

Méthode d'évaluation rapide du degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose causée par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, en verger au Maroc

Abdelhadi Benjama*

Inra, laboratoire
de Phytobactériologie,
BP 533, Marrakech,
Maroc
benjama@iam.net.ma

Method for assessing the seriousness of olive tree knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in orchards in Morocco.

Abstract — Introduction. Olive tree knot disease is a bacterial disease reported for the first time in Morocco in 1960; it is now widespread there, in all the areas where olive tree is cultivated. The disease acts on the young shoot growth and it affects the reproductive organs. The damage intensity is strongly related to the knot number per tree. However, systematic knot counting on all the trees, which makes it possible to decide on the treatment of an orchard, is very difficult to achieve. This is why a reliable technique for assessing the seriousness of the disease was required, based upon observation of a randomly chosen tree sample. **Materials and methods.** Twenty 35-year-old trees of the susceptible variety 'Meslala', and of the same phenotype were randomly selected. The spot number per tree was systematically counted on each one of these trees, then on six structural units (su) per tree. The means of the spot numbers counted on two, three, four or five (su) per tree were then successively compared, two by two, with the mean of the spot numbers counted on the six (su) selected beforehand on the tree in order to define the minimal (su) number usable for the estimates. A regression line corresponding to a model for estimating the seriousness of the olive tree knot disease was finally traced, starting from the countings carried out. **Results.** The model of linear regression which was developed makes it possible to estimate the attack degree of a given orchard, taking into account the mean of the spot number counted on four (su) per tree, from a sample of 20 trees, and the (su) number counted on each one of these 20 trees. **Discussion and conclusion.** The regression model worked out constitutes a reliable technique for assessing the damage due to the olive tree knot disease on an orchard without having recourse to a systematic knot per tree counting.

Morocco / *Olea europaea* / disease control / *Pseudomonas savastanoi*

Méthode d'évaluation rapide du degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose causée par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, en verger au Maroc.

Résumé — Introduction. La tuberculose de l'olivier est une maladie bactérienne signalée pour la première fois au Maroc en 1960 ; elle y est maintenant répandue dans toutes les aires de culture de l'olivier. La maladie agit sur la croissance des repousses et elle affecte les organes reproducteurs. L'intensité des dégâts provoqués est fortement liée au nombre de tumeurs par arbre. Or, le comptage systématique des tumeurs sur tous les arbres, qui permet de décider du traitement d'un verger, est très difficilement réalisable. C'est pourquoi une technique fiable de prédiction du degré d'attaque à partir de l'observation d'un échantillon réduit d'arbres a été recherchée. **Matériel et méthodes.** Vingt arbres de la variété sensible 'Meslala', âgés de 35 ans et de même phénotype ont été choisis au hasard. Le nombre de tumeurs par arbre a été systématiquement compté sur chacun de ces arbres, puis sur six unités structurales (us) par arbre. Les moyennes du nombre de tumeurs comptées sur 2, 3, 4 ou 5 (us) par arbre ont été ensuite successivement comparées deux à deux à la moyenne du nombre de tumeurs comptées sur les six (us) préalablement repérées sur l'arbre afin de définir le nombre minimal d'(us) utilisables pour les estimations. Une droite de régression correspondant à un modèle d'estimation du degré d'attaque des oliviers par la tuberculose a finalement été tracée à partir des comptages effectués. **Résultats.** Le modèle de régression linéaire déterminé permet d'estimer le degré d'attaque d'un verger donné en fonction de la moyenne du nombre de tumeurs dénombrées sur quatre (us) choisies par arbre parmi un lot de 20 arbres, et du nombre d'(us) comptés sur chacun de ces 20 arbres. **Discussion et conclusion.** Le modèle de régression défini constitue une technique fiable pour évaluer les dégâts de la tuberculose à l'échelle d'un champ d'oliviers sans avoir recours au comptage systématique des tumeurs sur tous les arbres du verger.

