stock de souche après l'isolement.

Elle consistera pour chaque parcelle à évaluer le nombre de plants de manioc ayant des feuilles symptomatiques de CBB suivant un schéma en W dans un périmètre de 5 m de côté.

$$I = (\text{nombre de plantes infectés} / \text{nombre total de plants observés}) * 100.$$

Le nombre de périmètre ou de carré à évaluer par parcelle est déterminé en fonction de la surface du champ. Nous prendrons 3 périmètres (carrés) pour toute parcelle de superficie inférieure ou égale à 1Ha. Pour les parcelles de faible densité, le comptage se fera sur l'ensemble des plants de manioc.

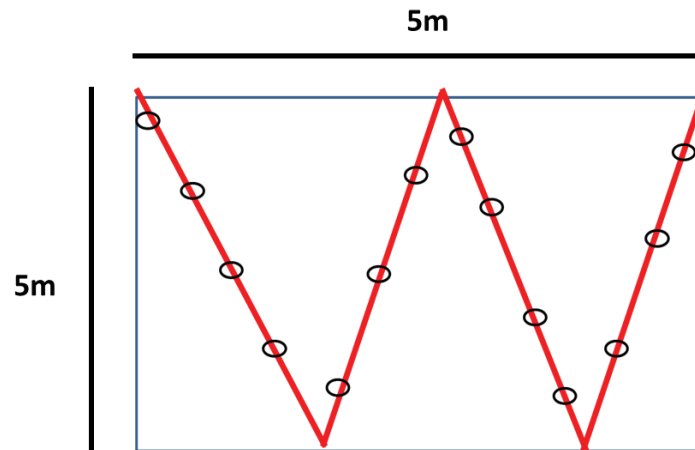


Figure 3 : Schéma du principe d'évaluation de l'incidence en W.

Une série de question sera soumis à l'adresse des producteurs. Il s'agira de

- l'identité de variété cultivée
- des informations sur la maladie de la bactériose du manioc.
- Connaissance de cette maladie et d'autres maladies touchant le manioc dans la zone de production.
- Origine du matériel végétal au Mali.
- Les échanges possibles, les niveaux d'échange.

**Annexe 2: Fiche d'enquête sur la CBB utilisée au Nigeria et Cameroun**

**QUESTIONNARY FOR CBB SAMPLING :**

**Step of survey in Cameroon**

Date :...../...../2017

**1-Localisation & identity**

Région/State of      1-Nord       2-Adamaoua       3-Est       4-Centre       5-Ouest       6-Nord-Ouest

7-Others Régions:(7-...-10)=.....      7= Sud-Ouest /8=Littoral/9=Sud/10=Extrême-Nord

Name of Location :.....

1-Around Rural Community       2-Village       3-Small Village/Camp/Hamlet       1-Others

Détails in others cases:.....

Fields N°:...../Plots:...../ Area :.....Ha

Place names:.....

GPS Coordonnates :

N-S=..... ; E-W=..... ; H=.....m

Parts collected : Leaves      ;  Flowers      ;  cutting/stem .....

Variety-Name : .....

Local name of Variéty: .....

Total Samples/ Field:..... Name-Code : Caxam.....-...\_.....\_.....

Type of Soil : .....

Age/ Step phenological : .....Month/ Height==>.....m.      1-Short       2-Medium       3-Tall

**2-Situation of cuttings:**

Origin of cutting:.....

Duration of collection: .....

Possible exchange:      1-Yes       2-No

Exchange levels      1-Low       2-Medium       3-High

Exchange Among      1-Fields       2-Locality       3-Regions

Others informations .....

**3-Diseases knowledges :**

**Diseases Présent in this plot/field:**

**Disease 1 :**.....

**Disease 2 :**.....

**Disease 3 :**.....

**Famous disease actually in Fields/most constated:**

.....  
.....

