

Evolution de la maladie des taches noires de la mangue et des populations épiphylls de l'agent pathogène (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*) en conditions naturelles à l'île de la Réunion.

O. PRUVOST, A. COUTEAU et J. LUISETTI*

DEVELOPMENT OF BACTERIAL BLACK SPOT OF MANGOES AND EPIPHYTIC POPULATIONS OF THE PATHOGEN (*XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV. *MANGIFERAINDICAE*) UNDER NATURAL CONDITIONS IN REUNION ISLAND.

O. PRUVOST, A. COUTEAU and J. LUISETTI.

Fruits, Mar.-Apr. 1990, vol. 45, n° 2, p.125-140.

ABSTRACT - Rain and wind increased incidence of bacterial black spot of mangoes (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*) under natural conditions in Reunion Island on contaminated trees and enhanced the spread of the causal agent in the groves. The epiphytic survival of *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae* on mango leaves was confirmed.

EVOLUTION DE LA MALADIE DES TACHES NOIRES DE LA MANGUE ET DES POPULATIONS EPIPHYLLES DE L'AGENT PATHOGENE (*XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV. *MANGIFERAINDICAE*) EN CONDITIONS NATURELLES A L'ILE DE LA REUNION.

O. PRUVOST, A. COUTEAU et J. LUISETTI.

Fruits, Mar.-Apr. 1990, vol. 45, n° 2, p. 125-140.

RESUME - L'étude de l'évolution de la maladie des taches noires de la mangue (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*) a permis de préciser certaines des modalités de développement de la maladie dans les conditions de l'île de la Réunion. Le rôle des pluies et des vents dans l'augmentation de l'incidence de la maladie sur les arbres préalablement contaminés et dans la dissémination de l'agent pathogène en vergers a été explicitée. La capacité de survie épiphylls de *X. c.* pv. *mangiferaeindicae* a été confirmée dans les conditions de la Réunion.

INTRODUCTION

La maladie des taches noires (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*) est considérée comme l'une des principales maladies du manguier dans de nombreux pays producteurs : Afrique du Sud (OOSTHUIZEN, 1987), Australie (Anonyme, 1985), Brésil (ROBBS *et al.*, 1978), Inde (KISHUN, 1982), île de la Réunion (AUBERT, 1981) ... Chaque année, la maladie est mise en évidence dans de nouveaux pays. Ainsi, en 1989, elle a été décrite au Kenya (BURUCHARA *et al.*, 1989), aux Comores (PRUVOST, 1989), et en Malaisie (LIM *et al.*, 1989).

La lutte contre les phyto bactérioses est, de façon générale, peu aisée et les résultats obtenus sont relativement peu satisfaisants. La stratégie consistant en une éradication totale peut être une mesure envisageable pour lutter contre toute maladie particulièrement grave. Cette technique est

par exemple utilisée aux USA pour lutter le chancre bactérien des agrumes (*Xanthomonas campestris* pv. *citri* pathotype A), mais son efficacité peut sembler discutable au vu de leur expérience. Le chancre A est à nouveau réapparu en Floride fin 1985 (SHOULTIES *et al.*, 1987) après avoir été éradiqué pendant de nombreuses années (LOUCKS, 1934 ; Mc CUBBIN, 1954). Malgré d'importants efforts, la maladie sévit toujours actuellement (CIVEROLO, communication personnelle). De plus, ce type de lutte est souvent difficile à mettre en oeuvre à cause de ses répercussions sur le plan socio-économique, notamment dans le cas de la maladie des taches noires de la mangue qui touche de nombreux pays en voie de développement. Pour lutter contre la maladie des taches noires de la mangue à l'île de la Réunion ou dans d'autres pays où elle existe depuis de nombreuses années, les travaux doivent s'orienter vers la mise au point d'une stratégie de lutte intégrée (PRUVOST *et al.*, 1989). En pépinières, celle-ci devra prendre en compte la production de plants sains. En vergers, il s'agira d'appliquer des mesures prophylactiques strictes, d'utiliser des variétés peu sensibles à la maladie (aucune variété immune n'existe actuellement), et d'effectuer des traitements à l'aide de formulations chimiques

* - O. PRUVOST et A. COUTEAU - IRFA/CIRAD - B.P. 180 SAINT PIERRE Cedex - Ile de la Réunion.
J. LUISETTI - INRA - Station de pathologie végétale - route de Saint Clément - Beaucaouzé - 49000 ANGERS - France.

(PRUVOST *et al.*, 1989) ou biologiques (PRUVOST et LUISETTI, 1989). Ces interventions ont pour but de rompre le cycle biologique de l'agent pathogène en éliminant toute source d'inoculum ou en inhibant sa multiplication. Pour que toute stratégie de lutte intégrée soit suffisamment efficace, il est très important de bien connaître les modalités de conservation et de dissémination de l'inoculum.

Des observations récentes réalisées en Afrique du Sud ont souligné l'importance capitale de la production de plants sains pour lutter contre cette maladie. Ce volet de la lutte intégrée est, selon KOTZE (1989), le mode de lutte le plus efficace pour aboutir à une situation satisfaisante sur le plan phytosanitaire. Ainsi, selon cet auteur, des arbres sains à proximité immédiate d'arbres fortement contaminés, sont restés indemnes de maladie pendant 9 ans. Ces résultats peuvent paraître surprenants car il est communément admis que les pluies et les vents, qui d'une part favorisent fortement les infections en Afrique du Sud (MANICOM, 1986), sont également d'autre part des éléments primordiaux dans la dissémination de nombreuses phytobactérioses (AGRIOS, 1978 ...). KOTZE (1989), qui souligne le faible intérêt de la lutte chimique en vergers, préconise toutefois un maintien des traitements pendant la période à risque.

Très peu d'informations concernant les caractéristiques biologiques et épidémiologiques de la maladie des taches noires sont actuellement disponibles. Cet article a pour but de présenter l'évolution de la maladie et des populations pathogènes dans quatre vergers naturellement contaminés à l'île de la Réunion.

MATERIEL ET METHODES

Description des sites expérimentaux.

Cette étude a été réalisée dans des vergers de production localisés dans la région de Sainte Marie et de Saint Gilles (figure 1). La région de Sainte Marie est caractérisée par une pluviométrie annuelle assez importante (de l'ordre de 2 000 à 2 500 mm), alors que la région de Saint Gilles est caractérisée par une pluviométrie beaucoup plus faible (environ 1 000 mm). L'altitude des quatre parcelles étudiées oscille entre 0 et 50 m.

La structure des vergers de manguiers à l'île de la Réunion a sensiblement évolué au cours des dernières années. Si les jeunes vergers, plantés surtout avec des arbres du cultivar Early Gold (peu sensible à la bactériose) ont une structure moderne (au niveau densité, irrigation ...) et sont plantés de façon monovariétale, beaucoup de vergers plus âgés sont plantés selon la structure des «jardins créoles» où se côtoient des arbres de variétés différentes, parfois même d'espèces différentes (BERTIN, communication personnelle). C'est dans ce type de parcelle que nos essais ont été conduits. Les arbres étudiés dans ces quatre parcelles appartenaient tous à la variété Lise (cultivar local, sensible). Leur âge a été estimé à environ 6 à 8 ans.

A Sainte Marie, l'évolution de la maladie a été suivie dans deux parcelles. L'une (SM1) était protégée par un système de brise-vent paraissant efficace. La parcelle était composée de trois rangs d'une quinzaine d'arbres. Les 13

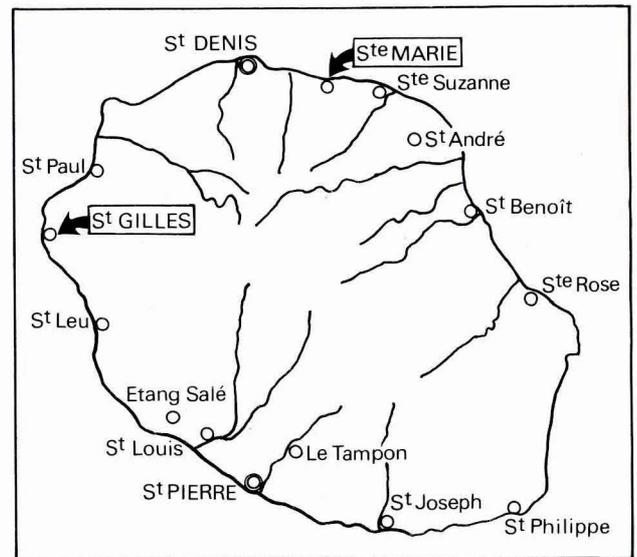


FIG. 1 • LOCALISATION DES DIFFERENTS SITES D'ETUDE A L'ILE DE LA REUNION.
THE DIFFERENT OBSERVATION SITES IN REUNION.

arbres du cv. Lise plantés sur un même rang côtoyaient des arbres des cvs. José et Léonard (peu sensibles) où la maladie est restée à un niveau bas pendant toute la durée de l'expérimentation. L'autre (SM2) n'était pas protégée par des haies brise-vent et a été exposée à des vents réguliers, parfois assez violents pendant toute la durée de l'essai. Cette parcelle a été plantée sur une pente de forte amplitude. Les 7 arbres étudiés étaient répartis sur trois rangs situés à des niveaux différents de la pente. On a appelé rang 1, le rang d'arbres situé en bas de la pente et rang 3, celui situé au sommet de la pente. Cette localisation a permis d'estimer assez bien le rôle des vents. Plus les manguiers étaient installés en hauteur et plus ils ont reçu une quantité importante de vent. Les arbres n'ont reçu aucun traitement cuprique pendant la durée de l'expérimentation.

