# Caractérisation de Xanthomonas oryzae, agent causal du flétrissement bactérien (BLB) et de la strie bactérienne (BLS) du riz au Sénégal : pour un développement de stratégies de lutte contre la BLB et la BLS

Hamidou Tall

▶ **To cite this version:**

Hamidou Tall. Caractérisation de Xanthomonas oryzae, agent causal du flétrissement bactérien (BLB) et de la strie bactérienne (BLS) du riz au Sénégal : pour un développement de stratégies de lutte contre la BLB et la BLS. Sciences agricoles. Université Montpellier, 2021. Français. NNT : 2021MONTG063 . tel-03602491

**HAL Id: tel-03602491**
**https://theses.hal.science/tel-03602491**

Submitted on 9 Mar 2022

**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 BIOLOGIE DES INTERACTIONS**

**ÉCOLE DOCTORALE GAIA**

**UNITÉ DE RECHERCHE IPME**

# Caractérisation de *Xanthomonas oryzae*, agent causal flétrissement bactérien (BB) et de la bactériose à stri foliaires (BLS) du riz au Sénégal, pour un développemer stratégies de lutte durables

**Présentée par Hamidou TALL**

**Sous la direction de Valérie VERDIER**

## Devant le jury composé de

| | |
|---|---|
| Marie-Agnès JACQUES, Directrice de Recherche, INRAE | Président jury |
| Marie-Anne BARNY, Directrice de Recherche, INRAE | Rapporteuse |
| Kandioura NOBA, Professeur, Université Cheikh Anta Diop | Examinateur |
| Issa WONNI, Maitre de Recherche, INERA | Examinateur |
| Boris SZUREK, Directeur de Recherche, IRD | Encadrant |
| Valérie VERDIER, Directrice de recherche, IRD | Directrice de thèse |

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

**Résumé** :

Une des contraintes majeures à la production rizicole sont les maladies causées par les bactéries du genre *Xanthomonas*. Le flétrissement bactérien (BB) et la strie foliaire (BLS) sont deux maladies émergentes en Afrique de l'Ouest, causées respectivement par *Xanthomonas oryzae* pv*. oryzae (Xoo) et Xanthomonas oryzae* pv*. oryzicola* (*Xoc*)*.* Le BB et le BLS ont été signalées au Sénégal pour la première fois dans les années 1980 mais aucune souche de *Xoo* ni de *Xoc* n'a jamais été isolée. Le choix de gènes de résistance contre BB et BLS est effectué en fonction de leur efficacité par rapport à la fréquence et la distribution des races ou pathotypes les plus virulents du pathogène dans la région d'intérêt. Si la résistance variétale semble être un des moyens les plus efficaces pour assurer le contrôle à ces maladies, l'absence d'études sur les *X. oryzae* du Sénégal fait qu'aucune stratégie n'a été encore envisagée dans ce pays. La caractérisation de la diversité des souches de *X. oryzae* de même que l'évaluation de potentielles sources de résistance dans les variétés locales sont des conditions indispensables à la mise en place d'un contrôle durable. Ainsi les objectifs de notre étude étaient : (i) de clarifier le statut du BB et de la BLS au Sénégal par le biais de prospections dans les rizières et de prélèvements ; (ii) de constituer une collection nationale de souches de *X. oryzae* et d'en assurer la caractérisation génétique et pathotypique ; (iii) d'identifier les gènes de résistance les plus prometteurs parmi ceux à disposition dans les germoplasme et parmi les variétés de riz cultivées au Sénégal. Suite aux campagnes de prospection, l'isolement et confirmation des isolats par des approches de diagnostic moléculaire, nous avons constitué une collection de 43 souches de *Xoo* et 91 de *Xoc* du Sénégal. Le criblage de lignées quasi iso-géniques IRBB a permis d'identifier 6 races réparties sur 3 sites, dont 2 races déjà décrites au Burkina Faso (A1) et au Mali (A3). Parmi les 13 gènes de résistances testées, seuls *Xa1* et *xa5* sont en mesure de contrôler les 6 races de *Xoo*. Le criblage de 22 variétés de riz cultivées au Sénégal a permis de sélectionner 4 variétés résistant à toutes les races identifiées. L'inoculation de lignées de riz portant les gènes de résistance *Xa1* ou *Xo1* a montré tout leur intérêt pour lutter contre *Xoc*. En revanche la lignée transgénique sur-exprimant *RXo1* est contournée par la majorité des souches de *Xoc* testées, en accord avec l'observation que près de 81% des *Xoc* Sénégalaises ne possèdent pas *avrRXo1*. L'analyse MLVA a démontré une importante diversité d'haplotypes au Sénégal. La présence d'un haplotype commun dans 3 régions rizicoles pourrait témoigner d'échanges de matériel infecté entre régions éloignées. L'analyse des performances agronomiques de 3 variétés cultivées au Sénégal a montré que les pertes de rendement imputables à *Xoo* varient de 5% à 55% en fonction de la variété cultivée et de la race en présence.

**Mots clés** : *Xanthomonas oryzae* ; riz ; Sénégal ; variétés résistantes, MLVA, races

**Summary**:

One of the major constraints to rice production are diseases caused by bacteria of the genus *Xanthomonas*. Bacterial Leaf Blight (BB) and Leaf Strike (BLS) are two emerging diseases in West Africa caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) and *Xanthomonas oryzae* pv*. oryzicola* (*Xoc*). BB and BLS were first reported in Senegal in the 1980s, but no strain of *Xoo* or *Xoc* has ever been isolated. The choice of resistance genes against BB and BLS is made on the basis of their efficacy against the frequency and distribution of the most virulent races or pathotypes of the pathogen in the region of interest. If varietal resistance appears to be one of the most effective way of controlling these diseases, the lack of studies on *X. oryzae* from Senegal means that no really durable strategy has yet been considered in this country. The characterization of the diversity of strains of *X. oryzae* as well as the evaluation of the potential sources of resistance in local varieties are essential conditions for the establishment of a sustainable control. Thus the objectives of our study were: (i) to clarify the situation of BB and BLS in Senegal through surveys in rice fields and sampling; (ii) build up a national collection of strains of *X. oryzae* and ensure their genetic and pathotypic characterization; (iii) identify the most promising resistance genes among those available in the germplasm and among the varieties of rice cultivated in Senegal. Following campaigns of prospecting, isolation and confirmation of isolates by molecular diagnostic approaches, we have established a collection of 43 strains of *Xoo* and 91 of *Xoc* from Senegal. Screening of quasi-isogenic IRBB lines made it possible to identify 6 races distributed over 3 sites, including 2 races already described in Burkina Faso (A1) and Mali (A3). Among the 13 resistance genes tested, only *Xa1* and *xa5* are able to control the 6 races of *Xoo*. The screening of 22 varieties of rice cultivated in Senegal made it possible to select 4 varieties resistant to all the races identified. Inoculation of rice lines carrying the *Xa1* or *Xo1* resistance genes has shown great interest in the control of *Xoc*. On the other hand, the transgenic line overexpressing *RXo1* is broken by the majority of *Xoc* strains tested, in agreement with the observation that nearly 81% of Senegalese *Xoc* do not have *avrRXo1*. MLVA analysis demonstrated a great diversity of haplotypes in Senegal. The presence of a common haplotype in 3 rice-growing regions could indicate an exchange of infected material between remote regions. The analysis of the agronomic performance of 3 varieties cultivated in Senegal showed that the yield losses attributable to *Xoo* vary from 5% to 55% depending on the variety cultivated and the race concerned.

**Key words**: *Xanthomonas oryzae*; rice; Senegal; resistant varieties, MLVA, race

Je dédie ce mémoire de thèse à mes deux parents décédés qui n'ont ménagé aucun effort pour ma réussite. Je n'oublierais jamais vos sacrifices pour ma réussite.

Merci, qu'ALLAH vous accueille dans son Paradis éternel !

**Remerciements :**

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué directement ou indirectement à l'achèvement de mes travaux de thèse depuis la proposition de sujet jusqu'à la rédaction finale de ce manuscrit.

En premier, je remercie l'ISRA de m'avoir donné les moyens et le temps de pouvoir réaliser cette formation doctorale en phytopathologie. Et au WAAPP, je dis merci pour le soutien financier car sans ce financement il me serait difficile voire impossible de faire cette thèse en France.

Vivement je remercie ma Directrice de thèse, Dr. Verdier Valérie, PDG de l'IRD de m'avoir couvé, orienté, soutenu pour diriger avec toute la rigueur scientifique dans toutes les étapes de mon encadrement. Les mots me manquent pour vous exprimer toute ma gratitude. Ce fut une énorme chance pour moi de vous avoir rencontrée sur le chemin de ma vie intellectuelle. Merci.

Mes remerciements vont à l'égard de mon encadrant, Dr. Boris Szurek, Chef de l'équipe GTIPP de l'IRD qui m'a soutenu, orienté et conseiller au cours de toutes les étapes de rédaction, de mes présentations et de mes manuscrits d'articles et de thèse. Votre soutien m'a été d'une importance capitale pour mener à terme ce travail. Merci infiniment.

Un Grand merci à Dr. Sébastien Cunnac qui a été d'un grand apport scientifique pour moi lors de la rédaction de mes articles et de mon manuscrit de thèse. Ce fut une grande satisfaction de ma part d'avoir appris à vos côtes. J'associe aussi Aurore Comte à ces remerciements, pour tout son aide lors de l'analyse de toutes mes données de tests de races et évaluation de pertes de rendement.

Mention spéciale pour vous Dr Mathilde Hutin, tes conseils et ton aide ont été d'une importance capitale pour ma compréhension de *Xoc*. Merci pour tout ce que tu m'as apporté sur le plan expertise, pour la bonne marche de mes expérimentations et les bons résultats qui s'en sont suivis. Merci du fond du cœur.

Je remercie tous les membres de l'équipe GTIPP de l'IRD de m'avoir bien intégré dans cette équipe ô combien dynamique et travailleuse. Je remercie particulièrement Coline Sciallano, Marlène Lachaux, Florence Augy, Ralf Koebnik, Lionel Gagnevin, Emilie Thomason, Carolina Flores sans oublier Ganna Reshetnyak pour tous vos appuis au cours de ces années de thèse que j'ai passées avec vous dans les Laboratoires.

À mes amis, frères et sœur Cheikh Tékété, Hinda Doucouré et Moussa Kanté, je ne vous oublie pas dans mes remerciements. Merci pour vos soutiens au LBMA de Bamako et à l'IRD Montpellier pendant mes longues journées de manips dans ces laboratoires.

Aux membres de mon comité de thèse, Dr. Laurent LAPLAZE, UMR DIADE, Pr. Diégane DIOUF UCAD, Sénégal, Dr. Lionel GAGNEVIN, UMR IPME, Pr. Pierre CZERNIC, Dr. Boris Szurek, UMR IPME, merci pour vos conseils et encouragements.

Mes remerciements aux membres du jury pour m'avoir fait honneur de juger ce travail.

Je remercie du fond du cœur toute l'administration de l'IRD à commencer par Nathalie Pujet, Isabelle Siacco et Clotilde pour votre appui durant ces années de thèse que j'ai passées avec vous.

Je remercie également certains membres de l'équipe DIADE, notamment Eugénie Hébrard, Jamel Aribi et Denis Farget que j'ai eu à côtoyer lors de mes séjours à Montpellier.

Je remercie vivement Professeur Kandioura Noba pour son soutien constant depuis le début de cette thèse jusqu'à son achèvement final, merci Professeur pour tout votre apport scientifique dans la bonne conduite de mes travaux.

À ma femme Mariama Diallo et mes deux enfants Demba et Ramatoulaye, je vous dis merci pour votre soutien et votre patience.

**Abréviations :**

**AAD** : acide activation domain

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ADT** : Adénosine Diphosphate

**AFLP** : Amplified fragment-length polymorphism

**ARN** : Acide ribonucléique

**ATP** : Adénosine Triphosphate

**avr** : avirulence

**avr** : avirulence

**BB** : bacterial blight

**BLS** : bacterial leaf straek

**CoA** : Acétyl coenzyme A

**COR** : coronatine

**DAMPs** : Dammage-Associated Molecular Patterns

**DSF** : diffusible signal factor

**DSRP** : Document Stratégique de Réduction de la Pauvreté

**EBE** : Effector Binding Element

**EPSs** : Polysaccharides Extracellulaires

**ERF** : ethylene-response factor

**ET3** : Effecteurs de type III

**ETS** : effector-triggered susceptibility

**ETS :** Effector-Triggered Susceptibility

**FLS2** : Flagellin Sensing 2

**GOANA** : Grande Offensive pour la nourriture et l'abondance

**GWAS** : genome-wide association study

**HR** : Hypersensitive responses

**hrp** : hypersensitive reaction and pathogenicity

**IRBB** : International Rice Bacterial Blight

**LAMP**: Loop mediated isothermal Amplification

**LPS** : Lipopolysaccharides

**LPSs** : Lipopolysaccharides

**LRR** : Leucine Rich Repeat

**MAMPS** : Microbe-Associated Molecular Patterns

**MAPK** : mitogen-activated protein kinase

**MLVA** : Multilocus Variable number of tandem repeat Analysis

**NB** : Nucleotide Binding

**NERICA** : New Rice for Africa

**NIL** : Near Isogenic Line

**NLR**: Leucine-Rich Repeat

**PAMPs** : Pathogen-Associated Molecular Patterns

**PCR** ¨Polymerase chain reaction

**PGNs** : Peptidoglycanes

**PNAR** : Programme National d'Autosuffisance

**Pop** : Pseudomonas outer protein

**PRACAS** : Programme d'Accélération de la Cadence de l'Agriculture Sénégalaise

**PRRs** : Plant patternrecognition Receptors

**PTI** : PAMP-Triggered Immunity

**QTL** : Quantitatifs Traits Locus

**R** : gène de résistance

**RFLP** : Restriction Fragment Length Polymorphism

**Rip** : *Ralstonia injected protein*

**RLP** : Receptor-Like Kinase

**RVD** : Repetition Variable Diresidues

**RYMV** : Rice Yello Mottle Virus

**SA** : Acide salicylique

**SAED** : Société Nationale d'Aménagement et d'Exploitation des terres du Delta du fleuve Sénégal

**Sec** : general secretion

**SODAGRI** : Société de Développement Agricole et Industriel du Sénégal

**SST3** : Système de Sécrétion de Type III

**SST7** : Système de Sécrétion de Type VII

**TALE** : Transcription Activator-Like Effectors

**Tat** : Twin-arginine translocation

**VNTR** : Variable Number Tandem Repeat

***Xam*** : *Xanthomonas axonopodis* pv*. manihotis*

***Xcc*** : *Xanthomonas campestris* pv*. campestris*

***Xcl****: Xanthomonas campestris pv. leersiae*

***Xcv*** : *Xanthomonas campestris* pv*. vesicatoria*

***Xoc*** : *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola*

***Xoo*** : *Xanthomonas oryzae* pv*. oryzae*

***Xop*** : *Xanthomonas* outer protein

**Table des matières :**

**1 Chapitre 1: Revue bibliographique ..... 2**
1.1 Généralités sur le riz ..... 2
1.2 Le riz au Sénégal ..... 5
1.2.1 Importance du riz dans l'économie nationale ..... 5
1.2.2 Les systèmes rizicoles au Sénégal ..... 5
1.3 Problèmes et contraintes liés à la production du riz au Sénégal ..... 9
1.3.1 Contraintes physiques ..... 9
1.3.2 Problèmes de gestion des cultures: ..... 9
✓ Préparation du sol ..... 9
✓ Les pépinières ..... 9
✓ Choix des variétés à cultiver ..... 10
✓ Installation de la culture ..... 10
✓ Gestion des éléments nutritifs ..... 10
✓ Gestion des eaux ..... 10
✓ La récolte ..... 11
1.3.3 Contraintes biotiques ..... 11
1.3.3.1 Les adventices ..... 11
1.3.3.2 Les insectes ..... 12
1.3.3.3 Les maladies du riz et les moyens de lutte ..... 12
1.3.3.3.1 La pyriculariose ..... 13
1.3.3.3.2 La RYMV ..... 13
1.3.3.3.3 Les bactérioses du riz causée par *Xanthomonas oryzae* ..... 16
1.3.3.3.3.1 Le flétrissement bactérien causé par *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) ..... 18
1.3.3.3.3.2 La bactériose à stries foliaires causée par *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* (*Xoc*) ..... 19
1.3.3.3.3.3 Variabilité du spectre de virulence des souches de *Xanhomonas oryzae* en Afrique de l'Ouest ..... 22
1.3.3.3.3.4 Aperçu de la diversité génétique et structure des populations de *Xanthomonas oryzae* . 25
1.4 Facteurs de virulence imliqués dans l'interaction entre la plante et *Xanthomonas*: ..... 28
1.4.1 Déterminants majeurs du pouvoir pathogène chez *Xanthomonas* ..... 28
1.4.1.1 Les systèmes de sécrétion et leurs rôles dans la virulence ..... 30
1.4.1.2 Les exopolysaccharides ..... 32
1.4.1.3 Les lipopolysaccharides ..... 32
1.4.1.4 Les adhésines ..... 33
1.4.1.5 Les xylanases ..... 34
1.4.1.6 Les toxines ..... 34

1.4.2 Généralités sur le Système de Sécrétion de Type Trois ..... 35
1.4.2.1 Structure du système de sécrétion de type trois ..... 37
1.4.2.2 Les effecteurs de type 3 ..... 39
1.5 Projet de thèse ..... 44
**2 Chapitre 2: Caractérisation pathotypique et moléculaire de *Xoo* au Sénégal ..... 47**
2.1 Article1 accepté dans la revue Plant disease: Confirmation Report of Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* on rice in Senegal ..... 47
2.1.1 Niveau d'implication personnelle ..... 47
2.1.2 Contexte et justification ..... 47
2.1.3 Matériels et méthodes ..... 47
2.1.4 Résultats et discussions ..... 48
2.1.5 Perspectives ..... 48
2.2 Article2: Characterization of Senegalese *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* races to inform resistance gene deployment ..... 53
2.2.1 : Niveau d'implication personnelle ..... 53
2.2.2 Contexte et justification ..... 53
2.2.3 Matériels et méthodes ..... 54
2.2.4 Résultats et discussions ..... 54
2.2.5 Perspectives ..... 55
**3 Chapitre 3: Caractérisation pathotypique et moléculaire de *Xoc* au Sénégal ..... 86**
3.1 Article1 Confirmation report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* in Senegal ..... 86
3.1.1 Niveau d'implication personnelle ..... 86
3.1.2 Contexte et justification ..... 86
3.1.3 Matériels et méthodes ..... 86
3.1.4 Résultats et discussions ..... 87
3.1.5 Perspectives ..... 87
**3.2 Article2 en cours de correction par les co-auteurs: Caractérisation pathotypique et moléculaire de *Xoc* au Sénégal ..... 93**
3.2.1 Niveau d'implication personnelle ..... 93
3.2.2 Contexte et Justification ..... 93
3.2.3 Matériels et méthodes ..... 94
3.2.4 Résultats et discussions ..... 94
3.2.5 Perspectives ..... 94
**4 Chapitre 4: Évaluation des pertes de rendement dues à *Xoo* sur deux variétés élites de riz du Sénégal ..... 123**
4.1 Introduction ..... 123

4.2 Matériels et méthodes ..... 123
4.2.1 Matériels ..... 123
4.2.2 Méthodes ..... 124
4.3 Résultats et discussion ..... 126
4.4 Conclusion ..... 131
**5 Chapitre5: Discussion générale, conclusions et perspectives ..... 135**
5.1 Discussion générale ..... 135
5.2 Conclusion générale et perspectives ..... 141
**6 Références bibliographiques: ..... 143**

**Liste des tableaux :**

Tableau 1 : Caractérisation de différentes races de *Xoo* grâce à 12 variétés IRBB……..24

Tableau 2 : Résumé des gènes de riz R clonés et les gènes *Avr* de *Xanthomonas oryzae*……..24

Tableau 3: List of *Xanthomonas oryzae* pv*. oryzae* strains characterized in this study……64

*Tableau 4:* Virulence of Senegalese *Xanthomonas oryzae* pv*. oryzae* strain against NILs varieties…..67

Tableau 5: Geographical distribution and race classification of *Xoo* in Senegal……69

Tableau 6: List of Senegalese varieties used in the resistance screen……..71

Tableau 7 : Liste des séquences d'amorces utilisées lors du PCR multiplex spécifique……103

Tableau 8 : Liste des souches de *Xoc* isolées au Sénégal de 2016 à 2017……..105

Tableau 9. Diversité génétique global de *Xanthomonas oryzae* pv*. oryzicola*……...114

**Liste des Figures :**

Figure 1: Présentation du plant de riz……..4
Figure 2: Distribution des NERICA en Afrique sub-Saharienne……..4
Figure 3: Zones de riziculture irriguée et pluviale au Sénégal.....8
Figure 4: Production (en tonnes) des céréales du Sénégal durant la campagne de 2017/2018……8
Figure 5: Symptômes de pyriculariose du riz.....15
Figure 6: Symptômes sur feuille de riz de la *RYMV*……15
Figure 7: Morphologie de *Xanthomonas oryzae* ……17
Figure 8: Symptômes provoqués par *Xoo* et *Xoc* et localisation cellulaire ……17
Figure 9: Répartition mondiale de BB……..21
Figure 10: Répartition mondiale de BLS……...21
Figure 11: Distances entre *Xoo*, *Xoc* et *Xcl* basées sur des séquences partielles concaténées des gènes de ménage *gyrB*, *atpD*, *dnaK*, *efp*, *lepA*, et *rpoD* ……..27
Figure 12: Représentation des principaux systèmes de sécrétion impliqués dans la virulence de *Xanthomonas*……29
Figure 13: Illustration des systèmes de sécrétion chez les bactéries Gram négatives……...36
Figure 14: Système de sécrétion de type 7……..36
Figure 15: Pilus du système de sécrétion de type 3……..38
Figure 16: Domaines fonctionnels des effecteurs de type TAL……..41
Figure 17: Modèle illustrant le rôle des TALEs de *Xoo* dans l'induction des gènes *SWEET* chez le riz……43
Figure 18: Confirmation that bacterial strains isolated from symptomatic leaves cause Bacterial Leaf Blight of Rice in leaf clipping experiments……..51
Figure 19: Phylogenetic tree of the best blastn hits of the CIX2951 *gyrB* PCR product sequence in the NCBI nucleotide collection……52
Figure 20: Sampling map and *Xanthomonas oryzae* sites……..62
Figure 21: *Xanthomonas oryzae* pv*. oryzae* pathogenicity test on the Azucena variety……..63
Figure 22: IRBB *Xa* resistance efficacity again forty four *Xoo* strains……..66
Figure 23: Number of strains collected in Senegal within the different races identified……...68
Figure 24: Senegalese rice varieties level resistance to 35 *Xoo* strains……..73
Figure 25: Confirmation that bacterial strain isolated from symptomatic leaves cause bacterial leaf streak of rice in leaf infiltration experiments……92
Figure 26: Carte du Sénégal montrant sites échantillonnages et d'isolement de *Xanthonas oryzae*…..99
Figure 27: Gel d'agarose de PCR multiplex pour la confirmation du pathovar oryzicola……..101

Figure 28: Méthode utilisée pour les tests pathogénicité de *Xoc*……..101
Figure 29: Agressité des *Xoc* du Sénégal ……110
Figure 30: Agressivité des souches *Xoc* sur Carolina Gold, IRBB1 et Kitaake *RXo1*……110
Figure 31. Minimum spanning tree des populations de *Xanthomonas oryzae* pv*. Oryzicola.*……..115
Figure 32: Minimum spanning tree des populations de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*……..116
Figure 33: Projection de la présence de l'effecteur AvrRxo1 sur un minimum spanning tree des populations de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*……117
Figure 34: Minimum spanning tree de la collection mondiale de *X. oryzae* pv. *oryzicola*……..118
Figure 35: Schéma global de l'essai évaluation de pertes de rendement……..125
Figure 36: Agressité des souches sur les deux variétés……..127
Figure 37: Nombre de plantes récolté après inoculation avec les trois souches de *Xoo* et avec l'eau……127
Figure 38: Les races de *Xoo*, la variété, et les interactions race-variété ont un effet significatif sur le rendement du riz……129
Figure 39: Corrélation entre les composantes du rendement et la sévérité de la maladie……129
Figure 40: Synthèse des corrélations……..130

# Chapitre I

Revue bibliographique

# 1 Chapitre 1: Revue bibliographique

## 1.1 Généralités sur le riz

Le riz appartient à la famille des graminées ou Poacées qui comprend le genre *Oryza* (**Figureure1**), regroupant lui-même 23 espèces. Deux d'entre elles sont cultivées : *Oryza glaberrima* caractérisée par un caryopse rouge brun qui est originaire d'Afrique et est cultivée uniquement en Afrique ; et *Oryza sativa* avec une coloration de la graine variant du blanc au rouge pâle et qui est originaire d'Asie (Vaughan, Lu, et Tomooka 2008).

L'espèce ***sativa*** est subdivisée en trois sous-espèces (***indica, japonica*** *et* ***javonica***) notamment caractérisées par leur distribution géographique, la morphologie des plantes et des grains, la stérilité des hybrides et la réaction sérologique (E. Somado et *al*. 2008).

La sous-espèce ***indica*** est la plus cultivée dans les régions tropicales et subtropicales. Elle est caractérisée par de larges feuilles vert-claires, et des grains minces et longs à des grains courts minces et plats presque non aristés avec un égrenage facile. La hauteur des plants varie de 0,6 à 6 m, et ces plants ont une forte capacité de tallage. Les dernières feuilles sont dressées et le riz est sec à la cuisson.

La sous-espèce ***japonica*** se retrouve dans les zones les plus fraiches des régions subtropicales et dans les zones tempérées. Les feuilles sont étroites, de couleur vert-foncée et tallent modérément. La dernière feuille est retombante, les plants sont courts et ont des grains courts et ronds avec ou sans une longue barbe. Les grains ont un égrenage moins facile et une teneur en amylose de 10 à 24%, le riz est collant à la cuisson.

Le riz ***javanica*** est originaire d'Indonésie. Il est aussi appelé variété *bulu* ou *gundil*, il a un faible tallage, une grande taille et de longues panicules. Les feuilles sont vert-claires, les grains sont longs, larges et épais. Certains sont aristés, d'autres ne le sont pas. Les grains ont un faible égrenage et une teneur en amylose de 20-25%.

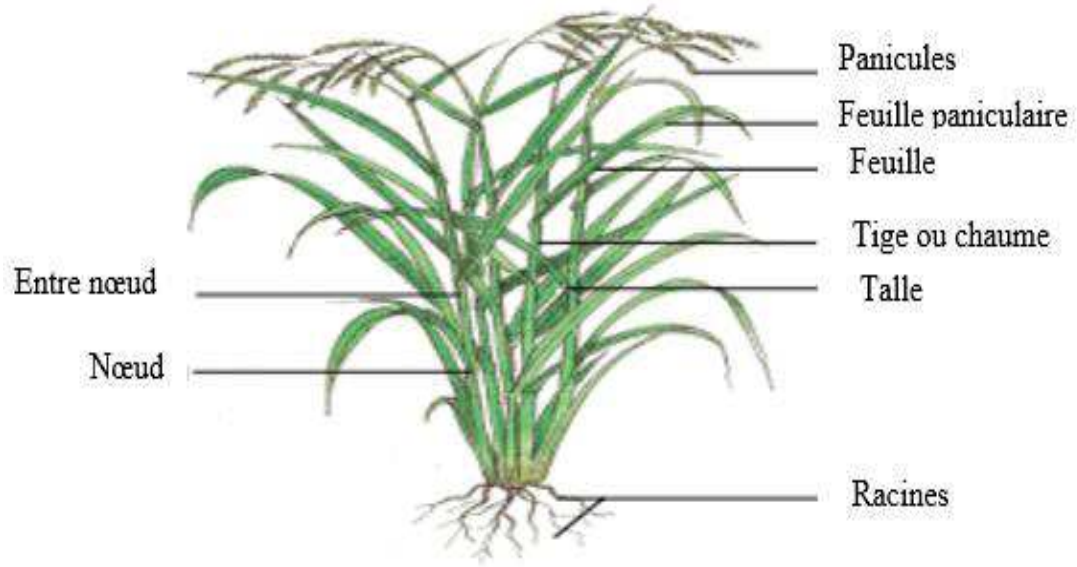
L'espèce ***O. glaberima*** possède de petits grains lisses en forme de poire. Le péricarpe est de couleur olive à noir avec un son rouge, des panicules courtes, des ligules arrondies, des feuilles larges et luxuriantes avec peu ou pas de branches secondaires. Le grain est fragile mais les plantes sont très rustiques et possèdent une bonne tolérance face aux stress biotiques et abiotiques (Musset 1942; Aladejana et Faluyi 2007).

Selon A. Chevalier, M. Lorieux , *O. glaberrima* et *O. sativa* sont deux espèces proches, et certaines variétés de *O. glaberrima* se sont hybridées avec *O. sativa* (Chevalier 1937; Lorieux, Ndjiondjop, et Ghesquière 2000). En s'appuyant sur ces résultats, AfricaRice, a développé pour l'Afrique les NERICA (« New Rice for Africa ou le nouveau riz pour l'Afrique») qui sont de nouvelles variétés résultant de croisements interspécifiques entre des accessions de ***Oryza sativa*** (riz asiatique) et ***Oryza glaberrima***

(riz africain cultivé) (AfricaRice 2004). Les variétés de riz NERICA les plus populaires combinent les meilleures caractéristiques des deux parents à savoir un rendement élevé du parent asiatique et la capacité du parent africain à se développer dans des environnements difficiles.

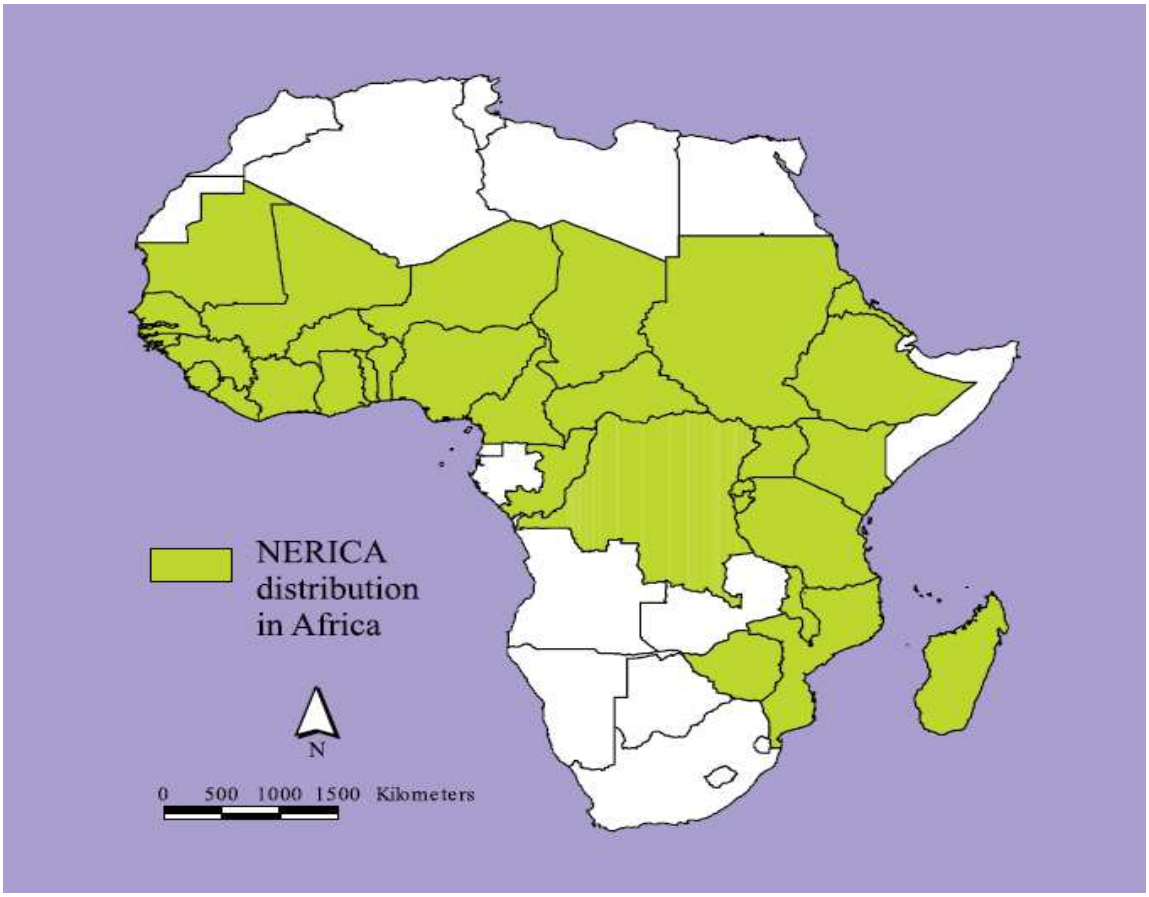
AfricaRice a développé des variétés de NERICA **(Figure 2)** pour toutes les topo-séquences, aussi bien pour le système irrigué que pour le système pluvial et ceci dans plusieurs pays du continent. Au Sénégal, les variétés NERICA 1, NERICA 5, NERICA 6, NERICA S19, NERICA S21, NERICA S36 et NERICA S44 sont les plus cultivées même si avec la nouvelle législation de l'UEMOA on peut retrouver des variétés de NERICA initialement destinées à d'autres pays Africains (ISRA PSD 2018).

Dans la carte variétale du Sénégal, pour les variétés les plus cultivées, les NERICA ne représentent que 11,7%. Les variétés Sahel et ISRIZ sont majoritairement utilisées en système irrigué.




**Source :** ADRAO, 2003

**Figure 1 :** Présentation d'un plant de riz




Source (E. Samado et al 2008)

**Figure 2** Distribution des NERICA en Afrique sub-Saharienne

## 1.2 Le riz au Sénégal

### 1.2.1 Importance du riz dans l'économie nationale

La croissance économique du Sénégal est actuellement portée par le secteur tertiaire. La contribution du secteur agricole à la croissance atteint à peine les 0,1% et ce, malgré les programmes agricoles ambitieux qui se sont succédés.

Le riz est une céréale massivement cultivée au Sénégal et occupe la deuxième place parmi les plantes céréalières d'intérêt agronomique après le mil. Sa production a presque quadruplé en 16 ans, elle est passée de 231 805 tonnes en 2003 à 1 011 269 tonnes en 2018 (FAO et DAPSA/MAER 2018) (**Figure4**). Cependant, cette production est loin de couvrir les besoins nationaux en riz qui sont estimés à 1600000 tonnes de riz paddy. Pour combler ce déficit alimentaire, le gouvernement continue à favoriser l'importation qui varie d'une année à une autre en fonction de la production nationale en riz.

Le Sénégal, avec une consommation moyenne de 90 kg de riz par habitant et par an, est actuellement l'un des plus gros consommateurs de riz en Afrique de l'Ouest (FAO 2014), avec la particularité de consommer essentiellement du riz brisé. La libéralisation du secteur du riz par le gouvernement Sénégalais depuis 1996 lui a permis de se retirer de toutes les interventions dans la filière aussi bien dans la production que dans la commercialisation du riz. Et il a en même temps libéralisé les importations de cette denrée. L'augmentation de la demande nationale en riz a entraîné ainsi un accroissement des importations annuelles dans le pays qui se situent entre 30 et 40% de la demande nationale de riz. Ce taux est très fluctuant d'une année à une autre en fonction de la variation de la pluviométrie.

Cette dépendance vis à vis de l'extérieur pour une denrée alimentaire de base aussi stratégique, demeure depuis le début des années 2000, une préoccupation majeure du gouvernement. C'est pourquoi, en 2008, le Programme National d'Autosuffisance en Riz (**PNAR**) dont l'horizon était fixé à 2012 a été lancé. Ce programme s'inscrivait dans la stratégie nationale de lutte contre la pauvreté définie dans le Document Stratégique de Réduction de la Pauvreté II (DSRP II) et dans celle de la Grande Offensive Agricole pour la Nourriture et l'Abondance (GOANA) initiée la même année (Mballo et Sy 2020).

### 1.2.2 Les systèmes rizicoles au Sénégal

La production de riz paddy au Sénégal était évaluée à 1 011 269 tonnes en 2018 (FAO et DAPSA/MAER 2018), soit 626 986,78 tonnes de riz blanc, sur la base d'un taux d'usinage de 62 %. Cette production est en augmentation de 6,94 % par rapport à la production enregistrée en 2017. Les effets cumulés d'une augmentation des superficies emblavées (par des investissements massifs dans les ouvrages

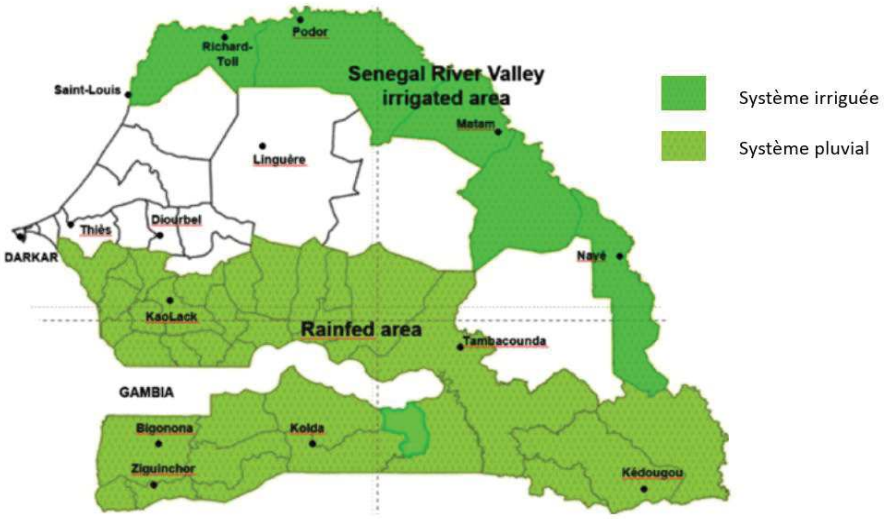
hydro-agricoles) et de l'intensité culturale sont à l'origine de cette augmentation. Une telle augmentation peut être liée à l'accroissement des surfaces, mais aussi aux effets de la pluviométrie, à la disponibilité en intrants, à la qualité des semences et au respect des « itinéraires techniques » promus dans le cadre du Programme d'Accélération de la Cadence de l'Agriculture Sénégalaise (PRACAS). Malgré les progrès réalisés, l'objectif d'autosuffisance en 2017 (évalué à 1 600 000 tonnes de riz paddy) n'a pas été atteint car même si on prend en compte cette production record en 2018, il faudrait une production supplémentaire de 588 731 tonnes pour atteindre l'autosuffisance en riz (**Figure** 4).

La production de riz provient de plusieurs systèmes de production spécifiques à chaque zone agro-écologique du pays. Il existe plusieurs types de riziculture au Sénégal (Dieye 2010). Cependant, deux types principaux dominent, à savoir la riziculture traditionnelle ou pluviale de bas-fond ou de plateau, et la riziculture irriguée (**Figure** 3).

- La riziculture traditionnelle pluviale pratiquée dans les parties Centre, Sud et Est du pays (régions de Fatick, Kédougou, Tambacounda, Sédhiou, Ziguinchor) avec 2 variantes : celle pratiquée dans les bas-fonds le long des vallées inondables et celle pratiquée sur les plateaux, totalement pluviale. Dans ce système où les superficies d'exploitation sont très petites, le travail est essentiellement manuel, l'utilisation de semences améliorées et d'engrais est rare. Les rendements sont faibles, de l'ordre de 2 tonnes par ha en culture pluviale sur les plateaux et de 3 tonnes/ha dans les bas-fonds. Une grande partie de ce riz est auto-consommée. Les variétés disponibles pour la riziculture pluviale sont essentiellement Nerica 1, Nerica 2, Nerica 3, Nerica 4, Nerica 5, Nerica 6, DJ 8, DJ 11 et IRAT 110. Le rendement moyen est de 1,5-3,0 t/ha. Pour le riz de bas-fonds, les variétés disponibles sont : DJ 12519, ITA 123, TOX 728-1, BW 248-1, DJ 684 –D, ROCK -5, WAR-1, WAR-77, BG-90-2. Le rendement moyen en riziculture de bas-fonds est de 3,0 t/ha.
- La riziculture irriguée retrouvée au nord dans la vallée du fleuve Sénégal et dans le bassin de l'Anambé. Elle s'effectue sur des périmètres aménagés par la Société Nationale d'aménagement et d'exploitation des terres du delta du fleuve Sénégal, des vallées du fleuve Sénégal et de la Falémé (SAED) et la Société de Développement Agricole et Industriel du Sénégal (SODAGRI) dans le bassin de l'Anambé. Les surfaces aménagées et mises en valeur tournent autour de 70 000 ha sur un potentiel de l'ordre de 240 000 ha. L'objectif était d'arriver à 100 000 ha aménagés en 2017. La gestion des périmètres irrigués, précédemment du ressort de la SAED dans le nord, a été transférée aux organisations professionnelles agricoles. Il s'agit d'une riziculture intensive à raison de 2 récoltes par an, l'une issue de la campagne d'hivernage, l'autre de la campagne de contre-saison sèche et chaude. Dans la

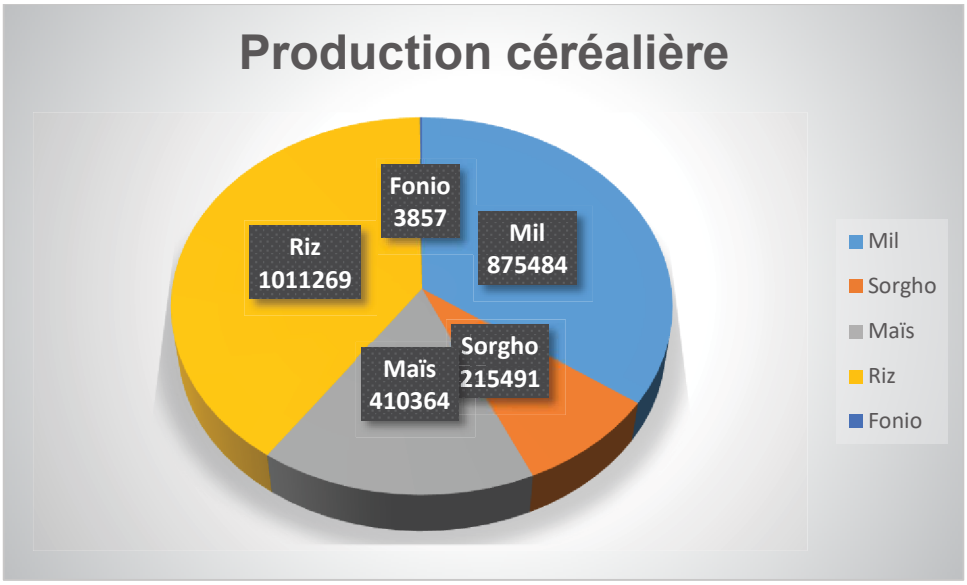
région de la vallée du fleuve Sénégal, les variétés à cycle court (90-110 jours) sont utilisées à la fois pour la saison hivernale et la contre saison (ex. la variété Sahel 108), et les variétés à cycle moyen (110 à 120 jours) telles que Sahel 201, Sahel 202, IR 1529 et Jaya sont essentiellement utilisées pour la saison hivernale. Le rendement moyen en riziculture irriguée est de 5,0-6,0 t/ha avec des pics de 8,0-9,0 t/ha.

- Il existe aussi la riziculture de mangrove pratiquée essentiellement dans la zone de mangrove en Casamance. Les variétés utilisées sont tolérantes au sel. Ce sont essentiellement WAR 1, WAR 77 et ROK 5.




**Source :** O. N. Faye 2020 (Omar Ndaw et al. 2020)

**Figure 3** : Zones de riziculture irriguée et pluviale au Sénégal




Sources : DAPSA/MAER 2018

**Figure 4 :** Production (en tonnes) des céréales du Sénégal durant la campagne de 2017/2018

## 1.3 Problèmes et contraintes liés à la production du riz au Sénégal

### 1.3.1 Contraintes physiques

Les facteurs climatiques tels que la température, le rayonnement solaire et le vent influencent les rendements du riz par leurs effets sur la croissance du plant et sur les processus physiologiques liés à la formation et maturation du grain. Ces facteurs peuvent aussi affecter indirectement les rendements en augmentant les dégâts causés par les maladies et les ravageurs (R.C, Nanda, et Tran 2003a).

### 1.3.2 Problèmes de gestion des cultures :

- ✓ Préparation du sol

Les pratiques de labour affectent la croissance des plants durant la germination, la levée et les stades d'installation de la plante. La qualité et le choix du moment opportun pour effectuer la préparation du sol sont importants pour assurer un bon rendement. Une préparation médiocre et inopportune du sol peut mener à un envahissement grave du champ par les plantes adventices qui sont le plus souvent le réservoir de maladies du riz. L'érosion du sol dans les cultures de riz d'altitude, dans le riz aquatique et dans les cultures de riz irrigué, expose les plants aux substances nocives libérées par la décomposition de la matière organique dans le sol. Cependant, le labour facilite la diffusion, l'évaporation et la dispersion des substances nocives produites par la décomposition de la matière organique à l'intérieur du sol inondé. Il permet aussi aux graines des adventices de germer (R.C, Nanda, et Tran 2003a).

- ✓ Les pépinières

Les plantules destinées à être repiquées sont cultivées en pépinière dont il existe plusieurs variantes. Les pépinières sèches (semis des grains dans un sol sec), pépinières humides (semis des grains dans des sols mis en boue et humides) ou les dapog (semis des grains sur une surface artificielle) sont employés selon une situation spécifique, l'accent étant mis sur la production de plantules en bonne santé. Les bonnes pratiques consistent à :

• Réserver 1/10$^{ème}$ d'hectare de terre pour la pépinière d'un champ de 1 ha.

• Bien fertiliser le sol de la pépinière avant le semis.

• Semer la pépinière de manière clairsemée et éviter l'accumulation de semences au même endroit.

• Surveiller les désordres nutritionnels (carence ou toxicité en fer, problèmes de zinc et de maladies) et les corriger rapidement.

• Bien gérer la pépinière au moyen d'un arrosage et d'un désherbage correct pour produire des plantules saines.

- ✓ Choix des variétés à cultiver

La sélection de la variété à cultiver dépend du contexte écologique local et constitue un facteur important à prendre en considération pour une bonne culture de riz. Le choix de variétés améliorées semi-naines à haut rendement ou des hybrides adaptés aux systèmes irrigués et aux systèmes pluviaux, permet une productivité durable du riz cultivé. La culture des variétés de riz côtières tolérantes au sel là où les eaux salées s'introduisent depuis la mer, notamment au centre du Sénégal dans les régions de Fatick et Kaolack et au sud dans la région de Sédhiou où les sols salés posent un réel problème pour la riziculture.

- ✓ Installation de la culture

L'installation de la culture est influencée par la qualité des semences, la dose d'ensemencement employée, la préparation du sol, la gestion de l'eau, la profondeur d'ensemencement ou de repiquage, l'âge et la santé des plantules et l'état nutritionnel du sol.

- ✓ Gestion des éléments nutritifs

Le plant de riz requiert plusieurs nutriments essentiels pour donner un rendement optimal. Ces éléments nécessaires en grande quantité sont appelés éléments majeurs et comprennent l'azote, le phosphore, le potassium, le magnésium, le soufre, le carbone, l'hydrogène et l'oxygène. Ceux qui sont nécessaires en petite quantité et qui sont essentiels à la croissance des cultures sont les oligoéléments, et ils comprennent le fer, le manganèse, le cuivre, le zinc, le bore, le molybdène, le chlore et la silice. L'absorption d'éléments nutritifs par le plant de riz est influencée par plusieurs facteurs, comprenant le climat, les propriétés du sol, les quantités et le type d'engrais épandus, le cultivar et la méthode de culture. Les éléments nutritifs nécessaires pour produire 1 tonne de riz paddy sous les tropiques sont d'environ 20,5 kg d'azote, 5,1 kg de phosphore et 44,4 kg de potassium.

- ✓ Gestion des eaux

Le niveau d'eau ou d'humidité du sol est essentiel pour maintenir une gestion correcte des nutriments mais aussi le contrôle des adventices, insectes ravageurs et maladies. Pour les cultures pluviales, la pluie est un facteur critique car la culture de riz souffre soit d'un manque d'eau (sécheresse) soit d'un excès d'eau (inondation et submersion). Aussi bien l'excès que les déficits en eau ont des effets sur la croissance et le rendement du riz.

- ✓ La récolte

La récolte du riz intervient souvent entre 25 à 35 jours après sa pleine floraison, en zone intertropicale, durant la saison sèche, et entre 35 à 40 jours durant la saison humide. Tout retard de récolte peut provoquer des pertes dues aux rats, aux oiseaux, à la verse et à l'égrenage spontané. Si les panicules sont humides à cause de la pluie ou à cause de la présence d'eau stagnante, les grains commencent à germer dans la panicule (viviparité), générant de lourdes pertes en quantité et en qualité.

### 1.3.3 Contraintes biotiques

Les insectes nuisibles, les maladies et les adventices infligent d'énormes pertes à la production de riz en Afrique. Si l'on veut que le riz soit au rythme de la demande croissante, des stratégies de gestion efficaces et durables sont nécessaires de toute urgence pour s'attaquer à ces importantes contraintes biotiques (Nwilene et al. 2013). En système intensif, les contraintes biotiques causant le plus de pertes de rendement sont les adventices (37%), suivies des insectes (27,9 %) puis des maladies (15,6%) (Mondal et al. 2017).

#### 1.3.3.1 Les adventices

Les plantes adventices sont beaucoup plus importantes en riziculture pluviale stricte ou de nappe qu'en riziculture irriguée (Diarra 1992). Les principales adventices des champs de riz comprennent *Ageratum conyzoides*, *Cyperus difformis*, *Cyperus iria*, *Echinochloa colona*, *Echinochloa crus-galli*, *Fimbristylis miliacea*, *Ischaemum rugosum* et *Monochoria vaginalis.* Les adventices sont pratiquement des compagnes universelles de la culture du riz sous les tropiques, et dans de nombreuses situations, leur croissance est si prolifique, qu'à moins d'être éradiquées à temps, elles réduisent sérieusement le rendement en grains. Ces adventices entrent en compétition avec la culture et réduisent le rendement, leur gestion est par conséquent très importante. Il est rapporté que la perte directe de production de riz causée par les adventices dans les champs des agriculteurs en Asie atteint environ 20 %, avec des pertes s'élevant à 40% voire 100 % là où les adventices ne sont pas éliminées. Le riz d'altitude souffre le plus du manque de lutte correcte contre les adventices. Dans les systèmes irrigués et pluvial de basses-terres où le semis direct est pratiqué, les adventices deviennent un enjeu majeur, car la levée du riz et des adventices se produit au même moment et le contrôle par inondation est difficile dans le riz cultivé en semis direct. De plus les adventices jouent souvent le rôle de réservoirs d'importantes maladies du riz. Leur contrôle passe par une combinaison de pratiques culturales convenables, à l'aide de moyens mécaniques et chimiques, et par une gestion périodique et intégrée (R.C, Nanda, et Tran 2003a; Abo et al. 2000)

#### 1.3.3.2 Les insectes

Les principaux insectes nuisibles du riz en Afrique comprennent les foreurs de tiges, la cécidomyie des galles de riz africaine et les termites (Nwanze, et Youdeowei 2008). Ces ravageurs causent des pertes de récolte considérables dans les champs et dans l'entreposage. On estime que chaque année, les insectes détruisent entre 10 % et 30 % de tous les aliments produits en Afrique (Dhaliwal et al. 2010). Les estimations de la perte de rendement du riz due aux insectes en Afrique varient entre 10 % et 15 %. Les principaux insectes et les dommages diffèrent d'une région à l'autre, d'un pays à l'autre et d'une variété de riz à une autre, et, certaines années, ils peuvent dépasser 90 % (Nwilene et al. 2013). Les pertes causées par les ravageurs sur le riz contribuent à la pauvreté rurale et à l'insécurité alimentaire en Afrique. La prévention des pertes de cultures vivrières causées par les ravageurs aux stades avant et après la récolte fait partie intégrante de l'Objectif du Millénaire pour le développement (OMD) visant à assurer la sécurité alimentaire et la réduction de la pauvreté (von Braun, Swaminathan, et Rosegrant 2004). Des insectes vecteurs de maladies du riz ont été décrits un peu partout en Afrique. Il a été décrit en Afrique tropicale près de 56 maladies virales transmises par les insectes aux plantes. L'entomofaune vecteur de la panachure jaune du riz a fait l'objet de plusieurs études dans différents pays d'Afrique. C'est pourquoi dans la stratégie de lutte contre la propagation de cette maladie, il est envisagé une lutte intégrée (Fauquet et Thouvenel 1984; Sadou et al. 2008)

#### 1.3.3.3 Les maladies du riz et les moyens de lutte

Diverses études ont permis d'inventorier les maladies du riz en Afrique au sud du Sahara (Mbodj 1989; Abo et SY 1997; Mondal et al. 2017). Les maladies du riz sont d'origines diverses : fongique, bactérienne, virale ou due à des nématodes. Parmi les maladies fongiques les plus dommageables du riz en Afrique, on note la pyriculariose, l'helminthosporiose, la cercosporiose, la pourriture des gaines et l'échaudure. Les maladies bactériennes provoquant de sérieuses pertes économiques dans les pays producteurs de riz comprennent les bactérioses du genre *Xanthomonas* et la pourriture bactérienne des gaines causée par *Pseudomonas fuscovaginae*. La maladie virale la plus importante sur le riz africain est la panachure jaune des feuilles encore appelée '*Rice Yellow Mottle Virus* (*RYMV*) (R.C, Nanda, et Tran 2003a; Abo, Sy, et Alegbejo 1997; Traoré et al. 2015). L'infection simultanée d'une seule plante par diverses espèces pathogènes est de plus en plus reconnue comme un modulateur important de la résistance de l'hôte et un moteur de l'évolution des agents pathogènes. Étant donné que les plantes dans leurs agroécosystèmes sont la cible d'une multitude de pathogènes, les cas des co-infection pourraient être fréquents et par conséquent, importants (Tollenaere et al. 2017).

#### *1.3.3.3.1 La pyriculariose*

La pyriculariose causée par *Magnaporthe grisea* (Hebert Barr) est la maladie fongique la plus dévastatrice du riz, en particulier en riziculture pluviale. Au Sénégal, elle est présente partout et attaque toutes les parties aériennes du riz (**Figure5**), à tous les stades de développement, plus particulièrement au stade plantule (pyriculariose foliaire) (**Figure 5A**), au stade montaison (pyriculariose des nœuds) (**Figure 5B**) et à l ’épiaison (pyriculariose paniculaire) (**Figure5C**). Les pertes occasionnées peuvent aller jusqu’à 90% de la récolte (Mbodj 1989b). L’agent pathogène de la pyriculariose du riz a été dénommé *Pyricularia oryzae* Cavara en 1892, mais il est impossible de le distinguer de *Pyricularia grisea*, qui provoque des taches grasses sur d’autres graminées (Agrios 2008). Le genre *Pyricularia* décrit pour la première fois en 1880 était *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., le nom donné à l’anamorphe des isolats de digitaire. Selon Chauhan, et al.,(2017), *Magnaporthe grisea* est le téléomorphe de la pyriculariose, un champignon ascomycète filamenteux qui appartient à la famille des Magnaporthaceae. Le champignon produit plusieurs toxines, dont la pyricularine et α-picolinique, qui semblent contribuer au développement de la pyriculariose du riz (Agrios 2008). La principale méthode de lutte contre la pyriculariose est la lutte intégrée associant la sélection avec l'utilisation de variétés résistantes et le traitement chimique. Cependant, les échecs des variétés résistantes, du fait du contournement des résistances par les populations de l'agent pathogène, sont très nombreux. La pyriculariose et l’helminthosporiose étant les deux maladies fongiques les plus redoutables du riz. Les fongicides à base de triazole sont utilisés pour réduire leur sévérité (Raveloson et al. 2016; Moinina, Boulif, et Lahlali 2018)

#### *1.3.3.3.2 La RYMV*

La panachure jaune du riz cause des pertes de récolte allant de 20 à 100% (Abo et SY 1997). L’agent pathogène responsable, est le virus de la panachure jaune du riz ou Rice Yellow Mottle Virus (RYMV), membre du genre *Sobemovirus* (Fauquet et Fargette 2005). Le RYMV provoque des symptômes de panachure jaune ou de mosaïque striée sur les feuilles des plants infectés (**Figure6**). Il a été rapporté dans la plupart des zones de culture du riz en Afrique sub-saharienne où il affecte tous les types de riziculture (Kouassi et al. 2005). Le RYMV est facilement transmis au laboratoire par inoculation mécanique qui consiste à frotter les feuilles d’une plante saine avec un broyat de feuilles d’une plante malade (Bakker 1970). Ses vecteurs naturels sont les coléoptères tels que *Trichispa sericea*, *Chatochnema spp*. et *Sesselia pussilla*, le vent et certains mammifères comme les rats, les bovins ou les ânes (Soungalo Sarra et Peters 2003). D’abord signalé au Kenya en 1966, RYMV a été retrouvé plus tard dans la plupart des pays d’Afrique où le riz est cultivé (Sere et al. 2008). L’identification des hôtes naturels du RYMV se heurte à quelques problèmes majeurs. En effet, le virus infecte certains hôtes sans induire de symptômes visibles (Bakker 1974). De plus, la seule présence de symptômes est

insuffisante comme outil de diagnostic. Par exemple, certaines carences minérales notamment celles en fer provoquent des symptômes de jaunissement pouvant être confondus avec les symptômes induits par le RYMV (Thottapilly et Rossel 1993). Le diagnostic du RYMV par la sérologie a alors été souvent utilisé comme méthode de choix car le virus est très immunogène et n'a pas de relation sérologique connue avec aucun autre virus (Loebenstein et Thottappilly 2013).

En 2019, la RYMV a été détectée pour la première fois au Sénégal dans la région de Kolda plus précisément dans les casiers de la Société de Développement Agricole et Industriel du Sénégal (SODAGRI) à Anambé. Des génomes quasi complets de deux isolats du Sénégal (Se1 et Se5) ont été comparés aux 18 séquences d'isolats d'Afrique de l'Ouest, dont un originaire de Gambie. Les deux isolats du Sénégal sont génétiquement proches l'un de l'autre (98,9%), et liés à l'isolat de Gambie à environ 96,6 %. Une étude phylogénétique a montré que les isolats du sud du Sénégal et de Gambie forment un groupe monophylétique, nommé souche *Sg*, (H. Tall et al. 2020). La résistance variétale est l'une des méthodes les plus utilisées pour lutter contre le RYMV. Ainsi le criblage de variétés de riz pour la résistance à RYMV a permis l'identification d'une résistance partielle des variétés Gigante et TOG5681 aux isolats issus de Burkina Faso et du Nigéria (Kam et al. 2018).

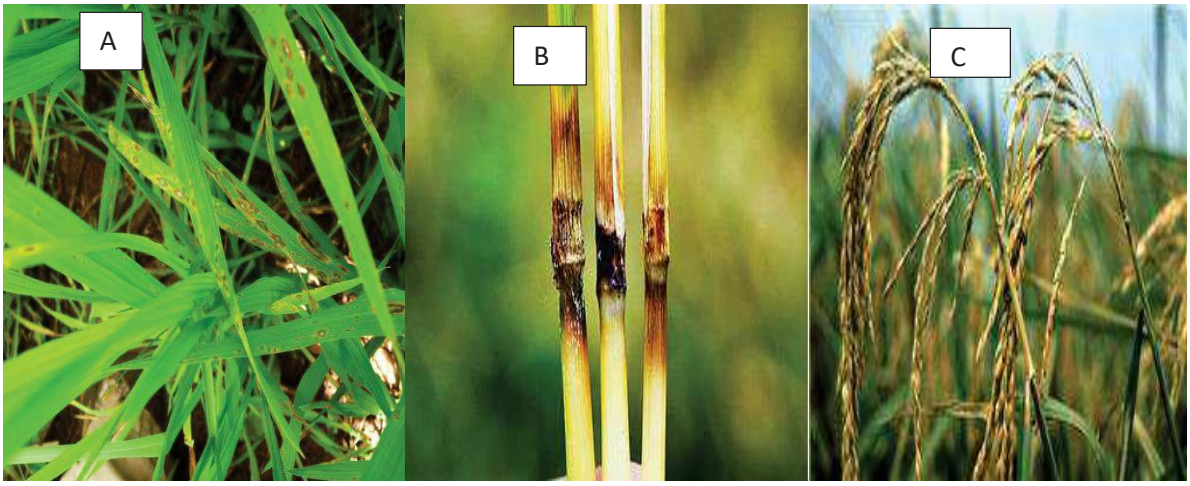



**Figure 5 :** Symptômes de pyriculariose du riz, **A** sur des feuilles, **B** sur les nœuds et **C** sur le coup de la panicule et sur les glumelles des grains.