**4-CBB Incidence estimation :**

**Square 1 :**

Number of Infected Plants(NIP) =

Number of Total Plants by square (NTP)=

**Square 2 :**

Number of Infected Plants(NIP) =

Number of Total Plants by square (NTP)=

**Square 3 :**

Number of Infected Plants(NIP) =

Number of Total Plants by square (NTP)=

**NB : Disease Incidence (DI) = (IP/TP)\*100**

**5-Others details/General orders :**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

### **Annexe 3:** Protocoles utilisées dans l'étude moléculaire et génétique de *Xpm*

#### **Protocole1 : Isolement de souches de *Xpm* à partir de feuilles symptomatiques de manioc**

Un fragment foliaire de 1 cm de diamètre correspondant à des symptômes typiques de la maladie (taches angulaires huileuses) est prélevé pour chacune des feuilles. Une seule lésion a été traitée par feuille si leur nombre était de l'ordre de 20. Dans le cas contraire, plusieurs lésions ont été prélevées sur une même feuille. Les fragments sont broyés dans des tubes Eppendorf de 2 ml contenant 1 bille métallique et 500 µl de tampon PBS 1X à l'aide d'un « Tissue Lyser II » pendant 20s afin d'obtenir des tissus fins et extraire les bactéries présentes dans les lésions. Les broyats sont ensuite centrifugés 1 min à 1000 g, dont 50 µl de surnageant sont étalés en trois secteurs sur boîte de Petri contenant du milieu de culture LPGA (pour 500 ml de préparation: 7,5 g d'agar pour culture bactérienne ; 2,5 g d'extraits de levure ; 2,5 g de peptone et 2,5 g de glucose) avec trois antibiotiques ayant une concentration de 50 µg/ml (500 µl de kasugamycine, 500 µl de céphalexine et 500 µl cycloheximide) et mis en incubation de 48h à 72h dans une étuve à 28°C. Par la suite une inspection visuelle vise à sélectionner les colonies de couleur blanche ivoire, scintillantes à la lumière et à bord régulier de manière à repiquer au final 1 colonie par lésion. Après 24 h d'incubation, on procède à la mise en conservation des souches, mais aussi à la préparation de la microplaque contenant les lyses bactériennes (voir ci-dessous). La conservation des souches se fait donc en cryotubes à l'aide d'une anse de 10µl pour introduire la culture bactérienne dans 1ml de milieu LPG (ou 1ml d'eau distillée stérile) mélangé à 300 µl de glycérol à 80%.

#### **Protocole2 : Validation des souches candidates de *Xpm***

--->Lyse des colonies bactériennes en microplaque :

- Remplissage de la microplaque : l'équivalent d'une demi-anse de 1µl de culture de souches de *Xpm* candidates est mise en suspension dans 100 µl de PBS 1X distribués préalablement dans chacun des 96 puits d'une microplaque, homogénéisé jusqu'à obtenir une suspension trouble et conservé -20 °C.
- Lyse bactérienne : une fois la microplaque complète, on réalise la lyse des suspensions dans un thermocycleur (PTC-200) à 94°C pendant 15 minutes.

--->PCR de diagnostic Duplex :

Rapportée par (Verdier et al. (1998) cette PCR à la particularité de combiner deux paires d'amorces permettant d'amplifier deux fragments spécifiques du génome de *Xpm*. Le premier fragment correspond au gène de ménage rpoB (944pb), le second correspond à un fragment de 570pb codant pour la partie C-terminale des effecteurs TAL de *Xpm*. La réaction est montée comme suit (Tableau ci-dessous).

On adapte les quantités en fonction du nombre d'échantillons à tester. Les quantités ci-dessus correspondent à l'analyse d'un seul échantillon. Durant la réalisation des différentes PCR de validation, nous avons été amenés à optimiser les conditions de notre PCR afin d'améliorer les résultats. Pour cela, nous avons modifié la quantité d'amorce pour avoir un ratio de 3 entre les deux paires d'amorces. Cela veut dire que la quantité de la deuxième paire d'amorces (AM2) est trois fois plus importante que la

première paire d'amorces (voir détails ci-dessous). L'amplification est réalisée avec le programme suivant (Tableau ci-dessous). Ensuite, les réactions de PCR sont laissées migrer sur un gel d'agarose à 1% baignant dans une cuve d'électrophorèse contenant du tampon TBE 0,5 X (10.8 g de Tris, 5.5 g d'acide borique, 0.6 g d'EDTA pour un 1 L de solution) pendant 30 min à 100 V. Le gel est ensuite incubé dans un bain de bromure d'éthidium (intercalant d'ADN) à 1% durant 15 minutes pour colorer l'ADN et ainsi visualiser les amplicons sous rayonnements UV.

