UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU
****
Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre
****
Département de Biologie et Ecologie Végétales
****
Laboratoire de Phytopathologie

N° ordre……

THESE

Présentée à l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre

Pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

Spécialité : Sciences Biologiques Appliquées

Option : Phytopathologie

par

Issa ADAMOU

Ingénieur Agronome

CARACTERISATION DES SOUCHES LOCALES DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* (E. F. SMITH) YABUUCHI *et al.* ET EVALUATION DU COMPORTEMENT DE SIX VARIETES DE POMME DE TERRE (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) FACE A LA SOUCHE RS-09-76, AU NIGER

Soutenu le jeudi 12 mai 2011, devant le **Jury**:

Président: ZONGO J. Didier, Professeur Titulaire, Université de Ouagadougou ;

Membres: 1. SANKARA Philippe, Professeur Titulaire, Université de Ouagadougou ;
2. ADAM Toudou, Maître de Conférences, Université Abdou Moumouni de Niamey ;
3. KONE Daouda, Maître de Conférences, Université de Cocody, Abidjan.

TABLE DES MATIERES

Titres		Pages
Table des matières……..		I
Dédicace…….		V
Remerciements……..…….		Vi
Liste des figures……..……...		Viii
Liste des photos et planches ……..…….		Ix
Liste des tableaux……..…….		Xi
Liste des abréviations…….……		Xiii
Résumé……		Xiv
Abstract……		Xv
INTRODUCTION……		1
PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE…….		4
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA POMME DE TERRE……...		5
1.	La biologie de la pomme de terre…….	5
1.1.	Origine de la pomme de terre……..	7
1.2.	La botanique et la classification de la plante……...	7
2.	La culture de la pomme de terre……..	9
2.1	La distribution de la culture……..	12
2.2	La production de la pomme de terre…….	12
2.3	Les utilisations de la pomme de terre……...	14
2.4	La commercialisation de la pomme de terre……	16
3.	Les contraintes liées à la production de la pomme de terre…….	17
3.1.	Les contraintes pédoclimatiques……..	17
3.1.1.	Les exigences édaphiques……	17
3.1.2.	Les exigences climatiques……	18
3.2.	Les contraintes techniques……	18
3.3.	Les contraintes socioéconomiques……..	18
3.4.	Les contraintes biotiques…….	19
3.5	Les politiques agricoles dans la production de la pomme de terre……...	21
CHAPITRE II : LE POINT DES TRAVAUX DE RECHERCHES SUR LES ENNEMIS DE LA POMME DE TERRE……..		22
Introduction…….		22
1.	Les maladies fongiques de la pomme de terre……	22
2.	Les maladies virales infectant la pomme de terre ……..	25
3.	Les maladies dues aux bactéries et aux phytoplasmes…….	28
4.	Les désordres physiologiques affectant la culture de la pomme de terre……	29
5.	Les nématodes parasites de la pomme de terre …….….	30
6.	Les mauvaises herbes parasites de la pomme de terre ……	33
7.	Les insectes et acariens attaquant la pomme de terre …….	34

CHAPITRE III : L'ETAT DES TRAVAUX SUR LA POURRITURE BRUNE DE LA POMME DE TERRE DUE A *RALSTONIA SOLANACEARUM*. 37

1. Biologie du développement du flétrissement bactérien de la pomme de terre…. 37
2. L'agent causal……... 37
2.1 Caractéristiques des Phylotypes de *Ralstonia solanacearum*…….. 38
2.2 Caractéristiques des Biovars de *Ralstonia solanacearum*…… 41
2.3 Caractéristiques différentielles des races de *Ralstonia solanacearum*……..... 42
2.4 Répartition géographique des souches de *Ralstonia solanacearum*……..... 43
3. L'écologie de *Ralstonia solanacearum*…… 44
4. L'épidémiologie de *Ralstonia solanacearum*……... 45
5. Les symptômes de la maladie……... 46
6. Les dégâts causés sur différentes parties de la pomme de terre……... 47
7. Le diagnostic de la maladie…….. 47
8. Les milieux de culture de *Ralstonia solanacearum*……. 47
9. Les méthodes de lutte contre la pourriture brune de la pomme de terre…….. 48
9.1. La lutte chimique……. 48
9.2. L'utilisation de la résistance variétale……. 49
9.3. La lutte agronomique…….. 49
9.4. La lutte biologique…….. 50
9.5. La lutte intégrée…… 51
10. La maîtrise insuffisante des techniques culturales……... 52

DEUXIEME PARTIE : EVALUATION DES ATTAQUES DU FLETRISSEMENT BACTERIEN CAUSE PAR *RALSTONIA SOLANACEARUM* ET CARACTERISATION DES SOUCHES LOCALES……. 53

CHAPITRE 1 : EVALUATION DES ATTAQUES DU FLETRISSEMENT BACTERIEN CAUSE PAR *RALSTONIA SOLANACEARUM* AU CHAMP, SUR POMME DE TERRE ET D'AUTRES SOLANACEES, AU NIGER…… 54

1. Introduction…….. 54
2. Matériel et méthodes…… 54
2.1. Matériel utilisé……. 54
2.2. Méthodes d'étude……. 55
2.2.1. Collecte des données au champ…… 55
2.2.2. Diagnostic au champ…… 55
2.2.3. Expression des résultats……... 56
3. Résultats……... 56
3.1. Evaluation des attaques du flétrissement bactérien au champ……. 56
3.2. La distribution géographique de la maladie dans les zones de production de la pomme de terre au Niger…….. 58
3.3 La gamme d'hôte de la maladie au Niger……. 60
4. Discussion…… 63
5. Conclusion partielle……. 65

CHAPITRE II : CARACTERISATION DES SOUCHES DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* (E. F. SMITH) YABUUCHI *ET AL.* COLLECTEES SUR POMME DE TERRE ET D'AUTRES SOLANACEES AU NIGER…… 67

1. Introduction…….. 67
2. Matériel et méthodes…… ……... 67
2.1. Matériel d'étude……... 67
2.2. Méthodes……. 68
2.2.1. La préparation des échantillons destinés aux analyses biochimiques, sérologiques et moléculaires…… 68
2.2.2. L'isolement, la purification et la conservation des souches…… 70
2.2.3. Les tests de caractérisation des souches de *Ralstonia solanacearum*……. 71
2.2.4. Expression des résultats……... 75
3. Résultats……... 76
3.1. Le test d'Immunofluorescence Indirecte……. 76
3.2. Les tests moléculaires…….. 78
3.2.1. La réaction en chaîne par la polymérase (PCR), avec les amorces 759 et 760……. 78
3.2.2. Résultats de la PCR Phylotype Multiplex…… 81
3.3. La détermination des biovars et biotypes *de Ralstonia solanacearum*…… 84
3.4. Test de pathogénicité en serre sur pomme de terre et tomate…….. 87
4. Discussion…… 90
5. Conclusion partielle……. 92

TROISIEMME PARTIE : ETUDE DU COMPORTEMENT DE SIX VARIETES DE POMME DE TERRE VIS-A-VIS DE LA SOUCHE RS-09-76 DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* ET VERIFICATION DE L'IDENTITE DE LA SOUCHE INOCULEE ARTIFICIELLEMENT PAR DES TESTS BIOCHIMIQUES ET MOLECULAIRES…… 93

CHAPITRE I : ETUDE DU COMPORTEMENT DE SIX VARIETES DE POMME DE TERRE FACE A LA SOUCHE RS-09-76 DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* AU NIGER……..……..... 94

1. Introduction…….. 94
2. Matériel et méthodes…… 94
2.1. Le site expérimental …… 94
2.2. Matériel…… 95
2.3. Méthodes…….. 96
2.3.1. Le dispositif expérimental …….. 96
2.3.2. Les opérations culturales…….. 97
2.3.3. L'inoculation des fragments de tubercules de semences……. 98
2.3.4. L'isolement de nouveau de *Ralstonia solanacearum* à partir des plants inoculés……... 98
2.3.5. La collecte des données…… 99
2.3.6. L'analyse des données et expression des résultats…….. 100
3. Résultats……... 100

3.1. Les taux de levée des plants des six variétés après trois semaines de plantation…….. 100
3.2. Le niveau de sévérité du flétrissement bactérien……. 101
3.2. L'indice de maladie (IMr) de WINSTEAD et KELMAN (1952)……... 102
3.4. Effet du flétrissement bactérien sur la hauteur moyenne des plants…… 104
3.5. Effet du flétrissement bactérien sur le nombre de tubercules par plant, leurs calibres et poids……... 105
3.5.1. Effet de la bactériose sur le nombre de tubercules fils par plant…….. 105
3.5.2. Effet du flétrissement bactérien sur les caractères biométriques (diamètres moyens) des tubercules fils…….. 106
3.5.3. Effet du flétrissement bactérien sur le poids des tubercules fils…….. 108
4. Discussion…… 109
5. Conclusion partielle……. 111

CHAPITRE II : VERIFICATION DE L'IDENTITE DE LA SOUCHE RS-09-76 DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* INOCULEE ARTIFICIELLEMENT PAR DES TESTS BIOCHIMIQUES ET MOLECULAIRES…….. 113

1. Introduction…….. 113
2. Matériel et méthodes…… 113
2.1. Matériel…… 113
2.1.1. Matériel de laboratoire……. 113
2.1.2. Matériel végétal…… 114
2.1.3. La souche bactérienne…….. 114
2.2. Méthodes…….. 114
2.2.1. L'inoculation des fragments de tubercules de semences……. 114
2.2.2. La préparation des échantillons…… 115
2.2.3. La caractérisation moléculaire de confirmation de la souche de *Ralstonia solanacearum* Rs-09-76 à partir des plants inoculés……... 115
2.2.3.1. L'extraction d'ADN bactérien…… 115
2.2.3.2. Les réactions en chaîne par la polymérase (PCR)…….. 116
2.2.4. La technique d'isolement de nouveau de *Ralstonia solanacearum* à partir des plants inoculés…… 117
3. Résultats……... 118
3.1. Les résultats sur les tests PCR de confirmation de la souche Rs-09-76 de *R. solanacearum* dans les macérats des échantillons de plants malades……. 118
3.1.1. Les tests de réaction en chaîne par la polymérase (PCR), avec les amorces 759 et 760 spécifiques de l'espèce *Ralstonia solanacearum*……. 120
3.1.2. Les tests de migration PCR Phylotype Multiplex spécifique aux différents phylotypes de *Ralstonia solanacearum*…… 120
4. Discussion…… 125
5. Conclusion partielle……. 126

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES ……. 127

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES…… 132

ANNEXES…….. 144

DEDICACE

Au nom d'ALLAH, Clément et Miséricordieux

A ma Mère Hadjia Maïmouna Alzouma Moumouni pour les sacrifices qu'elle n'a cessé et ne cesse de me consentir.

REMERCIEMENTS

Au Professeur SANKARA Philippe nous exprimons notre profonde gratitude pour avoir accepté de nous encadrer. Sa rigueur scientifique, ses compétences pédagogiques et andragogiques de haut niveau nous ont servi de fil d'Ariane tout au long de notre formation aussi bien en salle, que sur le terrain ou encore au cours des fora scientifiques. Toute ma vie, je me souviendrai de ce Directeur de thèse qui m'avait apparu au début très ''dur'', mais qui s'est révélé être un Ange formateur.

Le Professeur ADAM Toudou, de l'Université Abdou Moumouni de Niamey co-Directeur de thèse a cru en moi et m'a guidé vers son collègue le Pr. SANKARA. Nous le remercions de nous avoir reçu dans son laboratoire pour la préparation de ce travail. Son assistance permanente, ses appuis académiques, techniques et financiers ajoutés à sa grande patience et ses conseils scientifiques m'ont permis de surmonter de nombreuses périodes d'incertitudes. Qu'il trouve ici tous mes sincères remerciements.

Nous remercions très sincèrement les Professeurs ZONGO J. Didier, Professeur Titulaire de l'Université de Ouagadougou et KONE Daouda, Maître de Conférences de l'Université de Cocody, Abidjan (Côte d'Ivoire) pour avoir accepté analyser et apprécier le document, ainsi qu'être membres du jury de ma soutenance.

Nous remercions le Professeur GUMEDZOE Y. M. Dieudonné, Professeur Titulaire de Phytopathologie de l'Université de Lomé (Togo), pour avoir accepté analyser et apprécier notre travail.

Nos remerciements sincères vont aussi à Monsieur ANDRIVON Didier, Directeur de recherche de l'UMR/Bio3P de l'INRA du Rheu/Rennes et professeur à l'Agrocampus Ouest pour nous avoir accepté en thèse en alternance dans son unité de recherche.

Que Anne-Claire LEROUX-NIOX, chercheur au laboratoire de quarantaine végétale de l'UMR/Bio3P de l'INRA du Rheu/Rennes trouve l'expression de ma profonde gratitude pour avoir guidé mes premiers pas en matière d'analyses moléculaires, sérologiques et biologiques sur *Ralstonia solanacearum*. Sa générosité de cœur et sa patience m'ont permis d'effectuer deux importants séjours dans son laboratoire.

Nos remerciements vont également à HUCHET Emilie pour son aide précieuse au cours de mes deux séjours à l'INRA de Rennes.

Nous remercions du fond du cœur Monsieur JOUAN Bernard, Directeur de recherche à la retraite, Vice-président d'Agro-sans-Frontière/Bretagne et Président de la Solidarité Internationale/Bretagne pour avoir cru en nous. Son précieux soutient lors de la recherche de financements nous a été utile auprès de CORUS et de la Solidarité Internationale. Ses avis scientifiques et sa longue expérience nous ont été hautement précieux.

Nous n'oublierons jamais ce jour de juin 2004 où nous recevions le mail d'acceptation en pré inscription au DEA et à la Thèse du Professeur GUINKO Sita de l'Université de Ouagadougou. Qu'il trouve ici notre gratitude et nos sincères remerciements.

Nos remerciements vont à la représentation de la FAO à Niamey et à l'IRD de Niamey pour m'avoir respectivement soutenu financièrement et accueilli dans son laboratoire de biologie moléculaire dans le cadre de mes recherches.

Nos remerciements vont également au Professeur SAADOU Mahamane de la Faculté des Sciences de l'Université Abdou Moumouni de Niamey, au Professeur SOMDA Irénée de l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, au Dr. KABORE Blaise, chargé de recherches à l'INERA, aux Professeurs SIDIKOU Ramatou et BARAGE Moussa de l'Université Abdou Moumouni pour avoir accepté de corriger mes manuscrits. Leurs remarques pertinentes ont été précieuses pour l'aboutissement de ce travail.

Nous n'oublierons pas Marie-Pascale JOUAN de l'Association MATA-France pour son affection, son soutien moral, matériel et financier de toujours. Nous exprimons notre profonde reconnaissance au Tonton MALIKI Yacouba de Indianapolis, des Etats Unis pour avoir toujours répondu favorablement à nos nombreuses sollicitations.

Enfin, que nos collègues doctorants, techniciens et personnel d'appui des Universités de Ouagadougou, Niamey et de Rennes, nos parents, amis et connaissances qui nous ont appuyé moralement, financièrement et matériellement trouvent ici, l'expression de notre profonde reconnaissance.

LISTE DES FIGURES

	Titres des figures	pages
Figure 1:	Description générale du plant de pomme de terre. (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009)	5
Figure 2:	Les caractéristiques du tubercule de pomme de terre (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009)	6
Figure 3:	Les différentes étapes du cycle phénologique moyen de la pomme de terre (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009)	9
Figure 4:	Appréciation du stade optimum de plantation d'un tubercule (plant) de semence (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009).	10
Figure 5:	Sectionnement d'un tubercule (plant) de pomme de terre en vue d'obtenir plusieurs fragments portant des germes (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009)	11
Figure 6:	Comparaison de la pomme de terre à d'autres plantes à racines (manioc) et tubercules (igname, patate douce et taro) cultivées en Afrique en fonction du nombre de kg produits par jour d'occupation du sol et par hectare (VANDERHOFSTADT, 2007).	14
Figure 7:	Diversité génétique et phylogénie chez le complexe d'espèces *R. solanacearum*, basées sur le polymorphisme de séquence du gène de l'endoglucanase (FEGAN et PRIOR, 2005)	44
Figure 8 :	Cartographie des taux du Flétrissement bactérien observés au Niger	59
Figure 9:	Evolution des symptômes induits par les différentes souches de *Ralstonia solanacearum* sur les plants de pomme de terre de la variété Désirée.	88
Figure 10 :	Evolution des symptômes induits par FN3PT-38 (Phylotype III, biovar 2, biotype 2T) de *Ralstonia solanacearum* sur les plants de tomate de la variété Roma VF	88
Figure 11 :	Dispositif expérimental de l'essai de criblage variétal en bloc Fischer complètement randomisé avec trois répétitions.	97
Figure 12:	Histogramme d'estimation des taux de levée des plants des 6 variétés testées à 23 JAP (jours après plantation)	101
Figure 13 :	Evolution de l'indice du flétrissement bactérien sur les plants des parcelles du bloc inoculé chez les six variétés étudiées.	103
Figure 14 :	Histogramme de l'appréciation de la hauteur des plants chez les six (6) variétés testées, à 53 jours après plantation.	104
Figure 15 :	Histogramme du nombre moyen de tubercules fils produits par les plants des 6 variétés étudiées au niveau des parcelles du bloc non inoculé.	105
Figure 16 :	Histogramme du nombre moyen de tubercules fils produits par les plants des 6 variétés étudiées au niveau des parcelles du bloc inoculé.	106
Figure 17 :	Histogramme de l'effet du flétrissement bactérien sur le diamètre moyen des tubercules fils chez les plants des parcelles non inoculées.	107
Figure 18 :	Histogramme de l'effet du flétrissement bactérien sur le diamètre moyen des tubercules fils chez les plants des parcelles inoculées.	107
Figure 19 :	Histogramme de l'évolution du flétrissement bactérien sur le poids moyen des tubercules fils chez les plants des parcelles non inoculées.	108
Figure 20 :	Histogramme de l'évolution du flétrissement bactérien sur le poids moyen des tubercules fils chez les plants des parcelles inoculées.	109

LISTE DES PHOTOS ET PLANCHES

Titres des photos et planches pages

Photos

Photo 1 : Photo de cellules typiques de *Ralstonia solanacearum* présentant une fluorescence vive par examen de lame avec un microscope équipé d'une source lumineuse épifluorescente. 76

Photo 2 : Photo de gel PCR obtenue avec le couple d'amorces 759 et 760. Réactions positives pour les souches FN3PT 09-01, FN3PT 09-05, FN3PT 09-06, FN3PT 09-09, FN3PT 09-11, FN3PT 09-12 ; FN3PT 09-18 et le témoin positif (T+). 78

Photo 3 : Photo de gel PCR obtenue avec le couple d'amorces 759 et 760. Réactions positives pour les souches FN3PT 09-19, FN3PT 09-21, FN3PT 09-29, FN3PT 09-32, FN3PT 09-37, FN3PT 09-39, FN3PT 09-40 et le témoin positif (T+). 79

Photo 4 : Photo de gel PCR obtenue avec le couple d'amorces 759 et 760. Réactions positives pour les souches FN3PT 09-65, FN3PT 09-67, FN3PT 09-72, FN3PT 09-76, FN3PT 09-80, FN3PT 09-83 et le témoin positif (T+). 79

Photo 5 : Photo de gel PCR obtenue avec les amorces Phylotype Multiplex. Réactions positives pour les souches FN3PT 09-80, FN3PT 09-82, FN3PT 09-84, FN3PT 09-90, FN3PT 09-92 et du témoin positif CFBP 19/76. 82

Photo 6 : Résultats de la PCR Phylotype Multiplex positive pour les souches FN3PT 09-39 ; FN3PT 09-45 ; FN3PT 09-65 ; FN3PT 09-72 ; FN3PT 09-75 ; FN3PT 09-76 ; FN3PT 09-77 et du témoin positif CFBP 19/76. 82

Photo 7 : Résultats de la PCR Phylotype Multiplex modifiée pour les souches FN3PT 09-06 ; FN3PT 09-24 ; FN3PT 09-28 ; FN3PT 09-31 ; FN3PT 09-38 ainsi que les témoins positifs J25 ; P17. 82

Photo 8 : Résultats de la PCR Phylotype Multiplex modifiée pour les souches FN3PT 09-45 ; FN3PT 09-75 ; FN3PT 09-76 ; FN3PT 09-77 ; FN3PT 09-162 ainsi que les témoins positifs J25 ; P17. 83

Photo 9 : Réactions biochimiques de la souche FN3PT 09-75 (à droite) et des souches standard internationales (GMI 1000 ; CFBP 19/76) face au témoin négatif (T-). (Photo : Issa ADAMOU) 85

Photo 10 : Réactions biochimiques des souches FN3PT 09-80 ; 28 et 29 face au témoin négatif (T-). (Photo : Issa ADAMOU) 86

Photo 11 : Vue de symptômes typiques de flétrissement avec chlorose et nécrose foliaires sur des plants de pomme de terre de la variété Désirée inoculés avec la souche FN3PT 09-80 de *Ralstonia solanacearum*. (Photo : Issa ADAMOU) 89

Photo 12 : Symptômes typiques de flétrissement avec épinastie des pétioles foliaires provoqués par la souche FN3PT 09-38 de *Ralstonia solanacearum* sur un plant de tomate de la variété Roma VF (à gauche), à côté d'un plant témoin bien épanoui (à droite). (Photo : Issa ADAMOU) 89