**Figure 6 :** Symptômes sur feuille de riz de la RYMV dont la sévérité augmente de la gauche vers la droite. Photos : Y. Séré source : *(Wopereis et al. 2013)*

*1.3.3.3.3* Les bactérioses du riz causée par *Xanthomonas oryzae*

Le genre *Xanthomonas* est un grand groupe chez les protéobactéries et provoque des maladies sur plus de 400 espèces végétales. Chez l'espèce *oryzae* qui est à majorité à Gram négatif, est en forme de bâtonnet. La longueur individuelle varie d'environ 0,7 à 2 µm, et la largeur est de 0,4 à 0,7 µm (**Figure 7b**). Les cellules sont motiles au moyen d'un seul flagelle polaire. Les colonies poussant sur support solide contenant du glucose sont de forme ronde, convexes, mucoïdes et jaunes (**Figure7a**) en raison de la production du pigment xanthomonadine, caractéristique du genre (Bradbury 1984). *X. oryzae* produit des exopolysaccharides (EPS) en grande quantité. Ces EPS sont importants dans la formation de biofilms ou d'exsudats bactériens issus de feuilles infectées, offrant une protection contre la dessiccation et aident à la dispersion par le vent et la pluie (S. H. Ou et Britain 1972 ; Swings et al. 1990). Deux pathovars de la même espèce, *Xanthomonas oryzae* pv*. oryzae (Xoo)* et *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola (Xoc*), sont répandus dans de nombreuses zones de production du riz au niveau mondial. Ces pathovars présentent des niveaux de spécificité tissulaire opposés (Leyns et al. 1984). *Xoo* et *Xoc* se distinguent en effet par les types de tissus qu'ils colonisent dans les feuilles de riz. Ces deux pathovars sont fortement apparentés car possédant plus de 85% d'homologie de séquence au niveau génomique, mais distincts par des caractéristiques phénotypiques notamment les symptômes qu'ils induisent au niveau de l'hôte (Vera Cruz et al. 1984; Ochiai et Kagami 1999; Vauterin et al. 1995). *Xoo* colonise les tissus vasculaires et cause le flétrissement bactérien (BB) (**Figure 8A**), tandis que *Xoc* envahit le parenchyme du mésophile pour causer la strie foliaire translucide (BLS) (**Figure8B**) (Issa Wonni 2013b). Les deux pathovars peuvent être isolés facilement des semences de plantes infectées (Sakthivel, Mortensen, et Mathur 2001; Xie et Mew 1998). Néanmoins, il existe une controverse quant à la durée de survie des bactéries dans les semences de riz entreposées et à la question de savoir si la transmission par les semences est importante, en particulier pour *Xoo* (Niño-Liu, Ronald, et Bogdanove 2006a).

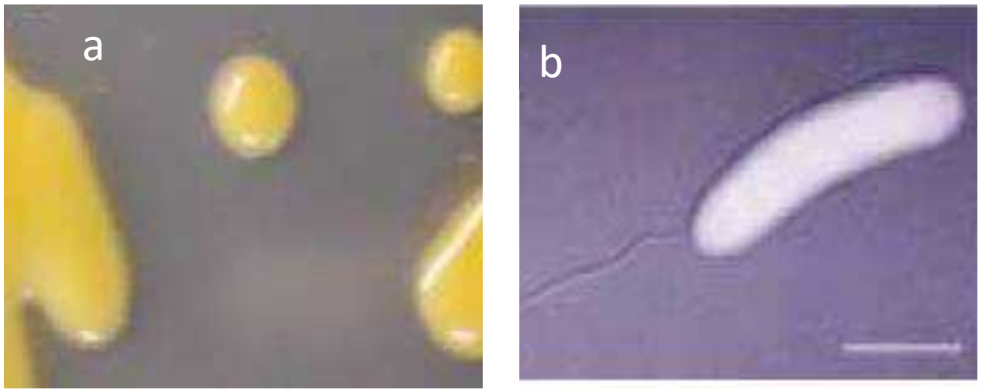



**Figure 7 :** Morphologie de *Xanthomonas oryzae* (a) Colonies de *X. oryzae* pv. *oryzae* sur gélose glucosée à l'extrait de levure, (b) Morphologie d'une cellule de *X. oryzae* pv. *oryzae* sous microscope électronique (barre, 1 µm) *(Niño-Liu, Ronald, et Bogdanove 2006a)*.

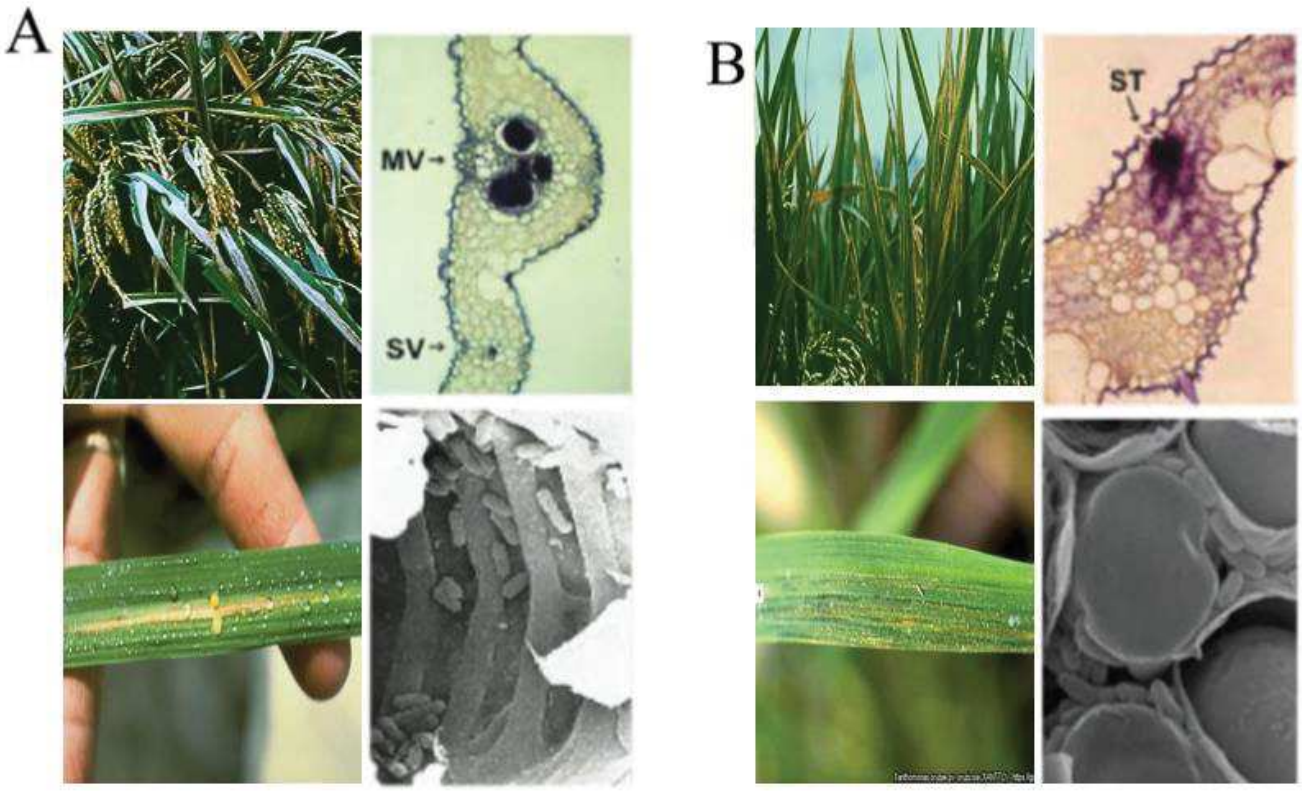



**Figure 8** : Symptômes provoquées par *Xoo* et *Xoc* et localisation cellulaire dans les tissus de l'hôte

**A** : A gauche, symptômes de brûlure foliaire caractéristiques de la bactériose vasculaire du riz (BB). A droite, localisation vasculaire de *Xoo* et emplacement des cellules bactériennes à l'intérieur des vaisseaux du xylème de la nervure centrale (MV) et dans une veine secondaire (SV).**B** : A gauche, symptômes de stries foliaires caractéristiques de la bactériose à stries foliaires du riz (BLS). À droite, localisation parenchymateuse de *Xoc*.

1.3.3.3.3.1 Le flétrissement bactérien causé par *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*)

Le flétrissement bactérien du riz, également appelé bactériose vasculaire du riz, est une des maladies les plus destructrices du riz cultivé. La bactériose vasculaire du riz était déjà connue avant l'introduction en Asie de l'Est de variétés à haut potentiel de rendement mais très sensibles à la maladie. BB s'est répandue en Asie du Sud-Est dans les années 1960, lorsque les premières variétés à haut rendement ont été plantées. Depuis lors, cette maladie est devenue l'une des principales contraintes à la production en riziculture irriguée et pluviale. Ces dernières années, elle a été signalée sur d'autres continents; et son apparition en Amérique et en Afrique a suscité de vives inquiétudes quant à sa transmission et à la diffusion de la maladie (T. W. Mew 1987; IRRI 1989).
Dans le cas d'épidémies graves rencontrées dans les zones rizicoles de régions tempérées et tropicales, les pertes de rendement de 10 à 20 % sont courantes, et des pertes de 50 à 70 % ont été enregistrées dans les champs gravement infectés en raison du fort potentiel épidémique de *Xoo* (Mew et al. 1993; Savary et al. 2019). La propagation du BB est favorisée par les débris végétaux (Goto et coll. 1953 ; Guo et coll. 1980), les espèces de riz sauvage (Aldrick et coll. 1973), les adventices (Goto et coll. 1953 ; Valluvaparadesasan et Mariappan en 1989) et par l'eau (Singh 1971 ; Srivastava en 1972). La maladie a été observée pour la première fois en 1884-1885 à Kyushu, au Japon, et l'agent causal a été identifiée en 1911 et d'abord été nommé *Bacillus oryzae*. En plein essor dans des environnements chauds et humides, on a majoritairement observé le flétrissement bactérien dans les régions rizicoles d'Asie, d'Afrique et d'Australie (**Figure 9).**

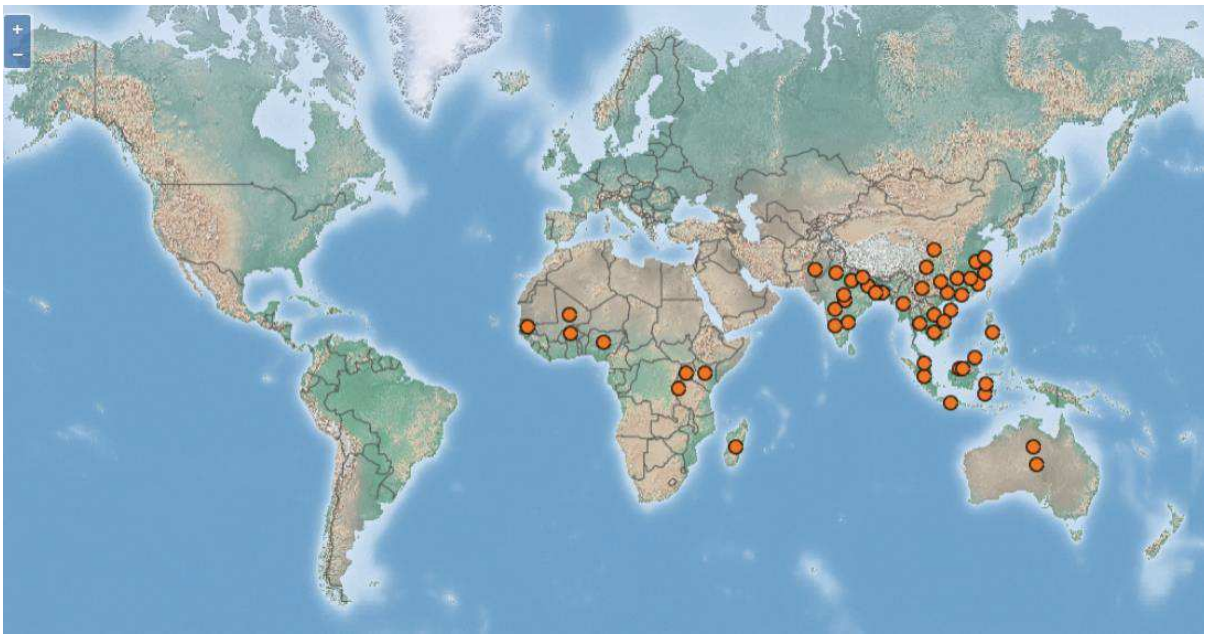
Les méthodes de contrôle de la bactériose vasculaire du riz sont limitées en efficacité. Le contrôle chimique a été largement inefficace en raison des préoccupations en matière de sécurité, de praticité et de résistance bactérienne. La méthode la plus courante de défense contre le flétrissement bactérien, est la culture de variétés de riz portant des gènes qui confèrent une résistance à l'infection de *Xoo*. L'utilisation de variétés résistantes est l'approche la plus utilisée, la plus efficace, la plus respectueuse de l'environnement et la plus accessible aux paysans. Au stade actuel, près de 44 gènes de résistance ont été caractérisés pour le contrôle de *Xoo* (Vikal et Bhatia 2017; Busungu et al. 2018). Cependant, la durabilité de ces gènes de résistance est hypothéquée par l'évolution rapide des souches bactériennes de *Xoo* et le risque de phénomènes de contournement des défenses induites par un seul gène de résistance(Cruz et al. 2000; Jeung et al. 2006; Kottapalli, Narasu, et Jena 2010). Aussi l'existence de nombreuses races de *Xoo* rend le phénomène de contournement plus fréquent (P. Nayak et Chakrabarti 1986). Ainsi, le pyramidage des gènes de résistance semble conférer une résistance plus stable et durable à *Xoo* (Huang et al. 1997). En effet, la pression adaptative nécessaire pour contourner ces résistances est telle que la bactérie n'est pas en mesure d'évoluer dans ce sens

sans que cela n'impacte sa compétitivité (Suh et al. 2013; Jeung et al. 2006; Kottapalli, Narasu, et Jena 2010). Les méthodes de lutte biologique, qui sont une possibilité, reposent sur l'utilisation d'antagonistes bactériens d'agents pathogènes, peuvent réduire la maladie bien que leur utilisation ait été limitée.

1.3.3.3.3.2 La bactériose à stries foliaires causée par *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* (*Xoc*)

La bactériose à stries foliaires (BLS), qui est causée par *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* (*Xoc*), a été décrite pour la première fois par Reinking en 1918 aux Philippines. Depuis lors, l'apparition du BLS en Asie tropicale et subtropicale, au nord de l'Australie et en Afrique de l'Ouest et de l'Est a également été signalée. Cette maladie est limitée en grande partie à l'Asie tropicale et subtropicale, y compris le sud de la Chine, la Thaïlande, la Malaisie, l'Inde, le Viet Nam, les Philippines et l'Indonésie, mais elle affecte également les régions rizicoles du nord de l'Australie (Aworu 1991; Ou et Britain, 1985). Elle est récemment devenue un problème important dans certaines parties de l'Afrique de l'Ouest (Y et al. 2005; Valerie Verdier, Cruz, et Leach 2012; Issa Wonni 2013a; Lucie Poulin et al. 2015; L. Poulin et al. 2014a; Afolabi, Milan, Poulin, et al. 2014) (**Figure 10**). Les pertes de rendement dues au BLS peuvent atteindre 30 % de la production (T. W. Mew et al. 1993). La porte d'entrée de *Xoc* au sein des feuilles sont les stomates. *Xoc* se multiplie dans la cavité stomatale pour coloniser les espaces intercellulaires du parenchyme. *Xoc* peut également pénétrer par les blessures, mais reste limité à l'apoplaste du mésophylle et n'envahit pas le xylème (Ou et Britain, 1985). Les premiers symptômes sont de petites stries transparentes et aqueuses, qui peuvent s'allonger et s'obscurcir. Les exsudats bactériens à la surface des feuilles sont typiques de *Xoc* (**Figure 8 B**). Peu d'études ont été menées sur les méthodes de contrôle du BLS, bien que bon nombre des mesures utilisées pour BLB peuvent être efficaces contre la BLS (Niño-Liu, Ronald, et Bogdanove 2006a). L'approche de la résistance variétale est aussi la méthode la plus réaliste pour le contrôle de la strie foliaire du riz (BLS). Les souches de *Xoc* portant le gène d'avirulence *avrRxo1* sont contrôlées par le transgène de résistance *Rxo1* isolé du Maïs (B. Zhao et al. 2005). Par ailleurs, si *avrRxo1* est présent dans toutes les souches de *Xoc* d'Asie, son absence est signalée dans un effectif assez important de souches africaines (Gonzalez et al. 2007a; Hajri et al. 2012; Issa Wonni et al. 2014). Ce facteur d'avirulence de type III sécrété par *Xoc*, AvrRxo1, est un homologue structural de la famille des zéta toxines (« sugar-nucleotide kinases ») qui inhibent la croissance bactérienne. AvrRxo1 phosphoryle le NAD dans les plantes et les sites catalytiques de la kinase sont nécessaires pour déclencher ces phénotypes de toxicité et la résistance (Shidore et al. 2017). Un second gène de résistance, *bls1*, récessif, a été identifié et cartographié sur le chromosome 6 du riz DP3 de l'espèce sauvage *Oryza rufipogon Griff* (W. He et al. 2012). De plus, plusieurs QTL (quantitatifs traits locus) de résistance contre BLS ont été identifiés. Ainsi, Tang et al. (2000) ont

identifié 3 QTLs conférant la résistance au BLS du riz suite au développement d'une population F2 et d'une population recombinante (RI) impliquant deux parents indica, Acc8558 et H359, respectivement résistant et sensible à *Xoc*. Un QTL majeur de résistance a été identifié sur le chromosome 11 de la variété de riz Dular (CHEN et al. 2006). Il apparait qu'il serait important de continuer à cribler les différentes populations de riz pour l'identification de nouveaux gènes de résistance à large spectre contre la BLS. Triplett et al ont identifié en 2016 chez la variété de riz Carolina Gold, un mécanisme de résistance au riz impliquant des TALE (pour Transcription activator-like effectors). Cette résistance se manifeste par la suppression forte du développement de la maladie en réponse à divers effecteurs de type TAL des deux pathovars de *X. oryzae*. Cette résistance est conférée par un seul locus dominant, désigné *Xo1* (L. R. Triplett et al. 2016a) ; ce gène a été cloné et des études sur la fonction et la structure de la protéine correspondante ont été réalisées (Read, Hutin, et al. 2020a).



**Figureur 9 :** Répartition mondiale de BB avec les points en rouge indiquant la détection du pathogène. Source : *CABI* *https://www.cabi.org/isc/datasheet/56977#toDistributionMaps*

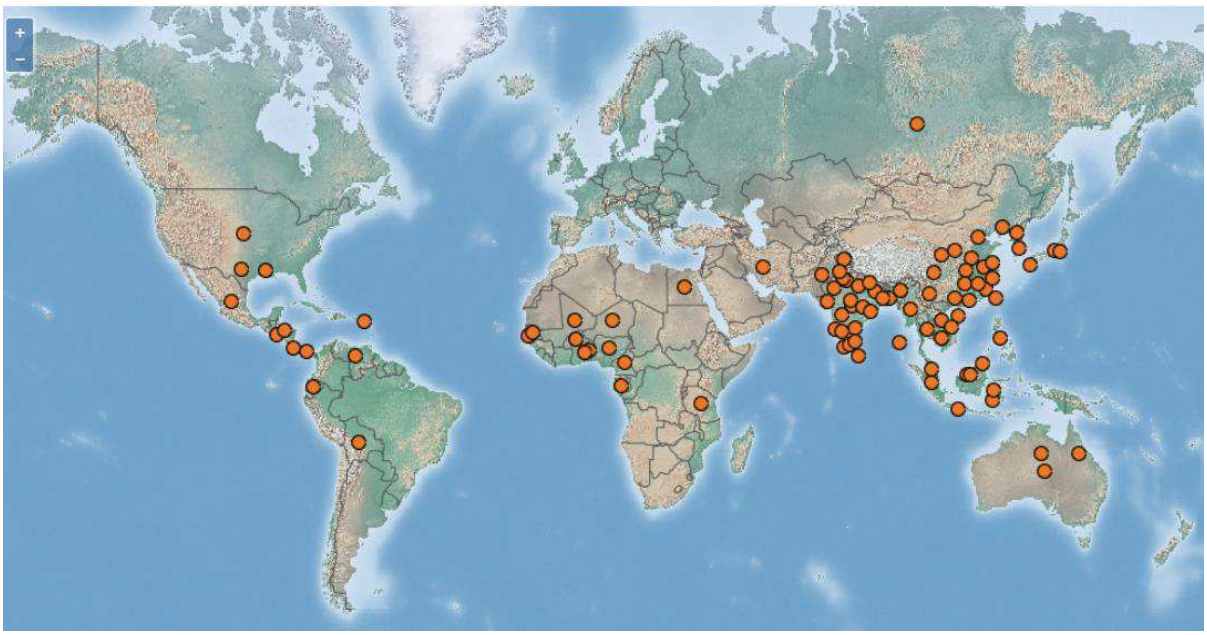


**Figure 10** : Répartition mondiale de BLS avec les points en rouge indiquant la présence de la maladie. Source : CABI *https://www.cabi.org/isc/datasheet/56956#toDistributionMaps*

#### 1.3.3.3.3.3 Variabilité du spectre de virulence des souches de *Xanhomonas oryzae* en Afrique de l'Ouest

En Asie, les relations entre les isolats de *Xoo* et plusieurs cultivars de riz portant les gènes connus de résistance au BB, ont été largement étudiées (Tika B. Adhikari, Mew, et Leach 1999a; Gu et al. 2005a; H. Liu et al. 2007). Depuis 2008, une trentaine de races de *Xoo* ont été alors identifiées à travers le monde (Cheema et al. 2008). Les races sont des groupes de souches partageant un phénotype commun de virulence ou d'avirulence à un ensemble de cultivars différentiels portant différents gènes de résistance *R*. Les lignées quasi-isogéniques (NIL pour Near Isogenic line) telles que les lignées IRBB (pour International Rice-Bacterial Blight) développées à l'Institut international de recherche sur le riz sont couramment utilisées pour identifier les races de *Xoo*. Chaque NIL porte un gène de résistance spécifique (gène *Xa*), qui a été incorporé dans le cultivar indica IR24 par rétro-croisements successifs et/ou en utilisant la sélection assistée par marqueur (Ogawa et al. 1991). Sur la base de leur réaction sur les lignées IRBB, plusieurs races de *Xoo* ont été identifiées en Chine, au Phillipine, au Sri Lanka et en Afrique **(Tableau 1).** En Afrique, les premiers travaux de caractérisation des *Xoo* africains effectués par Gonzalez et al en 2007 ont fait apparaître trois nouvelles races (A1, A2 et A3). La race A1 a été identifiée au Burkina Faso et au Niger ; la race A2 au Burkina Faso et la race A3 au Mali (Gonzalez et al. 2007a). En 2019, des tests de races effectués sur 41 souches de *Xoo* maliennes ont permis à Tékété et ses collègues (Tekete et al. 2019b) de démontrer des lignées IRBB portant un seul gène de résistance étaient sensibles aux souches de *Xoo* de différentes régions du Mali à des degrés différents. Cette étude a permis l'identification de 6 nouvelles races (A5 à A9) au Mali en plus de la race A3 déjà connue. Ainsi les gènes de résistance *Xa1*, *Xa3, Xa4* et *xa5* ont été identifiés comme capables de contrôler le BB au Mali. Ces résultats suggèrent une évolution du spectre de virulence des souches de *Xoo* maliennes. En conséquence, une caractérisation régulière des *Xoo* est essentielle afin de comprendre le comportement des souches locales pour le développement durable des variétés de riz résistantes au BB.

À ce jour, plus de 40 gènes de résistance (R) conférant une résistance de l'hôte à diverses souches de *Xoo* ont été identifiés et 11 d'entre eux ont été clonés, à savoir *Xa1, Xa3/Xa26, Xa4, xa5, Xa10, xa13, Xa21, Xa23, xa25, Xa27 et xa41* (Jiang et al. 2020). Ces gènes *R* peuvent être classés en groupes en fonction des produits pour lesquels ils codent : les protéines kinase de type RLK (pour receptor-like kinase) (*Xa21, Xa3/Xa26 et Xa4*), les transporteurs de sucres (SWEET) (*xa13, xa25 et xa41*), des protéines exécutrices (*Xa10, Xa23 et Xa27*). Certains de ces gènes *R* isolés sont largement utilisés dans les programmes de sélection du riz pour contrôler le BB, tels que *Xa3/Xa26 et Xa4*, qui ont joué un rôle important dans le contrôle de la maladie en Asie (**Tableau 2**) depuis les années 1970. Presque

toutes les variétés de riz hybrides *indica* commerciales en Chine possèdent *Xa4,* et *Xa3/Xa26* est largement distribué dans les variétés *indica* et *japonica* en Chine (Y. Deng et al. 2018).

En revanche peu de gène de résistance à *Xoc* ne sont connus à ce jour. Le gène dominant *Rxo1* isolé du maïs confère la résistance à *Xoc* quand il est exprimé chez le riz (B. Zhao et al. 2005). Un second gène de résistance  récessif nommé *bls1* a été localisé sur le chromosome 6 de *Oryza rufipogon* (W. He et al. 2012).

| NILs | *Xa* gene | Philippines | | | | | | | | | | | Africa | | | China | | Sri Lanka | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3B | 3C | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9a | 10 | A1 | A2 | A3 | FXP1a | FXP2b | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| IR24 | *Xa18* | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| IRBB1 | *Xa1* | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | – | – | – | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| IRBB2 | *Xa2* | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | – | – | – | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| IRBB3 | *Xa3* | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | S | S | S | S | S | S | R | R | S | S | R | R | R | S | R | S |
| IRBB4 | *Xa4* | R | S | S | S | MR | R | S | R | R | S | R | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| IRBB5 | *xa5* | R | R | R | R | S | R | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | S | R | S | R | S | R | S | R | R | R | R | R |
| IRBB7 | *Xa7* | MS | R | R | R | S | R | S | R | R | S | R | R | R | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | R |
| IRBB8 | *xa8* | S | S | S | S | S | MR | S | S | S | S | S | MS | R | R | S | MR | S | S | S | S | S | S | R | R | R | R | S | S | R | |
| IRBB10 | *Xa10* | S | R | S | S | S | R | S | R | S | S | S | S | MR | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| IRBB11 | *Xa11* | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| IRBB13 | *xa13* | S | S | S | S | S | S | R | S | S | S | S | S | MR | R | S | S | S | R | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | S | S |
| IRBB14 | *Xa14* | S | S | S | S | S | R | S | S | R | S | S | S | MR | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| IRBB21 | *Xa21* | R | R | R | MR | R | R | MR | MR | MR | MR | S | MS | MR | R | S | S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |

Source : Triplett et al 2011

**Tableau 1** : Caractérisation de différentes races de *Xoo* grâce à 12 variétés IRBB

La résistance ou la sensibilité des NILs sont évaluées en mesurant la longueur des lésions induites après 14 jours d'inoculation par "leaf-clipping". Résistant (R) < 5 cm, Modérément Résistant (MR) 5–10 cm, Modérément Sensible (MS) 10–15 cm, et Sensible (S) >15 cm.

| *R* genes | | Cognate *Avr* genes | | Reference |
|---|---|---|---|---|
| Gene | Encoding protein | Gene | Encoding protein | |
| *Xa3/Xa26* | LRR-RLK | *AvrXa3* | Unknown | (Sun et al. 2004; Li et al. 2004; Xiang et al. 2006) |
| *Xa21* | LRR-RLK | *RaxX* | Unknown | (Song et al. 1995; Pruitt et al. 2015) |
| *Xa4* | Wall-associated kinase/ RLK | Not determined | Unknown | (Hu et al. 2017) |
| *xa13 (OsSWEET11)* | SWEET-type protein | *PthXo1* | TAL effector | (Chu et al. 2006; Yang et al. 2006; Yuan et a. 2012) |
| *xa25 (OsSWEET13)* | SWEET-type protein | *PthXo2* | TAL effector | (Liu et al. 2011; Zhou et al. 2015) |
| *xa41 (OsSWEET14)* | SWEET-type protein | *AvrXa7/PthXo3/TalC/ Tal5* | TAL effector | (Antony et al. 2010; Yu et al. 2011; Streubel et al. 2013; Hutin et al. 2015) |
| *Xa10* | Executor R protein | *AvrXa10* | TAL effector | (Tian et al. 2014) |
| *Xa23* | Executor R protein | *AvrXa23* | TAL effector | (Wang et al. 2014; Wang et al. 2015) |
| *Xa27* | Executor R protein | *AvrXa27* | TAL effector | (Gu et al. 2005) |
| *Xa1* | NLR | *PthXo1/Tal4/Tal9d* | TAL effector | (Yoshimura et al. 1998; Ji et al. 2016a) |
| *xa5* | TFIIA transcription factor | *Avrxa5/PthXo7* | TAL effector | (Jiang et al. 2006; Zou et al. 2010; Sugio et al. 2007) |
| *Rxo1* | NLR | *AvrRxo1* | TAL effector | (Zhao et al. 2004a; Zhao et al. 2004b) |

**Tableau 2**: Résumé des gènes de riz *R* clonés et les gènes *Avr* de *Xanthomonas oryzae* d'après (Jiang et al. 2020). NLR: leucine-rich repeat, LRR-RLK = leucine-rich repeat receptor-like kinase, TFIIA= transcription factor IIA, SWEET = sugar will eventually be exported transporter, TAL= transcription activator like.

1.3.3.3.3.4 Aperçu de la diversité génétique et structure des populations de *Xanthomonas oryzae*

En raison de la variabilité de la virulence, l'utilisation de cultivars résistants est toujours confrontée à des risques de contournement. L'analyse du génome de *Xoo* a révélé la présence d'un grand nombre de gènes codant des effecteurs (*avr*) et de séquences d'insertion (Ochiai et coll., 2005 ; Lee et coll., 2005), qui peuvent jouer un rôle majeur dans le maintien de la diversité génétique et la différenciation (Ochiai et coll., 2005). Étant donné que certains gènes de résistance ne sont efficaces que contre des sous-populations du pathogène, il est important de comprendre la structure de ces populations afin de déterminer la meilleure stratégie pour un déploiement raisonné de la résistance (Guinard 2015; Eoche-Bosy 2016).

Plusieurs approches d'analyses moléculaires ont été utilisées pour identifier et caractériser la diversité génétique de *X. oryzae* et la structure de ses populations. Des études s'appuyant sur l'analyse du polymorphisme de longueur de fragments de restriction (RFLP pour Restriction Fragment Length Polymorphism), l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP pour amplified fragment-length polymorphism), ou l'amplification de motifs répétés par PCR, ont permis de caractériser la variabilité génétique au sein de *X. oryzae*. Ainsi des analyses RFLP et de virulence ont été employées pour étudier la structure de populations de *Xoo* provenant de plusieurs pays producteurs de riz en Asie. La séquence d'insertion IS1112, et le gène d'avirulence *avrXa10*, ont été utilisés comme sondes pour analyser les génomes de 308 souches de *Xoo* collectées en Chine, en Inde, en Indonésie, en Corée, en Malaisie, au Népal et aux Philippines, regroupant les souches en cinq groupes. Les distances génétiques dans les cinq groupes variaient de 0,16 à 0,51, et les distances entre les groupes variaient de 0,48 à 0,64 (T. B. Adhikari et al. 1995). A l'inverse de l'Asie, les recherches sur le BB et BLS n'ont commencé que depuis les années 2000 en Afrique, ce qui explique en grande partie le nombre faible d'études portant sur la caractérisation des *X. oryzae* africains. La caractérisation génétique de 21 souches africaines de *Xoo* par RLFP a permis à Gonzalez et al. en 2007 de révéler que les souches africaines de *Xoo* sont génétiquement différentes de celles d'Asie (Gonzalez et al. 2007a). Cette étude a permis d'avoir un premier aperçu de la diversité structurelle entre les *Xoo* asiatiques et africaines.

Une étude de type MLVA (pour Multi Locus Sequence Analysis) basée sur l'analyse de loci VNTR (nombre variable de répétitions en tandem ou variable number tandem repeat) a été menée par Zhao et al. en 2012 comme outil de typage moléculaire. L'analyse du génome de trois souches de *X. oryzae* pv. *oryzicola* des philippine (BLS256,) de la chine (GX01), et du Mali (MAI10) prédit 28 loci candidats *VNTR*. Ainsi 28 loci ont été conçus et testés par PCR sur un panel de 20 souches de

*X. oryzae* pv. *oryzicola* originaires d'Asie et d'Afrique. Le séquençage des amplicons a indiqué 25 loci robustes et polymorphes de VNTR qui sont partagés parmi les *Xoc* asiatiques et africains. L'analyse montre que la plupart des souches asiatiques sont clairement distinctes des souches africaines, à l'exception d'une souche du Mali qui groupe avec les souches asiatiques indiquant une éventuelle introduction de souches asiatiques sur le continent africain. L'outil MLVA est utile pour les études de structuration génétique des populations et la surveillance épidémiologique de *X. oryzae* pv. *oryzicola* (S. Zhao et al. 2012). Des analyses de type MLSA portant sur 54 souches de *Xoc* ont été menées par Wonni et al en 2014, dont 41 représentantes africaines collectées au Mali et au Burkina Faso en 2003, 2009, 2010 et 2011 ; trois *Xoc* asiatiques ; *X. oryzae* pv. *leersiae* et neuf *Xoc* de différentes origines géographiques (Afrique, Asie et États-Unis). Six gènes de ménage (*atpD*, *dnaK*, *efP*, *gyrB*, *lepA* et *rpoD*) ont été amplifiés avec des amorces spécifiques, puis séquencés. Les résultats de ces travaux ont montré qu'il y avait une grande diversité génétique au sein des *Xoc* Africains et que les populations de *Xoc* du Burkina Faso et du Mali sont très diverses dans chaque site étudié (**Figure 11**) (Issa Wonni et al. 2014).

Un génotypage récent des *Xoo* africaines a également été effectué à partir d'une approche MLVA. Pour cette étude, 16 loci ont été sélectionnés et étudiés sur 338 souches de *X. oryzae* représentant différents pathovars et d'origines géographiques différentes. Le résultat de ces travaux a confirmé que les souches africaines sont génétiquement distantes des souches asiatiques (L. Poulin et al. 2015). En outre cette étude a permis d'identifier différents sous-groupes au sein des souches de *Xoo* africaines en fonction des pays d'origine : Groupe1, Mali ; Groupe2, Cameroun et Groupe3, Burkina Faso et Niger (L. Poulin et al. 2015a) . Une analyse de type MLST associée à l'exploration du répertoire des effecteurs de type III a permis à Ahmed Hajri et al d'avoir des informations sur l'histoire évolutive et la virulence de *Xanthomonas oryzae* (Hajri et al. 2012).

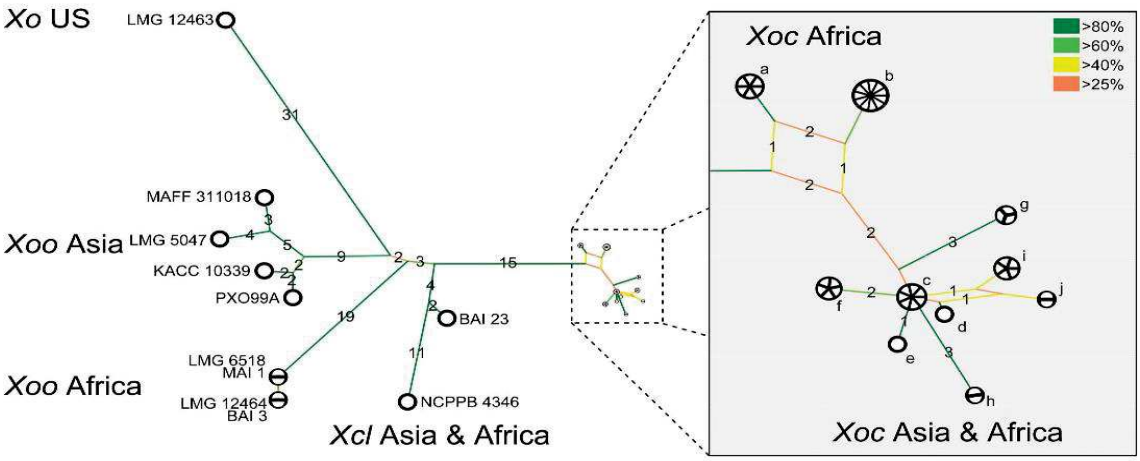



**Figure 11** : Distances entre *Xoo*, *Xoc* et *Xcl* basées sur des séquences partielles concaténées des gènes de ménage *gyrB*, *atpD*, *dnaK*, *efp*, *lepA*, et *rpoD.* Les origines géographiques des souches sont indiquées à côté des nœuds. Les nœuds du réseau sont subdivisés en fonction du nombre de souches qu'elles représentent. Source :(Wonni et al. 2014)

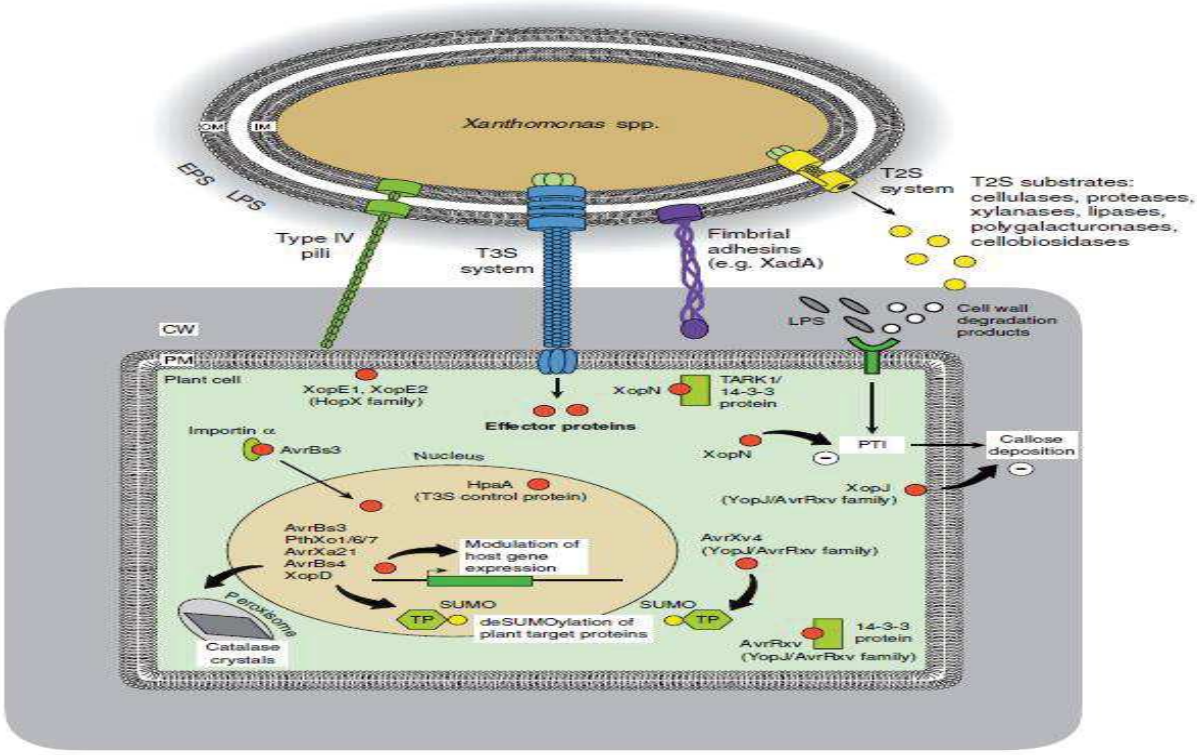
## 1.4 Facteurs de virulence imliqués dans l'interaction entre la plante et Xanthomonas:

Tout au long de leur co-évolution, les plantes et les microorganismes pathogènes ont développé des relations complexes résultant d'un échange constant d'informations moléculaires. Les agents pathogènes ont élaboré toute une gamme de stratégies offensives pour parasiter les plantes et en contrepartie, les plantes ont déployé un arsenal défensif similaire à bien des égards aux défenses immunitaires animales. Les bactéries pathogènes du genre *Xanthomonas* causent diverses maladies sur des grandes cultures de monocotylédones et de dicotylédones économiquement importantes dans le monde entier. La réussite de l'infection et de la multiplication bactérienne dans le tissu hôte dépend souvent des facteurs de virulence sécrétés par Xanthomonas. L'un des principaux facteurs de pathogénicité est le système de sécrétion de type III (SST3) (**Figure 12**), qui injecte des protéines effectrices dans le cytosol de la cellule hôte pour manipuler divers processus cellulaires de la plante tels que les réponses de défense de la plante ou la sensibilité (voir ci-dessous) au profit de l'agent pathogène (Büttner et Bonas 2010). Les espèces pathogènes et leurs pathovars montrent chez Xanthomonas un degré élevé de spécificité d'hôte, et de spécificité tissulaire se traduisant par une invasion soit du système vasculaire soit du mésophylle de l'hôte (Ryan et al. 2011).

Je tente de donner ci-dessous un panorama des fonctions majeures de virulence chez Xanthomonas. La section ci-dessous n'inclue pas les systèmes de sécrétion qui, du fait de leur importance, font l'objet d'une partie indépendante.

### 1.4.1 Déterminants majeurs du pouvoir pathogène chez Xanthomonas

Les plantes possèdent un arsenal de récepteurs immunitaires capables de reconnaître toutes les classes d'agents pathogènes. Et pour causer la maladie, les agents pathogènes doivent être en mesure de surmonter les obstacles physiques, de supprimer ou d'échapper à la perception immunitaire et d'extraire des nutriments des tissus hôtes. J'ai traité ici ce que je considère comme des déterminants majeurs du pouvoir pathogène chez Xanthomonas, à savoir les exopolysaccharides, les lipopolysaccharides, les adhésines, les xylanases et les toxines (**Figure 13**).




**Sources :** (Büttner et Bonas 2010)

**Figure 12 :** Représentation des principaux systèmes de sécrétion impliqués dans la virulence de *Xanthomonas*.

#### 1.4.1.1 Les systèmes de sécrétion et leurs rôles dans la virulence

Pour faciliter certains de ces processus, les agents pathogènes sécrètent des protéines effectrices qui favorisent la colonisation de l'hôte (Toruño, Stergiopoulos, et Coaker 2016). Ces protéines favorisent vraisemblablement l'acquisition de nutriments par la bactérie et suppriment les réponses de défense des plantes. Ainsi pour une meilleure manipulation des cellules de l'hôte, les bactéries transloquent des protéines effectrices dans le cytosol des cellules végétales. Cette translocation des protéines effectrices est l'un des événements clés de l'interaction hôte-bactérie et a donc été étudiée intensivement. Cependant, la caractérisation fonctionnelle des protéines effectrices et d'autres facteurs de virulence est souvent compliquée par le fait que les mutants individuels ne sont pas altérés dans la virulence, probablement en raison de redondances fonctionnelles des protéines sécrétées (Büttner et Bonas 2010). Bien que les protéines bactériennes sécrétées soient nombreuses et diversifiées et présentent une grande variété de fonctions qui incluent la protéolyse, l'hémolyse, la cytotoxicité, la phosphorylation et la déphosphorylation des protéines, il n'existe que quelques voies par lesquelles ces protéines sont transportées du cytoplasme bactérien à l'espace extracellulaire. Ainsi, six voies de sécrétion de protéines (types I à VI : SST1-SST6 ) ont été décrites chez les bactéries à Gram négatif (**Figure 14**) (Fath et Kolter 1993; Hollenstein, Dawson, et Locher 2007; Finlay et Falkow 1997; Salmond et Reeves 1993; Van Gijsegem, Genin, et Boucher 1993; Green et Mecsas 2016).

- Les **SST1** sont responsables de la sécrétion d'enzymes extracellulaires par les bactéries à Gram négatif, comme la sécrétion d'hémolysine α chez *Escherichia coli*, de l'adénylate cyclase chez *Bordetella pertussis*, mais aussi de protéases chez *Pseudomonas aeruginosa* (Wandersman 1996).
- Le **SST2** a été identifié pour la première fois chez la bactérie *Klebsiella oxytoca* (d'Enfert, Ryter, et Pugsley 1987). Il est utilisé par de nombreuses bactéries Gram négatives pour transporter des protéines depuis le périplasme, à travers la membrane externe, dans le milieu extracellulaire (Korotkov, Sandkvist, et Hol 2012). Le clonage chez *E. coli* d'un fragment d'ADN de *K. oxytoca* a permis de mettre en évidence les 15 gènes *pul* nécessaires à la sécrétion de la pullulanase PulA. Depuis, ce système a également été identifié chez de nombreuses bactéries à Gram négatif pathogènes d'animaux ou de végétaux. Il se compose d'un complexe membranaire externe, d'un pseudopilus périplasmique, d'une plate-forme membranaire interne et d'une ATPase cytoplasmique (**Figure13**). Le SST2 assure le transport d'enzymes de dégradation telles que des cellulases, cellobiosidases, lipases, xylanases, pectinases, endoglucanases, polygalacturonases et des protéases (Sandkvist 2001; Korotkov, Sandkvist, et Hol 2012). La plupart des protéines sécrétées par le SST2 qui ont été caractérisées à ce jour

sont impliquées dans la dégradation de différents composants des parois cellulaires végétales (Jha, Rajeshwari, et Sonti 2005). À ce titre, le SST2 peut jouer un rôle déterminant dans le pouvoir pathogène.

- Le **SST3** met en jeu une vingtaine de protéines, dont certains sont des homologues de composants du flagelle. Les protéines sécrétées appelées effecteurs de type 3 et interagissent avec des protéines cibles de l'hôte (Effecteur TAL, protéines G, tyrosine kinase, adénylate cyclase, importine-$\alpha$ etc.), conduisant, entre autres effets, à la réorganisation de l'actine du cytosquelette et à la phagocytose, ou, au contraire, à la dépolymérisation de l'actine et à l'inhibition de la phagocytose, ou encore à l'apoptose. Du fait de son importance dans le pouvoir pathogène de *Xanthomonas*, une section est entièrement dédiée au SST3 ci-après.
- Le **SST4** assure la sécrétion de complexes nucléoprotéiques ou de protéines à destination de la cellule cible (Christie et Covacci 2004). Les plus connus jouent un rôle majeur dans l'échange de plasmides au cours de la conjugaison bactérienne, par exemple le système *tra* chez *E. coli*. Le SST4 est également bien connu depuis sa caractérisation en 1980 chez la bactérie phytopathogène *Agrobacterium*, du fait de son rôle dans le transfert dans la cellule hôte d'ADN et de protéines effectrices.
- Le **SST5** est un système de sécrétion qui fonctionne en deux étapes. La translocation d'effecteurs nécessite un auto-transporteur ou un domaine indépendant de translocation dans la molécule transloquée. Ces dernières sont d'abord transloquées dans le périplasme dans un état déplié (**Figure13**). De ce fait, les substrats du SST5 portent une séquence de signal N-terminal Sec autorisant le passage dans le périplasme (Leo, Grin, et Linke 2012). Les substrats sécrétés par le SST5 comprennent des adhésines telles que XadA, pouvant donc jouer un rôle dans l'adhésion de cellule à cellule et la formation de biofilms.
- Les **SST6** sont les systèmes de sécrétion bactériens les plus récemment décrits et, par conséquent, il y a encore beaucoup à apprendre sur leur structure et leurs fonctions. Ils transloquent les protéines dans une variété de cellules receveuses, y compris des cellules eucaryotes et, plus généralement, d'autres bactéries (Russell, Peterson, et Mougous 2014). Ces systèmes sont assez bien conservés, on les retrouve dans près d'un quart des génomes séquencés (Russell et al. 2011). Les SST6 sont capables de transporter des protéines effectrices d'une bactérie à une autre d'une manière dépendante du contact, ce qui est censé jouer un rôle dans la communication bactérienne et les interactions dans l'environnement (Green et Mecsas 2016).
- Le **SST7** a été identifié chez certains organismes à Gram positif comme les Mycobactéries et les Corynébactéries (Stanley et al. 2003; Gao et al. 2004; Guinn et al. 2004; Converse et Cox 2005; Abdallah et al. 2006; 2007).

#### 1.4.1.2 Les exopolysaccharides

Les exopolysaccharides (EPS) sont des facteurs clés de la pathogénie des *Xanthomonas*, mais leur fonction précise dans l'établissement de la compatibilité de base reste floue. Les EPS suppriment la signalisation induite par les MAMP dans les plantes, de par leur nature polyanionique et la capacité conséquente de chélater les ions de calcium divalents (Aslam et al. 2008). Ceci montre que les xanthanes sont impliqués dans l'induction de la sensibilité de l'hôte en supprimant notamment l'accumulation de dépôt de callose.

Les Xanthanes sont des EPS produites en grande quantité par les bactéries du genre *Xanthomonas*. Ils donnent un aspect mucoïde aux colonies bactériennes, servant d'épaississant et protégeant les colonies bactériennes contre les stress environnementaux. Il s'agit d'un hétéropolysaccharide composé d'unités répétitives de pentasaccharides composés d'unités monomériques de deux glucoses, deux mannoses et un résidus GlcA avec une chaîne d'épine dorsale composée de cellulose (Khan, Park, et Kwon 2007; Ates 2015). En raison de ses propriétés supérieures et de ses caractéristiques rhéologiques, le xanthane a trouvé un large éventail d'applications en tant qu'agent épaississant ou stabilisateur dans les industries de l'alimentation, des cosmétiques et du forage pétrolier (Schatschneider et al. 2013; Chivero et al. 2015). Le xanthane (ou gomme de xanthane) fut le deuxième polysaccharide d'origine microbienne à être commercialisé après le dextrane (Kang et Pettitt 1993).

Pour leurs fonctions biologiques, les polysaccharides microbiens peuvent généralement être classés comme polysaccharides de stockage intracellulaire (glycogène), ou polysaccharides capsulaires. Les polysaccharides bactériens extracellulaires tels que le xanthane, sphingane, alginate, pullulane, ou la cellulose sont également impliqués dans la formation de biofilms (Schmid et Sieber 2015).

#### 1.4.1.3 Les lipopolysaccharides

Les lipopolysaccharides (LPS) forment une grande classe de macromolécules caractéristiques des bactéries à Gram négatif. Associées à des protéines, elles sont situées sur la face externe de la membrane externe de la cellule bactérienne. Dans cette position exposée à la surface de la cellule, les LPS sont impliqués dans l'interaction de la cellule avec l'environnement. Les LPS bactériens se composent généralement d'un domaine hydrophobe connu sous le nom de lipide A (ou endotoxine), d'un oligosaccharide « core » non répétitif et d'un polysaccharide distal (ou antigène O). Les analyses des LPS dans diverses bactéries Gram négatives, dont beaucoup sont des agents pathogènes végétaux, ont établi l'importance du transfert latéral de gènes pour générer la diversité structurelle des antigènes O. Cette variation a été proposée pour jouer un rôle dans l'évasion du système immunitaire de l'hôte. Les LPS aident les bactéries à résister aux antibiotiques et aux stress environnementaux (Raetz et Whitfield 2003; Patil, Bogdanove, et Sonti 2007). L'analyse des

séquences génomiques de souches de *Xanthomonas* a montré une similarité du locus LPS entre les souches de *Xoo* et de *X. citri*, l'agent causal du chancre bactérien des agrumes. Cela indique que plusieurs événements de transfert latéral de gènes se sont produits à ce locus chez les *Xanthomonad*. De par leur conservation dans l'espèce, les LPS agissent comme des PAMP et induisent des réponses liées à la défense de type PTI. En outre, l'analyse globale de l'expression génique induite par les LPS et la chitine, révèle une forte corrélation entre les réponses induites chez la plante par ces deux facteurs. Cela indique qu'il existe une convergence des cascades de signalisation en aval de leurs récepteurs correspondants. Aussi, les réponses de défense induites par les LPS dans les cellules de riz sont associées à la mort cellulaire programmée (Patil et Sonti 2004 ; Patil, Bogdanove, et Sonti 2007). Chez *X. campestris* pv*. campestris*, la synthèse de LPS est contrôlée par le groupe de gènes *wxc*, qui comprend 15 gènes (Vorhölter, Niehaus, et Pühler 2001). Les mutations dans les clusters de gènes LPS rendent les bactéries plus sensibles aux conditions environnementales difficiles, par exemple dans le tissu végétal et pourraient donc conduire à une atténuation de la virulence bactérienne comme démontré pour *X. campestris* pv*. campestris* et *X. campestris* pv*. citrumelo* (Kingsley et al. 1993; Dow et al. 1995; Newman, Dow, et Daniels 2001).

L'analyse comparative de clusters de gènes LPS de différents *Xanthomonas spp*. montre que ces derniers sont variables en nombre et en identité des gènes, suggérant qu'ils ont vraisemblablement été soumis à une forte sélection de diversification, génération de multiples allèles dans différentes espèces, pathovars et même de souches (Lu et al. 2008). Des variations dans la composition du LPS pourraient permettre aux bactéries d'échapper à la reconnaissance par le système immunitaire de la plante hôte et affecter également la résistance bactérienne à l'adsorption et/ou l'infection de phages (Ojanen et al. 1993; Hung, Wu, et Tseng 2002).

#### 1.4.1.4 Les adhésines

L'attachement bactérien aux surfaces est médié par des structures ancrées dans la membrane externe bactérienne qui couvrent un large groupe de composants communément appelés adhésines (Mhedbi-Hajri, Jacques, et Koebnik 2011). Les adhésines fimbriales sont des structures protéinées filamenteuses telles que le pili de type IV (**Figure13**). Les adhésines non fimbriales sont des protéines de surface de la paroi bactérienne (Sotot et Hultgren 1999; Gerlach et Hensel 2007). Les adhésines des bactéries phytopathogènes sont impliquées dans la virulence et l'attachement des bactéries à la surface des feuilles. Les adhésines bactériennes se lient à des récepteurs spécifiques de la surface de l'hôte et ont été étudiées intensivement chez les bactéries pathogènes animales. En revanche chez les pathogènes végétaux on en sait moins sur leur fonction de virulence. Des analyses de génomique comparative ont révélé que les bactéries pathogènes de plante possédaient un certain nombre d'adhésines impliquées vraisemblablement dans l'attachement bactérien à plusieurs récepteurs

cellulaires hôtes, contribuant ainsi à différentes étapes du processus d'infection (Das, Rangaraj, et Sonti 2008).

#### 1.4.1.5 Les xylanases

Les parois cellulaires végétales composées de fibres de cellulose et d'hémicelluloses fournissent la force et la rigidité aux cellules. Elles agissent comme une barrière contre les agents pathogènes. Les enzymes de dégradation de la paroi cellulaire que sont les cellulases, xylanases et les protéases sont sécrétées par les bactéries phytopathogènes pour décomposer certains éléments constitutifs des parois cellulaires hôtes. Près de 30 à 40 gènes codant pour des enzymes de dégradation de la paroi cellulaire ont été identifiés dans les génomes de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* et *X. citri,* ce qui souligne l'importance probable de ces gènes dans la pathogénicité des *xanthomonads* (Da Silva et al. 2002). Le xylane est un composant important du complexe d'hémicelluloses des parois cellulaires des plantes. Chez le riz et d'autres graminées, ces parois ont une composition élevée en xylane, représentant jusqu'à 60% du total des glucides pariétaux (Caprita et Gibeaut, 1993 ; Takeuchi et coll. 1994). La fonction des xylanases sécrétées par les systèmes de sécrétion de type II (**Figure12**) est précisément d'hydrolyser l'hémicellulose. La capacité d'atteindre et de pénétrer les vaisseaux du xylème est un facteur qui influe la colonisation par la bactérie des tissus de la plante (Sun et al. 2005). Deux gènes codant pour les xylanases *xynA* et *xynB* ont été identifiés dans le génome de *Xoo*. Les tests de virulence de mutants *Xoo* ayant perdu le gène *xynB* ou les gènes *xynA*/*xynB* révèle une atténuation de la virulence, indiquant que les xylanases sont aussi des facteurs de virulence importants pour *Xoo* (Rajeshwari, Jha, et Sonti 2005).

#### 1.4.1.6 Les toxines

En pathologie végétale, une toxine est généralement définie comme une substance non enzymatique qui blesse les cellules végétales ou perturbe leur métabolisme. Les toxines végétales ont des poids moléculaires inférieurs à celui des toxines animales, et la plupart n'induisent pas la production d'anticorps lorsqu'elles sont injectées dans un animal (Owens 1969). La classification des toxines bactériennes repose sur leur mode d'action. Certaines toxines agissent à l'extérieur de la cellule en se liant à des récepteurs cellulaires ou en réalisant des pores dans la membrane. D'autres toxines sont capables d'induire la translocation d'un fragment catalytique dans le cytoplasme. Ainsi les toxines constituent des exemples concrets de détournement du fonctionnement des cellules eucaryotes au profit des bactéries (Galmiche et Boquet 2001). Les perturbations physiologique et biochimique de la plante hôte provoquées par les toxines bactériennes peuvent provoquer des symptômes de flétrissement, nécrose ou de chlorose systémique. Sept substances toxiques pour le riz ont été isolées de suspensions cellulaires de *Xoo*. Ces substances ont été identifiées au moyen de rayons UV et par

spectrométrie de masse. Il s'agit de l'acide 3-méthylthiopropionique, l'acide trans-3-méthylthioacrylique, l'acide phénylacétique, l'acide iso-valérique, l'acide tiglique, l'acide succinique et l'acide fumarique (Takato et al. 1980). Plusieurs toxines de pathogène peuvent ouvrir les stomates qui se ferment en réponse aux PAMPs (Melotto et al, 2008 ; McLachlan et coll., 2014). C'est la cas de la fusiccocine fongique (Squire et Mansfield 1974), DSF (pour Diffusible Signal Factor) de *Xanthomonas campestris* (Gudesblat, Torres, et Vojnov 2009), la syringoline A (Schellenberg, Ramel, et Dudler 2010). Il y aussi la coronatine qui est l'une des phytotoxines les plus étudiées. Elle agit à la fois sur les stades pré et post-invasifs du cycle de vie de *P. syringae* (Melotto et Kunkel 2013). La coronatine est un imitateur structurel et fonctionnel du jasmonate qui est une hormone végétale activement impliquée dans la défense des plantes contre *P. syringae* (Glazebrook et al. 2003; Uppalapati et al. 2007).