Séquence des deux paires d'oligonucléotides utilisées

Nom	Sequence (5'-3')	Taille de l'amplicon (pb)
C-term	F: GCA-TGC-GAC-GCA-GTT-CGG-GAT-GAG R: ACT-AGT-TCA-CTG-AGG-AAA-TAC-CTC-CAT	570
Rpob	F: TGG-AAC-AGG-GCT-ATC-TGA-CC R: ATT-CYA-GGT-TGG-TCT-GRT-T	944

Programme d'amplification de la PCR multiplex MLVA Etapes

Etapes	Température	Durée	Nombre de cycles
Dénaturation	94°C	15min	
Dénaturation	94°C	30s	35 cycles
Hybridation	60°C	1min30	
Elongation	72°C	1min	
Elongation	72°C	20min	

### Protocole 3: Test de pathogénicité

Le test de pathogénicité permet de confirmer à la fois les résultats de la PCR diagnostic, mais aussi de caractériser la virulence du pathogène. Afin de réaliser ce test, on utilise la variété de manioc très sensible SG-107-35.

--->Préparation de l'inoculum : Une quantité de bactéries est prélevée à partir d'une culture fraîche (24h de croissance) sur milieu solide et mélangée à 3 ml d'eau stérile dans un petit pilulier de 16 ml afin d'obtenir une suspension homogène dont la concentration est mesurée au spectrophotomètre (à une longueur d'onde de 600 nm). La solution mère est ensuite diluée de manière à obtenir une densité optique de l'ordre de 0.2, ce qui correspond à une concentration de 10<sup>8</sup> CFU/ml.

--->Inoculation de feuilles de manioc : L'infiltration des souches de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* s'est faite sur des jeunes feuilles de plants âgés de six à huit semaines environ au niveau de chacun de leurs folioles à l'aide d'une seringue de 1ml sans aiguille. En effet, cette infiltration se fait sur la face

inférieure des feuilles, car c'est ici que les stomates se situent et cela facilite l'entrée de *Xpm* dans les feuilles. Après infiltration, on observe de manière régulière (1 jour sur 2) l'évolution des symptômes jusqu'à 2 semaines environ après infiltration.



**Annexe 4:** Informations issues de l'activité d'échantillonnage de matériel suspecté d'y être infecté par la CBB (ligne de fond gris) dans les zones enquêtées au Cameroun

Jours	Date d'éch.	N° champs	Region	Communes	Localités	Feuilles CBB	Inc. Sev
D1	17./11./ 17	1	Centre	OBALA	MINKAMA	0	0
D2	18./11./ 17	2	Centre	MONATELE	EZEZAN	0	0
D2	18./11./ 17	3	Centre	NTUI	BETAMBA	1	2
D2	18./11./ 17	3	Centre	NTUI	BETAMBA	3	2
D2	18./11./ 17	4	Centre	NTUI	YALONGO	0	0
D2	18./11./ 17	5	Centre	YOKO	NDOGAN-YASSEM	0	0
D3	19./11./ 17	6	Centre	YOKO	MANKIM	1	1
D3	19./11./ 17	7	Centre	YOKO	NDIYENE	0	0
D3	19./11./ 17	7	Centre	YOKO	NDIYENE	0	0
D3	19./11./ 17	8	Centre	YOKO	LENA	7	2
D3	19./11./ 17	8	Centre	YOKO	LENA	4	2
D3	19./11./ 17	8	Centre	YOKO	LENA	8	2
D3	19./11./ 17	8	Centre	YOKO	LENA	20	2
D4	20./11./ 17	9	Adamaoua	TIBATI	MEDJAMBA	6	1
D4	20./11./ 17	9	Adamaoua	TIBATI	MEDJAMBA	15	1
D4	20./11./ 17	10	Adamaoua	TIBATI	MAFO ZAOROATIKOU	6	3
D4	20./11./ 17	10	Adamaoua	TIBATI	MAFO ZAOROATIKOU	17	3
D4	20./11./ 17	10	Adamaoua	TIBATI	MAFO ZAOROATIKOU	2	3
D5	21./11./ 17	11	Adamaoua	NGAOUNDERE	SABA-Barriere	13	V1=3;V4=4
D5	21./11./2017	11	Adamaoua	NGAOUNDERE	SABA-Barriere	9	V1=3;V4=4
D5	21./11./ 17	12	Adamaoua	MBE	KARNA MANGA	19	2
D5	21./11./ 17	13	Nord	LAKDO	BANDOURI	9	2
D5	21./11./ 17	13	Nord	LAKDO	BANDOURI	19	3
D6	22./11./ 17	14	Nord	GAROUA	VALLE bord BENOUE	5	2
D6	22./11./ 17	14	Nord	GAROUA	VALLE bord BENOUE	25	2
D6	22./11./ 17	14	Nord	GAROUA	VALLE bord BENOUE	3	2
D6	22./11./ 17	14	Nord	GAROUA	VALLE bord BENOUE	7	2
D6	22./11./ 17	15	Nord	NGONG	DJEFATO	6	2
D6	22./11./ 17	15	Nord	NGONG	DJEFATO	8	2
D6	22./11./ 17	15	Nord	NGONG	DJEFATO	7	2
D6	22./11./ 17	15	Nord	NGONG	DJEFATO	7	2
D6	22./11./ 17	16	Nord	TIOLLORI	WAFANGO	19	2
D6	22./11./ 17	16	Nord	TIOLLORI	WAFANGO	9	2
D7	23./11./ 17	17	Nord	MAYORY	MAROUM	12	2
D7	23./11./ 17	18	Nord	TOUBORO	MBEING	12	3