Photo 13 : Culture pure de *Ralstonia solanacearum* sur milieu LPGA (Levure peptone glucose agar). 98
Photo 14 : Gel du dosage des ADN de quelques échantillons. (photo : Issa ADAMOU) 118
Photo 15 : Gel de migration des ADN des échantillons contaminés par la souche Rs 09-76 selon la technique de la PCR Phylotype 759 / 760. 120
Photo 16 : Résultats de la PCR Phylotype sur les macérats de la variété Rosanna inoculé (RA11i à RA 33i représentés par les numéros 1 à 9) à gauche et Rosanna non inoculé (RA11n à RA 33n soit les numéros 10 à 17) à droite. 121
Photo 17 : Gel de migration de la PCR Phylotype pour les macérats de la variété Dan-Hadjia inoculé (D-H11i à D-H 33i) à gauche et Dan-Hadjia non inoculé (R-H11n à D-H 33n) à droite. 122

Planches

Planche 1 : Quelques maladies rencontrées sur la pomme de terre au Niger (photos : ADAMOU Issa) 32
Planche 2 : Vues d'une tige d'Orobanche poussant sur un pied de pomme de terre et d'un rhizome de Chiendent transperçant un tubercule de pomme de terre. (photos : ADAMOU Issa) 33
Planche 3 : Aperçu de quelques ravageurs de la pomme de terre (insectes et acarien) observés au Niger. (photos : ADAMOU Issa) 36
Planche 4 : Gels caractéristique de PCR multiplex des quatre principaux groupes génétiques décrits chez *Ralstonia solanacearum*, ainsi que des groupes RFLP 24, 25 et 28. (Source : FEGAN et PRIOR, 2005). 40
Planche 5 : Une vue d'un foyer de plants flétris (**a**) et d'exsudats bactériens sortant de la région vascularisée d'un tubercule de pomme de terre malade (**b**). (photo : ADAMOU Issa) 62
Planche 5 : Une vue de deux plants de pomme de terre flétris (a) et d'exsudats bactériens sur anneau vasculaire d'un tubercule en coupe longitudinale (b). (photo : ADAMOU Issa) 69

LISTE DES TABLEAUX

	Titres des tableaux	pages
Tableau 1 :	Caractéristiques physiques et physiologiques de quelques variétés de pomme de terre utilisées au Sahel en général et au Niger en particulier.	8
Tableau 2 :	Besoins en éléments fertilisants (kg/ha) d'une culture de pomme de terre	11
Tableau 3:	Composition chimique du tubercule de pomme de terre (pour 100 g de matière fraîche)	15
Tableau 4 :	Comparaison de la composition chimique du tubercule de pomme de terre à celle des autres tubercules (patate douce, taro et igname) et le manioc	16
Tableau 5 :	Principales caractéristiques des viroses les plus communément rencontrées sur la pomme de terre	27
Tableau 6 :	Caractéristiques différentielles utilisées pour identifier l'espèce *Ralstonia solanacearum*	38
Tableau 7 :	Amorces spécifiques utilisées en PCR-multiplexe pour le diagnostic de l'espèce *R. solanacearum* du phylotype d'appartenance	39
Tableau 8 :	Différenciation des biovars de *Ralstonia solanacearum* à l'aide de tests biochimiques basés sur l'aptitude à l'utilisation de 6 hydrates de carbone.	41
Tableau 9 :	Différenciation des biotypes du biovar 2 de *Ralstonia solanacearum*	42
Tableau 10 :	Répartition des races, biovars et divisions des souches de *Ralstonia solanacearum* par rapport à la gamme d'hôtes et la région géographique (SCHAAD *et al.*, 2001)	43
Tableau 11 :	Liste des souches isolées à partir des plantes collectées dans les principales régions productrices de pomme de terre et d'autres Solanacées, et incidence du flétrissement.	57
Tableau 12 :	Propriétés pédoclimatiques et agricoles des régions prospectées	60
Tableau 13 :	Liste des plantes hôtes de *Ralstonia solanacearum* collectées dans les principales régions maraîchères du Niger.	61
Tableau 14 :	Clé de notation des symptômes du flétrissement bactérien sur les Solanacées lors du test de pathogénicité	75
Tableau 15 :	Synthèse des résultats du test d'Immunofluorescence (IF)	77
Tableau 16 :	Ensemble des résultats des analyses PCR *Ralstonia solanacearum* réalisés avec les amorces 759 et 760	80
Tableau 17 :	Résultats des tests PCR 759/760 spécifiques de *R. solanacearum* et PCR- Phylotypes effectués sur les 26 isolats du Niger, comparés aux standards français (CFBP2047 et CFBP 19-76)	84
Tableau 18 :	Résultats des tests PCR Phylotype, Biovar et Biotype	87
Tableau 19 :	Récapitulatif des caractéristiques des différentes variétés de pomme de terre cultivées au Niger et utilisées lors de l'expérimentation.	96
Tableau 20 :	Critères d'estimation de la sévérité de la maladie (WINSTEAD et KELMAN, 1952)	100
Tableau 21 :	Estimation de l'incidence du flétrissement bactérien 30 jours après plantation.	102
Tableau 22 :	Comportement des six variétés du bloc inoculé à la date de 30 jours après la plantation (JAP)	110

Tableau 23 :	Comportement des six variétés en fin d'évaluation de l'essai	111
Tableau 24 :	Amorces nécessaires aux tests PCR OPINA et multiplexe	113
Tableau 25 :	Estimation de l'intensité des bandes de dosage des ADN de quelques macérats et ajustement de leur concentration à 25 ng/µl.	119
Tableau 26 :	Ensemble des résultats PCR effectuées avec les amorces 759/760 et Phylotype multiplexe utilisant un complexe de sept amorces	123

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique
AFLP : Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (Amplified Fragment Lenght Polymorphism)
Amplicon : Fragment d'ADN amplifié par réaction en chaine par polymérase
CIP : Centre International pour la Pomme de terre
cfu : Colonies forming units
CORUS : COopération pour la Recherche Universitaire et Scientifique
ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FAO : Food and Agriculture Organisation
FNPPPT : Fédération Nationale des Producteurs de Plants de Pomme de Terre de France
GNIS : Groupement National Interprofessionnel des Semences et plants
INRA : Institut National de la recherche Agronomique de France
JAS : Jours après semis
L**PGA** : Levure-Peptone-Glucose-Agar
MDA : Ministère du Développement Agricole du Niger
MDR : Ministère du Développement Rural du Niger
pb : Paire de bases
MT : Migrateur de taille ou Témoin de migration
EPPO : Europeen Plant Pathogenic Organisms
OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques
PCR : Réaction en chaîne par polymérase (Polymerase Chain Reaction)
PGSC : Potato Genome Sequencing Consortium
Phylotype : Ensemble de souches de phylétique commun révélées par une analyse phylogénétique de leurs séquences
PDA : Potato Dextrose Agar
PVA : *Potato virus A* ou le virus A de la pomme de terre
PVM : *Potato virus M* ou le virus M de la pomme de terre
PVS : *Potato virus S* ou le virus S de la pomme de terre
PVX : *Potato virus* X ou le virus X de la pomme de terre
PVY : *Potato virus Y* ou le virus Y de la pomme de terre
REP : Elément palindromique extragénique répété (Repetitive Extragenic Palindromic element)
RFLP : Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (Resctricted Fragment Length Polymorphism)
Rs : *Ralstonia solanacearum*
TZC : Triphenyl Tetrazolium Chloride
UM**R-BiO3P :** Unité Mixte de Recherche- Biologie des Organismes et des Populations Appliquée à la Protection des Plantes

RESUME

Le taux moyen d'attaque du flétrissement bactérien au Niger est de 8,1 % avec cependant une disparité entre les zones pédoclimatiques. La maladie est rencontrée principalement sur pomme de terre, et la tomate est sa seconde plante hôte. L'aubergine, le piment et le poivron semblent épargnées par la maladie. Les sites maraîchers des régions du Sud du Niger situés entre les altitudes de 150 et 300 mètres et caractérisés par des températures minimales élevées, des sols sableux, et un arrosage par aspersion à partir des eaux du fleuve ou de nappes phréatiques peu profondes, semblent favoriser le développement de la bactérie par rapport aux régions situées plus au Nord et à des altitudes comprises entre 850 et 1600 mètres.

Une diversité phylogénique a été retrouvée au sein des souches collectées localement. En effet, sur les cinq phylotypes de *Ralstonia solanacearum* décrits à travers le monde, trois phylotypes ont été retrouvés au Niger. Il s'agit des phylotypes I, II et III. Les résultats de caractérisations biochimique, sérologique et moléculaire ont permis d'obtenir 26 souches de *Ralstonia solanacearum* isolées principalement sur différentes variétés de pomme de terre. Le phylotype II domine tous les autres groupes. Au sein de ce groupe génétique, le biotype 2A signalé pour la première fois en Asie et inféodé à la pomme de terre *Solanum tuberosum,* détient le plus grand nombre de souches. Il dépasse numériquement le biotype 2T originaire des régions tropicales. Le phylotype III occupe le second rang avec des souches appartenant également au biotype 2T. Le phylotype I (biovar 3) est isolé d'un seul échantillon de pomme de terre de la variété Pamela. Toutes ces souches infectent principalement la pomme de terre et provoquent chez cette espèce un flétrissement des parties aériennes et une pourriture brune de la région vasculaire du tubercule.

La faible effectivité des stratégies classiques de lutte oriente la recherche vers l'obtention de génotypes résistants ou tolérants. Le test de comportement de six variétés de pomme de terre cultivées au Niger face à la souche locale de *R. solanacearum* Rs-09-76 a donné des résultats encourageants qui ont permis de conseiller les producteurs nigériens sur l'utilisation de la variété Rosanna importée d'Europe suivie de la variété locale Dan-Hadjia pour leur bon comportement en terme de survie vis-à-vis de la maladie et leur bon potentiel de production malgré l'infection, dans les conditions locales de l'essai. Par contre, il faudrait éviter la variété Pamela, la plus sensible ainsi que la variété Pamina qui ont toutes deux été caractérisées par un nombre élevé de plants morts avant le stade de floraison, soit 44 jours après inoculation et plantation.

Les résultats obtenus confirment la présence effective du phylotype I (biovar 3), du phylotype II (biotypes 2A et 2T), et du phylotype III (biotype 2T) de *Ralstonia solanacearum* sur les cultures maraîchères au Niger. La variété locale Dan-Hadjia s'est bien comportée à travers ses caractéristiques particulières notamment sa précocité, son faible taux d'attaque de flétrissement bactérien et ses bonnes dispositions en termes de nombre de tubercules fils produits par plant. Il serait intéressant d'approfondir les connaissances sur les caractères génétiques et agronomiques de ce cultivar en vue de son amélioration et sa vulgarisation au niveau des producteurs nigériens de pomme de terre.

Mots-clés : Flétrissement bactérien, *Ralstonia solanacearum*, Pomme de terre, Phylotypes, Niger.

ABSTRACT

The average rate of bacterial wilt in Niger riches 8,1% with however a disparity enters the pedoclimatic areas. Potato is the main plant host of the disease, and the tomato is its second plant host. Eggplant, hot pepper and the sweet pepper are leas attacked by the disease. Gardening sites of the Southern areas of Niger located between altitudes of 150 and 300 meters and characterized by high minimal temperatures, sandy soils, and irrigation water taken from the river or very less deep water table, seem to support the development of the bacterium compared to the areas located more at North with altitudes ranging between 850 and 1600 meters.

A phylogenic diversity was found within the strains collected locally. Indeed, on the five *Ralstonia solanacearum* phylotypes described throughout the world, three phylotypes were found in Niger. These are phylotypes I, II and III. The biochemical, serologic and molecular characterizations results to 26 strains of *Ralstonia solanacearum* isolated mainly on various potato varieties. The phylotype II dominates all the other groups. Within this genetic group, the biotype 2A reported for the first time in Asia on potato *Solanum tuberosum*, has the greatest number of strains. It numerically exceeds the biotype 2T originating in the tropical areas. The phylotype III comes second with strains also belonging to the biotype 2T. The phylotype I (biovar 3) is isolated from only one potato sample belonging to Pamela variety. All these strains infect mainly potato and cause wilt of aerial parts and brown rot of the vascular area of tuber at all species.

The weak affectivity of the traditional disease management strategies directs research towards obtaining resistant or tolerant genotypes. The results of the screening test of six potato varieties cultivated in Niger versus the local *R. solanacearum* strain Rs-09-76 enable us to advise with the vegetable producers of Niger Rosanna variety imported of Europe followed by local variety Dan-Hadjia for their good rates in term of survival despite disease pressure and their good production potential in spite of the infection, under the local conditions of the trial. On the other hand, it would be necessary to avoid Pamela variety; the most susceptible one as well as Pamina variety both are characterized by a high number of seedlings wilt before the flowering stage, 44 days after inoculation and plantation.

The results confirm the effective presence of *Ralstonia solanacearum* phylotype I (biovar 3), phylotype II (biotypes 2A and 2T), and phylotype III (biotype 2T) in the Niger. Local variety Dan-Hadjia shows the best results through its particular characteristics principally its good precocity, its low level of bacterial wilt, its great tuber number produced by one plant. It would be interesting to look further into a best knowledge on the genetic and agronomic characters of this cultivar for its improvement and its popularization through Niger potato producers.

Key words: Bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*, Potato, Phylotypes, Niger.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La pomme de terre désigne à la fois la plante et le tubercule comestible. Elle appartient à la famille des Solanacées. L'espèce cultivée (*Solanum tuberosum* L.) est une sous-espèce de *S. andigenum* originaire de la région centrale de la Cordillère des Andes à une altitude supérieure à 2.000 mètres (CLEMENT, 1981 ; OCDE, 1997). La pomme de terre est une herbacée vivace de par ses tubercules mais elle est cultivée comme une plante annuelle dans toutes les zones de production du monde. Les tubercules, riches en amidon, sont utilisés principalement pour l'alimentation humaine et animale (FAO, 2008).

La production mondiale de pomme de terre au cours de l'année 2007 est estimée à plus de 300 millions de tonnes par la FAO. Elle augmenterait au rythme annuel de 4,5 % (FAO, 2008). Jusqu'au début des années 1990, la pomme de terre était essentiellement produite et consommée en Europe, en Amérique du Nord et dans les pays de l'ex-Union Soviétique. La production totale des pays développés s'élève à près de 160 millions de tonnes en 2007 et les taux de consommation annuelle par habitant sont respectivement de 138 kg en Russie, 72 kg en France, 60 kg en Amérique du Nord (FAOSTAT, 2007).

Depuis 2007, la production et la demande de la pomme de terre ont enregistré une forte croissance dans les pays en développement (Asie, Afrique et Amérique Latine). Dans ces régions, la production globale de pomme de terre est passée de 85 millions de tonnes en 1991 à 165,41 millions de tonnes en 2007, surclassant pour la première fois la quantité totale produite dans le monde développé. Les taux respectifs de la consommation annuelle de pomme de terre par habitant sont de 23,9 kg en Asie et en Océanie et 20,7 kg en Amérique Latine (FAOSTAT, 2007).

Au niveau africain, la production totale de pomme de terre estimée en 2007 par la FAO s'élève à 16,7 millions de tonnes pour un taux moyen de consommation annuelle par habitant de 13,9 kg (FAOSTAT, 2007). En 2007, les sept principaux pays producteurs de pomme de terre en Afrique sont l'Egypte (2,6 millions de tonnes), le Malawi (2,2 millions de tonnes), l'Afrique du Sud (1,97 millions de tonnes), l'Algérie (1,9 millions de tonnes), le Maroc (1,45 millions de tonnes), le Rwanda (1,2 millions de tonnes) et le Nigeria (844 mille tonnes). Les taux respectifs de la consommation annuelle de pomme de terre par habitant varient de 3,2 kg au Nigeria à 125 kg au Rwanda (FAOSTAT, 2007).

Au Niger, la production de pomme de terre était de 1.690 tonnes au cours de la campagne horticole 2000 pour 106 ha emblavés avec un rendement moyen de 10,30 tonnes/ha (MDA, 2003a). En 2008, la production atteignait 22.620 tonnes sur 1.275 ha, un rendement moyen de 17 tonnes/ha et un taux de la consommation annuelle par habitant de 1,5 kg (MDA, 2008). Les prévisions de la production de pomme de terre au titre de la saison horticole 2009 s'élèveraient à 37.363 tonnes, soit environ 22 fois la production de 2000 (MDA, 2010). Un accroissement des superficies attribuées à la culture de la pomme de terre a été remarqué à partir de l'année 2001. Quant aux rendements, ils connaissent une augmentation de plus de 50 %, passant de 10,30 t/ha en 2000 à 17,74 t/ha en 2008. Il se serait réalisé au détriment des cultures de manioc et de patate douce (LAWRENCE, 2004). La région d'Agadez située dans la partie septentrionale du Niger présente des conditions climatiques exceptionnelles permettant la pratique de trois cycles successifs de pomme de terre par an avec maîtrise d'eau. Dans les autres régions du pays (Tillabéri, Dosso, Maradi, Zinder et Diffa), il est pratiqué un à deux cycles culturaux de pomme de terre par an. La culture de la pomme de terre est en forte expansion à cause de son rôle de plus en plus important dans l'alimentation des ménages nigériens urbains et ruraux et dans l'amélioration sensible des revenus des producteurs et productrices (MDA, 2004).

L'agriculture nigérienne est dominée par la céréaliculture (mil, sorgho et riz). La mauvaise répartition des pluies dans l'espace et dans le temps et la faible fertilité des sols entraînent un déficit céréalier trois années sur quatre. La pomme de terre a été identifiée comme culture alternative à l'atteinte d'un degré adéquat de sécurité alimentaire car elle est la plus productive parmi les cultures maraîchères de contre-saison comme l'igname, le manioc, la patate douce (MDA, 2003b ; MDA, 2004 ; LAWRENCE, 2004 ; FAO, 2008). Dans la région d'Agadez, la pomme de terre vient en troisième position après l'oignon et la tomate. Elle y est produite tout au long de l'année en deux ou trois cycles. Dans la région de Tillabéri, la pomme de terre occupe le quatrième rang après l'oignon, le manioc et la patate douce (MDA, 2004). Le développement de l'irrigation privée a favorisé l'expansion de cette culture. Les autres catalyseurs sont l'accroissement des revenus et la promotion du produit par les concours culinaires. Pour soutenir la production de la pomme de terre, il est nécessaire de faciliter le transfert aux producteurs des connaissances relatives aux variétés, la gestion des semences, le contrôle des insectes et des maladies, la maîtrise des itinéraires de production, du stockage, de la commercialisation, etc. Il faudrait aussi viser à limiter la baisse des rendements par dégénérescence du matériel de reproduction ainsi que des pertes au stockage par suite des fortes infestations des ravageurs. Les caractéristiques physiologiques du plant de pomme de terre sont mal connues au Niger, il est donc nécessaire de former les techniciens sur la reconnaissance des variétés et leurs caractéristiques, les

optimums de températures, d'humidité, ainsi que sur les techniques de conservation et le maintien de la pureté variétale.

L'accroissement du rendement moyen de la pomme de terre de 10,30 tonnes/ha en 2000 à 15,9 t/ha en 2002 avec un maximum de 24 t/ha à Diffa (MDA, 2003a) laissent entrevoir les possibilités d'une intensification plus poussée de cette culture à la faveur d'un apport d'intrants et d'une protection phytosanitaire adéquate dans l'optique de porter les rendements à 30 t/ha, soit une augmentation d'environ 47 %. La constante croissance urbaine, l'amélioration des revenus des ménages urbains, la participation croissante de la femme en matière de transformation et d'utilisation des pommes de terre fraîches concourent au développement d'un grand potentiel marchand, par conséquent à un dopage de la production et à l'amélioration du revenu des maraîchers.

Au regard des nombreuses contraintes au développement de la pomme de terre dont les problèmes phytosanitaires, la présente étude est axée sur la principale maladie bactérienne : la pourriture brune ou le flétrissement bactérien dont la maîtrise permettrait d'améliorer la production et la qualité de la pomme de terre de semence et de consommation au Niger. La présente étude vise à:

- Faire une évaluation du taux d'attaque du flétrissement bactérien dû à *Ralstonia solanacearum* dans les principales zones de productions maraîchères du Niger ;
- Caractériser les souches de *Ralstonia solanacearum* rencontrées au Niger sur la pomme de terre et les autres Solanacées ;
- Identifier des variétés de pomme de terre résistantes à *Ralstonia solanacearum* parmi celles cultivées au Niger.

Le présent document présente les principaux résultats obtenus. Dans une première partie une revue bibliographique sera présentée. La seconde partie présentera les résultats des études de l'incidence du flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* au Niger et la caractérisation des souches locales identifiées. La troisième partie concernera le criblage de variétés certifiées d'origine européenne, régulièrement importées au Niger et de la variété locale Dan-Hadjia vis-à-vis de la souche autochtone Rs-09-76 appartenant au phylotype III (biovar 2). Il s'agit d'une souche originaire des régions tropicales, inféodée principalement à la pomme de terre à travers le monde et présente dans les différentes zones de production de la pomme de terre au Niger. Enfin, les principales conclusions de cette étude seront présentées avant de donner les perspectives.

PREMIERE PARTIE :

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LA POMME DE TERRE

1. La biologie de la pomme de terre

La pomme de terre (*Solanum tuberosum*) est une plante vivace à multiplication végétative. Outre la pomme de terre, la famille des Solanacées comprend aussi la tomate, le tabac, le piment, l'aubergine, le pétunia, etc. (SOLSTNER, 1983).