* Correspondance et tirés à part

Fruits, 2003, vol. 58, p. 213–219
© 2003 Cirad/EDP Sciences
All rights reserved
DOI: 10.1051/fruits:2003009

RESUMEN ESPAÑOL, p. 219

Maroc / *Olea europaea* / contrôle de maladies / *Pseudomonas savastanoi*

1. Introduction

La tuberculose de l'olivier est la principale maladie bactérienne de l'olivier. Causée par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* [1], elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen et la Californie. La bactérie s'installe sur les blessures et provoque des tumeurs aériennes sur différentes parties du végétal (figure 1). C'est un parasite épiphyllé qui vit à la surface et à l'intérieur des tumeurs ; sa dissémination est favorisée par le gaulage des fruits qui, comme c'est le cas en Tunisie, devrait être interdit au Maroc. La maladie agit, entre autres, sur la croissance des repousses et elle affecte les organes reproducteurs. L'intensité des dégâts provoqués est fortement liée au nombre de tumeurs par arbre.

Au Maroc, cette maladie a été signalée depuis 1960 dans la région de Meknès [2]. Actuellement, elle se développe partout où l'olivier est cultivé et cause surtout des dégâts dans les régions humides du nord du pays, à Meknès, Fès et Zerhoun [3].

La superficie de la culture de l'olivier devrait être doublée dans le pays au cours des prochaines années pour atteindre près de 600 000 ha en 2006 ; un tel objectif a justifié le développement de pépinières et une diversification des variétés exploitées. Cependant, l'épidémiologie de l'agent pathogène, dont la dissémination est tributaire de l'irrigation, la grêle et de l'achemi-

nement des résidus de taille, conduit à observer, dans différentes régions du Maroc, des plants et boutures infestés. Or, avant de déclencher les mesures de prévention et de lutte sur une parcelle d'olivieraie donnée, il est nécessaire d'évaluer le degré d'attaque du verger par la tuberculose. Le recours au comptage systématique des tumeurs sur tous les arbres étant très difficilement réalisable, il s'avérerait intéressant de pouvoir disposer d'une technique fiable de prédiction du degré d'attaque à partir de l'observation d'un échantillon d'arbres choisis au hasard.

Alors que les recherches menées depuis 1984 au Maroc avaient porté sur des sujets spécifiques comme l'identification du pathogène, l'étude de la sensibilité variétale par inoculation artificielle et l'impact de la tuberculose sur la croissance annuelle des pousses et le rendement en olives, nos présents travaux de modélisation se sont inscrits dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée de l'olivier ; ils se sont appuyés sur la participation de divers spécialistes : pathologistes, biologistes moléculaires, entomologistes, sélectionneurs, agronomes et socio-économistes. L'étude présentée est donc la première du genre.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

L'étude visant à modéliser le degré d'attaque, par la tuberculose, d'oliviers infestés par *P. savastanoi* pv. *savastanoi* a été menée sur une oliveraie du domaine expérimental de Ain-Taoujdat, au nord du Maroc. Les observations ont été effectuées sur la variété 'Meslala' connue pour sa grande sensibilité au parasite.

2.2. Méthodologie

Vingt arbres âgés de 35 ans, de même phénotype et de frondaison équivalente, ont été choisis au hasard parmi un peuplement d'oliviers de la variété 'Meslala', infestés par la tuberculose à l'état naturel.



Figure 1.
Aspect des tumeurs à
tuberculose sur rameau
d'olivier.

Tableau I.

Nombre de tumeurs par arbre et par unité structurale, causées par la tuberculose de l'olivier et observées sur un lot de vingt arbres choisis au hasard dans une oliveraie au nord du Maroc.

Comptage	Moyenne	Écart type	Minimum	Maximum
Nombre de tumeurs par arbre	740,80	370,05	205	1500
Nombre d'unités structurales par arbre	24,95	4,39	20	35
Nombre de tumeurs par unité structurale	43,49	18,87	8	48

Dans une première étape, le nombre de tumeurs par arbre a été systématiquement compté sur les vingt arbres retenus. Ensuite, six unités structurales (us) par arbre ont été choisies au hasard, ce qui correspond au quart de la frondaison de l'arbre (*tableau I*). Le nombre de tumeurs a alors été compté pour chacune de ces unités structurales.

observés a varié entre (205 et 1500) tumeurs par arbre. La moyenne du degré d'attaque des arbres a été de 741 tumeurs par arbre avec un écart-type de 370 tumeurs par arbre (*tableau I*).

