

Mise en évidence de la maladie des taches angulaires du fraisier à l'île de la Réunion.

O. PRUVOST, C. FABREGUE et J. LUISETTI

EVIDENCING OF ANGULAR LEAF SPOT OF STRAWBERRIES IN REUNION.

O. PRUVOST, C. FABREGUE and J. LUISETTI.

Fruits, Jun. 1988, vol. 43, n° 6, p. 369-373.

ABSTRACT - Angular leaf spot of strawberries was found in Reunion in June 1986. The bacterium responsible for the disease, *Xanthomonas fragariae*, was identified and the typical symptoms of the disease on leaves were reproduced by artificial inoculation.

The pathogen was probably introduced to cold stored runners. By destroying the foci that had been observed, the Plant Protection Service eradicated the disease, which was not found in 1987.

MISE EN EVIDENCE DE LA MALADIE DES TACHES ANGULAIRES DU FRAISIER A L'ILE DE LA REUNION.

O. PRUVOST, C. FABREGUE et J. LUISETTI.

Fruits, Juin 1988, vol. 43, n° 6, p. 369-373.

RESUME - La maladie des taches angulaires du fraisier a été mise en évidence en juin 1986 à l'île de la Réunion. La bactérie responsable *Xanthomonas fragariae* a été identifiée et les symptômes typiques de la maladie sur feuilles ont pu être reproduits par inoculation artificielle.

L'introduction du pathogène a été probablement réalisée par l'intermédiaire de plants frigo. La destruction des foyers observés, entreprise par le Service de la Protection des Végétaux, a permis l'éradication de la maladie qui n'a pas été retrouvée en 1987.

INTRODUCTION

En 1985 un programme portant sur l'étude de la culture du fraisier à la Réunion a débuté. Prévu pour une durée de cinq années, ce programme est conduit par l'IRFA en collaboration avec des organismes de recherches métropolitaines tels que l'INRA (1), le CTIFL (2) et le CIREF (3). L'étude a pu être initiée dès le début 1985, grâce aux concours financiers de l'ODEADOM (4) et du Conseil régional, à la suite d'une mission technique effectuée en novembre-décembre 1984 par M. P. ROUDEILLAC, Directeur technique du CIREF, sur l'état de la culture du fraisier à la Réunion.

Les deux principaux thèmes développés dans le rapport de P. ROUDEILLAC sont les deux axes du programme ODEADOM, à savoir l'amélioration de la culture du fraisier sur l'île (cibler le créneau export, variétés nouvelles, culture

à basse altitude, adaptation des techniques de culture au plant frais, etc.), et la multiplication locale de plants (PARISOT, communication personnelle).

Afin d'assurer le suivi des problèmes parasitaires du fraisier, un réseau d'observations phytosanitaires a été mis en place entre le Service de la Protection des Végétaux et l'IRFA. Dix-huit parcelles ont été choisies compte tenu de l'importance des surfaces cultivées, des zones de production et de l'altitude. Les visites de ces parcelles, effectuées à la cadence de 1 à 2 par mois à partir de la mi-avril, permettent l'élaboration de bulletins d'informations phytosanitaires actualisés qui sont adressés directement aux fraiseiculteurs.

C'est au cours de ces tournées qu'a été découvert le premier foyer de maladie des taches angulaires du fraisier, le 13 juin 1986.

Des feuilles de fraisier porteuses de taches nous ont été confiées pour analyse bactériologique.

* - O. PRUVOST - IRFA/CIRAD - B.P. 180 - 97455 SAINT PIERRE Cedex (Réunion).

C. FABREGUE - SPV. Circonscription Phytosanitaire Réunion-Mayotte, bld de la Providence - 97489 SAINT DENIS Cedex (Réunion).

J. LUISETTI - INRA. Station de Pathologie végétale et Phytobactériologie - route de St-Clément Beaucouzé - 49000 ANGERS (France)

(1) - INRA : Institut national de la Recherche agronomique.

(2) - CTIFL : Centre technique interprofessionnel des Fruits et Légumes

(3) - CIREF : Centre inter-régional de Recherche et d'Expérimentation de la Fraise.

(4) - ODEADOM : Office de Développement économique agricole pour les Départements d'Outre-Mer.



Photo 1 - Taches angulaires observées sur face inférieure de feuille de fraisier cv Sequoia.