D7	23./11./ 17	19	Nord	TOUBORO	TOUBORO PEAGE	0	
D7	23/11/ 17	20	Nord	TOUBORO	MANBERE	0	
D8	24/11/ 17	21	Adamaoua	MARTAP	DJABE-FOULBE	21	2
D8	24 /11/ 17	21	Adamaoua	MARTAP	DJABE-FOULBE	8	2
D9	25./11./ 17	22	Adamaoua	TIBATI	SALASA	0	
D9	25./11./ 17	23	Adamaoua	BANGNO	KAHABAM	2	2
D9	25./11./ 17	24	Adamaoua	BANGNO	BON-MARCHE	0	
D9	26./11./ 17	25	Adamaoua	BANKIM	MBANDOA	2	3
D10	26./11./ 17	26	Ouest	MAGBA	NGOUNSO	1	/
D10	26./11./ 17	27	Ouest	NJIMOM-FOUMBAN	NKOUSSAM	0	
D10	26./11./ 17	28	Ouest	FOUMBOT	Station IRAD	1	
D10	26./11./ 17	28	Ouest	FOUMBOT	Station IRAD	2	1
D10	26./11./ 17	28	Ouest	FOUMBOT	Station IRAD	7	4
D10	26./11./ 17	28	Ouest	FOUMBOT	Station IRAD	9	3
D11	27./11./ 17	29	Ouest	BAFOUSSAM	BAMEKOUMBO	0	
D11	27./11./ 17	30	Nord-Ouest	SANTA	MEFEBE	0	
D11	27./11./ 17	31	Nord-Ouest	TUBAH-BAMENDA	BAMBUI IRAD	0	
D12	28./11./ 17	32	Nord-Ouest	BELO	BAINGO	0	
D12	28./11./ 17	33	Nord-Ouest	/	BOJI	0	
D12	28./11./ 17	34	Nord-Ouest	WUM	NTOM(KUK)	0	
D12	28./11./ 17	35	Nord-Ouest	WUM	WUM sortie Ouest	13	4
D12	28./11./ 17	35	Nord-Ouest	WUM	WUM sortie Ouest	6	4
D12	28./11./ 17	35	Nord-Ouest	WUM	WUM sortie Ouest	7	4
D13	29./11./ 17	36	Nord-Ouest	BAMENDA	BALINYONGA <sup>(Mile 87)</sup>	0	
D13	29./11./ 17	37	Nord-Ouest	MOGHAMO	NGYEM-MUWAH	3	2
D13	29./11./ 17	38	Nord-Ouest	WIDIKUM	WIDIKUM extension road	0	0
D13	29./11./17	39	Sud-Ouest	/	ETOKO	1	1
D13	29./11./ 17	40	Sud-Ouest	EKOCK	BAKWELLE	11	3
D13	29./11./ 17	40	Sud-Ouest	EKOCK	BAKWELLE	6	3
D13	29./11./ 17	41	Sud-Ouest	EYUMOJOCK	EYUMOJOCK	0	
D14	30./11./ 17	42	Sud-Ouest	MANU	BAKEBE	0	
D14	30./11./ 17	43	Sud-Ouest	NGUTTI	NGUTTI extension	0	
D14	30./11./ 17	44	Sud-Ouest	NGUTTI	BABENSI II	0	
D14	30./11./ 17	45	Sud-Ouest	KOGNYE	KWEME-BONGUE	3	/
D14	30./11./ 17	46	Sud-Ouest	KUMBA	MABONDJI	0	
D15	01./12./ 17	47	Sud-Ouest	/	BANGA-BAKUNDU	0	
D15	01./12./ 17	48	Sud-Ouest	EKONA-BUEA	Station IRAD-	0	
D15	01./12./ 17	49	Littoral	BEKOKO	BASSA	0	
D15	01./12./ 17	50	Littoral	DOUALA	PK 24	25	2
D15	02./12./ 17	51	Littoral	DIBANBA	BONEPOUPA	0	
D15	02./12./ 17	52	Littoral	EDEA	KOPONGO	0	

