

Distribution spatiale de la bactériose du soja (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) dans la savane soudanienne du Bénin

V.A. Zinsou², L.A.C. Afouda², R. Sikirou³, F.H. Dannon², L. Dossou² et B. C. Ahohuendo⁴

Résumé

La pustule bactérienne du soja est une des plus importantes maladies du soja (*Glycine max* L. Merr). L'objectif de l'étude est de diagnostiquer la distribution spatiale de l'incidence et de sévérité de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, l'agent responsable de la pustule bactérienne du soja au Bénin. Une prospection a été conduite sur la pustule bactérienne du soja durant la phase de floraison et de formation des gousses sur 18 sites de production du soja localisés dans huit Communes de la savane soudanienne du Bénin en août 2012. Deux à trois sites ont été prospectés par commune et sur chaque site 20 plants sont inspectés au hasard sur deux diagonales du champ pour évaluer l'incidence et la sévérité. Les résultats ont montré que la pustule bactérienne était présente sur 13 des 18 champs prospectés. L'analyse statistique de la moyenne d'incidence et de sévérité par commune a révélé une variabilité de 2,5 à 52,5% pour l'incidence et de 4,93 à 35,46% pour la sévérité. Dans les communes de Banikoara et de Pehunco où les sévérités étaient élevées, les isolats étaient très virulents et pourraient être utilisés pour l'évaluation des pertes de rendement causées par la bactériose. Les communes de Cobly et Toucountouna sont exemptes de germes de pustule bactérienne et peuvent être considérées comme les zones de production de semences saines de soja au Bénin.

Mots Clés : Bénin, pustule bactérienne, savane soudanienne, soja, isolat.

Spatial distribution of soybean bacterial pustule (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) in the Sudan savanna of Benin

Abstract

Soybean bacterial pustule is among the important diseases of soybean (*Glycine max* L. Merr), The objective of this study was to diagnose the spatial distribution of the incidence and severity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, the causal agent of soybean bacterial pustule in Benin. Soybean bacterial pustule disease survey was conducted during the flowering stage and pod maturation period in eighteen sites of the main soybean cultivation areas in eight districts of the Sudan Savanna in August 2012 in Benin. Two to three sites were surveyed per district and at each site, 20 soybean plants were randomly inspected for the incidence and severity, respectively, on two diagonals through the field. The results showed that bacterial pustule was present in 13 of 18 sites. Statistical analysis of the mean incidence and severity per district revealed variability from 2.5% to 52.5% for incidence and 4.93% to 35.46% for severity. In the districts where severities were higher, isolates were virulent and could be used to assess bacterial yield loss. The districts of Cobly and Toucountouna were free of bacterial pustule and can be considered as healthy soybean seed production areas in Benin.

² Dr Valérien ZINSOU, Faculté d'Agronomie (FA), Université de Parakou (UP), B.P. 123 Parakou, Tél. : (+229) 95 96 25 74, E-mail : valzinsou@gmail.com, République du Bénin

Dr Ir. Léonard Chaffara Antoine AFOUDA, FA/UP, B.P. 123 Parakou, Tél. : (+229) 96 17 84 56, E-mail : lafouda@yahoo.com, République du Bénin

Laurence DOSSOU, FA/UP, B.P. 123 Parakou, Tél. : (+229) 97629962, E-mail : laurencedossou@yahoo.com, République du Bénin

Fabrice Houénoudé DANNON, FA/UP, B.P. 123 Parakou, Tél. : (+229) 66213051, E-mail : icedannon@gmail.com, République du Bénin

³ Dr Ir. Rachidatou SIKIROU, Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB), 01 BP 884 Recette Principale, Cotonou 01, Tél. : (+229) 97 88 26 20, E-mail : rachidatous@yahoo.fr, République du Bénin

⁴ Pr. Dr Ir. Bonaventure AHOHUENDO, Faculté des Sciences Agronomiques (FSA), Université d'Abomey-calavi 01 BP 526 Cotonou, Tél. : (+229)95356253, E-mail : ahohuendoc@daad-alumni.de, République du Bénin

Key words: Bacterial pustule, Benin, Sudan savanna, soybean, isolate.