Les oliviers étudiés, constitués en moyenne de 25 (us) par arbre, ont présenté une moyenne de 43,5 tumeurs par (us) (*tableau I*).

2.3. Analyse des données

L'analyse des données a tout d'abord porté sur la comparaison des moyennes du nombre de tumeurs des (us). Cette comparaison a été faite par paire : les moyennes du nombre de tumeurs comptées sur 2, 3, 4 ou 5 (us) par arbre ont été successivement comparées à la moyenne des six (us) préalablement repérées sur l'arbre afin de dégager le nombre minimal d'(us) dont la moyenne du nombre de tumeurs était proche de celle observée sur six (us).

Dans un deuxième temps, une droite de régression correspondant à un modèle d'estimation du degré d'attaque des oliviers par la tuberculose a été tracée à partir de l'estimation des nombres de tumeurs par arbre ; cette estimation a été calculée à partir du nombre de tumeurs comptées sur un nombre minimal d'(us) par arbre rapportée au nombre total d'(us) par arbre.

3.2. Nombre d'unités structurales à considérer dans le modèle

Pour une estimation rapide du degré d'attaque par la tuberculose, il paraissait essentiel de déterminer le nombre minimal d'(us) devant être observées sur chaque arbre dans la limite de six (us) équivalentes au quart de la frondaison de l'arbre. Les tests de comparaison par paires des moyennes effectués (*tableaux II, III*) ont montré que les moyennes du nombre de tumeurs par (us) calculées pour les échantillons de deux et trois (us) différaient significativement de la moyenne du nombre de tumeurs par (us) comptées pour un échantillon de six (us). Par conséquent, un échantillon de quatre unités structurales a été considéré comme le nombre minimal d'(us) à prendre en compte lors d'un échantillonnage pour estimer le nombre de tumeurs par arbre.

3. Résultats

3.1. Degré d'attaque des oliviers par la tuberculose

Le nombre de tumeurs systématiquement comptées sur l'ensemble des vingt arbres

3.3. Analyse de régression linéaire

Pour l'élaboration d'un modèle, une analyse de régression linéaire a été effectuée pour prédire le nombre de tumeurs par arbre à partir du nombre d'(us) comptées sur un arbre donné et de la moyenne du

Tableau II.

Moyennes des nombres de tumeurs par unité structurale observées sur des échantillons de différents nombres d'unités structurales de rameaux d'oliviers atteints de tuberculose.

Nombre d'unités structurales	Moyenne	Écart type	Erreur standard moyenne
2	36,77	15,32	3,43
3	37,72	15,26	3,41
4	40,80	17,57	3,93
5	43,46	19,08	4,27
6	43,49	18,88	4,22

Tableau III.

Test de comparaison de moyennes (distribution du *t* Student) permettant de comparer deux à deux les nombres de tumeurs observées sur des échantillons de deux à cinq unités structurales et sur des échantillons de six unités structurales (rameaux d'oliviers observés sur un lot de 20 arbres atteints de tuberculose).

Moyennes comparées (ddl = 19)	Différences appariées		<i>t</i>	Signification (bilatérale)
	Moyenne	Écart type		
échantillons de 6 (us) et de 2 (us)	6,72	11,41	2,63	0,016
échantillons de 6 (us) et de 3 (us)	5,77	9,23	2,80	0,011
échantillons de 6 (us) et de 4 (us)	2,69	8,16	1,47	0,157
échantillons de 6 (us) et de 5 (us)	3,17	3,34	0,04	0,967

nombre de tumeurs comptées sur quatre (us) choisies au hasard sur ce même arbre.

Une analyse de corrélation a été effectuée entre les valeurs du nombre de tumeurs observées par arbre, la moyenne du nombre de tumeurs par (us) observées pour un échantillon de quatre (us) et le nombre d'(us) par arbre (*tableau IV*). La corrélation entre le nombre moyen de tumeurs pour quatre (us) et le nombre d'(us) par arbre s'est avérée très faible et non significative ($r = 0,016$; $p = 0,473$).