### 1.4.2 Généralités sur le Système de Sécrétion de Type Trois

Le SST3 est certainement le mécanisme de sécrétion le plus étudié (Hueck 1998). Chez les bactéries phytopathogènes, les protéines secrétées par le SST3 sont codés par des gènes *hrp* (pour hypersensitive reaction and pathogenicity), qui sont ainsi nommés parce que nécessaires au développement de la maladie sur une plante hôte sensible, et pour l'élicitation de la réaction d'hypersensibilité (ou HR) sur une plante résistante (P. B. Lindgren, Peet, et Panopoulos 1986; Peter B. Lindgren 1997). Les protéines constituant le SST3 des bactéries phytopathogène à Gram négatif sont les principaux facteurs de pathogénicité (Ghosh 2004), sauf pour certaines bactéries du genre *Dickeya* ou *Pectobactérium* qui provoquent des pourritures et dont les facteurs de virulences sont des enzymes de dégradation secrétés par le SST2 (Bellieny-Rabelo et al. 2019). Le locus *hrp* comprend plus de 20 gènes qui sont organisés en plusieurs unités transcriptionnelles (Büttner et Bonas 2002). Les gènes *hrp* ont d'abord été découverts par l'analyse de mutants d'insertion de transposon chez la phytobactérie *Pseudomonas syringae* pv*. phaseolicola.* Chez cette bactérie, ils ont été montrés comme essentiels à la pathogénicité et l'induction de la HR dans les plantes hôtes et non hôtes, respectivement (P. B. Lindgren, Peet, et Panopoulos 1986). Des gènes *hrp* sont conservés dans de nombreuses bactéries à Gram négatif pathogènes de plantes comme *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas spp*., *Ralstonia solanacearum* et *Erwinia* spp., illustrant un rôle central du SST3 dans la médiation de l'interaction plante-bactéries (Alfano et Collmer 2004; Büttner et Bonas 2010). Les clusters *hrp* sont composés de trois types de gènes. Il s'agit des gènes *hrp* qui sont retrouvés uniquement chez les bactéries phytopathogènes, les gènes *hrc* ('*hrp* conserved'), qui sont conservés chez les bactéries pathogènes de plantes et d'animaux, et les gènes *hpa* ('*hrp* associated') qui contribuent au pouvoir pathogène mais ne sont pas essentiels pour l'interactions avec la plante hôte (Bonas et al. 1991; Gough et al. 1992; Rosqvist, Magnusson, et Wolf-Watz 1994; Sory et Cornelis 1994).

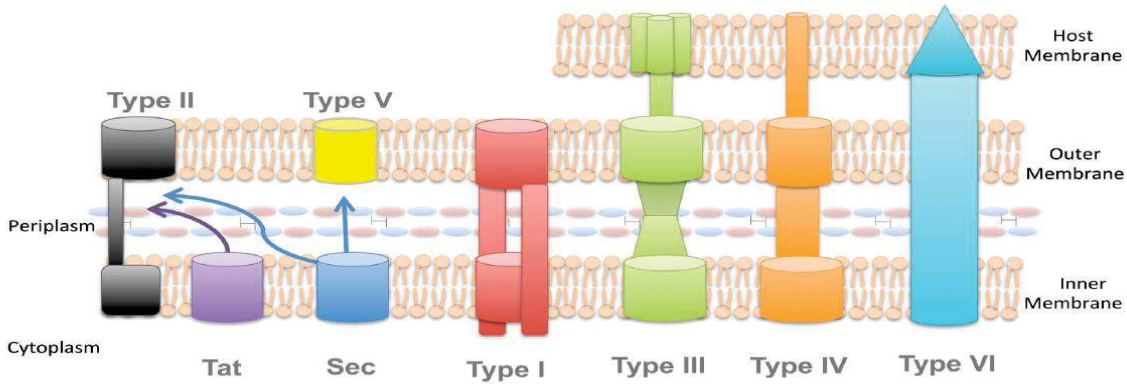



**Figure 13** : Illustration des systèmes de sécrétion chez les bactéries Gram négatives. Les bactéries gram-négatives utilisent un certain nombre de systèmes de sécrétion de protéines dédiés pour transporter des protéines à travers 1, 2 ou 3 membranes de phospholipides. Certaines protéines sont sécrétées dans un mécanisme à deux étapes, sec ou Tat-dépendant. Ces protéines traversent la membrane intérieure à l'aide des voies de sécrétion Sec ou Tat et sont ensuite transportées à travers la membrane externe à l'aide d'un deuxième système de sécrétion. Les T2SS et T5SS sécrètent les protéines de cette manière. Parce qu'il sécrète des substrats repliés, le T2SS transloque les protéines initialement transportées par la voie Tat ou Sec (où les substrats Sec sont repliés dans le périplasme). En revanche, les autotransporteurs du T5SS doivent être dépliés avant le transport extérieur de la membrane et doivent donc être sécrétés à travers la membrane interne par la voie Sec. En outre, plusieurs systèmes de sécrétion de protéines transportent leurs substrats à travers les deux membranes bactériennes dans un processus indépendant des types Sec ou Tat. Il s'agit notamment des T1SS, des T3SS, des T4SS et des T6SS. Toutes ces voies contiennent des canaux traversant le périplasme et sécrètent des protéines du cytoplasme à l'extérieur de la cellule. Cependant, leurs mécanismes de sécrétion de protéines sont très différents. Trois de ces systèmes de sécrétion, le T3SS, le T4SS et le T6SS, peuvent également transporter des protéines à travers une membrane cellulaire hôte supplémentaire, délivrant des protéines sécrétées directement dans le cytosol d'une cellule cible (Green et Mecsas 2016).

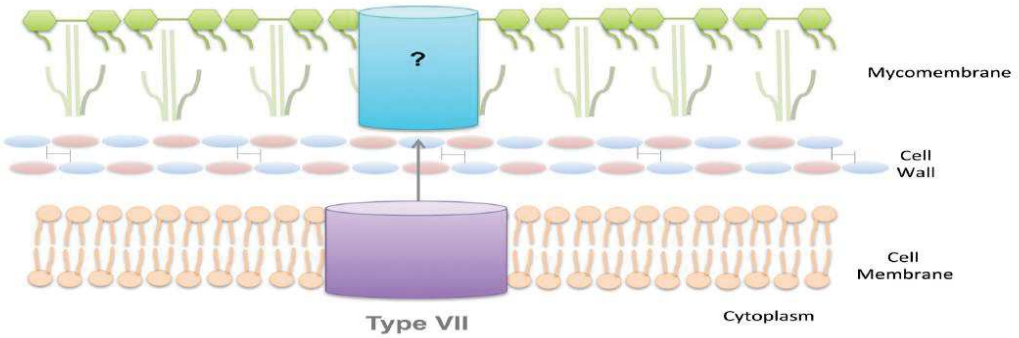



**Figure 14** : Système de sécrétion de type 7. Certains organismes à Gram positif, y compris ceux du genre Mycobacteria, contiennent une couche de paroi cellulaire qui est fortement modifiée par les lipides, appelée mycomembrane. Ces organismes contiennent un appareil distinct de sécrétion de protéines appelé SST7. Les SST7 contiennent plusieurs protéines de membrane interne de base qui interagissent avec les chaperons cytosoliques et forment un canal par lequel les protéines sont sécrétées. En outre, il a été proposé que les SST7 puissent contenir un canal supplémentaire qui aide à l'excrétion des substrats, bien que ce modèle n'ait pas été prouvé expérimentalement (d'après (Green et Mecsas 2016).

Le SST3 est une seringue moléculaire permettant d'injecter directement un ensemble de protéines dites effecteurs de type III (ET3), dans le cytoplasme des cellules hôtes (**Figure15**). De nombreux ET3 ont été identifiés chez différentes bactéries et leur nom dépend de l'agent pathogène dont ils sont issus :*Pop* (*Pseudomonas* outer protein) chez *R. solanacearum* (faisant partie du genre *Pseudomonas* à l'époque de cette identification) (Arlat et al. 1994) ou *Rip* (*Ralstonia* injected protein) (Peeters et al. 2013), ou encore *Xop* (*Xanthomonas* outer protein) chez *Xanthomonas* (Noël et al. 2001). Le fait que les ET3 partagent de nombreuses similarités avec les protéines végétales, suggère que ces effecteurs agiraient directement comme agonistes ou antagonistes de composants cellulaires des plantes (Genin et Boucher 2004). Chaque agent pathogène possède une batterie particulière d'effecteurs conduisant à une spécificité de son pouvoir pathogène et son spectre d'hôtes (Clarke et al. 2013; Cai et al. 2011; Potnis et al. 2011). La majorité des effecteurs ont été décrits comme des facteurs de virulence et/ou d'avirulence. Cependant, nos connaissances sur leur fonction sont relativement partielles: pour beaucoup d'entre eux, leur rôle, localisation subcellulaire et mode d'action dans les différents hôtes restent incomplets (Alfano et Collmer 2004; Bent et Mackey 2007), notamment du fait de la redondance fonctionnelle de nombreux effecteurs (Angot et al. 2006; Birch et al. 2008; Solé et al. 2012). De plus, la complexité de la compréhension du rôle des effecteurs vient notamment du fait qu'ils peuvent agir collectivement pour induire un phénotype. Par exemple, un criblage de mutants de la souche Pss190 de *R. solanacearum* basé sur leurs pertes de virulence sur tomate n'a révélé aucun ET3 spécifiquement impliqué dans la virulence (Lin et al. 2008). Remigi et al. (2011) ont montré que les effecteurs de la famille GALA10 sont collectivement, mais non individuellement, requis pour provoquer une maladie sur *Arabidopsis thaliana* et la tomate.

#### 1.4.2.1 Structure du système de sécrétion de type trois

La plupart des SST3 de bactéries phytopathogènes connues partage un certain nombre de composants structuraux de base qui sont fortement conservés (Hueck 1998; Gürlebeck, Thieme, et Bonas 2006). Le SST3, qui permet une communication directe entre les bactéries et les cellules animales ou végétales, n'a été découverte que dans les années 1990 (Troisfontaines et Cornelis 2005). L'appareil SST3 appelé « injectisome » chez les bactéries pathogènes d'animaux (**Figure 15**), est constitué d'un corps basal ancré dans la membrane et qui se prolonge par un pilus extracellulaire qui relie la bactérie et la cellule hôte. Chez les phytobactéries, le pilus dit *hrp* est terminé par un translocon qui assure le passage des effecteurs depuis le pilus vers le cytosol de la cellule eucaryote cible (Büttner et He 2009). Chez *Yersinia spp*. trois protéines (YopB, YopD et LcrV) sont impliquées dans la formation du translocon qui s'insère dans la membrane cellulaire eucaryote. YopB et YopD forment un canal transmembranaire protéique qui est relié à l'aiguille par l'intermédiaire d'un complexe composé de LcrV (Håkansson et al. 1996 ; Neyt et Cornelis, 1999 ; Mueller et coll., 2008)

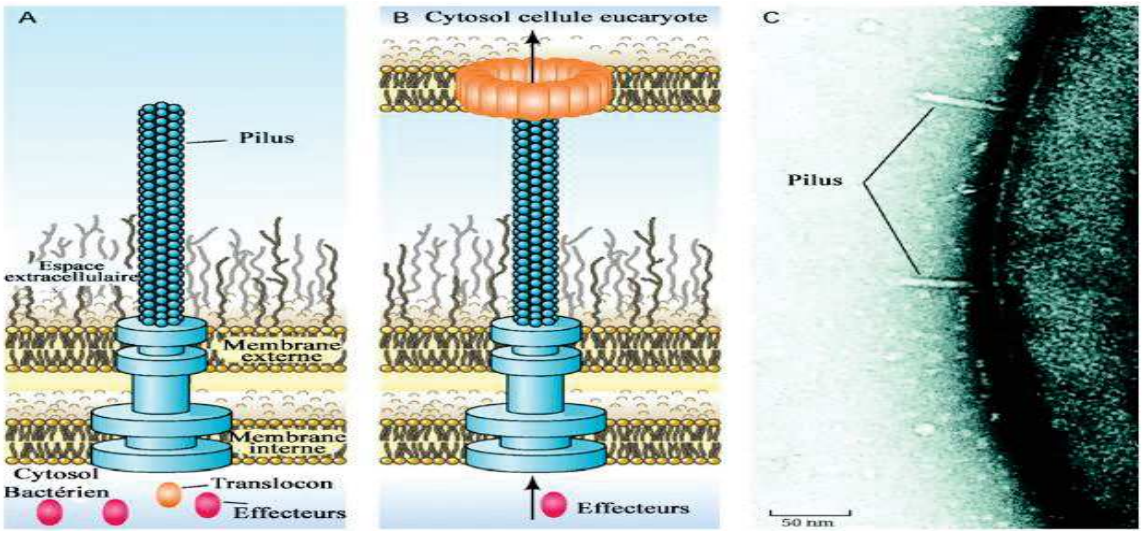



**Figure 15:** Pilus du système de sécrétion de type 3 d'après (Troisfontaines et Cornelis 2005) (A) Injectisome au repos. Les deux anneaux formant le corps basal du SST3 sont représentés ainsi que le pilus avançant à l'extérieur de la bactérie. Les effecteurs et le translocon sont stockés au sein du cytosol de la bactérie. (B) Injectisome en action. Le translocon forme un pore dans la membrane de la cellule cible et les effecteurs peuvent alors être transférés dans le cytosol de cette cellule cible. (C) Photographie de la surface d'une cellule de *Yersinia enterocolitica* et ses pilus observés au microscope électronique.

#### 1.4.2.2 Les effecteurs de type 3

Les ET3 sont transloqués dans les cellules hôtes où ils interfèrent avec la réponse immune de l'hôte, ou facilitent les processus nutritionnels ou de dispersion de l'agent pathogène (Büttner et He 2009). La diversité des tissus cibles et de spécificité d'hôtes des membres du genre *Xanthomonas* se reflète également dans la diversité et le nombre des ET3 dans un pathovar ou une espèce donnée. Les ET3 des *Xanthomonas* se répartissent dans 40 groupes d'effecteurs. Ces effecteurs sont principalement regroupés sur la base de leur similarité de séquences (White et al. 2009). Les ET3 de *Xanthomonas* sont dénommés Xop (Noël et al. 2001). XopD code pour une protéase à cystéine C48, impliquées dans le clivage des protéines de plantes présentant des motifs de type SUMO afin de favoriser l'infection bactérienne (Hotson et al. 2003). L'effecteur XopJ de *Xanthomonas campestris* pv*. vesicatoria* (*Xcv*), a des homologues conservés chez *Yersinia*, ainsi que d'autres pathogènes bactériens végétaux et animaux, et même des symbiotes végétaux. Les membres de cette famille YopJ ont aussi la capacité d'agir comme des protéases à cystéine (Orth et al. 2000). L'effecteur YopJ inhibe les voies de signalisation associées à la réponse immunitaire en empêchant l'activation de la famille des MAPK kinases (MAPKK).

Les effecteurs de type TAL (pour « Transcription Activator-Like ») représentent une grande famille d'effecteurs conservée chez *Xanthomonas* et fonctionnent comme des activateurs transcriptionnels des gènes hôtes (Kay et Bonas 2009; Kobe et Kajava 2000; White et al. 2009; White, Yang, et Johnson 2000). La spécificité des effecteurs TAL est déterminée par un domaine modulaire unique de liaison à l'ADN. Le gène *avrBs3* de *Xcv* a été le premier membre isolé de cette grande famille d'effecteurs de type III quasiment spécifiques de *Xanthomonas* spp (Boch et Bonas 2010).

La protéine TALE est constituée de trois domaines principaux : le domaine N-terminal avec le signal de translocation du SST3, le domaine central à répétitions impliqué dans la liaison à l'ADN et le domaine C-terminal constitué de signaux de localisation nucléaires (NLS) et d'un domaine acide d'activation (AAD pour acide activation domain) (**Figure 16a**) (Boch and Bonas, 2010). Le domaine central se compose de répétitions en tandem dont le nombre varie de 1,5 à 33,5 répétitions avec une moyenne d'environ 17,5 répétitions (Boch et Bonas 2010). Les TALE diffèrent principalement via ces répétitions disposées en tandem de 34 acides aminés chacune avec des acides aminés hypervariables aux positions 12 et 13, appelés RVD variables (Répétition Variable Diresidues) (**Figure 16b**). La liaison des TALEs aux séquences d'ADN est très spécifique en raison de combinaisons uniques de ces RVD. La découverte du code de liaison TALE-ADN a été une étape importante non seulement dans la pathologie végétale, mais aussi dans la biotechnologie. En utilisant les spécificités de liaison des RVD les mieux caractérisés (HD–>C, NI–>nA, NG–> T, NN–>G, NS–> N) et profitant de la nature modulaire des TALEs, les chercheurs ont été en mesure d'élaborer des protéines TALE artificielles avec toute

spécificité souhaitée pour induire l'expression de gènes individuels, non seulement dans les plantes, mais aussi chez d'autres eucaryotes (Bogdanove et Voytas 2011). Les RVD individuels s'associent sélectivement aux nucléotides individuels selon la nature des acides aminés du RVDs. De ce fait, la succession des RVDs détermine la nature et la longueur de la séquence nucléotidique ciblée EBE (pour '' Effector Binding Element''). L'élucidation de ce « code » de spécificité TALE-ADN a permis les premières prédictions des sites de liaison des TALEs dans les génomes végétaux (Boch et al. 2009; Moscou et Bogdanove 2009). Plus récemment, l'analyse de la structure 3D des TALE a montré que leur domaine de liaison d'ADN s'enroule autour de la double hélice de l'ADN hélicoïdalement **(Figure 16C)** avec les RVD orientés dans la partie la plus intime du complexe à proximité de leur nucléotide cible (Murakami et al. 2010; Mak et al. 2012).

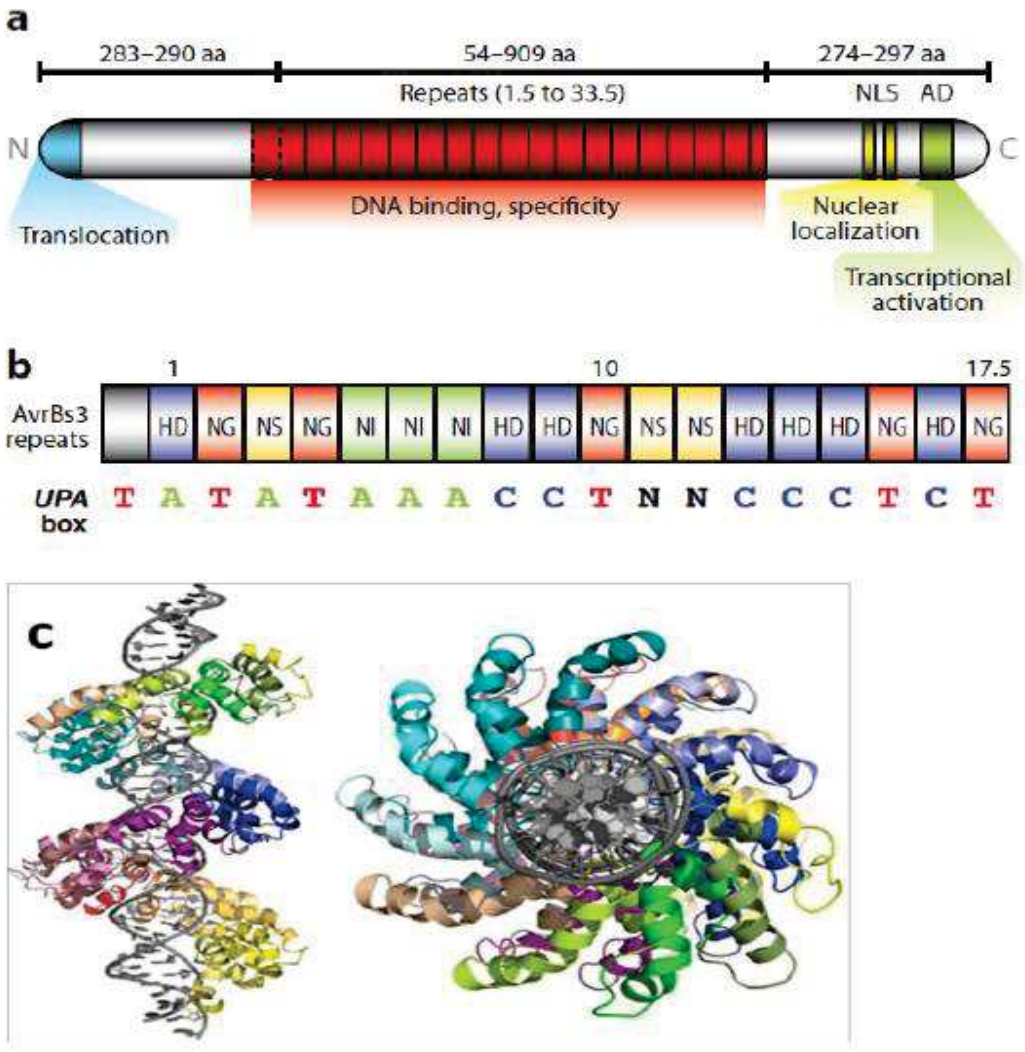
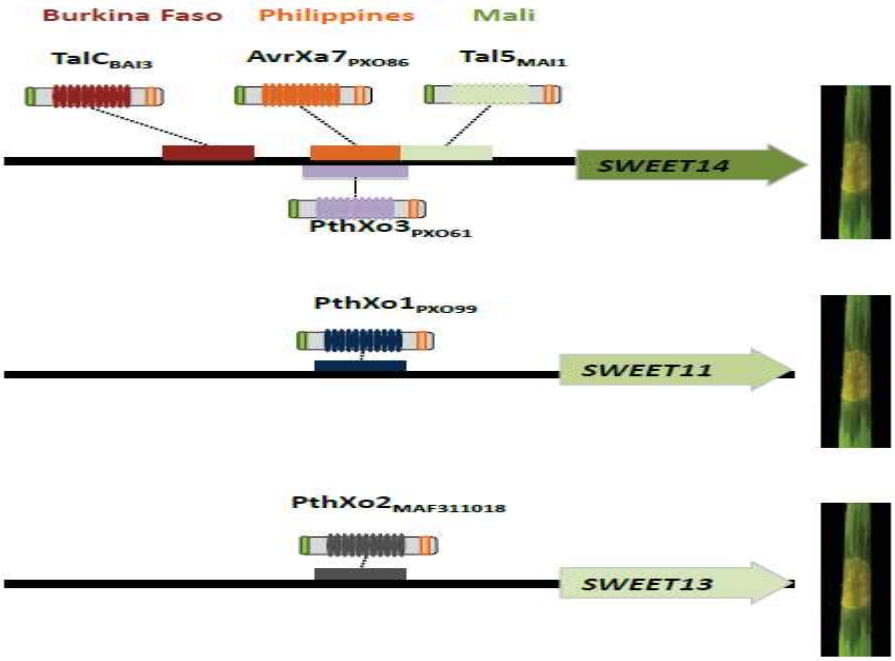



**Figure 16 :** Domaines fonctionnels des effecteurs de type TAL. a) Région N-terminale contenant le signal de translocation de type III. Le domaine central impliqué dans la liaison avec l'ADN est constitué de répétitions en tandem dont le nombre peut varier de 1,5 à 33,5. La répétition « zéro » indiquée en pointillés correspond à une séquence différente, mais contribue à la liaison de la protéine TAL à l'ADN. NLS : ''Nuclear Localisation Signal'' ; AD : ''Activation Domain''. b) : RVDs de 17,5 répétitions d'AvrBs3 de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*. La boite consensus *UPA* (pour ''Up-regulated by AvrBs3'') est indiquée sous les répétitions. C) : Structure tridimensionnelle de l'effecteur TAL PthXo1 de *X. oryzae* pv. *oryzae* liée à l'ADN cible. D'après Boche et Bonas (2010) et Mak et al. (2012).

La virulence de *Xoo*, mais aussi d'autres espèces du genre *Xanthomonas* qui infectent les agrumes, le coton ou le manioc, est contrôlée largement par des TALEs (Swarup et al. 1992; Wichmann et Bergelson 2004). Les TALEs jouant un rôle essentiel dans le processus infectieux sont dits TALEs majeurs de virulence car ils sont capables de cibler des gènes « **S »** dits de sensibilité, dont l'induction est nécessaire pour la multiplication du pathogène et l'apparition des symptômes. Les souches mutées dans les gènes codant un de ces effecteurs TAL majeurs de virulence perdent significativement leur pouvoir pathogène (Bing Yang et White 2004). *UPA20* (pour Upregulated by AvrBs3) est ciblé par AvrBs3, un TALE secrété par *Xcv* provoquant l'hypertrophie des cellules du mésophile chez le poivron et chez *Nicotiana benthamiana* (Marois et al. 2002). Chez le manioc l'induction du gène de sensibilité *MeSWEET10a* par Tal20 provoque le développement de symptômes de bactériose vasculaire (Cohn et al. 2014). L'activation du facteur de transcription *CsLOB1* (gène de sensibilité) par PthA4 de *X. citri* subsp. citri (*Xcc*) contribue à l'expansion cellulaire du chancre des agrumes (Hu et al. 2014).

Le nombre et les types d'effecteur TAL au sein d'une souche de *Xanthomonas* peuvent varier de 0 à 28. Ainsi *Xoc* possède 12 à 28 effecteurs TAL, alors que les souches de *Xoo* n'en contiennent que 9 à 16 (Bing Yang, Sugio, et White 2006) dont neuf clonés de différentes souches sont connus comme effecteurs de virulence majeurs (Scholze et Boch 2011). Ces neuf gènes clonés sont *pthXo1, pthXo2, pthXo3, pthXo6, pthXo7, avrXa7*, *talC*, *talF* et *talB* (Tran et al. 2018). Les souches individuelles de *Xoo* contiennent des gènes multiples et distincts d'effecteur TAL (Bing Yang et White 2004), et plusieurs gènes de sensibilité de BB ont été identifiés. Les premiers d'entre eux étaient : *Os8N3* (un membre de la famille du gène transporteur de sucre appelé aussi *OsSWEET11*), *OsTFX1*, et le facteur d'initiation de transcription *TFIIAγI*, induits respectivement par les effecteurs PthXo1, PthXo6, et PthXo7 de la souche de *Xoo* PXO99 (Bing Yang, Sugio, et White 2006; Sugio et al. 2007). Par la suite, *SWEET14* a été identifié et il s'agit d'un autre transporteur de sucres qui est cette fois ciblé par plusieurs effecteurs TAL distincts provenant de souches de zones géographiques différentes et ciblant des EBEs différents (**Figure 17**) (Antony et al. 2010; Song et al. 2012; Streubel et al. 2013). Les gènes récessifs de résistance *xa13* et *xa25* sont des allèles de *OsSWEET11* et *OsSWEET13*, respectivement, qui ne sont pas activés par l'effecteur TAL correspondant du fait de polymorphisme dans les EBE (Bing Yang, Sugio, et White 2006; Q. Liu et al. 2011).

Certains effecteurs TAL induisent une résistance à l'hôte en activant transcriptionnellement un gène « ***R »*** dominant qui déclenche la mort cellulaire locale (HR) lorsqu'il est exprimé. Par exemple, l'effecteur TAL AvrBs3 active le gène de résistance du poivron *Bs3* (Römer et al. 2007), et l'effecteur AvrXa27 de la souche de *Xoo* PXO99 induit le gène *R* du riz *Xa27* (Gu et al. 2005b). AvrXa7, AvrXa10, AvrXa23 et AvrXa27 sont des TALEs qui provoquent une résistance au BB chez les hôtes qui contiennent les gènes de résistance *Xa7*, *Xa10*, *Xa23* et *Xa27*, respectivement (Zhu et al. 1998; B. Yang et al. 2000; Gu et al. 2005b; Tian et Yin 2009; Hummel, Doyle, et Bogdanove 2012; Tian et al. 2014).




**Source :** Doucouré Hinda 2017

**Figure 17 :** Modèle illustrant le rôle des TALEs de *Xoo* dans l'induction des gènes *SWEET* chez le riz**.** Lors d'une interaction compatible, les TALEs transloqués dans le noyau, se lient aux EBEs correspondantes et activent la transcription des gènes de susceptibilités, parmi lesquels *SWEET11*, *SWEET13* et *SWEET14*.

### 1.5 Projet de thèse

En Afrique, la croissance démographique et les changements des habitudes alimentaires associées aux modifications des modes de vie (i.e. migrations urbaines) ont favorisé une augmentation de la demande de culture du riz au détriment des cultures vivrières traditionnelles. Dans ce contexte, il est essentiel d'améliorer les capacités de production rizicoles afin de couvrir les besoins et assurer une indépendance alimentaire garante d'une certaine stabilité économique. Le riz occupe la deuxième place parmi les plantes céréalières d'intérêt agronomique au Sénégal après le mil. Cependant, cette production est loin de couvrir les besoins nationaux en riz.

Le riz est également une céréale modèle. La gamme des ressources et outils moléculaires disponibles inclue plusieurs centaines de séquences de génomes de riz, des collections de mutants d'insertion, des techniques de transformation génétique et d'édition du génome efficaces, des jeux de données transcriptomiques, ainsi que plusieurs bases de données et outils bio-informatiques dédiés à la génomique fonctionnelle du riz.

Le flétrissement bactérien (BB) et la bactériose à strie foliaire (BLS) sont deux maladies émergentes en Afrique de l'Ouest qui représentent une contrainte majeure à l'intensification de la culture du riz. À ce jour aucune souche de *Xoo* ou de *Xoc* n'a été isolée au Sénégal. Selon les rapports disponibles, le BB serait toutefois apparue dans les années 1980 (Ton That Trinh 1980), ce qui, selon les communications personnelles de chercheurs, aurait coïncidé avec l'introduction de la variété chinoise TCS10 au Sénégal.

Dans ce contexte, mon projet de thèse visait à : i) clarifier le statut du BB et du BLS au Sénégal par le biais de prospections dans les rizières et d'isolements; ii) constituer une collection de souches de *X. oryzae* du Sénégal, iii) d'en réaliser la caractérisation d'un point de vue pathotypique et génétique ; et iv) sélectionner des variétés résistant aux souches de *Xoo* et *Xoc* sénégalaises à partir des accessions de riz les plus cultivées au Sénégal et dans le but d'identifier des sources de résistance locales.

- La première partie de la section des résultats porte sur la caractérisation pathotypique et moléculaire des souches de *Xoo* du Sénégal. Une première étude rapporte la confirmation de la présence de la bactériose vasculaire au Sénégal, à l'aide d'outils d'analyse moléculaire. Une seconde étude porte sur la caractérisation des premières races de *Xoo* du Sénégal. Elle permet d'identifier les gènes de résistance d'intérêt parmi les ressources répertoriées (IRBB), mais porte aussi sur l'identification de sources de résistance au sein des variétés cultivées du pays.
- Une seconde partie est consacrée à la caractérisation pathotypique de la collection des souches de *Xoc* collectées au Sénégal, incluant une analyse d'agressivité, et des tests de

contournements des rares gènes de résistance à disposition pour contrôler la BLS, ainsi qu'une analyse de la diversité génétique de *Xoc* via une approche de type MLVA.

- Enfin, la troisième partie présente des tests de performance agronomique réalisés au champ sur deux variétés de riz élites Sénégalaises inoculées artificiellement avec *Xoo* dans le but d'évaluer l'impact éventuel de la BB sur le rendement.

**Le chapitre 1** porte sur la revue de la littérature sur le riz au Sénégal, son importance dans l'économie du pays, les systèmes de riziculture. C'est dans cette partie aussi que l'état des lieux sur les avancées de la compréhension des contraintes biotiques à la production du riz et les méthodes de lutte mises au point est présenté.

**Les chapitres 2**, **3** et **4** sont focalisés sur les résultats des travaux réalisés au cours de cette thèse.

**Le chapitre 2** qui a fait d'objet de deux articles, porte sur la caractérisation pathotypique et moléculaire des *Xoo* du Sénégal. Le 1er **Article publié dans « plant diseases »** est une note de confirmation de la présence du BB au Sénégal à l'aide d'outils d'analyse moléculaire. Le **2ème Article en phase de correction par les co-auteurs** porte sur la caractérisation des premières races de *Xoo* du Sénégal et permet d'identifier les gènes de résistance d'intérêt mais aussi sur l'identification de sources de résistance au sein des variétés cultivées du pays grâce à un phénotypage complet.

**Le chapitre 3** est consacré à la caractérisation génétique des *Xoc* du Sénégal avec une approche MLVA et à l'étude des phénomènes de contournement des gènes de résistance *RXo1*, *Xo1/Xa1* par phénotypage.

Enfin **le chapitre 4** affiche les résultats de criblage de 23 variétés cultivées du Sénégal au BB et l'évaluation des pertes de rendement dues à *Xoo* sur deux variétés élites.

Ce manuscrit finit par une discussion générale sur le travail de recherche effectué et les perspectives identifiées.

# CHAPITRE 2

Caractérisation pathotypique et moléculaire de *Xoo* au Sénégal

# 2 Chapitre 2: Caractérisation pathotypique et moléculaire de Xoo au Sénégal

## 2.1 *Article1 accepté dans la revue Plant disease:* Confirmation Report of Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas oryzae* pv*. oryzae* on rice in Senegal

Hamidou Tall, Cheick Tékété, Kandioura Noba, Ousmane Koita, Sebastien Cunnac, Mathilde Hutin, Boris Szurek, and Valérie Verdier (2020). Confirmation Report of Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* on Rice in Senegal. Plant disease DOI : 10.1094/PDIS-07-19-1464-PDN

### 2.1.1 Niveau d'implication personnelle

Mon implication personnelle dans ce travail se situe à tous les niveaux de réalisation de cette étude, incluant les phases de collectes d'échantillons au champ, les analyses de laboratoire (isolement des souches ; confirmation par PCR et mise en collection), les tests de pouvoir pathogène en serre et en milieu réel, et les analyses des données. J'ai aussi été impliqué dans la conception de l'article et sa rédaction

### 2.1.2 Contexte et justification

Le BB a été identifiée pour la première fois en Afrique à la fin des années 1970 au Mali (Buddenhagen et al 1979), et par la suite dans de nombreux autres pays africains (Nottéghem et Baudin 1981; RECKHAUS 1983; Buddenhagen 1985; Awoderu 1991; Ashura, Mabagala, et Mortensen 1999). Depuis 2002, le suivi phytosanitaire du riz a permis l'observation d'épidémies croissantes de BB dans toute la sous-région ouest africaine. Cette maladie constitue donc une contrainte majeure à l'intensification du riz.

Bien que signalée au Sénégal depuis les années 1980 (Ton That Trinh 1980), il n'existe pas de collection de souches et conséquemment d'informations sur la diversité génétique des populations de Xoo, la nature et structuration des races, et les sources de résistance envisageables pour les contrôler. Cette étude vient donc combler ce vide dans le but de proposer des programmes de luttes adaptés au contexte Sénégalais.

### 2.1.3 Matériels et méthodes

Des missions de prospection et d'échantillonnage de feuilles de riz présentant les symptômes de BB ont été menées de 2015 à 2016 dans les zones rizicoles des régions Nord (Saint Louis et Matam), Est (Kédougou et Tambacounda) et Sud (Kolda, Sédhiou et Ziguinchor) du Sénégal pour évaluer la présence de la BB. Les bactéries ont été isolées à partir de feuilles de riz symptomatiques suivant les

méthodes décrites, mises en culture sur milieu PSA puis identifiées par un outil de diagnostic reposant sur une PCR-multiplexe spécifique de *X. oryzae* (Lang et al. 2010b; Valérie Verdier, Vera Cruz, et Leach 2012). Des tests de pathogénicité ont été réalisés sur la lignée de riz sensible Azucena. L'ADN des souches a été extrait en utilisant le kit Promega suivant les recommandations du fournisseur. Le gène de ménage *gyrB* des souches analysées a été séquencé et comparé à celui de la souche de référence de *Xoo* BAI3 originaire du Burkina.

### 2.1.4 Résultats et discussions

A l'issue des campagnes de collectes de 2015 et 2016, 53 sites répartis dans 8 régions été visités. Dans tous les sites échantillonnés, les symptômes de la maladie étaient présents sur les plantes. Au total 43 souches de *Xoo* réparties sur trois sites (Ndiaye, Ndioum et Bandafassi) ont été obtenues. Des tests de pouvoir pathogène ont montré que toutes les souches de *Xoo* étaient virulentes sur la variété Azucéna. Après ré-isolement ces souches provoquent de nouveau des symptômes de BB, permettant de valider le postulat de Koch. Des fragments de 658 pb du gène *gyrB* amplifiés à partir de souches sénégalaises sont trouvés identiques à la séquence de *gyrB* de BAI3. En conclusion, l'ensemble de ces données confirme bien la présence de BB au Sénégal.

### 2.1.5 Perspectives

Cette étude a apporté la confirmation de la présence du flétrissement bactérien du riz au Sénégal et a permis la mise en place de la première collection nationale de souches de *Xoo*. Ces données seront exploitées dans la suite de ce travail pour identifier les races de *Xoo* qui composent cette collection et étudier les gènes de résistance susceptibles de contrôler ces dernières. Elles permettront aussi d'identifier la diversité génétique au sein de cette collection, et d'en savoir un peu plus sur le niveau de résistance au BB des variétés de riz cultivées au Sénégal. Une surveillance épidémiologique de la maladie au fil du temps sera nécessaire pour apporter des informations supplémentaires sur l'évolution et la structure des races de *Xoo* qui permettront de développer des méthodes de lutte adéquates.

**Confirmation report of Bacterial blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae on* rice in Senegal**

Hamidou Tall[1, 2], Cheick Tékété[3], Kandioura Noba[4], Ousmane Koita[3], Sebastien Cunnac[2], Mathilde Hutin[2], Boris Szurek[2] and Valérie Verdier[2]

[1] Institut Sénégalais de Recherches Agricole (ISRA), Sénégal

[2] IRD, Cirad, Univ. Montpellier, IPME, Montpellier, France

[3] Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA), Bamako, Mali

[4] Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD), Laboratoire de Botanique et Biodiversité, Sénégal

Blight (BB) disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) Bacterial was reported in Senegal by Trinh in 1980. However, no strain of the bacteria has been isolated on rice and no additional information on the disease was reported. To confirm Trinh's observations, we surveyed rice fields in eight different regions of rice production in Senegal between 2015 and 2016. Typical symptoms of bacterial blight such as water-soaked areas and yellowish lesions along the leaf margins and tips were observed on rice plants (see **Figure 18 A**) essentially in the St. Louis region to the north (sites of Ndiaye and Ndioum) and in the southeast in the Kédougou region (Bandafassi site) with of up to 30-50% incidence. One hundred and three symptomatic leaf samples were collected from 53 independent fields from regions of Saint Louis, Matam, Kédougou, Tambacounda, Kolda, Sédhiou and Ziguinchor and ultimately, the presence of *Xoo* was confirmed in the Saint Louis and Kédougou regions only. Leaf samples were processed for bacterial identification. Round, pale yellow-pigmented and mucoid *Xanthomonas*-like colonies were obtained on PSA semi selective medium 48 hours after incubation at 28°C (peptone 10 g, sucrose 10 g, bacto agar 16 g, distilled water 1,000 ml, actidione 50 mg liter$^{-1}$, cephalexin 40 mg liter$^{-1}$, and kasugamycin 20 mg liter$^{-1}$). To confirm that the isolates were *Xoo*, a multiplex-PCR developed for the identification of *X. oryzae* pathovars was used (Lang et al. 2010). Forty-three strains produced two bands corresponding to *Xoo*. The genome of one of these strains, namely CIX2374, was determined recently in a separate study (GenBank NZ_CP036377.1) and shown to cluster

with other African *Xoo*. In addition, strains CIX2951 and CIX2974 were subjected to *gyrB* sequencing using the universal primers XgyrB1F and XgyrB1R (Young et al. 2008). The resulting 658-bp sequences (GenBank MN517835 and MN517836) were identical to the corresponding sequence in the BAI3 African reference *Xoo* strain genome and clustered with African *Xoo* specific *gyrB* sequences (**Figure 19**). The pathogenicity of strains CIX2374, CIX2951 and CIX2974, isolated from samples collected in Saint Louis and Kédougou, was tested on one-month-old *O. sativa* cv. Azucena plants. Rice leaves were inoculated by leaf clipping using sterile scissors dipped in the bacterial suspension. Fifteen days after inoculation plants exhibited typical BB lesions while control plants remained symptomless (see **Figure 18 B and C**). The re-isolated bacteria from diseased leaves yielded colonies that were confirmed by multiplex PCR as *Xoo*, thus fulfilling Koch's postulates. All strains are referenced in the collection of the French Institute for Research for Sustainable Development (IRD) in Montpellier, France under the same numbers (CIX2374, CIX2951 and CIX2974).

This report confirms the presence of *Xoo* in Senegal and expands our knowledge of this important disease in West-Africa. This work will serve as a basis for future rice breeding for BLB resistance efforts in the country. Further studies are needed to clarify the spatial distribution and prevalence of BB as rice cultivation is expanding rapidly in Senegal contributing to global food security in the Sahelian region.

**References*:***

Lang, J. et al. 2010. Plant Disease 94 : 311. https://doi.org/10.1094/PDIS-94-3-0311.

Trinh, T. T. 1980. International Rice Commission Newsletter 29: 37.

Young, J. et al. 2008. Syst. Appl. Microbiol. 31: 366. https://doi.org/10.1016/j.syapm.2008.06.004

***Xtra Figures legends:***

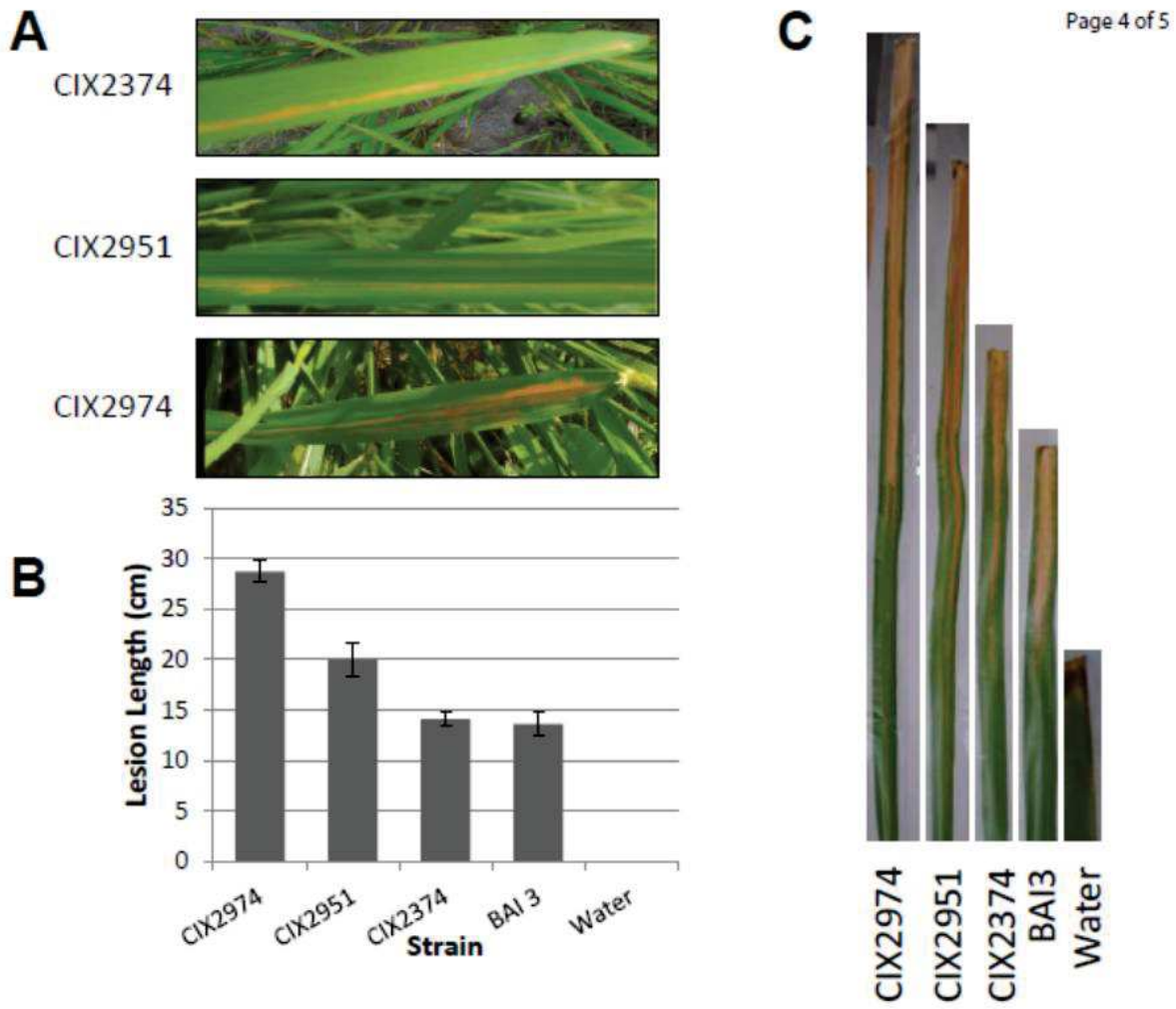





**Figure 18:** Confirmation that bacterial strains isolated from symptomatic leaves cause Bacterial Leaf Blight of Rice in leaf clipping experiments. Photographs of symptomatic leaves sampled in the field and used for bacterial isolation. The strains codes refer to the *X. oryzae pv. oryzae* strains ultimately isolated from the corresponding leaf (A). Average and standard deviation (line range) of length measurements (n= 9; 3 observations from three replicates of the experiment) (B) and representative images (C) of the lesions observed at 15 days following leaf clipping inoculation of the indicated strains on the Azucena (sativa species) rice genotype.

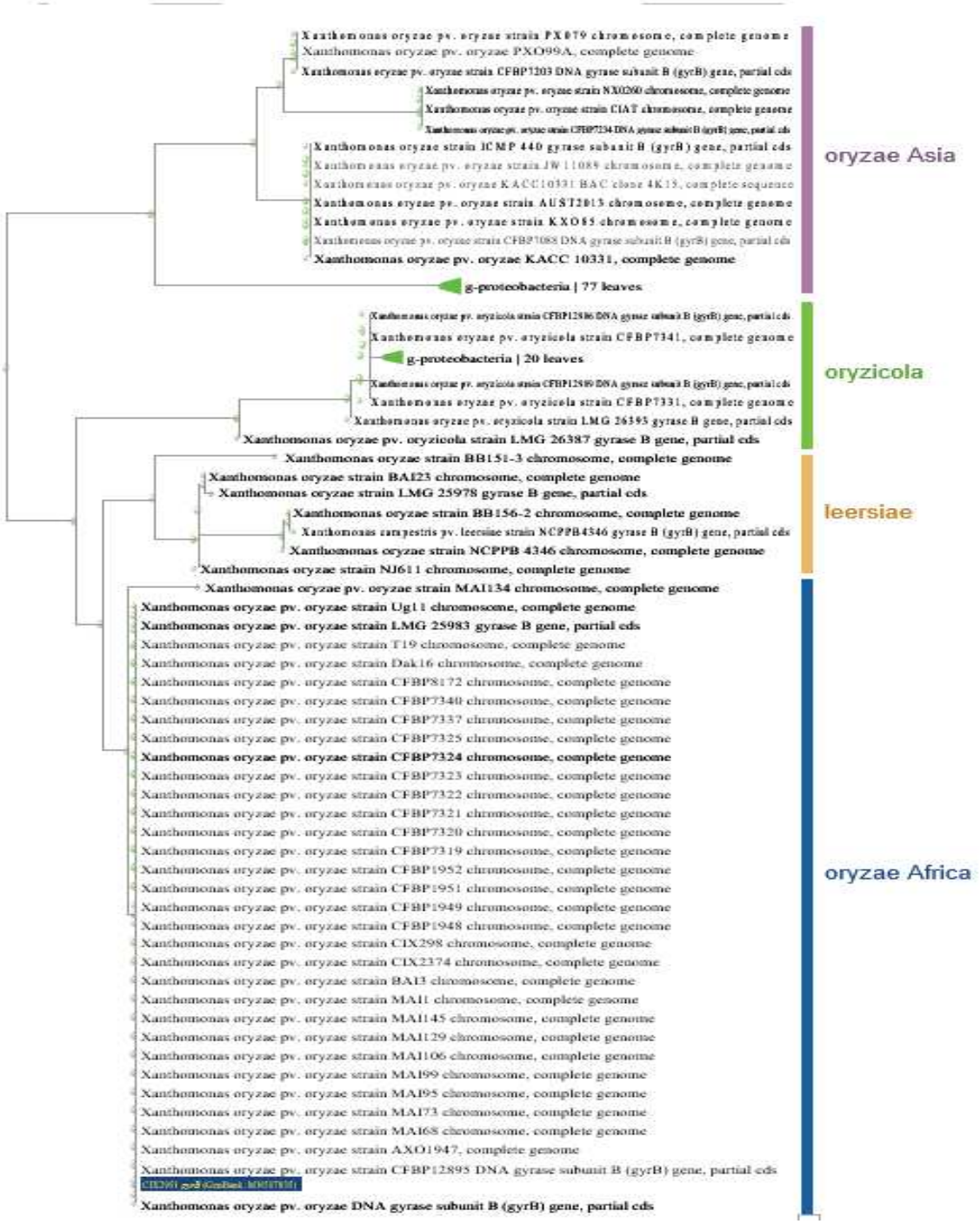



**Figure 19**: Phylogenetic tree of the best blastn hits of the CIX2951 *gyrB* PCR product sequence in the NCBI nucleotide collection (nr/nt**).** The tree was obtained with the Blast Tree View tool using the Fast Minimum Evolution (Desper R and Gascuel O, Mol Biol Evol 21:587-98, 2004. PMID: 14694080) algorithm. Hit sequences with a Max Seq Difference > 0.05 relative to the query were filtered out. The tree was displayed with NCBI Tree Viewer 1.17.5. Hits sequences rigorously cluster in clades corresponding to the major genetic groups within the *X. oryzae* species as illustrated with colored bars representing the various pathovars and continent of origin.

## 2.2 Article2: Characterization of Senegalese *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* races to inform resistance gene deployment

Tall H.[1, 2], Comte A.[2], Noba K.[3], Hutin M.[2], Szurek B.[2] Cunnac S.[2] and Verdier V.[2] Article en préparation à soumettre à la revue Phytopathology.

[1]Institut Sénégalais de Recherches Agricole (ISRA), Sénégal

[2]PHIM, IRD, Cirad, Univ. Montpellier, Montpellier, France

[3]Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD), Laboratoire de Botanique et Biodiversité, Sénégal

### 2.2.1 : Niveau d'implication personnelle

Mon implication personnelle dans ce travail se situe à tous les niveaux de réalisation, depuis la phase de conception jusqu'à la rédaction de l'article en passant par les différente phases d'expérimentation en serre et au champ (phénotypage) et en laboratoire (extraction d'ADN et PCR) ainsi que d'analyse des données. J'ai été soutenu par AC et SC pour les analyses statistiques des mesures de lésions et la génération des figures.

### 2.2.2 Contexte et justification

Bien que signalé au Sénégal depuis les années 1980 (T. T. Trinh 1980), et confirmé par des outils biomoléculaires (Hamidou Tall et al. 2019), la BB n'est pas considérée comme à risque, par conséquent aucun programme de sélection du riz pour la résistance au BB n'a été jusqu'à présent développé au Sénégal. Aucune évaluation du niveau de résistance au BB des variétés de riz cultivées au pays n'a été encore faite. Les premières souches du Sénégal de cette maladie n'ont été isolées qu'en 2015 d'où l'importance de les caractériser afin d'identifier les races en présence et les gènes de résistance capables de contrôler ces dernières. L'IRRI a développé des lignées de riz quasi-isogéniques différentielles, appelées NILs (Near-isogenic lines), ou encore IRBB (International Rice Bacterial Blight), à partir du parent récurrent IR24 pour suivre l'évolution de la structure des populations de *Xoo* dans les pays producteurs de riz. Ces IRRBs ont permis la caractérisation de plusieurs races de de *Xoo* en Asie. Une race est contituée de l'ensemble des isolats ayant le même profil de virulence sur une gamme de lignées IRBB et le parent IR24. Chaque lignée IRBB contient un gène de résistance (*Xa*) spécifique et la caractérisation permet non seulement d'identifier la race en présence, mais aussi les gènes de résistances susceptibles de contrôler ces races. Au Sénégal aucune race n'a été décrite avant ces travaux. La pertinence des gènes de résistance *Xa* pour le contrôle des *Xoo* du Sénégal n'étant pas connue, nous avons aussi criblé des variétés de riz cultivées au pays pour identifier leur niveau de

résistance contre la BB afin de faciliter l'identification de sources locales de résistance au flétrissement bactérien du riz.

### 2.2.3 Matériels et méthodes

Les isolats issus des prospections de 2015 à 2016 menées dans les zones rizicoles des régions de Saint Louis et de Kédougou pour évaluer la présence du flétrissement bactérien, ont permis de constituer une première collection de souches de *Xoo* du Sénégal. Le pouvoir pathogène de ces isolats a été testé sur la variété de riz sensible Azucena. Les races ont été évaluées sur une gamme de 12 lignées IRBBs portant chacune un gène de résistance (*Xa*) spécifique. Le criblage pour la résistance aux différentes races de *Xoo* a porté sur 23 variétés de riz cultivées au Sénégal. Les données ont été analysées en utilisant le logiciel R. Shiny de R a été utilisé pour des analyses de comparaison des moyennes.

### 2.2.4 Résultats et discussions

À l'issue des campagnes de prospection dans les zones Nord et Est du Sénégal, 44 isolats de *Xoo* ont été isolés. La présence de BB a été détectée dans trois sites (Ndiaye, Ndioum et Bandafassi). L'analyse de pouvoir pathogène de l'ensemble de la collection des isolats a montré que tous les isolats sont virulents sur la variété sensible Azucena. Les tests de race sur IRBB ont permis d'identifier la présence de 6 races (A1, A3, S2, S4, S5 et S6) de *Xoo* dont deux déjà décrite dans la sous-région Ouest-Africaine. La race A3 a été décrite au Mali par Gonzalez et al en 2007 puis par Tékété en 2019, et la race A1 a été décrite au Burkina Faso par Gonzalez puis par Wonni en 2014. Les races S2, S4 S5 et S6 n'ont jamais été décrites ailleurs en Afrique. La race A1 est la plus représentative car regroupant près de 40% des isolats, suivie respectivement des races A3, S2, S4, S5 et S6. Au plan géographique, les races ne se retrouvent pas toutes au sein d'un même site. Ainsi les races A1, S5, S2 et S6 ont été détectées au Nord du pays (Ndioum et Ndiaye) alors que les races A3 et S4 sont localisées à l'Est dans la région de Kédougou (Bandafassi) frontalière avec le Mali. Les gènes de résistance qui sont fonctionnels pour le contrôle du BB sont *Xa1* et *xa5* ; ces deux gènes sont capables de contrôler les cinq ou six races décrites au Sénégal et pourraient être utilisés dans le cadre de la lutte contre le flétrissement bactérien. Pour diversifier les sources de résistance et palier à une probable instabilité de la résistance des gènes *Xa1* et *xa5*, 23 variétés cultivées au Sénégal ont été phénotypées. Les résultats du criblage montrent que quatre variétés (Dansan2, Sahel202, Sahel305, Sahel328) sont hautement résistantes à toutes les souches des 6 races de *Xoo* tandis que les variétés NERICA S19 et Sahel210 sont les plus sensibles.

Le phénotypage des souches de *Xoo* sur les lignées IRBBs et sur les variétés de riz cultivées au Sénégal met à la disposition des sélectionneurs un paquet d'information permettant la mise en place de

programmes de sélection efficace pour lutter contre le flétrissement bactérien du riz par résistance génétique.

### 2.2.5 Perspectives

La caractérisation des *Xoo* a permis de mettre en place les premiers jalons de l'étude sur le flétrissement bactérien au Sénégal. Cette étude qui a abouti à l'identification de 6 races de *Xoo* et de 4 variétés hautement résistantes, va permettre d'avancer sur la caractérisation génétique des souches et une identification des gènes qui gouvernent la résistance chez ces 4 variétés. Il sera aussi possible grâce à un bon programme de sélection de transférer les gènes de résistance contre les *Xoo* du Sénégal au niveau des variétés déjà vulgarisées qui présentent un bon comportement agronomique mais sont sensibles au BB.

**Characterization of Senegalese races of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* to inform resistance gene deployment**

Tall H.[1,2], Comte A.[2], Noba K.[3], Hutin M.[2], Szurek B.[2] Cunnac S.[2] and Verdier V.[2]

[1]Institut Sénégalais de Recherches Agricole (ISRA), Sénégal

[2]PHIM, IRD, Cirad, Univ. Montpellier, Montpellier, France

[3]Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD), Laboratoire de Botanique et Biodiversité, Sénégal

**Abstract**

Bacterial blight (BB), a disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), was first reported in Senegal by Trinh in 1980. BB represents a severe threat to rice cultivation in West Africa. Characterizing the pathotypic diversity of bacterial populations is a key to the management of pathogen-resistant varieties. Pathogenicity tests show that all strains are virulent on the susceptible rice variety Azucena, and interact differentially with twelve near-isogenic rice lines, each carrying a single resistance gene. On this rice panel, six races were identified, two of which were previously reported in Mali (A3) and Burkina Faso (A1). Four races (S2, S4, S5 and S6) are described for the first time in Africa. Races A1, isolated in Ndiaye and Ndioum areas is the most prevalent in Senegal. The *Xa1* gene controls 100% of the isolates tested and *xa5* controls all isolates except S4 strains. The geographical distribution of *Xoo* races is contrasted. Four races are detected in the North and two in the South East of the country. The race S4 can be a major risk to rice cultivation, because strains from this race are the most virulent and can only be controlled by *Xa1*. To identify local sources of resistance, we screened *Xoo* strains representative of the various races on twenty-three rice varieties grown by farmers in Senegal. Four rice varieties namely Sahel210, Sangangbye, Dansna2 and Sahel305 effectively control all the isolates tested. Our characterization of a first collection of Senegalese *Xoo* strains provided insight on the races present in the country and identified sources of resistance in local rice varieties. This information will help design effective breeding programs for resistance to bacterial leaf blight in Senegal.

**Keywords**: *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, races, IRBB, rice, Senegal.

**Introduction**

Rice is the second largest contributor to global human calory intake (Chauhan, Jabran, et Mahajan 2017) and its production continues to increase with the world's population. Over the past 20 years, West Africa has experienced a large surge in rice consumption. Rice is a massively cultivated cereal and is the number one cereal plant of agronomic interest in Senegal in terms of production. Its production has more than quadrupled, from 231,805 tons in 2003 to 1,011,269 tons in 2018. But this production does not meet Senegal's rice needs, which are estimated at 1,600,000 tones (DAPSA , 2018). Although local production has progressed, through the expansion of planted areas and improvement of yields, Africa's rice production remains insufficient to cover the rising needs that are driven by demographic growth, the increase in per capita consumption and urbanization (Villar et Bauer 2013). Bacterial blight (BB), caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), is one of the most widely distributed and devastating bacterial diseases on rice (T. W. Mew 1987; Niño-Liu, Ronald, et Bogdanove 2006c). *Xoo* is a major constraint of rice production in almost all the paddy-growing regions (George et al. 1997). Yield losses due to this disease generally vary from 20% to 30%, but sometimes these may go up to 50% (Ou et Britain, 1985; Sukhwinder-Singh et al. 2003). The incidence of bacterial leaf blight was found to be aggravated by high dosages of nitrogen (Awoderv, Bangura, et John 1991). In addition to reducing yield, BB may also affect grain quality by interfering with maturation (Ou et Britain 1985). Although reported in Senegal as early as the 1980s (T. T. Trinh 1980), BB survey and sampling campaigns did not begin until 2014 and as a result, no rice breeding program for BB resistance has so far been developed in Senegal (Hamidou Tall et al. 2019).

*Xoo* is a vascular pathogen that causes golden brown lesions along the leaf veins. Wounds and hydathodes are the main entry sites for *Xoo*. It multiplies in the epitheme, and subsequently enters into the xylem vessels where it starts active multiplication, leading to leaf wilting (Köplin et al. 1992; Ray, Rajeshwari, et Sonti 2000). To colonize its host, *Xoo* has evolved a highly conserved type III secretion system (T3SS) that injects type III effectors in the plant cell. Type III effectors interfere with immune responses or facilitate nutritional or virulence processes to the benefit of the pathogen (Peter B. Lindgren 1997). The Transcription Activator-Like Effectors (TALEs) type III effector family is composed of DNA-binding virulence proteins that modulate the expression of target genes. Some TALEs act as major virulence factors that are essential for BB to occur and that target rice susceptibility genes (White et al. 2009). Type III secretion substrates also act as avirulence factors in incompatible interactions on resistant hosts and can trigger a defense reaction called the hypersensitive response (HR) (James R. Alfano et Collmer 2004, 1). The nine conserved groups of TALE identified in the genome of African *Xoo* (Tran et al. 2018; Doucouré et al. 2018) appear to be genetically distant from Asian ones (Gonzalez et al. 2007a).