Deux parcelles ont été également suivies dans la région de Saint Gilles. L'une des parcelles (SG2, 20 arbres expérimentés) a reçu pendant l'essai 7 à 8 traitements cupriques appliqués toutes les 2 semaines pendant la période durant laquelle les arbres portaient des fruits (octobre-novembre). L'autre (SG1, 15 arbres expérimentés) n'en a reçu que très épisodiquement. Aucun système efficace de brise-vent ne protégeait ces deux vergers.

Aucune donnée météorologique précise n'était disponible pour des zones proches des parcelles étudiées dans la région de Saint Gilles. Il n'a donc pas été possible, dans ce cas, d'analyser finement l'influence des paramètres climatiques sur l'évolution de la maladie et des populations pathogènes. Nous avons utilisé les données de la Station IRAT/CIRAD de Saint Pierre et celles de l'aéroport de Saint Denis-Gillot (figure 1), lorsque les phénomènes météorologiques intéressaient l'ensemble de l'île (dépression cyclonique Clotilda par exemple). Les données météorologiques de l'aéroport de Saint Denis-Gillot ont été utilisées pour interpréter les résultats obtenus pour les vergers de la région de Sainte Marie (seulement quelques kilomètres séparent ces deux sites localisés à la même altitude).

Les expérimentations, qui ont débuté fin août 1986 dans la région de Saint Gilles et courant octobre 1986 dans la région de Sainte Marie, étaient initialement prévues pour durer pendant une période de douze mois. Les deux parcelles de Saint Gilles ont été surgreffées avec des variétés peu sensibles en mars 1987 à cause des dégâts très importants enregistrés à l'issue du passage de la dépression cyclonique Clotilda sur la Réunion. Les observations ont donc du être stoppées en mars 1987 dans ces deux vergers.

Suivi de la maladie.

Le niveau de maladie a été estimé sur un échantillon de pousses sélectionnées et étiquetées sur chaque arbre selon les 4 directions cardinales, la hauteur et la position dans la frondaison. Le nombre de pousses retenues par arbre varie de 10 à 15 mais est constant pour une même parcelle. De la même manière, 12 à 30 fruits par arbre ont été sélectionnés puis étiquetés dès qu'ils avaient dépassé le stade de la nouaison. Ceci a permis d'estimer régulièrement (toutes les 2 semaines) le pourcentage de feuilles, pousses et fruits porteurs de symptômes typiques de la maladie. En revanche, la sévérité de la maladie (nombre de taches par feuille et par fruit) n'a pas pu être estimée dans ces essais pour des problèmes d'ordre technique.

Dénombrement des populations épiphylls de *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*.

La méthodologie employée pour le dénombrement des populations épiphylls est décrite en figure 2. Le milieu LPGAC employé contient 7 g/l d'extrait de levure (Bio Mérieux), 7 g/l de biogélytone (Bio Mérieux), 7 g/l de glucose et 15 g/l d'agar. Le pH est ajusté à 7,2 avant autoclavage. Après autoclavage (120°C, 20 minutes), on ajoute 0,05 g/l de cycloheximide mise en solution dans 1 ml d'alcool 95° et stérilisée par filtration. Le milieu est ensuite réparti en boîtes de Pétri (diamètre 90 mm) à raison de 20 ml par boîte.

A chaque prélèvement, 15 lots de 25 feuilles sont analysés pour les vergers SG1 et SG2, et seulement 12 et 9 lots respectivement pour les vergers SM1 et SM2. Les prélèvements ont été effectués régulièrement (toutes les 2 semaines) de fin août à mars 1987 pour les vergers de St Gilles (14 et 15 prélèvements) et d'octobre 1986 à octobre 1987 pour les vergers de Ste Marie (27 prélèvements). La différenciation des colonies de *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* a été faite sur la base des caractéristiques culturales, appuyée par une confirmation sérologique en immunofluorescence indirecte (FAURE *et al.*, 1977), à l'aide d'un anti-sérum polyclonal préparé avec la souche type de *X. c.* pv. *mangiferaeindicae* (NCPBP 490). Aucune réaction croisée n'a été observée avec les souches saprophytes, pigmentées ou non, collectées au sein de la microflore bactérienne des feuilles de manguier, alors qu'une cinquantaine de souches de *X. c.* pv. *mangiferaeindicae* isolées entre 1975 (DANIEL *et al.*, 1975) et 1988 dans toutes les localités de l'île où le Manguier est présent, réagissent toutes fortement avec ce sérum (PRUVOST, 1989). De plus, une étude préalable concernant la survie épiphylls du pathogène réalisée dans les quatre parcelles expérimentales (PRUVOST, données non publiées) a démontré que 100 p. 100 des colonies comptabilisées comme étant *X. c.* pv. *mangiferaeindicae*

par la méthode décrite ci-dessus se sont avérées pathogènes sur feuilles de manguier cv. Maison Rouge.

RESULTATS

Evolution de la maladie.

● Vergers de Saint Gilles.

1. Sur feuilles.

L'évolution de la maladie sur feuilles est présentée sur la figure 3. Les pourcentages globaux de feuilles infectées varient de 14 à plus de 20 p. 100 des la première observation (25.08 au 05.09.1986). La maladie a évolué très lentement jusqu'à la fin de l'année 1986. Une première augmentation sensible a été notée vers la mi-janvier 1987 et une seconde à partir de la troisième semaine de février 1987 (figure 3).

Ne disposant pas de données météorologiques pour la région de Saint Gilles, nous avons analysé les relevés climatologiques relatifs à Saint Pierre et Saint Denis pour voir si un phénomène météorologique pouvait expliquer ces augmentations de l'incidence de la maladie. La première (janvier 1987) pourrait être reliée aux fortes précipitations enregistrées les 3 et 4 janvier (58 mm à Saint Pierre et 470 mm à Saint Denis). La seconde est corrélée avec le passage sur la Réunion de la dépression tropicale Clotilda (140 mm de pluie à Saint Denis en six jours, 230 mm à Saint Pierre, et présence de vents assez importants sur l'île du 12 au 15 février).

1.1. Dans le verger SG1.

Dans le verger SG1, tous les arbres étudiés présentaient des symptômes dès le début de l'expérimentation. Cinq arbres localisés dans une même zone de la parcelle assez fortement exposée au vent, étaient porteurs, dès le début des observations, d'un pourcentage élevé de feuilles malades (environ 40 p. 100). Les autres arbres montraient environ 10 à 25 p. 100 de feuilles malades. Au terme de l'essai, toutes les feuilles échantillonnées des arbres du verger SG1 étaient porteuses de symptômes.

1.2. Dans le verger SG2.

Seuls 75 p. 100 des arbres étaient porteurs de lésions lors de la première série d'observations (environ 20 p. 100 de feuilles malades par arbre). Les cinq arbres qui paraissaient sains au début de l'essai ont été observés de façon plus approfondie le même jour, ce qui nous a permis de confirmer que leurs organes aériens étaient tous complètement exempts de maladie.

A l'issue de l'essai, tous les arbres expérimentés montraient des lésions foliaires. La fréquence de feuilles malades était très variable selon les arbres (figure 4). Ceux constatés sains au début de l'essai présentaient des niveaux de maladie relativement bas en mars 1987, même après le passage de la dépression cyclonique Clotilda. Il existe une très bonne corrélation ($r = 0,973$) entre les fréquences de feuilles malades observées au début et à la fin de l'expérimentation. Il est intéressant de noter que des arbres peu et fortement contaminés se côtoyaient dans le verger.