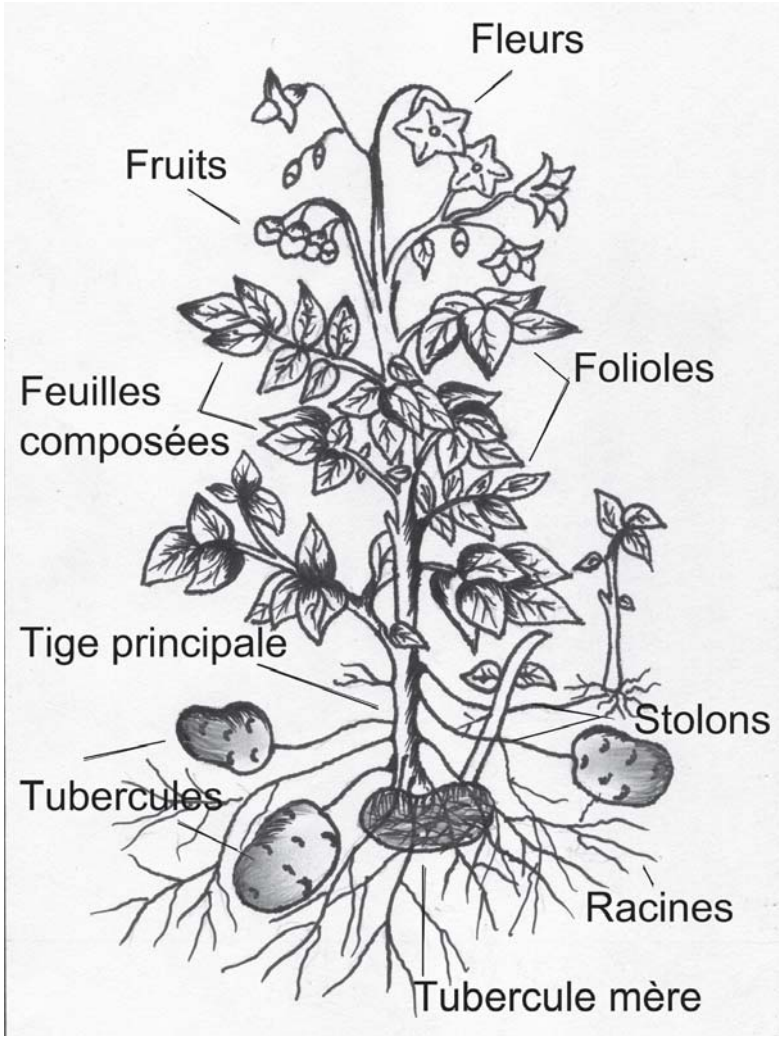


Figure n° 1 : Description générale du plant de pomme de terre. (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009)

Le système aérien de la pomme de terre est de type vivace, il comporte deux à dix tiges, plus ou moins dressées et à section irrégulière. Les feuilles sont de type composé, elles permettent de caractériser les variétés grâce à leurs différents aspects et colorations. Les fleurs sont généralement

autogames mais souvent stériles. Elles constituent aussi des éléments de caractérisation des variétés grâce à leurs colorations et leur nombre. Les fruits ou baies contiennent des graines essentiellement utilisées en sélection améliorante.

Le système souterrain se compose de racines fasciculées, nombreuses et fines pouvant pénétrer profondément les sols meubles (jusqu'à 80 cm sous le tubercule mère). Les rhizomes ou stolons sont de courtes tiges souterraines. Leurs extrémités renflées constituent les tubercules.

Un tubercule est un organe de conservation et de multiplication végétative. Il assure aussi bien la fonction d'organe de stockage des substances de réserve produites par la photosynthèse que la redistribution des réserves nécessaires au développement et à la croissance du jeune plant (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009).

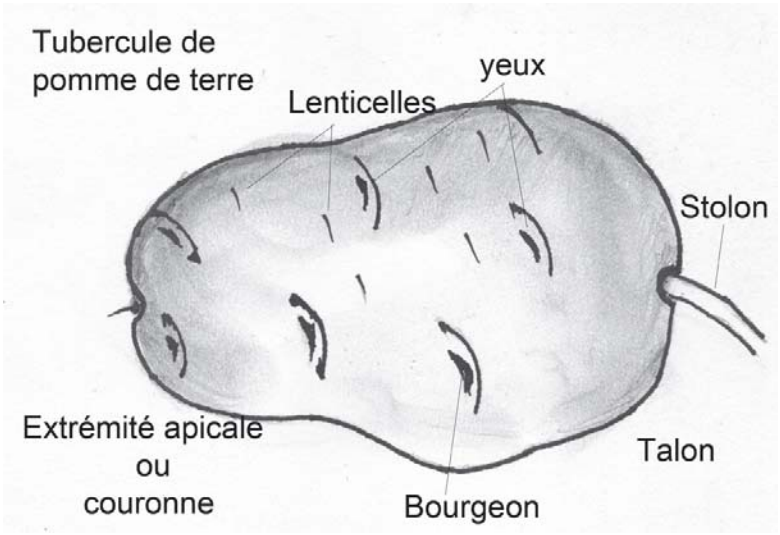


Figure n° 2 : Les caractéristiques du tubercule de pomme de terre (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009)

Sur la figure 2, se distingue le stolon ou tige souterraine qui relie le nouveau tubercule à la plante. Le talon désigne la partie du tubercule du côté du stolon. L'extrémité apicale est la partie du tubercule à l'extrémité opposée au talon. Les yeux sont représentés par de légères excavations qui porteront chacune un bourgeon. Les bourgeons sont des cellules des yeux qui deviendront un germe puis une tige principale. Les pores répartis dans l'épiderme du tubercule sont appelés les lenticelles. Ils assurent les échanges gazeux.

Les cellules de toutes les parties vertes de la plante, y compris les tubercules exposés à la lumière et atteints du verdissement, contiennent un alcaloïde dangereux, la solanine.

1.1. Origine de la pomme de terre

L'espèce *Solanum andigenum* est originaire de la région centrale de la Cordillère des Andes à une altitude supérieure à 2.000 mètres. La pomme de terre actuellement cultivée est la sous-espèce *Solanum tuberosum*, sa domestication remonte à plus de 8000 ans (CLEMENT, 1981). La pomme de terre a été introduite en Europe au XVI^{ème} siècle grâce aux navigateurs Espagnols. Elle s'est ensuite répandue au point d'être l'une des rares plantes cultivées sous toutes les latitudes (FAO, 2008). Le Centre international de la pomme de terre au Pérou détient la plus grande banque mondiale de ressources génétiques de la pomme de terre. Quelque 1 500 échantillons d'environ 100 espèces sauvages recueillies dans 8 pays d'Amérique latine, et 3 800 variétés de pommes de terre traditionnelles cultivées dans les Andes y sont conservées. Dans la région andine, des générations entières d'agriculteurs ont domestiqué des milliers de variétés de pomme de terre. Aujourd'hui encore, jusqu'à 50 variétés y sont cultivées. Dans la réserve de biodiversité de l'archipel de Chiloé au Chili, les populations locales cultivent environ 200 variétés de pommes de terre indigènes grâce à des pratiques agricoles qui leur ont été transmises oralement au fil des générations, essentiellement par les femmes agricultrices (CIP-CGIAR, 2008).

1.2. La botanique et la classification de la plante

La pomme de terre est une plante herbacée, tubéreuse à feuilles caduques (elle perd ses feuilles et ses tiges aériennes dans la saison froide) et à port dressé pouvant atteindre un mètre de hauteur. La plante est vivace grâce à ses tubercules, à condition que le climat lui permette de survivre à la saison froide, mais elle est généralement cultivée comme une plante annuelle.

La pomme de terre présente deux types de tiges : des tiges aériennes, à section circulaire ou angulaire, sur lesquels sont disposées les feuilles, et des tiges souterraines, les rhizomes, sur lesquels apparaissent les tubercules. Les tiges aériennes naissent à partir de bourgeons présents sur le tubercule utilisé comme semence. Elles sont herbacées, succulentes et peuvent atteindre de 0,6 à 1,0 mètre de long. Les tiges sont normalement de couleur verte, mais elles peuvent exceptionnellement présenter une coloration rouge pourpre. Certaines tiges peuvent être érigées, d'autres décombantes, s'inclinant progressivement vers le sol à mesure qu'avance la maturité de la plante. Les entrenœuds sont allongés chez la sous-espèce *S. andigena* et bien plus courts chez la sous-espèce *S. tuberosum*. Dans la phase finale de leur développement, les tiges aériennes peuvent devenir relativement ligneuses à la base.

Le système racinaire est fasciculé et très ramifié ; il a tendance à s'étendre superficiellement mais peut s'enfoncer jusqu'à 0,8 mètre de profondeur. Il est constitué de racines adventives qui apparaissent à la base des bourgeons du tubercule ou sur les nœuds des tiges enterrées ; pour cette raison, le tubercule doit être planté à une profondeur permettant une formation adéquate des racines et des rhizomes. Les racines connaissent une croissance rapide depuis les premiers stades de développement jusqu'au moment où commence la formation des tubercules (CLEMENT, 1981).

Du point de vue taxonomique, la pomme de terre appartient à la famille des *Solanaceae*, au genre *Solanum*, et plus précisément au sous-genre *Potatoe*, section *Petota*, sous-section *Potatoe*. Cette sous-section se distingue par la présence de tubercules véritables qui se forment à l'extrémité des rhizomes. Elle regroupe les espèces de pommes de terre cultivées et les espèces sauvages apparentées. La série *Tuberosa*, à son tour, se caractérise par ses feuilles imparipennées ou simples, sa corolle ronde ou pentagonale et ses baies arrondies. L'espèce *Solanum tuberosum* se différencie des autres espèces de la même série taxonomique par l'articulation du pédoncule en son tiers médian. Les lobes du calice sont courts et disposés régulièrement. Les feuilles sont fréquemment arquées avec les folioles toujours ovales à lancéolées, approximativement deux fois plus longues que larges. Les tubercules possèdent une période de dormance bien marquée (OCDE, 1997). Le génome de la pomme de terre cultivée est tétraploïde et comprend 48 chromosomes (2n = 4x = 48). Sa taille est estimée à 950 Mpb (SUKHOTU et HOSAKA, 2006 ; PGSC, 2009 ; ANONYME, 2010).

Le tableau 1 présente quelques caractéristiques de trois (3) principales variétés cultivées au Sahel (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009).

Tableau n° 1 : Caractéristiques physiques et physiologiques de quelques variétés de pomme de terre utilisées au Sahel en général et au Niger en particulier.

Caractère	**Désirée**	**Claustar**	**Sahel**
Maturité = longueur du cycle	semi-tardive = 110 jours	semi-précoce = 105 jours	Précoce à semi-précoce = 90 à 95 jours
Couleur peau	Rouge	Jaune	Jaune
Couleur chair	Jaune	Jaune Pâle	Jaune clair
Proportion de gros tubercules	Forte	Fort à très forte	Forte à très forte
Dormance	Très long	Moyen	Court
Sensibilité aux maladies - Gale - Mildiou	 Sensible Moyennement	 Sensible Assez sensible	 Sensible Sensible
Aptitude à la conservation	Bonne	Très bonne	Bonne
Sensibilité égermage	Peu sensible	Peu sensible	Moyen

2. La culture de la pomme de terre

Le cycle moyen de la plante de pomme de terre pour les variétés traditionnellement cultivées en Afrique de l'Ouest varie de 90 à 110 jours. La plante passe par différents stades qui demandent des interventions spécifiques.

La pomme de terre apprécie les sols légers, assez profonds, riches en éléments nutritifs. Une fumure de fond en potassium est conseillée. La plantation se fait dans un sol bien ressuyé et suffisamment rafraîchi par arrosage. La parcelle ne doit pas avoir une trop grande pente ce qui favoriserait l'érosion. Les plants (tubercules entiers ou découpés en fragments portant des germes) sont soigneusement placés dans les poquets, germes vers le haut, à environ 10 cm de profondeur, puis recouverts avec de la terre fine en évitant d'endommager les germes.

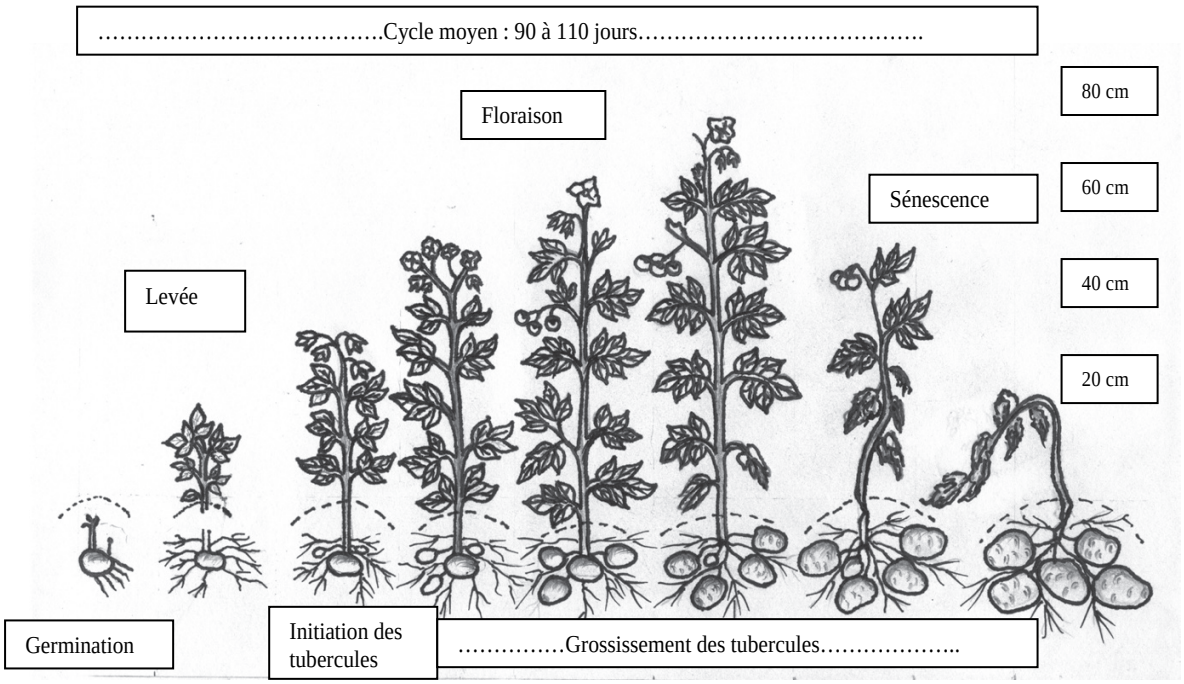


Figure n° 3 : Les différentes étapes du cycle phénologique moyen de la pomme de terre (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009)

Le tubercule de pomme de terre nouvellement récolté entre en dormance pour une période d'environ deux mois avant de commencer à germer. Le tubercule en dormance est dit aussi en repos végétatif. A ce stade, on ne distingue pas de développement de germes au niveau des yeux. On ne peut donc pas le planter à ce stade. C'est là tout l'intérêt d'identifier le meilleur moment de planter un tubercule.

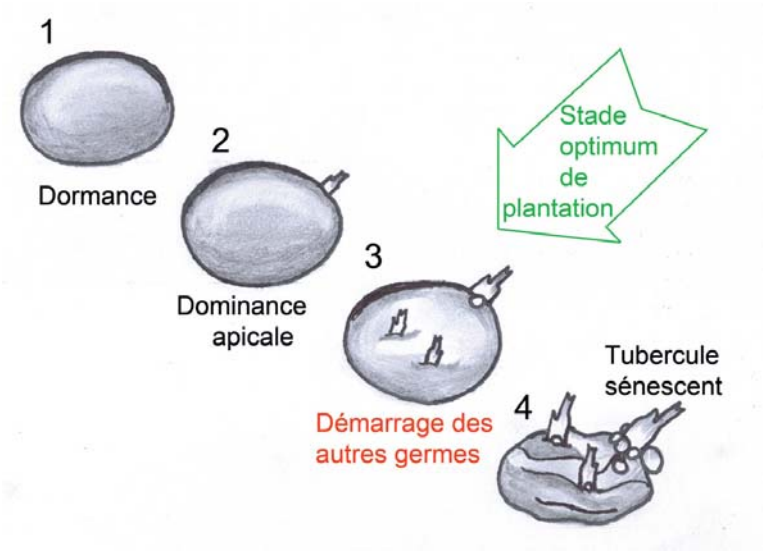


Figure n° 4 : Appréciation du stade optimum de plantation d'un tubercule (plant) de semence (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009).

Parmi les quatre stades présentés à la figure 4, le troisième constitue le plus adéquat à une opération de plantation. A ce stade, plusieurs germes se sont développés à la lumière diffuse dans un endroit aéré. Ils sont trapus, colorés et robustes. Il s'agit du stade optimal de plantation. Chaque tubercule va donner plusieurs tiges. Au niveau du stade (2), un seul germe apical se développe à l'extrémité du tubercule, c'est le phénomène de dominance apicale. Planté à ce stade, le tubercule ne donnera probablement qu'une seule tige et le rendement sera diminué. Enfin, les tubercules ayant atteint le stade (4) sont généralement desséchés, rabougris et présentent de longs germes. A la base de ces germes, on trouve déjà des petits tubercules caractéristiques du phénomène de 'boulage'. Ce type de matériel étant considéré comme trop vieux, il peut ne pas lever ou dans le meilleur des cas, avoir une période de végétation très réduite et donner une récolte infime (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009).

Le marché étant demandeur de tubercules de gros calibres, il est plus intéressant pour le petit paysan de sectionner les tubercules en fragments comprenant 1 à 2 germes. Cette opération permet d'utiliser des quantités moins importantes de plants à l'hectare et par conséquent de réduire ses charges qui représentent 52 % du coût moyen d'une culture.

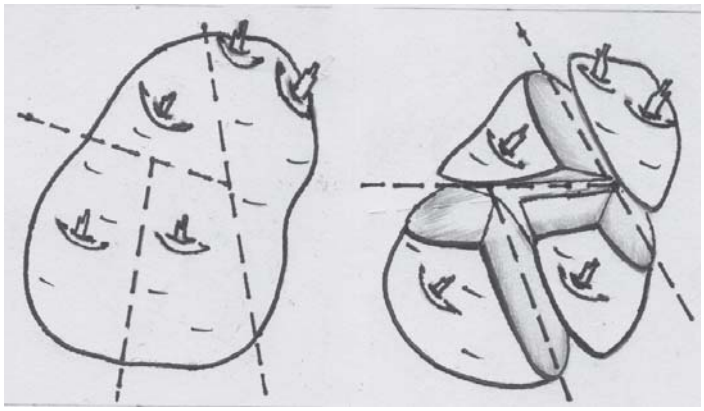


Figure n° 5 : Sectionnement d'un tubercule (plant) de pomme de terre en vue d'obtenir plusieurs fragments portant des germes (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009)

Lors de la plantation des plants de semences de pomme de terre, les espacements entre les poquets varient généralement de 30 à 40 cm et de 55 à 60 cm entre les lignes. Dès que les plants ont 20 à 25 cm de haut, on procède au buttage en remontant la terre autour des pieds. Cette opération favorise la formation des tubercules et évite leur éventuel verdissement. Les buttes sont perpendiculaires à la pente. Les pommes de terre dites "primeurs" seront cueillies avant leur maturité, c'est pourquoi elles ne se conservent pas.

La récolte en vue de la conservation n'a lieu que lorsque les feuilles sont complètement fanées. La conservation se fait dans un local aéré, sec et à l'abri de la lumière. Il est conseillé d'éliminer les tubercules blessés pour éviter les pertes.

En matière de fertilisation, la pomme de terre a des besoins en potasse équivalents au double de ceux en azote ou acide phosphorique comme indiqué dans le tableau 2.

Tableau n° 2 : Besoins en éléments fertilisants (kg/ha) d'une culture de pomme de terre.

Elément	**formule**	**Quantités exportées (kg)**	**Besoins (kg)**
Azote	N	80	80
Acide phosphorique	P_2O_5	40	80
Potasse	K_2O	150	160
Magnésie	MgO	10	10
Soufre	SO_2	8	8

(Source : FAO, 2008)

La plante de pomme de terre ayant des difficultés à absorber le phosphore, il est conseillé d'apporter le double de la quantité exportée.

2.1. La distribution de la culture

Les plus anciens restes de tubercules de pommes de terre (et aussi de patates douce), datent de 8000 ans avant Jésus-Christ (FAO, 2008). Ils ont été retrouvés dans des grottes du canyon Chilca au Pérou (à 65 km au sud-est de Lima). La pomme de terre a été introduite en Europe vers la fin du XVI^{e} siècle à la suite de la découverte de l'Amérique par les conquistadors espagnols. Entre 1541 et 1612, grâce à Jean Bauhin, frère de Gaspard Bauhin, directeur des « Grands-Jardins » de Montbéliard, la pomme de terre était consommée en France pour pallier la famine qui sévissait dans le Comté indépendant de Montbéliard. En 1757, elle fut cultivée en Bretagne, alors en période de disette, dans la région de Rennes. Mais c'est surtout Antoine Parmentier, de retour d'un séjour en captivité en Prusse, qui fait la promotion de la pomme de terre comme aliment humain et réussit à développer son usage dans toutes les couches de la société française. Il avait été capturé par les Prussiens pendant la guerre de Sept Ans (1756-1763) et avait découvert à cette occasion la pomme de terre, principale nourriture, fournie aux prisonniers. À la suite d'une terrible disette survenue en 1769, l'académie de Besançon lance en 1771 un concours sur le thème suivant : « Indiquez les végétaux qui pourraient suppléer en cas de disette à ceux que l'on emploie communément à la nourriture des hommes, et quelle en devrait être la préparation. » Parmentier remporte le premier prix, devant d'autres concurrents qui avaient eux aussi rédigé un mémoire sur la pomme de terre, preuve que l'usage de ce tubercule était vraiment à l'ordre du jour. Au XIX^{e} siècle, la pomme de terre était devenue l'aliment prédominant chez les Irlandais. L'épidémie de mildiou dans les années 1840 est à l'origine d'une grande famine et d'une importante émigration vers les États-Unis et le Canada. La pomme de terre est aujourd'hui cultivée dans plus de 150 pays sous pratiquement toutes les latitudes habitées (ANONYME, 2010 **;** FAO, 2008 ; CLEMENT, 1981 ; CIP-CGIAR, 2008).