INTRODUCTION

La pustule bactérienne causée par *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* est l'une des principales maladies dans plusieurs zones de production du soja (Kaewnum *et al*, 2005). En Afrique de l'Ouest, elle a été signalée au Nigeria, en Côte d'Ivoire (Janse, 2005). Au Bénin, les prospections réalisées ont montré que la pustule bactérienne était présente sur 33 des 35 champs prospectés dans la savane guinéenne (Zinsou *et al.*, 2013). Les symptômes de la maladie incluent de petites taches vertes pales avec des pustules qui se développent en larges taches nécrotiques conduisant à une défoliation prématurée (Narvel *et al*, 2001). Les pertes de rendement dues à la maladie sont estimées à 15-50% à travers le monde (Prathuangwong et Amnuaykit, 1987). Au Bénin, la production de soja est en pleine augmentation et a atteint 11000 tonnes en 2012 sur une superficie de 17500 ha. (FAO, 2013). Au nombre des variétés recommandées dans la savane guinéenne afin d'accroître la productivité et d'offrir de meilleures opportunités aux producteurs on peut citer TGx1740-2F, TGx1987-10F, et TGx1987-62 (Dugje *et al.*, 2009), Jupiter, ISRA 44A/73, ISRA 25/72, TGx 536-02 D, TGx 1910-14F, TGx 1910-20^E, TGx 1910-5F et TGx 1910-3F (CaBEV, 2011).

Avec l'augmentation de la production du soja, la présence de *X. axonopodis* pv. *glycines* peut limiter le rendement en grains. Il urge de diagnostiquer la maladie dans les autres zones de production de soja afin de prendre des mesures adéquates prévenant les dommages de *X. axonopodis* pv. *glycines* sur le soja. Les dommages peuvent aller jusqu'à la destruction complète du plant, compromettant ainsi toute la production nationale. L'objectif de la présente étude est diagnostiquer la pustule bactérienne du soja dans la savane soudanienne du Bénin.

MATERIELS ET METHODES

Sites de prospection

Pour la représentativité de l'étude, 18 champs répartis dans 8 communes (Banikoara, Bembèrèkè, Cobly, Pehunco, Ségbana, Sinendé, Tanguiéta et Toucoumtouna) de la savane soudanienne du Bénin ont été prospectés durant la période végétative du soja en août 2012 (Figure 1). Le choix de ces communes s'est fait en se basant sur leur potentiel de production du soja qui est d'au moins 1000 tonnes (MAEP, 2010). Deux à trois champs ont été sélectionnés par commune. Les champs d'un quart d'hectare et distants de 5 à 10 km ont été retenus.