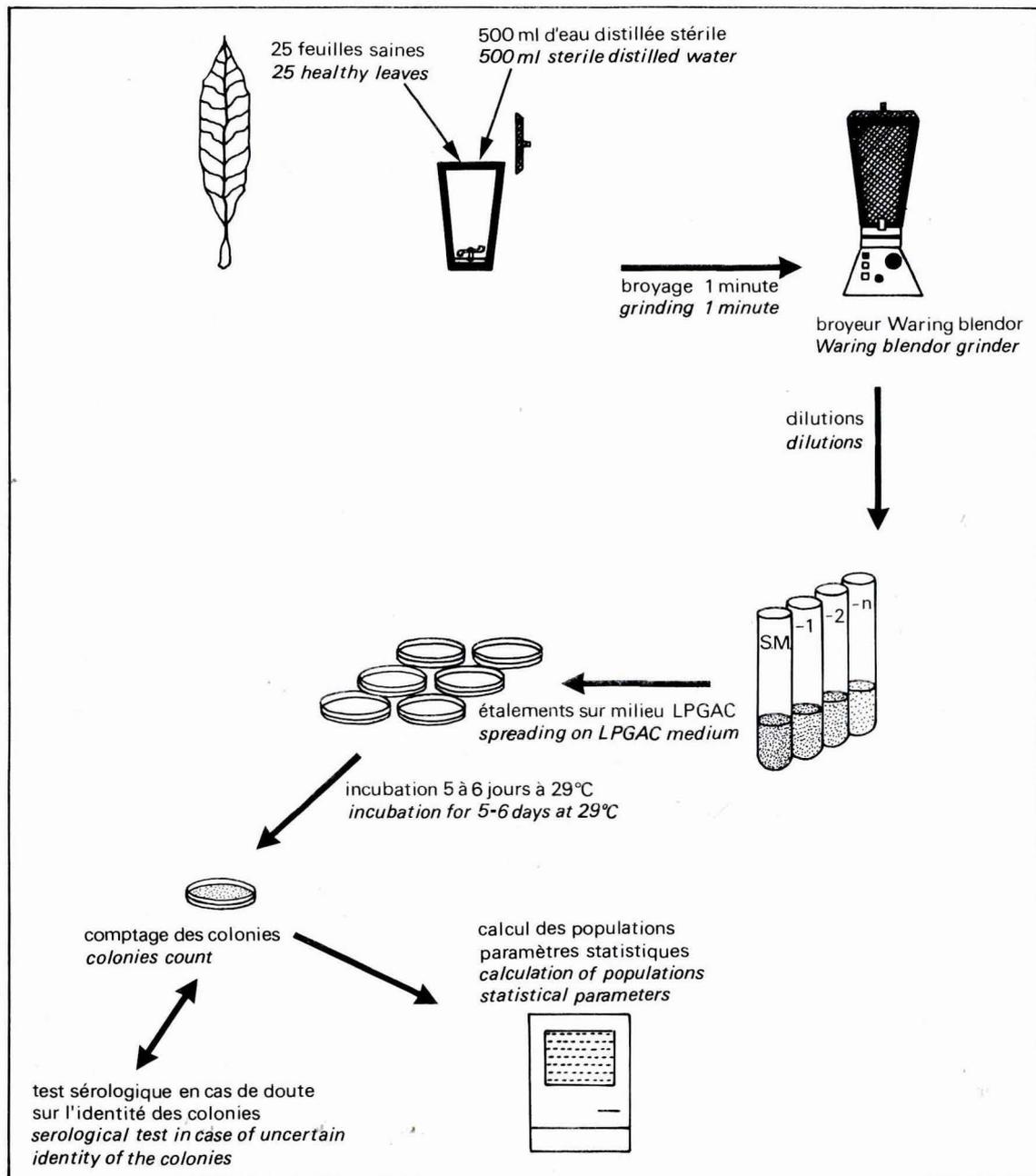


FIG. 2 • PROTOCOLE DE DENOMBREMENT DES POPULATIONS EPIPHYLLES.
PROCEDURE FOR THE QUANTIFICATION OF EPIPHYTIC POPULATIONS.

2. Sur fruits.

Le développement de la maladie sur fruits a été suivi à partir de la seconde quinzaine de septembre jusqu'à la première quinzaine de décembre 1986. La maladie a augmenté de façon peu importante dans le verger SG2, mais a augmenté de façon très sensible dans l'autre verger (plus de 80 p. 100 de fruits atteints à la récolte) (figure 5). Cette différence a

probablement pour origine l'application de traitements cupriques à une douzaine de jours d'intervalle dans le verger SG2, alors qu'ils n'ont été que très épisodiques dans l'autre (un seul traitement début novembre 1986).

Nous avons choisi le site de Saint Gilles (en raison de la forte incidence de la maladie dans ces vergers) pour étudier la relation entre la présence de la maladie sur feuilles et fruits

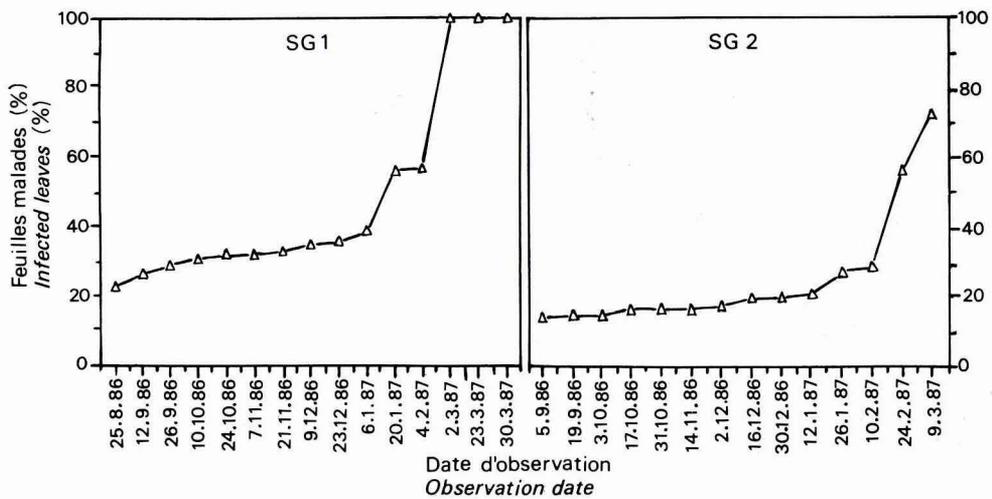


FIG. 3 • EVOLUTION DE LA MALADIE SUR FEUILLES DE MANGUIER (CV. LISE) DANS LES VERGERS DE LA REGION DE ST GILLES. DEVELOPMENT OF THE DISEASE ON MANGO LEAVES (CV. LISE) IN GROVES IN THE ST GILLES REGION.

et leur chute prématurée (tableaux 1 et 2). Dans le verger SG1, 95 p. 100 des feuilles qui sont tombées au sol pendant l'essai étaient des organes porteurs de symptômes de bactériose. En ce qui concerne les fruits, pratiquement 100 p. 100 des fruits qui sont tombés très précocement étaient des fruits malades. Il ny a qu'entre le 21.11 et le 9.12.1986 qu'un pourcentage équivalent de chute de fruits malades et sains a été observé. Cela s'explique par le fait que l'on était entré à cette époque dans la période de maturation naturelle des fruits.

Dans le verger SG2, le même type de réponse a été observé sur feuilles (90 p. 100 des feuilles tombées étaient porteuses de symptômes). En revanche, seuls 11 p. 100 de fruits tombés étaient malades. Cela peut s'expliquer en partie par la faible fréquence d'observation de fruits malades dans ce verger (figure 5). Nous ne connaissons pas les raisons pour lesquelles tant de fruits d'apparence sains sont tombés au sol prématurément. Il est possible qu'elles soient d'ordre physiologique (CAZIN, communication personnelle).

3. Sur pousses.

Aucun chancre sur pousses n'a été observé avant le passage du cyclone Clotilda. Seuls trois des cinq arbres les plus fortement contaminés du verger SG1 ont porté un faible pourcentage de pousses malades (moins de 10 p. 100) à partir de début mars 1987. Aucun chancre sur pousses n'a été observé dans la parcelle SG2.

• Vergers de Sainte Marie.

1. Sur feuilles.

La première observation réalisée le 6 octobre 1986 a permis de mettre en évidence l'état pratiquement sain de ces deux vergers. Le niveau d'inoculum est resté remarquablement bas pendant toute l'année 1986 (figure 6). Les fortes

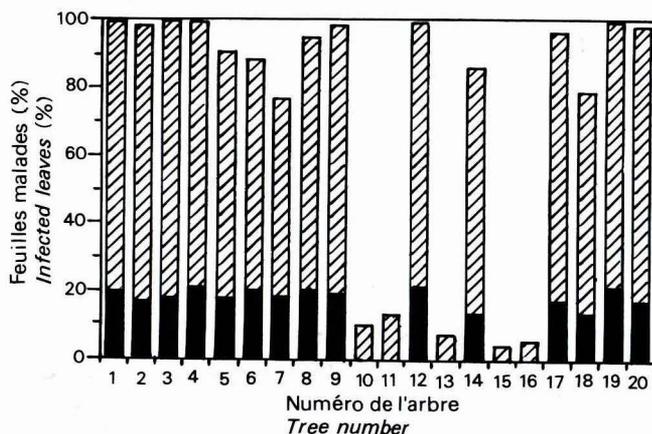


FIG. 4 EVOLUTION DE LA MALADIE SUR FEUILLES. VERGER SG2. DEVELOPMENT OF THE DISEASE ON LEAVES. GROVE SG2.

■ Début : septembre 1986
 Beginning : september 1986
 ▨ Fin : mars 1987
 End : march 1987

TABLEAU 1 - Analyse de la chute des feuilles et fruits. Vergers SG1.
Analysis of fallen leaves and fruits. Grove SG1

Intervalles <i>Period</i>	Nombre total de feuilles tombées <i>Total number of fallen leaves</i>	Nombre de feuilles malades tombées <i>Number of disease fallen leaves</i>	Nombre de feuilles saines tombées <i>Number of healthy fallen leaves</i>	Nombre de fruits tombés <i>Number of fallen fruits</i>	Nombre de fruits malades tombés <i>Number of infected fallen fruits</i>	Nombre de fruits sains tombés <i>Number of healthy fallen fruits</i>
25/08/86-12/09/86	0	0	0	-	-	-
12/09/86-26/09/86	21	14	7	-	-	-
26/09/86-10/10/86	8	6	2	0	0	0
10/10/86-24/10/86	0	0	0	0	0	0
24/10/86-07/11/86	0	0	0	11	11	0
07/11/86-21/11/86	6	6	0	38	34	4
21/11/86-09/12/86	16	5	11	58	30	28
09/12/86-23/12/86	1	0	1	-	-	-
23/12/86-06/01/87	10	4	6	-	-	-
06/01/87-19/01/87	56	56	0	-	-	-
19/01/87-04/02/87	3	3	0	-	-	-
04/02/87-02/03/87	269	269	0	-	-	-
02/03/87-23/03/87	140	140	0	-	-	-
23/03/87-30/03/87	47	47	0	-	-	-

TABLEAU 2 - Analyse de la chute des feuilles et fruits. Verger SG2.
Analysis of fallen leaves and fruits. Grove SG2.

Intervalles <i>Period</i>	Nombre total de feuilles tombées <i>Total number of fallen leaves</i>	Nombre de feuilles malades tombées <i>Number of disease fallen leaves</i>	Nombre de feuilles saines tombées <i>Number of healthy fallen leaves</i>	Nombre de fruits tombés <i>Number of fallen fruits</i>	Nombre de fruits malades tombés <i>Number of infected fallen fruits</i>	Nombre de fruits sains tombés <i>Number of healthy fallen fruits</i>
05/09/86-19/09/86	0	0	0	-	-	-
19/09/86-03/10/86	0	0	0	0	0	0
03/10/86-17/10/86	6	3	3	39	4	35
17/10/86-31/10/86	0	0	0	17	7	10
31/10/86-14/11/86	0	0	0	15	0	15
14/11/86-02/12/86	10	5	5	27	0	27
02/12/86-16/12/86	6	5	1	-	-	-
16/12/86-30/12/86	3	1	2	-	-	-
30/12/86-12/01/87	6	5	1	-	-	-
12/01/87-26/01/87	18	16	2	-	-	-
26/01/87-10/02/87	8	7	1	-	-	-
10/02/87-24/02/87	63	54	9	-	-	-
24/02/87-09/03/87	120	119	1	-	-	-

pluies de début janvier et de février 1987 (Clotilda) n'ont pas entraîné d'augmentation sensible de l'incidence de la maladie sur feuilles, probablement en raison des fréquences faibles d'organes malades lors de ces dépressions et de la violence des pluies. Ce phénomène météorologique a été montré relativement peu favorable à un développement important de la maladie car il semble entraîner un lessivage des populations bactériennes (MANICOM, 1986).