En octobre 1995, la pomme de terre fut la première culture alimentaire expérimentée dans l'espace par la NASA lors d'une mission de la navette spatiale Columbia (TUCKER, 2010).

2.2. La production de la pomme de terre

En 2007, la production mondiale de pomme de terre est estimée par la FAO, à 323,5 millions de tonnes, pour une surface cultivée de 18,8 millions d'hectares, soit un rendement moyen de 17,23 tonnes par hectare (t/ha). Ce chiffre n'inclut pas les plants (semences) qui représentent 30,8 millions de tonnes (Mt), soit environ 10 % du total. Cette culture se situe à la cinquième place (en tonnage) des productions agricoles au niveau mondial, après la canne à sucre, le maïs, le riz et le blé et devant la betterave à sucre.

C'est la plus importante dicotylédone alimentaire. Les cinq premiers producteurs sont dans l'ordre la Chine (64,8 Mt), la Russie (36,8 Mt), l'Inde (28,6 Mt), les États-Unis (20,4 Mt) et l'Ukraine (19,1 Mt). Ils représentent la moitié de la production mondiale. Dans ce classement, l'Union européenne prendrait la première place avec 63,2 t. Selon l'importance du tonnage, on retrouve la Pologne (11,8 Mt), l'Allemagne (11,6 Mt), la France (7,2 Mt), les Pays-Bas (6,9 Mt) et le Royaume-Uni (5,6 Mt). Ils représentant 67,6 % du total européen (FAOSTAT, 2007).

Une comparaison par continent montre que l'Europe (40,54 %) et l'Asie (40,45 %) concentrent 81 % de la production totale contre 13,2 % pour les Amériques, 5,5 % pour l'Afrique et 0,5 % pour l'Océanie. Le rendement moyen le plus élevé est obtenu en Océanie avec 38,57 t/ha contre 25,61 t/ha dans les Amériques, 18,27 t/ha en Europe, 15,83 t/ha en Asie et 10,92 t/ha en Afrique (FAOSTAT, 2007).

La production totale de pomme de terre estimée en 2007 par FAOSTAT est de 16,7 millions de tonnes (Mt) pour toute l'Afrique. Les cinq premiers pays africains producteurs de pomme de terre sont respectivement l'Egypte (2,6 Mt), le Malawi (2,2 Mt), l'Afrique du Sud (1,97 Mt), l'Algérie (1,9 Mt) et le Maroc (1,45 Mt).

En Afrique de l'Ouest francophone, la quantité totale de pomme de terre produite est de 156.054 tonnes. Les cinq principaux pays producteurs de pomme de terre sont le Mali (114.478 tonnes soit 70 %), le Niger (18.000 tonnes), la Guinée (11.876 tonnes), le Sénégal (10.000 tonnes) et le Burkina Faso (1.700 tonnes) (FAOSTAT, 2007).

Pourtant c'est en Afrique que la culture de la pomme de terre a connu ces dix dernières années l'accroissement le plus élevé (supérieur à 50 %). L'Asie suit avec une progression de 20 %.

Selon LAWRENCE (2004) l'accroissement de la production de pomme de terre en Afrique au Sud du Sahara notamment au Niger se serait réalisé au détriment des cultures de manioc et patate douce.

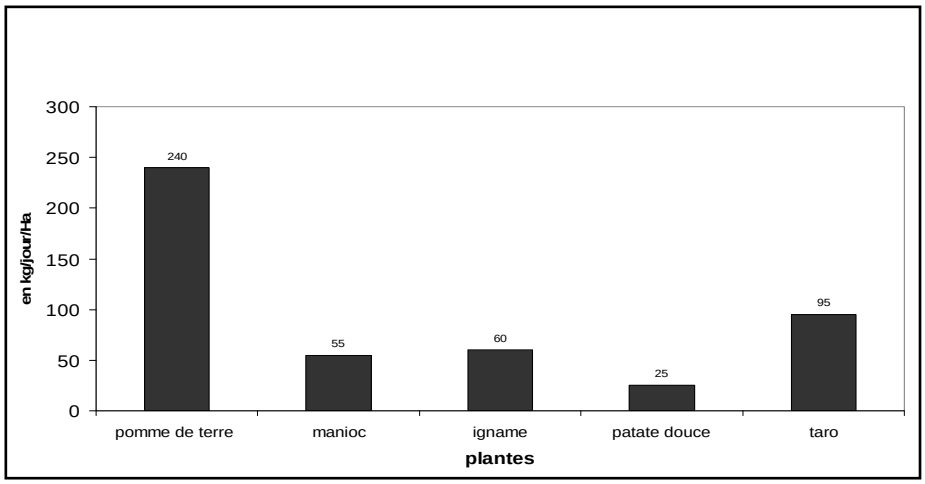


Figure n° 6 : Comparaison de la pomme de terre à d'autres plantes à racines (manioc) et tubercules (igname, patate douce et taro) cultivées en Afrique en fonction du nombre de kg produits par jour d'occupation du sol et par hectare (VANDERHOFSTADT, 2007).

2.3. Les utilisations de la pomme de terre

Plus des deux tiers des tubercules de pomme de terre produits ont été destinés à un usage alimentaire (FAO, 2008). Les tubercules frais peuvent être cuits au four, bouillis, frits et accommodés de mille manières: purée, crêpes, boulettes, soupe, salades, au gratin.... Dans la partie septentrionale du Niger (l'Aïr), la cuisson se fait en enterrant les tubercules et en attisant un feu juste au-dessus (CORUS-Niger, 2006).

Les produits transformés, à valeur ajoutée comme les pommes de terre surgelées occupent une place de choix dans le monde. Il s'agit essentiellement des frites servies dans les restaurants et les chaînes de restauration rapide du monde entier. Les chips sont une autre forme de transformation très prisée dans les pays développés. Les flocons de pommes de terre déshydratés et les granules sont obtenus par séchage de pommes de terre réduites en purée jusqu'à obtention d'un taux d'humidité de 5 à 8 pour cent. On obtient un autre produit déshydraté, la farine de pomme de terre, par broyage de tubercules entiers qui sont précuits et conservent le goût de la pomme de terre. Cette farine, sans gluten et riche en amidon, est utilisée par l'industrie alimentaire comme liant des produits carnés et pour épaissir les sauces et les soupes. Une partie de la production de pomme de terre est transformé en produits dérivés et en ingrédients alimentaires pour nourrir les vaches, les porcs et les poulets ou en

fécule destinée à l'industrie. Elle peut aussi être réutilisée sous forme de plants pour la prochaine saison agricole. Les feuilles des plants de pomme de terre sont très appétissantes pour le petit et le gros bétail.

En Europe de l'Est et en Scandinavie, les pommes de terre sont broyées puis soumises à un traitement thermique pour convertir la fécule en sucres, qui fermentent et sont distillés afin de produire des boissons alcoolisées, comme la vodka et l'aquavit. La fécule de pomme de terre est aussi utilisée par les industries pharmaceutiques, textile, du bois et les papeteries comme adhésif, liant, apprêt et mastic, ainsi que par les compagnies qui perforent les puits pétroliers pour laver les puits. Il constitue un substitut 100 pour cent biodégradable des polystyrènes et autres matières plastiques servant par exemple à fabriquer les assiettes et les couverts jetables.
L'idée d'une pelure de pomme de terre utilisée comme pansement a pris naissance en Inde. La pelure s'avère efficace pour le traitement des brûlures. Elle n'adhère pas aux plaies, car elle y retient l'humidité. La peau se renouvelle donc plus rapidement. (ANONYME, 2007).

Le tubercule de pomme de terre est une source importante de glucides mais aussi de protéines et de vitamine C (FAO, 2009 ; OCDE, 1997). Les teneurs moyennes en diverses substances de la pomme de terre sont déclinées dans le tableau 3.

Tableau n° 3 : Composition chimique du tubercule de pomme de terre (pour 100 g de matière fraîche)

Constituants	Teneur moyenne (g / 100 g)	Ecarts observés (g / 100 g)
Eau	**77,5**	63 à 86
Matière sèche :	22,5	13 à 36
- Glucides (= sucre)	19,4	13 à 30
- Protides (= acide aminés)	2	0,7 à 4,6
- Lipides (= acide gras)	0,1	0,02 à 0,96
- Minéraux	1	0,4 à 1,9

(Source : FAO, 2009)
Comme on peut le constater dans le tableau 3, la pomme de terre fraîche est composée en moyenne de 20 % d'amidon et environ 80 % d'eau.

Une comparaison de la valeur alimentaire de la pomme de terre aux valeurs alimentaires d'autres tubercules comme la patate douce, le taro et l'igname ainsi qu'à la racine du manioc est rapportée au tableau 4.

Tableau n° 4 : Comparaison de la composition chimique du tubercule de pomme de terre à celle des autres tubercules (patate douce, taro et igname) et le manioc

Constituants	Teneur moyenne (%)				
	Pomme de terre	Patate douce	Taro	Igname	Manioc
Eau	77,5	68,0	62,7	75,0	61,0
Glucides	19,4	28,0	29,8	23,0	33,6
Protéines	2,0	1,5	3,0	2,0	1,2
Lipides	0,1	ND	0,2	0,1	0,4
Minéraux	1,0	1,6	1,3	ND	1,2

(Source : FAO, 2009 ; Ministère Français de la Copération, 1993)

Le taro présente les meilleurs tenneurs en protéines (3,0 %), glucides (29,8 %) et lipides (0,2 %). Les tenneurs en protéines de la pomme de terre et de l'igname sont similaires (2,0 %). Le manioc est la plus énergétique avec 33,6 % de glucides.

La consommation annuelle de la production locale de pomme de terre ne dépasse pas 2,4 kg/an/personne en Afrique de l'Ouest contre une moyenne européenne de 90 kg/an/personne (FAOSTAT, 2007). La consommation de pommes de terre dans les pays en développement a augmenté ces dernières années, elle est dominée par les pommes de terre fraîches (ANONYME, 2007 ; FAO, 2008)

2.4. La commercialisation de la pomme de terre

En 2007, les exportations de pommes de terre ont porté au niveau mondial sur 15,5 millions de tonnes dont 5 millions de tonnes représentant 32,3 % sont commercialisés sous forme de surgelés. L'essentiel du commerce international de la pomme de terre se réalise dans l'Union européenne. Les quatre premiers pays exportateurs (Pays-Bas, France, Allemagne et Belgique) ont réalisé plus de la

moitié des exportations totales de pommes de terre fraîches (54,7 %). Ces pays figurent également parmi le dix premiers pays importateurs.

L'accroissement de la production et de la demande dans les pays en développement (p. ex. Amérique du Sud, Asie et Afrique) devrait créer des débouchés pour les pommes de terre de semence et les techniques de transformation et offrir des possibilités d'investissement dans ce domaine (ANONYME, 2007). L'industrie de la pomme de terre doit créer la demande par la mise au point de nouveaux produits à valeur ajoutée et par l'accession à de nouveaux marchés, afin d'assurer son essor.

Pour un prix de vente minimum de 125 F CFA/kg le chiffre d'affaires de la filière peut être estimé à un peu moins de 20 milliards de F CFA/an soit plus de 30 millions d'euros pour les 5 principaux pays producteurs de pomme de terre d'Afrique de l'Ouest francophone. La filière pomme de terre, dans ces pays, a donc une importance économique réelle (FAOSTAT, 2007).

3. Les contraintes liées à la production de la pomme de terre

3.1. Les contraintes pédoclimatiques

3.1.1. Les exigences édaphiques

La plupart des sols conviennent à la culture de la pomme de terre à condition qu'ils soient bien drainés et pas trop pierreux. Les sols profonds et meubles sont les meilleurs. En général, la pomme de terre se développe mieux dans des sols à textures plus ou moins grossières (sablonneuse ou sablo-limoneuse) que dans des sols à texture fine et battante (argileuse ou argilo-limoneuse) qui empêchent tout grossissement de tubercule. La pomme de terre peut donner de bons rendements dans des sols légèrement acides (pH = 5,5 à 6) par contre une alcalinité excessive du sol peut causer le développement de la gale commune sur les tubercules. La pomme de terre est relativement tolérante à la salinité par rapport aux autres cultures maraîchères. Cependant, un taux de salinité élevé peut bloquer l'absorption de l'eau par le système racinaire. Lorsque la teneur en sel est élevée, le point de flétrissement est atteint rapidement. On peut réduire la salinité d'un sol en le lessivant avec une eau d'irrigation douce (ANONYME, 1999).

3.1.2 Les exigences climatiques

Les températures élevées stimulent la croissance des tiges ; par contre, les basses températures favorisent la croissance des tubercules. La pomme de terre est très sensible au gel, le zéro de végétation est compris entre 6 et 8°C. Les températures optimales de croissance des tubercules se situent aux alentours de 18°C le jour et 12°C la nuit. Une température du sol supérieure à 25°C est défavorable à la tubérisation (ANONYME, 1999; VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009).

La croissance végétative de la pomme de terre est favorisée par la longueur du jour élevé (14-18 heures). Une photopériode inférieure à 12 h favorise la tubérisation. L'effet du jour long peut être atténué par les basses températures.

3.2. Les contraintes techniques

Les contraintes techniques sont, pour l'essentiel, liées aux caractéristiques biologiques de la pomme de terre. Il s'agit particulièrement de :

- La faible multiplication de la pomme de terre par la semence issue de la reproduction sexuée (graine);
- Le coût élevé de la recherche pour un maintien de la qualité du matériel de propagation à travers diverses multiplications rendues nécessaires du fait de la forte sensibilité de la plante aux maladies aériennes et telluriques ;
- La demande de grandes quantités de semences par hectare (1 à 2 tonnes), et qui représentent près de la moitié des charges culturales ;
- La restriction phytosanitaire sur les mouvements de germoplasmes, semences et pomme de terre de consommation ;
- Le caractère périssable des tubercules dû à leur forte teneur en eau (JOUAN, 2009 ; CLEMENT, 1981).

3.3. Les contraintes socioéconomiques

Au nombre des principales contraintes socioéconomiques, il faut noter le caractère onéreux des coûts de production, notamment une forte intensité de main d'œuvre, une grande quantité de tubercules de semences et d'intrants tels que les engrais et les pesticides. Ces coûts étant souvent hors de portée des petits producteurs, il est nécessaire d'aider ces derniers à accéder au crédit agricole. Il est aussi constaté

une forte fluctuation entre les prix offerts aux petits producteurs à la récolte soit environ 175 F.CFA le kg de pomme de terre contre 800 F.CFA, voir plus, au profit des intermédiaires et commerçants à la soudure soit 4 à 6 mois plus tard. Selon JOUAN (2009) d'autres contraintes à l'accès aux marchés émergeants pour les petits producteurs sont constituées par les difficultés à satisfaire les besoins du transport des récoltes des zones de production aux centres de consommation, et de celui de l'emballage des produits à présenter aux clients.

3.4. Les contraintes biotiques

Le cortège parasitaire autour de la pomme de terre est large et varié. Les ennemis de la pomme de terre sévissent en végétation et lors de la conservation, avec pour conséquences immédiates les pertes de production et la dégénérescence du matériel végétal. Les contraintes biotiques majeures sont le fait des insectes, des acariens, des mauvaises herbes, des maladies (fongiques, virales et bactériennes) et des rongeurs.

Les principaux ravageurs de la pomme de terre sont la teigne de la pomme de terre *Phtorimaea operculella* Zeller (Gelechiidae) qui infeste les tubercules de la pomme de terre et différents organes chez les autres Solanacées. La coccinelle des cucurbitacées *Henosepilacna elateri* (Coleoptera-Coccinellidae) dont les larves et les adultes sont observés généralement à la face inférieure des feuilles qu'ils dévorent, n'épargnant que les nervures. Le ver gris *Agrotis ypsilon* (Lepidoptera-Noctuidae) qui découpe le collet des tiges nuitamment et se cache sous des débris le jour venu. Les mouches blanches (*Bemisia* spp.) vivent en grand nombre sous les feuilles de la plante hôte. Les adultes de cet insecte piqueur-succeur sont de très petits insectes ailés et leur couleur est entièrement blanche.

La courtilière *Gryllotalpa africana* (Orthoptera-Gryotalpidae) appelée aussi "taupe-grillon" ou "jardinière", est un redoutable ravageur des jardins potagers. Elle mesure 4 à 5 cm de longueur et vit dans le sol où elle creuse des galeries, bouleversant les semis et dévorant les racines et les tubercules sur son passage. Elle est surtout active pendant la nuit.

Les pucerons (Homoptères) sont des insectes très prolifiques, le plus souvent verts ou noirs, vivant en colonies. Ils se montrent nuisibles à de nombreuses plantes d'ornement et à la plupart des cultures fruitières et potagères. Il en existe de très nombreuses espèces. *Aphis craccivora* sur pomme de terre. Les termites causent également d'importants dégâts aux plantes en général et à la pomme de terre en particulier. C'est ainsi qu'ils peuvent miner les tiges, les racines et tubercules, provoquant ainsi l'affaiblissement ou bien le jaunissement de celles-ci. Enfin, les criquets et les sautériaux causent de

sérieux dégâts à la pomme de terre en dévorant les feuilles. Ils sont surtout dangereux pour les jeunes pousses.

Plusieurs espèces d'acariens se montrent très nuisibles aux cultures en général et à la pomme de terre en particulier. Les infestations qui s'observent en début de saison chaude peuvent conduire à la perte totale de la production. Les deux principales espèces d'acariens rencontrés sur la pomme de terre sont l'acarien rouge (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) et *Tetranychus urticae* (Koch.) encore connu sous le nom d'acarien jaune commun.

Les nématodes parasites de la pomme de terre sont essentiellement les nématodes à kystes du genre *Globodera* (*Globodera rostochiensis* et *Globodera pallida*), les nématodes à galles (*Meloidogyne spp*) et les nématodes libres appartenant au genre *Ditylenchus* (*Ditylenchus dipsaci* et *Ditylenchus destructor*).

Deux principales mauvaises herbes sont signalées sur la pomme de terre. Il s'agit de l'*Orobanche*, une plante parasite de la famille des Orobanchacées et du Chiendent (*Cynodon dactylon)*, une poacée pérenne capable de se reproduire végétativement (par rhizomes) ainsi que sexuellement (par ses graines).

Toutes les parties de la pomme de terre sont attaquées par de nombreuses maladies (CLEMENT, 1981 ; JEAN, 2000). Le Mildiou est considéré comme la maladie la plus grave de la pomme de terre à l'échelle mondiale. Il est dû à *Phytophthora infestans*, un champignon qui détruit feuilles, tiges et tubercules. La maladie a été mentionnée pour la première fois aux Etats-Unis, en 1843, puis au Canada l'année suivante. Le mildiou atteignit l'Europe entière dès 1845 et fût à l'origine d'une famine en Irlande en 1846 (CIP-CGIAR, 2008). Le Flétrissement dû à *Ralstonia solanacearum* est la principale bactériose des Solanacées en générale et de la pomme de terre en particulier. Il provoque de graves pertes dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées. La Jambe noire de la pomme de terre est aussi une infection bactérienne. Elle est due à *Erwinia chrysanthemi* et se caractérise par la pourriture des racines dans le sol et durant le stockage. Le Rhizoctone brun est causé par le champignon *Rhizoctonia solani*. Le tubercule atteint par cette maladie porte à sa surface de petits amas noirs de sclérotes même après lavage. La Gale due à *Streptomyces scabies*, est caractérisée par des lésions rondes à irrégulières de couleur marron clair à brune pouvant être soit en surface et liégeuses, soit légèrement en saillie et éruptives ou encore creuses et profondes. Ces taches superficielles sur les tubercules apparaissent dès la récolte et ne se développent pas pendant le stockage (JEAN, 2000). Cependant, elles peuvent déprécier la valeur marchande de la récolte. De nombreuses maladies virales sont observées sur les plants de pomme de terre. Elles sont provoquées par une diversité de virus,

notamment le Virus de l'enroulement, le Virus X, le Virus Y, le Virus A, le Virus S, le Virus M, etc.). D'une manière générale, les maladies virales sont caractérisées de maladies de dégénérescence.

D'autres ravageurs atypiques sont observés sur les cultures de pomme de terre. Il s'agit des oiseaux et des margouillats s'attaquent aux jeunes pousses. Les rongeurs attaquent les tubercules au champ et au cours du stockage. Si aucune protection n'était apportée à la culture de la pomme de terre, les pertes qui lui seraient occasionnés par ses différents ennemis pourraient atteindre 71% (OERKE et DEHNE, 2004).

3.5. Les politiques agricoles dans la production de la pomme de terre

L'absence d'une véritable politique de développement de la filière pomme de terre est à la base des contraintes techniques et socioéconomiques auxquelles font face les petits producteurs de pomme de terre. Les producteurs sont laissés à eux-mêmes avec seuls partenaires quelques ONG, d'où la timidité ou l'absence de transfert de technologie. Pourtant, la pomme de terre peut jouer un rôle important dans la réduction de la pauvreté dans les pays en développement d'où la nécessité pour l'Etat et les privés de supporter ce secteur. JOUAN (2009) note que malgré un financement limité, une recherche substantielle est menée en Afrique. Les domaines abordés selon lui, ont trait à la gestion intégrée en matière de prévention et de contrôle du Mildiou, ceci inclut le développement de cultivars résistants. Il y a aussi le contrôle intégré du Flétrissement bactérien avec un accent particulier mis sur l'identification de l'infection latente et des pratiques de gestion intégrée des maladies (IDM), pour différentes zones agroécologiques. Il conclut que pour obtenir de bons résultats, il serait prioritaire de favoriser un partenariat et une coopération agissante. Pour lui, le point critique concerne le transfert des connaissances relatives aux variétés, la gestion des semences, insectes, maladies, systèmes de production, stockage, commercialisation, etc. aux producteurs. Il apparaît très clairement que la pomme de terre peut jouer un grand rôle dans la réduction de la pauvreté et promouvoir un développement en Afrique. Pour cela, il est indispensable de joindre toutes les forces des secteurs publics et privés.