Photo 2 - Mise en évidence de la production d'un exsudat.

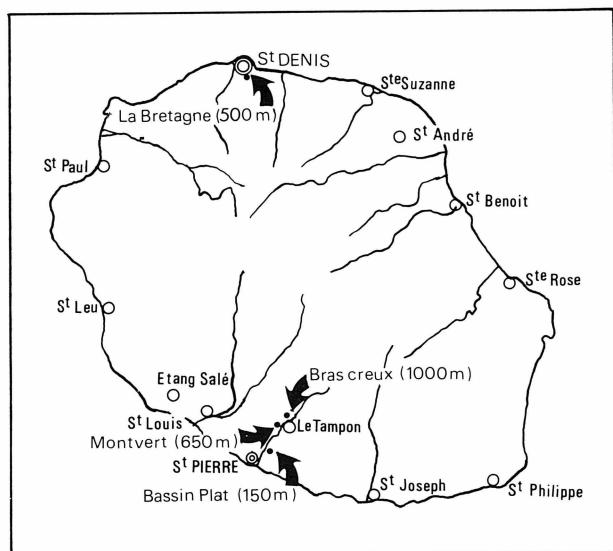


Figure 1 * LOCALISATION DES DIFFERENTS FOYERS OBSERVES A L'ILE DE LA REUNION.

Symptomatologie.

Les taches aux contours anguleux délimités par la nervation sont surtout visibles sur la face inférieure des feuilles malades. Elles ont un aspect huileux caractéristique d'une maladie bactérienne (photo 1). On note parfois la présence d'un exsudat (photo 2). Sur feuilles fortement attaquées, les taches deviennent coalescentes et on observe alors très souvent le dessèchement du limbe.

Répartition géographique.

A l'île de la Réunion, des foyers de maladie ont été découverts dans la région de Saint-Denis au lieu-dit «La Bretagne» (altitude 500 m), de Saint-Pierre (Bassin-Plat, altitude 150 m et Montvert, altitude 650 m), et du Tampon (Bras Creux, altitude 1 000 m) (figure 1).

La maladie des taches angulaires du fraisier a été déjà

décrite dans de nombreux pays. KENNEDY et KING (1962) ont été les premiers à la caractériser dans l'état du Minnesota. Depuis, elle a été mentionnée dans d'autres Etats des USA :

- Californie (HILDEBRAND *et al.*, 1967)
- Wisconsin (EPSTEIN, 1966)
- Kentucky (RAT, 1974)
- Floride (HOWARD, 1971)

ainsi qu'en Italie (MAZZUCHI *et al.*, 1973), Nouvelle Zélande (DYE et WILKIE 1973), France (RAT, 1974), Australie (Mc GECHAN et FAHY, 1976), Grèce (PANAGOPOULOS *et al.*, 1978), Brésil (NETO *et al.*, 1978), Portugal (FERNANDEZ et PINTO-GANHÃO, 1981), Vénézuéla (BRADBURY, 1986).

MATERIEL ET METHODES

Isolement de l'agent pathogène.

Des isollements ont été réalisés à partir de nombreuses lésions prélevées dans les trois localités où la maladie a été mise en évidence. Les milieux LPGA (extrait de levure 7 g, peptone 7 g, glucose 7 g, agar 15 g, H₂O distillée 1 000 ml, pH 7,2) et GYCA (glucose 5 g, extrait de levure 5 g, CaCO₃ 40 g, agar 15 g, H₂O distillée 1 000 ml) coulés en boîtes de Pétri ont été utilisés et ont été mis à incuber pendant 12 jours à 28°C.

Caractérisation des isolats.

Cinq isolats et la souche de *X. fragariae* CFBP 1558 (Collection française de Bactéries phytopathogènes, INRA-Angers, France) isolée en France en 1974 ont été étudiés quant à leurs caractéristiques métaboliques.

Les différents tests effectués sont mentionnés dans le tableau 1. L'étude de l'hypersensibilité sur tabac a été effectuée sur des plantes du cultivar Ira Bourbon pour les isolats de la Réunion et sur le cultivar Xanthi pour la souche de référence CFBP 1558. Il a été réalisé par infiltration

de suspensions bactériennes denses (environ 10¹⁰ bactéries/ml).

Etude du pouvoir pathogène.