BB control methods include agronomic practices, chemical and biological control, all of which have proven ineffective in the long term (Devadath et Padmanabhan 1970; Ganeshan et Kumar 2005; Ahmed et al. 1997). Breeding and deployment of resistant cultivars carrying major resistance genes has been the most effective approach for BB management (Ogawa et al. 1991; Huang et al. 1997; KINOSHITA 1990; Kameswara Rao, Lakshminarasu, et Jena 2002; Cheema et al. 2008), and several resistance genes have been incorporated into elite rice cultivars (Ogawa et al. 1991). However, the deployment of uniform, monogenic resistances over vast areas has decreased their effectiveness, because it provided a selection pressure for the emergence of virulent pathotypes (T. W. Mew 1987; T. W.International R. R. I. Mew, Vera Cruz, et Medalla 1992; Tika B. Adhikari, Mew, et Leach 1999a). It is therefore critical to monitor pathogen populations to detect new isolates that are able to overcome the resistance genes deployed in the field. A set of Near-Isogenic rice Lines(NILs), each carrying a single resistance gene and the recurrent parent IR24 are commonly used to characterize the race structure of the pathogen (L. Triplett et al. 2014). A *Xoo* race is a group of strains sharing the same virulence profile on a panel of these rice NILS. In West-Africa, three races have been identified with race A3 reported in Mali, race A1 and A2 in Burkina Faso, and A1 also reported in Niger (Gonzalez et al. 2007a). In Mali, using twelve NILs, Tekete *et al.* recently identified six new races (A4 to A9) in addition to race A3 (Tekete et al. 2019b).

Although BB was first reported in Senegal in the 1980s (Trinh 1980), and confirmed only recently (Hamidou Tall et al. 2019), there has been no rigorous assessment of the incidence of this disease and no pathogen strain has been isolated. So far, in the absence of information on the pathogen and its impact on rice, these bacteria have not been considered as threats to rice production. Thus no rice selection program for BB resistance has been developed in Senegal. The aim of this study was to update and expand our knowledge of *Xoo* in Senegal. To do this, surveys were conducted in the main rice growing regions of the country and the race structure of the isolated strains of *Xoo* was determined. Finally, we assessed the susceptibility to BB of a set of Senegalese rice varieties to identify local sources of resistance to this disease.

## Materials and methods

### Surveys and isolation of *X. oryzae* pv. *oryzae*

Surveys for rice BB disease were performed in 2015 and 2016 in major rice production areas in Senegal. Field visits were conducted in September to October of each year during the rainy season when symptoms were visible. Leaves with BB-like symptoms (translucent, yellow blight, sometimes with visible bacterial exudates on the leaf surface) were collected from *Oryza sativa* cultivars and wild rice species *(Oryza barthii)*. The isolation of the bacteria was carried out from a fragment of leaf showing

symptoms of BB. A 5 cm fragment of infected leaf including a seemingly healthy part was disinfected successively in 75% ethanol and 0.1% bleach, rinsed two times in sterilized distilled water and dried on blotting paper. The leaf fragment was then cut into small pieces in a 2ml Eppendorf tube containing 2 marbles. The tube was immersed in liquid nitrogen for 10 minutes and grinded by shaking vigorously and 1 ml of sterilized distilled water is added to the leaf powder. The resulting solution was left to rest for at least 30 minutes and stirred periodically. A 50µl aliquot of this solution is spread over the PSA culture medium (10 g Peptone, 10 g Sucrose, 16 g Agar and 1 g glutamic acid) supplemented with antibiotics (cephalexin 1ml (40mg/ml), Kasugamicin 1ml (20mg/ml) and Actidione 1ml (50mg/ml), for 1 l of culture medium). The petri dishes were incubated in an inverted position for 72 hours at 28°C. Colonies similar in appearance to that of *Xanthomonas oryzae* (light yellow, circular, mucous membrane, convex, bright, smooth) were purified on antibiotic-free PSA. The strains were stored at -80 °C in tubes containing liquid nutrient media (PSA 70% and glycerol 30%).

**Multiplex PCR**

All *X. oryzae* pv. *oryzae* strains were identified using a multiplex PCR specific for *X. oryzae* pathovars. Four primer pairs specific to *X. oryzae* (Xo3756F; CATCGTTAGGACTGCCAGAAG and Xo3756R: GTGAGAACCACCGCCATCT), *to X. oryzae* pv. *oryzae* (Xoo281-80F: GCCGCTAGGAATGAGCAAT and Xoo281-80R: GCGTCCTCGTCTAAGCGATA) to *X. oryzae* pv *oryzicola* (i.e. Xoc3866F: ATCTCCCAGCATGTTGATCG and Xoc3866R: GCGTTCAATCTCCTCCATGT) and to universal for bacteria (Univ-0008-a-S-19F: GAGTTTGATCCTGGCTCAG and Univ-1528-a-A-17r: AAGGAGGTGATCCAGCC), according to Lang *et al* (Lang et al. 2010b). For DNA extraction, bacteria were grown on PSA medium at 28°C. DNA extraction was carried out from a 48-hour bacterial culture in a solid PSA medium using the Gram-negative Bacteria-specific Promega Genomic DNA Purification Kit System (following the recommendations of the supplier). PCR with *X. oryzae*-specific multiplex primer was performed as previously described by Lang and al. (Lang et al. 2010b). All isolates were tested at least twice.

**Pathogenicity assays**

The evaluation of the pathogenicity of *Xoo* strains was carried out on the susceptible rice variety Azucena. The characterization of *Xoo* isolates in virulence groups (races) was carried out on a set of twelve Near Isogenic Lines (IRBB) each carrying a specific resistance gene (*Xa*) (Table3) and the recurrent parent IR24 using a simplified scale developed by IRRI (Quibod et al. 2016). The seeds of the IRBB varieties were obtained from IRRI as part of an application by the Senegalese Institute for Agricultural Research (ISRA) for the search for a source of resistance against *Xoo* isolates. The resistance of twenty-three varieties of rice grown in Senegal were also assessed. The seeds were obtained from the selection department of Saint Louis ISRA Center. Pathogenicity tests were conducted in a greenhouse at IRD, Montpellier, France (temperature and relative humidity: day 28°C

and 80%; at night 25°C and 60%) and on field plots (temperature and relative humidity: maximum 35°C and 90% minimum 22°C and 60%) at the ISRA/ Kolda experimentation station, City, Senegal.

Rice seeds were sown in terrines filled with a "Siffy" substrate. For experiments with plants growing in the field, a Split-plot experimental setup was adopted. It included 3 repetitions with as large plot the variety within which the strains will be arranged randomly. Two factors were studied, a 'variety' factor with 12 modalities in race test and 23 in screening, and a 'strain' factor with 46 modalities. In field assays, each plot consisted of a line of 4 meters long and 2 meters wide with a 20 centimeter gap between the lines and between the poquets. A total of 200 plants per plot fertilized with NPK 15-15-15 due to 200kg per hectare, and nitrogen fertilizer with 46% nitrogen due to 150 kg per hectare (in two fractions; half at tillering stage and another half at the mounting stage). Inoculum was prepared with sterilized distilled water and bacterial colonies from a culture on solid PSA medium incubated at 28°C during 24h. Bacterial suspensions were adjusted to an optical density at 600nm of 0.2 (~$10^8$ bacteria/mL) using a spectrophotometer. Forty five days-old plants were inoculated by leaf-clipping using the Kauffman method (KAUFFMAN 1973). A total of 9 plants and 3 leaves per plant were inoculated for each treatment.

**Disease assessment**

Lesion lengths from the cut leaf tip was measured in centimeters 15 days after inoculation (Tika B. Adhikari, Basnyat, et Mew 1999). Disease reactions were categorized according to lesion lengths, where plants with an average values of less than 5 cm were designated as resistant, and sensitive (S) otherwise (Quibod et al. 2016; Tika B. Adhikari, Mew, et Leach 1999a; D. Nayak et al., s. d.)

**Statistical analyses**

Lesion length (LL) data for each rice line - *Xoo* isolate combination were used to evaluate the responses of rice lines to BB. A two-factor variance analysis (ANOVA) was performed following Fisher's Least Significant Difference (LSD). The means were separated by Fisher's least important tests ($P<0.05$). Isolates were grouped into races or into pathotypes when presenting the same virulence profile on NILs or on Senegalese varieties respectively. This data was analyzed with the R statistical software to perform Hierarchical Clustering (HC). Races are described according to their virulence profiles R (resistance) and/or S (sensitive) on IRBB varieties. The Complex Heatmap package was used to build and visualize the various heatmaps generated in this study (Wilkinson et Friendly 2009).

## Results

### A survey of *Xoo* isolates in the main regions of rice production in Senegal

Field surveys were conducted during the rainy season in the main areas of rice production corresponding to the southern and northern regions of Senegal and part of Tambacounda and

Kedougou regions (**Figure 20**). The distance between 2 consecutive sampling points (10 to 20 km) depended on both rice fields size and the diversity of the cultivated varieties. Samples were taken from infected rice leaves displaying symptoms of BB in the fields. For each sample, passport data was recorded (date and place of collection, code number, GPS coordinates, name of the site, the name of variety on which the sample was taken...). From September to October of year 2015 and 2016, a total of 53 sites were visited, and 103 samples were randomly collected from rice plants showing symptoms of BB. One leaf per sample was processed for bacterial isolation. In total, forty-four *Xoo* isolates forming pale yellow colonies on PSA medium, were isolated and confirmed by multiplex PCR. Overall, *Xoo* strains were isolated from three sites (Ndiaye, Ndioum and Bandafassi), corresponding to ten leaf samples that were collected on the most cultivated varieties in Senegal or on the wild species *Oryza barthii* (**Table 3**). To confirm their pathogenicity, all isolates were tested on the susceptible rice variety Azucena using a leaf-clipping assay. Typical symptoms of BB were visible for all isolates 14 days after inoculation. Lesion lengths caused by the isolates varied from 6 to 37 cm (**Figure 21**). This indicates that all the isolates tested are virulent on Azucena, some of them being able to kill the plants after two months. One-way analysis of variance on lesion length revealed that, there is a significant difference among isolates ($p<0.001$). Compared to *Xoo* BAI3, the symptoms caused by strains from Senegal vary. Because some are comparable to BAI3 while others have caused shorter but significant lesions on Azucena. Altogether, our data (PCR and pathogenicity test) confirmed that the 44 isolates are indeed virulent *Xoo* bacteria (**Table 3**).

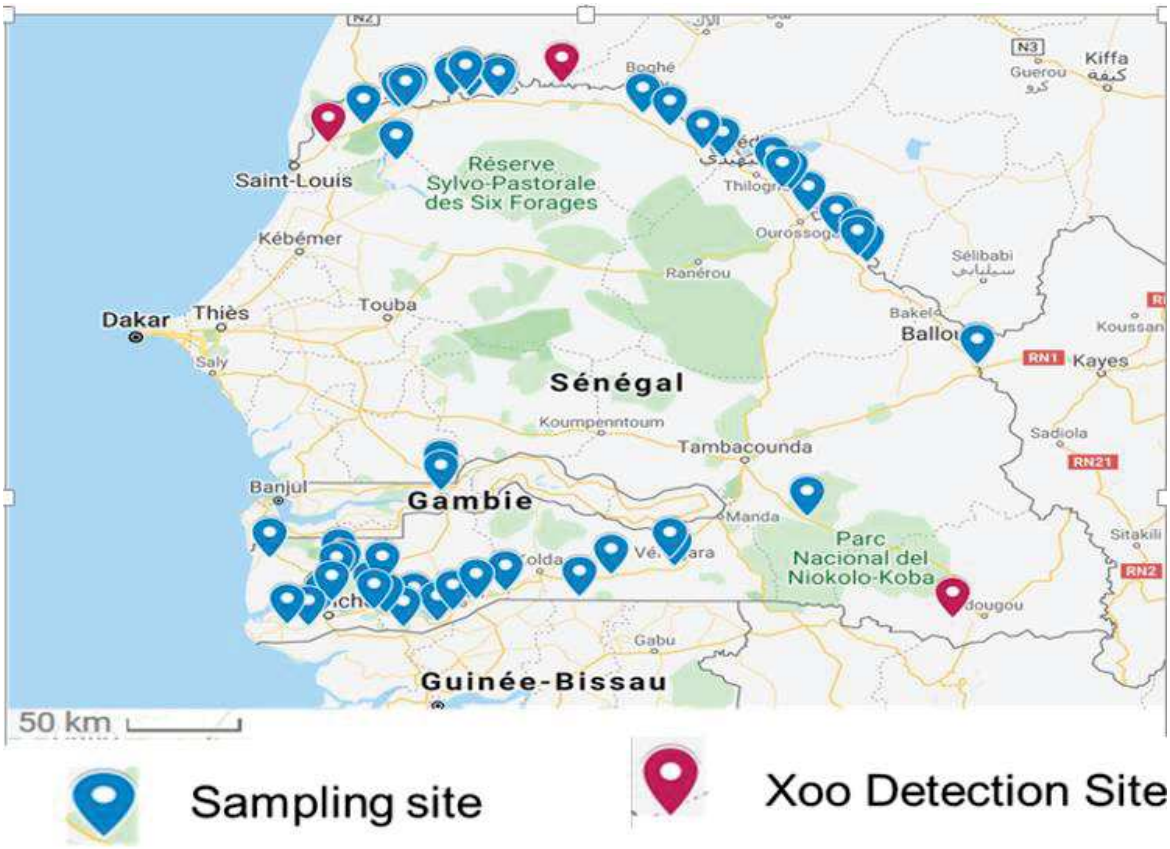



**Figure 20:** Sampling map and sites were *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains were isolated. Diseased leaf samples were collected in the rice-growing fields of Senegal river valley at the North, Tambacounda and Kedougou regions at the East and South East, and the Casamance region. Location of the surveyed sites is represented as blue pins on the map. Sites were *Xoo* was isolated are indicated on the map with red pins.

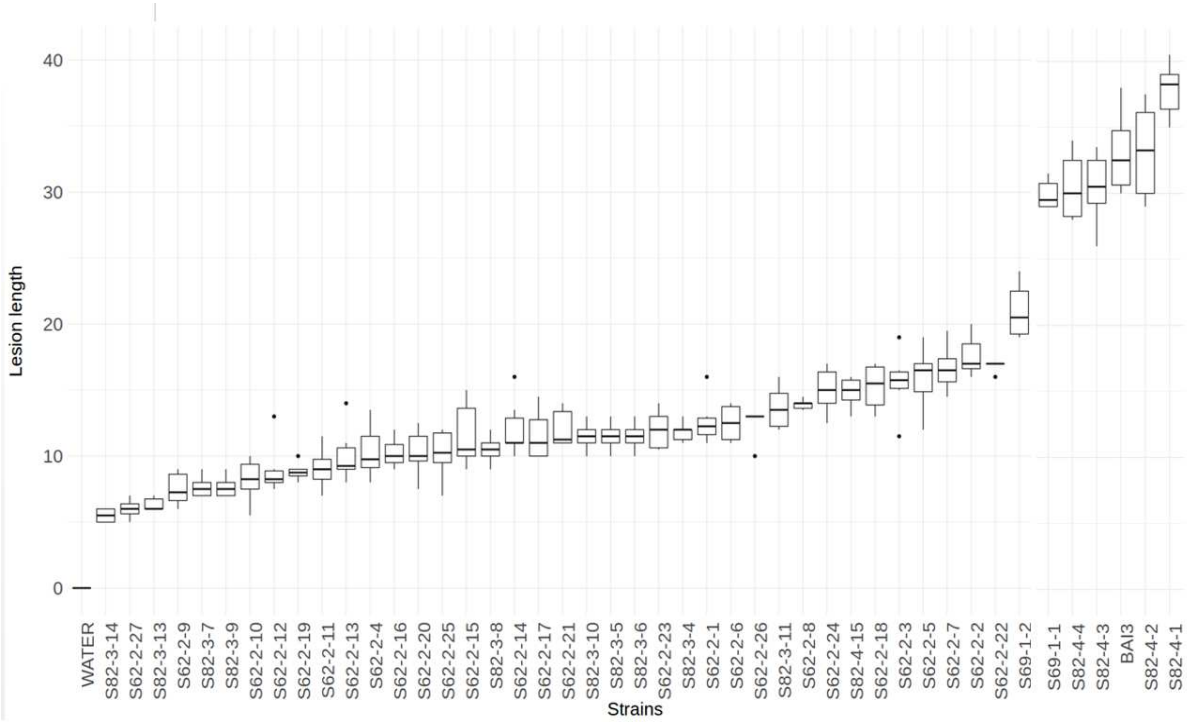



**Figure 21:** *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pathogenicity assay on the rice variety Azucena

Box plots of the lesion length data by *Xoo* isolate. X-axis indicates the *Xoo* isolates tested. Y-axis indicates the lesion length in cm measured 15 days after inoculation using the leaf-clipping method. The boxes represente the quartiles while inside bars correspond to the median. Data from at least three independent replicates of the experiment with each 9 replicate lesion length values per treatment. The dots represent values that are out of the 5% and 95% quartiles delineated by the whiskers. *Xoo* BAI3 was used as a control.

**Tableau 3:** List of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains characterized in this study

| Strain | Other names | Origin | Region | Site | Year | Host | MLSA | Virulence [e] | Race | Reference |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| S62-2-1 | CIX2353 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-2 | CIX2354 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-3 | CIX2355 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-4 | CIX2356 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | S2 | This study |
| S62-2-5 | CIX2357 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | S2 | This study |
| S62-2-6 | CIX2358 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-7 | CIX2359 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-8 | CIX2360 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-9 | CIX2361 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-10 | CIX2362 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-11 | CIX2363 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-12 | CIX2364 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-13 | CIX2365 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-14 | CIX2366 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-15 | CIX2367 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-16 | CIX2368 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-17 | CIX2369 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-18 | CIX2370 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-19 | CIX2371 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-20 | CIX2372 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | S5 | This study |
| S62-2-21 | CIX2373 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-22 | CIX2374 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | S5 | This study |
| S62-2-23 | CIX2375 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-24 | CIX2376 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | S5 | This study |
| S62-2-25 | CIX2377 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S62-2-26 | CIX2378 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | S6 | This study |
| S62-2-27 | CIX2379 | Senegal | Saint Louis | Ndiaye | 2016 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S69-1-1 | CIX2951 | Senegal | Saint Louis | Ndioum | 2017 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S69-1-2 | CIX2952 | Senegal | Saint Louis | Ndioum | 2017 | *Oryza sativa* | Xoo Africa | 5 | A1 | This study |
| S82-3-4 | CIX2964 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | A3 | This study |
| S82-3-5 | CIX2965 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | A3 | This study |
| S82-3-6 | CIX2966 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | A3 | This study |
| S82-3-7 | CIX2967 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | A3 | This study |
| S82-3-8 | CIX2968 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | A3 | This study |
| S82-3-9 | CIX2969 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | A3 | This study |
| S82-3-10 | CIX2970 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | A3 | This study |
| S82-3-11 | CIX2971 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | A3 | This study |
| S82-3-13 | CIX2972 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | A3 | This study |
| S82-3-14 | CIX2973 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | A3 | This study |
| S82-4-1 | CIX2974 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | S4 | This study |
| S82-4-2 | CIX2975 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | S4 | This study |
| S82-4-3 | CIX2976 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | S4 | This study |
| S82-4-4 | CIX2977 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | S4 | This study |
| S82-4-15 | CIX2978 | Senegal | Kédougou | Bandafassi | 2017 | *Oryza bartei* | Xoo Africa | 5 | S4 | This study |
| | | *Xanthomonas oryzae pv. Oryzae (used as controls)* | | | | | | | | |
| MAI1 | CFBP7325, LMG25985 | Mali | O.Niger | Niono | 2003 | *O.sativa* | Xoo Africa | na | A3 | Gonzalez et al, 2007 |
| BAI3 | CFBP7321, LMG25983 | Burkina | East Center | Bagre | 2003 | *O.sativa* | Xoo Africa | na | A1 | Gonzalez et al, 2007 |

**Identification of Senegalese *Xoo* races from 2015 to 2016 surveys**

The efficacy of *Xa* resistance genes was evaluated based on leaf clipping assays data of the 44 *Xoo* strains inoculated on 12 IRBB lines each containing a single *R* gene. IRBB lines exhibited different reaction profiles upon challenge with the 44 *Xoo* isolates (**Figure 22)**. All IRBB lines were susceptible to one or more of our Senegalese *Xoo* strains except IRBB1 which was scored as resistant to all strains. Lesion length varied from 1 to 38 cm (**Figure 22B**). IRBB lines have different levels of resistance (**Figure 22C**). Similarly, variance analysis (ANOVA) shows that there is a significant difference between the IRBBs and the isolates tested $p<0.001$). IR24, the recurrent parent, is sensitive to 34 of the 46 isolates tested. Most IRBBs were sensitive to the majority of isolates (**Figure 22A**). Hierarchical clustering of lesion length data for this experiment shows that IRBB1 is resistant to all *Xoo* strains and that IRBB5 is sensitive to only one group of isolates (**Figure 22C, Table 4**). Thus, *Xa1* and *xa5* provide broad resistance.

The same dataset was analyzed for the definition of *Xoo* races based on interactions between isolates and IRBB lines. The forty-four *Xoo* strain tested were classified into six races (named A1, S2, A3, S4, S5 and S6) following a categorical analysis of lesion length associated with each combination of IRBB line and *Xoo* isolate (**Figure 22 A, Table 4**). The A1 race is the most represented with almost 53.5% of the isolates tested and S6 race, the least represented with only 2.3% of the isolates (**Table 5, Figure 23**). The A3 race is avirulent on all IRBB lines and the recurrent parent IR24, while the S4 race is virulent on all IRBB lines except IRBB1 (**Table 4, Figure 22C**). Of the list of assayed resistance genes, *Xa1* is the only one that can control all the identified *Xoo* races (**Table 4**). The recessive gene *xa5* also controls all races except the S4 race **(Table 4**).

The geographical distribution of the different races of *Xoo* in Senegal is shown in **Table 5**. Isolates from Ndiaye (**Figure 20**) cover 4 out of 6 races and are the most diverse with regard to their virulence profile on the IRBB lines (**Table 5,** F**igure 23**). It should also be noted that no single region houses all described races. The A3 and S4 races are specifically present in the East of the country while the A1, S2, S5 and S6 races are confined to the Senegal River Valley in the North (**Table 5**, **Figure 23)**. The A1 race is the most predominant with 23 out of 43 strains of *Xoo* and present on two localities in the North while in the South East it is A3 race (**Table 5, Figure 23**).

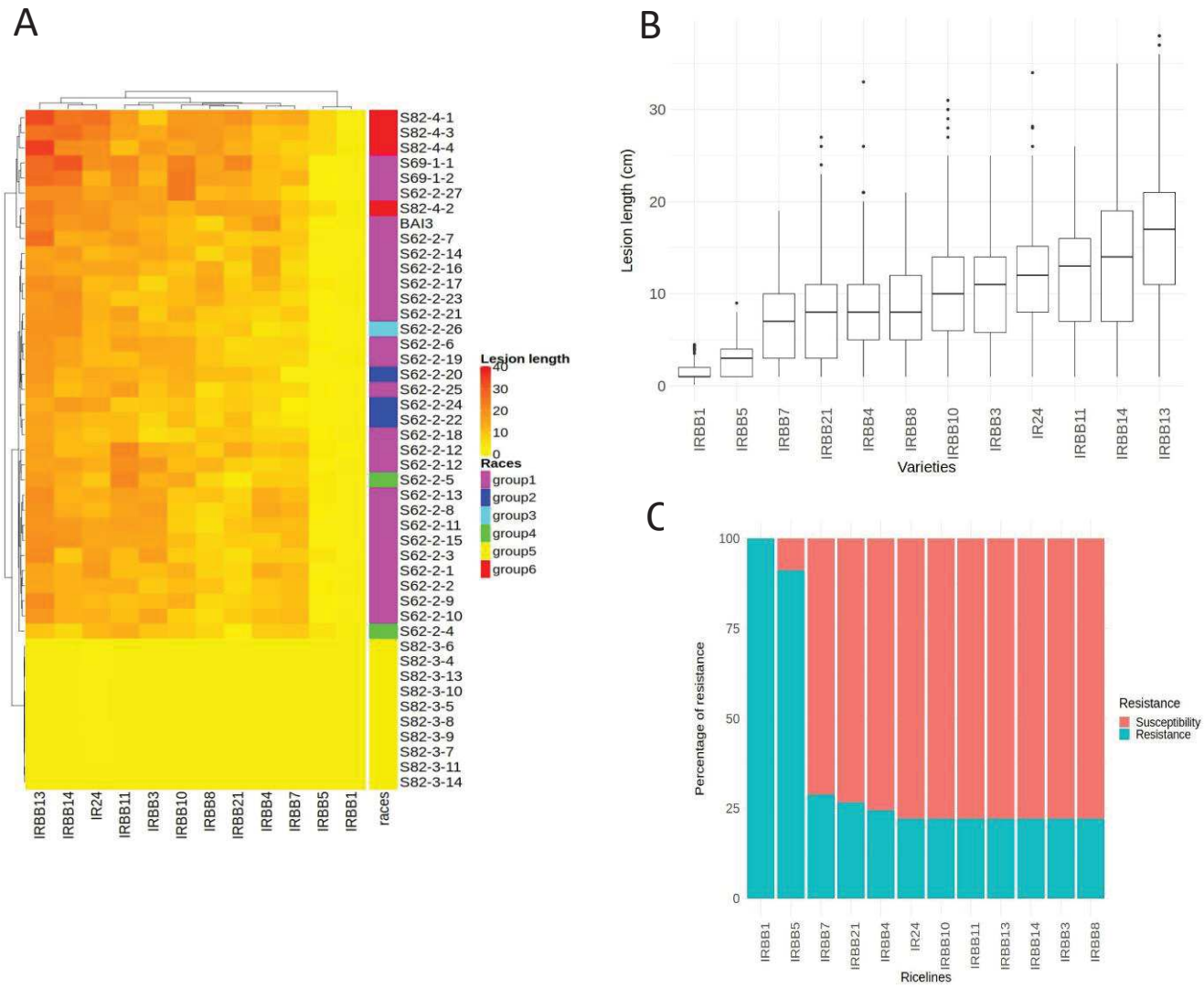



**Figure 22:** IRBB *Xa* resistance efficacity again forty four *Xoo* strains.

Virulence profile clustering of *Xoo* isolates on a set of twelve IRBB lines. On the heatmap, each interaction (IRBB lines x *Xoo*), (i.e individual cell colors) code for the corresponding mean lesion length across three independent replicates experiment with each 9 values. Races are color-coded in the colored bar on the right. Isolates were also clustered according to their quantitative virulence profiles using a hierarchical clustering approach based on pairwise Euclidian distances as displayed in the tree on the left. The susceptibility profiles of the NILs were also clustered using the same method as displayed on the hierarchical tree above the heatmap. (B) X-axis indicates the IRBB lines. Y-axis indicates the lesions lengths in cm observed 15 days after inoculation by leaf clipping. The displayed data (box plots) corresponds to lesion lengths of three repetitions per treatment (combination IRBBs x isolates). (C) Relative frequency of resistance (R in blue) or susceptibility (S in red) reactions against Senegalese isolates for individual IRBB lines. Reactions with average lesion length < 5 cm were considered resistant, and ≥ 5 cm were considered susceptible.

**Tableau 4:** Virulence of Senegalese *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strain against NILs varieties containing a single *Xa* gene in IR24 genetic background: 44 *Xoo* strains (41 strains from this study and 4 reference strains) cluster into six races. Each race is characterized by its virulence profile on NILs. The ability of *Xa* genes to control different races is displayed. R = resistant (Lesion Length ≤ 5cm) and S = susceptible (Lesions length > 5cm).

| NILs | R gene | *Xoo* Races | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | A1 | S5 | S2 | S4 | S6 | A3 |
| IR24 | *Xa18* | S | S | S | S | S | R |
| IRBB1 | *Xa1* | R | R | R | R | R | R |
| IRBB3 | *Xa3* | S | S | S | S | S | R |
| IRBB4 | *Xa4* | S | S | S | S | R | R |
| IRBB5 | *xa5* | R | R | R | S | R | R |
| IRBB7 | *Xa7* | S | R | S | S | S | R |
| IRBB8 | *Xa8* | S | S | S | S | S | R |
| IRBB10 | *Xa10* | S | S | S | S | S | R |
| IRBB11 | *Xa11* | S | S | S | S | S | R |
| IRBB13 | *Xa13* | S | S | S | S | S | R |
| IRBB14 | *Xa14* | S | S | S | S | S | R |
| IRBB21 | *Xa21* | S | S | R | S | S | R |

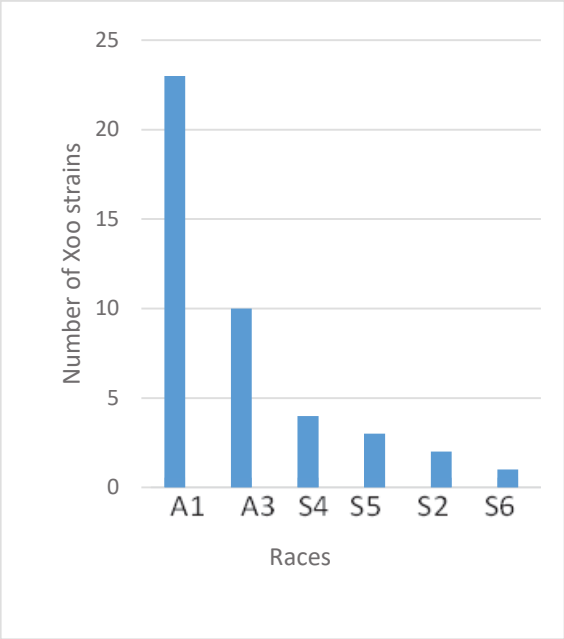



**Figure 23:** Number of strains collected in Senegal within the different races identified.

**Tableau 5:** Geographical distribution and race classification of *Xoo* isolated in 2015 to 2016 in Senegal. The number of strains belonging to each race is indicated.

| Locality | *Xoo* Races | | | | | | Total strains |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **A1** | **S5** | **S2** | **S4** | **S6** | **A3** | |
| **Ndiaye** | 21 | 3 | 2 | 0 | 1 | 0 | 27 |
| **Ndioum** | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| **Bandafassi** | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 10 | 14 |
| **Total strain** | 23 | 3 | 2 | 4 | 1 | 10 | **43** |

**Screening 23 rice varieties for resistance to BB**

Given the limited number of *R* genes in the tested IRBB panel capable of controlling the different *Xoo* races encountered in Senegal (**Table 4**), we felt it necessary to identify additional resistance sources from 23 domestically grown varieties (**Table 6**) in order to diversify and adapt sources of resistance to BB. These varieties were released relatively recently compared to older varieties (such as DJ and ITA) and are most often cultivated in irrigated and low land systems by farmers. Our Senegalese variety panel was challenged as before with 35 *Xoo* strains representing all previously identified races except race A3 strains because it is not virulent on any of the varieties except the Azucena variety. ANOVA indicates that, there is a significant difference in virulence between the isolates ($p<0,001$). Different responses were also noted among the varieties (**Figure 24**). There is a large variation in the value of the median length of lesions per variety and these values range between 0 cm and 46.1 cm (**Figure 24B**). Average lesion length values per treatment were converted to a categorical scale and classified as 'susceptible' if the average length was equal or superior to 5cm or 'resistant' otherwise. Similar to what is generally done for the classification of strains into races, we classified strain in the same pathotype if their quategorical interaction profile on the Senegalese varieties were identical (**Figure 24 A**). The hierarchical dendrogram of the average lesion length data induced by 35 strains on the 23 varieties was cut into 32 Clusters which correspond to different resistance profiles (**Figure 24 A**). Nineteen varieties are found to be susceptible to at least one race of identified *Xoo* strain and four varieties (Dansan2; Sahel 202, Sahel305 and Sahel 328) are resistant to all strains tested (**Figure 24 C**). Based on the percentage of strains these varieties are resistant to, they can be subdivided into five different groups (**Figure 24C**). The first group includes varieties resistant to 100% of the strains (4 varieties); the second is composed of varieties resistant to more than 75% of the strains (2 varieties); the third group corresponds to those varieties that are resistant to between 75% and 50% of strains (4 varieties); the fourth group includes those varieties that are resistant to between 50% and 25% of the strains (5 varieties). Finally, varieties classified in the fifth group are resistant to less than 25% of the strains (**figure 24 C**).

**Tableau 6:** List of Senegalese varieties used in the resistance screen. Each variety is listed by pedigree, species and subspecies, origin (country or institution), cycle, year of diffusion and potential yield. IRRI: International Rice Research Institute, Philippines, AfricaRice: Africa Rice Center, Senegal, IITA: International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Niger, na: data not available

| Ecology | Variety name | Parents | species | origin | Cycle (days) | BB resistance | Creation year | Diffusion Year | Potential (T/H) | Yield |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Irrigated | Sahel 210 | na | *O. sativa (Indica)* | Latin America | | sensitive | na | 2007 | 12 | |
| Irrigated | Sahel 217 | Sahel 201/4456 | *O. sativa (Indica)* | AfricaRice | 109-129 | Tolerant | 1997 | 2009 | 13 | |
| Irrigated | Sahel 209 | TSY/MOROBERKAN//ITA306 | *O. sativa (Indica)* | IITA/Nigeria | 126-140 | Tolerant | na | 2007 | 12 | |
| Irrigated | Sahel 208 | ITA 212/UPL RI 7 | *O. sativa (Indica)* | IITA/Nigeria | 125-145 | Tolerant | na | 2007 | 12 | |
| Irrigated | Sahel 201 | IR 2071-586/BG 400-1 | *O. sativa (Indica)* | Sri Lanka | 121-142 | Tolerant | na | 1994 | 10 | |
| Irrigated | Sahel 222 | Sahel 201/4456 | *O. sativa (Indica)* | AfricaRice | 103-129 | Tolerant | 1997 | 2009 | 13 | |
| Irrigated | Sahel 305 | IR 64/4456 | *O. sativa (Indica)* | AfricaRice | 101-124 | Tolerant | 1995 | 2009 | 10 | |
| Irrigated | Sahel 317 | 4456/32 Xuan 5C | *O. sativa (Indica)* | AfricaRice | 97-122 | Tolerant | 1995 | 2009 | 12 | |
| Irrigated | Sahel 328 | IR 31851-96-2-3-2-1(Sahel 134)/IR 66231-37-1-2 | *O. sativa (Indica)* | AfricaRice | 87-116 | Tolerant | 1997 | 2009 | 10 | |
| Irrigated | Sahel 329 | Jaya / Basmati 370 | *O. sativa (Indica)* | AfricaRice | 87-116 | Tolerant | 1997 | 2009 | 10 | |
| Irrigated | Sahel 108 | IR 30 (BHP)/BABAWE//IR 36 | *O. sativa (Indica)* | IRRI Philippines | 110-117 | Tolerant | na | 1994 | 7,5 | |
| Irrigated | Sahel 134 | IR 1791-5-4-3-3/IR 9129-209-2-2-2-1 | *O. sativa (Indica)* | IRRI Philippines | 110-131 | Tolerant | na | 2007 | 10 | |
| Irrigated | Sahel 159 | IR 13240-108-2-2-3/IR 9129-209-2-2-2-1 | *O. sativa (Indica)* | IRRI Philippines | 110-130 | Tolerant | na | 2007 | 10 | |
| Irrigated | Sahel 177 | IR 31851-96-2-3-2-1(Sahel 134)/IR 66231-37-1-2 | *O. sativa (Indica)* | AfricaRice | 110-122 | Tolerant | 1998 | 2009 | 10 | |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Irrigated | NERICA S 19 | Tog 5681/2*IR 64//IR 31785 | *Oryza sativa x Oryza glaberrima* | AfricaRice | 105-131 | na | 1997 | 2009 | 11 |
| 16 | NERICA S 44 | IR 64//Tog 5681/4*IR 64 | *Oryza sativa x Oryza glaberrima* | AfricaRice | 100-122 | na | 1998 | 2009 | 12 |
| 17 | NERICA S 36 | Tog 5681/2*IR 1529//IR 1529 | *Oryza sativa x Oryza glaberrima* | AfricaRice | 101-120 | na | 1998 | 2009 | 11 |
| 18 | Dansan 2 | na | *O. sativa (Indica)* | na | na | Tolerant | na | na | na |
| 19 | MYRLANG 23 | IR 1317-316-5-1/IR 24 | *Tongil (japonica/indica)* | South Korea | na | na | na | 2017 | 13,5 |
| 20 | TAEBAEGRYEO | IR 24*2/IR 747-B2-6-3 | *Tongil (japonica/indica)* | South Korea | na | na | na | 2017 | 12,5 |
| 21 | SAMGAMBYEO | na | *Tongil (japonica/indica)* | South Korea | na | Tolerant | na | na | 12,5 |
| 22 | JINMIBYEO K9) | na | *Tongil (japonica/indica)* | South Korea | na | na | na | na | - |
| Irrigated | Sahel 202 | TOX 494-3696/TOX 711/BG 6812 | *O. sativa (Indica)* | Nigeria | 117-139 | na | | 1994 | 11 |

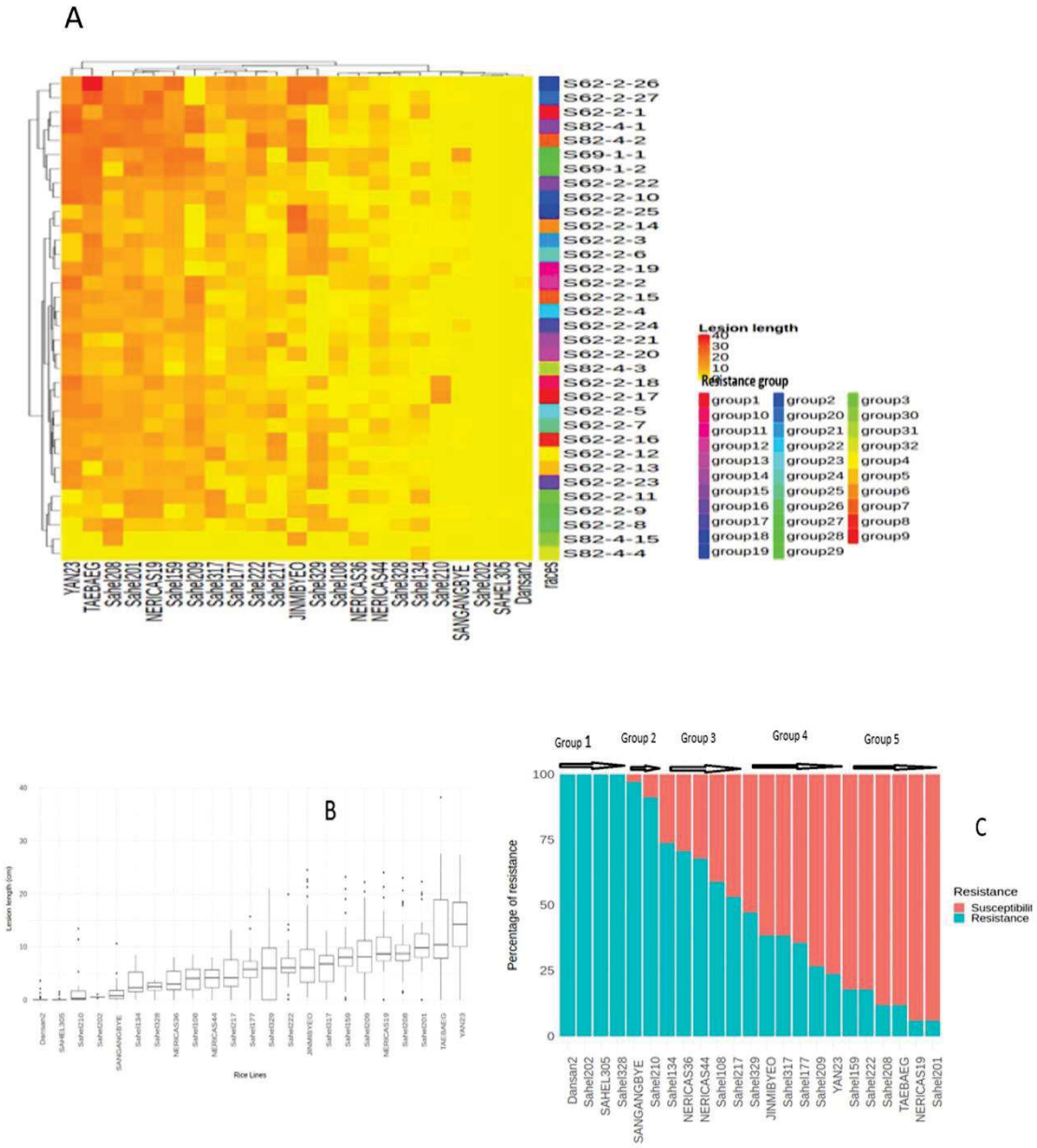



**Figure 24:** Senegalese rice varieties level resistance to 35 *Xoo* strains

(A) Aggressiveness profile of isolates on the rice varieties tested. Heatmap display of the aggregated lesion length data by isolate and by variety. For each interaction (rice varieties *Xoo* isolates), individual cell colors code for the corresponding mean lesion length across three independent replicates of the experiment with each six replicates. Strains are color-coded colored bar on the right. (B) Efficiency of rice varieties against the 35 isolates tested. X-axis indicates the rice varieties tested; Y-axis indicates the lesions lengths in cm observed 15 days after inoculation by leaf clipping. Overall lesion length data per rice varieties. The displayed data (box plots) corresponds to lesion lengths of three repetitions per treatment (rice varieties 35 isolates). (C) Frequency of resistance phenotypes among the rice varieties. Lesion lengths < 5 cm are considered as resistant (R in blue), and ≥ 5 cm susceptible (S in pink).

**Discussion**

Sampling for plant leaves with BB symptoms has been conducted at several sites but the isolation of bacteria was only successful in three sites despite the high number of sites surveyed. This may be due to the isolation protocol which has some limitations in extracting bacteria from the diseased tissues. For this reason it would be interesting to perform the multiplex PCR test directly on the leaf lysates since we cannot exclude that the selected portion no longer contains living *Xoo*. *Xoo* isolates from a collection of rice leaf samples from different regions of Senegal were characterized, revealing the presence of six races in the set of 44 identified *Xoo* strains. These 6 races are the first *Xoo* characterized in Senegal following the confirmation of the presence of the pathogen by Tall *et al.* (Hamidou Tall et al. 2019). *Xa1* stands out as the most effective *R*-gene capable of controlling all six Senegalese races. Furthermore, *xa5* also shows broad efficiency but remains ineffective against strains of the S4 race. Importantly, four rice varieties grown in Senegal, namely Dansan2, Sahel202, Sahel305 and Sahel328, were found to be resistant to all Senegalese *Xoo* strains tested

**The first characterization of *Xoo* races from Senegal points to *Xa1* and *xa5* as efficient *R* genes against this pathogen population**

One of the major objectives of this work was to study the pathotypic diversity of *Xoo* strains isolated from different geographic areas in Senegal. In this study, all 12 IRBB nearly-isogenic lines showed different levels of resistance. Phenotypical diversity of *Xoo* exists throughout Senegal. The virulence profiles of *Xoo* collected on improved and wild rice were similar, suggesting that host diversity does not affect pathogenicity on the set of rice genotypes tested here (**Table 3, Figure 21**). Several authors have reported that the diversity of hosts does not affect the pathogenicity of *Xoo* populations (T. B. Adhikari, Mew, et Teng 1994). However, other authors argue that host diversity has an effect on the pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Noda et al. 2001). Our virulence analysis of 44 strains collected in 3 Senegalese rice-producing areas indicates that *Xoo* strains can be classified into 4 Senegalese-specific races (S2, S4, S5 and S6) that are different from those previously reported in West Africa (Gonzalez et al. 2007a; Issa Wonni et al. 2014; Doucoure 2017; Tekete et al. 2019b). However, our results confirmed the presence of race A3 that has been described in Mali and race A1 described in Burkina Faso (Gonzalez et al. 2007a; Issa Wonni et al. 2014; Tekete et al. 2019b; Issa Wonni 2013a). None of the isolated *Xoo* strains from Senegal were able to overcome the *Xa1* resistance gene. Similarly, the *xa5* gene controls all *Xoo* races except S4 (**Figure 3A and 3C**). Thus, the *xa5* and *Xa1* genes have good potential for breeding BB resistant rice varieties in Senegal. Two *Xoo* races (A1 and S4) showed similar reactions on the 12 NILs, except on IRBB5, harboring the R *xa5* gene. The S4 race was the only one virulent on IRBB5. Several studies have shown that the degree of resistance conferred by *xa5* varies for *Xoo* strains from different regions of West Africa (Yu et al. 2011; Djedatin et al. 2011;

Issa Wonni 2013c; Tekete et al. 2019b). A majority of *Xoo* races (83%) was virulent on IRBB3, IRBB8, IRBB10, IRBB11, IRBB13 and IRBB14 suggesting that the genes *Xa3*, *xa8*, *Xa10*, *Xa11*, *xa13* and *Xa14* cannot provide rice resistance against most *Xoo* strains in Senegal. The *Xa21* gene controls only 2 races out of the 6 identified races. This indicates that *Xa21* action spectrum is limited against Senegalese *Xoo* races. This results is in line with previous reports (Issa Wonni 2013a; Tekete et al. 2019b). Altogether, these studies conclude on a limited practical value of *Xa21* to globally control African *Xoo* races. This contrasts with other studies that have reported the broad efficiency of the *Xa21* gene against Asian races of *Xoo* (W.-L. Deng et al. 2016; G.-L. Wang et al. 1996). In conclusion, we believe that pyramiding *Xa1* and *xa5 R* genes would be most effective in providing broad and potentially durable BB resistance to Senegalese rice varieties. These two *R* genes could be transferred to susceptible elite cultivars via marker-assisted selection. On the other hand, it will be difficult to understand the evolutionary trajectories of Senegalese *Xoo* because there are no isolates prior to H. Tall sampling in 2019 (Hamidou Tall et al. 2019).

We also examined if the geographical distribution of Senegalese *Xoo* races displayed any detectable pattern. When cross-referencing race test results with geographic sampling data (**Table 3**), we observed that races A1, S2, S5 and S6 are exclusively detected in the Senegal River Valley in the North of the country, while the A3 and S4 races were only found in the South-East. We therefore conclude that Senegalese races segregate along a North/South pattern. The probable hypothesis at this origin of differentiation may be due to the fact that two different agro-ecologies can be distinguished with intensive irrigated system in the North and low-land rainfed system in the South-East with specific rice varieties adapted to each ecology. Our results highlight the importance of continuously monitoring Senegalese *Xoo* population using IRBB lines as a discrimination tool.

**Varieties Sahel202, Sahel305, Sahel328 and Dansan2 possess broad resistance against Senegalese *Xoo***

The rice varieties used in this screening study are listed in **Table 4**. A total of 46 strains were tested, including the BAI3 strain (Gonzalez et al. 2007a) as a positive control and distilled sterilize water as a negative control for leaf inoculations in all trials. In the set of 23 rice varieties widely cultivated in Senegal and screened for bacterial blight (BB) resistance, accessions have various levels of resistance to BB (**Figure 5C**). Six of them are highly and broadly resistant to all tested strains, with Sahel202, Sahel305, Sahel328 and Dansan2 being the most promising. These 4 varieties may carry new genes for BB resistance with broad resistance spectrum against *Xoo* populations in Senegal. Similar approaches have been carried out in West Africa, notably in Mali and Burkina Faso (Tekete et al. 2019b; Issa Wonni

2016) which also identified domestic varieties with good potential as BB resistance donors in breeding programs. In this respect, the characterization of the genetic determinants of the resistance of Sahel202, Sahel305, Sahel328 and Dansan2 needs further investigation.

In conclusion, this study on Senegalese *Xoo* virulence diversity and host resistance profiles is a pioneering work in the country and parallels recent progresses on BB pathology in the sub-region of West Africa. We studied isolates collected over two years to investigate the nature and diversity of pathogenic races, their geographic distribution and the *R* genes resistance needed to control BB. The collected *Xoo* strains were subdivided into 6 races displaying a geographic distribution pattern with 4 races in the North and 2 in the South-East of Senegal. Compared to other studies in West Africa, the composition of Senegalese *Xoo* races indicates the presence of races already described in Mali and Burkina Faso, and 4 new races described for the first time in Africa. The *Xa1* and *xa5 R* genes are the most promising candidate genes for a broad control of *Xoo* races detected to date. The study also identified several varieties grown in Senegal that are highly resistant to different races detected in the country. However, further analysis is needed if we want to understand and identify the *R* genes that are involved in this resistance. The transfer of this resistance to other high-yielding varieties grown in Senegal is expected to significantly improve rice productivity and BB control.

**ACKNOWLEDGMENTS**

We thank Doctors Allan Salabsabin, IRRI, Philippines and Omar Ndaw Faye, ISRA, Senegal for providing respectively the seeds of near-isogenic lines and Senegalese rice varieties; Doctor B. Maneh, AfricaRice, Senegal for his help given in sampling for BB rice leaves.

**Author contributions:**

H.T., K.N. and V.V. designed the research; H.T., K.N.; S.C. and V.V. performed the research; H.T., S.C., A.C and V.V analysed the data; H.T., K.N., S.C., B.S, A.C., M.H. and V.V wrote the manuscript.

**References**

Adhikari, T. B., T. W. Mew, et P. S. Teng. 1994. « Phenotypic Diversity of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae in Nepal ». Plant Disease (USA). http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9434820.

Adhikari, Tika B., Ram Chandra Basnyat, et T. W. Mew. 1999. « Virulence of Xanthomonas oryzae pv. oryzae on Rice Lines Containing Single Resistance Genes and Gene Combinations ». Plant Disease 83 (1): 46-50. https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.1.46.

Adhikari, Tika B., T. W. Mew, et Jan E. Leach. 1999a. « Genotypic and Pathotypic Diversity in Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Nepal ». PhytopathologyTM 89 (8): 687-94. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.8.687.

Adhikari, Tika B., T. W. Mew, et Jan E. Leach. 1999b. « Genotypic and Pathotypic Diversity in Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Nepal ». Phytopathology 89 (8): 687-94. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.8.687.

Ahmed, Hafiz U., Maria R. Finckh, Rizal F. Alfonso, et Christopher C. Mundt. 1997. « Epidemiological Effect of Gene Deployment Strategies on Bacterial Blight of Rice ». Phytopathology 87 (1): 66-70. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.1.66.

Alfano, James R., et Alan Collmer. 2004. « Type III Secretion System Effector Proteins: Double Agents in Bacterial Disease and Plant Defense ». Annual Review of Phytopathology 42: 385-414. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040103.110731.

Awoderv, V. A., N. Bangura, et V. T. John. 1991. « Incidence, distribution and severity of bacterial diseases on rice in West Africa ». Tropical Pest Management 37 (2): 113-17. https://doi.org/10.1080/09670879109371553.

Chauhan, Bhagirath S., Khawar Jabran, et Gulshan Mahajan. 2017. Rice Production Worldwide. Springer.

Cheema, Kuljit K., Navjit K. Grewal, Yogesh Vikal, Rajiv Sharma, Jagjeet S. Lore, Aparna Das, Dharminder Bhatia, et al. 2008. « A Novel Bacterial Blight Resistance Gene from Oryza Nivara Mapped to 38 Kb Region on Chromosome 4L and Transferred to Oryza Sativa L. » Genetics Research 90 (5): 397-407. https://doi.org/10.1017/S0016672308009786.

DAPSA. s. d. « Résultats Enquête Agricole 2018 (Prévisionnels) | Direction de l'Analyse, de la Prévision et des Statistiques Agricoles - DAPSA ». http://www.dapsa.gouv.sn/content/statistiques-agricoles. Consulté le 29 octobre 2019. http://www.dapsa.gouv.sn/content/r%C3%A9sultats-enqu%C3%AAte-agricole-2018-pr%C3%A9visionnels.

Deng, Wen-Ling, Heng-An Lin, Yu-Cyuan Shih, Chien-Chih Kuo, Jen-Yu Tzeng, Li-yu D. Liu, Shu-Tzu Huang, Chi-Ming Huang, et Chia-Lin Chung. 2016. « Genotypic and Pathotypic Diversity of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Strains in Taiwan ». Journal of Phytopathology 164 (10): 745-59. https://doi.org/10.1111/jph.12495.

Devadath, S., et S. Y. Padmanabhan. 1970. « Approaches to Control of Bacterial Blight and Streak Diseases of Rice in India. » Bulletin of the Indian Phytopathological Society, no No. 6: 5-12.

Djedatin, Gustave, Marie-Noëlle Ndjiondjop, Thierry Mathieu, Casiana M. Vera Cruz, Ambaliou Sanni, Alain Ghesquière, et Valérie Verdier. 2011. « Evaluation of African Cultivated Rice Oryza glaberrima for

Resistance to Bacterial Blight ». Plant Disease 95 (4): 441-47. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0558.

Doucoure, Hinda. 2017. « Création de résistance à large spectre contre la bactériose foliaire du riz au Mali ». Thesis, Montpellier. http://www.theses.fr/2017MONTT100.

Doucouré, Hinda, Alvaro L. Pérez-Quintero, Ganna Reshetnyak, Cheick Tekete, Florence Auguy, Emilie Thomas, Ralf Koebnik, et al. 2018. « Functional and Genome Sequence-Driven Characterization of tal Effector Gene Repertoires Reveals Novel Variants With Altered Specificities in Closely Related Malian Xanthomonas oryzae pv. oryzae Strains ». Frontiers in Microbiology 9 (août). https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657.

Ganeshan, Girija, et A. Manoj Kumar. 2005. « Pseudomonas fluorescens, a potential bacterial antagonist to control plant diseases ». Journal of Plant Interactions 1 (3): 123-34. https://doi.org/10.1080/17429140600907043.

George, M. L. C., M. Bustamam, W. T. Cruz, J. E. Leach, et R. J. Nelson. 1997. « Movement of Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Southeast Asia Detected Using PCR-Based DNA Fingerprinting ». Phytopathology 87 (3): 302-9. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.3.302.

Gonzalez, Carolina, Boris Szurek, Charles Manceau, Thierry Mathieu, Yacouba Séré, et Valérie Verdier. 2007. « Molecular and Pathotypic Characterization of New Xanthomonas oryzae Strains from West Africa ». Molecular Plant-Microbe Interactions 20 (5): 534-46. https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534.

Huang, N., E. R. Angeles, J. Domingo, G. Magpantay, S. Singh, G. Zhang, N. Kumaravadivel, J. Bennett, et G. S. Khush. 1997. « Pyramiding of Bacterial Blight Resistance Genes in Rice: Marker-Assisted Selection Using RFLP and PCR ». Theoretical and Applied Genetics 95 (3): 313-20. https://doi.org/10.1007/s001220050565.

Kameswara Rao, K, M Lakshminarasu, et K. K Jena. 2002. « DNA Markers and Marker-Assisted Breeding for Durable Resistance to Bacterial Blight Disease in Rice ». Biotechnology Advances 20 (1): 33-47. https://doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00002-2.

KAUFFMAN, H. E. 1973. « An improved technique for evaluat-ing resistance of rice varieties to Xanthomonas oryzae. » Plant Dis. Rep 57: 537-41.

KINOSHITA, T. 1990. « Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups. » Rice Genet. Newslett. 7: 16-50.

Köplin, R., W. Arnold, B. Hötte, R. Simon, G. Wang, et A. Pühler. 1992. « Genetics of Xanthan Production in Xanthomonas Campestris: The XanA and XanB Genes Are Involved in UDP-Glucose and GDP-Mannose Biosynthesis. » Journal of Bacteriology 174 (1): 191-99. https://doi.org/10.1128/jb.174.1.191-199.1992.

Lang, Jillian M., John P. Hamilton, Maria Genaleen Q. Diaz, Marie Anne Van Sluys, Ma. Ruby G. Burgos, Casiana M. Vera Cruz, C. Robin Buell, Ned A. Tisserat, et Jan E. Leach. 2010. « Genomics-Based Diagnostic Marker Development for Xanthomonas oryzae pv. oryzae and X. oryzae pv. oryzicola ». Plant Disease 94 (3): 311-19. https://doi.org/10.1094/PDIS-94-3-0311.

Lindgren, Peter B. 1997. « THE ROLE OF hrp GENES DURING PLANT-BACTERIAL INTERACTIONS ». Annual Review of Phytopathology 35 (1): 129-52. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.35.1.129.

Mew, T W. 1987. « Current Status and Future Prospects of Research on Bacterial Blight of Rice ». Annual Review of Phytopathology 25 (1): 359-82. https://doi.org/10.1146/annurev.py.25.090187.002043.

Mew, T. W. (International Rice Research Institute, C. M. Vera Cruz, et E. S. Medalla. 1992. « Changes in Race Frequency of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae in Response to Rice Cultivars Planted in the Philippines ». Plant Disease (USA). http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9317148.

Nayak, Debabrata, Lotan K Bose, Udaya D Singh, Sanjay Singh, et Parsuram Nayak. s. d. « Measurement of Genetic Diversity of Virulence in Populations of Xanthomonas Oryzae », 14.

Niño-Liu, David O., Pamela C. Ronald, et Adam J. Bogdanove. 2006. « Xanthomonas Oryzae Pathovars: Model Pathogens of a Model Crop ». Molecular Plant Pathology 7 (5): 303-24. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x.

Noda, Takahito, Chengyun Li, Jiarui Li, Hirokazu Ochiai, Kazuo Ise, et Hisatoshi Kaku. 2001. « Pathogenic Diversity of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Strains from Yunnan Province, China ». Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ 35 (2): 97-103. https://doi.org/10.6090/jarq.35.2.

Ogawa, Tsugufumi, Tsuyashi Yamamoto, Gurdev S. Khush, et Twng-Wah Mew. 1991. « Breeding of Near-Isogenic Line of Rice With Single Gene for Resistance to Bacterial Blight Pathogen (Xanthomonas compestris pv. oryzae) ». Journal of Breeding Studies 41 (3): 523-29. https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.41.523.

Ou, Shu Huang, et Commonwealth Mycological Institute (Great Britain). 1985. Rice Diseases. IRRI.

Quibod, Ian Lorenzo, Alvaro Perez-Quintero, Nicholas J. Booher, Gerbert S. Dossa, Genelou Grande, Boris Szurek, Casiana Vera Cruz, Adam J. Bogdanove, et Ricardo Oliva. 2016. « Effector Diversification Contributes to Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae Phenotypic Adaptation in a Semi-Isolated Environment ». Scientific Reports 6 (1): 1-11. https://doi.org/10.1038/srep34137.

Ray, Suvendra K., R. Rajeshwari, et Ramesh V. Sonti. 2000. « Mutants of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Deficient in General Secretory Pathway Are Virulence Deficient and Unable to Secrete Xylanase ». Molecular Plant-Microbe Interactions 13 (4): 394-401. https://doi.org/10.1094/MPMI.2000.13.4.394.

Sukhwinder-Singh, M. Sodhi, Y. Vikal, M. L. C. George, G. S. Bala, G. S. Mangat, M. Garg, J. S. Sidhu, et H. S. Dhaliwal. 2003. « DNA Fingerprinting and Virulence Analysis of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae Isolates from Punjab, Northern India ». Euphytica 130 (1): 107-15. https://doi.org/10.1023/A:1022329024651.

Tall, Hamidou, Cheick Tekete, Kandioura Noba, ousmane Koita, Sebastien Cunnac, Mathilde Hutin, Boris Szurek, et Valérie Verdier. 2019. « Confirmation report of Bacterial blight caused by Xanthomonas oryzae pv. oryzae on rice in Senegal ». Plant Disease, novembre. https://doi.org/10.1094/PDIS-07-19-1464-PDN.

Tekete, Cheick, Sebastien Cunnac, Hinda Doucoure, Mamadou Dembele, Ibrahim Keita, Soungalo Sarra, Karim Dagno, Ousmane Koita, et Valerie Verdier. 2019. « Characterization of new races of Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Mali informs Resistance gene deployment ». Phytopathology, août. https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R.