Par suite, le modèle de régression tenant compte de ces deux derniers paramètres a été défini comme tel :

$$y = 12,57 x_1 + 54,11 x_2 - 1122,48$$

avec y : valeurs du nombre de tumeurs estimé par arbre ; x_1 : nombre moyen de tumeurs observées pour un échantillon de quatre (us) choisies au hasard dans l'arbre ; x_2 : nombre d'(us) par arbre ; 1122,48 : constante spécifique du modèle (*tableau V*).

L'analyse de la variance du modèle de régression (*figure 2*) a montré que le modèle déterminé était très hautement significatif avec un coefficient de régression R^2 de 0,782.

4. Discussion et conclusion

La variété 'Meslala' a été choisie pour notre étude sur la tuberculose de l'olivier en raison de sa grande sensibilité à cette maladie mise en évidence par l'utilisation d'inoculation artificielle [4] alors que la variété 'Gordale' avait été trouvée tolérante vis-à-vis de la bactériose [5] et que les variétés 'Picholine marocaine', 'Haouzia', 'Ascolana dura', 'Manzanilla' et 'Frantoio' s'étaient avérées sensibles à des degrés différents. De même, l'étude du comportement au champ (domaine de Ain-Taoujdat) de quatre variétés vis-à-vis de cette maladie avait montré que la Picholine marocaine était tolérante

Tableau IV.

Corrélation entre les valeurs du nombre de tumeurs observées par arbre, la moyenne du nombre de tumeurs comptabilisées pour quatre unités structurales (us) et le nombre de d'(us) par arbre (rameaux d'oliviers observés sur un lot de 20 arbres atteints de tuberculose).

Paramètres considérés	Nombre de tumeurs par arbre	Nombre de tumeurs pour 4 (us)	Nombre d'(us) par arbre
Nombre de tumeurs par arbre	1,000	–	–
Nombre de tumeurs Pour 4 (us)	0,608 ($p = 0,002$)	1,000	–
Nombre d'(us) par arbre	0,652 ($p = 0,001$)	0,016 ($p = 0,473$)	1,000

Tableau V.

Coefficients du modèle de régression¹ permettant d'estimer le nombre de tumeurs par arbre (y) atteint de tuberculose à partir du nombre de tumeurs comptées sur quatre unités structurales (x_1) et du nombre d'unités structurales (us) par arbre (x_2) (rameaux observés sur un lot de 20 oliviers).

Paramètre considéré	Coefficient non standardisé		Coefficient standardisé : β	t
	Valeur de b	Erreur standard		
Constante	-1122,48	258,85		- 4,34
Nombre de tumeurs pour 4 (us)	12,57	2,395	0,60	5,27
Nombre d'(us) par arbre	54,11	9,54	0,64	5,67

¹ $y = 12,57 x_1 + 54,11 x_2 - 1122,48$.

alors que la Gordale était immune ; la Meslala était très sensible et la Picholine du Languedoc était sensible [6]. Ces deux variétés (Picholine marocaine et Gordale) pourraient donc être exploitées comme référence dans un programme de sélection de variétés d'oliviers résistantes à la tuberculose.

La tuberculose de l'olivier, dont le pathogène [7–9] possède une population très hétérogène et un processus pathogénique de type chimique [10–18], a un impact sur la croissance annuelle des pousses automnales et printanières et sur le rendement en fruits. Une corrélation étroite a été mise en évidence entre le nombre de tumeurs par mètre linéaire de pousses et la croissance