CHAPITRE 2 : LE POINT DES TRAVAUX DE RECHERCHES SUR LES ENNEMIS DE LA POMME DE TERRE

INTRODUCTION

Les pertes totales subies par la culture de la pomme de terre sont de 32,3 % dont 21,8 % sont imputables aux maladies fongiques, bactériennes et virales ; 6,5% sont attribuées aux insectes et 4% sont occasionnés par les adventices (CRAMER, 1967). Le mode de multiplication par organes végétatifs (principalement le tubercule), au lieu de celle dite sexuée (graines), permet la transmission d'une génération à l'autre de facteurs de dégénérescence variétale liés aux agents pathogènes comme les virus, les bactéries et les champignons (SOLSTNER, 1983). Plus de 200 maladies s'attaquent à la pomme de terre tant en végétation qu'en conservation (ANONYME, 2010).

La Fédération Nationale des Producteurs de Plants de Pomme de Terre (FNPPPT) de France et le Groupement National Interprofessionnel des Semences et plants (GNIS) ont édité un recueil de fiches descriptives des maladies et ravageurs de la pomme de terre (ANONYME, 2000 ; 2008). Les pathologies rencontrées au Niger, dans les régions de l'Aïr et de Tillabéri (ADAM, 1996; ADAMOU, 2007 ; CORUS, 2006 ; MDR, 1982) sont la Gale commune (*Streptomyces scabies*), des Viroses diverses (Mosaïques, Rosettes, Nervures pourpres), la Gale poudreuse (*Spongospora subterranea*), l'Alternariose (*Alternaria solani*), la Sclérotiniose (*Sclerotium rolfsii*), la Rhizoctoniose (*Rhizoctonia solani*) et la Verticiliose (*Verticilium dahliae*). La Gangrène due à *Phoma* spp. est abondamment rencontrée sur les tubercules entreposés. Le Mildiou dû à *Phytophthora infestans* est peu observé sur des plants importés d'Europe où ce pathogène est redouté (CIP-CGIAR, 2008 ; OCDE, 1997).

1. Les maladies fongiques de la pomme de terre

Elles sont les plus nombreuses. Les plus décrites sont le Mildiou, l'Alternariose, la Sclérotiniose, la Rhizoctoniose, la Verticiliose, la Gangrène et plus rarement la Gale poudreuse. Le Mildiou est dû à un champignon nommé *Phytophthora infestans*. Il a été mentionné pour la première fois en Allemagne, en 1843. La maladie atteignit l'Europe dès 1845 et fut à l'origine d'une famine en Irlande (CIP-CGIAR, 2008 ; FAO, 2008). Le champignon attaque les feuilles, les tiges et les tubercules qu'il détruit entièrement. Le tubercule infecté constitue la première source d'inoculum. A son tour, la plante malade peut contaminer les tubercules lors de la récolte. Sur feuilles, la maladie provoque des taches de couleur vert foncé devenant brun foncé avec un halo jaunâtre à la face supérieure. Sur la face inférieure apparaît un duvet mycélien blanchâtre. Sur tige et hampe florale, on constate des lésions

brunes ou noirâtres. Les tubercules atteints restent fermes mais présentent en surface des zones de pelures brun rougeâtres. Des filaments bruns diffus sont observés au niveau des tissus internes. D'autres organismes peuvent envahir les tubercules infectés et provoquer leur pourriture (JEAN, 2000). Le temps augmente la gravité de la maladie après la première infection car elle peut se propager rapidement (FAO, 2008). *Phytophthora erythroseptica* est responsable de la pourriture rose de la chaire du tubercule de pomme de terre. Le sol contaminé et les tubercules infectés sont les principales sources d'inoculum. Le symptôme caractéristique est la coloration rose de la chaire qui survient entre 20 à 30 minutes après que le tubercule ait été tranché (JEAN, 2000).

L'Alternariose est provoquée par *Alternaria solani* et *Alternaria alternata*. Les plus gros dégâts sont occasionnés en climat chaud mais la maladie est plus sévère lorsque les cultures sont irriguées. Elle semble être favorisée par la sénescence des plantes. Sur les feuilles, on observe des taches nécrotiques avec présence d'anneaux concentriques. Les tubercules atteints présentent des taches brunes, déprimées, aux contours en relief, peu visibles à la récolte. Les tissus sous-jacents ne sont pourris que sur une faible profondeur. Les résidus de cultures, les sols contaminés et les tubercules infectés sont les principales sources d'inoculum (JEAN, 2000).

La Sclérotiniose due à *Sclerotium sclerotiorum* et *Sclerotium rolfsii* se caractérisent en végétation par une pourriture de la base des tiges avec présence d'un mycélium blanchâtre, avec présence de sclérotes noirs à l'intérieur de celle-ci. Les tubercules atteints pourrissent au champ, pendant le transport ou lors de leur conservation. La pourriture démarre par le talon. Un mycélium blanc, souvent en forme d'éventail, se développe en général sur les tubercules infectés et produit de petits sclérotes d'abord blancs, puis semblables à des graines de moutarde. Après avoir pris une consistance friable, les tubercules sont la plupart du temps envahis par des organismes secondaires responsables de pourritures molles tels que *Penicillium* spp. La maladie peut être prévenue en évitant les excès d'azote.

La Rhizoctoniose est causée par *Rhizoctonia solani*. Les premiers signes sont caractérisés par la présence des sclérotes dans le sol ou sur le tubercule mère. Au stade plantule, les germes, stolons et radicelles présentent des taches brunes profondes pouvant entraîner leur mort. Le plant adulte présente un enroulement et un jaunissement du feuillage, il porte de petits tubercules à l'aisselle des feuilles. Les parties infectées présentent des nécroses brunes, sèches, avec développement d'un manchon mycélien blanchâtre au niveau du sol. Le tubercule atteint porte à sa surface de petits amas noirs de sclérotes même après lavage.

La Verticiliose est une trachéomycose causée par *Verticilium dahliae* et *Verticilium alboatrum* qui infectent les plants par les racines, les blessures et les germes. Ils provoquent un jaunissement suivi d'un flétrissement total ou unilatéral de la feuille, de la tige ou de la plante avec une coloration brune

des vaisseaux. Les tubercules atteints présentent des taches brunes au niveau de l'anneau vasculaire, pouvant évoluer en cavités. La Gangrène due à *Phoma* spp. se caractérise par la pourriture sèche du tubercule. Elle est abondamment rencontrée sur les tubercules entreposés. La contamination se fait lors de la récolte ou de la manutention par adhérence du sol pollué sur les blessures. La coupe d'un tubercule montre une pourriture sèche, de couleur brun foncé, où les pycnides se développent dans les cavités existantes. L'espèce *Spongospora subterranea* est l'agent responsable de la Gale poudreuse. La maladie est favorisée par les basses températures et la présence d'eau. Elle provoque des pustules qui éclatent et libèrent une masse brunâtre poudreuse contenant des ballonnets de spores. Les symptômes ultimes correspondent à de nombreuses petites dépressions liégeuses sur les tubercules, entourées de morceaux d'épidermes déchirés. Une observation au microscope des ballonnets de spores confirme le diagnostic. La lutte consiste en l'utilisation de tubercules de semences saines et la pratique d'une rotation d'au moins 5 ans (DALLAIRE, 2008).

Les agents de pourritures sèches sont des champignons du genre *Fusarium* (*F. solani* var. *coeruleum*, *F. roseum* var. *sambucinum*, *F. oxysporum*) qui infectent surtout les tubercules par des blessures. La pourriture sèche est un des plus graves problèmes de conservation de la pomme de terre. Au début, les tubercules stockés présentent des lésions brunâtres, légèrement renfoncées, qui s'étendent par la suite en surface et en profondeur. Dans le tubercule pourri se forment des cavités internes qui se couvrent d'un mycélium (tissu fongique) de couleur variable suivant l'espèce. Des rides concentriques typiques apparaissent à la surface du tubercule et le mycélium externe est alors bien visible. Le tubercule se dessèche et se momifie. Les températures élevées favorisent le développement de cette maladie. Les mesures de contrôle des pourritures sèches consistent à éviter de blesser les tubercules lors des manipulations, à éliminer les tubercules atteints de pourritures et bien sécher les tubercules à la récolte et favoriser la cicatrisation des blessures (FAO, 2008).

La gangrène est une maladie opportuniste qui survient suite aux blessures occasionnées aux tubercules. Elle est causée par *Phoma exigua* var. *exigua et P. exigua* var. *foveata*. La gangrène peut constituer un sérieux problème dans les climats frais et humides. Elle est particulièrement fréquente dans les entrepôts à basse température. Les spores provenant des tiges ou des tubercules malades contaminent les autres tubercules à travers les ouvertures naturelles ou à la suite de dommages survenus lors de la récolte ou du transport. De petites dépressions sombres se forment sous la peau, s'agrandissent et se creusent, entraînant la pourriture du tubercule sous forme de cavités de couleur brun foncé à violacée. Les cavités sont souvent très profondes à contours bien définis dans lesquelles se développent des pycnides. Pour prévenir cette maladie, il est recommander de récolter dans les 3-4 semaines après le défanage, d'éviter les blessures aux tubercules lors des manipulations (récolte, conditionnement), d'aérer les lots de

pommes de terre récoltées pour favoriser la cicatrisation des blessures éventuelles et d'éliminer les tubercules infectés (ANONYME, 2008b).

2. Les maladies virales infectant la pomme de terre

Les maladies virales étaient perçues comme des dépérissements mystérieux en Europe à la fin du 18ème siècle, leur nature n'a été élucidée qu'au cours du 20ème siècle. La caractérisation biochimique et physique des entités infectieuses, se réalise seulement après la 2ème guerre mondiale grâce au microscope électronique qui mit en évidence les particules virales. Les recherches actuelles sont orientées sur les analyses moléculaires plus performantes. L'évolution intrinsèque des virus dans la pomme de terre est tributaire des mutations et recombinaisons génétiques spontanées. A cela s'ajoutent le brassage de plants infectés de provenances variées, la diversité des vecteurs, des systèmes et zones de production ainsi que des variétés (GUGERLI, 2008). Les symptômes les plus distinctifs sont des mosaïques, des rosettes et des nervures pourpres (ANONYME, 2008b; JEAN, 2000). Les principales caractéristiques des viroses les plus communes sont rapportées dans le tableau 5.

Le virus Y de la pomme de terre (PVY ou *Potato virus Y*, membre-type du genre Potyvirus) est l'un des virus les plus répandus parmi les virus de plantes d'importance économique. Il est transmis par au moins 70 espèces de pucerons selon un mode non persistant car le puceron ne peut le transmettre que dans un délai de une à deux heures après son acquisition par piqûre d'une plante contaminée. Le virus Y infecte de nombreuses plantes, appartenant notamment à la famille des Solanacées (tomate, poivron, piment, etc.). L'inoculum initial pour la contamination peut provenir de plantes malades de la parcelle ou du voisinage, de repousses infectées ou d'autres plantes hôtes (tomate, tabac, adventice). Le symptôme le plus observé est la mosaïque de la pomme de terre provoquée par le PVY, tandis que le PVY^{NTN} est responsable de l'apparition des nécroses sur les tubercules (GUGERLI, 2008).

Le virus de l'enroulement de la pomme de terre (*Potato Leaf Roll Virus*) est transmis par certains pucerons lorsqu'ils piquent le végétal pour s'alimenter de sa sève. Il est dit de type persistant car le puceron ne devient infectieux qu'après un temps de latence nécessité par le passage du virus dans l'intestin puis dans les glandes salivaires de l'insecte. Les pucerons sont aussi les agents responsables de la transmission du virus A (*Potato Virus A*). La maladie est transmise par un virus dit de type non persistant car il ne se conserve qu'une à deux heures dans le puceron devenu immédiatement infectieux après une piqûre sur une plante contaminée. En pratique, seuls les pucerons transmettent ce type de virus.

Le virus X de la pomme de terre (*Potato Virus X*) fait partie des Potexvirus et provoquent des symptômes de type mosaïque sur pomme de terre. La transmission du virus est assurée pratiquement de façon mécanique, par contact entre les plantes soumises à des frottements (vent, machines, hommes, animaux, etc.). A un degré moindre, on observe des contaminations par les insectes lors de piqûres sur plantes.

Le virus S (*Potato Virus S*) est un Carlavirus transmissible très facilement à la fois par contact, par les passages d'engins par exemple, et aussi par les pucerons (*Aphis nasturtii* et *Myzus percicae*) selon un mode non persistant (comme le virus Y). On distingue deux types de souches de virus S : Les souches PVS° ou ordinaires, très répandues en Europe (Allemagne, Pologne, Europe centrale) et les souches andines PVS^{A}, classées en parasites de quarantaine car provoquant des réactions beaucoup plus sévères.

Le Virus M (*Potato Virus M*) appartient au même groupe que le virus S (Carlavirus). Il est transmis par les pucerons selon un mode non persistant et sa gamme d'hôtes est limitée aux Solanacées et aux Légumineuses.

La sélection sanitaire joue un rôle central dans la lutte préventive contre les viroses qui infectent les espèces à multiplication végétative comme la pomme de terre. Elle se fait par contrôle visuel complété par des tests sérologiques (ELISA) et moléculaires basés sur l'amplification des ADN (GUGERLI, 2008).

Tableau n° 5 : Principales caractéristiques des viroses les plus communément rencontrées sur la pomme de terre

Nom générique	**Nom Commun**	**Famille**	**Vecteurs**	**Mode de transmission**	**Symptômes**	**Hôtes**
PVY = *Potato Virus Y* (ordinaire ou ancienne)	Virus Y de la pomme de terre	Potyvirus	+ de 70 espèces de pucerons	Non persistant	Mosaïque foliaire	Surtout Solanacées
PVY^{NTN} = *Potato Virus* Y^{NTN} (nouvelle, responsable de nécroses annulaires de tubercules)	Virus Y nécrogène	Potyvirus	+ de 70 espèces de pucerons	Non persistant	Mosaïque et frisolées sur feillage, Nécroses sur tubercules	Surtout Solanacées
PLRV = *Potato Leaf Roll Virus*	Virus de l'enroulement de la pomme de terre	Lutéovirus	Certains pucerons	Persistant	Jaunissement, enroulement puis durcissement des feuilles	Surtout Solanacées
PVA = *Potato Virus A*	Virus A de la pomme de terre	Potyvirus	Pucerons	Non persistant	Mosaïque légère, gaufrage et brillance des feuilles	Solanacées
PVX = *Potato Virus X*	Virus X de la pomme de terre	Potexvirus	Vent, machines, homme ou animaux	Mécanique	Mosaïques limitées par les nervures, frisolées	Surtout Solanacées
PVS^{O} = *Potato Virus* S^{O} (Ordinaire)	Virus S de la pomme de terre	Carlavirus	Pucerons	Non persistant	Eclaircissement du feuillage avec nervures enfoncées et extrémités inclinées	Solanacées et Chénopodiacées
PVS^{A} = *Potato Virus* S^{A} (Andine) NB : Parasite de quarantaine	Virus S de la pomme de terre	Carlavirus	Pucerons	Non persistant		
PVM = *Potato Virus M*	Virus M de la pomme de terre	Carlavirus	Pucerons	Non persistant	Feuilles en cuillère, léger enroulement	Surtout Solanacées

(Sources : ANONYME, 2008b ; ROUSSELLE et al., 1996)

3. Les maladies dues aux bactéries et aux phytoplasmes

Elles sont moins nombreuses par leur nombre, toutefois elles semblent être les plus dommageables sur pomme de terre. Les Gales communes dues à *Streptomyces scabies* et *Streptomyces* sp. Elles constituent la maladie la plus rencontrée sur tubercules. Les tubercules infectés et le sol contaminé constituent les principales sources d'inoculum. Les symptômes induits sont des lésions de formes variables pouvant prendre l'aspect des déformations et des crevasses. Ils peuvent être superficiels ou réticulaires, proéminents ou profondes en cratères, couvrant partiellement ou totalement la surface du tubercule. La valeur marchande des lots de tubercules atteints est alors dépréciée (DALLAIRE, 2008). Des variétés peu sensibles récemment mises au point par la recherche. Il s'agit des variétés Lady Christel, Amandine, Juliette et Jelly (BONNEL, 2008). Il est recommandé d'éviter l'utilisation du fumier frais non décomposé comme fertilisant afin de prévenir la maladie. En outre les gales communes se développent rarement dans un sol acide, c'est pourquoi il faut éviter l'accroissement du pH en utilisant des engrais à réaction acide ou de soufre et proscrire les applications abondantes de chaux. Le pH optimum se trouve entre 5 - 5,2 (JEAN, 2000).

Le flétrissement bactérien ou pourriture brune de la pomme de terre est provoquée par *Ralstonia solanacearum*. En Europe, *R. solanacearum* est considéré comme un organisme de quarantaine, c'est-à-dire très dangereux, dont la moindre présence n'est tolérée dans aucun lot de semences ou aucune parcelle de multiplication. La première détection de *R. solanacearum* en France remonte à Septembre 2000 et son éradication a été confirmée dès janvier 2001 suite aux importantes mesures mises en œuvre (EPPO, 2001). Au Niger, cette maladie a été observée dès l'année 1982 (MDR, 1982). L'étendue de ses dégâts en culture paysanne sans renouvellement fréquent du matériel de plantation a suscité notre intérêt pour cette pathologie. La jambe noire et les pourritures molles sont des maladies très répandues dans les régions chaudes et humides. Elles sont causées par des bactéries du genre *Erwinia* notamment *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* et *E.* subsp. *atroseptica* ainsi que *Erwinia chrysanthemi*. Elles apparaissent souvent suite à des blessures des tubercules provoquées par des ravageurs, d'autres maladies ou des influences mécaniques et causent des dépressions circulaires à partir desquelles la pourriture peut se répandre rapidement. Les tissus infectés se distinguent clairement des tissus sains. Ils sont humides et prennent une couleur allant du blanc au marron crème. D'autres organismes saprophytes se surajoutent et entraînent la formation d'odeurs nauséabondes et de mucosités.

Les mesures phytosanitaires permettant de contrôler ces maladies consistent à éviter de blesser les tubercules lors des manipulations (récolte, conditionnement) car elles constituent les portes d'entrée

pour les bactéries, l'élimination des premiers plants malades et conserver les tubercules dans un local aéré et sec ainsi que dans des conditions de basses températures (CORUS, 2006 ; ANONYME, 2008b).

La lutte préventive contre les maladies bactériennes se fait en choisissant un sol non infecté et des semences certifiées indemnes. Il est recommandé de pratiquer une rotation de cultures en évitant la tomate, le poivron, l'aubergine et le tabac et de détruire les premières plantes malades. Il faut également utiliser une source d'eau non chargée en bactéries comme les eaux souterraines de forage. Lorsque l'on coupe des tubercules de semences en fragments, il faut laisser se cicatriser la plaie avant de les planter. En cas d'observation de plants malades, il est recommandé de les arracher et d'éliminer les adventices-hôtes possibles (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009).

Le Stolbur ou maladie du balai de sorcière est provoqué par des phytoplasmes chez la pomme de terre. Il s'agit de bactéries sans paroi, dépourvues de forme spécifique et qui se multiplient exclusivement dans les tubes criblés du phloème. Les phytoplasmes sont transmis par des vecteurs insectes de la famille des Cicadelles (*Macrosteles* sp., *Hyalestes* sp.). Au niveau de l'Union Européenne, cette maladie est objet de mesures de quarantaine phytosanitaire (ANONYME, 2008b).

4. Les désordres physiologiques affectant la culture de la pomme de terre

Le Verdissement est le trouble le plus observé sur les tubercules qui poussent à l'extérieur du sol. Le tubercule possède toutes les caractéristiques d'une tige notamment celle de produire de la chlorophylle sous l'effet de la lumière. Lorsqu'il se développe dans le sol à l'abri de la lumière, le tubercule ne contient pas habituellement de la chlorophylle. Une mauvaise pratique culturale, telle un mauvais buttage peut mettre le tubercule en présence de lumière hors du sol. La synthèse de pigments chlorophylliens est alors initiée et localisée essentiellement dans les trois premiers millimètres de tissus situés à la périphérie du tubercule. La principale conséquence est la présence d'alcaloïdes (glycoalcaloïdes, principalement la solanine et la chaconine), substances pouvant détériorer la saveur du met et même devenir toxiques. Le phénomène de repousse est une conséquence de l'alternance de périodes de croissance et de non croissance au cours d'un cycle végétatif. La repousse est à l'origine d'anomalies pouvant se développer sous des formes diverses : germination, tubérisation en chapelet, déformation de tubercules et dans les cas les plus graves, production de tubercules vitreux. L'élargissement des lenticelles est un phénomène qui survient lorsque les tubercules séjournent longtemps dans un sol gorgé d'eau. Dans un premier temps, on observe de nombreux amas blanchâtres (lenticelles en choux-fleurs à la surface du tubercule qui sèchent ensuite et se subérisent pour former des

ponctuations brunes de 1 à 3 mm de diamètre, généralement réparties sur l'ensemble de la surface du tubercule. Les crevasses et craquelures de la peau sont quant à elles dues à des irrégularités dans les conditions de croissance des tubercules. Les crevasses se forment par éclatement de la peau et des tissus du tubercule. Cet accident est souvent associé à des symptômes de rugosité et de desquamation (ANONYME, 2008b).