Tran, Tuan T., Alvaro L. Pérez-Quintero, Issa Wonni, Sara C. D. Carpenter, Yanhua Yu, Li Wang, Jan E. Leach, et al. 2018. « Functional Analysis of African Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae TALomes Reveals

a New Susceptibility Gene in Bacterial Leaf Blight of Rice ». PLOS Pathogens 14 (6): e1007092. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092.

Trinh, T. T. 1980. « New Rice Diseases and Insects in the Senegal River Basin in 1978/79. » International Rice Commission Newsletter 29 (2). https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810581551.

Triplett, Lindsay, Ralf Koebnik, Valerie Verdier, et Jan E. Leach. 2014. « The Genomics of Xanthomonas Oryzae ». In Genomics of Plant-Associated Bacteria, édité par Dennis C. Gross, Ann Lichens-Park, et Chittaranjan Kole, 127-50. Berlin, Heidelberg: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55378-3_6.

Villar, Patricio Mendez del, et Jean-Martin Bauer. 2013. « Le riz en Afrique de l'Ouest : dynamiques, politiques et perspectives ». Cahiers Agricultures 22 (5): 336-344 (1). https://doi.org/10.1684/agr.2013.0657.

Wang, Guo-Liang, Wen-Yuan Song, De-Ling Ruan, Steve Sideris, et Pamela C. Ronald. 1996. « The cloned gene, Xa21, confers resistance to multiple Xanthomonas oryzae pv. oryzae isolates in transgenic plants. »

White, Frank F., Neha Potnis, Jeffrey B. Jones, et Ralf Koebnik. 2009. « The Type III Effectors of Xanthomonas ». Molecular Plant Pathology 10 (6): 749-66. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00590.x.

Wilkinson, Leland, et Michael Friendly. 2009. « The History of the Cluster Heat Map ». The American Statistician 63 (2): 179-84. https://doi.org/10.1198/tas.2009.0033.

Wonni, Issa. 2013a. « Les bactérioses du riz dues à Xanthomonas oryzae au Burkina Faso: Diversité et identification de sources de résistance adaptées ». PhD Thesis, Montpellier 2.

Wonni, Issa. 2013b. Les bactérioses du riz dues à Xanthomonas oryzae au Burkina Faso : Diversité et identification de sources de résistance adaptées. Montpellier 2. http://www.theses.fr/2013MON20174.

Wonni, Issa. 2016. « Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa ». Rice Research: Open Access 4 (1). https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162.

Wonni, Issa, Bart Cottyn, Liselot Detemmerman, S. Dao, L. Ouedraogo, S. Sarra, C. Tekete, S. Poussier, R. Corral, et L. Triplett. 2014. « Analysis of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola population in Mali and Burkina Faso reveals a high level of genetic and pathogenic diversity ». Phytopathology 104 (5): 520-31.

Yu, Yanhua, Jana Streubel, Sandrine Balzergue, Antony Champion, Jens Boch, Ralf Koebnik, Jiaxun Feng, Valérie Verdier, et Boris Szurek. 2011. « Colonization of Rice Leaf Blades by an African Strain of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Depends on a New TAL Effector That Induces the Rice Nodulin-3 Os11N3 Gene ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 24 (9): 1102-13. https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254.

Adhikari, T. B., T. W. Mew, et P. S. Teng. 1994. « Phenotypic Diversity of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae in Nepal ». Plant Disease (USA). http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9434820.

Adhikari, Tika B., Ram Chandra Basnyat, et T. W. Mew. 1999. « Virulence of Xanthomonas oryzae pv. oryzae on Rice Lines Containing Single Resistance Genes and Gene Combinations ». Plant Disease 83 (1): 46-50. https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.1.46.

Adhikari, Tika B., T. W. Mew, et Jan E. Leach. 1999a. « Genotypic and Pathotypic Diversity in Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Nepal ». PhytopathologyTM 89 (8): 687-94. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.8.687.

Adhikari, Tika B., T. W. Mew, et Jan E. Leach. 1999b. « Genotypic and Pathotypic Diversity in Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Nepal ». Phytopathology 89 (8): 687-94. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.8.687.

Ahmed, Hafiz U., Maria R. Finckh, Rizal F. Alfonso, et Christopher C. Mundt. 1997. « Epidemiological Effect of Gene Deployment Strategies on Bacterial Blight of Rice ». Phytopathology 87 (1): 66-70. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.1.66.

Alfano, James R., et Alan Collmer. 2004. « Type III Secretion System Effector Proteins: Double Agents in Bacterial Disease and Plant Defense ». Annual Review of Phytopathology 42: 385-414. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040103.110731.

Awoderv, V. A., N. Bangura, et V. T. John. 1991. « Incidence, distribution and severity of bacterial diseases on rice in West Africa ». Tropical Pest Management 37 (2): 113-17. https://doi.org/10.1080/09670879109371553.

Chauhan, Bhagirath S., Khawar Jabran, et Gulshan Mahajan. 2017. Rice Production Worldwide. Springer.

Cheema, Kuljit K., Navjit K. Grewal, Yogesh Vikal, Rajiv Sharma, Jagjeet S. Lore, Aparna Das, Dharminder Bhatia, et al. 2008. « A Novel Bacterial Blight Resistance Gene from Oryza Nivara Mapped to 38 Kb Region on Chromosome 4L and Transferred to Oryza Sativa L. » Genetics Research 90 (5): 397-407. https://doi.org/10.1017/S0016672308009786.

DAPSA. 2018. « Résultats Enquête Agricole 2018 (Prévisionnels) | Direction de l'Analyse, de la Prévision et des Statistiques Agricoles - DAPSA ». http://www.dapsa.gouv.sn/content/statistiques-agricoles. Consulté le 29 octobre 2019. http://www.dapsa.gouv.sn/content/r%C3%A9sultats-enqu%C3%AAte-agricole-2018-pr%C3%A9visionnels.

Deng, Wen-Ling, Heng-An Lin, Yu-Cyuan Shih, Chien-Chih Kuo, Jen-Yu Tzeng, Li-yu D. Liu, Shu-Tzu Huang, Chi-Ming Huang, et Chia-Lin Chung. 2016. « Genotypic and Pathotypic Diversity of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Strains in Taiwan ». Journal of Phytopathology 164 (10): 745-59. https://doi.org/10.1111/jph.12495.

Devadath, S., et S. Y. Padmanabhan. 1970. « Approaches to Control of Bacterial Blight and Streak Diseases of Rice in India. » Bulletin of the Indian Phytopathological Society, no No. 6: 5-12.

Djedatin, Gustave, Marie-Noëlle Ndjiondjop, Thierry Mathieu, Casiana M. Vera Cruz, Ambaliou Sanni, Alain Ghesquière, et Valérie Verdier. 2011. « Evaluation of African Cultivated Rice Oryza glaberrima for Resistance to Bacterial Blight ». Plant Disease 95 (4): 441-47. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0558.

Doucoure, Hinda. 2017. « Création de résistance à large spectre contre la bactériose foliaire du riz au Mali ». Thesis, Montpellier. http://www.theses.fr/2017MONTT100.

Doucouré, Hinda, Alvaro L. Pérez-Quintero, Ganna Reshetnyak, Cheick Tekete, Florence Auguy, Emilie Thomas, Ralf Koebnik, et al. 2018. « Functional and Genome Sequence-Driven Characterization of tal Effector Gene Repertoires Reveals Novel Variants With Altered Specificities in Closely Related Malian

Xanthomonas oryzae pv. oryzae Strains ». Frontiers in Microbiology 9 (août). https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657.

Ganeshan, Girija, et A. Manoj Kumar. 2005. « Pseudomonas fluorescens, a potential bacterial antagonist to control plant diseases ». Journal of Plant Interactions 1 (3): 123-34. https://doi.org/10.1080/17429140600907043.

George, M. L. C., M. Bustamam, W. T. Cruz, J. E. Leach, et R. J. Nelson. 1997. « Movement of Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Southeast Asia Detected Using PCR-Based DNA Fingerprinting ». Phytopathology 87 (3): 302-9. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.3.302.

Gonzalez, Carolina, Boris Szurek, Charles Manceau, Thierry Mathieu, Yacouba Séré, et Valérie Verdier. 2007. « Molecular and Pathotypic Characterization of New Xanthomonas oryzae Strains from West Africa ». Molecular Plant-Microbe Interactions 20 (5): 534-46. https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534.

Huang, N., E. R. Angeles, J. Domingo, G. Magpantay, S. Singh, G. Zhang, N. Kumaravadivel, J. Bennett, et G. S. Khush. 1997. « Pyramiding of Bacterial Blight Resistance Genes in Rice: Marker-Assisted Selection Using RFLP and PCR ». Theoretical and Applied Genetics 95 (3): 313-20. https://doi.org/10.1007/s001220050565.

Kameswara Rao, K, M Lakshminarasu, et K. K Jena. 2002. « DNA Markers and Marker-Assisted Breeding for Durable Resistance to Bacterial Blight Disease in Rice ». Biotechnology Advances 20 (1): 33-47. https://doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00002-2.

KAUFFMAN, H. E. 1973. « An improved technique for evaluat-ing resistance of rice varieties to Xanthomonas oryzae. » Plant Dis. Rep 57: 537-41.

KINOSHITA, T. 1990. « Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups. » Rice Genet. Newslett. 7: 16-50.

Köplin, R., W. Arnold, B. Hötte, R. Simon, G. Wang, et A. Pühler. 1992. « Genetics of Xanthan Production in Xanthomonas Campestris: The XanA and XanB Genes Are Involved in UDP-Glucose and GDP-Mannose Biosynthesis. » Journal of Bacteriology 174 (1): 191-99. https://doi.org/10.1128/jb.174.1.191-199.1992.

Lang, Jillian M., John P. Hamilton, Maria Genaleen Q. Diaz, Marie Anne Van Sluys, Ma. Ruby G. Burgos, Casiana M. Vera Cruz, C. Robin Buell, Ned A. Tisserat, et Jan E. Leach. 2010. « Genomics-Based Diagnostic Marker Development for Xanthomonas oryzae pv. oryzae and X. oryzae pv. oryzicola ». Plant Disease 94 (3): 311-19. https://doi.org/10.1094/PDIS-94-3-0311.

Lindgren, Peter B. 1997. « THE ROLE OF hrp GENES DURING PLANT-BACTERIAL INTERACTIONS ». Annual Review of Phytopathology 35 (1): 129-52. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.35.1.129.

Mew, T W. 1987. « Current Status and Future Prospects of Research on Bacterial Blight of Rice ». Annual Review of Phytopathology 25 (1): 359-82. https://doi.org/10.1146/annurev.py.25.090187.002043.

Mew, T. W. (International Rice Research Institute, C. M. Vera Cruz, et E. S. Medalla. 1992. « Changes in Race Frequency of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae in Response to Rice Cultivars Planted in the Philippines ». Plant Disease (USA). http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9317148.

Nayak, Debabrata, Lotan K Bose, Udaya D Singh, Sanjay Singh, et Parsuram Nayak. s. d. « Measurement of Genetic Diversity of Virulence in Populations of Xanthomonas Oryzae », 14.

Niño-Liu, David O., Pamela C. Ronald, et Adam J. Bogdanove. 2006. « Xanthomonas Oryzae Pathovars: Model Pathogens of a Model Crop ». Molecular Plant Pathology 7 (5): 303-24. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x.

Noda, Takahito, Chengyun Li, Jiarui Li, Hirokazu Ochiai, Kazuo Ise, et Hisatoshi Kaku. 2001. « Pathogenic Diversity of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Strains from Yunnan Province, China ». Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ 35 (2): 97-103. https://doi.org/10.6090/jarq.35.2.

Ogawa, Tsugufumi, Tsuyashi Yamamoto, Gurdev S. Khush, et Twng-Wah Mew. 1991. « Breeding of Near-Isogenic Line of Rice With Single Gene for Resistance to Bacterial Blight Pathogen (Xanthomonas compestris pv. oryzae) ». Journal of Breeding Studies 41 (3): 523-29. https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.41.523.

Ou, Shu Huang, et Commonwealth Mycological Institute (Great Britain). 1985. Rice Diseases. IRRI.

Quibod, Ian Lorenzo, Alvaro Perez-Quintero, Nicholas J. Booher, Gerbert S. Dossa, Genelou Grande, Boris Szurek, Casiana Vera Cruz, Adam J. Bogdanove, et Ricardo Oliva. 2016. « Effector Diversification Contributes to Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae Phenotypic Adaptation in a Semi-Isolated Environment ». Scientific Reports 6 (1): 1-11. https://doi.org/10.1038/srep34137.

Ray, Suvendra K., R. Rajeshwari, et Ramesh V. Sonti. 2000. « Mutants of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Deficient in General Secretory Pathway Are Virulence Deficient and Unable to Secrete Xylanase ». Molecular Plant-Microbe Interactions 13 (4): 394-401. https://doi.org/10.1094/MPMI.2000.13.4.394.

Sukhwinder-Singh, M. Sodhi, Y. Vikal, M. L. C. George, G. S. Bala, G. S. Mangat, M. Garg, J. S. Sidhu, et H. S. Dhaliwal. 2003. « DNA Fingerprinting and Virulence Analysis of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae Isolates from Punjab, Northern India ». Euphytica 130 (1): 107-15. https://doi.org/10.1023/A:1022329024651.

Tall, Hamidou, Cheick Tekete, Kandioura Noba, ousmane Koita, Sebastien Cunnac, Mathilde Hutin, Boris Szurek, et Valérie Verdier. 2019. « Confirmation report of Bacterial blight caused by Xanthomonas oryzae pv. oryzae on rice in Senegal ». Plant Disease, novembre. https://doi.org/10.1094/PDIS-07-19-1464-PDN.

Tekete, Cheick, Sebastien Cunnac, Hinda Doucoure, Mamadou Dembele, Ibrahim Keita, Soungalo Sarra, Karim Dagno, Ousmane Koita, et Valerie Verdier. 2019. « Characterization of new races of Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Mali informs Resistance gene deployment ». Phytopathology, août. https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R.

Tran, Tuan T., Alvaro L. Pérez-Quintero, Issa Wonni, Sara C. D. Carpenter, Yanhua Yu, Li Wang, Jan E. Leach, et al. 2018. « Functional Analysis of African Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae TALomes Reveals a New Susceptibility Gene in Bacterial Leaf Blight of Rice ». PLOS Pathogens 14 (6): e1007092. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092.

Trinh, T. T. 1980. « New Rice Diseases and Insects in the Senegal River Basin in 1978/79. » International Rice Commission Newsletter 29 (2). https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810581551.

Triplett, Lindsay, Ralf Koebnik, Valerie Verdier, et Jan E. Leach. 2014. « The Genomics of Xanthomonas Oryzae ». In Genomics of Plant-Associated Bacteria, édité par Dennis C. Gross, Ann Lichens-Park, et Chittaranjan Kole, 127-50. Berlin, Heidelberg: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55378-3_6.

Villar, Patricio Mendez del, et Jean-Martin Bauer. 2013. « Le riz en Afrique de l'Ouest : dynamiques, politiques et perspectives ». Cahiers Agricultures 22 (5): 336-344 (1). https://doi.org/10.1684/agr.2013.0657.

Wang, Guo-Liang, Wen-Yuan Song, De-Ling Ruan, Steve Sideris, et Pamela C. Ronald. 1996. « The cloned gene, Xa21, confers resistance to multiple Xanthomonas oryzae pv. oryzae isolates in transgenic plants. »

White, Frank F., Neha Potnis, Jeffrey B. Jones, et Ralf Koebnik. 2009. « The Type III Effectors of Xanthomonas ». Molecular Plant Pathology 10 (6): 749-66. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00590.x.

Wilkinson, Leland, et Michael Friendly. 2009. « The History of the Cluster Heat Map ». The American Statistician 63 (2): 179-84. https://doi.org/10.1198/tas.2009.0033.

Wonni, Issa. 2013a. « Les bactérioses du riz dues à Xanthomonas oryzae au Burkina Faso: Diversité et identification de sources de résistance adaptées ». PhD Thesis, Montpellier 2.

Wonni, Issa. 2013b. Les bactérioses du riz dues à Xanthomonas oryzae au Burkina Faso : Diversité et identification de sources de résistance adaptées. Montpellier 2. http://www.theses.fr/2013MON20174.

Wonni, Issa. 2016. « Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa ». Rice Research: Open Access 4 (1). https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162.

Wonni, Issa, Bart Cottyn, Liselot Detemmerman, S. Dao, L. Ouedraogo, S. Sarra, C. Tekete, S. Poussier, R. Corral, et L. Triplett. 2014. « Analysis of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola population in Mali and Burkina Faso reveals a high level of genetic and pathogenic diversity ». Phytopathology 104 (5): 520-31.

Yu, Yanhua, Jana Streubel, Sandrine Balzergue, Antony Champion, Jens Boch, Ralf Koebnik, Jiaxun Feng, Valérie Verdier, et Boris Szurek. 2011. « Colonization of Rice Leaf Blades by an African Strain of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Depends on a New TAL Effector That Induces the Rice Nodulin-3 Os11N3 Gene ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 24 (9): 1102-13. https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254.

# Chapitre 3

Caractérisation pathotypique et moléculaire de *Xoc* au Sénégal

# 3 Chapitre 3: Caractérisation pathotypique et moléculaire de Xoc au Sénégal

## *3.1 Article1 Confirmation report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by Xanthomonas oryzae pv. oryzicola in Senegal*

Hamidou Tall, Mathilde Hutin, Amadou Diallo, Issa Wonni, Cheick Tékété, Boris Szurek and Valérie Verdier. Confirmation report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* in Senegal

**Article à soumettre à la revue *Plant Disease***

### 3.1.1 Niveau d'implication personnelle

Mon implication personnelle dans ce travail se situe à différents niveaux de réalisation : conception du projet, travail de collecte sur le terrain, expérimentation au laboratoire et en serre, analyse des données et rédaction de l'article. Les co-auteurs m'ont assisté dans la conception du travail, l'analyse des données et la rédaction de l'article.

### 3.1.2 Contexte et justification

Bien que signalée au Sénégal depuis les années 1980 (Ton That Trinh 1980), peu d'informations sont disponibles sur la BLS dans ce pays, et il n'existe pas de collection de souches de *Xoc* ni de données sur leur diversité et niveaux de virulence, ou encore sur les sources de résistance éventuellement disponibles. Il n'existe pas de cartographie de la distribution et incidence de la BLS au Sénégal. Ce travail vient donc combler ce manque.

### 3.1.3 Matériels et méthodes

Des missions d'échantillonnage de feuilles de riz présentant les symptômes de la BLS ont été menées de 2015 à 2016 dans les zones rizicoles des régions Nord (Saint Louis et Matam), Est (Kédougou et

Tambacounda) et Sud (Kolda, Sédhiou et Ziguinchor) du Sénégal pour évaluer la présence de la maladie de la strie foliaire du riz. Les bactéries ont été isolées à partir de feuilles de riz présentant les symptômes du BLS suivant les méthodes décrites, mises en culture sur milieu PSA puis identifiées par un outil de diagnostic basée sur une PCR multiplexe spécifique de *X. oryzae* (Lang et al. 2010b; Valérie Verdier, Vera Cruz, et Leach 2012). Un test de pathogénicité a été réalisé sur la lignée sensible Kitaake. L'ADN génomique des souches a été extrait en utilisant le kit Promega suivant les recommandations du fournisseur. Le gène de ménage *gyrB* de quatre souches a été séquencé et puis comparé à celui de la souche *Xoc* de référence BLS256.

### 3.1.4 Résultats et discussions

À l'issue de campagness de collectes réalisées en 2015 et 2016, 53 sites répartis dans 8 régions ont été visités. Dans tous les sites échantillonnés, les symptômes de la maladie ont été rencontrés sur les plantes. Au total, 91 isolats de *Xoc* répartis issus de plusieurs sites des différentes régions ont été obtenus. Les tests de pouvoir pathogène ont montré que toutes les souches de *Xoc* isolées sont virulentes sur la variété Kitaake. Des fragments de séquences de 658pb de *gyrB* ont été amplifiés par PCR et séquencés, et montrés identiques à la séquence correspondante du génome de la souche *Xoc* de référence BLS256. En conclusion, nos données confirment bien la présence de BLS au Sénégal et l'origine africaine des souches de *Xoc* isolées.

### 3.1.5 Perspectives

Cette étude confirme la présence de la BLS au Sénégal et permis la mise en place de la première collection nationale de souches de *Xoc*. Ces données seront exploitées dans la suite de ce travail pour identifier des gènes de résistance susceptibles de contrôler la BLS au Sénégal. Elles permettront aussi d'avaluer la diversité génétique au sein de cette collection, et d'identifier des sources locales de résistance parmi les variétés populaires. Une surveillance épidémiologique de la maladie au fil du temps sera nécessaire pour mieux cerner la dynamique évolutive de la population de *Xoc* et développer des méthodes de lutte mieux ciblées.

**Confirmation report of Bacterial Leaf Streak disease of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* in Senegal**

Hamidou Tall[1, 2], Mathilde Hutin[2], Amadou Diallo[3], Issa Wonni[3], Cheick Tékété[4], Boris Szurek[2] and Valérie Verdier[2]

[1] Institut Sénégalais de Recherches Agricole (ISRA), Sénégal

[2] PHIM, IRD, Cirad, Univ. Montpellier, Montpellier, France

[3] INERA, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

[4] USTT-B, FST, DER, LaboREM-Biotech, Bamako, Mali.

Bacterial Leaf Streak (BLS) of rice caused by *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* (*Xoc*) is considered the third emerging infectious disease of rice in Africa. Rice yield losses caused by BLS is estimated at 20 to 30% (Sileshi et Gebeyehu 2021). In Senegal, BLS symptoms were first observed by Trinh in 1980 but to our knowledge no strain of *Xoc* has so far been isolated from rice in this country, and no additional information on the disease was reported. On the other hand, *Xoc* strains have been described in several rice-growing countries of West Africa including Mali, Burkina Faso (I Wonni et al. 2014) and more recently Ivory Coast (Diallo et al. 2021). *Xoc* is transmitted through rice seeds which favors its spread through trading (Sileshi et Gebeyehu 2021). To confirm Trinh's observations, we surveyed rice fields in eight different rice-growing regions in Senegal between 2014 and 2016.

Leaves carrying translucent lesions in the form of yellow-brown to black streaks, which are typical BLS symptoms, were sampled in five regions of Senegal including Saint Louis and Matam at the North, Tambacounda at the Center and Ziguinchor and Kolda at the South. 5cm-long leaf pieces were successively disinfected, rinsed in sterile water, and then ground using the Qiagen Tissue Lyser System (QIAGEN, Courtaboeuf, France). 1.5 ml of sterile water was used to resuspend leaf powder before incubation at room temperature for 30 minutes. Then, 10 µl of the suspension was streaked on semi-selective PSA medium and incubated at 28 °C for 3 to 7 days. Colonies characteristic of *Xoc*, i.e. round, convex, mucous and straw yellow in color were purified from 18 individual samples from 10 distinct sites across Senegal. Identity of the isolated strains was assessed by a pathogenicity and molecular characterization test. The multiplex PCR developed for the identification of *X. oryzae* pathovars (Lang et al. 2010a) revealed for all the isolates the characteristic PCR profile of *Xoc* (two amplicons of 324 and 691 base pairs). Strain of *Xoc* BLS256 was used as controls. The pathogenicity test was performed on 5 weeks-old plants of *O. sativa* 'Kitaake' leaves by infiltration with a needleless syringe of a bacterial suspension at an optical density of 0.5. After 7 days of greenhouse incubation (27 ± 1°C with a 12-hour photoperiod), all infiltration points (2 infiltrations x 3 plants per isolate) developed water-soaked lesions identical to the one challenged with BLS256 while water-infiltrated leaves remained

asymptomatic. These lesions were collected and subjected to the isolation and multiplex PCR processes described above, thus fulfilling Koch's postulate. Finally, four of the isolates were subjected to sequencing of the housekeeping gene *gyrB* by PCR amplification using the primers XgyrB1F and XgyrB1R (Young et al. 2008). Analysis of 780bp of the *gyrB* sequence of strains S18-3-4, S23-1-12, S52-1-4 and S52-1-10 revealed 100% identity with the *gyrB* sequence of *Xoc* reference strain BLS256 (Acc. No. CP003057). To our knowledge, this is the first report of BLS in Senegal supported by molecular characterization methods. Further studies are needed to clarify the spatial distribution and incidence of BLS in Senegal in order to deploy adapted control strategies.

**Acknowledgments.**
We acknowledge funding from West Africa Agricultural Productivity Programme (*WAAPP*).

**References:**

Lang, Jillian M, John P Hamilton, Maria Genaleen Q Diaz, Marie Anne Van Sluys, Ma Ruby G Burgos, Casiana M Vera Cruz, C Robin Buell, Ned A Tisserat, et Jan E Leach. 2010. « Genomics-based diagnostic marker development for Xanthomonas oryzae pv. oryzae and X. oryzae pv. oryzicola ». *Plant disease* 94 (3) : 311-19.

Sileshi, Gudeta W, et Solomon Gebeyehu. 2021. « Emerging infectious diseases threatening food security and economies in Africa ». *Global Food Security* 28: 100479.

Trinh, T. T. 1980. « New Rice Diseases and Insects in the Senegal River Basin in 1978/79. » *International Rice Commission Newsletter* 29 (2). https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810581551.

Wonni, I, B Cottyn, L Detemmerman, S Dao, L Ouedraogo, S Sarra, C Tekete, et al. 2014. « Analysis of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola population in Mali and Burkina Faso reveals a high level of genetic and pathogenic diversity ». *Phytopathology* 104 (5): 520-31.

Young, JM, D-C Park, HM Shearman, et Emilie Fargier. 2008. « A multilocus sequence analysis of the genus Xanthomonas ». *Systematic and applied microbiology* 31 (5): 366-77.

Supplemental Information

>gyrB_BLS256

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCG
GAGCTGATCGAGCGCGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAG
CTGTATCTGAAGGACGATGCCGCGCTCAACGCCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGCTGATTC
CGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAACTGCTGATGCTGTTCACCAGCGCCAACG
AAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGACCTGCCGCCGCTGGA
TGTGGAAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGCTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGG
CACCCTGGGCACCGCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCG
ATCCGCCGTCATATGGGCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGT
CCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATGATCTGGTGCGCGAGGGCGCGCAGATCGTGCGCGGCAACAAG
AGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGGACGAGGCCAAGAAAGGCCGCCAGGTC
CAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGGAAACCACGG

>gyrB_S18-3-4

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCG
GAGCTGATCGAGCGCGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAG
CTGTATCTGAAGGACGATGCCGCGCTCAACGCCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGCTGATTC
CGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAACTGCTGATGCTGTTCACCAGCGCCAACG
AAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGACCTGCCGCCGCTGGA
TGTGGAAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGCTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGG
CACCCTGGGCACCGCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCG
ATCCGCCGTCATATGGGCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGT
CCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATGATCTGGTGCGCGAGGGCGCGCAGATCGTGCGCGGCAACAAG
AGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGGACGAGGCCAAGAAAGGCCGCCAGGTC
CAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGGAAACCACGG

>gyrB_S23-1-12

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCG
GAGCTGATCGAGCGCGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAG
CTGTATCTGAAGGACGATGCCGCGCTCAACGCCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGCTGATTC
CGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAACTGCTGATGCTGTTCACCAGCGCCAACG
AAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGACCTGCCGCCGCTGGA
TGTGGAAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGCTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGG
CACCCTGGGCACCGCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCG
ATCCGCCGTCATATGGGCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGT
CCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATGATCTGGTGCGCGAGGGCGCGCAGATCGTGCGCGGCAACAAG
AGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGGACGAGGCCAAGAAAGGCCGCCAGGTC
CAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGGAAACCACGG

>gyrB_S52-1-4

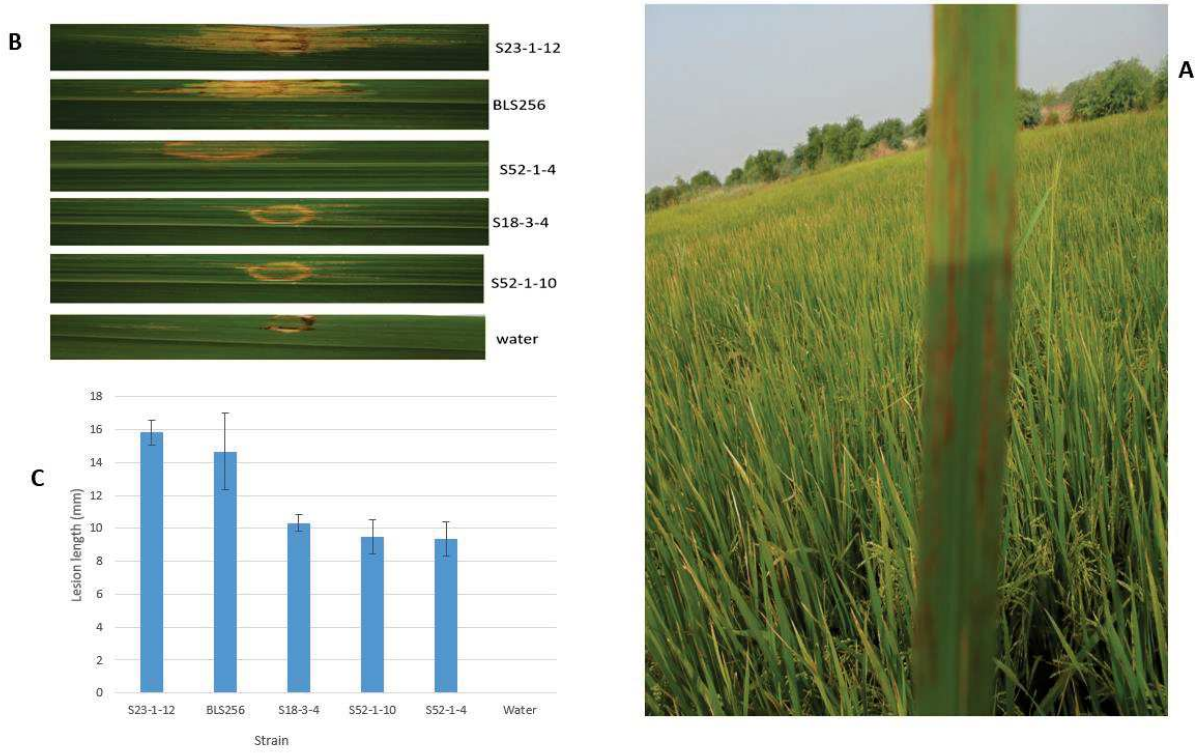
TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCG
GAGCTGATCGAGCGCGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAG
CTGTATCTGAAGGACGATGCCGCGCTCAACGCCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGCTGATTC
CGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAACTGCTGATGCTGTTCACCAGCGCCAACG
AAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGACCTGCCGCCGCTGGA
TGTGGAAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGCTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGG
CACCCTGGGCACCGCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCG
ATCCGCCGTCATATGGGCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGT
CCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATGATCTGGTGCGCGAGGGCGCGCAGATCGTGCGCGGCAACAAG
AGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGGACGAGGCCAAGAAAGGCCGCCAGGTC
CAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGGAAACCACGG

>gyrB_S52-1-10

TGATGACCGACGCCGACGTCGACGGCTCGCACATCCGTACCCTGTTGCTGACCTTCTTCTACCGGCAGATGCCG
GAGCTGATCGAGCGCGGCTACATCTATATCGGCCTGCCGCCGCTGTACAAGCTCAAGCAGGGCAAGAGCGAG
CTGTATCTGAAGGACGATGCCGCGCTCAACGCCTACCTGGCCAGCAATGCGGTTGAAGGTGCGGCGCTGATTC
CGGCCACCGACGAGCCGCCGATCACCGGCGAAGCGCTGGAAAAACTGCTGATGCTGTTCACCAGCGCCAACG
AAGCGATTGCGCGCAACGCGCACCGCTACGACCCGGCTTTGCTGACCGCATTGATCGACCTGCCGCCGCTGGA
TGTGGAAACACTGCATGCCGAAGGCAACCAGCATCCGGCCCTGGATGCGCTGCAGGCAGTGCTCAATCGCGG
CACCCTGGGCACCGCGCGCTACCAGTTGCGCTTCGACCCGGCCACTGAGAACGCGCCTGCCACGCTGGTGGCG
ATCCGCCGTCATATGGGCGAAGAATTCACCCAGGTGCTGCCGATGGGGGCGTTCGAAAGCGGCGAGCTGCGT
CCGCTGCGTGAGGTATCGCTGGCCCTGCATGATCTGGTGCGCGAGGGCGCGCAGATCGTGCGCGGCAACAAG
AGCCACCCGATCACCAGCTTCGCGCAGGCGCACGCCTGGCTGCTGGACGAGGCCAAGAAAGGCCGCCAGGTC
CAGCGCTTCAAGGGCCTGGGCGAAATGAACGCCGAGCAGCTGTGGGAAACCACGG

***Figures legends:***

**Figure 25:** Confirmation that bacterial strains isolated from symptomatic leaves cause bacterial leaf streak of rice upon leaf infiltration experiments**.** Photographs of symptomatic leaves sampled in the field and used for bacterial isolation (**A**). Average and standard deviation (line range) of length measurements (n= 3 ; 3 observations from three replicates of the experiment) (**C**) and representative images (**B**) of the lesions observed at 15 days following leaf infiltration inoculation in the greenhouse (27 ± 5°C) of the indicated strains on 35-day-old *O. sativa* Kitaake variety. Strains were grown overnight in PSA medium and adjusted to 1×108 CFU/ml in sterile distilled water. Control plants were inoculated with sterile distilled water.



**3.2: Article2 en cours de correction par les co-auteurs:** Caractérisation pathotypique et moléculaire de *Xoc* au Sénégal

Hamidou Tall, Boris Szurek, Mathilde Hutin and Valerie Verdier

### 3.2.1 Niveau d'implication personnelle

Mon implication personnelle dans ce travail se situe à plusieurs niveaux de réalisation de cet article à savoir la phase de conception du projet, la phase de terrain, de laboratoire et de rédaction de l'article en passant par les différente phases d'expérimentation en serre et au champ et d'analyse des données.

### 3.2.2 Contexte et Justification

Le riz est la première culture du Sénégal en terme de production et la deuxième en terme de superficie (après le mil)(Commodafrica 2020). La production locale actuelle est estimée à environ 1 118 000 tonnes alors que la demande nationale est estimés entre 1,8 et 1,9 million de tonnes (équivalent riz blanc), soit une consommation moyenne annuelle d'environ 100 kg/par habitant et 40% des besoins sont couverts par les importations principalement de l'Asie (Villar 2019). L'une des contraintes majeures à la production rizicole sont les maladies causées par les bactéries du genre *Xanthomonas*. La strie bactérienne (BLS) est une maladie émergente en Afrique de l'Ouest. Elle est causée par *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* (*Xoc)*. Bien que signalé au Sénégal depuis les années 1980 (T. T. Trinh 1980), et non encore confirmé par des outils biomoléculaires, les *Xoc* ne sont pas considérés comme des agents à risques, par conséquent aucun programme de sélection du riz pour la résistance au BLS n'a été jusqu'à présent développé au Sénégal. Aucune évaluation du niveau de résistance au BLS des variétés de riz cultivées au pays n'a été encore faite. Les premières souches du Sénégal de cette maladie n'ont été isolées qu'en 2015 d'où l'importance de les caractériser afin d'identifier des gènes de résistance capables de contrôler cette dernière. . Au Sénégal aucune souche de *Xoc* n'a été décrite avant. Deux gènes de résistance ont été identifiés pour le contrôle de cette maladie ; l'un transgénique (*RXo1*) et un autre (*Xo1*) trouvé chez Carolina Gold, une variété Américaine. Au Sénégal aucune source de résistance n'a été décrite à nos jours. La stabilité des gènes de résistances pour le contrôle des *Xoc* du Sénégal n'étant pas connue, nous avons phénotypé les variétés Kitaake *RXo1*, Carolina gold et IRBB1 afin d'identifier des gènes susceptibles de contrôler les *Xoc* du Sénégal. Aussi des analyses génétiques pourront permettre de mieux comprendre la structuration des population de cette bactérie au Sénégal pour mieux affiner les stratégies de lutte contre la strie bactérienne du riz au Sénégal.

### 3.2.3 Matériels et méthodes

Les isolats issus des prospections de 2015 à 2016 menées dans les zones rizicoles des régions de Saint Louis et de Kédougou pour évaluer la présence du BLS, ont permis de constituer une première collection de souches de *Xoc* du Sénégal. Le pouvoir pathogène de ces isolats a été testé sur la variété de riz sensible Kitaake. Le phénotypage de Kitaake *RXo1*, Carolina Gold et d'IRBB1 va permettre d'identifier des sources de résistance. Et l'analyse MLV permettra de mieux comprendre la structuration des populations de cette bactérie au Sénégal et dans la sous-région Ouest africaine.

### 3.2.4 Résultats et discussions

À l'issus des campagnes de prospection dans les zones nord et Est du Sénégal, 91 isolats de *Xoc* ont constituées la collection du Sénégal. La présence de BLS a été détectée dans presque toutes les régions prospectées. Le tester de pouvoir pathogène de l'ensemble de la collection des isolats a montré que toutes les isolats sont virulents sur la variété sensible Kitaake. Le phénotypage des trois variétés a permis d'identifier deux gènes (*Xo1* et *Xa1*) susceptibles de contrôler 99% des isolats de la maladie au Sénégal. Par contre *RXo1* ne contrôle que moins de 20% des isolats. Il apparait ainsi que *Rxo1* est inefficace contre les souches *Xoc* du Sénégal. En comparaison, une étude menée sur une collection de 28 souches de *Xoc* du Mali avait montré que seul 14% des souches n'étaient pas capables de contourner le gène de résistance *Rxo1* (Thèse Tekete, 2019) ; et que ce gène ne sera pas conseillé dans le cadre de la lutte contre la BLS au Sénégal. L'utilisation du schéma MLVA-16 développé pour *Xanthomonas oryzae* (L. Poulin et al. 2015b) a permis de discriminer les isolats *Xoc* en 10 haplotypes regroupés en 3 complexes clonaux.

### 3.2.5 Perspectives

La caractérisation des *Xoc* a permis de mettre en place les premiers jalons de l'étude sur la strie bactérienne du riz au Sénégal. Cette étude qui a abouti à l'identification de 2 gènes résistants va permettre de faire un petit pas sur la stratégie de lutte génétique contre le BLS. Il sera aussi possible grâce à un bon programme de sélection de transférer ces deux gènes de résistance contre les *Xoc* du Sénégal au niveau de variétés déjà vulgarisées qui ont de bons comportements agronomiques mais sensibles au BLS.

**Caractérisation pathotypique et moléculaire de *Xoc* au Sénégal**

Hamidou Tall[1, 2], Boris Szurek[3], Mathilde Hutin[2] and Valerie Verdier[2]

[1] Institut Sénégalais de Recherches Agricole (ISRA), Sénégal

[2] IRD, Cirad, Univ. Montpellier, IPME, Montpellier, France

[3] INERA, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

[3] USTT-B, FST, DER, LaboREM-Biotech, Bamako, Mali.

**Résumé :**

La strie bactérienne du riz (BLS), est une maladie causée *par Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* (*Xoc*), a été signalé pour la première fois au Sénégal par Trinh en 1980. Le BLS représente une grave menace pour la culture du riz en Afrique de l'Ouest. La caractérisation de la diversité pathotypique et génétique des populations bactériennes est essentielle pour la gestion des variétés résistantes aux agents pathogènes. Les tests de pathogénicité montrent que toutes les souches sont virulentes sur la variété de riz sensible Kitaake. Le phénotypage de Kitaake *RXo1*, Carolina Gold et IRBB1 a montré que les gènes *Xo1* et *Xa1* contrôlent 99% des isolats testés, et que l'analyse MLVA a identifié 10 haplotypes regroupés dans 3 complexes clonaux qui sont définis par un unique locus variant (SLV, single locus variant) et 4 singletons différant les uns des autres par 2 à 7 loci. Dans la région de Saint Louis où le plus grand nombre de souches a été isolé, la diversité génotypique de la collection de *Xoc* provenant de Podor est plus importante que la collection de Dagana d'après la richesse estimée par la procédure de raréfaction avec des valeurs de MLG de 4,056 et 2,517 respectivement. Les souches collectées en 2014 sont beaucoup plus diverses que celle collectée en 2015, et des liens de descendance sont observables entre les haplotypes 8 et 9, et 1 et 2.

**Introduction**

La strie foliaire (BLS) causée par *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* (*Xoc)* est une maladie *é*mergente en Afrique de l'ouest. Elle a été décrite pour la première fois aux Philippines en 1918 et s'est répandue en Asie (Mew 1989) ainsi qu'en Afrique notamment au Mali (Gonzalez et al. 2007), au Burkina Faso (I. Wonni, Ouedraogo, et Verdier 2011), et a récemment été signalée à Madagascar (L. Poulin et al. 2014b), au Burundi (Afolabi, Milan, Amoussa, et al. 2014) et en Ouganda (Afolabi, Milan, Poulin, et al. 2014). Bien que signalées au Sénégal depuis les années 1980 (T. T. Trinh 1980), il n'existe pas de collection de souches ni d'information sur la caractérisation des souches de *Xoc*, sur leur variabilité et la virulence de l'agent pathogène. Il n'existe pas non plus de données sur les sources de résistance disponibles au Sénégal. Il est noté aussi une absence d'information sur les indices de la maladie (incidence et sévérité), sur la cartographie de la présence de cette maladie du riz au Sénégal. Bien que moins dévastateur que le BB, les pertes de rendement dues à la strie bactérienne varient généralement

de 0 à 20 % selon la variété de riz  en présence et les conditions climatiques (Shu Huang Ou et Britain 1985). Sans des vents et des pluies forts, la propagation secondaire du BLS est limitée et l'effet de la maladie diminue rapidement à mesure que la croissance de nouvelles feuilles compense les dommages causés aux feuilles infectées (Ou et Britain 1985). Toutefois, dans des conditions favorables à la propagation, le BLS peut affecter des champs entiers et causer des dommages comparables à ceux de BB, avec une réduction du rendement jusqu'à 30 %. *Xoc* pénètre dans la feuille de l'hôte principalement par  les stomates, se multiplie dans la cavité substomatale, puis colonise les espaces intercellulaires du parenchyme (Niño-Liu, Ronald, et Bogdanove 2006a). Comme *Xoo*, *Xoc* peut également pénétrer à l'intérieur de son hôte en passant par les blessures, mais il reste limité à l'apoplaste des tissus du monophylle et n'envahit pas le xylème (Shu Huang Ou et Britain 1985). Au cours de l'invasion, l'exsudation jaune formant de petites billes dorées à la surface des feuilles est un signe typique du BLS. Ces exsudats servent à la dispersion de la bactérie, via les eaux d'irrigation ou via des facteurs météorologiques tel que le vent, la pluie ou des facteurs biotiques et anthropiques tels que les insectes, l'humain ou le matériel agricole (T. W. Mew et al. 1993). Par ailleurs, le BLS est aussi transmise par les semences contaminées rendant possible sa dissémination d'un continent à l'autre.

Une fois à l'intérieur de l'hôte, *Xoc* peut transloquer des protéines effectrices dans les cellules végétales via son système de sécrétion de type III pour détourner les processus biologiques de l'hôte afin de créer des conditions favorables à sa colonisation (Bogdanove et al. 2011). Ce système de sécrétion est essentiel à la croissance bactérienne et  au développement des symptômes de la maladie en contexte compatible (J R Alfano et Collmer 1997). La capacité de la plupart des bactéries phytopathogènes du genre *Xanthomonas* à infecter leurs hôtes repose sur l'action d'une famille spécifique de protéines appelées effecteurs TAL. Les TALEs sont de véritables facteurs de transcription qui sont injectés dans les cellules végétales via le système de sécrétion de type III et qui se lient spécifiquement aux promoteurs de certains gènes hôtes et activent leur transcription (Pérez-Quintero et al. 2015; Schandry et al. 2018). L'ordre et la séquence en acide aminés des répétitions du domaine central d'un TALE détermine la séquence dans l'ADN génomique de la plante à laquelle le TALE se lie spécifiquement. Si l' EBE se situe dans la région promotrice d'un gène, les TALE activent l'expression du gène (Hutin et al. 2015; Schandry et al. 2018). Chez de nombreuses bactéries du genre *Xanthomonas* les TALE jouent un rôle majeur dans l'interaction.

Afin d'empêcher le développement de la maladie, les plantes ont développé au cours de l'évolution différents mécanismes de résistance TAL dépendante. Le premier implique la présence d'une EBE en aval d'un gène de résistance dit « exécuteur » (E) et dont l'induction va bloquer le développement de la maladie. Le deuxième type de résistance est dit par « perte de sensibilité » et implique la mutation de l'EBE reconnu en aval d'un gène de sensibilité. Finalement la reconnaissance des TALE

indépendamment de leur domaine d'activation de la transcription par des protéines de type NB-LRR peut aussi permettre la résistance.

On trouve un nombre de TALE variables chez les différentes espèces de *Xanthomonas* mais seule un ou deux ont un rôle connu dans l'interaction. De manière intéressante *Xoc* est l'espèce qui contient le plus grand nombre d'effecteur TALE, celui-ci pouvant aller jusqu'à 26. Pourtant, seul un gène de sensibilité au BLS a été identifié. Il s'agit du transporteur de suflate SULTR3 ; 6 induit par l'effecteur Tal2g. À ce jour toutes les souches de *Xoc* testées induisent ce gène. Un autre gène *OsERF#123* qui est un gène de sensibilité pour la BLS est induit par de nombreuses souches asiatiques de *Xoc* via un autre TALE, Tal3C. Il n'a pas été montré que celui-ci favorisait le développement du BLS. Dans la diversité du genre *Oryza*, aucun polymorphisme naturel dans l'EBE ciblé par Tal2g n'a été identifié alors qu'un tel allèle aurait pu représenter une source de résistance à large spectre contre la BLS. En réalité, très peu de sources de résistance au BLS sont à ce jour disponible.

En 2005, Zhao et ses collaborateurs ont identifié un gène du maïs, *Rxo1*, qui confère la résistance à une diversité de pathogènes dont *Xoc* lorsqu'il est transformé dans le riz. Cela démontre la faisabilité du transfert de gènes *R* non hôte entre les céréales et fournit ainsi un outil précieux de contrôle de la strie foliaire du riz (B. Zhao et al. 2005). L'effecteur d'avirulence qui correspond à *Rxo1*, désigné *avrRxo1*, a été identifié dans le génome de certaines souches de *Xoc.* De manière intéressante, alors qu'il est présent dans la majorité des souches de *Xoc* asiatiques, sa présence est plus variable dans les souches d'Afrique de l'ouest caractérisée jusqu'ici.

Le deuxième gène de résistance cloné contre la BLS a lui été identifié chez le riz dans la variété Carolina Gold. Cette résistance est conférée par un seul gène dominant nommé *Xo1* situé sur le chromosome 4. Il code pour une protéine de type NB-LRR et déclenche une résistance médiée par les TALE indépendamment de leur capacité à induire la transcription, de leurs séquences en RVDs et donc de leur capacité à lier l'ADN. *Xo1* confère une résistance totale à toutes les souches de *Xoc* d'Afrique de l'ouest testées à ce jour (L. R. Triplett et al. 2016a), il est en revanche inefficace contre la majorité des souches asiatiques. Ceci s'explique par la présence d'un effecteur chez ces souches, nommé Tal2h, qui code pour un TALE tronqué (TruncTAL) capable de supprimer la résistance médiée par *Xo1* (Read et al. 2016). Il a été montré que ce TAL tronqué interagissait de manière directe ou indirecte avec *Xo1* (Read, Moscou, et al. 2020). Une version plus courte de Tal2h (6 répétitions) avec du polymorphisme dans les régions 3' et 5' du TAL existe chez les souches africaines mais ne permet pas de supprimer la résistance médiée par Xo1.

Le séquençage des génomes complets de dix souches de *Xoc* en 2015 dont 3 provenant d'Afrique de l'ouest a permis d'analyser la diversité du contenu en TALE de souches géographiquement éloignées

(Wilkins et al. 2015)). De façon surprenante et contrairement à ce qui est observé chez *Xoo*, le contenu en TALE est globalement conservé bien qu'ils permettent de distinguer les souches africaines des souches asiatiques. Cinq TALE sont totalement conservés chez toutes les souches. En 2006 Gonzalez et al. s'étaient intéressés à la diversité moléculaire de souches de *Xanthomonas oryzae* originaire d'Afrique de l'ouest. Cette étude avait permis de différencier 5 haplotypes au sein de souches d'Afrique de l'ouest basé sur une étude RFLP et avait montré que ces haplotypes étaient clairement distinct de ceux trouvé en Asie (Gonzalez et al. 2007a). Une deuxième étude s'est intéressée spécifiquement à la diversité des populations de *Xoc* du Mali et du Burkina Faso. Une analyse de séquence multilocus (MLSA « Multi Locus Sequence Analysis) basée sur 6 gènes de ménages a permis de distinguer différents groupes (I. Wonni et al. 2014). L'analyse par RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) du contenu en TALE a permis d'identifier 18 profils différents. Ces résultats ont donc montré qu'il existe de la diversité dans les populations africaines de *Xoc*. Finalement en 2015, un schéma MLVA (« Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis ») a été développé pour génotyper les souches de *Xanthomonas oryzae* et appliqué à une collection de 338 souches comprenant 152 *Xoc* (Lucie Poulin et al. 2015). Ces résultats montrent qu'à l'exception de 2 souches originaires de Chine, les souches asiatiques et les souches africaines forment deux clusters distincts. Aucun des haplotypes identifiés n'est partagé par des souches de différents pays reflétant le fort pouvoir de discrimination de ce schéma. Par ailleurs, il a aussi permis de différencier des souches du Mali provenant du même champ.

Dans toutes ces études, on ne retrouve aucune souche de *Xoc* du Sénégal, puisqu'elles n'avaient jusqu'ici jamais été formellement rapportées (ie isolées et caractérisées au niveau moléculaire).

Ainsi, afin d'évaluer la présence de la BLS au Sénégal, des missions de prospection et de collecte dans la majeure partie des régions rizicoles du Sénégal ont été organisées de 2015 à 2016 pour échantillonner dans les parcelles de riz. Une collection de souches de *Xoc* a pu être constitué et caractérisé. Les résultats obtenus montrent une forte diversité des souches de *Xoc* présentes au Sénégal.

**Matériels et méthodes**

**Prospection et échantillonnage**

La collecte a couvert les principales zones de production du riz qui correspondent aux régions Sud et Nord du pays et une partie de la région de Tambacounda et de Kédougou (**Figure 26**) selon un pas d'échantillonnage variable (10 à 20km) en fonction de l'importance des parcelles de riz et des variétés utilisées entre 2 points de collecte. Les échantillons prélevés sont des feuilles de riz infectées présentant des symptômes de BLS dans les parcelles. Dix feuilles en moyenne ont été collectées par parcelle avec à chaque fois une seule feuille par plante prélevée. Les coordonnées des points de

collectes ont été relevées à l'aide d'un appareil GPS. Chaque échantillon a été identifié avec un numéro de code de collecte. De même, les noms des variétés sur lesquelles le prélèvement a été effectué ont été relevés. Les échantillons collectés ont été mis dans des sachets plastiques et conservées dans une glacière réfrigérée pendant toute la journée de collecte. Une fiche de notation a été jointe à chaque échantillon afin de bien suivre les analyses microbiologiques au laboratoire pour chaque échantillon. Une fois au laboratoire, les échantillons ont été conservés au congélateur à -20 °C jusqu'au moment des isolements des souches bactériennes.

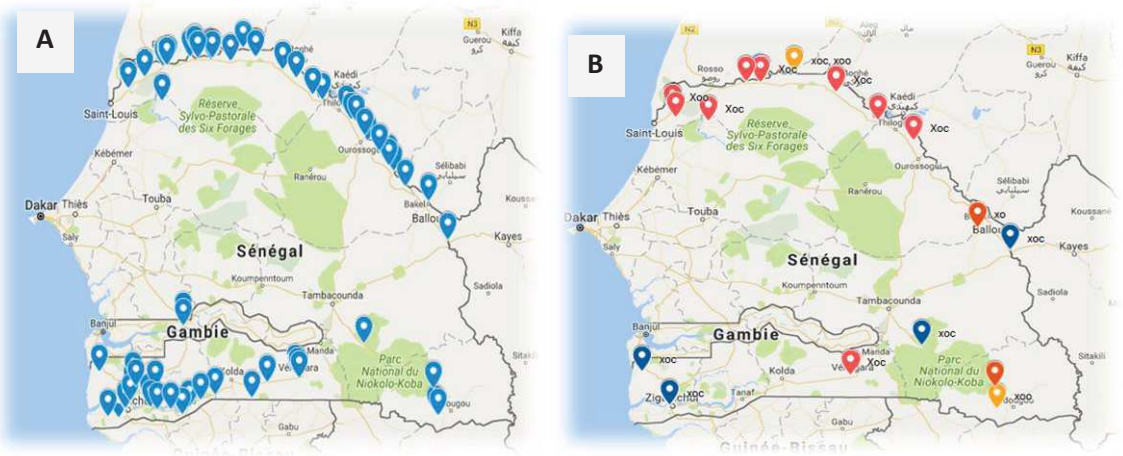



**Figure 26 :** Carte du Sénégal montrant : **A** les sites d'échantillonnage et **B** les sites où Xoo, Xoc et de *Xo* ont été détectés au Sénégal de 2O16 à 2017

**Analyses microbiologiques et moléculaires**

**Isolement des souches de *Xoc***

L'isolement des bactéries a été effectué à partir d'un fragment de feuille de 4 à 5 cm désinfecté successivement dans de l'alcool à 75 %, de l'eau de javel 0,1 % puis rincé deux fois dans de l'eau distillée et stérilisée. Le fragment est écrasé dans un tube eppendorf après avoir été plongé dans de l'azote liquide pendant 10mn. Et 1ml d'eau distillée et stérilisée est ajouté au broyat. Un aliquote de 50µl de cette solution est ensuite étalé sur le milieu de culture PSA (10 g de Peptone, 10 g de Sucrose, 16 g d'Agar et 1 g d'Acide glutamique par litre) complémenté avec des antibiotiques (cephalexine 40mg/L, Kasugamycine 20mg/L et Actidione 50mg/L). Les cultures sont alors incubées pendant 72h à 28 °C. Les

colonies dont l'aspect ressemble à celui des bactéries *Xanthomonas oryzae* (jaune claire, circulaire, muqueuse, convexe, brillante, lisse) sont purifiées sur du PSA sans antibiotiques, mises en tubes dans une solution nutritive PSA liquide-glycerol à 30% et conservées à -80°C.

**Test PCR multiplex**

La confirmation des *Xoc* isolés est faite par PCR multiplex spécifique de pathovars de *X. oryzae* comme décrit par Lang et al (Lang et al. 2010b). Les séquences des 4 paires d'amorces utilisées pour la PCR sont indiquées dans le tableau 7. Cette PCR peut se réaliser aussi bien sur colonie bactérienne que sur de l'ADN génomique. Sur colonie, une moitié d'oeuse de bactéries est dénaturée pendant 10mn à 95°C dans un tube PCR contenant 100µl d'eau distillée et stérilisée. Lorsque la PCR est réalisée sur l'ADN génomique (ADNg), l'extraction d'ADN est réalisée en utilisant le Kit "Wizard Genomique DNA Purification" de Promega. Le volume réactionnel d'un tube en PCR multiplex est de 25µl. Il est constitué de 13,4 µl d'eau distillée, de 5µl de buffer 5X, de 0,5µl de dNTPs, de 4µl d'amorces à 10µM, de 0,1µl de taq polymerase et de 2 µl d'extrait bactérien ou d'ADNg. Les échantillons sont mis dans un thermocycleur où ils subissent 3mn de dénaturation initiale à 95°C, puis 31 cycles de réaction : (i) 30s de dénaturation à 95°C, (ii) 30s d'hybridation à 60°C, (iii) 2mn d'élongation à 68°C suivi d'une phase d'élongation finale de 3mn à 68°C. À la fin des cycles, les échantillons sont maintenus à 4°C dans le thermocycleur avant de les mettre en conservation à -20°C. Ensuite, ils sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1%. La révélation est faite après avoir plongé le gel dans un bain de bromure d'éthidium pendant 15mn puis rincé à l'eau pendant 10mn. La visualisation est faite sur une table à UV avec un appareil photographique (**Figure 27**).

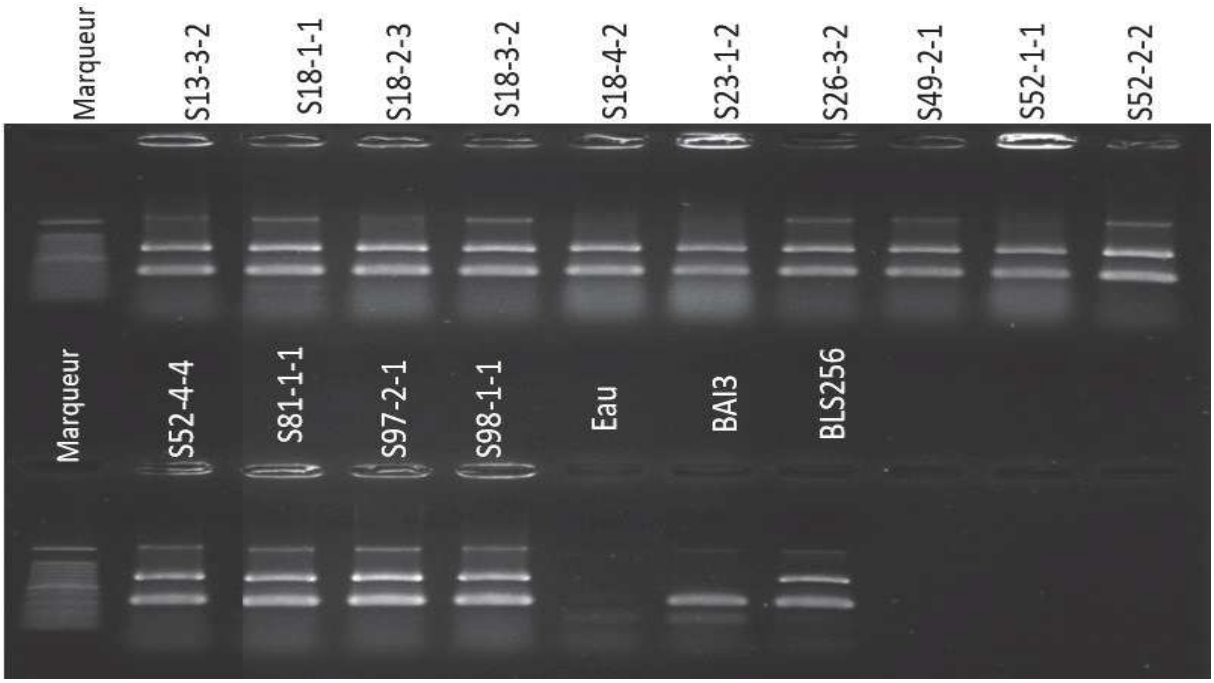



**Figure 27 :** Gel d'agarose de PCR multiplex pour la confirmation du pathovar *oryzicola* avec deux témoins positifs à savoir BAI3 (*Xoo*) du Burkina Faso et BLS256 (*Xoc*) de Philippine et un témoin négatif qui est l'eau

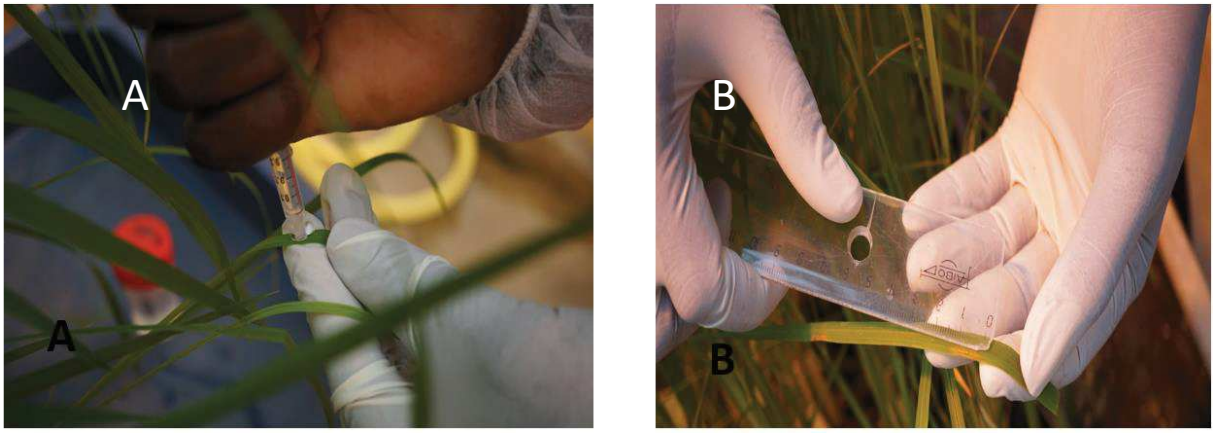



**Figure 28 :** Méthode utilisée pour les tests pathogénicité de *Xoc*.

A. inoculation par infiltration foliaire sur des plants de Kitaake âgés de 35 jours ; B. mesure de la longueur des lésions 15 jours après inoculation

**Test de pouvoir pathogène**

Le test du pouvoir pathogène de souches *Xoc* isolées et confirmées par PCR multiplex est réalisé sur les variétés de riz Kitaake, Kitaake-*Rxo1*, Carolina Gold et IRBB1. L'inoculation de *Xoc* sur Kitaake (30 jours après semis) se fait par infiltration des feuilles comme décrit par Reimers et Leach (1991). Les Souches conservées à -80°C ont été étalées sur milieu PSA et incubées pendant 48h à 28°C. Elles sont ensuite resuspendues dans des flacons contenant de l'eau distillée et ajustées à une Densité Optique ($OD_{600}$) de 0,2 (approximativement $10^8$ bactéries par ml). Ces flacons d'inoculum sont utilisés pour inoculer par infiltration (**Figure 28A**). Chaque souche est inoculée sur trois plants de riz indépendant et sur trois feuilles par plantes et sur chaque feuille 3 infiltrations sont réalisées. Ces expériences ont été répétées trois fois pour chacune des souches de manière indépendante. Les stries translucides dues à *Xoc* sont visibles cinq jours après inoculation. La virulence des souches est évaluée en fonction de la longueur des lésions induites 15 jours après inoculation (**Figure 28B**).