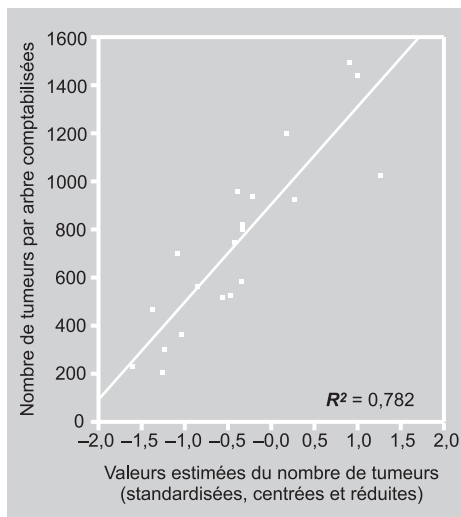


Figure 2. Droite de régression permettant d'estimer le nombre total, par arbre, de tumeurs dues à la tuberculose de l'olivier, à partir du nombre de tumeurs comptabilisées sur quatre unités structurales de l'arbre concerné.

de ces pousses. Au fur et à mesure que le nombre de tumeurs augmente, la croissance du rameau est retardée et le nombre de grappes fruitières se trouve affecté [6]. La maladie provoque aussi le dessèchement foliaire. Pour la variété Meslala, le dessèchement et la défoliation commencent dès que le nombre de tumeurs par arbre atteint ou dépasse un seuil de 600 tumeurs.

La difficulté de compter systématiquement le nombre de tumeurs sur tous les arbres d'une oliveraie ou d'une région donnée pourra être contournée par l'utilisation du modèle de prédiction simple et fiable qui a été défini au cours de nos travaux. Il est alors possible d'évaluer le niveau d'attaque des oliviers par la tuberculose et, par conséquent, de prévoir les dégâts qui seront occasionnés par la maladie. Ainsi, si le modèle conduit à estimer qu'il y a plus de 600 tumeurs par arbre, de gros dégâts dus à la bactériose de l'olivier seront à craindre et, par conséquent, des précautions devront être prises ; une taille sévère des arbres accompagnée de l'incinération du bois de taille et suivie d'un traitement chimique à base de cuivre [19] sera préconisée dans ce cas. Le modèle présenté est en cours d'expérimentation au Maroc.

Remerciements

L'auteur remercie vivement Mr. Abdelaziz Bouizgaren, chercheur au centre Inra de Marrakech (Maroc) pour l'analyse et l'interprétation statistique des données.

Références

- [1] Benjama A., Parasitic olive diseases in Morocco, *Olivae* 20 (1988) 21–33.
- [2] Benjama A., La tuberculose de l'olivier au Maroc, Fiche technique DIF – Inra, Maroc, 2002.
- [3] Benjama A., Isolement et identification de l'agent pathogène de la tuberculose de l'olivier au Maroc, *El-Awamia* 72 (1989) 57–69.
- [4] Gardan L., David C., Morel M., Glickmann E., Abu-Ghorrah M., Petit A., Dessaux Y., Evidence for a correlation between auxin production and host plant species among strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*, *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (1992) 1780–1783.
- [5] Benjama A., Preliminary studies on olive knot in Morocco caused by *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*, *Arab. J. Plant Protect.* 5 (2) (1987) 67–69.
- [6] Benjama A., Atbi M., Tahiri J., Aznadi M., Situation actuelle de la tuberculose de l'olivier dans la région de Zerhoun au Maroc, *El-Awamia* 83 (1993) 153–160.
- [7] Benjama A., Gardan L., Influence du milieu de culture et du temps d'incubation sur la production d'AIA par *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, *El-Awamia* 88 (1995) 79–92.
- [8] Wilson E.E., Magie A.R., Physiological, serological and pathological evidence that *Pseudomonas tonelliana* is identical with *Pseudomonas savastanoi*, *Phytopathology* 53 (1963) 653–659.
- [9] Benjama A., Walali L., Janati L., Moukhli A., Field reaction of different varieties of olive *Olea europea* L. to olive knot disease caused by *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* (E.F. Smith) Stevens, *El-Awamia* 75 (1992) 41–52.
- [10] Rieuf P., Teasca G., Parasites et saprophytes des plantes au Maroc, *Cah. Rech. Agron., Maroc, Inra*, n° 9, 1970, 309 p.
- [11] Kosuge T., Heskett M.G., Wilson E.E., Microbial synthesis and degradation of indol-3-acetic acid. I. The conversion of L-tryptophan to indole 3-acetamide by an enzyme system from *Pseudomonas savastanoi*, *J. Biol. Chem.* 241 (1966) 3738–3744.
- [12] Magie A.R., Wilson E.E., Expressions of virulence among isolates of *Pseudomonas savastanoi* from olive and oleander, *Proc. Am. Phytopathol. Soc., Phytopathology* 52 (1962) 741 (Abst.).
- [13] Moyed H.S., False feedback inhibition of tryptophan biosynthesis by 5-methyl-tryptophan, *J. Biochem.* 235 (1960) 1098–1102.
- [14] Somerville R.L., Yanofsky C., Studies on the regulation of tryptophan biosynthesis in *Escherichia coli*, *J. Mol. Biol.* 11 (1965) 747–759.
- [15] Surico G., Sparapano L., Lerario P., Durbin R.D., Lacobellis N., Cytokinin-like activity in extracts from culture filtrates of *Pseudomonas savastanoi*, *Sep. Exp.* 31 (1975) 929–930.