D16	02./12./ 17	53	Littoral	POUMA	NDOKOK-LOGBAMAL	0	
D16	02./12./ 17	54	Littoral	POUMA	NGWEI	3	/
D17	03./12./ 17	55	Centre	NGOK-MABOUBI	LIBEL-LIGOI	0	ND
D17	03./12./ 17	55	Centre	NGOK-MABOUBI	LIBEL-LIGOI	1	ND
D#T2	27./11./17	#38	Est	KETE	NDOMEME	4	ND
D#T2	27./11./ 17	#40	Est	KETE	NOUBEWINA	7	ND
D#T2	29./11./ 17	#46	Est	KENZOU	DIRA II	2	ND
D#T2	29./11./ 17	#48	Est	BATOURI	NYABI	2	ND
D#T2	29./11./ 17	#49	Est	KENZOU	TOUBE	7	ND
D#T2	02./12./ 17	#66	Est	YOKADOUMA	BONDJE	11	ND
D#T2	02./12./ 17	#66	Est	ABONG-MBANG	ABONG-MBANG peripherie	11	ND
D#T2		#74	Sud	MBALMAYO	NSENG NLONG	2	ND
D#T2		#76	Sud	NKOL METET	NKOLYA	2	ND
D#T2		#77	Sud	Sgoliana	MEDONG	12	ND
D#T2		#78	Sud	ADJAP-Saguilima	NDJATOM	5	ND
D#T2		#80	Sud	Sgal	Nyasibete	1	ND
D#T2		#84	Sud	MINTOM	MINTOM	4	ND
D#T2		#86	Sud	MINTOM	MBOUTOUKOU	2	ND
D#T2		#87	Sud	MBALOU	ALATI	23	ND
D#T2	09./12./ 17	#90	Sud	DJOUM	MEBANE II	12	ND
D#T2	09./12./ 17	#91	Sud	DJOUM	ONON	2	ND
D#T2		#9x	Sud	SANGUELIMA	ENDAM 2	25	ND
D#T2		#93	Sud	SANGUELIMA	ENDENGUE	33	ND
D#T2		#96	Sud	SANGUELIMA	MEYO ESSE	2	ND
D#T2		#97	Sud	SANGUELIMA	EMINI MVOU ESSE	20	ND
<b>Total leaf /CBB</b>						<b>600</b>	