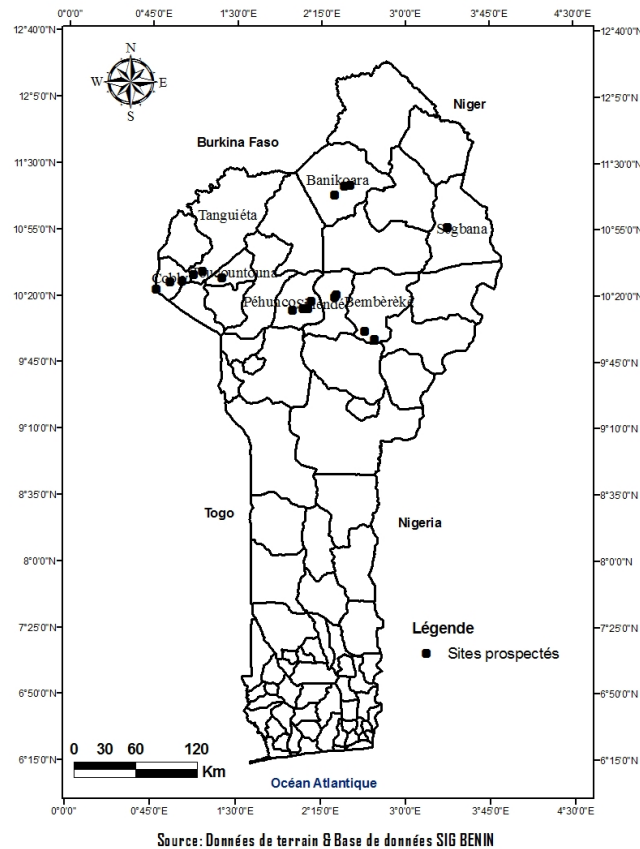


Figure 1. Carte indiquant les 8 communes parcourues pour la prospection

Isolats bactériens et test de virulence des isolats

Deux échantillons de feuilles provenant des différentes zones de productions prospectées ont été choisis (Banikoara et Pehunco). Les échantillons ont été prélevés sur des plantes présentant des symptômes de fortes attaques de bactériose et conservés sous presse dans des papiers journaux. Les échantillons prélevés de la partie incluant les tissus malades et sains ont été découpés, et environ 2 mm² de surface de feuille de chaque échantillon sont rincés à l'eau stérile puis broyés dans 1ml de 0,01M solution de sulfate de magnésium. Le filtrat de l'homogénat a été ensuite dilué 6 fois à 1/10 puis 100 µl de la dernière dilution ont été étalés dans une boîte de Pétri, avec 5 répétitions, sur milieu de culture gélosé amendé de levure et de glucose (levure 10g/l, glucose 10g/l, peptone 10g/l, agar 15g/l). Les boîtes ont été ensuite incubées à 30°C pendant 48 à 72 h (Figure 2). Les colonies isolées de *X. axonopodis* pv. *glycines* après purification ont été ensuite soumises au test de Gram.

L'essai a été implanté en 20 Juillet 2012 avec la variété JUPITER avec 4 répétitions par isolat et installé sous serre à 21,4-28,5°C et 67-96% d'humidité relative. Les inocula bactériens ont été préparés en cultivant 3 isolats (Banikoara, Pehunco et Parakou) à 30°C pendant 48 h sur milieu puis ensuite suspendus dans la solution de sulfate de magnésium pour obtenir une suspension aqueuse de cellules (OD₆₀₀ = 0.2, ≈10⁸ CFU/ml). L'isolat de Parakou avait été préalablement isolés et conservés au laboratoire (Zinsou et al., 2013). Chaque parcelle élémentaire comporte 4 pots de 1,5dm³ avec des écartements de semis de 0,30 m entre lignes et 0,40 m entre les poquets. Le terreau utilisé a été stérilisé à 65°C pendant 72h. L'inoculation des plants par les 3 isolats a été effectuée à l'aide d'une pompe infiltrant 4 semaines

après semis dans deux jeunes feuilles de la variété JUPITER. Aucun produit insecticide n'a été utilisé dans la serre.



Figure 2. Colonies de *X. axonopodis* pv *glycines* sur milieu de culture

Collecte, traitement et analyse des données

Pour évaluer l'incidence et la sévérité de la bactériose du soja, 20 plantes ont été choisies au hasard sur les deux lignes centrales de chaque champ. Sur chaque plante, la présence ou l'absence de la maladie a été notée en se basant sur les symptômes caractéristiques : petites taches vert pâles avec des pustules, larges taches nécrotiques (Figure 3).