1.1. Dans le verger SM1.

Le niveau de maladie a augmenté faiblement, mais de façon régulière (figure 6). A la fin de l'expérimentation, des arbres sains ou presque sains côtoyaient des arbres fortement infectés, alors que tous possédaient des niveaux d'infection négligeables un an auparavant (figure 7). Une telle variabilité semble assez difficile à interpréter. Ce résul-

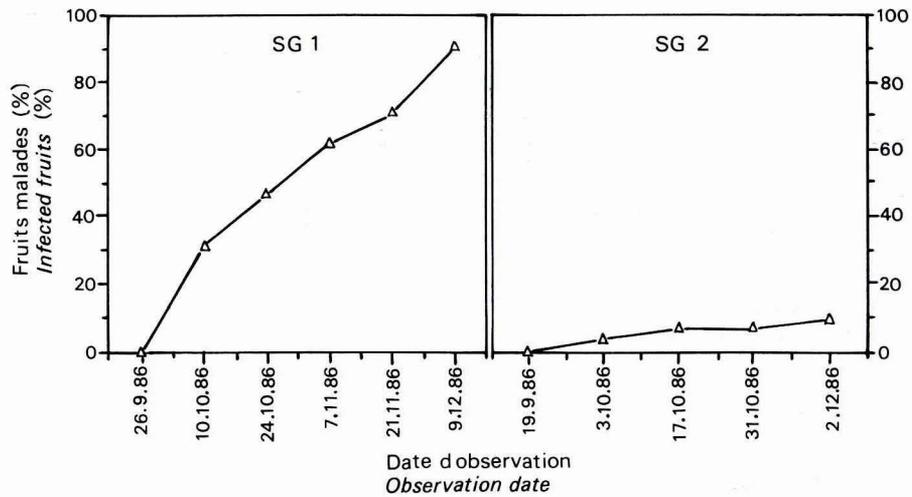


FIG. 5 • EVOLUTION DE LA MALADIE SUR FRUITS DE MANGUIER (CV. LISE) DANS LES VERGERS DE LA REGION DE St GILLES. DEVELOPMENT OF THE DISEASE ON MANGO FRUITS (CV. LISE) IN GROVES OF THE St GILLES REGION.

taut laisse supposer que des paramètres non connus interviennent peut être dans l'évolution de la maladie (nutrition, stade phénologique ...?).

1.2. Dans le verger SM2.

Le niveau de maladie a augmenté régulièrement jusque fin mars 1987 et est ensuite resté stable jusque fin juin 1987. Une forte augmentation du nombre de symptômes a été constatée en fin d'expérimentation (à partir de la troisième décade de septembre 1987) (figure 6). Une pluie de 11 mm (seule pluie significative à ce moment de l'année) enregistrée le 10 septembre pourrait être en relation avec cette augmentation du nombre de symptômes (voir également le paragraphe «dénombrement des populations épi-phyllés» à ce sujet).

Les arbres situés au sommet de la pente (rang 3) ont porté un pourcentage de feuilles malades plus important tout au long de l'essai (figure 8). Ce résultat permet de confirmer le rôle capital des vents dans l'apparition des symptômes par initiation de blessures (MANICOM, 1986).

1. Sur fruits.

Quel que soit le verger considéré, tous les fruits sont restés sains jusqu'à mi novembre 1986 (figure 9). Ce n'est qu'à partir de cette date que la maladie s'est exprimée sur ces organes. La progression du pourcentage des fruits atteints a été faible dans le verger SM1 (environ 2 % de fruits malades à la récolte) et assez forte dans le verger SM2 (environ 50 % de fruits malades à la récolte). Cette parcelle a été jugée comme la plus satisfaisante pour étudier

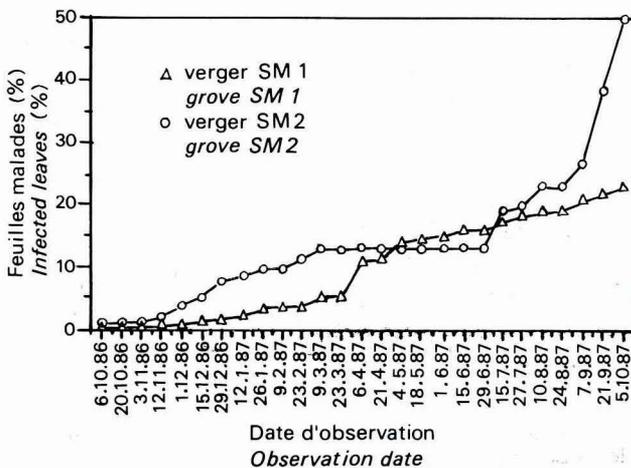


FIG. 6 • EVOLUTION DE LA MALADIE SUR FEUILLES DE MANGUIER (CV. LISE) DANS LES VERGERS DE St Marie. DEVELOPMENT OF THE DISEASE ON MANGO LEAVES (CV. LISE) IN GROVES AT St Marie.

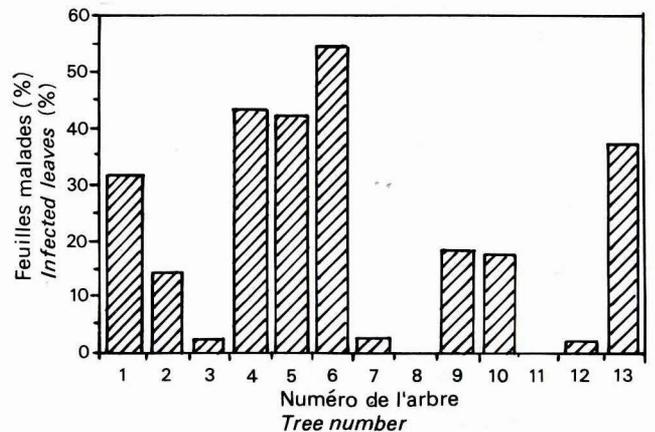


FIG. 7 • VARIABILITE DES NIVEAUX DE MALADIES SUR FEUILLES DE MANGUIER (CV. LISE) DANS LE VERGER SM 1 A LA FIN DE L'EXPERIMENTATION (oct. 87). VARIABILITY OF DISEASE INCIDENCE ON MANGO LEAVES (CV. LISE) IN GROVE SM 1 AT THE END OF THE EXPERIMENT (oct. 87).

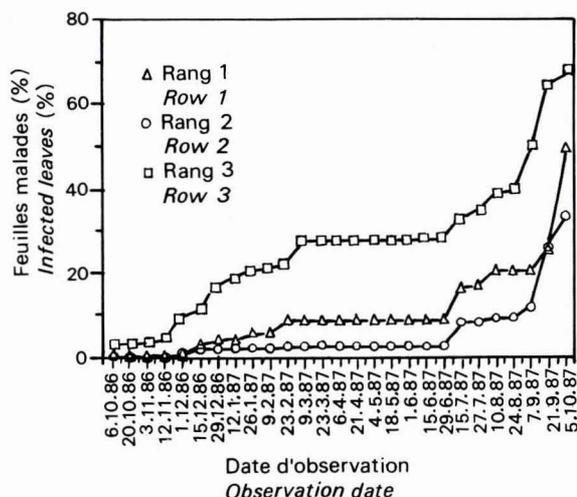


FIG. 8 • EVOLUTION DE LA MALADIE POUR CHAQUE RANG DU VERGER SM 2. DEVELOPMENT OF THE DISEASE IN EACH ROW OF GROVE SM 2.

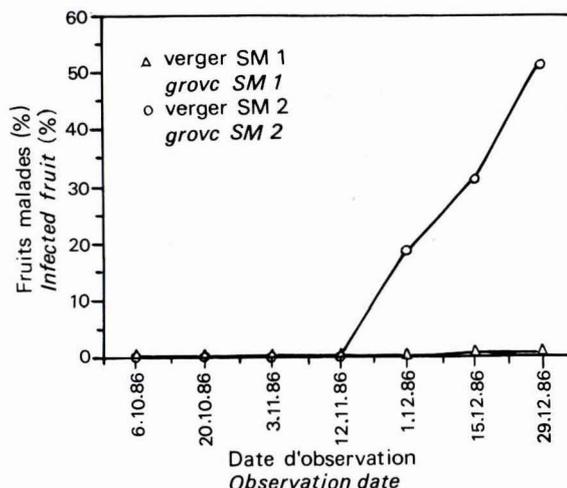


FIG. 9 • EVOLUTION DES LESIONS SUR FRUITS DE MANGUIER (CV. LISE) DANS LES VERGERS DE LA REGION DE Ste MARIE. DEVELOPMENT OF LESIONS ON MANGO FRUITS (CV. LISE) IN GROVES IN THE Ste MARIE REGION.

la relation entre le niveau de maladie sur feuilles et son incidence sur fruits. La fréquence très faible de feuilles et de fruits malades dans la parcelle SM1, et le fait que les parcelles situées dans la région de Saint Gilles aient été traitées au cuivre pendant la durée de l'essai permettent d'expliquer ce choix. Dans le verger SM2, la variabilité des niveaux de maladie mise en évidence sur les feuilles en fonction de la localisation des arbres sur la pente se retrouve également sur les fruits (figure 10). Il existe une corrélation hautement significative ($r = 0,889$, $p = 0,99$) entre les pourcentages de feuilles malades notés au début de l'essai et le pourcentage de fruits malades observés au moment de la récolte. Comparativement aux résultats obtenus pour les vergers de la région de Saint Gilles, peu de feuilles et de fruits sont tombés au sol pendant l'essai. Ce phénomène

a été observé préférentiellement sur les arbres du rang 3 dans la parcelle SM2, où l'incidence de la maladie était supérieure à celle des autres arbres.