- [16] Surico G., Comai L., Kosuge T., Pathogenicity of strains of *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* and their indol acetic acid deficient mutants on olive and oleander, *Phytopathology* 74 (1984) 490–493.
- [17] Smidt M., Kosuge T., The role of indol-3-acetic acid accumulation by alpha methyl tryptophan resistant mutants of *Pseudomonas savastanoi* in gall formation on oleanders, *Physiol. Plant Pathol.* 13 (1978) 203–214.
- [18] Benjama A., Étude de la sensibilité variétale de l'olivier vis-à-vis de *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* agent de la tuberculose, *Cah. Agric.* 3 (1994) 405–408.
- [19] Benjama A., Boubaker A., Khelif H., Krimi Z., Nesme X., Lopez M., Zoina A., Susceptibility of some stone fruit rootstocks and rose to crown-gall, caused by *Agrobacterium tumefaciens* in the Arab Mediterranean countries, *B. OEPP* 32 (3) (2002) 463–466.

Método de evaluación rápido del grado de ataque del olivo por tuberculosis causada por *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, en olivares marroquíes.

Resumen — Introducción. La tuberculosis del olivo es una enfermedad bacteriana notificada por primera vez en Marruecos en 1960; actualmente se extiende por toda el área de cultivo del olivo. La enfermedad incide en el crecimiento de los rebrotes y afecta a los órganos reproductores. La intensidad de los daños causados está estrechamente ligada al número de tumores por árbol. Sin embargo, el recuento sistemático de los tumores en todos los árboles, que permite decidir el tratamiento de un olivar, es difícilmente realizable. Debido a esto se intentó encontrar una técnica fiable de predicción del grado de ataque a partir de la observación de una muestra reducida de árboles. **Material y métodos.** Se eligieron al azar veinte árboles de la variedad sensible 'Meslala', de 35 años y del mismo fenotipo. El número de tumores por árbol se contó sistemáticamente en cada uno de estos árboles y, luego, en seis unidades estructurales (ue) por árbol. Los promedios del número de tumores contados en 2, 3, 4 ó 5 (ue) por árbol se compararon luego, dos a dos, con el promedio del número de tumores contabilizados en las seis (ue) previamente identificadas en el árbol para definir el número mínimo de (ue) utilizables para las estimaciones. Por último, y partiendo de los recuentos efectuados, se trazó una recta de regresión que correspondía a un modelo de estimación del grado de ataque de los olivos por la tuberculosis. **Resultados.** El modelo de regresión lineal definido permite evaluar el grado de ataque de un olivar determinado en función de la media del número de tumores contados en cuatro (ue) elegidas por árbol entre un lote de 20 árboles y del número de (ue) contadas en cada uno de estos 20 árboles. **Discusión y conclusión.** El modelo de regresión definido constituye una técnica fiable para evaluar los daños de la tuberculosis a escala de un olivar sin recurrir al recuento sistemático de los tumores en todos los árboles del terreno.

Marruecos / *Olea europaea* / control de enfermedades / *Pseudomonas savastanoi*

To access this journal online:
www.edpsciences.org