Le symptôme de cœur creux est précédé du phénomène du cœur brun chez les variétés sensibles comme la BF 15 et la Russet Burbank. Chez d'autres, il apparaît seul. Il est possible que ces différents symptômes ne soient que l'expression variétale d'un seul et même désordre physiologique. Le désordre se produit très tôt après l'initiation de la tubérisation et se traduit par la destruction de quelques cellules de la moelle. Les facteurs impliqués seraient des basses températures, ainsi qu'une humidité importante La maladie du cœur noir se traduit par une coloration noire du centre du tubercule. Il affecte généralement les tubercules pendant leur conservation ou leur transport en conditions trop chaudes et mal aérées. Le cœur noir est donc provoqué par un manque d'oxygène ou un excès de gaz carbonique de l'air ambiant qui entrave la respiration.

Enfin, le phénomène des taches de rouille (encore appelé rouille physiologique) se caractérise par la présence, dans la chair des tubercules, de zones nécrotiques arrondies de taille très variables, plus ou moins irrégulières de couleur brun rouille. Il serait dû à un dérèglement du métabolisme, de nature enzymatique en particulier, apporté par de fortes chaleurs ou une sécheresse excessive pendant la tubérisation. Ce phénomène est également lié à une sensibilité variétale (ANONYME, 2008b).

5. Les nématodes parasites de la pomme de terre

Diverses espèces de nématodes attaquent également la pomme de terre, parmi lesquels le nématode doré de la pomme de terre *(Globodera rostochiensis)*, le nématode blanc de la pomme de terre *(Globodera pallida)*, le nématode cécydogène du Nord *(Meloidogyne hapla)* et celui responsable de la maladie vermiculaire de la pomme de terre *(Ditylenchus destructor)*.

Le genre *Globodera* constitue les nématodes à kystes. Ils sont classés parmi les organismes de quarantaine et leur éradication n'est obtenue qu'après une rotation de 8 ans (GILLIAND et RÜEGGER, 2008 ; BREITENMOSER *et al.*, 2008).

Les nématodes à galles (*Meloidogyne spp*) sont des vers ronds dont les mâles ont un corps allongé en fuseau et les femelles sont globuleuses ou piriformes. Ils vivent dans la couche arable du sol avec une longueur variant entre 0,3 mm et 1mm et un diamètre ne dépassant 0,05 mm. Ils ne sont donc pas visibles à l'œil nu. Très souvent, on observe un flétrissement des plants suivi d'un jaunissement des feuilles puis

un rabougrissement de la plante (nanisme). Les galles se présentent sous forme de boursouflures sur les tubercules et de nodosités sur les racines. Les attaques au champ se présentent en général par foyer de plants chétifs et flétris (CORUS, 2006). Les nématodes se conservent dans le sol et les débris de racines sous forme de juvéniles et de masses d'œufs qui supportent les hautes températures de la saison sèche et chaude du Sahel. Après la plantation de la pomme de terre, les jeunes racines excrètent des substances chimiques qui attirent les juvéniles de *Meloidogyne* qui y pénètrent. Ceux-ci deviennent matures 3-4 semaines après. Chaque femelle adulte peut pondre entre 200 et 500 œufs. Ces œufs éclosent et libèrent des juvéniles infectants (ANONYME, 2008b).

Les nématodes à galles sont très polyphages car ils s'attaquent à plus de 2000 espèces végétales parmi lesquelles une vingtaine de plantes cultivées, dont la pomme de terre. La prolifération des nématodes est prévenue par l'assainissement, la rotation des cultures en évitant les solanacées telles que la tomate, l'aubergine, le poivron ; l'utilisation de variétés résistantes et la pratique des cultures intercalaires non hôtes comme l'arachide (FAO, 2008). Actuellement, il n'existe pas de variétés de pomme de terre totalement résistantes aux nématodes à galles (VANDERHOFSTADT et JOUAN, 2009).

Mildiou sur variété Kondor

Alternariose

Sclérotiniose

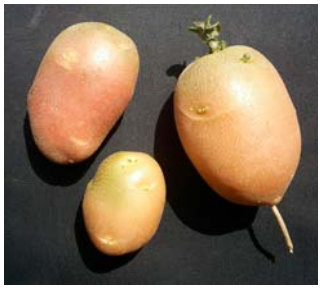
Rhizoctoniose

Gales communes et

Gale poudreuse

Phytoplasmose

Galles de Nématodes



Enroulement des feuilles (PLRV) Mosaïque / Nanisme Gaufrage/Brillance des feuilles Verdissement et Boulage

Planche n° 1 : Quelques maladies rencontrées sur la pomme de terre au Niger. (Photos : ADAMOU Issa)

6. Les mauvaises herbes parasites de la pomme de terre

Deux espèces de mauvaises herbes concurrencent et entravent le développement de la pomme de terre. La première est *Orobanche*, une plante parasite de la famille des Orobanchacées. Elle a une tige simple dépourvue de pigments chlorophylliens. Plusieurs espèces s'attaquent aux Solanacées (*O. minor* ; *O. speciosa* ; *O. rubens*, etc.). La plantule, en poussant émet des appressoria en direction des racines de son hôte, qui percent ces dernières et des suçoirs afin d'assurer son alimentation en eau et en minéraux (CLEMENT, 1981). La seconde adventice est le Chiendent (*Cynodon dactylon)*, une graminée pérenne capable de se reproduire végétativement (par rhizomes) ainsi que sexuellement (par ses graines). C'est une des mauvaises herbes les plus difficiles à contrôler à cause de ces caractéristiques particulières de survie et de multiplication : installation rapide, formation d'un vaste réseau de rhizomes capables d'émettre de nouvelles pousses, et facilité de création de nouveaux biotypes de plantes par reproduction sexuée. L'appétit vorace du chiendent pour les éléments nutritifs nécessaires aux cultures entraîne le plus souvent des pertes de rendement aux cultures concurrencées. Sur pomme de terre, les rhizomes assez souples, passent au travers des tubercules, baissant ainsi la qualité marchande de ces produits (REIDY, 1993 ; CORUS, 2006).

Planche n° 2 : Vues d'une tige d'Orobanche poussant sur un pied de pomme de terre et d'un rhizome de Chiendent transperçant un tubercule de pomme de terre.
(Photos : ADAMOU Issa)

7. Les insectes et acariens attaquant la pomme de terre

Le principal ravageur de la pomme de terre dans l'hémisphère Nord est le doryphore de la pomme de terre *(Leptinotarsa decemlineata)*. Cet insecte de l'ordre des Coléoptères est très prolifique. La tête et le thorax de l'adulte sont brun orange avec des taches noires. Les ailes antérieures (élytres) sont jaunes avec des rayures noires caractéristiques. Ses larves, sont de couleur orange ou marron clair avec deux rangées de points noirs de chaque côté de l'abdomen. Elles vivent seulement trois semaines mais peuvent anéantir le feuillage des plantes. Les adultes (imago) dévorent aussi les feuilles. Les mesures préventives comprennent, le travail du sol pour détruire des larves en métamorphose, la pratique des rotations et la protection des ennemis naturels que sont les larves de Coccinelles (JEAN, 2000). La teigne de la pomme de terre (*Phthorimaea operculella* Zeller (Gelechiidae)) est considérée comme l'organisme le plus nuisible des pommes de terre plantées et stockées dans les régions à climat chaud et sec (zones tropicales et subtropicales). L'adulte est un petit papillon gris. Les dégâts commis par les larves ou chenilles de ce lépidoptère sur les parties aériennes des plants sont des perforations sur les feuilles et les pétioles. Les plus gros dégâts sont les galeries forées dans les tubercules et les tiges de la pomme de terre.

La coccinelle des Cucurbitacées (*Henosepilacna elateri)* est un coléoptère de la famille des Coccinellidae. Les larves sont de coloration jaune pâle, les adultes sont rouges ou orangés mesurant environ 7 à 8 mm de long et portant 12 points noirs. Les individus des deux stades vivent généralement à la face inférieure des feuilles dont ils dévorent l'épiderme, n'épargnant que les nervures. Les jeunes plantes sont les plus attaquées. Habituellement cet insecte s'attaque aux Cucurbitacées, mais il est aussi observé sur la pomme de terre. L'Altise de la pomme de terre (*Systena frontalis*) est un petit coléoptère de forme ovale à antennes et pattes brunes. Le fémur des pattes postérieures est particulièrement élargi. Les dégâts sont sous formes de nombreux trous de 2 à 3 mm de diamètre (cribles) occasionnés aux feuilles par les adultes et les larves. Ils sont le plus souvent observés en bordure des champs. Les larves bien que vivant dans le sol, s'attaquent rarement aux racines. La lutte préventive efficace consiste à éliminer les mauvaises herbes en bordure des champs et à travailler régulièrement le sol pour détruire les œufs et les larves (JEAN, 2000).

Le ver gris (*Agrotis ypsilon*) est une chenille d'un papillon aux mœurs nocturnes. La chenille mesure environ 45 mm de long, de couleur grise, avec sur chaque segment, quatre (4) points noirs disposés en trapèze. La tête est brun jaunâtre. *A. ypsilon* vit dans le sol et ronge pendant la nuit, le collet de nombreuses plantes. Le papillon adulte a environ 45 mm d'envergure avec les ailes antérieures marron présentant une zone plus claire sur le quart apical. Chacune des ailes porte une tache claire uniforme se prolongeant par un triangle effilé noir. Les ailes postérieures sont beige très pâles.

La Cicadelle de la pomme de terre (*Empoasca fabae*) est un petit insecte de l'ordre des Homoptères. L'adulte est de couleur jaune verdâtre luisant avec une série de taches pâles sur le dessus de la tête et à l'extrémité du thorax. Ils mesurent 3 à 4 millimètres. Les larves sont semblables aux adultes, plus petites et sans ailes ; se déplacent rapidement en marchant de côté lorsqu'elles sont dérangées. Les Cicadelles sucent la sève des plantes et provoquent l'enroulement des feuilles. Les feuilles jaunissent, brunissent et finissent par mourir (JEAN, 2000).

La mouche blanche (*Bemisia* spp.) appartient à l'ordre des Diptère de la famille des Aleurodidae. Les adultes sont de très petits insectes ailés, entièrement blancs. Ils vivent en grand nombre sous les feuilles de la plante hôte. Les larves verdâtres, au corps aplati et recouvert d'un enduit cireux, vivent fixées comme les cochenilles à la face inférieure des feuilles dont elles sucent la sève. Les adultes, blancs et de petite taille (1 mm), se mettent à voler pendant quelques instants si l'on secoue la plante. Ce ravageur est surtout important pour son rôle de vecteur de virus.

La courtilière (*Gryllotalpa africana (Orthoptera-Gryotalpidae))* aussi appelée « taupe-grillon » ou « jardinière » est un redoutable ravageur des jardins potagers. Elle mesure 4 à 5 cm de longueur et vit dans le sol où elle creuse des galeries, bouleversant les semis et dévorant les racines et les tubercules sur son passage. Elle est surtout active pendant la nuit.

Les pucerons (Homoptères) sont des insectes très prolifiques, le plus souvent de couleurs verte ou noire, vivant en colonies. Ils se montrent nuisibles à de nombreuses plantes d'ornement et à la plupart des cultures fruitières et potagères. Il en existe de très nombreuses espèces. Les pucerons piquent les tissus tendres des tiges, des feuilles, des fruits ou des racines afin d'en sucer la sève. Les plantes attaquées présentent des feuilles enroulées et des pousses déformées. Souvent, un champignon, la fumagine, se développe sur le miellat de pucerons, recouvrant le feuillage d'un dépôt noir comme de la suie. Les pucerons sont aussi les principaux vecteurs de viroses en suçant de la sève infectée d'une plante atteinte et en transportant ensuite le virus sur une plante saine. Les Punaises qui s'attaquent au plant de pomme de terre sont nombreuses. Il y a la punaise de la pomme de terre *(Calocoris norvegicus)* et d'autres, la punaise verte des pousses *(Lygus pabulinus)* et les punaises ternes *(Lygus pratensis)* et *(Lygus rugulipennis)*. Tous ces hémiptères sont susceptibles de provoquer des ravages sur le feuillage (ANONYME, 2010).

Les termites causent également d'importants dégâts aux plantes en général et à la pomme de terre en particulier. Ils creusent des mines dans les tiges, les racines et tubercules, facilitant ainsi leur attaque par d'autres parasites, notamment les agents de pourritures molles.

Les criquets et les sautériaux sont des orthoptères qui causent de sérieux dégâts à la pomme de terre en dévorant les feuilles lors de fortes pullulations. Leurs attaques sont d'avantage orientées sur les jeunes pousses.

Plusieurs espèces d'acariens se montrent très nuisibles aux cultures en général et à la pomme de terre en particulier. Les infestations qui s'observent en début de saison chaude peuvent conduire à la perte totale de la production. Deux principales espèces sont inféodées aux cultures maraîchères en général. Il s'agit de l'acarien jaune (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) dont la femelle est de couleur brun rouge avec plusieurs taches sombres de différentes tailles. Sa longueur est 0,4 à 0,5 mm. Les mâles, plus petits que les femelles, sont de couleur vert jaune et portent de petites taches sombres. *Tetranychus urticae* (Koch.) est quant à lui appelé l'acarien jaune commun. La femelle est de couleur vert jaune avec deux taches sombres. Les mâles sont également de la même couleur, avec de nombreuses petites taches sombres. Les femelles en diapause sont de couleur orangée, sans taches sombres.

Coccinelles adultes Larve de noctuelle perforant un tubercule Dégâts de termites

Dégâts de Teigne sur tubercule ; Toiles d'Acarien sur plant de pomme de terre

Larves, dégâts et adulte de noctuelle de la pomme de terre

Planche n° 3 : Aperçu de quelques ravageurs de la pomme de terre (insectes et acarien) observés au Niger. (Photos : ADAMOU Issa)

CHAPITRE 3 : L'ETAT DES TRAVAUX SUR LA POURRITURE BRUNE DE LA POMME DE TERRE DUE A *RALSTONIA SOLANACEARUM*

1. Biologie du développement du flétrissement bactérien de la pomme de terre

Ralstonia solanacearum affecte plus de 400 espèces végétales cultivées et sauvages (EPPO, 2005). Parmi les plus sensibles, se trouvent la pomme de terre, le tabac, la tomate, l'aubergine, le piment, le poivron ainsi que l'arachide (MARTIN et FRENCH, 1985 ; MURIITHI, 2000 ; PRIOU et ALEY, 2002), les Cucurbitacées (MIAN *et al.*, 2003).

Le flétrissement bactérien a été signalé pour la première fois au Niger en 1982 par le Service de Protection des Végétaux (MDR, 1982). ADAM, en 1996, a signalé cette maladie sur pomme de terre à Bonkoukou dans la région de Tillabéri. Le JEAN *et al.*, (2000) et SIDIKOU (2002) ont rapporté le flétrissement bactérien dans les régions de l'Aïr (Agadez, Tabelote et Monts Bagzane à 2 022 mètres d'altitude) et de Tillabéri (Bonkoukou) avec toutefois, un plus grand nombre de foyers observés dans cette dernière localité, sur un cultivar du nom de Dan Hadjia, importé du Nigeria (CORUS-Niger, 2006).

2. L'agent causal

Le flétrissement bactérien est causé par *Ralstonia solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*, syn. *Burkholderia solanacearum*). La bactérie est Gram négatif, en forme de bacille ou bâtonnet, de 1,5 µm de long sur 0,5 µm de large en moyenne, asporulante, mobile par cils polaires. Elle est aérobie strict, possédant toujours une oxydase et ne synthétise pas de pigments fluorescents. Elle appartient à la famille des Pseudomonadacées. La plupart des souches oxydent généralement le glucose et accumulent des réserves énergétiques sous forme de granules lipidiques (poly-ß-hydroxybutyrate) (GIRARD *et al*., 1967 ; HAYWARD, 1990).

Ralstonia solanacearum appartient à un groupe taxonomique complexe subdivisé de manière informelle en cinq (5) races sur la base du premier hôte affecté ou en 5 biovars sur la base du catabolisme de trois sucres et trois alcools de sucre (MACIEL *et al*., 1997 ; SEAL *et al*., 1992).

Les principaux critères biochimiques utilisés pour identifier l'espèce *Ralstonia solanacearum* sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Caractéristiques différentielles utilisés pour identifier des souches bactériennes appartenant à l'espèce *Ralstonia Solanacearum* par des tests biochimiques.

Test	**Résultat attendu**
Production de pigments fluorescents	-
Inclusions de poly-ß-hydroxybutyrate	+
Test d'oxydation/fermentation (O/F)	O+/F–
Activité de la catalase	+
Test de l'oxydase de Kovac	+
Réduction du nitrate	+
Utilisation du citrate	+
Croissance à 40 °C	-
Croissance dans du Cl à 1 %	+
Croissance dans du Cl à 2 %	-
Activité de la dihydrolase d'arginine	-
Liquéfaction de la gélatine	-
Hydrolyse de l'amidon	-
Hydrolyse de l'esculine	-
Production de levane	-

(Source : KLEMENT *et al.*, 1990)

Il s'agit de déterminer des caractéristiques phénotypiques, systématiquement présentes ou absentes chez *R. solanacearum*, pour identifier l'espèce *Ralstonia solanacearum* suivant les tests biochimiques de KLEMENT *et al.* (1990), et SCHAAD (2001).

2.1. Caractéristiques des Phylotypes de *Ralstonia solanacearum*

La diversité observée au sein du complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* est rendue plus perceptible grâce au schéma de classification hiérarchique proposé par FEGAN et PRIOR (2005). Il comprend les phylotypes I, II, III, IV et V caractérisés par le nombre et la position des amplicons (en paire de bases 'pb') sur le gel de migration des ADN des souches en question (PRIOR, 2003 ; FEGAN et PRIOR, 2005). Le travail de taxonomie réalisé par FEGAN et PRIOR (2005), fournit une nomenclature correcte des sous groupes de *Ralstonia solanacearum* afin d'aider les sélectionneurs, les pathologistes et inspecteurs phytosanitaires à classifier des souches selon leur épidémiologie, leur

pathogénicité, l'étendue de la gamme de leurs hôtes et de leur provenance géographique. La technique permettant de différencier les phylotypes est la réaction en chaîne par polymérase appelée PCR-multiplexe qui utilise 4 amorces de tête, dont une spécifique de chacun des phylotypes ainsi qu'une amorce finale, spécifique de l'espèce *Ralstonia solanacearum*. Les caractéristiques des amorces sont présentées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Amorces spécifiques utilisées en PCR-multiplexe pour le diagnostic de l'espèce *R. solanacearum* du phylotype d'appartenance

Amorce	Séquence (5' 3')	Phylotype	Taille de l'amplicon lorsqu'il est apparié à l'amorce Nmult : 22 :RR
Nmult : 21 :1F	CGTTGATGAGGCGCGCAATTT	I (Asiaticum)	144 pb
Nmult : 21 :2F	AAGTTATGGACGGTGGAAGTC	II (Americanum)	372 pb
Nmult : 23 :AF	ATTAC**S**AGAGCAATCGAAAGATT	III (Africain)	91 pb
Nmult : 22 :InF	ATTGCCAAGACGAGAGAAGTA	IV (Tropical)	213 pb
Nmult : 22 :RR	TCGCTTGACCCTATAACGAGTA	Tout phylotype	Non applicable (amorce reverse)
759 R	GTCGCCGTCAACTCACTTTCC	*Ralstonia*	280 pb (marqueur interne)
760 F	GTCGCCGTCAGCAATGCGGAATCG		

S = G ou C (Source : FEGAN et PRIOR, 2005).

Le phylotype I est équivalent à la division 1 de COOK *et al.* (1989). Il comprend toutes les souches appartenant aux biovars 3, 4 et 5 isolées pour la première fois des régions asiatiques. Le phylotype II équivaut à la division 2 et est constitué des souches appartenant aux biovars 1, 2 et 2T initialement isolées d'Amérique. Le phylotype II inclut aussi, la race 3 de *Ralstonia solanacearum*, pathogène de la pomme de terre et qui est disséminée à travers le monde, ainsi que la race 2 pathogène du bananier plantin. Le phylotype III se compose de souches originaires d'Afrique et des îles environnantes. Il s'agit des souches appartenant aux biovars 1 et 2T. Le phylotype IV est constitué de souches indonésiennes appartenant aux biovars 1, 2 et 2T de *R. solanacearum*. Certaines de ces souches ont aussi récemment été retrouvées en Australie et au Japon. *Pseudomonas syzygii* et la souche responsable de la maladie de sang de la banane (BDB) sont considérées comme des souches apparentées de celles du phylotype IV.

La planche 4 présente les positions des bandes de migration des quatre phylotypes (I, II, III, IV) de *Ralstonia solanacearum* ainsi que les souches MLG24, MLG25 et MLG28 spécifiques des bananiers, sur le gel d'Agarose d'après PRIOR (2003) ; FEGAN et PRIOR (2005).