Figure 3. Symptômes de la pustule bactérienne sur feuille de soja : Face supérieure (a) et face inférieure (b)

La sévérité a été évaluée au champ sur les parties basses, moyennes et hautes des plantes en plaçant une carte stencil de 4 x 7 cm avec 9 cercles de diamètre 1 cm sur la surface de la foliole infectée (Prathuanwong *et al.*, 1993). Le nombre de lésions obtenus est rapporté à la surface foliaire. Ainsi les sites ont été regroupés en classes pour chacun des deux paramètres :

- incidence : 1= 0-15% ; 2 =15-35% ; 3 =35-55% ; 4 = > 55%
- sévérité : 1= < 2,85% ; 2= 2,85-10% ; 3= 10-25% ; 4= 25-35% ; 5= > 35%

Les valeurs de la sévérité de la bactériose à chaque date d'évaluation pour le test de virulence des isolats dans la serre ont été utilisées pour calculer la surface sous la courbe d'évolution de la sévérité suivant la formule ci-après : $AUSPC = \sum_i [(S_i + S_{i-1}) * (t_i - t_{i-1})]/2$, où : S_i = moyenne de la sévérité à la date t_i et t_i correspond aux différentes dates d'évaluation (Shaner et Finney, 1977 ; Jeger et Viljanen-Rollinson, 2001).

L'analyse de variance a été effectuée suivant la procédure du modèle linéaire général (GLM) de SAS version 7 sur les valeurs d'incidence et de sévérité transformés. Le test de Student-Newmann-Keuls (SNK) a été ensuite utilisé pour séparer les moyennes significativement différentes ($p \leq 0,05$).

RESULTATS

Incidence et sévérité dans les zones de production et les communes de prospection

La bactériose du soja était présente sur 13 des 18 sites prospectés dans les zones de production de la savane soudanaise du Bénin. Les valeurs d'incidence et de sévérités sont significativement différentes au seuil de 5%. Les incidences dans les communes de Coby et de Toucountouna sont nulles alors que les plus fortes valeurs sont enregistrées dans la commune de Sinendé (52,5%) (Tableau 1), de Banikoara et de Pehunco (45%). La distribution des valeurs d'incidence de la bactériose est présentée sur la carte de la figure 4. Pour ce qui est de la sévérité, les plus fortes valeurs ont été enregistrées dans les fortes valeurs ont été enregistrées dans les communes de Banikoara (35,46%) et de Pehunco (30,48%) (Tableau 1), la plus faible valeur a été observée dans la commune de Ségbana (4,93%). La distribution des valeurs de sévérité de la bactériose est présentée sur la carte de la figure 5.

Tableau 1. Incidence et sévérité moyennes en % de la pustule bactérienne du soja par commune

Commune	Incidence moyenne (%)	Sévérité moyenne (%)
Banikoara	45,00 ± 2,32 ab	35,46 ± 4,30 a
Bembérékè	27,50 ± 1,20 c	16,71 ± 3,37 ab
Pehunco	45,00 ± 4,27 ab	30,48 ± 5,15 ab
Sinendé	52,50 ± 4,40 a	26,59 ± 3,49 ab
Ségbana	35,00 ± 0,00 bc	4,93 ± 1,13 b
Tanguiéta	2,50 ± 0,40 d	7,56 ± 0,00 ab
Toucountouna	0,00 ± 0,00 d	0,00 ± 0,00 c
Coby	0,00 ± 0,00 d	0,00 ± 0,00 c

Les valeurs suivies des mêmes lettres minuscules dans les colonnes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% selon le test SNK.