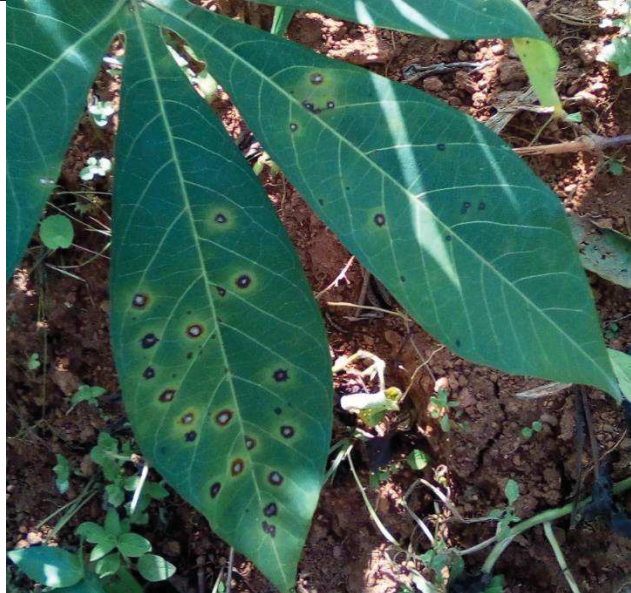

Présence de la CBB

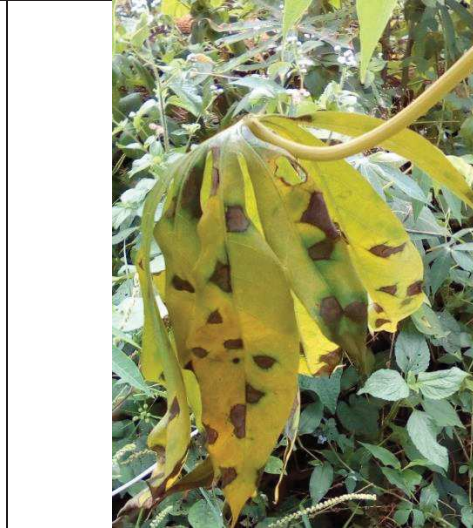
Echelle de notation de 0-5 (Fargette et al, 1993)

1= uniquement des lésions angulaire sur feuille; 2= étendu à des brulures sur feuille; 3= flétrissement des feuille, défoliation et exsudation de sève (gommose) sur tige et pétioles ; 4= défoliation et dépérissement de la tige ; 5= défoliation complète and dépérissement de l'extrémité de la tige (des pousses)

**Annexe 5:** Photos de symptômes/degats de bioagresseurs sur le manioc, collectées lors des prospections sur terrain au Mali, Nigeria et Cameroun entre 2016 et 2018.

**I-Maladie**

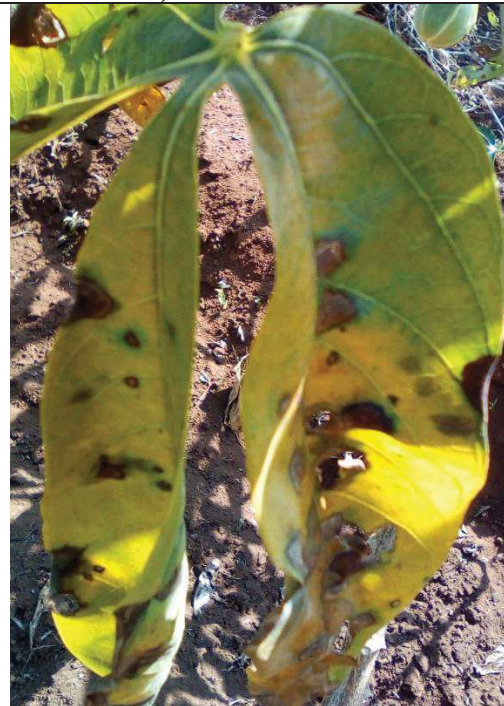
	
<b>Dessechement des feuilles</b>	<b>Lesoins alternées sur feuille</b>
	
<b>Tache blanche des feuilles [White leaf spot (WLS)]</b>	<b>Tache brune sur les feuilles [Brown Leaf spot (BLS) on leaves]</b>







**BLS sur feuille (stade avancé)**



**BLS sur feuille (stade initiale)**



**Cercosporiose noire (Sigatoka) sur  
feuilles**

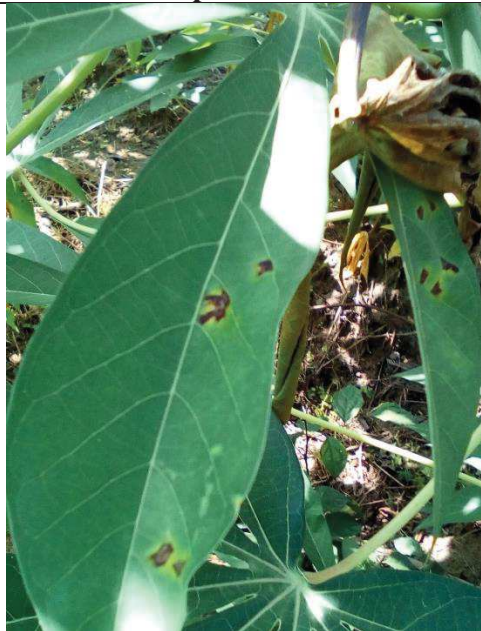
	
<p><b>CMD on sur feuille (stade intermediaire)</b></p>	<p><b>CMD (stade avancé)</b></p>
	
<p><b>Jaunissement des bordures sur feuille</b></p>	<p><b>Maladie virale: mosaïque dorée</b></p>