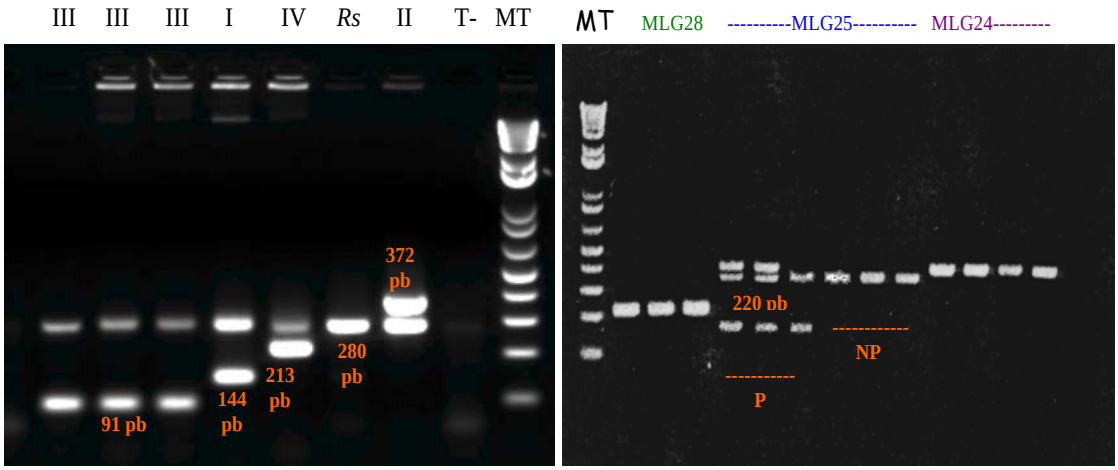


Planche n°4 : Gels caractéristiques de PCR multiplex des quatre principaux groupes génétiques décrits chez *Ralstonia solanacearum*, ainsi que des groupes RFLP 24, 25 et 28.
(Source : FEGAN et PRIOR, 2005).

Sur le gel de gauche, la ligne continue représente la bande spécifique de l'espèce *Ralstonia solanacearum* et qui se situe à 280 pb. Les phylotypes I, II, III, IV se situent respectivement à 144 pb, 372 pb, 91 pb et 213 pb. Sur le gel de droite, l'amplicon de 220 pb caractérise les souches MLG 25 pathogènes du bananier (P). Les souches MLG 25 ne fournissant pas ce produit PCR sont considérées non pathogènes du bananier (NPB). Ces dernières ont été récemment isolées sur anthurium et melon flétris à la Martinique (PRIOR, 2003).

Les analyses moléculaires de réaction en chaîne par polymérase utilisant la technique de l'élément palindromique extragénique répété ou Repetitive Extragenic Palindromic Element (REP-PCR) et la technique du polymorphisme de longueur des fragments de restriction ou Resctricted Fragment Length Polymorphism (PFLP-PCR) classent les souches en trois groupes ayant 70% de similitudes. Les souches de gingembre sont reparties en groupes I et II génétiquement distincts ; celles de pomme de terre sont du groupe III. Il a aussi été observé 100% de similitudes malgré la diversité des provenances des souches de gingembre. Il existe donc une faible diversité génétique entre les souches de *Ralstonia* à cause de l'origine clonale du pathogène qui est distribué par les rhizomes à travers les localités et les saisons dans une même localité.

En plus de l'analyse des effecteurs de type III qui permet de caractériser des souches et analyser leur pathogénie, REMENANT *et al.* (2010) ont également mis en évidence respectivement deux

plasmides additionnels de 35 kb et 13 kb chez CMR15 et PS107. Ces nouvelles données leur ont permis de développer une puce à ADN pour des analyses génomiques comparatives à grande échelle.

2.2. Caractéristiques des Biovars de *Ralstonia solanacearum*

Le complexe *Ralstonia solanacearum* comprend cinq (5) biovars sur la base du catabolisme de trois disaccharides notamment, le Cellobiose, le Lactose et le Maltose et trois alcools de sucre à savoir le Dulcitol, le Mannitol et le Sorbitol (MACIEL *et al*., 1997 ; SEAL *et al*., 1992). HAYWARD (1964) a défini les quatre premiers biovars.

Le biovar 1 n'utilise pas les disaccharides et n'oxyde pas les alcools de sucres ;

Le biovar 2 utilise les disaccharides mais n'oxyde pas les alcools de sucres ;

Le biovar 3 utilise les disaccharides et oxyde les alcools de sucres ;

Le biovar 4 n'utilise pas les disaccharides mais oxyde les alcools de sucres.

HE *et al.* (1983) ont mis en évidence le biovar 5 qui se caractérise par l'utilisation des disaccharides, l'oxydation du Mannitol mais pas celui du Dulcitol ni du Sorbitol.

Le tableau 8 présente les caractéristiques des 5 biovars suivant les réactions du test de HAYWARD (1964).

Tableau n° 8 : Différenciation des biovars de *Ralstonia solanacearum* à l'aide de tests biochimiques basés sur l'aptitude à l'utilisation de 6 hydrates de carbone.

Produits testés	**Biovars**				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
Disaccharides					
Cellobiose	–	+	+	–	+
Lactose	–	+	+	–	+
Maltose	–	+	+	–	+
Alcools de sucre					
Mannitol	–	–	+	+	–
Sorbitol	–	–	+	+	+
Dulcitol	–	–	+	+	–

(Source : HAYWARD, 1964)

Une fois les biovars séparés, d'autres tests biochimiques utilisant un certain nombre d'hydrates de carbones ont été mis au point par HAYWARD *et al.* (1990) ; FRENCH *et al.* (1993) et le CIP (1997) pour déterminer avec précision, le biotype des souches de biovar 2 comme indiqué au tableau 9.

Tableau n° 9 : Différenciation des biotypes du biovar 2 de *Ralstonia solanacearum*

	Biotypes	
Produits testés	**2A**	**2T**
D-Ribose	-	+
D+Tréhalose	-	+
Inositol	-	+
L-Tryptophane	-	+
L+Tartrate	-	+
Pectates	+	+++
Pathogénicité de la pomme de terre à 25°C	Elevée	Faible

(Source: HAYWARD *et al.*, 1990 ; FRENCH *et al.*, 1993)

2.3. Caractéristiques différentielles des races de *Ralstonia solanacearum*

Le complexe *Ralstonia solanacearum* peut aussi être subdivisé en races sur la base du spectre d'hôtes affectés. BUDDENHAGEN *et al.* (1962) ont initialement signalé la présence de trois races. Plus tard, ALVAREZ (2005) ; KUMAR *et al.* (2004); MACIEL *et al.* (1997) ; MARTIN et FRENCH (1985) ; MURIITHI (2000) ; PRIOU et ALEY (2002) ; SEAL *et al.* (1992) se sont tous accordé sur l'existence de cinq (5) races dont la race 3 (biovar 2A) est inféodée à la pomme de terre *Solanum tuberosum*.

-La race 1 affecte une large gamme de solanacées incluant la pomme de terre, plusieurs adventices. Certaines souches affectent le bananier diploïde, le tabac, la tomate, la pomme de terre, l'aubergine, les bananiers diploïdes et de nombreuses autres cultures comme l'arachide et le gingembre ainsi que des Solanacées adventices. Cette race présente un optimum de croissance à température élevée (35-37°C). La race 1 de *Ralstonia solanacearum* est considérée comme endémique. Elle se maintient bien dans le sol et dans la rhizosphère de nombreuses plantes ne présentant pas de symptômes, y compris les mauvaises herbes (HAYWARD, 1991 ; LEROUX, 1996).

-La race 2 est inféodée aux bananiers triploïdes (agent causal de la Moko Disease) et quelques espèces d'*Heliconia*. Elle présente une température optimale de croissance élevée (35-37°C).

-La race 3 affecte principalement la pomme de terre et occasionnellement la tomate. Elle est sans grande virulence sur les autres cultures de Solanées et présentant un optimum de croissance à une température plus faible (27°C), en zones de hautes altitudes à climat froid. Les souches de la race 3 possèdent un spectre d'hôte plutôt étroit, la pomme de terre et la tomate. Elles persistent moins bien dans le sol et peuvent disparaître à la suite de pratiques phytosanitaires et culturales adaptées. Chez la pomme de terre, les tubercules peuvent être contaminés de façon externe et surtout interne (forme latente) et transmettent le germe à un sol indemne. Cette caractéristique confère à la race 3, le remarquable pouvoir

de dissémination notamment sur de longues distances par le jeu des échanges commerciaux de tubercules (LEROUX, 1996)

-La race 4 affecte le Gingembre (*Zingiber officinale*) en Asie.

-La race 5 est principalement inféodée au mûrier (*Morus* spp.) en Chine.

Il n'existe pas de corrélation stricte entre les races et biovars, excepté pour la race 3 correspondant au biovar 2; la race 5 au biovar 5, tous deux inféodés au Mûrier en Chine (HAYWARD, 1983).

2.4. Répartition géographique des souches de *Ralstonia solanacearum*

Les analyses moléculaires utilisant la technique du polymorphisme de longueur des fragments de restriction ou Resctricted Fragment Length Polymorphism (RFLP-PCR) ont permis la répartition des souches en groupes génétiquement homogènes ou division ayant des préférences géographiques.

Le tableau 10 présente la répartition des races, biovars et groupes selon leurs hôtes principaux et les régions du monde.

Tableau n° 10 : Répartition des races, biovars et divisions des souches de *Ralstonia solanacearum* par rapport à la gamme d'hôtes et la région géographique (SCHAAD *et al.*, 2001)

Race	Hôte (s)	Région	Biovar (s)	Division (RFLP)
1	Cosmopolite	Asie, Australie,	**3,4**	**I**
		Amériques	**1**	**II**
2	**Bananier** Autres *Musa spp*.	Caraïbes, Brésil, Philippines	**1**	**II**
3	**Pomme de terre**, Tomate	Monde entier	**2**	**II**
4	**Gingembre**	Asie	**3,4**	**I**
5	**Mûrier**	Chine	**5**	**I**

Les races et biovars ont été répartis en deux groupes génétiques ou divisions, en fonction de l'analyse par RFLP (COOK & SEQUEIRA, 1988; 1994). Les souches asiatiques de la race 1 (biovars 3, 4, 5) sont rassemblées en un groupe, les souches américaines de la race 1 (biovar 1), la race 2 (biovar 1) et la race 3 (biovar 2) dans un autre.

Les quatre phylotypes (I, II, III et IV) constituent la structure génétique du complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* selon REMENANT *et al.* (2010). Ils représentent par ailleurs, les principales origines des biovars de l'espèce. La figure 7 illustre parfaitement les origines Asiatique, Américaine, Africaine et Tropicale des principaux biovars et races actuellement connus dans le monde.

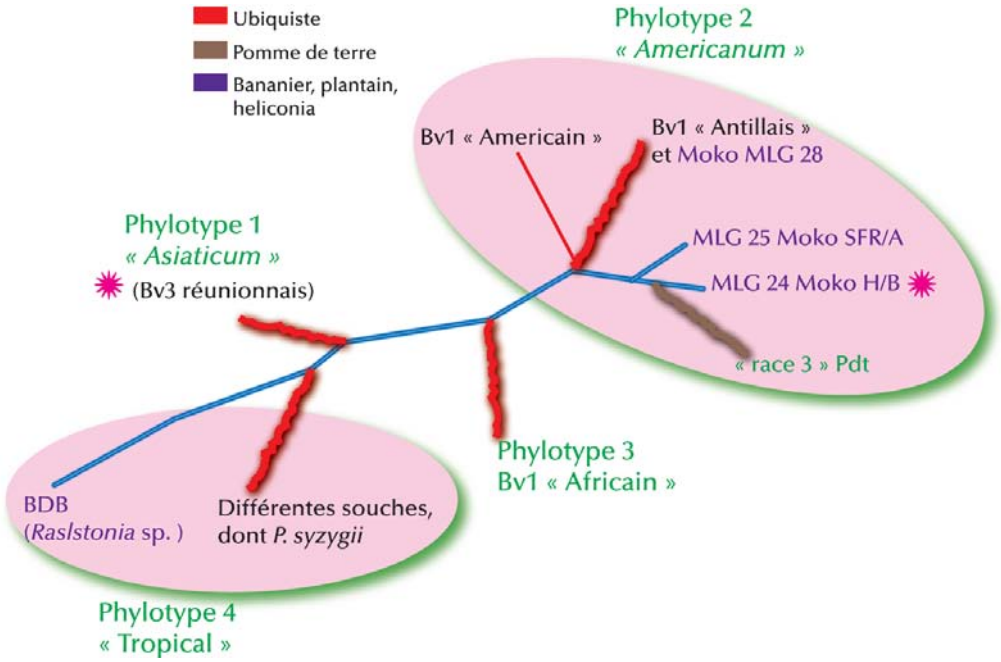


Figure 7: Diversité génétique et phylogénie chez le complexe d'espèces *R. solanacearum*, basées sur le polymorphisme de séquence du gène de l'endoglucanase (FEGAN et PRIOR, 2005)

3. L'écologie de *Ralstonia solanacearum*

Selon MURIITHI (2000), *Ralstonia solanacearum* survit en régions froides notamment en zones d'altitude sous climat tropical. La race 3 (biovar 2) d'ordinaire inféodée aux climats chauds est entrain de s'adapter au climat frais d'Europe. Le biovar 2 est aussi présent dans les cours d'eau européens (Espagne, Angleterre et Pays-Bas), à des concentrations faibles variant de 10 à 80 cfu/ml, aux températures comprises entre 9 et 20 °C selon CARUSO *et al.* (2004). D'après ELPHINSTONE et al. (2006), la souche de phylotype II, séquévar 1 (race 3, biovar 2) de *R. solanacearum* est capable de causer des symptômes de pourriture brune sur des tubercules et un flétrissement bactérien sur des plants de pomme de terre à travers le monde. L'homogénéité de cette souche reflète la faible pression de sélection dont elle fut l'objet au sein de son habitat traditionnel caractérisé par le mode de propagation

végétatif de la plante ainsi que la dispersion relativement récente de la pomme de terre à partir de l'Amérique du Sud, suite aux échanges commerciaux mondiaux.

4. L'épidémiologie de *Ralstonia solanacearum*

La survie de *Ralstonia solanacearum* dans les sols est très contreversée. En effet, GRANADA et SEQUEIRA (1983) ont observé que *R. solanacearum* ne survivait pas plus de 24 semaines dans un mélange de sol plus du sable. Il semblerait que la bactérie ne survit pas dans le sol lui-même, mais dans les racines de plantes hôtes ou dans la rhizosphère des plantes non-hôtes.

Selon HAYWARD (1991) certains sols peuvent être réceptifs à *Ralstonia solanacearum*, d'autres en revanche peuvent être suppressifs de par leurs caractéristiques physico-chimiques.

La survie à long terme de différentes souches de *Ralstonia solanacearum* est en étroite corrélation avec leur habileté à infecter les racines d'une espèce végétale donnée (GRANADA et SEQUEIRA, 1981b).

L'humidité et la température du sol sont aussi des facteurs déterminant dans la survie du germe dans le sol. BUDDENHAGEN et KELMAN (1964) ont constaté que la bactérie survit mieux dans un sol humide et bien drainé que dans un sol sec et inondé. Selon les mêmes auteurs, l'optimum de température de *R. solanacearum* se situe entre 30 et 35°C, sauf pour les souches de la race 3 (biovar 2) pour lesquelles l'optimum se trouve aux environs de 23°C.

L'inoculum est disséminé de différentes manières, notamment par l'utilisation de tubercules infectés comme semences, la culture sur sol contenant des débris végétaux non décomposés. Le système racinaire et la rhizosphère de plusieurs plantes hôtes cultivées ou non, ainsi que l'eau d'irrigation contaminée sont aussi des moyens de dissémination (PRIOU et ALEY, 2002).

En Europe, la plupart des épidémies naissent à partir des plantes aquatiques telles l'espèce sauvage de pomme de terre *Solanum dulcamara* ou Morelle douce amère et l'adventice *Urtica dioira* toutes deux reconnues comme réservoirs de la bactérie (CARUSO *et al.*, 2004).

Il est en outre observé une facile pénétration des bactéries dans les racines des plantes grâce aux blessures causées par les outils, les nématodes et les insectes du sol (PRIOU et ALEY, 2002). Mais CELLIER et PRIOR (2010) ont observé que chez la tomate et l'aubergine, l'agressivité des souches des phylotypes I et III dépendait essentiellement de la température. LEROUX-NIO *et al.* (2008) ont travaillé sur plusieurs générations successives de tubercules de pomme de terre, ils ont démontré que des épidémies de pourriture brune pouvaient avoir pour origine une contamination initiée plusieurs années auparavant.

Le test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) sur membrane nitrocellulosique NCM-ELISA est une bonne méthode de contrôle épidémiologique notamment en ce qui concerne la survie et la dispersion du pathogène (CARUSO *et al.*, 2004 ; PRIOU et ALEY, 2002 ; SIDIKOU, 2002 ; SIDIKOU *et al.*, 2005). Il s'agit de techniques immunologiques mises en œuvre pour l'identification et la détection des bactéries phytopathogènes.

5. Les symptômes de la maladie

Les symptômes de la maladie peuvent être observés aussi bien sur les parties aériennes que souterraines de la pomme de terre.

Sur les parties aériennes, les symptômes se caractérisent par un flétrissement, des taches, un jaunissement du feuillage. Le flétrissement est rapide et un exsudat laiteux est observable au niveau des vaisseaux de la tige (MARTIN et FRENCH, 1985). Selon PRIOU et ALEY (2002), le flétrissement peut être unilatéral ou total, similaire aux symptômes causés par un manque d'eau. Les faisceaux vasculaires apparaissent bruns lorsque l'on enlève le cortex de la tige. En cas de flétrissement soudain, il n'y a pas de jaunissement.

Sur tubercules, en cas d'infection sévère, on observe des exsudats bactériens (oozes) au niveau des yeux avec adhérences de sol. Une coupe transversale montre un brunissement de la région vasculaire. Le tubercule entier peut être désagrégé (MARTIN et FRENCH, 1985 ; PRIOU et ALEY, 2002).

Sur plante de tomate, le premier symptôme visible est la flaccidité des plus jeunes feuilles. Dans des conditions favorables à l'agent pathogène (température du sol d'environ 25 °C, humidité saturée), l'épinastie et le flétrissement d'un côté de la plante ou de l'ensemble de la plante surviennent en quelques jours et provoquent l'effondrement complet de la plante. Dans des conditions moins favorables (température du sol inférieure à 21 °C), le flétrissement est moindre, mais un grand nombre de racines adventices peuvent se développer sur la tige. On peut observer le long de la tige des stries imbibées d'eau partant de la base de la tige qui témoignent de la nécrose du système vasculaire. Lorsque la tige est coupée transversalement, un exsudat bactérien blanc ou jaunâtre s'écoule du tissu vasculaire brun décoloré de celle-ci (ANONYME, 2007 ; PRIOU et ALEY, 2002).

6. Les dégâts causés sur différentes parties de la pomme de terre

Le flétrissement bactérien est la seconde maladie de la pomme de terre au Kenya (MURIITHI, 2000), ses dommages atteignent 50 à 100% ; ils sont plus importants dans les régions tropicales, subtropicales au niveau mondial. La maladie limite la production de semences à travers le monde (MARTIN et FRENCH, 1985).

Selon CRAMER (1967), les pertes totales subies par la culture de la pomme de terre sont de 32,3 % dont 21,8 % imputables aux maladies (mycoses, bactérioses et viroses) ; 6,5% aux insectes et 4% aux adventices. Ces nombreuses maladies se manifestent au cours du cycle végétatif, mais aussi sur les tubercules en stock. On y rencontre aussi des dégâts dus aux nématodes et des maladies non parasitaires.

7. Le diagnostic de la maladie

Au champ, il se réalise par la recherche d'exsudats au niveau de la région vascularisée de la tige ou des tubercules des plants montrant des symptômes typiques de flétrissement bactérien. Un nuage de cellules bactériennes peut être observé en trempant un bout de tige ou un morceau de tubercule issus d'un plant infecté dans un vers d'eau claire (PRIOU et ALEY, 2002). Selon MARTIN et FRENCH (1985), une autre méthode rapide consisterait à placer 2 ou 3 gouttes de KOH 3% (Hydroxyde de potassium) sur une lame, transférer un peu d'exsudat bactérien à l'aide d'un cure dent en bois puis mélanger par des mouvements circulaires rapides pendant 5 à 15 secondes. La présence de *Ralstonia* est marquée par la formation d'un fil laiteux.

Il est important de détecter les infections latentes au niveau des tubercules qui seront utilisés comme semences, on y parvient par la PCR (LE PENNEC, 1991).

Selon MAAS GEESTERANUS et VRUGGINK (1990), plusieurs inspections doivent être effectuées au cours d'un même cycle végétatif car un petit nombre de plants infectés associés à une longue période d'incubation peuvent conduire à une sérieuse infestation du matériel de propagation.

8. Les milieux de culture de *Ralstonia solanacearum*

Parmi les milieux de culture de *Ralstonia solanacearum*, il y a les milieux spécifiques et les milieux généraux. Le Triphenyl Tetrazolium Chloride (TZC) de MARTIN *et al.* (1982) ou le TZC modifié de GRANADA et SEQUEIRA (1983) sont considérés comme les meilleurs milieux spécifiques de *Ralstonia solanacearum*. Ils permettent de révéler la présence de cette bactérie dans un échantillon. Le SMSA de ELPHINSTONE *et al*. (1996) est aussi recommandé parmi les milieux spécifiques.

Quant aux milieux généraux, ils servent à multiplier les souches préalablement purifiées. Le CPG ($g1^{-1}$ Cassamino-acide1; Peptone 10; Glucose 5; pH: 7,2) de KUMAR *et al.* (2004) constitue le meilleur milieu de culture de *Ralstonia solanacearum*. Son efficacité est équivalente à celle du LPGA (extrait de levure 7g, bacto-peptone 7g, glucose 7g et agar 15g).