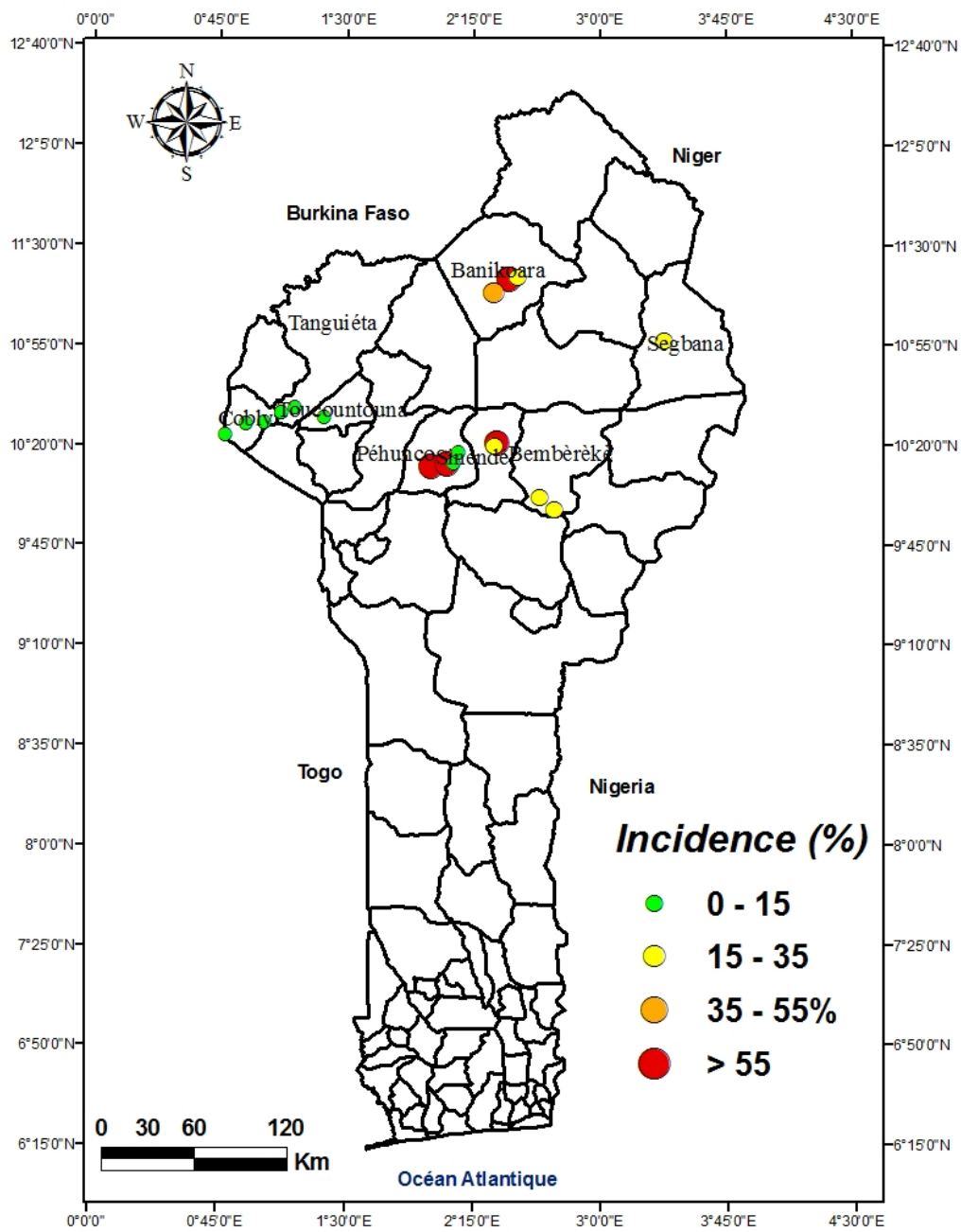


Figure 4. Carte de distribution des incidences de la pustule bactérienne du soja en 2012