Une suspension bactérienne dosée à environ 10⁸ bactéries/ml a été pulvérisée sur les deux faces des feuilles de fraisier cv Hecker plantes en pots. La moitié des plantes a été recouverte de sachets plastique transparents 48 heures avant la pulvérisation.

Par ailleurs, des inoculations par piqûre sur pétioles à l'aide d'une seringue contenant une suspension bactérienne de même titre, ont été réalisées.

RESULTATS OBTENUS

Isolement de l'agent pathogène.

Les deux milieux utilisés ont permis d'isoler la bactérie pathogène. Cependant l'utilisation du milieu GYCA semble préférable car elle permet un développement plus rapide des colonies. Sur ce milieu, les colonies deviennent visibles après 5 jours d'incubation à 28°C, tandis que deux jours supplémentaires sont nécessaires pour qu'elles le deviennent sur LPGA. Après 12 jours d'incubation, les colonies ont un diamètre de 6 à 7 mm sur GYCA et environ 3 mm seulement sur LPGA. Elles sont rondes, opaques, bombées, muqueuses à bords réguliers et de couleur jaune.

Caractérisation des isolats.

Tous les tests ont été réalisés avec une culture de 72 heures sur pente inclinée de milieu GYCA en tube. Les 5 isolats, ainsi que la souche de référence utilisée, ont donné des résultats identiques.

Il s'agit de bactéries Gram négatif. Leur métabolisme est oxydatif. Elles possèdent une catalase mais pas de cytochrome C oxydase, ni d'uréase, ni de nitrate réductase. Elles hydrolysent l'amidon et la gélatine. Elles ne produisent

TABLEAU 1 - Caractères physiologiques et biochimiques étudiés.

Caractère étudié	Références
Levane sucrase	LELLIOTT <i>et al.</i> , 1966.
Cytochrome C oxydase	KOVACS, 1956
Arginine dihydrolase	THORNLEY, 1960
Hypersensibilité sur tabac	GARDAN et LUISETTI, 1982
Voie d'utilisation du glucose	HUGH et LEIFSON, 1953
Production de pigments fluorescents	KING <i>et al.</i> , 1954
Hydrolyse de l'esculine	INSTITUT PASTEUR, 1981
Hydrolyse de l'amidon	GARDAN et LUISETTI, 1982
Catalase	GARDAN et LUISETTI, 1982
Hydrolyse de la gélatine	FRAZIER, 1926
Uréase	INSTITUT PASTEUR, 1981
Production d'indole	INSTITUT PASTEUR, 1981
Production d'H ₂ S à partir de cystéine	DYE, 1968
Croissance sur LPGA + 5 % NaCl	-
Tween estérase	SIERRA, 1957
Réduction des nitrates	GARDAN et LUISETTI, 1982

TABLEAU 2 - Caractérisation physiologique et biochimique des isolats et de la souche *Xanthomonas fragariae* CFBP 1558.

Caractère étudié	Résultats obtenus	
	Isolats Réunion	CFBP 1558
Levane sucrase	+	+
Cytochrome C oxydase	-	-
Arginine dihydrolase	-	-
Hypersensibilité sur tabac	+	+
Voie d'utilisation du glucose	oxydatif lent	oxydatif lent
Production de pigments fluorescents	-	-
Hydrolyse de l'esculine	-	-
Hydrolyse de l'amidon	+	+
Catalase	+	+
Hydrolyse de la gélatine	+	+
Uréase	-	-
Production d'indole	-	-
Production d'H ₂ S	-	-
Croissance sur LPGA + 5 % NaCl	-	-
Tween estérase	+	+
Réduction des nitrates	-	-

pas de pigment fluorescent sur milieu B de King. Tous les résultats des tests biochimiques sont mentionnés dans le tableau 2.

Etude du pouvoir pathogène.

Sur les plants de fraisier recouverts d'un sac plastique, nous avons observé les symptômes typiques de la maladie après 11 jours. Sur les autres plants, aucun symptôme foliaire n'a pu être décelé, même 60 jours après la pulvérisation.

La piqûre des pétioles n'a pas permis d'obtenir de flétrissement des plantes comme mentionné par HILDEBRAND *et al.* (1967). Ce symptôme n'a d'ailleurs jamais été observé en conditions naturelles à l'île de la Réunion.