3. Sur pousses.

Aucun chancre sur pousses n'a été observé pendant toute la durée de l'expérimentation.

Dénombrement des populations épiphyllées de *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*.

• Vergers de Saint Gilles.

Au début de l'expérimentation, les populations épiphyllées (figure 11) oscillaient entre 10^3 et 10^4 u.f.c./feuille dans le verger SG1, et entre 10^2 et 10^3 u.f.c./feuille dans le verger SG2. Les baisses de populations constatées au cours de la deuxième quinzaine d'octobre coïncident avec les premiers traitements cupriques effectués dans les parcelles. Ceux-ci n'ont pas été faits de façon régulière dans le verger SG1, et on constate une nouvelle multiplication des bactéries, alors que dans le verger SG2 (traité toutes les deux semaines environ), les niveaux de population sont restés très bas. Une remontée des populations a été constatée dans les deux vergers à partir de la seconde quinzaine de décembre. Nous ne disposons pas de données météorologiques précises pour tenter d'expliquer cette hausse par l'existence de phénomènes particuliers (pluies, forte humidité relative). En revanche, elle semble coïncider avec la fin de la récolte, date où les traitements cupriques ont été totalement stoppés. L'augmentation des populations épiphyllées en janvier et février 1987 pourrait coïncider assez étroitement avec la survenue de précipitations importantes. Les symptômes foliaires qui se développent commencent à apparaître 10 à 15 jours après cette augmentation importante des populations.

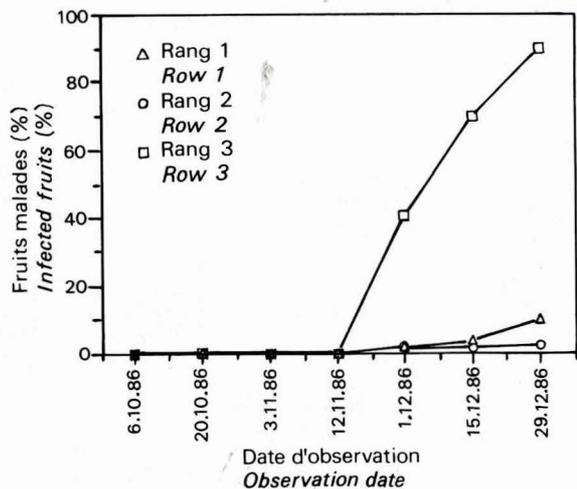


FIG. 10 • EVOLUTION DES LESIONS SUR FRUITS PAR RANG DANS LE VERGER SM 2. DEVELOPMENT OF LESIONS ON FRUITS PER ROW IN GROVE SM 2.

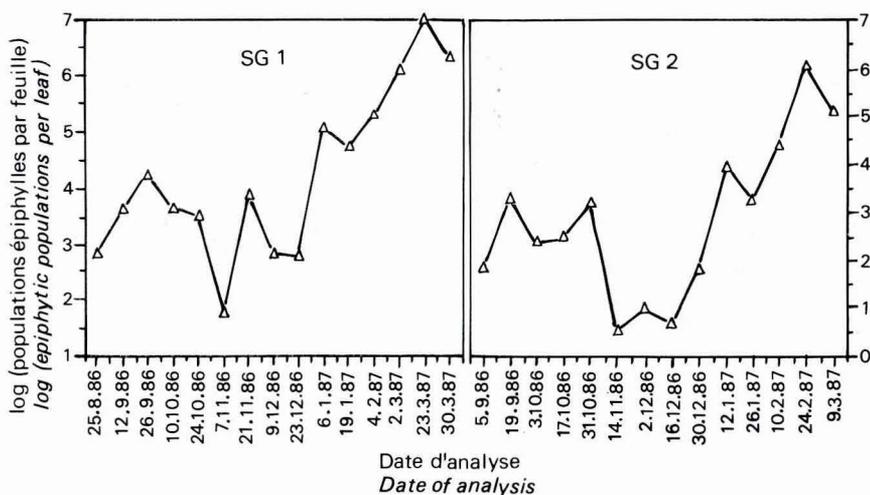


FIG. 11 • DYNAMIQUE DES POPULATIONS EPIPHYLLES DANS LES VERGERS DE LA REGION DE St GILLES.
DYNAMICS OF EPIPHYTIC POPULATIONS IN GROVES IN THE St GILLES REGION.

• Vergers de Sainte Marie.

La dynamique des populations épiphytes dans ces deux vergers est présentée sur la figure 12. Les populations du verger SM2 ont été supérieures à celles du verger SM1 pendant toute la durée de l'expérimentation. Au vu des résultats des analyses de variance (couplées à des tests de Duncan) réalisées, la seule augmentation significative des populations a été notée entre le 26 janvier et le 23 février 1987 dans les deux vergers. Elle est à mettre en relation avec le passage sur l'île de la dépression tropicale Clotilda. Il semble étonnant, au vu de ces résultats, qu'aucune augmentation sensible de la fréquence de feuilles malades n'ait été notée à cette époque. Il semble difficile de démontrer l'effet précis des fortes pluies de début janvier 1987 (580 mm en quatre jours). Leur effet est probablement confondu avec celui lié au passage de la dépression cyclonique Clotilda.

Les populations épiphytes dans le verger SM2 étaient de l'ordre de 10^4 u.f.c. par feuille début septembre (figure 12). Elles constituent probablement la source d'inoculum ayant entraîné l'augmentation de l'incidence de la maladie notée fin septembre dans cette parcelle (figure 6). Il ne semble pas possible de relier cette augmentation de l'inoculum épiphyte à une manifestation météorologique particulière.

Dans le verger SM2, les seuls arbres porteurs d'un inoculum épiphyte permanent sont ceux situés sur le rang 3 (figure 13). Ce point semble démontrer l'existence d'une relation assez étroite entre les niveaux de maladie et les niveaux de populations épiphytes.

DISCUSSION

L'étude de l'évolution de la maladie a permis de mettre en évidence ou de confirmer les points suivants :

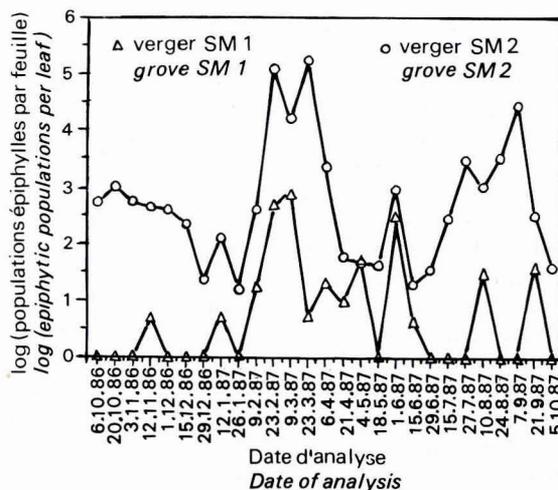


FIG. 12 • DYNAMIQUE DES POPULATIONS EPIPHYLLES DANS LES VERGERS DE LA REGION DE St^e MARIE.
DYNAMICS OF EPIPHYTIC POPULATIONS IN GROVES OF THE St^e MARIE REGION.

1) la capacité de survie épiphyte de *X. c. pv. mangiferae-indicae*, hypothèse avancée par MANICOM (1986), semble bien réelle. La feuille est en particulier un support efficace de ces bactéries ; elles peuvent en héberger des quantités variables (pouvant atteindre plus de 10^6 en moyenne).

2) la dynamique de cet inoculum semble liée assez étroitement avec l'existence de fortes précipitations bien que, dans certains cas, aucune augmentation des niveaux de populations n'ait été constatée. Il est probable que l'une des sources de cet inoculum provienne de bactéries présentes dans les lésions. Il y aurait alors redistribution des bactéries à la surface du végétal. Ce phénomène n'est probablement pas un phénomène d'ordre statique, n'induisant qu'une simple pollution épiphyte à partir de symptômes.

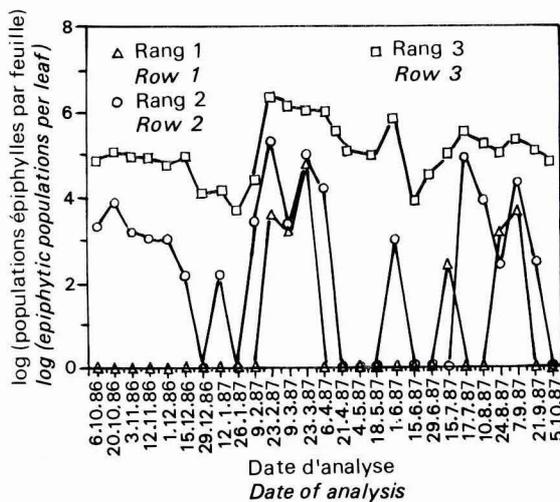


FIG. 13 • DYNAMIQUE DES POPULATIONS EPIPHYLLES PAR RANG DANS LE VERGER SM2.
DYNAMICS OF EPIPHYTIC POPULATIONS PER ROW IN GROVE SM2.