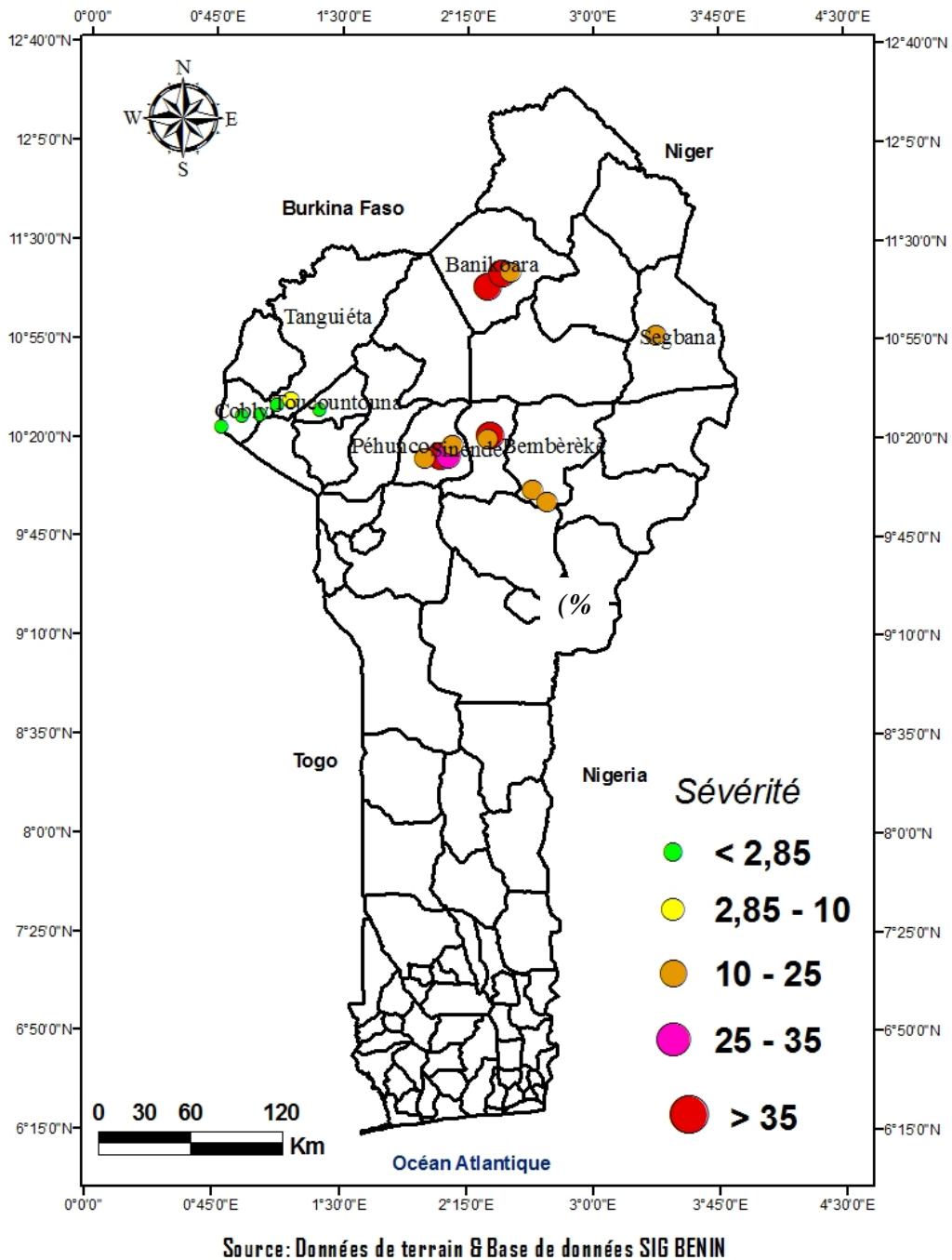


Figure 5. Carte de distribution des sévérités de la pustule bactérienne du soja en 2012

Virulence des isolats de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*

Les trois isolats utilisés ont développé des symptômes sur les variétés de soja. Les valeurs de AUSPC observées sont significativement différentes aussi bien au niveau des isolats ($P < 0,0001$) (**Tableau 2**). Les isolats issus des communes de Banikoara et de Pehunco sont les plus virulents comparés à celui de Parakou.

Tableau 2. Moyenne des sévérités (AUSPC) par isolat

Isolats	Code des isolats	AUSPC
Université de Parakou-Banikoara-S ₁	UP-BK-S ₁	138,11A
Université de Parakou-Péhunco-S ₃	UP-PE-S ₃	136,44A
Université de Parakou-Parakou-S ₆	UP-PK-S ₆	30,20 B
Moyenne		101,58
Valeur de F		21,32
Probabilité (p)		<0,0001