DISCUSSION-CONCLUSION

Le comportement des différents isolats s'avérant homogène et comparable à celui de la souche de référence étudiée CFBP 1558, il nous est possible d'identifier les souches réunionnaises, comme appartenant à l'espèce *Xanthomonas fragariae*.

La reproduction de symptômes similaires à ceux observés au champ par pulvérisation de cellules bactériennes permet de vérifier le postulat de Koch. Au champ, les symptômes ont été observés essentiellement sur la variété Sequoia et sur des plantations de première année réalisées à partir de «plants frigo» importés de France métropolitaine. Les contaminations primaires ont été vraisemblablement assurées par ces plants (bactérie présente en France ; RAT, 1974). La possibilité de conservation de *X. fragariae* sur plants frigo a également été démontrée par RAT (1985).

Les symptômes de cette maladie ne sont pas décelables sur ces plants (absence de feuilles), alors qu'ils le sont pour celle du coeur rouge des racines causée par *Phytophthora fragariae*, parasite recherché à la Réunion sur tous les lots de plants importés.

Les températures assez fraîches des mois de mai et juin (environ 20°C), ainsi qu'une pluviométrie supérieure à la normale (200 mm à Saint-Denis en mai) ont probablement favorisé l'apparition de la maladie, la présence d'irrigation par aspersion favorisant largement sa dissémination ultérieure.

Toutefois, un suivi régulier de l'extension de la maladie n'a pas permis d'observer de contaminations sur les jeunes feuilles et les plantes effeuillées se sont rapidement montrées indemnes de maladie. La présence des symptômes n'a d'ailleurs pas semblé entraîner une diminution des rendements.

L'application de mesures prophylactiques strictes (destruction de tous les foyers observés) et de traitements cupriques a entraîné la disparition des symptômes. Une prospection réalisée en 1987 a permis de confirmer ce point.

Il importe donc de mentionner que l'incidence économique de cette maladie à la Réunion demeure très faible, et qu'elle ne perturbera très probablement pas le programme de développement du fraisier engagé par l'IRFA et ses collaborateurs dans l'île.