Il existe probablement une multiplication propre de cet inoculum épiphyte à la surface des organes, favorisée par certaines conditions climatiques, et en particulier par une forte humidité. Ces populations épiphytes sont probablement une des principales sources d'inoculum pour l'induction de nouveaux symptômes. Les modes de conservation de l'inoculum (vie épiphyte sur les autres organes aériens du manguier, aptitude de conservation de l'inoculum dans les symptômes foliaires, au niveau des feuilles tombées au sol ou au niveau du sol lui même) ne sont pas connus, et une étude approfondie semble donc essentielle à réaliser. Les canchres sur pousses herbacées semblent être, au travers de nos résultats, un type de lésion rarement observé. Ils n'ont été observés avec une fréquence très faible qu'après le passage d'une dépression cyclonique dans un verger où le niveau d'inoculum était exceptionnellement élevé (ce qui a entraîné l'apparition de lésions foliaires sur 100 p. 100 des feuilles échantillonnées). Il est possible que l'agent pathogène puisse se conserver assez longtemps dans ce type de chancre. Il faudra donc veiller à tailler toute pousse chancree en désinfectant soigneusement les outils utilisés. Mais, de par la très faible fréquence d'observation de ce type de symptômes, il est probable que la présence d'inoculum bactérien dans ces canchres ne puisse pas expliquer à elle seule la bonne conservation du pathogène sur les arbres d'une année sur l'autre, telle qu'elle semble exister à la Réunion (AUBERT, 1981).

3) dans certains cas, une multiplication pourtant significative de l'inoculum épiphyte n'a pas entraîné d'augmentation significative du niveau de maladie. Ce fait pourrait être lié à une faible sensibilité des tissus ou à une absence de réceptivité, elle même en relation avec la phénologie de l'hôte. Ce rôle de la phénologie au niveau de la sensibilité est confirmé par les observations du développement de la maladie à Saint Gilles et à Sainte Marie : pour des paramètres climatiques assez comparables, on a constaté un décalage d'environ 1 mois dans l'apparition des taches sur fruits, qui correspond approximativement à celui des dates relatives au stade de la nouaison. Il existe donc probablement une relation entre le stade de développement des fruits et

leur sensibilité à *X. c. pv. mangiferaeindicae*.

4) au vu des résultats présentés dans cet article, deux tendances semblent se profiler :

- l'augmentation du niveau de maladie semble se faire principalement sur les arbres déjà les plus fortement atteints, soulignant ainsi la faible redistribution de l'inoculum dans l'espace. Cela montre l'intérêt d'une étude de la dissémination de l'agent pathogène. Cependant, dans l'un des vergers d'étude (SM1) l'inoculum semble avoir évolué de façon complètement aléatoire, ce qui montre que certains paramètres ne sont probablement pas connus. Néanmoins, tous les arbres sains au début de l'expérimentation ont exprimé les symptômes typiques de la maladie des taches noires après moins d'un an, même dans le verger SG2 qui a reçu des traitements cupriques toutes les deux semaines pendant la période classiquement dénommée «période à risque». *X. c. pv. mangiferaeindicae* a été isolé avec succès à partir de tous ces arbres. Ces résultats sont en désaccord avec les travaux de KOTZE (1989). Il semble complètement impossible, dans les conditions de la Réunion, d'imaginer que seule la production de plants sains en pépinières, accompagnée de quelques traitements chimiques dans les parcelles de production, puisse présenter un niveau d'efficacité suffisant. Les travaux de KOTZE (1989) tendent à montrer l'absence de dissémination efficace de l'inoculum en vergers. Nos résultats ont démontré, au contraire, que la maladie peut se disséminer efficacement dans un verger en cas de fortes pluies, ce phénomène s'accroissant lorsque des vents sont associés à ces pluies (dépressions cycloniques par exemple).

- il semble exister une certaine relation entre le niveau de maladie observé sur les feuilles pendant la saison hivernale et celui mis en évidence sur les fruits. Ce résultat pourrait conduire à des idées nouvelles en matière de lutte chimique. Il pourrait être intéressant, de ne plus se contenter de protéger la récolte par des traitements à partir de la nouaison des fruits, mais aussi de limiter le développement des symptômes foliaires, pour diminuer le niveau d'inoculum sur les arbres, et donc de réduire le risque d'une destruction de la récolte en cas de conditions météorologiques particulièrement favorables à la maladie. Pour que ce type de traitements puisse présenter une efficacité suffisante, il serait souhaitable de mieux maîtriser la poussée végétative du manguier, pour que celle-ci soit plus homogène dans le temps.

Enfin, nous avons également montré, au travers de l'étude menée à Saint Gilles, l'intérêt des traitements cupriques pendant la saison de pré-récolte et confirmé, par les résultats obtenus à Sainte Marie, l'intérêt des haies brise-vent, efficaces dans la protection des vergers.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier vivement Mademoiselle L. CADET, MM. J.F. CAZIN et J.L. HOAREAU pour leur aide efficace tout au long de ce travail, ainsi que MM. B. GENERE et R. NATIVEL qui nous ont fourni les données climatiques utilisées dans cet article.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AGRIOS (G.N.). 1978.
Environmental factors that cause plant diseases, 147-171.
in : *Plant Pathology*, Academic Press, New York, San Francisco, London, 1978, 703 p.
2. Anonyme. 1985.
Annual report 1984-1985.
Queensland Department of Primary Industries, 48 p.
3. AUBERT (B.). 1981.
Problèmes phytosanitaires sur manguiers à l'île de la Réunion.
Fruits, 36 (2), 87-95.
4. BURUCHARA (R.A.), MUKUNYA (D.M.) and GATHURU (E.M.). 1989.
Bacterial black spot of mangoes in Kenya.
7th Int. Conf. Plant Path. Bact. Budapest, Hungary, June 11-16 1989, 160, Abstr.
5. DANIEL (J.F.), GARDAN (L.), LUISETTI (J.) et PRUNIER (J.P.). 1975.
Identification de l'agent responsable de la maladie des taches noires de la mangue (*Mangiferaeindicae*).
Fruits, 30 (10), 625-630.
6. FAURE (M.), DUPOUEY (P.) et MORELEC (M.J.). 1977.
Les techniques de l'immunofluorescence et les réactions immuno-enzymatiques.
Maloine S.A. Editeurs, Paris, 566 p.
7. KISHUN (R.). 1982.
Moss in mango fruit due to bacterial cabker *Xanthomonas mangiferaeindicae*.
Proc. 5th Int. Conf. Plant Path. Bact. Cali, Colombia, August 16-23, 1981, 181-184.
8. KOTZE (J.M.). 1989.
Strategies for the control of bacterial black spot of mangoes.
ISHS, International Symposium on the Culture of Subtropical and tropical Fruits and Crops, Rep. South Africa, November 6-10, 1989, 111, Abstr.
9. LIM (T.K.), SIJAM (K.) and ONG (E.T.). 1989.
Bacterial black spot of mango. A new disease for Malaysia.
Proc. 3rd Int. Mango Symp. Darwin, Australia, September 25-29, 1989, 54-55, Abstr.
10. LOUCKS (K.W.). 1934.
Citrus canker and its eradication in Florida.
(Document non publié disponible à la «Library of the Division of Plant Industry, Florida Department of Agriculture and Consumer Services», Gainesville, FL. USA), 111 p.
11. Mc CUBBIN (W.A.). 1954.
The plant quarantine problem.
Ejnar Munksgaard, Copenhagen, 255 p.
12. MANICOM (B.Q.). 1986.
Factors affecting bacterial black spot of mangoes caused by *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*.
Ann. Appl. Biol., 109, 129-135.
13. OOSTHUIZEN (A.M.). 1987.
A rapid screening technique for the identification of mango selections tolerant to black spot.
CSFRI Symposium, Nelspruit, 20-22 October 1987, Abstr. n° 21.
14. PRUVOST (O.). 1989.
La maladie des taches noires de la mangue (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*). Etude bactériologique, biologique, épidémiologique et mise au point des bases d'un système de lutte intégrée dans les conditions de l'île de la Réunion.
Thèse de Doctorat d'Université, Université de Paris Sud-Orsay, 280 p.
15. PRUVOST (O.), COUTEAU (A.) et LUISETTI (J.). 1989.
Efficacité de différentes formulations chimiques pour lutter contre la maladie des taches noires de la mangue (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*).
Fruits, 44 (6), 343-350.
16. PRUVOST (O.) and LUISETTI (J.). 1989.
Attempts to develop a biological control of bacterial black spot of mangoes.
Proc. 3rd Int. Mango Symp., Darwin, Australia, September 25-29 1989, 57 Abstr.
17. ROBBS (C.F.), DA PONTE (J.J.) et DA GLORIA SALES (M.). 1978.
Nota sobre *Xanthomonas mangiferaeindicae* no nordeste du Brazil.
Fitopatologia brasileira, 3, 215-217.
18. SHOULTIES (C.L.), CIVEROLO (E.L.), MILLER (J.W.), STALL (R.E.), KRASS (C.J.), POE (S.R.) and DU CHARME (E.P.). 1987.
Citrus canker in Florida.
Plant Dis., 71, 388-395.

**EVOLUCION DE LA ENFERMEDAD DE LAS MANCHAS
NEGRAS DEL MANGO Y DE LAS POBLACIONES EPIFILAS
DEL AGENTE PATOGENO (*XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV.
MANGIFERAEINDICAE) EN CONDICIONES NATURALES EN LA
ISLA DE LA REUNION.**

O. PRUVOST, A. COUTEAU y J. LUISETTI.

Fruits, Mar.-Apr. 1990, vol. 45, nº 2, p. 125-140.

RESUMEN - El estudio de la evolución de la enfermedad de las manchas negras del mango (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*) ha permitido precisar ciertas modalidades de desarrollo de la enfermedad en las condiciones de la isla de la Reunión. Se ha explicitado el papel de las lluvias y de los vientos en el aumento de la incidencia de la enfermedad sobre los árboles previamente contaminados y en la diseminación del agente patógeno en huertos. La capacidad de supervivencia epífila de *X. c.* pv. *mangiferaeindicae* se ha confirmado en las condiciones de la Reunión.