**Génotypage MLVA**

La collection de souches a été génotypée à l'aide du schéma MLVA-16 développé pour *Xanthomonas oryzae* (L. Poulin et al. 2015b). En bref, quatre réactions PCR multiplex, composées chacune de quatre paires d'amorces (**Tableau 7**) marquées par fluorescence, ont été utilisées pour génotyper chaque souche à l'aide du kit QIAGEN Multiplex PCR (Qiagen, Courtabœuf, France). 35 cycles de 94°C pendant 30 s, 60°C pendant 1 min 30 s et 72°C pendant 1 min ont été utilisés pour les mix PCR 1 et 2 tandis que 25 cycles avec une température d'élongation de 64°C ont été utilisés pour les mix PCR 3 et 4. Les produits PCR ont été dilués avant d'être mélangés avec le marqueur de taille Gene Scan LIZ500 ou LIZ600 et du formamide Hi-Di (Applied Biosystems). Les électrophorèses capillaires ont été réalisées avec le séquenceur ABI 3500 XL de la plateforme GenSeq (Université de Montpellier, France).

**Notation des données**

La taille des fragments pour chaque locus et souche a été estimée à l'aide de Gene Mapper version 4.0 (Applied Biosystems, Life Technologies, Carlsbad, CA). Les tailles des amplicons ont ensuite été converties en nombre de répétitions à l'aide de la formule suivante : nombre de répétitions = (taille de l'amplicon - tailles des régions flanquantes)/ (taille du motif). Les tailles des régions flanquantes pour chaque locus ont été déterminées après reséquencage (Sanger) de la souche de *Xoc* de référence MAI3 provenant du Mali. Lorsque cela était nécessaire, le nombre de répétitions a été arrondi au nombre entier le plus proche, comme recommandé précédemment (Pourcel et Vergnaud 2011).

**Tableau 7**: Liste des séquences d'amorces utilisées lors du PCR multiplex spécifique de pathovars de *X. oryzae* décrit par Lang et al (Lang et al. 2010b)

| **Bactéries** | **Nom** | **Séquences (5'-3')** | **Taille des bandes (pb)** |
|---|---|---|---|
| *X. oryzae* | Xo3756F | CATCGTTAGGACTGCCAGAAG | 324 |
| | Xo3756R | GTGAGAACCACCGCCATCT | |
| *X. oryzae* pv. *oryzae* | Xoo281-80F | GCCGCTAGGAATGAGCAAT | 162 |
| | Xoo281-80R | GCGTCCTCGTCTAAGCGATA | |
| *X. oryzae* pv. *oryzicola* | Xoc3866F | ATCTCCCAGCATGTTGATCG | 691 |
| | Xoc3866R | GCGTTCAATCTCCTCCATGT | |
| | Xoc3864F | GTGCGTGAAAATGTCGGTTA | 945 |
| | Xoc3864R | GGGATGGATGAATACGGATG | |

**Analyses génétiques**

La richesse et la diversité génotypiques ainsi que la diversité génétique non biaisée de Nei ont été calculées à l'aide du package R poppr v.2.8.6 (Kamvar, Brooks, et Grünwald 2015). Les relations phylogénétiques entre les haplotypes (profils alléliques) représenté sous forme de minimum spanning tree ont été réalisés à l'aide d'un algorithme combinant le BURST optimal global (goeBURST) et les distances euclidiennes avec le logiciel PHYLOViZ 2.0 (Francisco et al. 2012). Les haplotypes différant par un seul locus (SLV, single locus variant) ont été regroupés en complexes clonaux (CC).

**Résultats et discussions**

**Échantillonnage et isolement**

Lors des campagnes agricoles de 2015 et 2016, des missions d'échantillonnage et de collecte ont été effectuées dans les grandes régions du Sénégal, productrices de riz que sont Saint Louis, Matam, Kédougou, Tambacounda, Kolda, Sédhiou et Ziguinchor. Au total 103 échantillons de feuille de riz présentant des symptômes de BLS ont été collectés dans ces régions (**Figure 26 A**). Chaque échantillon consiste en un lot de 10 feuilles infectées et chaque feuille provient d'une seule plante. Lors de l'analyse microbienne, une seule feuille par échantillon est utilisée pour l'étape d'isolement bactérien. Au total, quatre-vingt-onze (91) isolats présentant les caractéristiques de *Xoc* sur milieu PSA (des colonies jaune pâle, rondes, lisses, entières, bombées et mucoïdes) ont été isolés et confirmés par PCR multiplex. Tous les isolats obtenus sont conservés à -80°C à l'IRD de Montpellier, accompagnés de leurs codes d'isolement et de conservation (**Tableau 8**). La majorité des souches a été isolé sur *Oryza sativa* et quelques fois *Oryzae glaberrima* et sur du NERICA qui sont des variétés vulgarisées et adoptées par les producteurs. Ce pathogène peut également causer le BLS chez des espèces sauvages comme *Oryza barthii*.

Sur 103 échantillons de feuilles de riz infectées au BLS, l'isolement de *Xoc* n'a pu être réussi que dans que 10 sites (**Figure 26 B**) soit un taux de réussite de 9,71 %. Ce faible taux de réussite d'isolement de la bactérie peut être dû à l'absence de *Xoc* vivant au moment de l'isolement malgré la présence des symptômes. Dans ces conditions, il aurait été intéressant de réaliser un test de diagnostic PCR directement sur le liquide de broyat de feuilles infectées ou bien d'utiliser le test LAMP (pour Loop mediated isothermal Amplification) décrit par Lang et al. 2015. Les résultats des travaux de Collard et al ont montré que l'amplification par la technologie LAMP est 100 à 1000 fois plus sensible (limite de détection : 1 à 0,1pg/µL) que celle par PCR (0,1ng/µl) (COLLARD et al. 2017). Ainsi même si l'isolement n'était pas réussi, on aurait pu confirmer le passage du pathogène dans la feuille grâce à la détection de la présence de son ADN.

**Tableau** 8 : liste des souches de *Xoc* isolées au Sénégal de 2016 à 2017 et utilisées dans cette étude

| Strain Isolation code | Strain conservation code | Origin | Region | Sampling Site | Sampling Year | Hôte | Virulence | Avr*RXo1* | Reference |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* | | | | | | | | | |
| S12-2-1 | CIX2269 | Senegal | Matam | Ndouloumadji | 2016 | *O. sativa* | 1 | - | This study |
| S13-1-4 | CIX2270 | Senegal | Saint louis | Haïré Laou | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S13-3-1 | CIX2271 | Senegal | Saint louis | Haïré Laou | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S13-3-2 | CIX2272 | Senegal | Saint louis | Haïré Laou | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S14-1-1 | CIX2274 | Senegal | Saint louis | Bolo Birane | 2016 | *O. sativa* | 1 | - | This study |
| S18-1-1 | CIX2275 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S18-1-2 | CIX2276 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S18-1-3 | CIX2277 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | *O. sativa* | 3 | - | This study |
| S18-1-4 | CIX2278 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | *O. sativa* | 3 | - | This study |
| S18-1-5 | CIX2279 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S18-1-6 | CIX2280 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S18-1-7 | CIX2281 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S18-1-8 | CIX2282 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S18-1-9 | CIX2283 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S18-1-10 | CIX2284 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 3 | - | This study |
| S18-1-11 | CIX2285 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | - | This study |
| S18-1-12 | CIX2286 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 3 | - | This study |
| S18-1-13 | CIX2287 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | - | This study |
| S18-1-20 | CIX2288 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O.sativa | 2 | - | This study |
| S18-2-1 | CIX2289 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | - | This study |
| S18-2-2 | CIX2290 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | - | This study |
| S18-2-3 | CIX2291 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | *O. sativa* | 2 | - | This study |
| S18-2-4 | CIX2292 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | - | This study |
| S18-2-5 | CIX2293 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | - | This study |
| S18-2-20 | CIX2294 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | - | This study |
| S18-3-1 | CIX2295 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | - | This study |
| S18-3-2 | CIX2296 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S18-3-3 | CIX2297 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S18-3-4 | CIX2298 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S18-3-5 | CIX2299 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S18-3-6 | CIX2300 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S18-3-7 | CIX2301 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S18-3-8 | CIX2302 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S18-3-9 | CIX2303 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| S18-3-10 | CIX2304 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S18-4-1 | CIX2305 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S18-4-2 | CIX2306 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S20-4-1 | CIX2307 | Senegal | Saint louis | Bolo Birane | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S23-1-1 | CIX2308 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S23-1-2 | CIX2309 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | - | This study |
| S23-1-3 | CIX2310 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | - | This study |
| S23-1-4 | CIX2311 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O.sativa | 2 | + | This study |
| S23-1-5 | CIX2312 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | + | This study |
| S23-1-6 | CIX2313 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | + | This study |
| S23-1-7 | CIX2314 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | + | This study |
| S23-1-8 | CIX2315 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | + | This study |
| S23-1-9 | CIX2316 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 2 | + | This study |
| S23-1-10 | CIX2317 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S23-1-11 | CIX2318 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S23-1-12 | CIX2319 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S23-1-13 | CIX2320 | Senegal | Saint louis | Ndiaye | 2016 | O. sativa | 1 | + | This study |
| S25-2-5 | CIX2321 | Senegal | Saint louis | Kolna | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S26-2-2 | CIX2322 | Senegal | Kolda | Anambe | 2016 | O. glaberima | 1 | - | This study |
| S26-2-6 | CIX2323 | Senegal | Kolda | Anambe | 2016 | O. glaberima | 1 | - | This study |
| S26-3-1 | CIX2324 | Senegal | Kolda | Anambe | 2016 | O. glaberima | 1 | - | This study |
| S26-3-2 | CIX2325 | Senegal | Kolda | Anambe | 2016 | O. glaberima | 1 | - | This study |
| S26-3-3 | CIX2326 | Senegal | Kolda | Anambe | 2016 | O. glaberima | 1 | + | This study |
| S26-3-4 | CIX2327 | Senegal | Kolda | Anambe | 2016 | O. glaberima | 1 | - | This study |
| S49-2-1 | CIX2328 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | NERICA | 1 | - | This study |
| S49-2-2 | CIX2329 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | NERICA | 1 | - | This study |
| S49-2-3 | CIX2330 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | NERICA | 1 | - | This study |
| S49-2-4 | CIX2331 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | NERICA | 1 | - | This study |
| S49-2-5 | CIX2332 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | NERICA | 2 | - | This study |
| S49-2-6 | CIX2333 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | NERICA | 1 | - | This study |
| S52-1-1 | CIX2334 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S52-1-2 | CIX2335 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S52-1-3 | CIX2336 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | + | This study |
| S52-1-4 | CIX2337 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | + | This study |
| S52-1-5 | CIX2338 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | + | This study |
| S52-1-6 | CIX2339 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | + | This study |
| S52-1-7 | CIX2340 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | + | This study |
| S52-1-8 | CIX2341 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S52-1-9 | CIX2342 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | + | This study |
| S52-1-10 | CIX2343 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| S52-1-11 | CIX2344 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S52-1-12 | CIX2345 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | + | This study |
| S52-2-2 | CIX2346 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S52-2-3 | CIX2347 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S52-2-4 | CIX2348 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S52-4-1 | CIX2349 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S52-4-2 | CIX2350 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S52-4-3 | CIX2351 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S52-4-4 | CIX2352 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 3 | + | This study |
| S52-4-15 | CIX2352 | Senegal | Saint louis | Fanaye | 2016 | O. sativa | 3 | + | This study |
| S81-1-1 | CIX2961 | Senegal | Tambacounda | Dialacoto | 2017 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S81-1-2 | CIX2962 | Senegal | Tambacounda | Dialacoto | 2017 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S81-1-4 | CIX2963 | Senegal | Tambacounda | Dialacoto | 2017 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S97-2-1 | CIX2979 | Senegal | Ziguinchor | Djibelor | 2017 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S97-2-2 | CIX2980 | Senegal | Ziguinchor | Djibelor | 2017 | O. sativa | 1 | - | This study |
| S98-1-1 | CIX2981 | Senegal | Ziguinchor | Djibelor | 2017 | O. sativa | 1 | - | This study |
| Xanthomonas oryzae pv. oryzicola (used as controls) | | | | | | | | | |
| mai-10 | LMG27222, CFBP7331 | Mali | O.Niger | Niono | 2003 | O. sativa | 2 | - | Gonzalez et al, 2007 |
| BLS256 | LMG27109, CFBP7109 | Philippine | Los Banos | IRRI | 1985 | O. sativa | 3 | + | Bogdanove et al, 2011 |
| Xanthomonas oryzae | | | | | | | | | |
| S69-1-2 | CIX2952 | Senegal | Saint louis | Ndioum | 2017 | O.sativa | 1 | na | This study |
| S69-2-3 | CIX2953 | Senegal | Saint louis | Ndioum | 2017 | O.sativa | 1 | na | This study |
| S69-2-9 | CIX2954 | Senegal | Saint louis | Ndioum | 2017 | O.sativa | 1 | na | This study |
| S69-3-3 | CIX2955 | Senegal | Saint louis | Ndioum | 2017 | O.sativa | 1 | na | This study |
| S69-3-4 | CIX2956 | Senegal | Saint louis | Ndioum | 2017 | O.sativa | 1 | na | This study |
| S69-3-6 | CIX2957 | Senegal | Saint louis | Ndioum | 2017 | O.sativa | 1 | na | This study |
| S69-3-8 | CIX2958 | Senegal | Saint louis | Ndioum | 2017 | O.sativa | 1 | na | This study |
| S69-3-9 | CIX2959 | Senegal | Saint louis | Ndioum | 2017 | O.sativa | 1 | na | This study |
| Xanthomonas oryzae (used as controls) | | | | | | | | | |
| XII-5a | CIX2766 | United States | Texas | na | 1987 | O.sativa | na | na | Jones et al, 1989 |

[+] Presence of *AvRXo1* ; [-] Absence of *AvRXo1* and na: data not available

Virulence classes were defined with 0; no symptom, 1; 1 to 10 mm, 2; 10 to 20mm, 3; 20 to 30mm, 4; 30 to 40 mm, and 5; more than 40mm. Lesion length beyond the circular infiltration site was measured at 14 days after inoculation of *Oryza sativa* variety Kitaake

.

**Détermination du pouvoir pathogène sur Kitaake**

La relation entre une plante et une bactérie met en jeu une interaction très étroite au niveau moléculaire. La virulence et l'agressivité sont les deux composantes de l'interaction plante-microorganisme. La virulence correspond à la capacité d'un micro-organisme à coloniser ou non un hôte donné (valeur qualitative du pouvoir pathogène). L'agressivité est une notion quantitative traduisant la sévérité et l'intensité d'une maladie, conduisant ainsi à la cinétique d'apparition des symptômes provoqués et le degré de multiplication *in planta* (Jones et Dangl 2006).

L'inoculation par infiltration des isolats obtenus sur la variété sensible Kitaake, a permis de tester la pathogénicité de ces souches de *Xoc*. Tous les isolats ont provoqué des lésions typiques de BLS, 10 à 15 jours après inoculation. La longueur des lésions observée varie de 5 à 31 mm (**Figure 29**) ce qui indique que tous les isolats testés sont agressives sur Kitaake. L'Analyse de variance à un facteur sur la longueur des lésions montre qu'il y a une différence significative entre les isolats ($p<0,001$).

L'ensemble des résultats de PCR (**Figure 27**) et de pathogénicité (**Figure 29**) confirme que les isolats testés sont des *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola*.

**Étude de la présence des effecteurs Tal2H et *AvrRxo1***

La résistance génétique des plantes est la méthode la plus indiquée pour mieux contrôler le *BLS*. Cependant, contrairement à *Xoo*, seuls quelques gènes ou QTL de résistance à *Xoc* ont été identifiés pour le contrôle de la maladie de la strie foliaire du riz. Dans la plupart des cas en Afrique, l'amélioration variétale repose essentiellement sur le transfert de sources de résistance efficaces dans les variétés adoptées par les producteurs. Au Sénégal, la résistance au BLS n'a jusqu'à ce jour jamais fait l'objet de programme de sélection. Afin d'évaluer si des sources de résistances contre les *Xoc* sénégalaises pourraient être déployées, nous avons criblés les souches isolées pour la présence de l'effecteur *AvrRxo1*, responsable d'un phénotype de résistance chez les riz transformés avec le gène de résistance du maïs *Rxo1*, et pour la présence de l'effecteur Tal2H responsable de la suppression de résistance médiée par le gène de résistance *Xo1*. Pour cela nous avons utilisé la lignée transgénique Kitaake transformée avec le gène *Rxo1*, et les variétés Carolina Gold et IRBB1 portant respectivement les gènes de résistance *Xo1* et Xa1 allélique de *Xo1*. La variété parental IR24 dont est dérivée la lignée isogénique IRBB1 a été utilisée en contrôle.

Ainsi 91 souches de *Xoc* sénégalaises ont été inoculées sur la lignée Kitaake-*Rxo1*, la variété Kitaake non transformée a été utilisée en contrôle. La souche BLS256 qui contient *AvrRxo1* a été utilisée en contrôle. Près de 81% des *Xoc* testés provoquent des lésions typiques de BLS chez Kitaake *Rxo1* **(Figure 30**). Il apparait ainsi que *Rxo1* est inefficace contre les souches *Xoc* du Sénégal. En comparaison, une

étude menée sur une collection de 28 souches de *Xoc* du Mali avait montré que seul 14% des souches étaient capables de contourner le gène de résistance *Rxo1* (Thèse Tekete, 2019). Afin de confirmer les résultats phénotypiques obtenus, la présence du gène codant pour l'effecteur *AvrRxo1* a été testée par PCR sur la collection sénégalaise. Tous les résultats de phénotypage ont été confirmé, c'est-à-dire que 81,32% des *Xoc* ne possèdent pas *AvRXo1* d'où le fort taux de sensibilité de Kitaake-Rxo1 aux souches de *Xoc* (**Tableau 8**). Ces résultats montrent que le déploiement de *Rxo1* dans les variétés sénégalaises serait inefficace contre la majorité des souches.

En revanche l'inoculation de Carolina Gold (*Xo1*) par les souches de *Xoc* du Sénégal a montré une réaction d'hypersensibilité à 99% des souches testées (**Figure 30**). Seul deux souches (S52-4-4 et S52-4-15) ont pu contourner la résistance conférée par *Xo1*. Ce résultat est différent des résultats obtenus par Triplett et al en 2016. Selon cet auteur, *Xo1* confère une résistance totale aux souches du clade africain de *Xoc*, représentant le premier gène de résistance dominant contre la strie bactérienne du riz (L. R. Triplett et al. 2016a). De façon non surprenante, puisqu'on sait aujourd'hui que *Xa1* est allélique de *Xo1*, la lignée isogénique IRBB1 a montré une réaction HR à 99% des *Xoc* testés et est sensible aux mêmes souches de *Xoc* (S52-4-4 et S52-4-15). Il a été montré que la capacité des souches de *Xoc* asiatiques à contourner la résistance médiée par *Xo1* était conférée par la présence d'un TALE tronqué (TruncTAL). Le fait que pour la première fois en Afrique de l'ouest soit identifié deux souches capables de contourner cette résistance pose plusieurs questions : (i) est ce que ces souches contournent la résistance par le même mécanisme que les souches asiatiques, c'est à dire grâce à un TruncTAL ? (ii) est-ce que ce sont des souches sénégalaises qui ont acquis un TruncTAL récemment ? (iii) Est-ce que la présence de ces souches résulte de l'introduction de souches asiatique au Sénégal ? A terme le séquençage de ces génomes permettra de répondre à toutes ces questions. Les analyses microsatellites réalisées dans le paragraphe suivant permettent de donner des éléments de réponse.

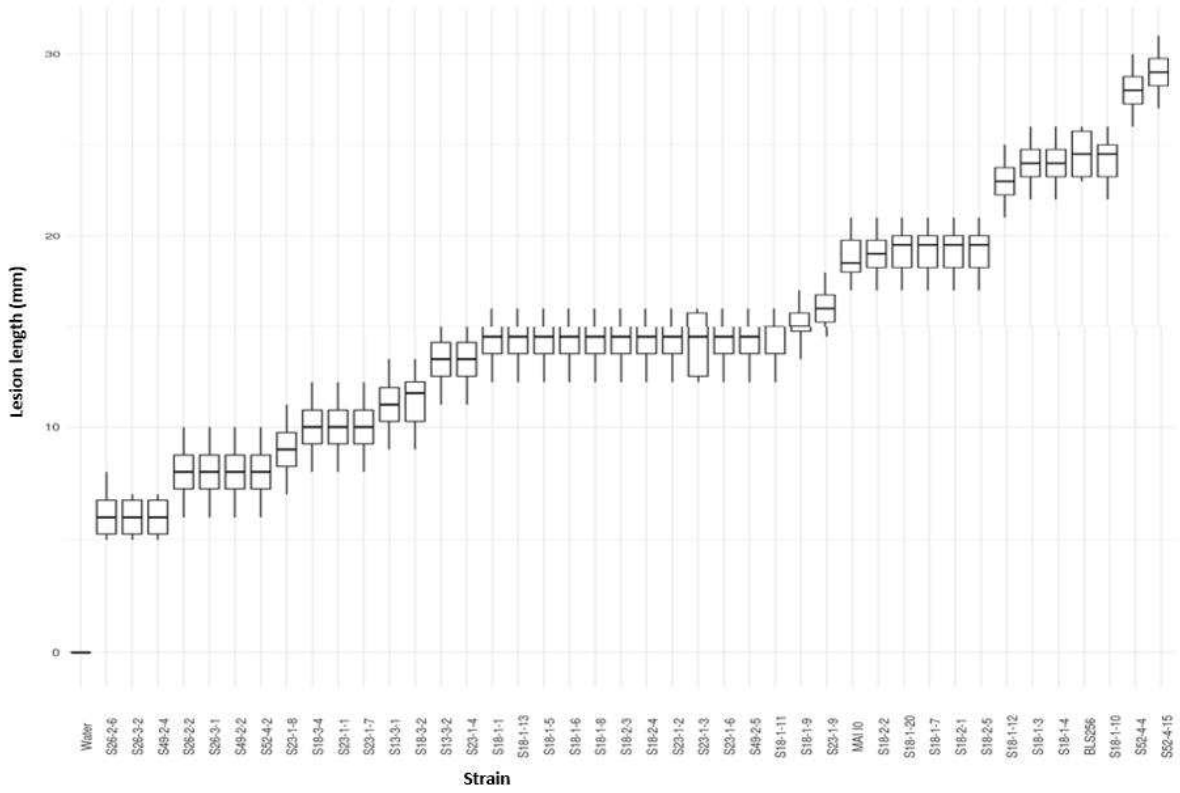



**Figure 29** : Agressivité des *Xoc* du Sénégal

La moyenne des longueurs de lésions soustraite de la taille du spot d'infiltration après 15 d'inoculation des feuilles de la variété de riz Kitaake avec 81 souches isolées du Sénégal et avec les souches de références BLS256 et MAI10. Chaque valeur représente la moyenne de la longueur de de 9 inoculations et l'expérience a été répétée 3 fois.

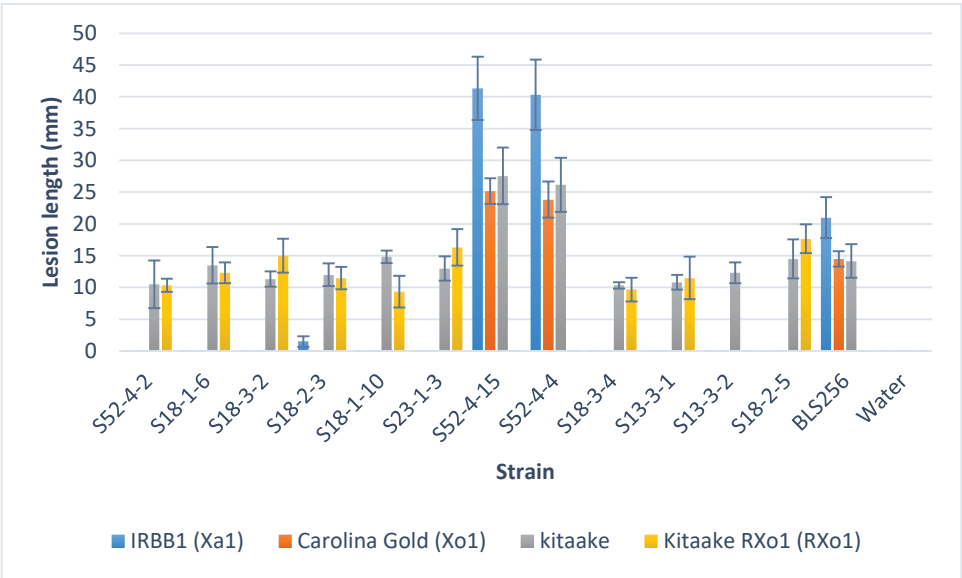



**Figure 30** : Agressivité des souches *Xoc* sur Carolina Gold (*Xo1*), sur IRBB1 (*Xa1*) et sur Kitaake *RXo1 (RXo1)*

**Analyse de la diversité génétique des *Xoc* du Sénégal**

Dans le but d'estimer la diversité génétique des souches de *Xoc* sénégalaise et la structure de ces populations, 56 souches ont pu être génotypées. Pour cela, nous avons utilisé le schéma MLVA-16 développé pour *Xanthomonas oryzae* (L. Poulin et al. 2015b). Ce schéma a dans un premier temps était optimisé après reséquençage de chaque locus chez les souches de *Xoc* de référence MAI3 et BLS256 originaires respectivement du Mali et des Philippines. Quatre loci ont été supprimé, le loci G58 qui contient 2 types de répétitions différentes et le loci G88 qui n'a pas pu être amplifié et reséquencé, de même que les loci G07 et G44 qui sont cependant présents chez *Xoo*. Nous avons ainsi travaillé avec un schéma composé de 12 loci dont 10 polymorphiques au sein de la lignée *Xoc* et 2 monomorphiques permettant de s'assurer que les souches typées sont bien des *Xoc*. Ce schéma nous a ainsi permis de définir 10 haplotypes (**tableau 9**).

Dans la région de Saint Louis (Podor, Dagana et Louga) ou le plus grand nombre de souches a été isolé, la diversité génotypique de la collection de *Xoc* provenant de Podor est plus importante que la collection de Dagana d'après la richesse estimée par la procédure de raréfaction avec des valeurs d'eMLG de 4,056 et 2,517 respectivement. L'indice de diversité génotypique de Simpson est plus élevé dans la localité de Podor avec une valeur de 1,379 contre respectivement 0,88 et 0,693 pour Dagana et Louga. Au contraire l'indice de diversité génétique de Nei est plus élevé dans la localité de Louga avec une valeur de 0,417 contre 0,395 et 0,088 pour Podor et Dagana respectivement (**tableau 9**). L'ensemble des souches de Dagana et de Podor proviennent chacune de 2 parcelles différentes et respectivement de 5 et 3 feuilles collectées. Ainsi la plus grande diversité observée à Podor où un moins grand nombre de feuilles est représenté dans la collection ne semble pas être la conséquence d'un biais d'échantillonnage. La diversité génotypique et la diversité génétique de l'ensemble de la collection est respectivement de 0,652 et 0,217.

Un minimum spanning tree a été généré pour analyser les relations entre haplotypes et a permis d'identifier 3 complexes clonaux qui sont définis par un unique locus variant (SLV, single locus variant) et 4 singletons différant les uns des autres par 2 à 7 loci (**Figure 31**). Tous les haplotypes comprennent des souches originaires d'une seule localité à l'exception de l'haplotype 7 (**Figure 31A**) qui est partagé par des souches collectés dans les 3 grandes régions étudiées, Saint Louis, Kolda et Ziguinchor. Kolda est situé à 730 km de Saint Louis et 185 Km de Ziguinchor. Les résultats obtenus montrent qu'il existe une importante diversité d'haplotypes au Sénégal, en conséquence la présence d'un haplotype commun dans ces 3 régions pourrait témoigner d'échange de matériel infecté entre régions éloignées. Les 2 autres complexes clonaux sont composés de souches venant uniquement de la région de Saint Louis. Le fait qu'il existe des haplotypes très différents les uns des autres au sein d'une région pourraient suggérer qu'il y a eu plusieurs introductions de la maladie au Sénégal. Une autre possibilité

est que l'analyse est biaisée par l'échantillonnage réalisé et que les souches reliant ces haplotypes n'ont pas été collectées. En effet si 7 sites différents sont représentés dans cette collection, les 55 souches analysées ne proviennent que de 13 feuilles différentes.

Il est intéressant de noter que les 38 souches collectées à Saint Louis en 2015 ne diffèrent les unes des autres que par 2 locus au maximum indiquant un probable lien de descendance entre ces souches (**Figure 31 B**). En revanche les souches collectées en 2014 sont beaucoup plus diverses, mais encore une fois des liens de descendance sont observables entre les haplotypes 8 et 9 et 1 et 2. Par ailleurs l'haplotype 3 qui contient des souches de Saint Louis de 2014 et 2015 est celui qui a le plus grand nombre de simple (haplotype 4), double (haplotype 6) ou triple (haplotype 5) locus variants. Les haplotypes 4, 6 et 7 contenants uniquement des souches de 2015 et 2016, l'haplotype 3 pourrait être un haplotype fondateur. Ces résultats sont cohérents avec une transmission de la maladie par les semences et suggèrent qu'il n'y a pas eu de nouvelles introductions de *Xoc* dans la région de Saint Louis en 2015 et 2016.

Nous nous sommes ensuite intéressés à la distribution des haplotypes par feuilles et par espèces du genre *Oryza* en distinguant les souches isolées de plantes cultivées (*Oryza sativa*) et de plantes sauvages (*Oryza barthii* majoritairement) (**Figure 32**). Nous avons ainsi pu observer que certaines feuilles contenaient jusqu'à 4 génotypes de *Xoc* différents. C'est notamment le cas de la feuille 1 du site 52 de Fanaye dans laquelle on retrouve des souches appartenant aux haplotypes 2, 3, 8 et 9 (**Figure 32 A**). De façon surprenante ces haplotypes ne forment pas un complexe clonal et présente jusqu'à 7 loci différents. Cela suggère que ces différents haplotypes ne cohabitent pas uniquement dans le champ mais sont aussi capables de co-infection à l'intérieur d'une même plante. Cependant, le plus souvent on retrouve au sein d'une feuille des souches appartenant à un ou deux haplotypes séparées d'un ou deux locus variants.

Au sein de l'haplotype 7, on retrouve des souches issues de plantes cultivées et sauvages indiquant que des souches présentant le même haplotype sont capables de coloniser les 2 hôtes (**Figure 32 B**). Ces plantes sauvages représentent donc des hôtes alternatifs qui pourraient servir de réservoir lorsqu'elles se maintiennent à l'intersaison.

Pour finir, nous nous sommes intéressés à la répartition de l'effecteur *AvrRxo1* dans ces souches. Deux haplotypes éloignés de 3 loci présentent des souches qui contiennent *AvrRxo1* et d'autres qui ne le contienne pas (**Figure 33**). Ces résultats suggèrent une dynamique évolutive plus importante des souches quant à l'acquisition ou à la perte de cet effecteur que quant à l'évolution des loci microsatellites de notre schéma.

En parallèle de ce travail, la collection mondiale de *Xoc* disponible à l'IRD a été génotypée. La majorité des souches du Sénégal se regroupe avec des souches originaires du Burkina Faso (CC26, CC27, CC25 et CC24) (**Figure 34**). Par ailleurs alors que très peu d'haplotypes sont partagés entre plusieurs pays, il est intéressant d'observer qu'un haplotype dans le CC24 est partagé par une souche du Burkina Faso et une souche du Sénégal. Ces résultats pourraient témoigner d'échanges de semences infectées entre ces deux pays. A contrario aucun complexe clonale ne regroupe des souches du Sénégal et du Mali alors que celle-ci groupent fréquemment avec des souches du Burkina Faso. L'haplotype 144 est partagé par 2 souches du Sénégal et une souche des Philippines et diffère d'un autre haplotype d'une souche sénégalaise par un locus. Si ce résultat n'est pas le fruit d'une contamination au laboratoire mais d'une introduction d'une souche asiatique au Sénégal, il sera décisif pour le déploiement de variété résistante. En effet les souches de *Xoc* asiatiques ne sont pas contrôlées par l'unique gène de résistance clonée au BLS, *Xo1*. Nos résultats de phénotypages avaient montré que deux souches sénégalaises contournaient la résistance chez les variétés Carolina Gold et IRBB1 contenant *Xo1*, posant la question de l'acquisition par des souches africaines d'un Tal tronqué similaire à celui des souches asiatiques pour le contournement. L'une des deux souches sénégalaises ayant cette capacité à contourner *Xo1* est celle qui partage le même haplotype qu'une souche asiatique. La seconde souche contournant *Xo1* n'a malheureusement pas pu être génotypée mais ces résultats suggéreraient donc plutôt une introduction récente d'une souche asiatique au Sénégal qui pourrait devenir prévalent si seul le gène de résistance *Xo1* était déployé pour contrôler la BLS.

**Tableau 9.** Diversité génétique global estimé à partir du schéma MLVA-12 pour *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* (n=56) sur les 5 localités échantillonnées.

| | | Richesse génotypique | | | Diversité génotypique | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Localités | N[a] | MLG[b] | eMLG[c] | SE[d] | H[e] | Simpson index | Hexp[f] |
| Dagana | 36 | 3 | 2,517 | 0,513 | 0,888 | 0,542 | 0,088 |
| Kolda | 1 | 1 | 1,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| Louga | 2 | 2 | 2,000 | 0,000 | 0,693 | 0,500 | 0,417 |
| Podor | 15 | 6 | 4,056 | 0,878 | 1,379 | 0,658 | 0,395 |
| Ziguinchor | 2 | 2 | 2,000 | 0,000 | 0,693 | 0,500 | 0,333 |
| Total | 56 | 10 | 3,540 | 0,990 | 1,438 | 0,652 | 0,217 |

[a] Nombre d'échantillons [b] Nombre d'haplotypes [c] MLG attendu basé sur la méthode de raréfaction

[d] Erreur standard à partir de la méthode de raréfaction [e] Indice de Shannon-Wiener [f] Diversité de Nei

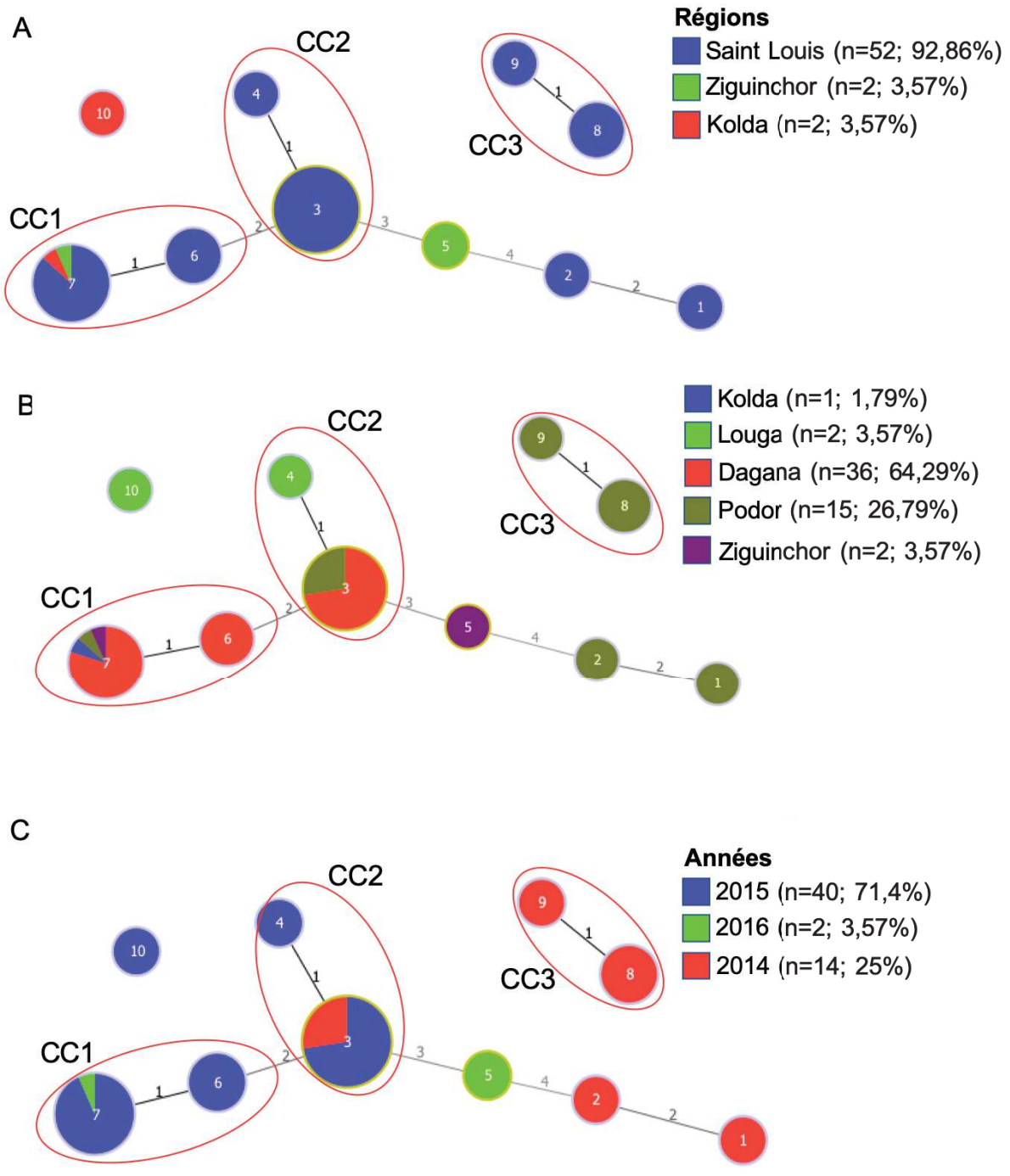



**Figure 31.** Minimum spanning tree des populations de *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* par A. Régions, B. Localités, C. Années**.**

Chaque cercle correspond à un haplotype donné, sa taille est corrélée au nombre de souches qu'il contient et le numéro de l'haplotype est indiqué à l'intérieur des cercles. Le chiffre entre les haplotypes correspond à la distance (nombre de loci différents) qui les sépare. Les complexes clonaux regroupant des haplotypes différant par un seul locus sont entourés en rouge. Les haplotypes différant par plus de 4 loci ne sont pas liés entre eux.

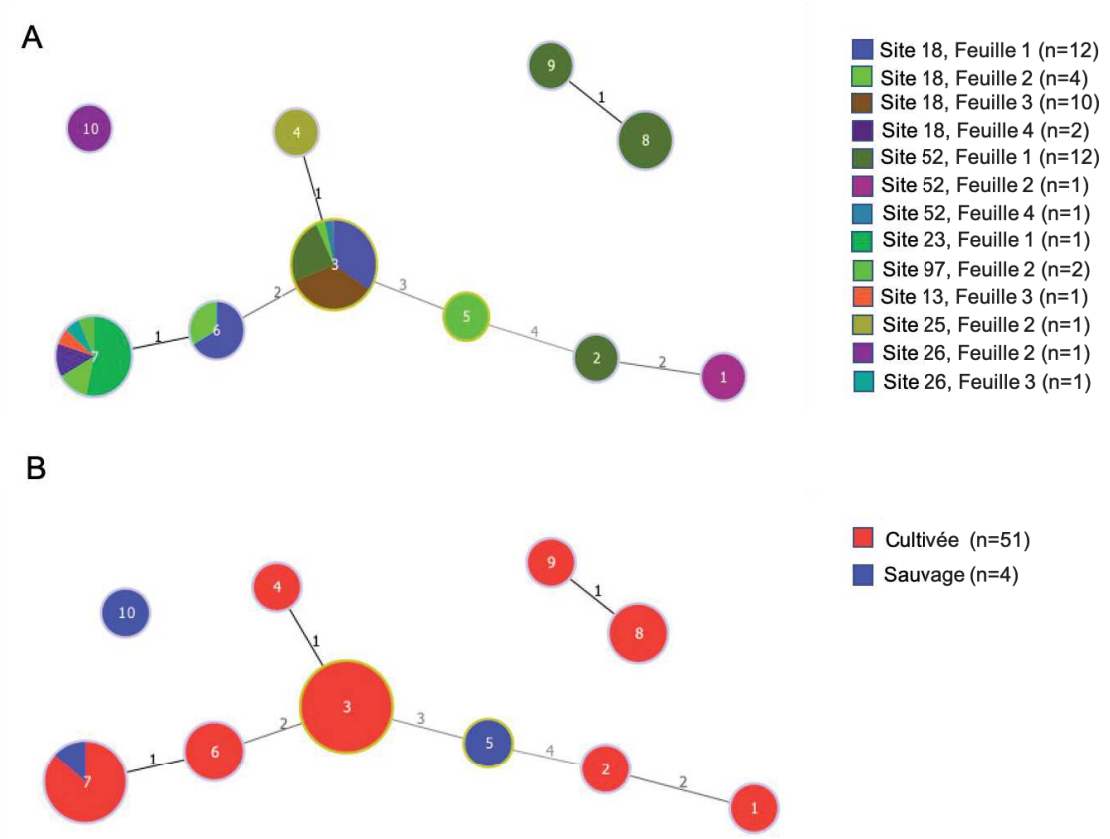



**Figure 32 :** Minimum spanning tree des populations de *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* par A. Feuilles d'origine, B. Hôtes d'origine.

Chaque cercle correspond à un haplotype donné, sa taille est corrélée au nombre de souches qu'il contient et le numéro de l'haplotype est indiqué à l'intérieur des cercles. Le chiffre entre les haplotypes correspond à la distance (nombre de loci différents) qui les sépare. Les haplotypes différant par plus de 4 loci ne sont pas liés entre eux.

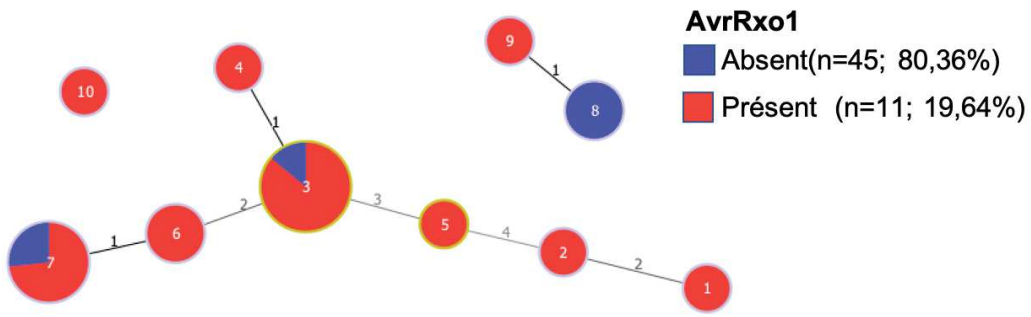



**Figure 33 :** Projection de la présence de l'effecteur AvrRxo1 sur un minimum spanning tree des populations de *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola*

Chaque cercle correspond à un haplotype donné, sa taille est corrélée au nombre de souches qu'il contient et le numéro de l'haplotype est indiqué à l'intérieur des cercles. Le chiffre entre les haplotypes correspond à la distance (nombre de loci différents) qui les sépare. Les haplotypes différant par plus de 4 loci ne sont pas liés entre eux.

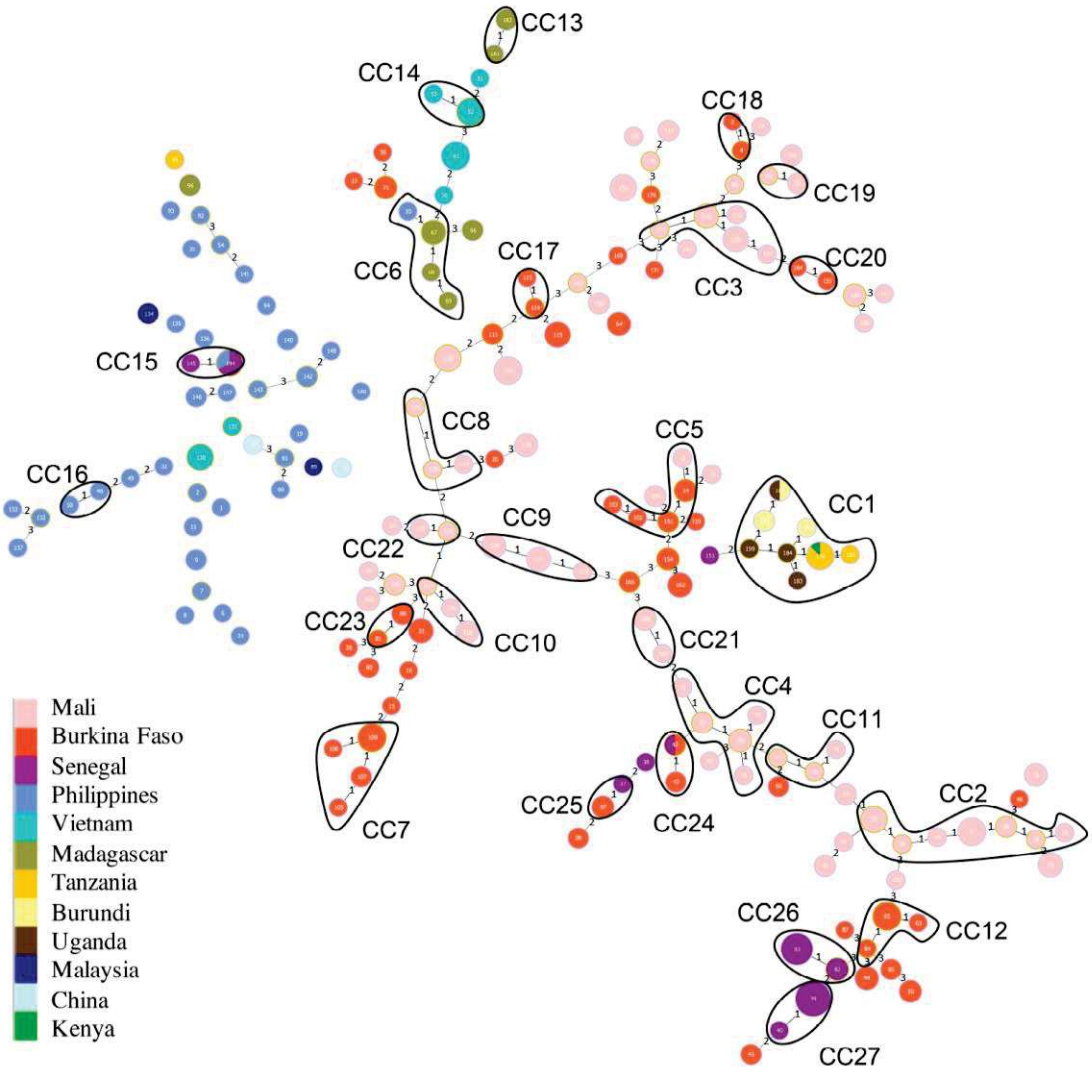



**Figure 34** : Minimum spanning tree de la collection mondiale de *X. oryzae* pv. *oryzicola***.**

Chaque couleur correspond à un pays donné. Chaque cercle correspond à un haplotype donné, sa taille est corrélée au nombre de souches qu'il contient et le numéro de l'haplotype est indiqué à l'intérieur des cercles. Le chiffre entre les haplotypes correspond à la distance (nombre de loci différents) qui les sépare. Les complexes clonaux regroupant des haplotypes différant par un seul locus sont entourés en noir. Les haplotypes différant par plus de 3 loci ne sont pas liés entre eux. Sicard et al. en préparation

**Références bibliographique** :


Afolabi, O., B. Milan, R. Amoussa, R. Koebnik, L. Poulin, B. Szurek, G. Habarugira, J. Bigirimana, et D. Silue. 2014. « First Report of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Burundi ». *Plant Disease* 98 (10): 1426-1426. https://doi.org/10.1094/PDIS-05-14-0504-PDN.

Afolabi, O., B. Milan, L. Poulin, J. Ongom, B. Szurek, R. Koebnik, et D. Silue. 2014. « First Report of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Uganda ». *Plant Disease* 98 (11): 1579-1579. https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0745-PDN.

Alfano, J R, et A Collmer. 1997. « The type III (Hrp) secretion pathway of plant pathogenic bacteria: trafficking harpins, Avr proteins, and death. » *Journal of Bacteriology* 179 (18): 5655-62.

Bogdanove, Adam J., Ralf Koebnik, Hong Lu, Ayako Furutani, Samuel V. Angiuoli, Prabhu B. Patil, Marie-Anne Van Sluys, et al. 2011. « Two New Complete Genome Sequences Offer Insight into Host and Tissue Specificity of Plant Pathogenic Xanthomonas Spp. » *Journal of Bacteriology* 193 (19): 5450-64. https://doi.org/10.1128/JB.05262-11.

COLLARD, Jean-Marc, Odile RIVOARILALA, Frédérique Randrianirina, et Benoît GARIN. 2017. « Test de diagnostic rapide (LAMP) pour la détection de bactéries urinaires et de résistances aux antibiotiques ». Institut Pasteur de Madagascar. 30 juin 2017. http://www.pasteur.mg/projets/test-de-diagnostic-rapide-lamp-pour-la-detection-de-bacteries-urinaires-et-de-resistances-aux-antibiotiques/.

Francisco, Alexandre P., Cátia Vaz, Pedro T. Monteiro, José Melo-Cristino, Mário Ramirez, et João A. Carriço. 2012. « PHYLOViZ: Phylogenetic Inference and Data Visualization for Sequence Based Typing Methods ». *BMC Bioinformatics* 13 (1): 87. https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-87.

Gonzalez, Carolina, Boris Szurek, Charles Manceau, Thierry Mathieu, Yacouba Séré, et Valérie Verdier. 2007. « Molecular and Pathotypic Characterization of New Xanthomonas oryzae Strains from West Africa ». *Molecular Plant-Microbe Interactions* 20 (5): 534-46. https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534.

Hutin, Mathilde, Alvaro Luis Perez Quintero, Camilo López, et Boris Szurek. 2015. « Frontiers | MorTAL Kombat: the story of defense against TAL effectors through loss-of-susceptibility | Plant Science ». 14 juillet 2015. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2015.00535/full.

Jones, Jonathan D. G., et Jeffery L. Dangl. 2006. « The Plant Immune System ». *Nature* 444 (7117): 323-29. https://doi.org/10.1038/nature05286.

Kamvar, Zhian N., Jonah C. Brooks, et Niklaus J. Grünwald. 2015. « Novel R Tools for Analysis of Genome-Wide Population Genetic Data with Emphasis on Clonality ». *Frontiers in Genetics* 6. https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00208.

Lang, Jillian M., John P. Hamilton, Maria Genaleen Q. Diaz, Marie Anne Van Sluys, Ma. Ruby G. Burgos, Casiana M. Vera Cruz, C. Robin Buell, Ned A. Tisserat, et Jan E. Leach. 2010. « Genomics-Based Diagnostic Marker Development for Xanthomonas oryzae pv. oryzae and X. oryzae pv. oryzicola ». *Plant Disease* 94 (3): 311-19. https://doi.org/10.1094/PDIS-94-3-0311.

Mew, T. W. 1989. *An over View of the World Bacterial Blight Situation*. Int. Rice Res. Inst.

Mew, T. W., A. M. Alvarez, J. E. Leach, et J. Swings. 1993. « Focus on Bacterial Blight of Rice. » *Plant Disease* 77 (1): 5-12.

Niño-Liu, David O., Pamela C. Ronald, et Adam J. Bogdanove. 2006. « Xanthomonas Oryzae Pathovars: Model Pathogens of a Model Crop ». *Molecular Plant Pathology* 7 (5): 303-24. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x.

Ou, Shu Huang, et Commonwealth Mycological Institute (Great Britain. 1985. *Rice Diseases*. IRRI.

Ou, Shu Huang, et Commonwealth Mycological Institute (Great Britain). 1985. *Rice Diseases*. IRRI.

Pérez-Quintero, Alvaro L., Leo Lamy, Jonathan Gordon, Aline Escalon, Sebastien Cunnac, Boris Szurek, et Lionel Gagnevin. 2015. « QueTAL: A Suite of Tools to Classify and Compare TAL Effectors Functionally and Phylogenetically ». *Frontiers in Plant Science* 6. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00545.

Poulin, L., P. Grygiel, M. Magne, L. Gagnevin, L. M. Rodriguez-R, N. Forero Serna, S. Zhao, et al. 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 ». Édité par H. Goodrich-Blair. *Applied and Environmental Microbiology* 81 (2): 688-98. https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14.

Poulin, L., H. Raveloson, M. Sester, L.-M. Raboin, D. Silué, R. Koebnik, et B. Szurek. 2014. « Confirmation of Bacterial Leaf Streak Caused by Xanthomonas oryzae pv. oryzicola on Rice in Madagascar ». *Plant Disease* 98 (10): 1423-1423. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-14-0132-PDN.

Poulin, Lucie, Pierre Grygiel, Maxime Magne, Lionel Gagnevin, Luis M. Rodriguez-R, N. Forero Serna, Shuai Zhao, M. El Rafii, S. Dao, et C. Tekete. 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 (2): 688-98.

Pourcel, Christine, et Gilles Vergnaud. 2011. « Strain Typing Using Multiple “Variable Number of Tandem Repeat” Analysis and Genetic Element CRISPR ». *Molecular Microbiology*, janvier, 179-97. https://doi.org/10.1128/9781555816834.ch11.

Read, Andrew C., Matthew J. Moscou, Aleksey V. Zimin, Geo Pertea, Rachel S. Meyer, Michael D. Purugganan, Jan E. Leach, Lindsay R. Triplett, Steven L. Salzberg, et Adam J. Bogdanove. 2020. « Genome Assembly and Characterization of a Complex ZfBED-NLR Gene-Containing Disease Resistance Locus in Carolina Gold Select Rice with Nanopore Sequencing ». *PLOS Genetics* 16 (1): e1008571. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008571.

Read, Andrew C., Fabio C. Rinaldi, Mathilde Hutin, Yong-Qiang He, Lindsay R. Triplett, et Adam J. Bogdanove. 2016. « Suppression of Xo1-Mediated Disease Resistance in Rice by a Truncated, Non-DNA-Binding TAL Effector of Xanthomonas Oryzae ». *Frontiers in Plant Science* 7. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01516.

Schandry, Niklas, Jonathan M. Jacobs, Boris Szurek, et Alvaro L. Perez-Quintero. 2018. « A cautionary TALE: how plant breeding may have favoured expanded TALE repertoires in Xanthomonas ». *Molecular Plant Pathology* 19 (6): 1297-1301. https://doi.org/10.1111/mpp.12670.

Trinh, T. T. 1980. « New Rice Diseases and Insects in the Senegal River Basin in 1978/79. » *International Rice Commission Newsletter* 29 (2). https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810581551.

Triplett, Lindsay R., Stephen P. Cohen, Christopher Heffelfinger, Clarice L. Schmidt, Alejandra I. Huerta, Cheick Tekete, Valerie Verdier, Adam J. Bogdanove, et Jan E. Leach. 2016. « A Resistance Locus in the American Heirloom Rice Variety Carolina Gold Select Is Triggered by TAL Effectors with Diverse

Predicted Targets and Is Effective against African Strains of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola ». *The Plant Journal* 87 (5): 472-83. https://doi.org/10.1111/tpj.13212.

Wilkins, Katherine E., Nicholas J. Booher, Li Wang, et Adam J. Bogdanove. 2015. « TAL Effectors and Activation of Predicted Host Targets Distinguish Asian from African Strains of the Rice Pathogen Xanthomonas oryzae pv. oryzicola While Strict Conservation Suggests Universal Importance of Five TAL Effectors ». *Frontiers in Plant Science* 6. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00536.

Wonni, I., B. Cottyn, L. Detemmerman, S. Dao, L. Ouedraogo, S. Sarra, C. Tekete, et al. 2014. « Analysis of *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola* Population in Mali and Burkina Faso Reveals a High Level of Genetic and Pathogenic Diversity ». *Phytopathology* 104 (5): 520-31. https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-13-0213-R.

Wonni, I., L. Ouedraogo, et V. Verdier. 2011. « First Report of Bacterial Leaf Streak Caused by Xanthomonas oryzae pv. oryzicola on Rice in Burkina Faso ». *Plant Disease* 95 (1): 72. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0566.

Zhao, Bingyu, Xinghua Lin, Jesse Poland, Harold Trick, Jan Leach, et Scot Hulbert. 2005. « A Maize Resistance Gene Functions against Bacterial Streak Disease in Rice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (43): 15383-88. https://doi.org/10.1073/pnas.0503023102.

# Chapitre 4

Évaluation des pertes de rendement due à *Xoo* sur deux variétés élites du Sénégal

# 4 Chapitre 4: Évaluation des pertes de rendement dues à Xoo sur deux variétés élites de riz du Sénégal

Hamidou Tall[1,2], Aurore Comte[2], Mathilde Hutin[2], Sébastien Cunnac[2], Boris Szurek[2], and Valérie Verdier[2]

[1]Institut Sénégalais de Recherches Agricole (ISRA), Sénégal

[2]PHIM, IRD, Cirad, Univ. Montpellier, Montpellier, France

**Résumé**

Relativement peu d'études ont été menées en Afrique de l'Ouest pour évaluer l'impact du BB sur la productivité du riz. Il ressort de cette étude que le flétrissement bactérien est a mesure d'engendrer des pertes de production allant de 5 à 50% en fonction de la variété infectée et de la souche de *Xoo* en présence. Nos données montrent que le BB affecte plusieurs composantes du rendement du riz, notamment le remplissage des grains et le nombre de plantes à la récolte.