Les valeurs suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

DISCUSSION

L'incidence moyenne a varié de 2,5% à 52,5% et la sévérité moyenne a varié de 4,93% à 35,46% dans les communes où la maladie est présente dans la savane soudanienne, ce qui montre que la pustule bactérienne est une importante maladie du soja dans cette zone agroécologique du Bénin. Les plus grandes valeurs aussi bien d'incidence que de sévérité ont été obtenues dans les communes de Banikoara, Pehunco et Sinendé. Ceci signifie que ces communes font partie des zones les plus vulnérables à la pustule bactérienne du soja. Cela pourrait s'expliquer d'une part par le microclimat qui règne sur les sites de ces communes. En effet, les facteurs climatiques tels que la pluie et la température influencent l'expression de la maladie. Ce même constat a été fait par Narvel et al (2001) qui ont montré que la bactérie survie dans les régions où les températures et humidités relatives élevées accompagnées par de fortes pluies sporadiques subsistent. Au cours de notre prospection, les données pluviométriques des mois de Juin à Août (620 mm à Banikoara ; 640, 2 mm à Pehunco) montrent que ces deux communes ont enregistré de fortes valeurs de pluviométries. D'autre part, cela s'expliquerait par la monoculture du soja effectuée dans ces communes ou aux variétés cultivées dans ces régions, soit à la virulence des souches de *X. axonopodis* pv. *glycines* existantes dans ces régions, soit enfin aux microclimats environnants. Cockerman (1963) et Falconer (1990) ont montré que la diversité des réactions obtenues sous différents environnements pour une même variété est due aux réponses différentielles d'un même groupe de gènes ou à l'expression de différents groupes de gènes. Bai et Shaner (1994) ont également mentionné qu'un cultivar avec une résistance adéquate dans une localité pourrait être sensible sous un autre environnement. Durant nos prospections, il nous a été difficile d'obtenir les noms des variétés cultivées auprès de la plupart des producteurs de soja des localités visitées.

L'étude en serre du comportement des différents isolats a montré que les isolats issus des communes de Banikoara et de Pehunco sont les plus virulents comparés à l'isolat de Parakou. La virulence de la bactérie sur ces sites pourrait être due soit à certains facteurs génétiques de la souche, soit à différents déterminants génétiques qui sont régulés par les gènes essentiels pour la pathogenèse et pour l'induction de la réaction d'hypersensitivité dans les plantes. Selon certains auteurs, les facteurs pouvant contribuer à la virulence de *X. axonopodis* pv. *glycines* sont multiples. Il s'agit de la production de l'acide indolacétique et de cytokinine (Fett et al, 1987), de substance polysaccharide extracellulaire (Jones et Fett, 1985), de toxine ou cellulase et protopectinase (Hokawat et Rudolph, 1993) et des bactériocines

(Fett et al, 1987). De plus, Pirhonen et al. (1996) ont montré que la virulence de *X. axonopodis* pv. *glycines* est associée à différents déterminants génétiques qui sont régulés par les gènes *HrpG* et *HrpX* essentiels pour la pathogenèse et pour l'induction de la réaction d'hypersensitivité dans certaines plantes.

Les valeurs aussi bien d'incidence que de sévérité sont nulles dans les communes de Cobly et de Toucountouna. Ceci pourrait s'expliquer soit par les types d'associations culturales (soja-gombo, soja-maïs-gombo, soja-niébé) effectuées dans ces régions et qui baisseraient la pression du pathogène d'une part, soit par l'absence des foyers de prolifération de la maladie. Par ailleurs, la région de Cobly est en basse altitude par rapport à celle de Tanguéta qui présente un relief accidenté avec des montagnes pouvant servir d'écran à la prolifération de la maladie par les insectes. En effet des cas de transmissibilité par des insectes ont été signalés surtout avec *Carpocoris fuscispinus* en Russie (Hedges, 1924). Ces deux communes de la savane soudanienne pourraient être considérées comme les zones de production de semences saines exemptes de germes de pustule bactérienne au Bénin.