Development of bacterial black spot of mangoes and epiphytic populations of the pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*) under natural conditions in Reunion Island.

O. PRUVOST, A. COUTEAU and J. LUISETTI

INTRODUCTION

Bacterial black spot of mangoes (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*) is one of the main mango diseases in many producing countries such as South Africa (OOSTHUIZEN, 1987), Australia (Anonymous, 1985), Brazil (ROBBS *et al.*, 1978), India (KISHUN, 1982) and Reunion Island (AUBERT, 1981). The disease is detected in new countries each year. In 1989, it was described in Kenya (BURUCHARA *et al.*, 1989), the Comoros (PRUVOST, 1989) and Malaysia (LIM *et al.*, 1989) for the first time.

Control of plant bacterial diseases is generally difficult and the results are generally not satisfactory. A total eradication strategy may be envisaged to control any very serious disease. This technique is used in USA to control citrus canker (*Xanthomonas campestris* pv. *citri*, pathotype A), but its effectiveness appears to be questionable. Pathotype A reappeared in Florida in 1986 (SHOULTIES *et al.*, 1987) when it had been eradicated for many years (LOUCKS, 1934 ; McCUBBIN, 1954). In spite of considerable efforts, the disease is still present (CIVEROLO, pers. comm.). In addition, implementing this type of control is often difficult because of the socio-economic effects, particularly in the case of bacterial black spot of mangoes as it is found in many developing countries. Work should be orientated towards integrated management for control of bacterial black spot of mangoes in Reunion or other countries where it has been present for many years (PRUVOST *et al.*, 1989). It must include the production of healthy plants in nurseries. In the groves, strict prophylactic methods must be applied ; plants with low susceptibility to the disease must be used (no immune variety is available) and chemical (PRUVOST *et al.*, 1989) or biological (PRUVOST and LUISETTI, 1989) formulations used. These interrupt the biological cycle of the causal agent by eradicating all sources of inoculum or by preventing it from propagating. Knowledge of the way in which the inoculum survives and spreads is necessary for any integrated control strategy to be effective.

Recent observations in South Africa underlined the capital importance of the production of healthy planting material in control of the disease. According to KOTZE (1989), this is the most effective aspect of integrated control for achieving a satisfactory phytosanitary situation. The same author reported that healthy trees planted in the

immediate vicinity of strongly contaminated trees remained unaffected by the disease for 9 years. These results might appear surprising since it is commonly accepted that rain and wind, which strongly enhance infection in South Africa (MANICOM, 1986), are also important factors in the spread of numerous plant bacterial diseases (AGRIOS, 1978, etc.). Although KOTZE (1989) stresses that chemical control in groves is of no great use, he recommends that spraying should be continued during the high risk period.

Very little information is available on the biological and epidemiological characteristics of bacterial black spot of mangoes. The present article describes the development of the disease and of pathogenic populations in four naturally contaminated groves in Reunion Island.

MATERIAL AND METHODS

Observation sites.

The study was carried out in producing mango groves in the Sainte Marie and Saint Gilles regions (Figure 1). The former has fairly high annual rainfall (about 2000 to 2500 mm) whereas rainfall is much lighter in the St Gilles region (about 1000 mm). The altitude of the four plots ranges from 0 to 50 m.

The structure of mango groves plantations in Reunion has changed considerably in recent years. Although the young plantations (mainly cv. Early Gold which is moderately resistant to the disease) are monovarietal and have a modern layout (density, irrigation, etc.), many of the older plantations are of the «creole garden» type, where different varieties and even different species of trees grow side by side (BERTIN, pers. comm.). Our tests were carried out in the latter type of plantation. The trees studied in the four plots were all of the Lise variety (local cultivar, susceptible to bacterial black spot of mangoes). They were estimated to be 6 to 8 years old.

Development of the disease was monitored in two plots at Ste. Marie. One of them (SM1) was protected by a system of windbreaks which appeared to be effective. The grove consisted of three rows of about fifteen trees. The 13 cv. Lise trees planted in the same row were next to José and Léonard trees (low susceptibility) where the

disease remained at a low level through the experiment. The other plot (SM2) was not protected by windbreaks and was exposed to steady, sometimes strong, wind throughout the test period. This plot was planted on a steep slope. The 7 trees studied were in three rows in different parts of the slope. «Row 1» was at the bottom of the slope and «Row 3» at the top. This allowed good assessment of the role of wind. The higher the mango trees the more they were exposed to wind. No copper fungicide was applied during the experiment.

Two plots were also monitored in the St. Gilles region, 7 to 8 treatments with copper fungicide at fortnightly intervals were applied to one of the plots (SG2, 20 trees monitored) during the fruit-bearing period (October-November). The other plot (SG1, 15 trees monitored) was only sprayed very irregularly. There were no effective windbreaks at these two groves.

No accurate meteorological data were available near the plots studied in the St. Gilles region and analysis of climatic factors related to development of the disease and pathogen population was not possible. Meteorological data from the IRAT/CIRAD station at St. Pierre and from St. Denis Airport (Figure 1) were used when meteorological phenomena affected the whole island (e.g. the tropical cyclone Clotilda). The meteorological data from St. Denis Airport were used for the groves at Ste. Marie as the latter is only a few kilometres from the airport and at the same altitude.

The experiments started at the end of August in the St. Gilles region and in October 1986 at Ste. Marie and were initially planned to last for 12 months. The two plots at St. Gilles were crown-grafted with low susceptibility varieties in March 1987 because of the considerable damage caused by the cyclone Clotilda. Observations therefore had to be stopped in these two groves in March 1987.

Monitoring of the disease.

The extent of infection was assessed on a sample of selected, labelled shoots on each tree. The orientation, height and position in the foliage of each shoot was marked. Ten to 15 shoots were used on each tree but the number per plot was the same. Likewise, 12 to 30 fruits per tree were selected and labelled when they had set. This enabled regular, fortnightly assessment of the percentage of leaves, shoots and fruits displaying typical symptoms of the disease. However, for technical reasons, the severity of the disease (number of spots per leaf and per fruit) could not be estimated in the trial.

Quantification of the epiphytic populations of *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*.

The methodology used for counting epiphytic populations is described in Figure 2. The LPGAC medium used contained 7 g/l yeast extract (Bio Mérieux), 7 g/l of bioglytone (Bio Mérieux), 7 g/l of glucose and 15 g/l of agar. The pH was adjusted to 7.2 before autoclaving. After autoclaving (120°C for 20 min), 0.05 g/l of filtersterilized cycloheximide in solution in 1 ml of alcohol 95° was added. The medium was then poured in Petri dishes (20 ml per

90 mm diameter dish).

For each sampling, 15 batches of 25 leaves were analysed from groves SG1 and SG2 and only 12 and 9 batches from SM1 and SM2 respectively. Sampling was carried out regularly (every fortnight) from the end of August 1986 to March 1987 at St. Gilles (14 and 15 samplings) and from October 1986 to October 1987 at Ste. Marie (27 samplings). The differentiation of the colonies of *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* was carried out on the basis of culture characteristics, and a confirmation by indirect immunofluorescence (FAURE *et al.*, 1977) using polyclonal antiserum prepared using the typical strain *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae* (NCPB 490) was performed. No cross reaction was observed with saprophytes (pigmented or unpigmented) collected in the bacterial microflora of mango leaves. On the other hand, some fifty strains of *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* isolated between 1975 (DANIEL *et al.*, 1975) and 1988 in all the places on the island where mangoes grow all react strongly with the serum (PRUVOST, 1989). In addition, based a prior study on the epiphytic survival of the causal agent carried out in the four experimental plots (PRUVOST, unpublished data) that 100% of the colonies counted as being *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* using the method described above were pathogenic on cv. Maison Rouge mango leaves.

RESULTS

Development of the disease.

• Saint Gilles groves.

1. Leaves.

Development of the disease on leaves is shown in Figure 3. The overall percentages of infected leaves varied from 14 to over 20% at the first observation (25/08 to 05/09/86). The disease developed very slowly through 1986. The first distinct increase was recorded in mid-January 1987 and the second from the third week in February 1987 (Figure 3).

Since meteorological data were not available for the St. Gilles region, the records for St. Pierre and St. Denis were analysed to determine if a meteorological phenomenon might account for the increases in the disease. The first (January 1987) may be related to the heavy rainfall recorded on 3 and 4 January (58 mm at St. Pierre and 470 mm at St. Denis). The second was correlated with the passage of the cyclone Clotilda (140 mm of rain at St. Denis in six days, 230 mm at St. Pierre, fairly high winds in the island from 12 to 15 February).

1.1. SG1.

All the trees studied in grove SG1 displayed symptoms of the disease at the beginning of the experiment. Five trees in the same part of the grove - fairly exposed to wind - has a high percentage of infected leaves (about 40%) from the beginning of observations. The other trees had approximately 10 to 25% diseased leaves. At the end of the experiment, all the leaves sampled in grove SG1 displayed symptoms of the disease.

1.2. SG2.

Only 75% of the trees displayed lesions during the first series of observations (approximately 20% diseased leaves per tree). The aerial parts of five trees which appeared to be healthy at the beginning of the observation period were surveyed more intensively. This allowed to confirm that they were completely free of disease.

At the end of the observation period all the trees displayed leaf lesions. The frequency of diseased leaves varied considerably between trees (Figure 4). Those that were healthy at the beginning of the observation period were relatively lightly affected in March 1987, even after the passage of cyclone Clotilda. Correlation between frequencies of diseased leaves at the beginning and end of the observation period was high ($r = 0.973$). It is interesting to note that lightly affected trees and severely affected trees were very close to each other in the grove.