## 4.1 Introduction

Les pertes de rendement dues à la bactériose vasculaire du riz qui est causée par *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* varient de 20 à 30%, mais peuvent atteindre jusque 50% dans certaines régions (Valerie Verdier, Cruz, et Leach 2012). Au Japon, aux Philippines, en Inde et au Pakistan, des pertes de rendement variant entre 7 et 43% ont par exemple été estimées en fonction des systèmes de culture (O.r, O.s, et K 1973). En Afrique, une forte incidence de la maladie a été signalée dans plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest mais les pertes de rendement sont moins bien quantifiées. Au Mali, des pertes de rendement allant jusqu'à 80 % ont toutefois été enregistrées dans l'Office du Niger en 2010 (Sarra et al., 2010). Dans les années 1998, la maladie a provoqué 50% de dégâts dans la plaine rizicole de Bagré au Burkina Faso. Cette perte a été attribuée à l'introduction de la variété chinoise TCS10 très sensible au BB (Ouédraogo et Kaboré, 1998). Cependant, jusqu'à nos jours aucune estimation des pertes de rendement dues à *Xoo* sur les variétés de riz cultivées au Sénégal n'a encore été faite. Ce travail vise à combler ce vide.

## 4.2 Matériels et méthodes

### 4.2.1 Matériels

Le matériel végétal est constitué de deux variétés améliorées cultivées au Sénégal, à savoir Sahel177 et Miliyan23 qui sont potentiellement très productives. Les souches de *Xoo* utilisées sont S69-1-2, S82-4-1 et S62-2-26 appartenant respectivement aux races A1, S4 et S6 décrites dans le chapitre 2.

### 4.2.2 Méthodes

Différentes méthodes sont utilisées dans les stations d'expérimentation pour l'estimation des pertes de rendement des céréales. Dans le cadre de cette étude, nous utiliserons la méthode dite « mécanique » décrite par la FAO (FAO 1983). Elle consiste à cultiver les plants en conditions contrôlées ou semi-contrôlées de manière à les tenir à l'abri des stress biotiques divers, puis de comparer les rendements entre plants sains non inoculés et ceux infectés artificiellement. Il est donc nécessaire de disposer d'essais comportant une partie témoin absente de toute infection de la maladie, et une partie traitée avec une gamme variée de souches du pathogène.

Durant 3 saisons culturales (de Juillet à Octobre) tout au long de la thèse, des essais ont été réalisés en condition semi-contrôlée sur 2 variétés de riz adaptées à la production en milieu irrigué. Trois souches de *Xoo* (inoculum d'une concentration à $10^8$ CFU/ml) ont été inoculées par la technique de « leaf-clipping » aux stades tallage (45 jours après semis) et montaison du riz (55 jours après semis). La longueur des lésions foliaires a été évaluée 15 jours après inoculation afin d'évaluer la sévérité de la maladie. Les paramètres relatifs au nombre de plants récoltés, le poids total de grains récoltés et le poids des 1000 grains ont été suivis. L'effet de la maladie sur le rendement a été mesuré par référence à un témoin négatif inoculé par de l'eau distillée et stérilisée.

Le dispositif expérimental est un bloc de Fisher complètement randomisé avec quatre traitements dont un témoin négatif comme l'indique la **Figure 35**.

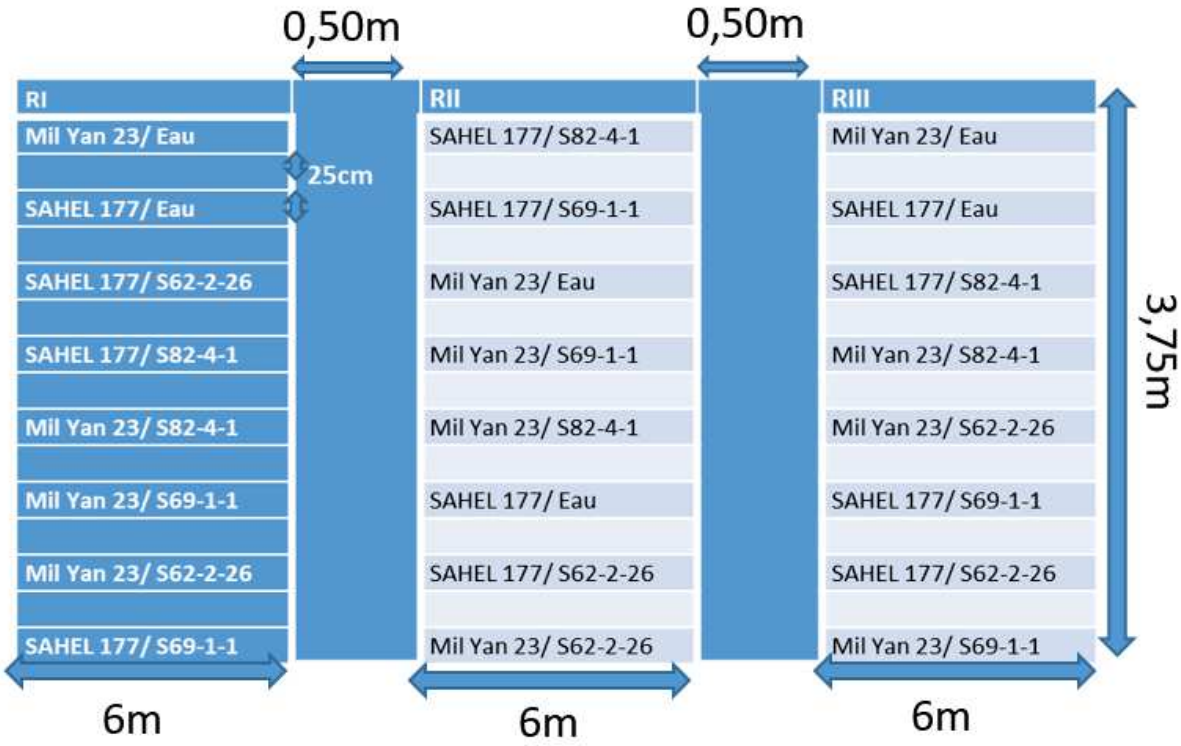



**Figure 35** : Schéma global de l'essai d'évaluation de pertes de rendement.

Dispositif en blocs complètement randomisés. Chaque parcelle élémentaire est constituée de 24 poquets d'une même variété subissant un traitement donné (eau ou une des 3 souches de *Xoo*). Les écartements sont de 25 cm entre les lignes et entre les poquets, et de 50 cm entre les répartitions. Des inoculations par « leaf clipping » ont été effectuées au stade 45 JAS et 55 JAS avec des inocula d'une OD de 0,25 pour *Xoo*. Les paramètres mesurés sont : le poids total de grains récoltés par souche et par variété ; le poids de 1000 grains par souche et par variété ; le nombre de plants récoltés par souche et par variété.

### 4.3 Résultats et discussion

L'analyse de la longueur des lésions foliaires engendrées sur les deux variétés par les trois souches de *Xoo* montre que la souche de *Xoo* S62-2-26 est la moins agressive, aussi bien sur la variété de riz Sahel177 que sur la variété Yan23 (**Figure 36**). Sur la variété Yan23, la souche de *Xoo* S84-4-1 apparaît à l'inverse, comme la plus agressive. L'analyse de la variance a montré qu'il existe une différence significative entre les quatre traitements au niveau des différents stades végétatifs. Comme l'illustre la **Figure 37**, le plus fort taux de mortalité a été noté pour la variété Yan23 inoculée avec la souche S84-4-1 où plus de la moitié des plants inoculés ont succombé tandis que 100% de ceux inoculés avec le contrôle négatif (eau) ont survécu. Ceci montre que les infections précoces (à 45-55 JAS) sont redoutables pour les jeunes plants. Une observation similaire a été rapportée pour la variété Azucena (Tekete et al. 2019a).

Comme l'indique la **Figure 38**, les rendements en grains varient fortement en fonction des traitements où le contrôle témoin a été considéré arbitrairement comme étant d'une valeur de 100%. Pour les parcelles inoculées avec *Xoo*, les valeurs du rendement total les plus élevées sont de 94,2% et 86% (par rapport au témoin) et correspondent aux traitements d'inoculation avec la souche de *Xoo* S62-2-6 (race S6), qui est la souche la moins agressive (**Figure 36**). Les rendements les plus faibles (69,3% et 45,7% par rapport au témoin) ont été enregistrés dans les parcelles inoculées avec la souche S82-4-1 (race S4) qui est la plus agressive d'après nos essais (**Figure 38**). La mortalité des plantes observée après inoculation (**Figure 37**) a sans doute participé en grande partie à cette réduction du rendement par rapport au témoin. Ce dernier, inoculé avec de l'eau distillée et stérilisée, a donné les rendements les plus élevés c'est-à-dire 100% du potentiel attendu de la variété.

L'analyse combinée de l'agressivité des souches de *Xoo*, du nombre de plants récoltés, du rendement total en grains récoltés et du remplissage des grains (poids de 1000 grains) montre, par traitement et par variété, qu'il existe une corrélation entre les différents paramètres mesurés (**Figure 39, Figure 40**). Il y a en effet une corrélation négative entre la sévérité de la maladie (longueur des lésions) et les différentes composantes du rendement mesurées. Cela suggère que le processus d'accumulation des hydrates de carbone par la photosynthèse dans les grains est altéré au cours du développement de la maladie. La date d'apparition des maladies foliaires joue un rôle essentiel quant à la détermination des composantes du rendement. Les pertes de rendements peuvent être très importantes si la date d'apparition des infections est précoce comme c'est le cas dans cette étude où la première inoculation a été effectuée au stade de tallage des plants.

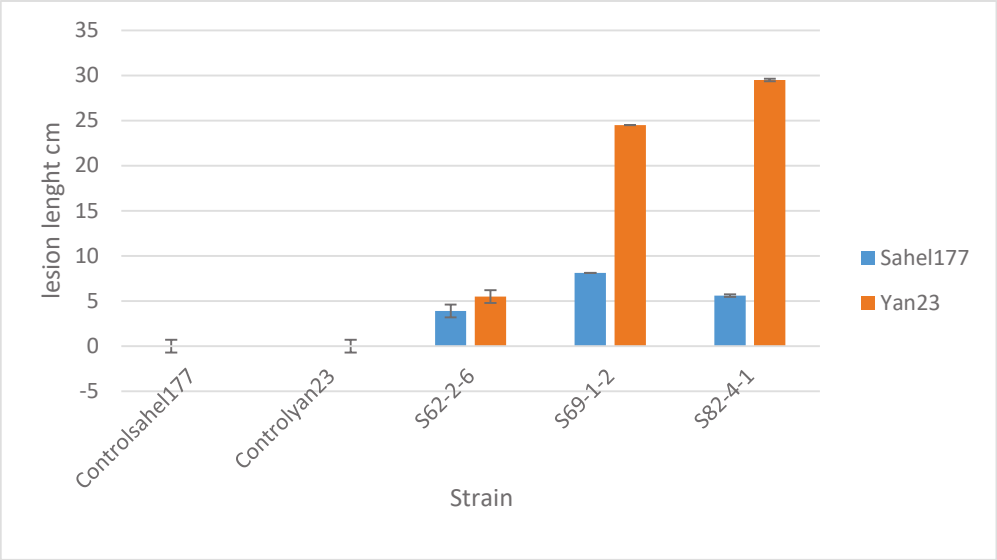



**Figure 36** : Agressivité des 3 souches de *Xoo* S62-2-6, S69-1-2, S82-4-1 testées sur les variétés de riz Sahel177 et Yan23 inoculées au champ aux stades tallage (45 jours après semis) et montaison du riz (55 jours après semis). Les variétés ont également été inoculées avec de l'eau utilisée comme témoin négatif (« Control »). Les mesures de 24 lésions évaluées après inoculation aux stades 45 et 55JAS ont été cumulées telles que n=48.

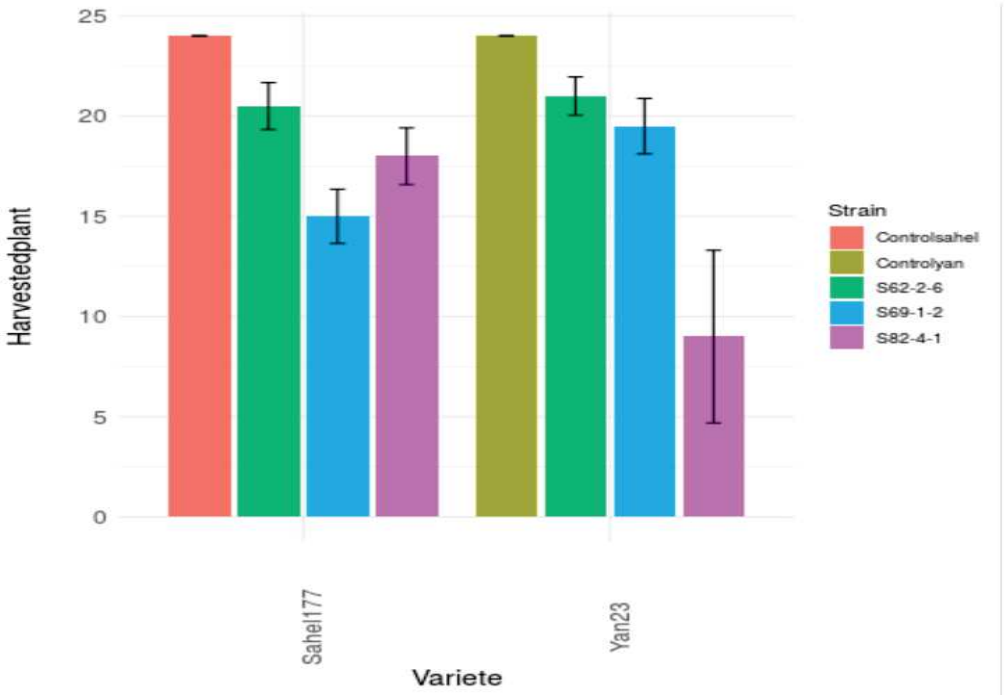



**Figure 37** : Nombre de plants récoltées au stade de maturation des grains (environ 100 JAS) après inoculation avec les trois souches de *Xoo* ou le témoin négatif (eau), traduisant l'effet de l'inoculation des 3 souches de *Xoo* sur la survie des variétés de riz Sahel177 et Yan23.

Des résultats similaires ont été rapportés pour divers stress biotiques dont la BB (Reddy 1989), la pyriculariose du riz (Kim et Kim 1993; Tajani et al. 2001; Mousanejad, Alizadeh, et Safaie 2010), la fusariose du blé (Saur, Benacef, et Morlais 1993) ou encore la mosaïque de l'igname qui est causée par un virus (Thouvenel et Dumont 1990). De fait, les infections survenues en début de cycle végétatif ont très souvent un effet négatif sur les composantes de rendement. Les travaux de Richard Benjamin en 2012 ont montré que le stade de développement de la plante (mise en place de l'architecture) peut aussi impacter directement le développement épidémique (Richard 2012) et par conséquence, le rendement. Da façon intéressante, Tajani et al (2001) ont montré une relation entre rendement et sévérité dans une étude d'infestation naturelle de la pyriculariose du riz au Maroc.

De manière attendue, on observe que la corrélation entre le nombre de plants récoltés, le poids total de grains et le poids de 1000 grains est positive (**Figure 40**). Et le sens de variation du rendement est influencé par celui du nombre total de plants récoltés et de la qualité de remplissage des grains.

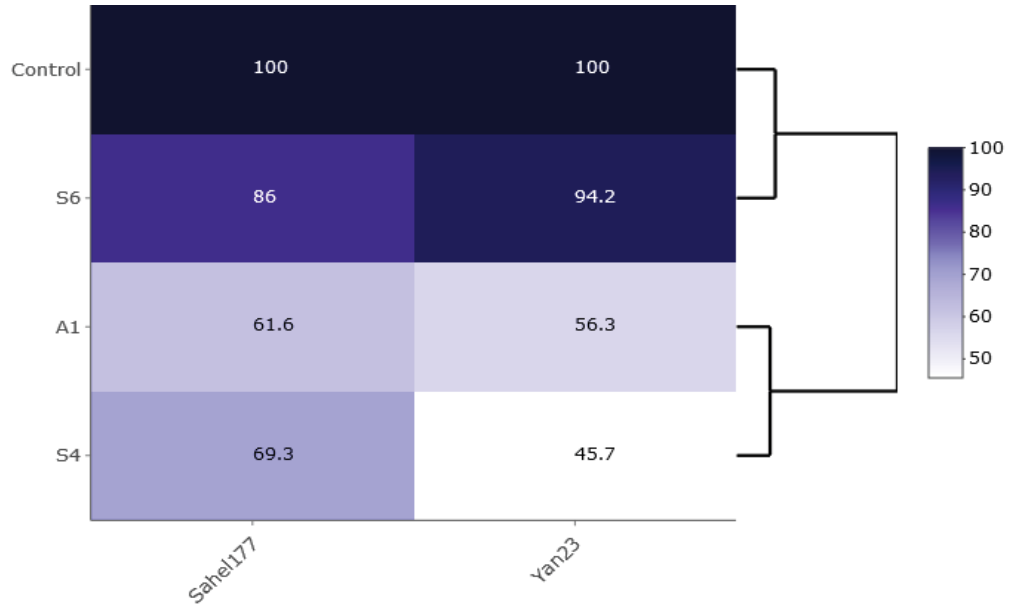



**Figure 38** : Évaluation de l'impact de la BLB sur le rendement en grains des variétés de riz Sahel177 et Yan23. Les mesures sont exprimées en pourcentage des valeurs obtenues pour les variétés inoculées avec le traitement témoin (eau). Les races de *Xoo*, la variété de riz inoculée, et les interactions race-variété ont un effet significatif (p<5%) sur le rendement en grains.

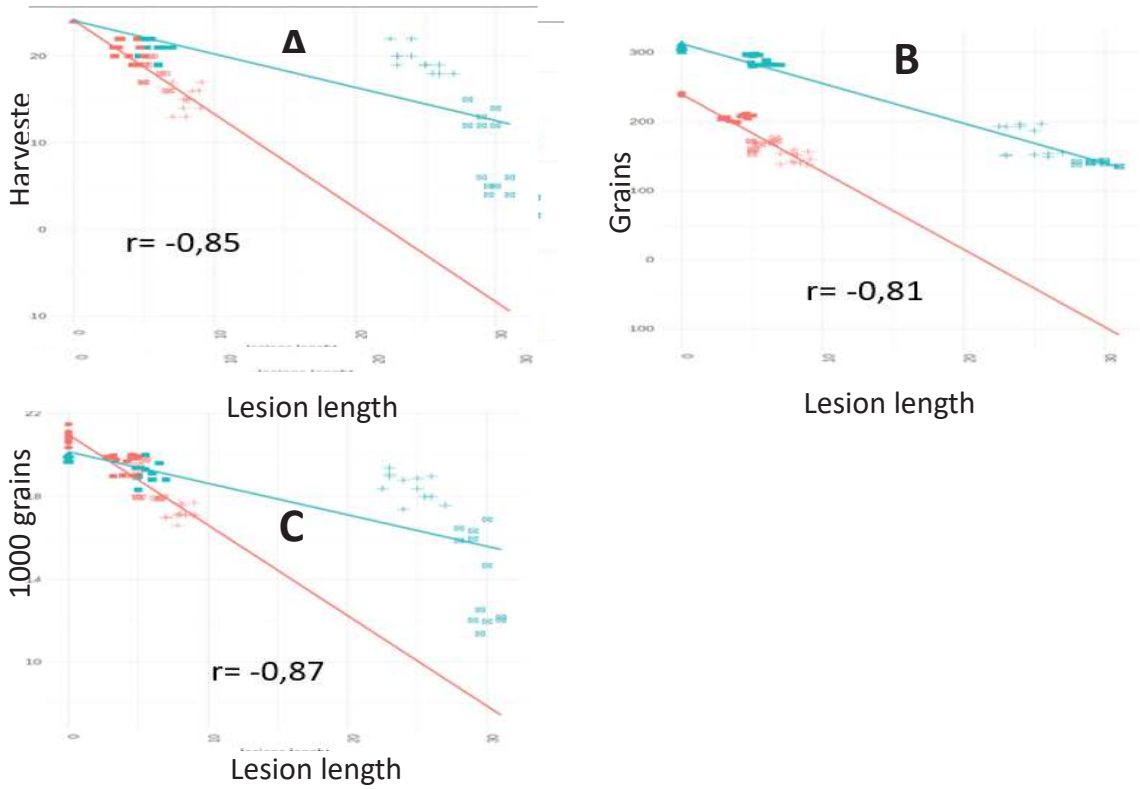



**Figure 39 :** Analyse de corrélation entre la sévérité de la maladie et différentes composantes du rendement, à savoir le nombre de plants récoltés (A), le rendement en grains (B) et le remplissage des grains (C).

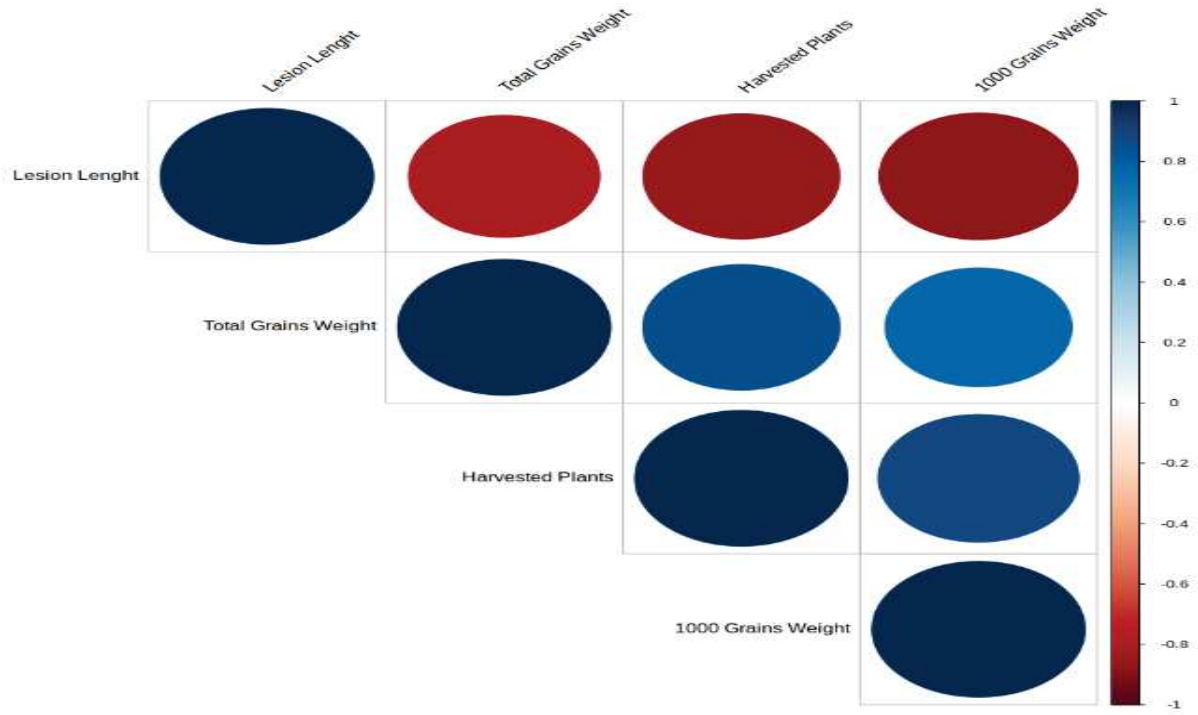



**Figure 40** : Synthèse des corrélations entre variables mesurées : la longueur des lésions, le nombre total de plants récoltés, le poids de 1000 grains et le poids total de grains récoltés.

## 4.4 Conclusion

Les résultats obtenus indiquent que le flétrissement bactérien au Sénégal est à mesure de réduire le rendement du riz lorsqu'on ne prend pas toutes les dispositions pour bien protéger la culture. Les pertes de rendement qui peuvent atteindre jusque 50% de la production dans les cas extrêmes, sont variables selon la sévérité de la maladie qui se traduit notamment au champ par la variation de la longueur des lésions sur les feuilles. Les épidémies précoces sont potentiellement très destructives car elles entrainent la mort de jeunes plants avant le stade d'initiation paniculaire du riz. Des études similaires effectuées au Maroc sur la pyriculariose ont montré que des traitements chimiques aux premiers stades végétatifs peuvent réduire considérablement les pertes de rendement pour des variétés sensibles. La surveillance des risques épidémiques et la prévention par des pratiques agricoles adaptées restent des mesures essentielles pour assurer une production stable du riz en Afrique de l'Ouest où le déploiement de gènes de résistance au BB dans nos variétés cultivées reste encore un chantier non exploité

**Références bibliographiques :**


Adhikari, Tika B., T. W. Mew, et Jan E. Leach. 1999. « Genotypic and Pathotypic Diversity in Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Nepal ». PhytopathologyTM 89 (8): 687-94. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.8.687.

FAO.1983. Recueil et évaluation des données sur les pertes de cérales vivrières causées par les ravageurs et maladies avant le récolte FAO_ESDP/ESDP_28.

Kim, Chang Kyu, et Choong Hoe Kim. 1993. « The Rice Leaf Blast Simulation Model EPIBLAST ». In Systems Approaches for Agricultural Development: Proceedings of the International Symposium on Systems Approaches for Agricultural Development, 2–6 December 1991, Bangkok, Thailand, édité par Frits Penning de Vries, Paul Teng, et Klaas Metselaar, 309-21. Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-2842-1_18.

Mousanejad, Sedigheh, A Alizadeh, et Naser Safaie. 2010. « Assessment of Yield Loss Due to Rice Blast Disease in Iran ». J. Agric. Sci. Technol 12 (mars).

O.r, Exconde, Opina O.s, et Phanomsawarn K. 1973. « Yield Losses Due to Bacterial Leaf Blight of Rice. » Philippine Agriculturist. http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PH19750009707.

Ou, Shu Huang, et Commonwealth Mycological Institute (Great Britain). 1985. Rice Diseases. IRRI.

S. Ouedraogo and I. Somda and I. Wonni and Y. Sere. 2007. Étude de la resistance au flétrissement bactrien de lignées inter- et intraspcifiques de riz de bas-fonds en conditions d'infestation artificielles

Reddy, A. P. K. 1989. Bacterial Blight of Rice: Proceedings of the International Workshop on Bacterial Blight of Rice, 14-18 March 1988. Int. Rice Res. Inst.

Richard, Benjamin. 2012. « Analyse des interactions dynamiques entre le développement de la plante hôte, l'architecture du couvert et le développement d'une épidémie de maladie fongique aérienne : cas du pathosystème pois/ascochytose. » Phd thesis, Agrocampus - Ecole nationale supérieure d'agronomie de rennes. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00913095.

Sarra, S, L Diarra, M Dembele, M M Coulibaly, et Y Séré. 2010. « Characterization of Bacterial Leaf Blight Epidemic in the Office Du Niger (Mali) and Search for a Sustainable Resistance against the Pathogen », 8.

Saur, L., N. Benacef, et Jy Morlais. 1993. « Relation entre les symptômes de fusariose de l'épi et la perte de rendement chez le blé tendre ». Agronomie 13 (9): 829-33. https://doi.org/10.1051/agro:19930903.

Tajani, M., R. Benkirane, A. Douira, et N. El Haloui. 2001. « Impact des maladies foliaires sur les composantes de rendement du riz (Oryza sativa) au Maroc ». Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires 21 (2): 83-86.

Tekete, Cheick. 2019. « Caractérisation des Xanthomonas oryzae au Mali et déterminisme génétique de la résistance du riz au flétrissement bactérien et à la strie foliaire », 235.

Tekete, Cheick, Dr Sebastien Cunnac, Dr Hinda Doucoure, Mr Mamadou Dembele, Mr Ibrahim Keita, Soungalo Sarra, Dr Karim Dagno, Dr Ousmane Koita, et Dr Valerie Verdier. 2019. « Characterization of New Races of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae in Mali Informs Resistance Gene Deployment ». Research-article. Https://Doi.Org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R. 29 août 2019. https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R.

Thouvenel, J. C., et Roland Dumont. 1990. « Perte de rendement de l'igname infectée par le virus de la mosaique en Côte d'Ivoire ». https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR2019111362.

Verdier, Valerie, Casiana Vera Cruz, et Jan E. Leach. 2012. « Controlling Rice Bacterial Blight in Africa: Needs and Prospects | Elsevier Enhanced Reader ». Https://Reader.Elsevier.Com/Reader/Sd/Pii/S0168165611005578?Token=226A198A9DDAF5F890F601B03F96EBF9A90120F68E1B98846A93BFD669B8BE8E7E3C9C7A08E195D4E7A17206F8954D32. 2012. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.09.020.

Wonni, Issa. 2016. « Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa ». Rice Research : Open Access 4 (1). https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162.

# Chapitre 5

Discussion générale, conclusions et perspectives

# 5 Chapitre5: Discussion générale, conclusions et perspectives

## 5.1 Discussion générale

- Les bactérioses du riz au Sénégal : un défrichage complet

Le riz constitue un aliment de base au Sénégal et il occupe la première place en termes de production dans l'agriculture du pays. BB et BLS causées respectivement par *Xoo* et *Xoc* sont deux contraintes majeures à la productivité du riz et leur présence a été signalée en Afrique de l'Ouest depuis les années 80 (T. T. Trinh 1980; Y et al. 2005; Niño-Liu, Ronald, et Bogdanove 2006b; Gonzalez et al. 2007b). Ces bactéries entrent dans les tissus végétaux par les stomates pour *Xoc*, par les hydathodes pour *Xoo* ou par les blessures (pour les deux) afin de coloniser respectivement les espaces intercellulaires du parenchyme foliaire et les tissus vasculaires. Lors de l'infection, *Xoo* et *Xoc* injectent dans le cytoplasme de la cellule hôte puis dans le noyau des protéines effectrices de type TAL (Transcription Activator-Like) par translocation via un système de sécrétion de type III. Ces protéines activent la transcription de gènes cibles végétaux après fixation sur l'EBE (Effector Binding Element) de la région promotrice du gène ciblé. Lorsque le gène cible de l'hôte est un gène dit « de sensibilité », les bactéries se multiplient et colonisent l'hôte pour induire la maladie. En revanche si le gène cible est un gène dit « de résistance », les mécanismes de défense sont déclenchés et empêchent la bactérie de se multiplier et de provoquer la maladie. Ainsi les protéines bactériennes TALs et les gènes cibles végétaux régulent les mécanismes de compatibilité ou l'incompatibilité entre l'hôte et les *X. oryzae.* L'importante diversité pathogénique des populations de *X. oryzae* est en grande partie liée au nombre élevé des effecteurs TALs. La connaissance de cette diversité ainsi que de la répartition spatiale des groupes de virulence au sein des populations sont indispensables pour lutter efficacement et de façon durable contre le BB et le BLS du riz, notamment par l'identification de sources de résistance appropriées.

En dépit des multiples travaux effectués sur les *X. oryzae* en Afrique depuis 2003 à nos jours (Gonzalez et al. 2007b; Ouedraogo et al. 2007; Y et al. 2005; Yu et al. 2011; Issa Wonni 2016; Tran et al. 2018; Doucoure 2017; L. R. Triplett et al. 2016a; Tekete et al. 2019a), aucun programme d'amélioration variétale n'est encore mis en place au Sénégal pour lutter contre la BB et la BLS. De plus, l'étude sur les *X. oryzae* du riz n'a démarré au Sénégal que 40 ans après la description de ces maladies en 1980 par Trinh. Ainsi, nos travaux visaient à clarifier le statut du BB et du BLS au Sénégal ; à constituer une collection de souches de *X. oryzae* représentative de la diversité présente dans le pays et à la

caractériser afin de pouvoir évaluer les accessions de riz cultivées au Sénégal pour leur résistance à ces deux maladies pour une identification de sources de résistance locale.

- Vers la mise au point de ressources et de connaissances sur les bactérioses du riz dues à *X. oryzae* au Sénégal : de l'échantillonnage à l'étude des races

Depuis les années 80 le flétrissement bactérien et la strie foliaire du riz ont été signalés un peu partout en Afrique. Dès 2003, les résultats des premiers travaux sur ces deux pathovars ont commencé d'apparaitre notamment au Mali, au Burkina Faso, au Madagascar, au Bénin, au Burundi, en Uganda, en Côte d'Ivoire, etc. Par contre au Sénégal des études sur les maladies du riz au Sénégal remontent à 1989 suite aux travaux de Yamar Mbodji (Mbodj 1989a), mais des résultats de travaux sur le BB et le BLS n'ont été publiés que tardivement en 2019 (Hamidou Tall et al. 2019). Les premières souches de *Xoo* et *Xoc* du Sénégal ont pu être isolées et confirmées par PCR en 2016 à l'issue d'une campagne de prospection et d'échantillonnage de 2015 à 2016 dans les 7 plus grandes régions rizicoles du pays (Saint Louis, Matam, Kédougou, Tambacounda, Kolda, Sédhiou et Ziguinchor). L'apparition du BB et du BLS au Sénégal dans les années 80 coïncide avec l'introduction de la variété de riz TCS10 sensible au flétrissement bactérien. Il serait pertinent de voir si cette hypothèse est juste et si cette variété est à l'origine de la présence de ces deux maladies au Sénégal.

L'analyse des données de tests de pouvoir pathogène des souches de *X. oryzae* du Sénégal sur les variétés sensibles Azucena et Kitaake respectivement pour *Xoo* (chapitre 2) et *Xoc* (chapitre 3) a révélé l'existence de différentes classes de virulence. Ce résultat confirme bien les résultats antérieurs obtenus par Wonni et al en 2014 et par Tékété en al en 2019 respectivement au Burkina Faso et au Mali. En revanche l'analyse des données du test de races sur les lignées quasi-isogéniques IRBB a révélé l'existence au Sénégal de 6 races de *Xoo* dont 2 races déjà décrites au Mali (race A3) et Burkina Faso (race A1), et 4 nouvelles races décrites pour la première fois en Afrique (S2, S4, S5 et S6).

Quelques souches de *Xoo* ont été caractérisées au Mali, Burkina Faso et au Niger en 2003 et trois races (A1-A3) ont été mises en évidence (Gonzalez *et al*. 2007). Les races A1 et A2 ont été détectées au Burkina Faso, au Niger et au Cameroun. Jusqu'à nos résultats récents, la race A3 n'a été détectée qu'au Mali. Six nouvelles races (A4-A9) ont été récemment identifiées au Mali ce qui porte à 9 le nombre de races de *Xoo* en Afrique (Tekete et al. 2019).

Toutes les 6 races de *Xoo* identifiées au Sénégal entre 2015 et 2017 sont réparties dans 3 sites différents, deux au nord (Ndiaye et Ndioum) et un site à l'Est (Bandafassi). La race A1 est la race la plus abondante tant du point de vue des effectifs que sa présence dans les sites. La présence de la race A3 à l'Est du Sénégal dans la région frontalière avec le Mali pourrait s'expliquer par une contamination de

proximité par des souches de cette race entre ces deux pays. Il sera intéressant d'étudier les routes d'invasion de cette race de *Xoo* pour mieux comprendre la présence de cette race dans les deux pays. Les gènes *Xa1* et *xa5* sont les deux gènes de résistance identifiés les plus prometteurs pour le contrôle BB car ces gènes contrôlent respectivement 100% et 91% des souches des 6 races identifiées au Sénégal. Il existe aussi une diversité des souches au sein de l'hôte : 4 races différentes de *Xoo* ont ainsi pu être isolées au sein d'une même portion de feuille de riz infectée. Nous n'avons pas pu suivre l'évolution des races de *Xoo* au Sénégal comme cela a été fait dans beaucoup de pays en Afrique de l'ouest notamment au Mali et au Burkina Faso (Issa Wonni et al. 2014 ; Tekete et al. 2019a) car les 6 races de *Xoo* décrites dans ce travail sont les premiers isolements de *Xoo* au Sénégal. Des travaux futurs basés sur de nouvelles collectes permettront de suivre cette dynamique spatio-temporelle.

Si plusieurs gènes de résistance au BB sont connus, la résistance à la strie foliaire (BLS) est quant à elle largement méconnue. Seuls deux gènes de résistance sont disponibles dont un, non-hôte provenant du maïs, a été cloné (*Rxo1*) et transformé chez le riz, et un autre provenant de la variété américaine Carolina Gold (*Xo1*). *RXo1* n'est fonctionnel que s'il interagit spécifiquement avec le gène *avrRxo1* présent dans certaines souches de *Xoc*. L'analyse des résultats de phénotypage des *Xoc* sur la variété transgénique Kitaake *RXo1* et sur Carolina Gold montrent que *RXo1* n'est pas en mesure de contrôler la plupart des souches de *Xoc* du Sénégal. Ce résultat est confirmé par l'analyse moléculaire qui montre que plus de 85% des *Xoc* testées sont dépourvues *d'avRXo1* d'où le phénotype de sensibilité de Kitaake *RXo1* lorsqu'elle est inoculée par les souches *Xoc* du Sénégal. Il a été montré en 2003 que *Rxo1* chez le riz n'est pas non plus fonctionnel contre les souches *Xoc* du Mali qui sont elles aussi majoritairement dépourvues du gène *avRXo1* (Gonzalez et al. 2007). Wonni et al (2013) démontrent aussi que près de 15% des souches Maliennes et Burkinabé analysées dans l'étude portent le gène *avrRxo1*. À l'inverse de *RXo1*, *Xo1* de Carolina Gold est très efficace pour le contrôle des *Xoc* du Sénégal de même que *Xa1* d'IRRB1. *Xa1* et *Xo1* sont deux gènes qui fonctionnent sur la même base et reconnaissent les TALs de *Xoo* ou *Xoc* de façon non spécifique. Ces gènes de résistance sont donc parfaits pour contrôler *Xoo* et *Xoc* au Sénégal. Par contre les souches asiatiques ont malheureusement acquis un système pour les contourner (truncTALE ou iTALe) mais on ne trouve pas ce gène en Afrique. Le risque c'est donc qu'il soit un jour contourné comme c'est le cas en Asie. Ces deux gènes peuvent être déployés dans le cadre d'un programme d'amélioration variétale pour la lutte contre le BLS et le BB au Sénégal. Cependant, certains auteurs considèrent que *Xo1* et *Xa1* sont le même gène (Read, Hutin, et al. 2020a) ; c'est pourquoi les *Xoc* testés ont le même profil de virulence sur Carolina Gold et IRBB1.

Les tests de criblage de variétés cultivées pour la résistance au flétrissement bactérien du riz ont permis l'identification de quatre variétés locales possédant une résistance élevée contre les *Xoo* du Sénégal. Ce travail pourrait être approfondi par un séquençage des variétés couplé à une analyse de type GWAS

(genome-wide association study) sur les données de longueur de lésions causées par *Xoo*, ce qui permettra d'identifier des QTL impliqués dans la résistance de ces variétés à ces pathogènes. Un travail similaire a été mené avec succès par Tékété en 2019 dans le cadre de sa thèse mais portant sur des souches maliennes.

- Une gestion raisonnée des sources de résistance basée sur notre connaissance du pathogène

La différence de réaction phénotypique sur les variétés de riz Azucena, Kitaakee, Kitaake*RXo1*, IRRB, IR24 et Carolina Gold des différentes souches de *Xoo* et *Xoc* montre qu'il existe une réelle diversité à l'intérieur des deux pathovars. La diversité au sein de la collection Sénégalaise des *Xoo* et *Xoc* peut être décrite par les caractères phénotypiques, par des marqueurs génétiques et reliée à une répartition géographique.

Les souches de *Xoo* caractérisées par phénotypage des lignées IRBB et IR24 appartiennent toutes à 6 races différentes réparties dans 3 sites différents (Ndiaye, Ndioum et Bandafassi) dont deux au Nord et un au Sud-Est du Sénégal. Parmi celles-ci, deux races ont été déjà décrites au Mali (A3) et au Burkina Faso (A1) et 4 races qui n'ont pas encore été signalées en Afrique. Le partage de races entre pays suggère le transfert de matériel végétal contaminé d'un pays à un autre. Cette hypothèse est plausible d'autant plus qu'en matière de circulation de semences entre pays de la zone UMOA (Union Monétaire Ouest Africaine), la nouvelle réglementation permet la libre circulation des semences dans les pays membres de la zone. Il serait intéressant de retracer les routes d'invasion de cette maladie en Afrique de l'ouest. La découverte de quatre nouvelles races de *Xoo* jamais encore décrites en Afrique montre l'importance de la surveillance de cette maladie pour continuer à améliorer nos variétés par rapport au BB car chaque nouvelle race apparue constitue une menace de contournement de la stratégie génétique mise en place. La surveillance du BB au Mali a permis en 2019 à Tékété et al d'identifier six nouvelles races de *Xoo* (Tekete et al. 2019a). Deux gènes de résistance (*Xa1* et *xa5*) ont été identifiés pour une résistance efficace à 100% contre les 6 races de *Xoo* dont un dominant (*Xa1*) et un récessif (*xa5*). Il a été montré que l'efficacité des gènes de résistance aux maladies chez les plantes diminue au fil du temps en raison de la sélection de génotypes pathogènes virulents. L'un des principaux objectifs des programmes de protection des cultures est d'accroître la durabilité de la résistance conférée par ces gènes. Un déploiement spatial et temporel raisonné et informé des gènes de résistance aux maladies végétales est considéré comme un facteur majeur déterminant leur durabilité (Delmotte et al. 2016). La combinaison de multiples gènes de résistance au sein d'un seul génotype de plante (pyramidage génétique) est l'une des approches les plus réussies pour augmenter la durabilité de la résistance aux maladies. Beaucoup d'auteurs ont identifié le pyramidage des gènes de résistance comme étant un moyen important d'accroître la durabilité de la résistance et de réduire les pertes de

rendement des variétés par les maladies. Cependant, la durabilité de cette stratégie peut être amoindrie lorsque les pathogènes ont un potentiel évolutif important et/ou qu'il y a d'importants mouvements d'inoculum à large échelle (Mundt 2018; Johnson 1984).

Pour mieux diversifier cette résistance et éviter des phénomènes de contournement, il est important de trouver d'autres sources de résistance contre le BB. Ainsi le criblage de 22 variétés de riz cultivées au Sénégal a permis l'identification de 4 variétés (Dansan2, Sahel 202 ; Sahel305 ; Sahel 328 et SangangBye) hautement résistantes aux 6 races de *Xoo*, y compris les races A1 du Burkina Faso (BAI3) et la race A3 du Mali (MAI1). Vu le comportement de ces variétés, il est envisageable l'existence d'une source de résistance importante qu'il faudrait identifier pour permettre d'étendre la palette de résistance au BB à d'autres variétés bien appréciées par les consommateurs locaux mais sensibles à la maladie. Il a été constaté une structuration géographique des races de *Xoo* au Sénégal ; ainsi 4 races (A1, S2, S5 et S6) ont été identifiées au Nord du Sénégal dans deux sites (Ndiaye et Ndioum) et deux races (A3 et S4) identifiées au Sud-Est du pays dans un seul site (Bandafassi). Des résultats similaires de répartition géographique des races de *Xoo* ont été trouvés en Asie et en Afrique (Burkina Faso et Mali). Par ailleurs l'isolement de 27 souches de *Xoo* d'une portion de feuille de riz infectée a montré l'existence de 4 races différentes (A1, S2, S5 et S6) dans la même plante, mettant en évidence l'intérêt des stratégies de pyramidage mentionnées plus haut.

Pour ce qui est des *Xoc*, l'analyse par PCR du gène *avrRxo1* a permis de différencier deux groupes de souches de *Xoc :* les souches dépourvues du gène *avrRxo1* qui sont toutes virulentes sur la variété transgénique Kitaake *RXo1*, et les souches, beaucoup plus rares, possédant *avrRXo1* et qui sont incapables d'induire des lésions sur cette variété transgénique. Ainsi au plan amélioration variétal, l'utilisation de *RXo1* dans les variétés sensibles du Sénégal pour lutter contre le BLS ne saurait être efficace puisque beaucoup de souches *Xoc* sont capables de contourner cette résistance. Des résultats similaires ont été trouvés un peu partout en Afrique de l'Ouest notamment au Mali et au Burkina Faso (Tekete 2019; Issa Wonni et al. 2014). Donc il serait important de trouver des sources de résistance au BLS autres que *RXo1*. C'est ainsi que le phénotypage de la variété américaine Carolina gold (*Xo1*) et celle IRBB1 (*Xa1*) a montré un bon niveau de contrôle des souches *Xoc* du Sénégal. Mais étant donné que le gène *Xo1* de Carolina Gold ne parvient pas à contrôler les souches *Xoc* S52-4-4 et S52-4-15, il serait intéressant d'étudier les TALs impliqués dans ce phénomène de contournement et d'identifier les mécanismes qui sous-tendent cette sensibilité. Des études antérieures avaient indiqué que *Xo1* était capable de contrôler toutes les souches *Xoc* d'origine Africaine (L. R. Triplett et al. 2016b) mais nos résultats d'analyses MLVA démontrent que les souches *Xoc* S52-4-4 et S52-4-15 sont bien d'origine Africaine.

- Variabilité génétique des *Xoc* du Sénégal

Sur le plan de la diversité génétique, les résultats de MLVA ont montré qu'au Sénégal, les *Xoo* sont génétiquement éloignés des *Xoc* avec une différence d'au moins 9 loci entre les haplotypes les plus proches de ces deux pathovars (résultats non publié ici). Des travaux antérieurs menés en Asie et en Afrique ont démontré depuis longtemps la différenciation génétique de ces deux pathovars (Lucie Poulin et al. 2015; S. Zhao et al. 2012; Issa Wonni et al. 2014).

Les 55 souches de la collection de *Xoc* du Sénégal analysée se sont regroupées en 10 haplotypes différents. Cette répartition en haplotypes a été mise en relation avec plusieurs paramètres à savoir l'année, le site et la région géographique de collecte, l'hôte sur lequel l'isolement du pathovar a été fait. Nous avons ainsi pu mettre en évidence que plusieurs souches issues de différentes régions du Sénégal se regroupent au sein d'un même haplotype. Cette situation est compréhensible si l'on sait que la plupart des semences de riz de prébase du Sénégal sont produites dans les régions de Saint Louis par l'ISRA (Institut Sénégalais de Recherches Agricoles) et AfricaRice et à Ziguinchor par l'ISRA seulement. Ces semences sont ainsi dispersées dans tout le territoire national pour être multipliées afin de satisfaire la demande en semences de riz. Aussi il faut comprendre que le BB et le BLS ne sont pas tenu en compte au Sénégal lors de la certification des semences par les services de la DISEM. C'est pourquoi limiter la propagation de ces deux maladies par le biais des semences reste la piste prioritaire pour limiter la chaine de transmission de cette maladie. Aussi le risque d'une introduction de ces deux maladies par le biais de semences en provenance des pays de l'UEMOA (Union Économique et Monétaire Ouest Africaine) reste une possibilité car selon le nouveau règlement de l'union, toute variété certifiée dans un pays membre peut circuler librement dans un autre pays membre et être utilisée directement par la personne ou l'institut acquérant.

Les études de phénotypage de Kitaake *RXo1* par les différentes souches de *Xoc* de la collection du Sénégal confirmées par PCR, ont montré que la plupart des souches sont dépourvues de gène *avrRXo1* et que le transgène *RXo1* ne peut pas être utilisé au Sénégal dans le cadre de la lutte contre le BLS. Des résultats similaires ont été trouvés au Mali, où en 2019 Tékété a montré que *RXo1* était inefficace contre *Xoc* donc non conseillé dans la stratégie de lutte contre le BLS au Mali (Tekete 2019).

Les résultats des travaux de Doucouré et al en 2018 ont montré une faible diversité des TALs des *Xoo* africains. Selon ces auteurs, malgré cette faible diversité, les *Xoo* africains possèdent toujours une grande diversité de virulence, ceci grâce à la redondance fonctionnelle des TALs (Doucouré et al. 2018). Les pertes imputables au BB peuvent dans certaines conditions atteindre 55% du rendement total et constituer un facteur limitant à la production du riz au Sénégal. Des résultats similaires ont été

indiqués au Burkina Faso par Wonni et al en 2016 mais dans le cadre d'une infection naturelle au champ (Issa Wonni 2016).

## 5.2 Conclusion générale et perspectives

- Conclusion générale

Au Sénégal la riziculture est essentielle du fait de l'importance de cette céréale dans l'alimentation des populations. L'absence d'études sur le BB et le BLS montrent à quel point ces deux maladies sont jusqu'à présent considérées comme des maladies mineures. Et les prospections effectuées entre 2014 et 2016 et les études de confirmation de BB et BLS qui s'en sont suivies, ont permis de confirmer les observations de Thrin en 1980 et la présence de ces deux maladies dans plusieurs régions rizicoles du pays. Ainsi une première collection de *Xoo* et *Xoc* du Sénégal mise en place et caractérisée depuis 2017 a permis d'identifier deux gènes de résistance (*Xa1* et *xa5*) et 4 variétés résistantes à *Xoo* en utilisant respectivement les NILs/IRBBs et des variétés locales. Le phénotypage des variétés IRBB1 (*Xa1*), Kitaake *RXo1* (*RXo1*) et de Carolina gold (*Xo1*) a permis d'identifier *Xo1* et *Xa1* comme deux gènes de résistance efficaces contre les *Xoc* du Sénégal, d'autant plus que l'analyse PCR de ces *Xoc* révèle l'absence de gène *avrRXo1* chez la plupart des souches de la collection.

L'analyse MLVA a permis de faire une discrimination des souches de *Xoc* du Sénégal collectées entre 2014 et 2016 pour identifier 10 haplotypes différents. Cette première étape dans l'analyse génétique permettra de suivre l'évolution et une éventuelle augmentation de l'incidence du BLS au Sénégal. Donc une vigilance dans la surveillance de la dispersion des *X. oryzae* dans les différentes régions rizicoles du Sénégal doit être accentuée ; car l'étude a montré la présence dans un même site de souches en provenance des différentes régions du pays. Il est possible dans les années à venir de trouver de nouveaux haplotypes issus d'échanges de matériel génétique entre souches différentes présentes au sein d'une même feuille de riz.

Les pertes de productivité du riz imputables au BB sur les variétés cultivées au Sénégal variant entre 5,8% et 54,3% du rendement. L'importance de cet impact dépend à la fois de la race *Xoo* en présence et de la variété de riz cultivée. Les races A1 et S4 semblent provoquer des pertes de rendement variables selon la variété testée. La race A1 présente dans deux sites au Nord du Sénégal est la plus importante et vue la place de cette région dans la stratégie de politique rizicole du Sénégal, une surveillance accrue des *Xoo* devrait être adoptée pour parer à toute éventualité de flambée d'épidémies de BB dans la région.

Les résultats obtenus sur la caractérisation phénotypique et génétique des *X. oryzae* collectés au Sénégal entre 2014 et 2016, de même que les sources de résistance identifiées contre le BB et le

BLS sont des informations capitales.  Elles sont indispensables dans une perspective de mise en place d'un programme d'amélioration variétale pour lutter efficacement contre ces deux maladies émergentes. Un tel programme permettrait au gouvernement du Sénégal d'améliorer la productivité du riz dans une perspective d'autosuffisance en riz et maintenir une stratégie durable de lutte contre ces deux pathovars.

- Perspectives

Depuis les premières observations de Trinh en 1980 sur le BB et BLS au Sénégal, ce n'est qu'en 2017 que la première collection de ces deux pathovars a été constituée et les premières étapes de caractérisation ont suivi. La présence de 6 races de *Xoo* et de quatre gènes de résistance identifiés dont deux contre *Xoo* et deux contre *Xoc,* montrent à quel point il reste du chemin à faire pour mieux comprendre la structuration de la population de ces deux pathovars. Les études ultérieures devront mettre l'accent sur l'épidémiosurveillance et la prospection pour collecter plus de souches et dans toutes les surfaces rizicole du Sénégal afin de constituer une collection représentative des deux pathogènes.

L'identification de quatre variétés de riz cultivées au Sénégal résistantes aux 6 races de *Xoo* constitue sans doute une source de diversification de la résistance durable au BB. Cependant, l'investigation devrait continuer jusqu'à la localisation de ces sources de résistance afin de permettre l'optimisation de ce résultat.

L'analyse MLVA a permis de discriminer toute la collection de *Xoc* du Sénégal en seulement 10 haplotypes différents formant 3 complexes clonaux. Au regard des études faites dans les pays de la sous-région comme le Mali et le Burkina Faso, ce nombre est faible si l'on souhaite comprendre la structuration de la population de ce pathovars. Ainsi, des études comparatives avec les *Xoc* des pays africains devraient permettre de mieux suivre l'évolution de ce pathogène en Afrique et mieux comprendre les routes d'invasion de ce parasite en Afrique.

## 6 Références bibliographiques:


Abdallah, Abdallah M., Nicolaas C. Gey van Pittius, Patricia A. DiGiuseppe Champion, Jeffery Cox, Joen Luirink, Christina M. J. E. Vandenbroucke-Grauls, Ben J. Appelmelk, et Wilbert Bitter. 2007. « Type VII Secretion — Mycobacteria Show the Way ». Nature Reviews Microbiology 5 (11): 883-91. https://doi.org/10.1038/nrmicro1773.

Abdallah, Abdallah M., Theo Verboom, Fredericke Hannes, Mohamad Safi, Michael Strong, David Eisenberg, René J. P. Musters, et al. 2006. « A Specific Secretion System Mediates PPE41 Transport in Pathogenic Mycobacteria ». Molecular Microbiology 62 (3): 667-79. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05409.x.

Abo, M. E., M. D. Alegbejo, A. A. Sy, et S. M. Misari. 2000. « An Overview of the Mode of Transmission, Host Plants and Methods of Detection of Rice Yellow Mottle Virus ». Journal of Sustainable Agriculture 17 (1): 19-36. https://doi.org/10.1300/J064v17n01_04.

Abo, M. E., et A. A. SY. 1997. « Rice Virus Diseases: Epidemiology and Management Strategies ». Journal of Sustainable Agriculture 11 (2-3): 113-34. https://doi.org/10.1300/J064v11n02_09.

Abo, M. E., A. A. Sy, et M. D. Alegbejo. 1997. « Rice Yellow Mottle Virus (RYMV) in Africa: Evolution, Distribution, Economic Significance on Sustainable Rice Production and Management Strategies ». Journal of Sustainable Agriculture 11 (2-3): 85-111. https://doi.org/10.1300/J064v11n02_08.

Adhikari, T. B., C. Cruz, Q. Zhang, R. J. Nelson, D. Z. Skinner, T. W. Mew, et J. E. Leach. 1995. « Genetic Diversity of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae in Asia. » Applied and Environmental Microbiology 61 (3): 966-71.

Adhikari, Tika B., T. W. Mew, et Jan E. Leach. 1999. « Genotypic and Pathotypic Diversity in Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Nepal ». Phytopathology 89 (8): 687-94. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.8.687.

Afolabi, O., B. Milan, L. Poulin, J. Ongom, B. Szurek, R. Koebnik, et D. Silue. 2014. « First Report of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola Causing Bacterial Leaf Streak of Rice in Uganda ». Plant Disease 98 (11): 1579-1579. https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0745-PDN.

AfricaRice. 2004. « NERICA ». Africarice-French. 2004. https://www.africarice-fr.org/nerica.

Agrios. 2008. Plant Pathology, 5Th Edition. 5 edition. New Delhi: Elsevier.

Aladejana, Francisca, et Julius Olaoye Faluyi. 2007. « Agrobotanical Characteristics of Some West African Indigenous Species of the a Genome Complex of the Genus Oryza Linn ». International Journal of Botany. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012083312.

Alfano, James R., et Alan Collmer. 2004. « Type III Secretion System Effector Proteins: Double Agents in Bacterial Disease and Plant Defense ». Annual Review of Phytopathology 42: 385-414. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040103.110731.

Angot, Aurélie, Nemo Peeters, Esther Lechner, Fabienne Vailleau, Catherine Baud, Laurent Gentzbittel, Elodie Sartorel, Pascal Genschik, Christian Boucher, et Stéphane Genin. 2006. « Ralstonia

Solanacearum Requires F-Box-like Domain-Containing Type III Effectors to Promote Disease on Several Host Plants ». Proceedings of the National Academy of Sciences 103 (39): 14620-25. https://doi.org/10.1073/pnas.0509393103.

Antony, Ginny, Junhui Zhou, Sheng Huang, Ting Li, Bo Liu, Frank White, et Bing Yang. 2010. « Rice Xa13 Recessive Resistance to Bacterial Blight Is Defeated by Induction of the Disease Susceptibility Gene Os-11N3 ». The Plant Cell 22 (11): 3864-76. https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964.

Arlat, M., F. Van Gijsegem, J.c. Huet, J.c. Pernollet, et C.a. Boucher. 1994. « PopA1, a protein which induces a hypersensitivity-like response on specific Petunia genotypes, is secreted via the Hrp pathway of Pseudomonas solanacearum. » The EMBO Journal 13 (3): 543-53. https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1994.tb06292.x.

Aslam, Shazia N., Mari-Anne Newman, Gitte Erbs, Kate L. Morrissey, Delphine Chinchilla, Thomas Boller, Tina Tandrup Jensen, et al. 2008. « Bacterial Polysaccharides Suppress Induced Innate Immunity by Calcium Chelation ». Current Biology 18 (14): 1078-83. https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.06.061.

Ates, Ozlem. 2015. « Systems Biology of Microbial Exopolysaccharides Production ». Frontiers in Bioengineering and Biotechnology 3. https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00200.

Awoderu, V. A. 1991. « Rice yellow mottle virus in West Africa ». Tropical Pest Management 37 (4): 356-62. https://doi.org/10.1080/09670879109371614.

Bakker, W. 1970. « Rice Yellow Mottle, a Mechanically Transmissible Virus Disease of Rice in Kenya ». Netherlands Journal of Plant Pathology 76 (2): 53-63. https://doi.org/10.1007/BF01974433.

Bakker, W. 1974a. « Characterization and Ecological Aspects of Rice Yellow Mottle Virus in Kenya ». Phd, Wageningen: Pudoc. https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/423049.

Bakker, W. 1974b. Characterization and Ecological Aspects of Rice Yellow Mottle Virus in Kenya. Agricultural Research Reports 829. Wageningen: Centre for Agricultural Publ. and Documentation, PUDOC.

Bellieny-Rabelo, Daniel, Collins K. Tanui, Nikki Miguel, Stanford Kwenda, Divine Y. Shyntum, et Lucy N. Moleleki. 2019. « Transcriptome and Comparative Genomics Analyses Reveal New Functional Insights on Key Determinants of Pathogenesis and Interbacterial Competition in Pectobacterium and Dickeya spp ». Applied and Environmental Microbiology 85 (2): e02050-18. https://doi.org/10.1128/AEM.02050-18.

Bent, Andrew F., et David Mackey. 2007. « Elicitors, Effectors, and R Genes: The New Paradigm and a Lifetime Supply of Questions ». Annual Review of Phytopathology 45 (1): 399-436. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.45.062806.094427.

Birch, Paul RJ, Petra C Boevink, Eleanor M Gilroy, Ingo Hein, Leighton Pritchard, et Stephen C Whisson. 2008. « Oomycete RXLR Effectors: Delivery, Functional Redundancy and Durable Disease Resistance ». Current Opinion in Plant Biology, Biotic Interactions, 11 (4): 373-79. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.04.005.

Boch, Jens, et Ulla Bonas. 2010. « Xanthomonas AvrBs3 Family-Type III Effectors: Discovery and Function ». Annual Review of Phytopathology 48 (1): 419-36. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081936.

Boch, Jens, Heidi Scholze, Sebastian Schornack, Angelika Landgraf, Simone Hahn, Sabine Kay, Thomas Lahaye, Anja Nickstadt, et Ulla Bonas. 2009. « Breaking the Code of DNA Binding Specificity of TAL-Type III Effectors ». Science 326 (5959): 1509-12. https://doi.org/10.1126/science.1178811.

Bogdanove, Adam J., et Daniel F. Voytas. 2011. « TAL Effectors: Customizable Proteins for DNA Targeting ». Science 333 (6051): 1843-46. https://doi.org/10.1126/science.1204094.

Bonas, Ulla, Ralf Schulte, Stefan Fenselau, Gerald V. Minsavage, Brian J. Staskawicz, et Robert E. Stall. 1991. « Isolation of a Gene Cluster from Xanthomonas compestris pv. vesicatoria that Determines Pathogenicity and the Hypersensitive Response on Pepper and Tomato ». Molecular Plant-Microbe Interactions 4 (1): 81-88.

BRADBURY, J. F. 1984. « Genus II. Xanthomonas, Dowson 1939, 187.^<AL> »,. Bergey's manual of systematic bacteriology 1: 199-210.