Un isolat en provenance de Saint-Denis (premier foyer découvert) a été déposé à la Collection française de Bactéries phytopathogènes (CFBP)- INRA Station de Pathologie végétale et Phytobactériologie, route de Saint-Clément, Beaucouzé - 49000 Angers (France) sous le numéro 2636.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Anonyme. 1981.
Milieux et réactifs de laboratoire Pasteur.
Institut Pasteur Production.
Edition avril 1981, Ed. J. Grou-Radenez, Paris, 589 p.
2. BRADBURY (J.F.). 1986.
Guide to plant pathogenic bacteria,
CAB International Mycological Institute, Slough, U.K., 329 p.
3. DYE (D.W.). 1968.
A taxonomic study of the genus *Erwinia*.
1. The «amylovora» group.
N.Z.J. Sci., 111, 590-607.
4. DYE (D.W.) et WILKIE (J.P.). 1973.
Angular leaf spot of strawberry in New Zealand.
N.Z.J. Agric. Res., 16, 311-314.
5. EPSTEIN (A.H.). 1966.
Angular leaf spot of strawberry.
Plant Dis. Rep., 50 (3), 167.
6. FERNANDEZ (A.M.M.) et PINTO-GANHÃO (J.F.). 1981.
Xanthomonas fragariae KENNEDY et KING. Uma nova bacteriose para Portugal.
Agros, 64 (1), 5-8.
7. FRAZIER (W.C.). 1926.
A method for the detection of changes in gelatin due to bacteria.
J. Inf. Dis., 39, 302.
8. GARDAN (L.) et LUISETTI (J.). 1982.
Méthodes d'isolement et d'identification des bactéries phytopathogènes.
INRA Angers, 32 p.
9. HILDEBRAND (D.C.), SCHROTH (M.N.) et WILHELM (S.). 1967.
Systemic invasion of strawberry by *Xanthomonas fragariae* causing vascular collapse.
Phytopathology, 57 (11), 1260-1261.
10. HOWARD (C.M.). 1971.
Occurrence of strawberry angular leaf spot, *Xanthomonas fragariae*, in Florida.
Plant Dis. Rep., 55 (2), 142.
11. HUGH (R.) et LEIFSON (E.). 1953.
The taxonomic significance of fermentative versus oxydative metabolism of carbohydrates by various Gram negative bacteria.
J. Bacteriol., 66, 24-26.
12. KENNEDY (B.W.) et KING (T.H.). 1962.
Angular leaf spot of strawberry caused by *Xanthomonas fragariae* sp. nov.
Phytopathology, 52 (9), 873-875.
13. KING (E.D.), WARD (M.K.) et RANEY (D.E.). 1954.
Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein.
J. Lab. Clin. Med., 44, 301-307.
14. KOWACS (N.). 1956.
Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction.
Nature, 178, 703.
15. LELLIOTT (R.A.), BILLING (E.) et HAYWARD (A.C.). 1966.
A determinative scheme for the fluorescent pathogenic pseudomonads.
J. Appl. Bact., 29, 470-489.
16. MAZZUCHI (U.), ALBERGHINA (A.) et DALLI (A.). 1973.
Occurrence of *Xanthomonas fragariae* KENNEDY et KING in Italy.
Phytopath. Z., 76, 367-370.
17. Mc GECHAN (J.K.) et FAHY (P.C.). 1976.
Angular leaf spot of strawberry, *Xanthomonas fragariae* : First record of its occurrence in Australia, and attempts to eradicate the disease.
Phytopath. News, 5 (4), 57-59.
18. NETO (J.R.), SUGINORI (M.H.) et PARADELA FILHO (O.). 1978.
Xanthomonas fragariae KENNEDY and KING in Brazil.
Summa Phytopathologica, 4, (2/3/4), 101-104.
19. PANAGOPOULOS (C.G.), PSALLIDAS (P.G.) et ALIVIZATOS (A.S.). 1978.
A bacterial leaf spot of strawberry in Greece caused by *Xanthomonas fragariae*.
Phytopath. Z., 91, 33-38.
20. RAT (B.). 1974.
Présence en France de la maladie des taches angulaires du fraisier.
Ann. Phytopath., 6, 223.
21. RAT (B.). 1985.
Bactérioses des cultures légumières (2).
Cours international de Phytobactériologie. INRA Angers, 16 septembre-4 octobre 1985, Document 2, 51-62.
22. SIERRA (G.). 1957.
A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrats.
Antonie Van Leeuwenhoek, 23, 15-23.
23. THORNLEY (M.J.). 1960.
The differentiations of *Pseudomonas* from other Gram negative bacteria on the basis of arginin metabolism.
J. Gen. Microbiol., 19, 198-209.

NACHWEIS DER ECKIGEN BLATTFLECKENKRANKHEIT DER ERDBEERE AUF DER INSEL REUNION.

O. PRUVOST, C. FABREGUE und J. LUISETTI.

Fruits, Jun. 1988, vol. 43, n° 6, p. 369-373.

KURZFASSUNG - Die eckige Blatfleckenkrankheit der Erdbeere wurde auf der Insel Réunion im Juni 1986 nachgewiesen. Die verantwortliche Bakterie, *Xanthomonas fragariae*, wurde identifiziert, und die typischen Krankheitssymptome der Blätter konnten im Wege künstlicher Impfung reproduziert werden. Der Keimträger ist wahrscheinlich mit Kühl-Keimpflanzen eingeschleppt worden. Der Pflanzenschutzdienst hat die beobachteten Herde zerstört, was die Ausrottung der Krankheit möglich machte. Sie ist seit 1987 nicht mehr aufgetreten.

PUESTA EN EVIDENCIA DE LA ENFERMEDAD DE LAS MANCHAS ANGULARES DEL FRESERA EN LA ISLA DE LA REUNION.

O. PRUVOST, C. FABREGUE y J. LUISETTI.

Fruits, Jun. 1988, vol. 43, n° 6, p. 369-373.

RESUMEN - La enfermedad de las manchas angulares del fresera se ha puesto en evidencia en junio 1986 en la isla de la Reunión. La bacteria responsable *Xanthomonas fragariae* se ha identificado y los síntomas típicos de la enfermedad sobre hojas han podido reproducirse por inoculación artificial. La introducción del patógeno se ha realizado probablemente por la introducción de plantas frigo. La destrucción de los focos observados, emprendida por el Servicio de la Protección de los Vegetales, ha permitido la erradicación de la enfermedad que no ha vuelto a encontrarse en 1987.