2. Fruits.

Development of the disease on fruits was monitored from the second half of September until the first of December 1986. The disease did not increase significantly in grove SG2 but increased very distinctly in the other grove (over 80% of the fruits were affected at harvesting) (Fig. 5). Copper spraying probably accounted for the difference as this was carried out at approximately 12-day intervals in SG2 and very irregularly in the other grove (a single treatment at the beginning of November 1986).

The St Gilles site was chosen (because of the high disease rate in the groves) for study of the relation between presence of the disease on leaves and fruits and their early fall (Tables 1 and 2). In the SG1 grove, 95% of the leaves which fell during the trial had symptoms of black spot. Nearly 100% of the fruits which fell early were infected. An equivalent percentage of diseased and healthy dropped fruits was observed only between 21/11 and 9/12/86 at natural maturation of the fruits.

In SG2, the same type of response was observed in leaves (90% of fallen leaves had symptoms). In contrast, only 11% of fallen fruits were infected. This can be partly explained by the low frequency of observation of fruits in the grove (Figure 5). We do not know why apparently healthy fruits fell prematurely. The reasons may be physiological (CAZIN, personal communication).

3. Shoots.

No canker was observed on shoots before the passage of cyclone Clotilda. Only three out of the five more seriously contaminated trees in SG1 displayed a small percentage of diseased shoots (less than 10%) at the beginning of March 1987. No shoot canker was observed in SG2.

● Sainte Marie groves.

1. Leaves.

The first observation made on 6 October revealed the practically healthy state of these two groves. The inoculum

level remained remarkably low throughout 1986 (Figure 6). The heavy rainfall at the beginning of January and in February 1987 (Clotilda) did not lead to much increase in disease on the leaves, probably because of the low frequency of diseased tissues during the depressions and the intensity of the rainfall. The latter is not favourable for disease development since it appeared to wash off bacteria (MANICOM, 1986).

1.1. SM1.

The inoculum level increased slightly but steadily (Figure 6). At the end of the experiment, healthy and almost healthy trees were observed next to severely infected specimens whereas the inoculum levels in all the trees had been negligible the previous year (Figure 7). It is difficult to interpret such variability. Thus, unknown parameters may be involved in the development of the disease (nutrition, phenological stage, ?).

1.2. SM2.

The inoculum level increased steadily until the end of March 1987 and then remain stable until the end of June 1987. There was a distinct increase in the number of symptoms was observed at the end of the observation period (from 20th September 1987) (Figure 6). An 11 mm precipitation (the only significant rainfall at this time of the year) on 10 September may be related with this increase in symptoms (cf. «Quantification of epiphytic populations» below).

The trees at the top of the slope (row 3) displayed a higher percentage of diseased leaves throughout the observation period than those located lower on the slope (Figure 8). This confirms the important role of wind (by initiating wounds) in the development of symptoms (MANICOM, 1986).

2. Fruits.

The fruits in all the groves remained symptomless until mid-November 1986 (Figure 9), after which symptoms appeared on these organs. The increase in the percentage of infected fruits was low in SM1 (approximately 2% of fruits infected at harvest) and fairly high in SM2 (approximately 50% of fruits infected at harvest). The latter plot was considered to be the best for assessing the relationship between the extent of leaf infection and infection of fruits. The very low frequency of infected leaves and fruits in SM1 and the fact that the plots in the St. Gilles region were treated with copper fungicide during the observation period account for this choice. The variability of disease incidence on fruit was related to the position of the trees on the slope as with leaf infection (Figure 10). There was highly significant correlation ($r = 0.889$, $p = 0.99$) between the percentages of diseased leaves observed at the beginning of the experiment and the percentage of diseased fruit at harvest. Compared to the results for the groves in the St. Gilles region, few leaves and fruits fell during the trial. This phenomenon was preferential in row 3 trees in SM2, where incidence of the disease was found to be higher.

3. Shoots.

No shoot canker was observed throughout the observation period.

Quantification of epiphytic populations of *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*.

● Saint Gilles groves.

At the beginning of the experiment, epiphytic populations (Figure 11) varied between 10^3 and 10^4 c.f.u./leaf in SG2 and between 10^2 and 10^3 c.f.u./leaf in SG1. The decrease observed in the populations in the second half of October followed the first copper fungicide treatments. These were not carried out regularly in SG1 and the bacterial populations increased again, whereas in SG2 (sprayed approximately every two weeks), the population levels remained very low. The populations increased in the two groves after the second half of December. No precise meteorological data are available which would account for this rise by specific phenomena (rainfall, high relative humidity). However, it may have been related to the end of the harvest when copper fungicide treatments were stopped completely. The increase in epiphytic populations in January and February 1987 appeared to be related closely with considerable precipitations. Leaf symptoms began to appear 10 to 15 days after this large increase in populations.

● Sainte Marie groves.

The dynamics of the epiphytic populations in the two groves is shown in Figure 12. The populations of SM2 were higher than those of SM1 throughout the experiment. The results of the analyses of variance carried out (accompanied by Duncan tests) show that the only significant increase in populations was from 26 January to 23 February 1987 in both groves. This is related to the passage of the tropical cyclone Clotilda. It seems surprising in the light of these results that no distinct increase in the frequency of diseased leaves was observed during this period. It appears to be difficult to demonstrate the precise effect of the heavy rainfall at the beginning of January 1987 (580 mm in 4 days). The effect of this was probably combined with that of the passage of Clotilda.

The epiphytic populations in SM2 were about 10^4 c.f.u./leaf at the beginning of September (Figure 12). This was probably the source of inoculum which caused the increase in the disease recorded at the end of September in this grove (Figure 6). It does not seem possible to relate this increase in epiphytic inoculum to any particular meteorological event. The only permanent sources of epiphytic inoculum in SM2 were the trees in row 3 (Figure 13). This appears to demonstrate the existence of a fairly close relation between disease incidence and epiphytic populations levels.

DISCUSSION

Based on this study of the development of bacterial black spot of mangoes following points can be made :

1) The ability of *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae* to survive as an epiphyte on mango leaves, that was described previously (MANICOM, 1986) is confirmed. The leaves form effective carriers of the bacteria and may support varying levels of bacteria (up to over 10^6 c.f.u./leaf on average).

2) The dynamics of this inoculum are generally closely related to heavy precipitations, although no increase in population was observed in some cases. The sources of this inoculum are probably lesions containing bacteria which are then redistributed on the surface of the plant. This is probably not a static phenomenon. This epiphytic bacteria probably multiply on the surface of the plant tissues, enhanced by certain meteorological conditions (e.g. high humidity). These epiphytic populations are probably one of the main sources of inoculum for the induction of new symptoms. The way in which inoculum survives (epiphytic survival on the other aerial organs of the mango ; survival of inoculum in leaf symptoms, in fallen leaves or in the soil itself) is not precisely known, and further study is required. Based on these results, cankers on herbaceous shoots are rare. Only very few were seen after the tropical cyclone in a grove with an exceptionally high inoculum level (causing lesions on 100% of the leaves sampled). The causal agent may survive for a fairly long time in this type of canker. Every diseased shoot should therefore be removed and the tools used disinfested carefully. However, this type of symptom is very rare and it is unlikely that the presence of bacterial inoculum in these cankers alone can account for the survival of the causal agent in trees from one year to the next, as would appear to be the case in Reunion (AUBERT, 1981).

3) In certain cases, significant multiplication of the epiphytic inoculum did not lead to a significant increase in the incidence of the disease. This might be related to low tissue susceptibility or lack of receptivity. These features may in turn be related to the host phenology. The role of phenology in susceptibility is confirmed by the observations of the development of the disease at St.Gilles and Ste.Marie. The appearance of spots on the fruits, differed by about one month at these two locations, was observed under comparable climatic conditions. This corresponded approximately to the fruit setting dates. Thus there is a probable relation between the stage of development of fruits and their susceptibility to *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae*.

4) Based on the results there appears to be two trends :

- The level of the disease increases mainly in trees which are already severely infected. This may be due to the poor redistribution of inoculum in space. A study of the dissemination of the causal agent is warranted. Caution is required on this point, however, as inoculum appeared to develop in a completely random manner in one of the groves studied (SM1), indicating that certain parameters are probably not known. However, all the trees that were symptomless at the beginning of the observation period expressed typical bacterial black spot symptoms after less than a year, even in grove SG2 in which copper treatments were applied every two weeks during what is classically referred to as the «high risk period». *X. c.* pv. *mangiferaeindicae* was successfully isolated from all the trees. These results do not agree with the previous work of KOTZE (1989). It is likely that the production of healthy plants in

nurseries, accompanied by a few chemical treatments in producing groves, would not be sufficiently effective to manage the disease under the conditions of Reunion. KOTZE's work (1989) tends to show that there is no effective dissemination of inoculum in groves. In contrast, our results show that the pathogen may be disseminated effectively in a grove when there is heavy rainfall. This phenomenon is enhanced when precipitation is accompanied by wind (e.g. as during cyclonic depressions).

There appears to be an association between the disease severity on leaves during the rainy season and that subsequently found on the fruits. This might provide new clue for chemical control. It might be advantageous not only to protect the harvest once the fruit has set but also to limit the development of leaf symptoms to reduce the amount of inoculum on the trees and hence reduce the risk

of crop loss if weather conditions are particularly favourable for disease development. Better control of the vegetative growth of mango trees would be desirable to make it more homogeneous in time.

Finally, based on observations at St. Gilles, the copper treatments in the pre-harvest period are effective. Similarly from observations at Ste Marie the use of windbreaks is advantageous for protecting the groves.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Miss L. Cadet, Mr J.F. Cazin and Mr J.L. Hoareau for their efficient help throughout this work and Mr B. Genere and R. Nativel for providing us with the climatic data used in the article.