Braun, Joachim von, M. S. Swaminathan, et Mark W. Rosegrant. 2004. « Agriculture, Food Security, Nutrition and the Millennium Development Goals ». 2004. Annual Reports. International Food Policy Research Institute (IFPRI). https://ideas.repec.org/p/fpr/annrep/2004.html.

Busungu, Constantine, Satoru Taura, Jun-Ichi Sakagami, Toyoaki Anai, et Katsuyuki Ichitani. 2018. « High-Resolution Mapping and Characterization of Xa42, a Resistance Gene against Multiple Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae Races in Rice (Oryza Sativa L.) ». Breeding Science, avril, 17094. https://doi.org/10.1270/jsbbs.17094.

Büttner, Daniela, et Ulla Bonas. 2002. « Port of entry - The type III secretion translocon ». Trends in microbiology 10 (mai): 186-92. https://doi.org/10.1016/S0966-842X(02)02331-4.

Büttner, Daniela, et Ulla Bonas. 2010. « Regulation and Secretion of Xanthomonas Virulence Factors ». FEMS Microbiology Reviews 34 (2): 107-33. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00192.x.

Büttner, Daniela, et Sheng Yang He. 2009. « Type III Protein Secretion in Plant Pathogenic Bacteria ». Plant Physiology 150 (4): 1656-64. https://doi.org/10.1104/pp.109.139089.

Cai, Rongman, James Lewis, Shuangchun Yan, Haijie Liu, Christopher R. Clarke, Francesco Campanile, Nalvo F. Almeida, et al. 2011. « The Plant Pathogen Pseudomonas Syringae Pv. Tomato Is Genetically Monomorphic and under Strong Selection to Evade Tomato Immunity ». PLOS Pathogens 7 (8): e1002130. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002130.

Chauhan, Bhagirath S., Khawar Jabran, et Gulshan Mahajan. 2017. Rice Production Worldwide. Springer.

Cheema, Kuljit K., Navjit K. Grewal, Yogesh Vikal, Rajiv Sharma, Jagjeet S. Lore, Aparna Das, Dharminder Bhatia, et al. 2008. « A Novel Bacterial Blight Resistance Gene from Oryza Nivara Mapped to 38 Kb Region on Chromosome 4L and Transferred to Oryza Sativa L. » Genetics Research 90 (5): 397-407. https://doi.org/10.1017/S0016672308009786.

CHEN, Cai-hong, Wei ZHENG, Xiao-man HUANG, Duan-pin ZHANG, et Xinghua Lin. 2006. « Major QTL Conferring Resistance to Rice Bacterial Leaf Streak ». Agricultural Sciences in China - AGRIC SCI CHINA 5 (mars): 216-20. https://doi.org/10.1016/S1671-2927(06)60041-2.

Chevalier, Auguste. 1937. « Les plantes magiques cultivées par les Noirs d'Afrique et leur origine ». Journal des Africanistes 7 (1): 93-105. https://doi.org/10.3406/jafr.1937.1626.

Chivero, Peter, Shoichi Gohtani, Hidefumi Yoshii, et Akihiro Nakamura. 2015. « Effect of Xanthan and Guar Gums on the Formation and Stability of Soy Soluble Polysaccharide Oil-in-Water Emulsions ». Food Research International 70 (avril): 7-14. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.025.

Christie, Peter J., et Antonello Covacci. 2004. « Bacterial Type IV Secretion Systems: DNA Conjugation Machines Adapted for Export of Virulence Factors ». In Cellular Microbiology, 393-408. John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1128/9781555817633.ch16.

Clarke, Christopher R., Delphine Chinchilla, Sarah R. Hind, Fumiko Taguchi, Ryuji Miki, Yuki Ichinose, Gregory B. Martin, Scotland Leman, Georg Felix, et Boris A. Vinatzer. 2013. « Allelic Variation in Two Distinct Pseudomonas Syringae Flagellin Epitopes Modulates the Strength of Plant Immune Responses but Not Bacterial Motility ». New Phytologist 200 (3): 847-60. https://doi.org/10.1111/nph.12408.

Cohn, Megan, Rebecca S. Bart, Mikel Shybut, Douglas Dahlbeck, Michael Gomez, Robert Morbitzer, Bi-Huei Hou, Wolf B. Frommer, Thomas Lahaye, et Brian J. Staskawicz. 2014. « Xanthomonas axonopodis Virulence Is Promoted by a Transcription Activator-Like Effector–Mediated Induction of a SWEET Sugar Transporter in Cassava ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 27 (11): 1186-98. https://doi.org/10.1094/MPMI-06-14-0161-R.

Converse, Scott E., et Jeffery S. Cox. 2005. « A Protein Secretion Pathway Critical for Mycobacterium Tuberculosis Virulence Is Conserved and Functional in Mycobacterium Smegmatis ». Journal of Bacteriology 187 (4): 1238-45. https://doi.org/10.1128/JB.187.4.1238-1245.2005.

Cruz, Casiana M. Vera, Jianfa Bai, Isabelita Oña, Hei Leung, Rebecca J. Nelson, Twng-Wah Mew, et Jan E. Leach. 2000. « Predicting Durability of a Disease Resistance Gene Based on an Assessment of the Fitness Loss and Epidemiological Consequences of Avirulence Gene Mutation ». Proceedings of the National Academy of Sciences 97 (25): 13500-505. https://doi.org/10.1073/pnas.250271997.

Das, Amit, Nandini Rangaraj, et Ramesh V. Sonti. 2008. « Multiple Adhesin-Like Functions of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Are Involved in Promoting Leaf Attachment, Entry, and Virulence on Rice ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 22 (1): 73-85. https://doi.org/10.1094/MPMI-22-1-0073.

Delmotte, Francois, Denis Bourguet, Pierre Franck, Thomas Guillemaud, Xavier Reboud, Corinne Vacher, et Anne-Sophie Walker. 2016. « Combining Selective Pressures to Enhance the Durability of Disease Resistance Genes ». Frontiers in Plant Science 7. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01916.

Deng, Yong, Hongbo Liu, Yan Zhou, Qinglu Zhang, Xianghua Li, et Shiping Wang. 2018. « Exploring the Mechanism and Efficient Use of a Durable Gene-Mediated Resistance to Bacterial Blight Disease in Rice ». Molecular Breeding 38 (2): 18. https://doi.org/10.1007/s11032-018-0778-1.

Dhaliwal, G S, Vikas Jindal, et A K Dhawan. 2010. « Insect Pest Problems and Crop Losses: Changing Trends », 8.

Diarra, A. 1992. « Les ennemis du riz dans le Sahel ». In , 159-69. http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=6487356.

Dieye, Guillaume Duteurtre, Mbène Dieye Faye et Papa Nouhine. 2010. L'agriculture sénégalaise à l'épreuve du marché. KARTHALA Editions.

Doucoure, Hinda. 2017. « Création de résistance à large spectre contre la bactériose foliaire du riz au Mali ». Thesis, Montpellier. http://www.theses.fr/2017MONTT100.

Doucouré, Hinda, Alvaro L. Pérez-Quintero, Ganna Reshetnyak, Cheick Tekete, Florence Auguy, Emilie Thomas, Ralf Koebnik, et al. 2018. « Functional and Genome Sequence-Driven Characterization of tal Effector Gene Repertoires Reveals Novel Variants With Altered Specificities in Closely Related Malian Xanthomonas oryzae pv. oryzae Strains ». Frontiers in Microbiology 9 (août). https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01657.

Dow, J. M., A. E. Osbourn, T. J. Wilson, et M. J. Daniels. 1995. « A Locus Determining Pathogenicity of Xanthomonas Campestris Is Involved in Lipopolysaccharide Biosynthesis ». Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI 8 (5): 768-77. https://doi.org/10.1094/mpmi-8-0768.

Eklou A. Somado. 2008. NERICA : The New Rice for Africa: A Compendium. Ward a. https://doi.org/10.13140/rg.2.1.3633.4800.

Enfert, C. d', A. Ryter, et A. P. Pugsley. 1987. « Cloning and expression in Escherichia coli of the Klebsiella pneumoniae genes for production, surface localization and secretion of the lipoprotein pullulanase. » The EMBO Journal 6 (11): 3531-38. https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1987.tb02679.x.

Eoche-Bosy, Delphine. 2016. « Génomique de l'adaptation de Globodera pallida aux résistances de la pomme de terre et conséquences sur les traits d'histoire de vie du nématode ». Phdthesis, Agrocampus Ouest. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01638318.

FAO. 2014. « CADRE DE PROGRAMMATION PAR PAYS ». http://www.fao.org/3/a-bp642f.pdf.

FAO, et DAPSA/MAER. 2018. « Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture ». Population (French Edition) 5 (4): 764. https://doi.org/10.2307/1523706.

Fath, M. J., et R. Kolter. 1993. « ABC Transporters: Bacterial Exporters. » Microbiology and Molecular Biology Reviews 57 (4): 995-1017.

Fauquet, Christian, et Jean-Claude Thouvenel. 1984. « Transmission par Insectes des maladies virales de plantes en Afrique tropicale ». Bulletin de la Société entomologique de France 89 (1): 741-46.

Fauquet, CM, et D Fargette. 2005. « International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species ». Virology Journal 2 (août): 64. https://doi.org/10.1186/1743-422X-2-64.

Finlay, B. B., et S. Falkow. 1997. « Common Themes in Microbial Pathogenicity Revisited. » Microbiology and Molecular Biology Reviews 61 (2): 136-69.

Galmiche, A., et P. Boquet. 2001. « Toxines bactériennes : facteurs de virulence et outils de biologie cellulaire. » M/S. Médecine sciences [revue papier, ISSN : 0767-0974], 2001, Vol. 17, N° 6-7; p.691-700. https://doi.org/10.4267/10608/1993.

Gao, Lian-Yong, Su Guo, Bryant McLaughlin, Hiroshi Morisaki, Joanne N. Engel, et Eric J. Brown. 2004. « A Mycobacterial Virulence Gene Cluster Extending RD1 Is Required for Cytolysis, Bacterial Spreading and ESAT-6 Secretion ». Molecular Microbiology 53 (6): 1677-93. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04261.x.

Genin, Stéphane, et Christian Boucher. 2004. « Lessons Learned from the Genome Analysis of Ralstonia Solanacearum ». Annual Review of Phytopathology 42 (1): 107-34. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.011204.104301.

Gerlach, Roman G., et Michael Hensel. 2007. « Protein Secretion Systems and Adhesins: The Molecular Armory of Gram-Negative Pathogens ». International Journal of Medical Microbiology 297 (6): 401-15. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.03.017.

Ghosh, Partho. 2004. « Process of Protein Transport by the Type III Secretion System ». Microbiology and Molecular Biology Reviews 68 (4): 771-95. https://doi.org/10.1128/MMBR.68.4.771-795.2004.

Glazebrook, Jane, Wenqiong Chen, Bram Estes, Hur-Song Chang, Christiane Nawrath, Jean-Pierre Métraux, Tong Zhu, et Fumiaki Katagiri. 2003. « Topology of the Network Integrating Salicylate and Jasmonate Signal Transduction Derived from Global Expression Phenotyping ». The Plant Journal 34 (2): 217-28. https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01717.x.

Gonzalez, Carolina, Boris Szurek, Charles Manceau, Thierry Mathieu, Yacouba Séré, et Valérie Verdier. 2007a. « Molecular and Pathotypic Characterization of New Xanthomonas oryzae Strains from West Africa ». Molecular Plant-Microbe Interactions 20 (5): 534-46. https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534.

Gonzalez, Carolina, Boris Szurek, Charles Manceau, Thierry Mathieu, Yacouba Séré, et Valérie Verdie. 2007b. « Molecular and Pathotypic Characterization of New Xanthomonas oryzae Strains from West Africa ». Molecular Plant-Microbe Interactions 20 (5): 534-46. https://doi.org/10.1094/MPMI-20-5-0534.

Gough, C. L., S. Genin, C. Zischek, et A. Boucher. 1992. « hrp Genes of Pseudomonas solanarum are Homologous to Pathogenicity Determinnts of Animal Pathogenic Bacteria and are conserved Among Plant Pathogenic Bacteria ». Molecular Plant-Microbe Interactions, 1992.

Green, Erin R., et Joan Mecsas. 2016. « Bacterial Secretion Systems: An Overview ». In Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens, 213-39. John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1128/9781555819286.ch8.

Gu, Keyu, Bing Yang, Dongsheng Tian, Lifang Wu, Dongjiang Wang, Chellamma Sreekala, Fan Yang, et al. 2005a. « R Gene Expression Induced by a Type-III Effector Triggers Disease Resistance in Rice ». Nature 435 (7045): 1122-25. https://doi.org/10.1038/nature03630.

Gu, Keyu, Bing Yang, Dongsheng Tian, Lifang Wu, Dongjiang Wang, Chellamma Sreekala, Fan Yang, et a. 2005b. « R Gene Expression Induced by a Type-III Effector Triggers Disease Resistance in Rice ». Nature 435 (7045): 1122-25. https://doi.org/10.1038/nature03630.

Gudesblat, Gustavo E., Pablo S. Torres, et Adrián A. Vojnov. 2009. « Xanthomonas Campestris Overcomes Arabidopsis Stomatal Innate Immunity through a DSF Cell-to-Cell Signal-Regulated Virulence Factor ». Plant Physiology 149 (2): 1017-27. https://doi.org/10.1104/pp.108.126870.

Guinard, Jérémy. 2015. « Dynamique évolutive de Ralstonia solanacearum en réponse aux pressions de sélection de l'aubergine résistante : approche populationnelle, de génétique évolutive et fonctionnelle de la durabilité de la résistance ». Thesis, La Réunion. http://www.theses.fr/2015LARE0032.

Guinn, Kristi M., Mark J. Hickey, Sanjeev K. Mathur, Kelly L. Zakel, Jeff E. Grotzke, David M. Lewinsohn, Sherilyn Smith, et David R. Sherman. 2004. « Individual RD1-Region Genes Are Required for Export of ESAT-6/CFP-10 and for Virulence of Mycobacterium Tuberculosis ». Molecular Microbiology 51 (2): 359-70. https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03844.x.

Gürlebeck, Doreen, Frank Thieme, et Ulla Bonas. 2006. « Type III effector proteins from the plant pathogen Xanthomonas and their role in the interaction with the host plant ». Journal of Plant Physiology 163 (3): 233-55. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.11.011.

Hajri, Ahmed, Chrystelle Brin, Shuai Zhao, Perrine David, Jia-Xun Feng, Ralf Koebnik, Boris Szurek, Valérie Verdier, Tristan Boureau, et Stephane Poussier. 2012. « Multilocus Sequence Analysis and Type III Effector Repertoire Mining Provide New Insights into the Evolutionary History and Virulence of Xanthomonas Oryzae: Phylogeny and Effector Genes of Xanthomonas Oryzae ». Molecular Plant Pathology 13 (3): 288-302. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00745.x.

He, Wen-ai, Da-hui Huang, Rong-bai Li, Yong-fu Qiu, Jian-dong Song, Hai-ning Yang, Jia-xing Zheng, et al. 2012. « Identification of a Resistance Gene Bls1 to Bacterial Leaf Streak in Wild Rice Oryza Rufipogon Griff. » Journal of Integrative Agriculture 11 (6): 962-69. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(12)60087-2.

Hollenstein, Kaspar, Roger JP Dawson, et Kaspar P Locher. 2007. « Structure and Mechanism of ABC Transporter Proteins ». Current Opinion in Structural Biology, Membranes / Engineering and design, 17 (4): 412-18. https://doi.org/10.1016/j.sbi.2007.07.003.

Hotson, Andrew, Renee Chosed, Hongjun Shu, Kim Orth, et Mary Beth Mudgett. 2003. « Xanthomonas Type III Effector XopD Targets SUMO-Conjugated Proteins in Planta ». Molecular Microbiology 50 (2): 377-89. https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03730.x.

Hu, Yang, Junli Zhang, Hongge Jia, Davide Sosso, Ting Li, Wolf B. Frommer, Bing Yang, Frank F. White, Nian Wang, et Jeffrey B. Jones. 2014. « Lateral Organ Boundaries 1 Is a Disease Susceptibility Gene for Citrus Bacterial Canker Disease ». Proceedings of the National Academy of Sciences 111 (4): E521-29. https://doi.org/10.1073/pnas.1313271111.

Huang, N., E. R. Angeles, J. Domingo, G. Magpantay, S. Singh, G. Zhang, N. Kumaravadivel, J. Bennett, et G. S. Khush. 1997. « Pyramiding of Bacterial Blight Resistance Genes in Rice: Marker-Assisted Selection Using RFLP and PCR ». Theoretical and Applied Genetics 95 (3): 313-20. https://doi.org/10.1007/s001220050565.

Hueck, Christoph J. 1998. « Type III Protein Secretion Systems in Bacterial Pathogens of Animals and Plants ». Microbiology and Molecular Biology Reviews 62 (2): 379-433.

Hummel, Aaron W., Erin L. Doyle, et Adam J. Bogdanove. 2012. « Addition of Transcription Activator-like Effector Binding Sites to a Pathogen Strain-Specific Rice Bacterial Blight Resistance Gene Makes It Effective against Additional Strains and against Bacterial Leaf Streak ». The New Phytologist 195 (4): 883-93. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04216.x.

Hung, Chih-Hsin, Hsung-Chi Wu, et Yi-Hsiung Tseng. 2002. « Mutation in the Xanthomonas Campestris XanA Gene Required for Synthesis of Xanthan and Lipopolysaccharide Drastically Reduces the Efficiency of Bacteriophage ΦL7 Adsorption ». Biochemical and Biophysical Research Communications 291 (2): 338-43. https://doi.org/10.1006/bbrc.2002.6440.

International Rice Research Institute, éd. 1989. Bacterial Blight of Rice: Proceedings of the International Workshop on Bacterial Blight of Rice, 14-18 March 1988. Manila, Philippines: IRRI.

ISRA PSD. 2018. « Plan Stratégique de Développement -2018-2022 ».

Jeung, J. U., S. G. Heu, M. S. Shin, C. M. Vera Cruz, et K. K. Jena. 2006. « Dynamics of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Populations in Korea and Their Relationship to Known Bacterial Blight Resistance Genes ». PhytopathologyTM 96 (8): 867-75. https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0867.

Jha, Gopaljee, R. Rajeshwari, et Ramesh V. Sonti. 2005. « Bacterial Type Two Secretion System Secreted Proteins: Double-Edged Swords for Plant Pathogens ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 18 (9): 891-98. https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0891.

Jiang, Nan, Jun Yan, Yi Liang, Yanlong Shi, Zhizhou He, Yuntian Wu, Qin Zeng, Xionglun Liu, et Junhua Peng. 2020. « Resistance Genes and their Interactions with Bacterial Blight/Leaf Streak Pathogens (Xanthomonas oryzae) in Rice (Oryza sativa L.)—an Updated Review ». Rice 13 (1): 3. https://doi.org/10.1186/s12284-019-0358-y.

Johnson, R. 1984. « A Critical Analysis of Durable Resistance », 22.

Kam, H., M.-N. Ndjiondjop, N. Ouedraogo, M.D. Laing, et A. Ghesquiere. 2018. « Evaluation of Rice Cultivars for Resistance to Rice Yellow Mottle Virus ». African Crop Science Journal 26 (1): 49. https://doi.org/10.4314/acsj.v26i1.4.

Kang, K. S., et D. J. Pettitt. 1993. « CHAPTER 13 - XANTHAN, GELLAN, WELAN, AND RHAMSAN ». In Industrial Gums (Third Edition), édité par ROY L. Whistler et JAMES N. Bemiller, 341-97. London: Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-092654-4.50017-6.

Kay, Sabine, et Ulla Bonas. 2009. « How Xanthomonas Type III Effectors Manipulate the Host Plant ». Current Opinion in Microbiology, Host–Microbe Interactions: Bacteria, 12 (1): 37-43. https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.12.006.

Khan, Taous, Joong Kon Park, et Joong-Ho Kwon. 2007. « Functional Biopolymers Produced by Biochemical Technology Considering Applications in Food Engineering ». Korean Journal of Chemical Engineering 24 (5): 816-26. https://doi.org/10.1007/s11814-007-0047-1.

Kingsley, M. T., D. W. Gabriel, G. C. Marlow, et P. D. Roberts. 1993. « The OpsX Locus of Xanthomonas Campestris Affects Host Range and Biosynthesis of Lipopolysaccharide and Extracellular Polysaccharide. » Journal of Bacteriology 175 (18): 5839-50. https://doi.org/10.1128/jb.175.18.5839-5850.1993.

Kobe, Bostjan, et Andrey V Kajava. 2000. « When Protein Folding Is Simplified to Protein Coiling: The Continuum of Solenoid Protein Structures ». Trends in Biochemical Sciences 25 (10): 509-15. https://doi.org/10.1016/S0968-0004(00)01667-4.

Korotkov, Konstantin V., Maria Sandkvist, et Wim G. J. Hol. 2012. « The Type II Secretion System: Biogenesis, Molecular Architecture and Mechanism ». Nature Reviews Microbiology 10 (5): 336-51. https://doi.org/10.1038/nrmicro2762.

Kottapalli, Kameswara, M. Narasu, et Kshirod Jena. 2010. « Effective strategy for pyramiding three bacterial blight resistance genes into fine grain rice cultivar, Samba Mahsuri, using sequence tagged site markers ». Biotechnology letters 32 (mars): 989-96. https://doi.org/10.1007/s10529-010-0249-1.

Kouassi, N. K., P. N'Guessan, L. Albar, C.M. Fauquet, et C. Brugidou. 2005. « Distribution and Characterization of Rice Yellow Mottle Virus : A Threat to African Farmers ». Plant Disease 89 (2): 124-33. https://doi.org/10.1094/PD-89-0124.

Leo, Jack C., Iwan Grin, et Dirk Linke. 2012. « Type V secretion: mechanism(s) of autotransport through the bacterial outer membrane ». Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 367 (1592): 1088-1101. https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0208.

Leyns, Frederik, Marcel De Cleene, Jean-Guy Swings, et Jozef De Ley. 1984. « The Host Range of the GenusXanthomonas ». The Botanical Review 50 (3): 308-56. https://doi.org/10.1007/BF02862635.

Lin, Yu-Mei, I-Chun Chou, Jaw-Fen Wang, Fang-I Ho, Yu-Ju Chu, Pei-Cheng Huang, Der-Kang Lu, et al. 2008. « Transposon Mutagenesis Reveals Differential Pathogenesis of Ralstonia solanacearum on Tomato and Arabidopsis ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 21 (9): 1261-70. https://doi.org/10.1094/MPMI-21-9-1261.

Lindgren, P. B., R. C. Peet, et N. J. Panopoulos. 1986. « Gene Cluster of Pseudomonas Syringae Pv. "Phaseolicola" Controls Pathogenicity of Bean Plants and Hypersensitivity of Nonhost Plants. » Journal of Bacteriology 168 (2): 512-22. https://doi.org/10.1128/jb.168.2.512-522.1986.

Lindgren, Peter B. 1997. « THE ROLE OF hrp GENES DURING PLANT-BACTERIAL INTERACTIONS ». Annual Review of Phytopathology 35 (1): 129-52. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.35.1.129.

Liu, H., W. Yang, B. Hu, et F. Liu. 2007. « Virulence Analysis and Race Classification of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae in China ». Journal of Phytopathology 155 (3): 129-35. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01197.x.

Liu, Qinsong, Meng Yuan, Yan Zhou, Xianghua Li, Jinghua Xiao, et Shiping Wang. 2011. « A Paralog of the MtN3/Saliva Family Recessively Confers Race-Specific Resistance to Xanthomonas Oryzae in Rice ». Plant, Cell & Environment 34 (11): 1958-69. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02391.x.

Loebenstein, Gad, et George Thottappilly. 2013. Virus and Virus-like Diseases of Major Crops in Developing Countries. Springer Science & Business Media.

Lorieux, M., M.-N. Ndjiondjop, et A. Ghesquière. 2000. « A First Interspecific Oryza Sativa×Oryza Glaberrima Microsatellite-Based Genetic Linkage Map ». Theoretical and Applied Genetics 100 (3): 593-601. https://doi.org/10.1007/s001229900061.

Lu, Hong, Prabhu Patil, Marie-Anne Van Sluys, Frank F. White, Robert P. Ryan, J. Maxwell Dow, Pablo Rabinowicz, et al. 2008. « Acquisition and Evolution of Plant Pathogenesis–Associated Gene Clusters and Candidate Determinants of Tissue-Specificity in Xanthomonas ». Édité par Ping Wang. PLoS ONE 3 (11): e3828. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003828.

Mak, Amanda Nga-Sze, Philip Bradley, Raul A. Cernadas, Adam J. Bogdanove, et Barry L. Stoddard. 2012. « The Crystal Structure of TAL Effector PthXo1 Bound to Its DNA Target ». Science 335 (6069): 716-19. https://doi.org/10.1126/science.1216211.

Mballo, Issa, et Oumar Sy. 2020. « Programme d'Accélération de la Cadence de l'Agriculture Sénégalaise (PRACAS) et dynamique des espaces agricoles sénégalais: Cas du bassin de l'Anambe ». Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires 8 (1). https://agrimaroc.org/index.php/Actes_IAVH2/article/view/801.

Mbodj, Yamar. 1989a. La lutte intégrée contre les maladies du riz en Casamance au Sénégal. Institut sénégalais de recherches agricoles.

Mbodj, Yamar. 1989b. La lutte intégrée contre les maladies du riz en Casamance au Sénégal. Institut sénégalais de recherches agricoles.

Melotto, Maeli, et Barbara N. Kunkel. 2013. « Virulence Strategies of Plant Pathogenic Bacteria ». In The Prokaryotes: Prokaryotic Physiology and Biochemistry, édité par Eugene Rosenberg, Edward F. DeLong, Stephen Lory, Erko Stackebrandt, et Fabiano Thompson, 61-82. Berlin, Heidelberg: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30141-4_62.

Mew, T W. 1987. « Current Status and Future Prospects of Research on Bacterial Blight of Rice ». Annual Review of Phytopathology 25 (1): 359-82. https://doi.org/10.1146/annurev.py.25.090187.002043.

Mew, T. W., A. M. Alvarez, J. E. Leach, et J. Swings. 1993. « Focus on Bacterial Blight of Rice. » Plant Disease 77 (1): 5-12.

Mhedbi-Hajri, Nadia, Marie-Agnès Jacques, et Ralf Koebnik. 2011. « Adhesion Mechanisms of Plant-Pathogenic Xanthomonadaceae ». In Bacterial Adhesion: Chemistry, Biology and Physics, édité par Dirk Linke et Adrian Goldman, 71-89. Advances in Experimental Medicine and Biology. Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0940-9_5.

Moinina, Alieu, Mohammed Boulif, et Rachid Lahlali. 2018. « La culture de riz (Oryza sativa) et ses principaux problèmes phytosanitaires: Une mise point sur la région de Gharb ». Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires 6 (4): 544-57.

Mondal, Dibyendu, Anannya Ghosh, Debashis Roy, Adyant Kumar, Soumen Bera, Ratikanta Ghosh, Pintoo Bandopadhyay, et Anurup Majumder. 2017. « Yield loss assessment of rice (Oryza Sativa L.) due to different biotic stresses under system of rice intensification (SRI) ». Journal of Entomology and Zoology Studies, 7.

Moscou, Matthew J., et Adam J. Bogdanove. 2009. « A Simple Cipher Governs DNA Recognition by TAL Effectors ». Science 326 (5959): 1501-1501. https://doi.org/10.1126/science.1178817.

Mundt, Christopher C. 2018. « Pyramiding for Resistance Durability: Theory and Practice ». Phytopathology® 108 (7): 792-802. https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-17-0426-RVW.

Murakami, Mário Tyago, Mauricio Luis Sforça, Jorge Luiz Neves, Joice Helena Paiva, Mariane Noronha Domingues, André Luiz Araujo Pereira, Ana Carolina de Mattos Zeri, et Celso Eduardo Benedetti. 2010. « The Repeat Domain of the Type III Effector Protein PthA Shows a TPR-like Structure and Undergoes Conformational Changes upon DNA Interaction ». Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics 78 (16): 3386-95. https://doi.org/10.1002/prot.22846.

Musset, René. 1942. « Le Riz dans le monde. » Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée 22 (247): 151-80. https://doi.org/10.3406/jatba.1942.1688.

Nacro, Souleymane, E. A. Heinrichs, et D. Dakouo. 1996. « Estimation of rice yield losses due to the African rice gall midge, Orseolia oryzivora Harris and Gagne ». International Journal of Pest Management 42 (4): 331-34. https://doi.org/10.1080/09670879609372016.

Nayak, P., et N. K. Chakrabarti. 1986. « Stable Resistance to Bacterial Blight Disease in Rice ». Annals of Applied Biology 109 (1): 179-86. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1986.tb03197.x.

Newman, M.-A., J.M. Dow, et M.J. Daniels. 2001. « Bacterial Lipopolysaccharides And Plant—Pathogen Interactions ». European Journal of Plant Pathology 107 (1): 95-102. https://doi.org/10.1023/A:1008738817551.

Niño-Liu, David O., Pamela C. Ronald, et Adam J. Bogdanove. 2006a. « Xanthomonas Oryzae Pathovars: Model Pathogens of a Model Crop ». Molecular Plant Pathology 7 (5): 303-24. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x.

———. 2006b. « Xanthomonas Oryzae Pathovars: Model Pathogens of a Model Crop ». Molecular Plant Pathology 7 (5): 303-24. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x.

Noël, Laurent, Frank Thieme, Dirk Nennstiel, et Ulla Bonas. 2001. « CDNA-AFLP Analysis Unravels a Genome-Wide HrpG-Regulon in the Plant Pathogen Xanthomonas Campestris Pv. Vesicatoria ». Molecular Microbiology 41 (6): 1271-81. https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02567.x.

Nwilene, F. E., S. Nacro, M. Tamò, P. Menozzi, E. A. Heinrichs, A. Hamadoun, D. Dakouo, C. Adda, et A. Togola. 2013. « Managing Insect Pests of Rice in Africa. » In Realizing Africa's Rice Promise, édité par M. C. S. Wopereis, D. E. Johnson, N. Ahmadi, E. Tollens, et A. Jalloh, 229-40. Wallingford: CABI. https://doi.org/10.1079/9781845938123.0229.

Nwilene, F. E., K. F. Nwanze, et A. Youdeowei. 2008. « Impact of Integrated Pest Management on Food and Horticultural Crops in Africa ». Entomologia Experimentalis et Applicata 128 (3): 355-63. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2008.00744.x.

Ochiai, Hirokazu, et Hisatoshi Kagami. 1999. « Relationships among Xanthomonas species and pathovars based on RFLP analyses of PCR-amplified 16S, 23S rDNA and rDNA internal transcribed spacer ». Bulletin of the Japanese Society of Plant Pathology 65 (4): 437-46. https://doi.org/10.3186/jjphytopath.65.437.

Ogawa, Tsugufumi, Tsuyashi Yamamoto, Gurdev S. Khush, et Twng-Wah Mew. 1991. « Breeding of Near-Isogenic Line of Rice With Single Gene for Resistance to Bacterial Blight Pathogen (Xanthomonas compestris pv. oryzae) ». Journal of Breeding Studies 41 (3): 523-29. https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.41.523.

Ojanen, Tuula, Ilkka M. Helander, Kielo Haahtela, Timo K. Korhonen, et Tuula Laakso. 1993. « Outer Membrane Proteins and Lipopolysaccharides in Pathovars of Xanthomonas Campestris ». Applied and Environmental Microbiology 59 (12): 4143-51.

Omar Ndaw, Faye, Mamadou Sock, Jeong-Ho OH, Woo-Jae Kim, Jeong-Ran Lee, Eok-Keun Ahn, Baboucarr Manneh, et Kyung-Ho Kang. 2020. « Status of Rice Cultivation and Breeding in Senegal ». Journal of the Korean Society of International Agricultue 32 (décembre): 381-89. https://doi.org/10.12719/KSIA.2020.32.4.381.

Orth, Kim, Zhaohui Xu, Mary Beth Mudgett, Zhao Qin Bao, Lance E. Palmer, James B. Bliska, Walter F. Mangel, Brian Staskawicz, et Jack E. Dixon. 2000. « Disruption of Signaling by Yersinia Effector YopJ, a Ubiquitin-Like Protein Protease ». Science 290 (5496): 1594-97. https://doi.org/10.1126/science.290.5496.1594.

Ou, S. H., et Commonwealth Mycological Institute Britain). 1972. « Rice Diseases ». Kew : Commonwealth Mycological Institute. https://trove.nla.gov.au/version/12247319.

Ou, Shu Huang, et Commonwealth Mycological Institute (Great Britain). 1985. Rice Diseases. IRRI.

Ouedraogo, Sidi Lamine, Irénée Somda, Issa Wonni, et Yacouba Séré. 2007. « ETUDE DE LA RÉSISTANCE AU FLÉTRISSEMENT BACTÉRIEN DE LIGNÉES INTER- ET INTRASPÉCIFIQUES DE RIZ DE BAS-FONDS EN CONDITIONS D'INFESTATION ARTIFICIELLES ». 2007. https://www.semanticscholar.org/paper/ETUDE-

DE-LA-R%C3%89SISTANCE-AU-FL%C3%89TRISSEMENT-BACT%C3%89RIEN-Ouedraogo-Somda/75fcf401b708d93f160efb664058a1065db64a84.

Owens, Lowell D. 1969. « Toxins in Plant Disease: Structure and Mode of Action ». Science 165 (3888): 18-25.

Patil, Prabhu B., Adam J. Bogdanove, et Ramesh V. Sonti. 2007. « The Role of Horizontal Transfer in the Evolution of a Highly Variable Lipopolysaccharide Biosynthesis Locus in Xanthomonads That Infect Rice, Citrus and Crucifers ». BMC Evolutionary Biology 7 (1): 243. https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-243.

Patil, Prabhu B., et Ramesh V. Sonti. 2004. « Variation Suggestive of Horizontal Gene Transfer at a Lipopolysaccharide (Lps) Biosynthetic Locus in Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae, the Bacterial Leaf Blight Pathogen of Rice ». BMC Microbiology 4 (1): 40. https://doi.org/10.1186/1471-2180-4-40.

Peeters, Nemo, Sébastien Carrère, Maria Anisimova, Laure Plener, Anne-Claire Cazalé, et Stephane Genin. 2013. « Repertoire, Unified Nomenclature and Evolution of the Type III Effector Gene Set in the Ralstonia Solanacearum Species Complex ». BMC Genomics 14 (1): 859. https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-859.

Potnis, Neha, Ksenia Krasileva, Virginia Chow, Nalvo F. Almeida, Prabhu B. Patil, Robert P. Ryan, Molly Sharlach, et al. 2011. « Comparative Genomics Reveals Diversity among Xanthomonads Infecting Tomato and Pepper ». BMC Genomics 12 (1): 146. https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-146.

Poulin, L., P. Grygiel, M. Magne, L. Gagnevin, L. M. Rodriguez-R, N. Forero Serna, S. Zhao, et al. 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 ». Édité par H. Goodrich-Blair. Applied and Environmental Microbiology 81 (2): 688-98. https://doi.org/10.1128/AEM.02768-14.

Poulin, L., H. Raveloson, M. Sester, L.-M. Raboin, D. Silué, R. Koebnik, et B. Szurek. 2014. « Confirmation of Bacterial Leaf Streak Caused by Xanthomonas oryzae pv. oryzicola on Rice in Madagascar ». Plant Disease 98 (10): 1423-1423. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-14-0132-PDN.

Poulin, Lucie, Pierre Grygiel, Maxime Magne, Lionel Gagnevin, Luis M. Rodriguez-R, N. Forero Serna, Shuai Zhao, M. El Rafii, S. Dao, et C. Tekete. 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 (2): 688-98.

Raetz, Christian R. H., et Chris Whitfield. 2003. « Lipopolysaccharide Endotoxins ». Review-article. Http://Dx.Doi.Org/10.1146/Annurev.Biochem.71.110601.135414. Annual Reviews 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA. 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA. 28 novembre 2003. https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.71.110601.135414.

Rajeshwari, R., Gopaljee Jha, et Ramesh V. Sonti. 2005. « Role of an In Planta-Expressed Xylanase of Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Promoting Virulence on Rice ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 18 (8): 830-37. https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0830.

Raveloson, Harinjaka, Antsa Rafenomanjato, Alain Ramanantsoanirina, Mathilde Sester, et Louis-Marie Raboin. 2016. « Gestion de la diversité variétale du riz pluvial pour contrôler la pyriculariose ». Book_section. Recherche interdisciplinaire pour le développement durable et la biodiversité des espaces ruraux malgaches. Application à différentes thématiques de territoire. 2016. https://agritrop.cirad.fr/582417/.

R.C, Chaudhary, J. S. Nanda, et Dat Van Tran. 2003. Guide d'identification des contraintes de terrain à la production de riz. Food & Agriculture Org.

Read, Andrew C., Mathilde Hutin, Matthew J. Moscou, Fabio C. Rinaldi, et Adam J. Bogdanove. 2020. « Cloning of the Rice Xo1 Resistance Gene and Interaction of the Xo1 Protein with the Defense-Suppressing Xanthomonas Effector Tal2h ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 33 (10): 1189-95. https://doi.org/10.1094/MPMI-05-20-0131-SC.

Römer, Patrick, Simone Hahn, Tina Jordan, Tina Strauß, Ulla Bonas, et Thomas Lahaye. 2007. « Plant Pathogen Recognition Mediated by Promoter Activation of the Pepper Bs3 Resistance Gene ». Science 318 (5850): 645-48. https://doi.org/10.1126/science.1144958.

Rosqvist, R., K.e. Magnusson, et H. Wolf-Watz. 1994. « Target cell contact triggers expression and polarized transfer of Yersinia YopE cytotoxin into mammalian cells. » The EMBO Journal 13 (4): 964-72. https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1994.tb06341.x.

Russell, Alistair B., Rachel D. Hood, Nhat Khai Bui, Michele LeRoux, Waldemar Vollmer, et Joseph D. Mougous. 2011. « Type VI Secretion Delivers Bacteriolytic Effectors to Target Cells ». Nature 475 (7356): 343-47. https://doi.org/10.1038/nature10244.

Russell, Alistair B., S. Brook Peterson, et Joseph D. Mougous. 2014. « Type VI Secretion System Effectors: Poisons with a Purpose ». Nature Reviews Microbiology 12 (2): 137-48. https://doi.org/10.1038/nrmicro3185.

Ryan, Robert P., Frank-Jörg Vorhölter, Neha Potnis, Jeffrey B. Jones, Marie-Anne Van Sluys, Adam J. Bogdanove, et J. Maxwell Dow. 2011. « Pathogenomics of Xanthomonas: understanding bacterium–plant interactions ». Nature Reviews Microbiology 9 (avril): 344.

Sadou, I, N Woin, T R Ghogomu, et K M Djonmaila. 2008. « Inventaire des insectes ravageurs et vecteurs de la panachure jaune du riz dans les périmètres irrigués de Maga (Extrême Nord Cameroun) », 5.

Sakthivel, N., C. Mortensen, et S. Mathur. 2001. « Detection of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae in Artificially Inoculated and Naturally Infected Rice Seeds and Plants by Molecular Techniques ». Applied Microbiology and Biotechnology 56 (3): 435-41. https://doi.org/10.1007/s002530100641.

Salmond, George P. C., et Philip J. Reeves. 1993. « Membrance Traffic Wardens and Protein Secretion in Gram-Negative Bacteria ». Trends in Biochemical Sciences 18 (1): 7-12. https://doi.org/10.1016/0968-0004(93)90080-7.

Sandkvist, Maria. 2001. « Type II Secretion and Pathogenesis ». Infection and Immunity 69 (6): 3523-35. https://doi.org/10.1128/IAI.69.6.3523-3535.2001.

Sarra, Soungalo, et Dick Peters. 2003. « Rice yellow mottle virus Is Transmitted by Cows, Donkeys, and Grass Rats in Irrigated Rice Crops ». Plant Disease 87 (7): 804-8. https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.7.804.

Savary, Serge, Laetitia Willocquet, Sarah Jane Pethybridge, Paul Esker, Neil McRoberts, et Andy Nelson. 2019. « The Global Burden of Pathogens and Pests on Major Food Crops ». Nature Ecology & Evolution 3 (3): 430-39. https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y.

Schatschneider, Sarah, Marcus Persicke, Steven Alexander Watt, Gerd Hublik, Alfred Pühler, Karsten Niehaus, et Frank-Jörg Vorhölter. 2013. « Establishment, in Silico Analysis, and Experimental Verification of a Large-Scale Metabolic Network of the Xanthan Producing Xanthomonas Campestris

Pv. Campestris Strain B100 ». Journal of Biotechnology, Research on Industrial Biotechnology within the CLIB-Graduate Cluster - Part III, 167 (2): 123-34. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.01.023.

Schellenberg, Barbara, Christina Ramel, et Robert Dudler. 2010. « Pseudomonas syringae Virulence Factor Syringolin A Counteracts Stomatal Immunity by Proteasome Inhibition ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 23 (10): 1287-93. https://doi.org/10.1094/MPMI-04-10-0094.

Schmid, Jochen, et Volker Sieber. 2015. « Enzymatic Transformations Involved in the Biosynthesis of Microbial Exo-polysaccharides Based on the Assembly of Repeat Units ». ChemBioChem 16 (8): 1141-47. https://doi.org/10.1002/cbic.201500035.

Scholze, Heidi, et Jens Boch. 2011. « TAL Effectors Are Remote Controls for Gene Activation ». Current Opinion in Microbiology, Host–microbe interactions, 14 (1): 47-53. https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.12.001.

Sere, Y., F. Sorho, A. Onasanya, L. Jobe, S. Darboe, Y. Bojang, M. L. Touray, A. Pinel-Galzi, et D. Fargette. 2008. « First Report of Rice yellow mottle virus in Rice in The Gambia ». Plant Disease 92 (2): 316-316. https://doi.org/10.1094/PDIS-92-2-0316B.

Shidore, Teja, Corey D. Broeckling, Jay S. Kirkwood, John J. Long, Jiamin Miao, Bingyu Zhao, Jan E. Leach, et Lindsay R. Triplett. 2017. « The Effector AvrRxo1 Phosphorylates NAD in Planta ». PLOS Pathogens 13 (6): e1006442. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006442.

Silva, A. C. R. da, J. A. Ferro, F. C. Reinach, C. S. Farah, L. R. Furlan, R. B. Quaggio, C. B. Monteiro-Vitorello, et al. 2002. « Comparison of the Genomes of Two Xanthomonas Pathogens with Differing Host Specificities ». Nature 417 (6887): 459-63. https://doi.org/10.1038/417459a.

Solé, Montserrat, Crina Popa, Oriane Mith, Kee Hoon Sohn, Jonathan D. G. Jones, Laurent Deslandes, et Marc Valls. 2012. « The awr Gene Family Encodes a Novel Class of Ralstonia solanacearum Type III Effectors Displaying Virulence and Avirulence Activities ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 25 (7): 941-53. https://doi.org/10.1094/MPMI-12-11-0321.

Song, Chun-Xiao, Tyson A. Clark, Xing-Yu Lu, Andrey Kislyuk, Qing Dai, Stephen W. Turner, Chuan He, et Jonas Korlach. 2012. « Sensitive and Specific Single-Molecule Sequencing of 5-Hydroxymethylcytosine ». Nature Methods 9 (1): 75-77. https://doi.org/10.1038/nmeth.1779.

Sory, M. P., et G. R. Cornelis. 1994. « Translocation of a Hybrid YopE-Adenylate Cyclase from Yersinia Enterocolitica into HeLa Cells ». Molecular Microbiology 14 (3): 583-94. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1994.tb02191.x.

Sotot, Gabriel E., et Scott J. Hultgren. 1999. « Bacterial Adhesins: Common Themes and Variations in Architecture and Assembly | Journal of Bacteriology ». Journal of Bacteriology, 1999. https://jb.asm.org/content/181/4/1059.short.

Squire, G. R., et T. A. Mansfield. 1974. « The Action of Fusicoccin on Stomatal Guard Cells and Subsidiary Cells ». New Phytologist 73 (3): 433-40. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1974.tb02120.x.

Stanley, Sarah A., Sridharan Raghavan, William W. Hwang, et Jeffery S. Cox. 2003. « Acute Infection and Macrophage Subversion by Mycobacterium Tuberculosis Require a Specialized Secretion System ». Proceedings of the National Academy of Sciences 100 (22): 13001-6. https://doi.org/10.1073/pnas.2235593100.

Streubel, Jana, Céline Pesce, Mathilde Hutin, Ralf Koebnik, Jens Boch, et Boris Szurek. 2013. « Five phylogenetically close rice SWEET genes confer TAL effector-mediated susceptibility to Xanthomonas oryzae pv. oryzae ». New Phytologist 200 (3): 808-19.

Sugio, Akiko, Bing Yang, Tong Zhu, et Frank F. White. 2007. « Two Type III Effector Genes of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae Control the Induction of the Host Genes OsTFIIAγ1 and OsTFX1 during Bacterial Blight of Rice ». Proceedings of the National Academy of Sciences 104 (25): 10720-25. https://doi.org/10.1073/pnas.0701742104.

Suh, Jung-Pil, Ji-Ung Jeung, Tae-Hwan Noh, Young-Chan Cho, So-Hyun Park, Hyun-Su Park, Mun-Sik Shin, Chung-Kon Kim, et Kshirod K. Jena. 2013. « Development of Breeding Lines with Three Pyramided Resistance Genes That Confer Broad-Spectrum Bacterial Blight Resistance and Their Molecular Analysis in Rice ». Rice 6 (1): 5. https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-5.

Swarup, S., Y. Yang, M. T. Kingsley, et D. W. Gabriel. 1992. « An Xanthomonas Citri Pathogenicity Gene, PthA, Pleiotropically Encodes Gratuitous Avirulence on Nonhosts ». Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI 5 (3): 204-13. https://doi.org/10.1094/mpmi-5-204.

Sweeney, M., et S. McCouch. 2007. « The Complex History of the Domestication of Rice ». Annals of Botany 100 (5): 951-57. https://doi.org/10.1093/aob/mcm128.

Swings, J., M. Van Den Mooter, L. Vauterin, B. Hoste, M. Gillis, T. W. Mew, et K. Kersters. 1990. « Reclassification of the Causal Agents of Bacterial Blight (Xanthomonas campestris pv. oryzae) and Bacterial Leaf Streak (Xanthomonas campestris pv. oryzicola) of Rice as Pathovars of Xanthomonas oryzae (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. » International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 40 (3): 309-11. https://doi.org/10.1099/00207713-40-3-309.

Takato, Noda, Sato Zenji, Kobayashi Hisayoshi, Iwasaki Naruo, et Okuda Shigenobu. 1980. « Toxic substances to rice produced by rice white leaf bacillus ». Journal of the Japanese Society of Plant Pathology 46 (5): 663-66. https://doi.org/10.3186/jjphytopath.46.663.

Tall, H., J. Aribi, S. Camara, A. Pinel-Galzi, N. Poulicard, D. Fargette, et E. Hébrard. 2020. « Near-Complete Genome Sequences of Rice Yellow Mottle Virus Isolates from Senegal ». Microbiology Resource Announcements 9 (2). https://doi.org/10.1128/MRA.00937-19.

Tall, Hamidou, Cheick Tekete, Kandioura Noba, ousmane Koita, Sebastien Cunnac, Mathilde Hutin, Boris Szurek, et Valérie Verdier. 2019. « Confirmation report of Bacterial blight caused by Xanthomonas oryzae pv. oryzae on rice in Senegal ». Plant Disease, novembre. https://doi.org/10.1094/PDIS-07-19-1464-PDN.

Tekete, Cheick. 2019. « Caractérisation des Xanthomonas oryzae au Mali et déterminisme génétique de la résistance du riz au flétrissement bactérien et à la strie foliaire », 235.

Tekete, Cheick, Dr Sebastien Cunnac, Dr Hinda Doucoure, Mr Mamadou Dembele, Mr Ibrahim Keita, Soungalo Sarra, Dr Karim Dagno, Dr Ousmane Koita, et Dr Valerie Verdier. 2019a. « Characterization of New Races of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae in Mali Informs Resistance Gene Deployment ». Research-article. Https://Doi.Org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R. 29 août 2019. https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R.

Tekete, Cheick, Sebastien Cunnac, Hinda Doucoure, Mamadou Dembele, Ibrahim Keita, Soungalo Sarra, Karim Dagno, Ousmane Koita, et Valerie Verdier. 2019b. « Characterization of new races of Xanthomonas oryzae pv. oryzae in Mali informs Resistance gene deployment ». Phytopathology, août. https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0070-R.

Thottapilly, G., et H. W. Rossel. 1993. « Evaluation of resistance to rice yellow mottle virus in Oryza species. » 1993. https://www.cabi.org/ISC/abstract/19942307719.

Tian, Dongsheng, Junxia Wang, Xuan Zeng, Keyu Gu, Chengxiang Qiu, Xiaobei Yang, Zhiyun Zhou, et al. 2014. « The Rice TAL Effector-Dependent Resistance Protein XA10 Triggers Cell Death and Calcium Depletion in the Endoplasmic Reticulum ». The Plant Cell 26 (1): 497-515. https://doi.org/10.1105/tpc.113.119255.

Tian, Dongsheng, et Zhongchao Yin. 2009. « Constitutive Heterologous Expression of AvrXa27 in Rice Containing the R Gene Xa27 Confers Enhanced Resistance to Compatible Xanthomonas Oryzae Strains ». Molecular Plant Pathology 10 (1): 29-39. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00509.x.

Tollenaere, Charlotte, Severine Lacombe, Issa Wonni, Mariam Barro, Cyrielle Ndougonna, Fatoumata Gnacko, Drissa Sérémé, et al. 2017. « Virus-Bacteria Rice Co-Infection in Africa: Field Estimation, Reciprocal Effects, Molecular Mechanisms, and Evolutionary Implications ». Frontiers in Plant Science 8. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00645.

Toruño, Tania Y., Ioannis Stergiopoulos, et Gitta Coaker. 2016. « Plant-Pathogen Effectors: Cellular Probes Interfering with Plant Defenses in Spatial and Temporal Manners ». Annual Review of Phytopathology 54 (1): 419-41. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100204.

Tran, Tuan T., Alvaro L. Pérez-Quintero, Issa Wonni, Sara C. D. Carpenter, Yanhua Yu, Li Wang, Jan E. Leach, et al. 2018. « Functional Analysis of African Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae TALomes Reveals a New Susceptibility Gene in Bacterial Leaf Blight of Rice ». PLOS Pathogens 14 (6): e1007092. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007092.

Traoré, Valentin S. E., Bouma James Néya, Mouhameth Camara, Vernon Gracen, Samuel K. Offei, et Oumar Traoré. 2015. « Farmers' Perception and Impact of Rice Yellow Mottle Disease on Rice Yields in Burkina Faso ». Agricultural Sciences 06 (09): 943. https://doi.org/10.4236/as.2015.69091.

Trinh, T. T. 1980. « New Rice Diseases and Insects in the Senegal River Basin in 1978/79. » International Rice Commission Newsletter 29 (2). https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810581551.

Trinh, Ton That. 1980. « New Rice Diseases and Insects in the Senegal River Basin in 1978/79. » International Rice Commission Newsletter 29 (2). https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19806734835.

Triplett, Lindsay R., Stephen P. Cohen, Christopher Heffelfinger, Clarice L. Schmidt, Alejandra I. Huerta, Cheick Tekete, Valerie Verdier, Adam J. Bogdanove, et Jan E. Leach. 2016a. « A Resistance Locus in the American Heirloom Rice Variety Carolina Gold Select Is Triggered by TAL Effectors with Diverse Predicted Targets and Is Effective against African Strains of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola ». The Plant Journal 87 (5): 472-83. https://doi.org/10.1111/tpj.13212.

Triplett, Lindsay R., Stephen P. Cohen, Christopher Heffelfinger, Clarice L. Schmidt, Alejandra I. Huerta, Cheick Tekete, Valerie Verdier, Adam J. Bogdanove, et Jan E. Leach. 2016b. « A Resistance Locus in the American Heirloom Rice Variety Carolina Gold Select Is Triggered by TAL Effectors with Diverse Predicted Targets and Is Effective against African Strains of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola ». The Plant Journal 87 (5): 472-83. https://doi.org/10.1111/tpj.13212.

Troisfontaines, Paul, et Guy R. Cornelis. 2005. « Type III Secretion: More Systems Than You Think ». Physiology 20 (5): 326-39. https://doi.org/10.1152/physiol.00011.2005.

Uppalapati, Srinivasa Rao, Yasuhiro Ishiga, Tamding Wangdi, Barbara N. Kunkel, Ajith Anand, Kirankumar S. Mysore, et Carol L. Bender. 2007. « The Phytotoxin Coronatine Contributes to Pathogen Fitness and Is Required for Suppression of Salicylic Acid Accumulation in Tomato Inoculated with Pseudomonas syringae pv. tomato DC3000 ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 20 (8): 955-65. https://doi.org/10.1094/MPMI-20-8-0955.

Van Gijsegem, Frédérique, Stéphane Genin, et Christian Boucher. 1993. « Conservation of Secretion Pathways for Pathogenicity Determinants of Plant and Animal Bacteria ». Trends in Microbiology 1 (5): 175-80. https://doi.org/10.1016/0966-842X(93)90087-8.

Vaughan, Duncan A., Bao-Rong Lu, et Norihiko Tomooka. 2008. « The Evolving Story of Rice Evolution ». Plant Science 174 (4): 394-408. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.01.016.

VAUTERIN, L., B. HOSTE, K. KERSTERS, et J. SWINGS. 1995. « Reclassification of Xanthomonas ». International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 45 (3): 472-89. https://doi.org/10.1099/00207713-45-3-472.

Vera Cruz, C. M., F GOSSELE, K. KERSTERS, P SEGERS, M VAN DEN MOOTER, J. SWINGS, et Jozef De Ley. 1984. « Differentiation between Xanthomonas campestris pv. oryzae, Xanthomonas campestris pv. oryzicola and the Bacterial 'Brown Blotch' Pathogen on Rice by Numerical Analysis of Phenotypic Features and Protein Gel Electrophoregrams | Microbiology Society ». 1984. https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-130-11-2983.

Verdier, Valerie, Casiana Vera Cruz, et Jan E. Leach. 2012. « Controlling Rice Bacterial Blight in Africa: Needs and Prospects | Elsevier Enhanced Reader ». Https://Reader.Elsevier.Com/Reader/Sd/Pii/S0168165611005578?Token=226A198A9DDAF5F890F601B03F96EBF9A90120F68E1B98846A93BFD669B8BE8E7E3C9C7A08E195D4E7A17206F8954D32. 2012. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.09.020.

Vikal, Yogesh, et Dharminder Bhatia. 2017. Genetics and Genomics of Bacterial Blight Resistance in Rice. Advances in International Rice Research. BoD – Books on Demand.

Vorhölter, F.-J., K. Niehaus, et A. Pühler. 2001. « Lipopolysaccharide Biosynthesis in Xanthomonas Campestris Pv. Campestris: A Cluster of 15 Genes Is Involved in the Biosynthesis of the LPS O-Antigen and the LPS Core ». Molecular Genetics and Genomics 266 (1): 79-95. https://doi.org/10.1007/s004380100521.

WANDERSMAN, C. 1996. « Secretion across the bacterial outer membrane ». Escherichia and Salmonella : Cellular and Molecular Biology 1: 955-66.

White, Frank F., Neha Potnis, Jeffrey B. Jones, et Ralf Koebnik. 2009. « The Type III Effectors of Xanthomonas ». Molecular Plant Pathology 10 (6): 749-66. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00590.x.

White, Frank F, Bing Yang, et Lowell B Johnson. 2000. « Prospects for Understanding Avirulence Gene Function ». Current Opinion in Plant Biology 3 (4): 291-98. https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00082-0.

Wichmann, Gale, et Joy Bergelson. 2004. « Effector Genes of Xanthamonas Axonopodis Pv. Vesicatoria Promote Transmission and Enhance Other Fitness Traits in the Field ». Genetics 166 (2): 693-706. https://doi.org/10.1534/genetics.166.2.693.

Wonni, Issa. 2013a. « Les bactérioses du riz dues à Xanthomonas oryzae au Burkina Faso: Diversité et identification de sources de résistance adaptées ». PhD Thesis, Montpellier 2.

Wonni, Issa. 2013b. « Les bactérioses du riz dues à Xanthomonas oryzae au Burkina Faso : Diversité et identification de sources de résistance adaptées ». Thesis, Montpellier 2. http://www.theses.fr/2013MON20174.

Wonni, Issa. 2016. « Evaluation of Elite Rice Varieties Unmasks New Sources of Bacterial Blight and Leaf Streak Resistance for Africa ». Rice Research: Open Access 4 (1). https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000162.

Wonni, Issa, Bart Cottyn, Liselot Detemmerman, S. Dao, L. Ouedraogo, S. Sarra, C. Tekete, S. Poussier, R. Corral, et L. Triplett. 2014. « Analysis of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola population in Mali and Burkina Faso reveals a high level of genetic and pathogenic diversity ». Phytopathology 104 (5): 520-31.

Wopereis, Marco C. S., David E. Johnson, Nourollah Ahmadi, Eric Tollens, et Abdulai Jalloh. 2013. Realizing Africa's Rice Promise. CABI.

Xie, G. L., et T. W. Mew. 1998. « A Leaf Inoculation Method for Detection of Xanthomonas oryzae pv. oryzicola from Rice Seed ». Plant Disease 82 (9): 1007-11. https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.9.1007.

Y, Sere, Prof. Onasanya Amos, Valerie Verdier, Akator K, Ouedraogo L.S, Segda Z, Mbare M.M, Sido A.Y, et Basso A. 2005. « Rice Bacterial Leaf Blight in West Africa: Preliminary Studies on Disease in Farmers` Fields and Screening Released Varieties for Resistance to the Bacteria ». Asian Journal of Plant Sciences 4 (juin). https://doi.org/10.3923/ajps.2005.577.579.

Yang, B., W. Zhu, L. B. Johnson, et F. F. White. 2000. « The Virulence Factor AvrXa7 of Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae Is a Type III Secretion Pathway-Dependent Nuclear-Localized Double-Stranded DNA-Binding Protein ». Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97 (17): 9807-12. https://doi.org/10.1073/pnas.170286897.

Yang, Bing, Akiko Sugio, et Frank F. White. 2006. « Os8N3 Is a Host Disease-Susceptibility Gene for Bacterial Blight of Rice ». Proceedings of the National Academy of Sciences 103 (27): 10503-8. https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103.

Yang, Bing, et Frank F. White. 2004. « Diverse Members of the AvrBs3/PthA Family of Type III Effectors Are Major Virulence Determinants in Bacterial Blight Disease of Rice ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 17 (11): 1192-1200. https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.11.1192.

Yu, Yanhua, Jana Streubel, Sandrine Balzergue, Antony Champion, Jens Boch, Ralf Koebnik, Jiaxun Feng, Valérie Verdier, et Boris Szurek. 2011. « Colonization of Rice Leaf Blades by an African Strain of Xanthomonas oryzae pv. oryzae Depends on a New TAL Effector That Induces the Rice Nodulin-3 Os11N3 Gene ». Molecular Plant-Microbe Interactions® 24 (9): 1102-13. https://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0254.

Zhao, Bingyu, Xinghua Lin, Jesse Poland, Harold Trick, Jan Leach, et Scot Hulbert. 2005. « A Maize Resistance Gene Functions against Bacterial Streak Disease in Rice ». Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102 (43): 15383-88. https://doi.org/10.1073/pnas.0503023102.

Zhao, Shuai, Lucie Poulin, Luis M. Rodriguez-R, Natalia Forero Serna, Shu-Yan Liu, Issa Wonni, Boris Szurek, Valérie Verdier, Jan E. Leach, et Yong-Qiang He. 2012. « Development of a variable number of

tandem repeats typing scheme for the bacterial rice pathogen Xanthomonas oryzae pv. oryzicola ». Phytopathology 102 (10): 948-56.

Zhu, W., B. Yang, J. M. Chittoor, L. B. Johnson, et F. F. White. 1998. « AvrXa10 Contains an Acidic Transcriptional Activation Domain in the Functionally Conserved C Terminus ». Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI 11 (8): 824-32. https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.8.824.