**CBB : face superieure de la feuille**







**CBB : face inferieure de la feuille**



**Lesions angulaire/CBB**



**Lesions angulaire miniscule sur feuille**

	
<p><b>Anthracnose sur tige</b></p>	
	
<p><b>Anthracnose sur la tige et au pédoncule</b></p>	<p><b>Taches alternées (alternariose) sur la feuille</b></p>





**Défoliation complète de la plante**



**Dessechement sévère due à une maladie associée à une phyllodie**



**Maladie foliaire du manioc**

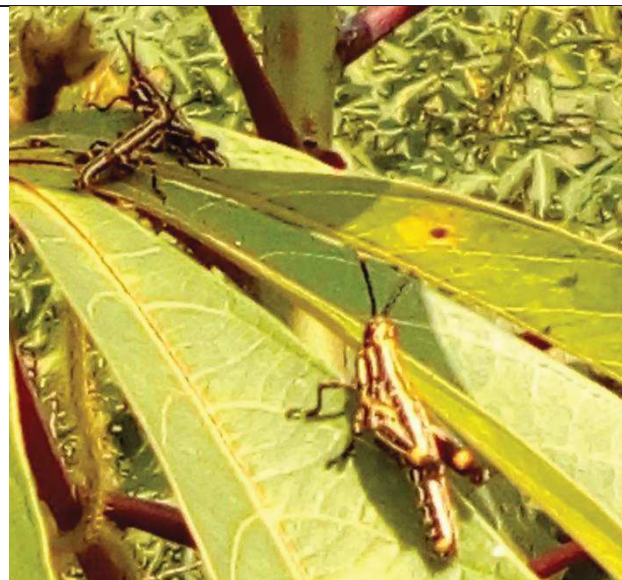
## II- Ravageurs sur manioc



Chenille sur feuille



Escargot sur feuille



Sauterelle puante sur feuille de manioc



**Attaque sévère de la mouche spirale**

## Annexe 6 : Valorisation, productions scientifiques issues des travaux de la these

Productions scientifiques				
Titres		Types de productions	Années	Lieu/Évènements scientifiques/Revue
1	Analyse de la diversité de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. manihotis au Mali	Poster pour la 12eme SFP de Dunkerque	2017(Juin)	Dunkerque /France
2	Le marché des produits phytosanitaires dans la zone de Ségou : quid des produits non homologués ?	Présentation orale lors du Colloque International de l'Université de Ségou	2017(Septembre)	Ségou-Mali/Colloque international de l'U.Segou-Mali
3	Diversité des populations de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. manihotis au Mali	Publication (article) dans l'acte de Colloque	2017(Aout)	Journal / Colloque de l'U.Segou-Mali
4	Development of a duplex-PCR for differential diagnosis of <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. manihotis and <i>Xanthomonas cassavae</i> in cassava ( <i>Manihot esculenta</i> )	Publication (article)	2018 (Juillet)	Journal: Physiological and Molecular Plant Pathology
5	Cassava Bacterial Blight in Mali: Diversity study of populations of <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. manihotis	Poster pour "IVth International Cassava Conference of the Global Cassava Partnership For the 21st Century"	2018(Juin)	Cotonou, Benin/ Conférence internationale sur le manioc
6	MLVA-based diversity analysis of <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. manihotis (Xam) populations in Mali	Poster pour l'ICPP Boston 2018 Publication (Abstract) dans "Phytopathology"	2018(Aout)	Boston, USA/ Conférence internationale des phytopathologistes
7	Confirmation of <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. manihotis (Xam), the causal Agent of Cassava Bacterial Blight (CBB) in Mali	Publication (article)	2020 (Fevrier)	Plant pathology journal
8	A minisatellite-based MLVA for deciphering the global epidemiology of the bacterial cassava pathogen <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. manihotis	Publication (article) en soumission	Soumission en cours	Phytopathology
9	Multilocus Variable-Number-Tandem-Repeats Analysis (MLVA) epidemiological surveillance of <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. manihotis highlights a high diversity of the pathogen population in Mali	Publication (article) en soumission	Soumission en cours	Applied and Environmental Microbiology (AEM)
10	Le manioc au Mali: évaluation préliminaire de la résistance variétale à la bactériose vasculaire (CBB) causée par <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv manihotis.	Publication (article) en soumission	Soumission en cours	Acte du colloque MSAS 2020
11	Le manioc au Mali : zoom sur la production d'une espèce végétale résiliente au changement climatique.	Publication (article) en préparation	en cours	Tropicultura