CONCLUSION

L'étude révèle que la bactériose du soja est bien présente dans la savane soudanienne du Bénin. Les valeurs moyennes d'incidence jusqu'à 52,5% et de sévérité jusqu'à 35,46% montrent que la bactériose peut devenir une importante maladie du soja au Bénin. Les communes de Cobly et Toucountouna pourraient être considérées comme les zones de production de semences saines de soja exemptes de germes de pustule bactérienne au Bénin. Les analyses révèlent des isolats très virulents qui être utilisés pour l'évaluation des pertes de rendement causées par la bactériose. Cette étude doit être élargie à la diversité génétique des souches de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* afin de sélectionner des variétés résistantes.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Conseil scientifique de l'Université de Parakou pour le financement de la présente étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bai, G., Shaner, G., 1994: Scab of wheat: prospects for control. *Plant Dis.* 78: 760-766.
- CaBEV, 2011 : Catalogue Béninois des espèces et variétés végétales éd: septembre 2011; 31-34p.
- Cockerham, C. C., 1963: Estimation of genetic variance components. In: Statistical Genetics and Plant Breeding. W. D Hanson, and H. F. Robinson, (eds.) *Natn. Acad. Sci. Natn. Res. Council Publ., UK.* pp. 53-94.
- Dugje, I. Y., L. O. Omoigui, F. Ekeleme, R. Bandyopadhyay, P. Lava Kumar, A. Y. Kamara, 2009: Farmers' Guide to Soybean Production in Northern Nigeria. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria. 21 pp.
- FAO. 2013. Disponible sur <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>.
- Fett, W.F., G.T. Dunn, B. Maher, B. Maleeff, 1987: Bacteriocins and temperate phage of *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*. *Curr Microbiol* 16: 137-144.
- Hokawat, S., Rudolph K., 1993: The hosts of *Xanthomonas*, In Swings J.G. and E.L. Civerolo, eds. *Xanthomonas*. Cloning and Characterization of pathogenicity genes from *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*. *J. Bacteriol.* 174:1923-1931. pp.44-48.
- Janse, J. D., 2005: Phytopathology : principles and practice. CAB publishing. 360p.
- Jeger, M. J., Viljanen-Rollinson, S. L. H., 2001: The use of the area under the disease progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 102: 32-40.
- Jones, S. B., Fett, W. F., 1985: Fate of *Xanthomonas campestris* infiltrated into soybean leaves: an ultrastructural study. *Phytopathol.* 75:733-741.
- Kaewnum, S., S. Prathuangwong, T. J Burr, 2005: Aggressiveness of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* isolates to soybean and hypersensitivity responses by other plants. *Plant Pathol.* 54:409-415.
- MAEP, 2010 : Ministère de l'Agriculture de l'Élevage et de la Pêche : Annuaire Statistiques Production Agricole. 2008 à 2009.
- Narvel, J. M., L. R. Jakkula, D. V. Phillips, T. Wang, S. H. Lee, H. R. Boerma, 2001: Molecular mapping of *Rxp* conditioning reaction to bacterial pustule in soybean. *J. Hered.* 92 : 267-70.

Pirhonen, M. U., M. C. Lidell, D. L. Rowley, S. W. Lee, S. Jin, Y. Liang, S. Silverstone, N. T. Keen, S. W. Hutcheson, 1996: Phenotypic expression of *Pseudomonas syringae* avr genes in *E. coli* is linked to the activities of the *hrp*-encoded secretion system. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9:252-260.

Prathuangwong, S., Amnuaykit, K., 1987: Studies on tolerance and rate reducing bacterial pustule of soybean cultivars/lines. *Kasetsart J.* 21:408-420.

Shaner, G., Finney, R. E., 1977: The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knows wheat. *Phytopathol* 67: 1051-1056.

Zinsou, V., L. Afouda, N. Zoumarou-Wallis, T. Pate-Bata, M. Götz, S. Winter, 2013 : Présence et caractérisation de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, agent causal de la pustule bactérienne dans la savanes guinéenne du Bénin. UNIVERSITE DE PARAKOU – Premières journées scientifiques – Parakou, 27, 28 et 29 novembre 2013.