La conservation des souches de *R. solanacearum*, peut se faire tout simplement dans de l'eau de robinet stérilisée ou de l'eau distillée stérile (MARTIN *et al.*, 1982). Selon KELMAN et PERSON (1961), les cultures sont maintenues au mieux dans leur forme d'origine lorsqu'elles sont conservées dans de l'eau distillée ou déionisée, ou encore de l'eau de robinet bouillie pour en éliminer le chlore ; en tubes hermétiques visés. S'il s'agit de colonies âgées de 48 heures sur milieu gélosé TZC, on y prélève deux (2) anses pleines que l'on transfère dans un tube contenant 5 ml d'eau distillée. Toutefois, on prendra soin de les reproduire tous les six (6) mois sur le même milieu afin de les purifier en éliminant les mutants avirulents.

9. Les méthodes de lutte contre la pourriture brune de la pomme de terre

Selon MARTIN et FRENCH (1985), il n'existe pas de moyens de lutte chimique efficace à l'heure actuelle. Toutefois, une bonne connaissance de l'agent pathogène, de son mode d'action et des relations avec la plante hôte permet d'envisager avec succès, une lutte intégrée (MAAS GEESTERANUS et STALL, 1990 ; MARTIN et FRENCH, 1985 ; MURIITHI, 2000; PRIOU et ALEY, 2002). Plusieurs domaines sont investigués en ce sens. La rotation des cultures et l'utilisation de variétés résistantes constituent les principales méthodes de lutte contre les ennemis de la pomme de terre (FAO, 2008).

9.1. La lutte chimique

Les pratiques d'utilisation de bactéricides chimiques se font généralement par application foliaire, par l'eau d'irrigation et le sol, selon les propriétés physico-chimiques de ces substances. La plupart des applications se font par voie foliaire étant donné la méconnaissance des relations entre la structure chimique du bactéricide et de son taux d'application par les racines (SEKIZAWA et WAKABAYASHI, 1990). Malheureusement, le taux d'absorption de la plupart des matières actives utilisées en pulvérisation foliaire ne dépasse pas 10 %, la différence occasionnant une pollution de l'environnement.

Les antibiotiques et les bactéricides chimiques sont des spécialités phytopharmaceutiques dont l'usage est généralement prohibées pour un usage agricole (BURR et NORELLI, 1990).

9.2. L'utilisation de la résistance variétale

La plupart des flétrissements causés par des bactéries ne peut être contrôlée par des produits chimiques. Plusieurs auteurs s'accordent sur la nécessité de sélectionner des cultivars résistants pour offrir une alternative de contrôle durable et bon marché (DESLANDES *et al.*, 1997 ; GRIMSLEY et HANSON, 1997 ; MARCO *et al.*, 2005 ; MAVRIDIS *et al.*, 1990 ; WANG *et al.*, 1997b). Selon SIDIKOU (2002) et SIDIKOU *et al*., (2005), la principale voie pour limiter l'incidence de cette maladie est la création de variétés tolérantes ou résistantes. L'hybridation somatique entre une variété diploïde sensible (BP15.2X) et des espèces sauvages (*Solanum stenotomum* et *S. phureja*) apparentées résistantes à la bactériose a été effectuée dans l'optique d'un transfert de la résistance.

Au Niger, Agro-Sans-Frontières en collaboration avec certains de ses partenaires a entrepris d'introduire du matériel végétatif «neuf», constitué de plants de base de variétés résistantes, pour remédier au problème de dégénérescence sanitaire (JOUAN *et al.*, 2003 ; CORUS, 2006).

9.3. La lutte agronomique

OKON (1990) a décrit l'irrigation, la rotation culturale et la fertilisation comme méthodes agronomiques permettant de réduire les maladies bactériennes.

L'aspersion et la submersion sont des techniques d'irrigation favorisant la dispersion des bactéries d'un plant à un autre. L'effet de l'irrigation sur les maladies est probablement variable pour les parties aériennes (tiges et feuilles) que celles souterraines. Le maintien d'une période de sécheresse du sol et de la rhizosphère de 20 jours après 26 semaines (7 à 8 mois) de culture, réduit les populations bactériennes à un niveau non infectieux.

La survie à long terme de *R. solanacearum* peut dépendre de l'infection d'une grande variété de plants supposés non hôtes tels que le haricot, le maïs et la canne à sucre. L'abondance des populations de *Ralstonia* pathogènes dans la rhizosphère des plantes non hôtes, rend leur contrôle très fastidieux car, une faible concentration bactérienne de l'ordre de 10^2 cfu/g de sol peut potentiellement déclencher une épidémie si les conditions environnementales sont favorables. La rotation culturale permet de réduire efficacement les sources et la quantité d'inoculum. Toutefois, la forte dépendance économique des petits maraîchers africains rend irréaliste la pratique des longues rotations (GILDEMACHER *et al.*, 2006).

Dans le domaine de la fertilisation minérale, il faut noter que l'excès d'azote favorise une infection à *R. solanacearum* par l'accroissement de la transpiration et de l'ouverture des stomates alors que le potassium accroît la résistance des plantes aux maladies bactériennes. L'influence du phosphore est

plutôt contreversée ou variable. En fait, il ne s'agit pas de la présence seule d'un nutriment, mais plutôt de sa proportion relative.

9.4. La lutte biologique

Au cours de ces dernières années, il y a eu relativement peu d'études par rapport à l'utilisation de bactéries sur des semences et des racines dans le but de contrôler des maladies bactériennes (WHIPPS, 2001). Un exemple est celui de l'application de souches non pathogènes de *Streptomyces* pour contrôler la Gale commune (*Streptomyces scabies*) de la pomme de terre. Les mécanismes mis en jeu sont l'antibiose et la compétition pour l'espace et les nutriments de la rhizosphère. La souche non pathogène prévient l'expression de la maladie plutôt que de tuer directement les cellules du pathogène. A l'opposé, *Pseudomonas fluorescens* est connu pour son efficacité contre la maladie de la Jambe noire *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* par la production de l'antibiotique 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), ainsi que la production de siderophores.

Selon SCHROTH et BAHME (1990), dans la nature, les microorganismes sont en interaction continuellement, excepté lorsqu'ils sont en état de dormance. Certains sont antagonistes à d'autres dans des conditions environnementales particulières. Une bonne utilisation du contrôle biologique nécessite la compréhension de l'écologie des antagonistes et les mécanismes par lesquels ils régulent les pathogènes (antibiose, prédation, parasitisme et compétition pour des sources de nutriments).
Pour KEMPE et SEQUEIRA (1983), une résistance peut se perdre sous certaines conditions environnementales, notamment des températures supérieures à 30°C, c'est pourquoi elle est couplée à la lutte biologique. La bonne technique consiste à introduire l'antagoniste bactérien directement dans le système vasculaire des tubercules à protéger avant leur exposition à l'agent pathogène. En effet, il a été noté que l'application de bactéries antagonistes aux racines ou aux tubercules de semences, est souvent inhibée par des conditions adverses du sol, notamment la présence d'autres microorganismes.
Pour lutter contre une souche virulente de *Ralstonia solanacearum*, ces deux auteurs ont essayé d'induire une résistance à quelques cultivars de pomme de terre en utilisant comme antagonistes, une souche avirulente de *Ralstonia*, une souche pathogène mais incompatible à la pomme de terre ainsi qu'une souche saprophyte.

Le contrôle biologique de la pourriture brune passera par l'induction d'une résistance en utilisant comme bactéries antagonistes soit une souche avirulente de *Ralstonia*, une souche pathogène mais incompatible à la pomme de terre, soit une souche saprophyte (KEMPE et SEQUEIRA, 1983). Les étapes comprennent :

- Isolement des différentes souches bactériennes sur milieu TZC ;
- Préparation des inocula bactériens dans un tampon phosphaté 0,01 M, pH 7,2, ajustée à 600 nm ;
- Inoculation par piqûre de tiges.

9.5. La lutte intégrée

Le contrôle des maladies des plantes est souvent très difficile, néanmoins, il est possible de réduire les pertes pouvant être occasionnées par celles-ci en suivant un programme qui intègre des techniques de lutte culturale, chimique, physique, biologique et génétique (JENKINS et AVERRE, 1986 ; MURIITHI, 2000).

MURIITHI (2000), propose la stratégie suivante de gestion intégrée du flétrissement bactérien :

- Utiliser des variétés tolérantes ;
- Utiliser des semences saines ;
- Assurer la propreté du sol ;
- Assurer un bon suivi de la maladie en cours de végétation ;
- Eliminer les plants malades ;
- Pratiquer une rotation culturale de 2 ans au moins, sans Solanacées ;
- Assainir le champ (traitement des semences et lutte biologique) ;
- Assurer un bon contrôle des nématodes.

La résistance au flétrissement bactérien est brisée lorsque les larves de nématodes à galles (*Meloidogyne incognita*) sont ajoutées à un taux de 100 larves par pot de 10 cm de diamètre au moment de l'inoculation (GOTH, 1983). Selon DEBERT et PRIOR (1999), la plante de tomate se trouve incapable de contrôler à la fois la colonisation bactérienne et les changements physiologiques imposés par la néoformation des galles.

10. La maîtrise insuffisante des techniques culturales

Parmi les pratiques incorrectes observées sur le terrain figurent l'utilisation de la matière organique non décomposée, ce qui entraîne les attaques de termites. On y rencontre également des semis non alignés, une faible densité de semis, l'orientation des parcelles dans le sens de la pente, l'absence de pratique du buttage avec des plants déchaussés et des tubercules exposés à la lumière ainsi que la récolte avant maturité complète (CORUS, 2006).

Selon ADAM (1996), la monoculture répétée de la pomme de terre a eu pour conséquences de favoriser l'installation de ces maladies. A ces contraintes, s'ajoutent les importations de matériels de multiplication en provenance d'Europe ou des pays voisins notamment le Nigeria, sans contrôle approprié par les services de quarantaine phytosanitaire.

DEUXIEME PARTIE :

EVALUATION DES ATTAQUES DU FLETRISSEMENT BACTERIEN CAUSE PAR *RALSTONIA SOLANACEARUM* ET CARACTERISATION DES SOUCHES LOCALES

CHAPITRE 1 :

EVALUATION DES ATTAQUES DU FLETRISSEMENT BACTERIEN CAUSE PAR *RALSTONIA SOLANACEARUM* AU CHAMP, SUR POMME DE TERRE ET D'AUTRES SOLANACEES, AU NIGER.

1. INTRODUCTION

Au Niger, la culture de la pomme de terre fait face à de nombreuses contraintes. Au nombre de ces contraintes, on peut citer l'absence d'une stratégie efficace de développement de la filière, le faible suivi agronomique et phytosanitaire, l'absence d'un circuit adéquat de commercialisation. Les travaux d'inventaire des contraintes parasitaires de la pomme de terre réalisés dans les différentes zones agro écologiques du Niger ont démontré que les maladies (fongiques, bactériennes et virales) sont à l'origine de gros dégâts (CORUS, 2006 ; ADAMOU, 2007). Un obstacle majeur au développement de la culture est constitué par le flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum*. Il est sans doute la maladie bactérienne la plus importante au Niger (CORUS, 2006 ; SIDIKOU *et al.*, 2005). Plus de 400 espèces végétales cultivées et sauvages (OEPP, 2005). La maladie limite la production de semences à travers le monde (MARTIN et FRENCH, 1985). Selon MURIITHI (2000), le flétrissement bactérien est la seconde maladie de la pomme de terre au Kenya, ses dommages y atteignent 50 à 100%. Au niveau mondial, les dégâts sont plus importants dans les régions tropicales et subtropicales.

Au regard de ce constat et dans l'optique de mieux cerner les conditions de développement de la maladie, il nous est apparu opportun d'étudier le développement du flétrissement bactérien sur les solanacées au Niger et de caractériser les souches présentes.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel utilisé

Sur le terrain, le principal matériel utilisé a été un GPS 12XL de Garmin qui a servi à apprécier les coordonnées géographiques ayant permis d'établir la carte à la figure 8 et les altitudes rapportées dans les tableaux 11 et 12.

L'eau du robinet ajoutée à de la terre et malaxée entre le pouce et l'index a permis d'apprécier la texture des sols (type de sol dominant).

De l'eau claire et un verre propre ont été utilisés pour effectuer le test du "verre d'eau" qui permet de vérifier si l'on a un écoulement bactérien à partir des vaisseaux d'une tige de plante sectionnée. Il s'agit d'un test caractéristique d'une contamination des plantes par la bactérie *R. solanacearum*.
Une solution d'hydroxyde de potassium KOH (3%), une lame de microscope et un cure-dent stériles ont été utilisés pour parfaire le test de Gram sur les colonies bactériennes isolées.

2.2. Méthodes d'étude

2.2.1. Collecte des données au champ

Quatre prospections ont été effectuées dans les principales régions productrices de pomme de terre (Agadez, Dosso, Niamey et Tillabéri), de novembre 2006 à juin 2007 (Tableau 2). Le degré de l'attaque du flétrissement bactérien au champ a été évalué en pourcentage (%) du nombre de plantes malades quelque soit l'ampleur des symptômes, par rapport au nombre de plantes observées dans une parcelle. Les stades végétatifs observés vont de la levée en pépinière à la fruictification. La note retenue par parcelle observée est la moyenne de trois échantillonnages sur 100 plants pris au hasard. Au total, 46 parcelles de pomme de terre, de poivron et de tomate de dimensions moyennes variant de 150 m² à 3 ha ont été prospectées dans les 27 villages visités au niveau des quatre principales régions retenues.

Les échantillons sont prélevés sur des plantes présentant des symptômes de flétrissement typique. Les plantes sont déterrées à l'aide d'une pelle-bêche. Les racines secondaires sont réduites au scalpel stérile et la racine principale est superficiellement stérilisée à l'éthanol 95°. Un segment de tige de 1 cm est coupé en partant du collet vers le bas. Sur les tubercules, des prélèvements sont effectués au niveau du point d'attache du stolon.

2.2.2. Diagnostic au champ

Au champ, la technique de test de suintement bactérien ou encore appelée test du verre d'eau a été utilisée au cours des travaux. Chaque échantillon est placé dans un tube contenant 20 ml d'eau permutée stérile et retiré après 3 heures. Un macérât blanc laiteux caractérise la présence de *Ralstonia solanacearum* dans le système vasculaire de la plante évitant ainsi toute confusion avec des symptômes dus à d'autres infections bactériennes causées par *Clavibacter michiganensis sepedonicus* ou des bactéries du genre *Dickeya* ou encore des maladies fongiques provoquées par *Verticillium* sp. et *Fusarium eumartii* (PRIOU *et al.*, 1999). Les macérats sont conservés à 20°C jusqu'à leur utilisation au laboratoire (MARTIN *et al.*, 1982).

L'identification rapide de la maladie du flétrissement bactérien dû à *Ralstonia solanacearum* s'est faite à l'aide de la technique du test de GRAM au champ. Pour ce faire, deux gouttes d'une solution d'hydroxyde de potassium KOH (3%) sont déposées sur une lame propre. A l'aide d'un cure-dent stérile, une goutte d'exsudat bactérien est prélevée au niveau de l'anneau vasculaire du tubercule ou de la tige présentant les symptômes de la maladie. La préparation est alors mélangée durant une dizaine de secondes en faisant des mouvements circulaires continus pour bien l'homogénéiser. L'observation d'un filament lorsque le cure-dent est retiré confirme que la bactérie est Gram-négatif comme *Ralstonia solanacearum*, contrairement à *Clavibacter michiganensis sepedonicus* (PRIOU *et al.*, 1999).

2.2.3. Expression des résultats

Les coordonnées géographiques (Latitude et Longitude) de chaque point d'échantillonnage ont été traités à l'aide du logiciel Arc View GIS 3.2a (2) (ANONYME, 1993) afin d'établir une cartographie des attaques du flétrissement bactérien au niveau des principales régions maraîchères du Niger. Un tableau récapitulatif présente les différentes cultures et les variétés échantillonnées ainsi que le taux d'attaque en pourcentage (%) pour chaque localité visitée dont l'altitude est précisée.

3. RESULTATS

3.1. Evaluation des attaques du flétrissement bactérien au champ

Les taux d'attaques du flétrissement bactérien observés au champ sur différentes Solanacées cultivées dans les quatre principales régions maraîchères du Niger sont regroupés dans le tableau 11 et représentés sur la figure 8. Sur le tableau, on note que les taux moyens du flétrissement bactérien relevés sur l'ensemble du territoire varient de 1% à 60%.

Dans la région d'Agadez en zone saharienne, les taux moyens du flétrissement bactérien sont de 1% à l'exception de la localité de Fouskaye (2%). Il faut remarquer que toutes ces localités sont situées en zones d'altitudes relativement élevées (913 à 1477 mètres). La culture dominante est la pomme de terre. Les variétés signalées sont toutes issues d'importation européenne (Désirée, Pamela et Sahel).

Dans les régions du Sud, les taux du flétrissement bactérien sont les plus élevés. En effet, il est noté une moyenne de 12,4 % pour la région de Dosso avec un maximum de 60 % à Bogol-Hima. A Tillabéri, le taux moyen de la maladie est de 10,4 %. La valeur la plus forte est de 50 % observée à Ballayara. Toutes ces localités sont situées à des altitudes relativement faibles, comprises entre 184 et 256 mètres.

Tableau 11: Liste des souches isolées à partir des plantes collectées dans les principales régions productrices de pomme de terre et d'autres Solanacées, et incidence du flétrissement.

N°	Région	Code de la Souche	Plante hôte		Sites de prospections		Taux de la maladie (%)
			Nom commun	Variété	Village	Altitude	
1	AGADEZ	Awkd	Pomme de terre	Désirée	Awkadédé	1477 m	1
2		Bgzn 1	Pomme de terre	Pamela	Bagzane	1546 m	1
3		Bgzn 2	Pomme de terre	Désirée	Bagzane	1546 m	1
4		Tdra	Pomme de terre	Sahel	Tadara	955 m	1
5		Fsky 1	Pomme de terre	Sahel	Fouskaye	1472 m	2
6		Fsky 2	Pomme de terre	Pamela	Fouskaye	1472 m	1
7		Tblt 1	Pomme de terre	Désirée	Tabelote	854 m	1
8		Tblt 2	Poivron	ND	Tabelote	844 m	1
9		Tlwa 1	Pomme de terre	Désirée	Télawas	913 m	1
10		Tlwa 2	Pomme de terre	Désirée	Télawas	913 m	1
11		Tlwa 3	Pomme de terre	Désirée	Télawas	913 m	1
12	DOSSO	Bgl-H 1	Pomme de terre	Dan Hadjia	Bogol-Hima	195 m	2
13		Bgl-H 2	Pomme de terre	ND	Bogol-Hima	195 m	11
14		Bgl-H 3	Pomme de terre	ND	Bogol-Hima	195 m	60
15		Kara	Tomate	ND	Karra	192 m	1
16		Mtkr 1	Poivron	ND	Matankari	186 m	6
17		Mtkr 2	Tomate	ND	Matankari	186 m	4
18		Mtkr 3	Pomme de terre	ND	Matankari	186 m	1
19	NY	Kayé 1	Pomme de terre	ND	Kayé	219 m	3
20		Kayé 2	Tomate	ND	Kayé	219 m	1
21		Kayé 3	Aubergine	ND	Kayé	219 m	1
22	TILLABERI	Awla	Tomate	ND	Awlakouara	186 m	1
23		Bkk 2	Pomme de terre	Dan Hadjia	Bonkoukou	215 m	1
24		Bkk 3	Pomme de terre	Dalaway	Bonkoukou	215 m	5
25		Bkk 4	Pomme de terre	Rosanna	Bonkoukou	215 m	30
26		Bkk 5	Pomme de terre	Dan Hadjia	Bonkoukou	214 m	6
27		Bkk 7	Pomme de terre	Stemster	Bonkoukou	219 m	19
28		Bkk 8	Pomme de terre	Dan Cameroun	Bonkoukou	219 m	4
29		Bkk 9	Pomme de terre	Rosanna	Bonkoukou	219 m	1
30		Blyr 1	Pomme de terre	ND	Ballayara	211 m	7
31		Blyr 2	Pomme de terre	Dan Hadjia	Ballayara	205 m	15
32		Blyr 3	Tomate	ND	Ballayara	205 m	1
33		Blyr 4	Pomme de terre	Dan Hadjia	Ballayara	206 m	50
34		Blyr 5	Pomme de terre	Dan Hadjia	Ballayara	204 m	37
35		Cat 1	Piment	ND	Tillakayna	200 m	1
36		Cat 3	Tomate	ND	Tillakayna	200 m	1
37		Dmba	Pomme de terre	ND	Doumba	240 m	15
38		Glwa	Tomate	ND	Gualléwa	184 m	19
39		Kobi	Pomme de terre	ND	Kobi	212 m	1
40		Losa	Tomate	ND	Lossa	208 m	1
41		Mari	Pomme de terre	ND	Mari	215 m	7
42		Skk	Pomme de terre	ND	Sékoukou	186 m	1
43		Ssn-H	Poivron	ND	Sansani-haoussa	201 m	1
44		Téra 1	Poivron	ND	Téra	246 m	1
45		Téra 2	Pomme de terre	Dan Hadjia	Téra	256 m	20
46		Téra 3	Tomate	ND	Téra	256 m	15

La répartition des plantes hôtes par espèce végétale indique 31 plants de pomme de terre, 9 plants de tomate, 4 plants de poivron et 1 plant d'aubergine. La maladie semble donc s'exprimer plus

sur la culture de la pomme de terre. Les variétés les plus atteintes sont la variété locale Dan-Hadjia ainsi qu'un certain nombre de génotypes non déterminés (ND). Elles sont suivies de la variété Rosanna, un cultivar d'origine Européenne. La répartition géographique de la maladie montre que les taux moyens du flétrissement bactérien observés sont les plus élevés dans les régions situées dans la partie Sud-ouest du Niger à savoir, Dosso, Niamey et Tillabéri.

3.2. La distribution géographique de la maladie dans les zones de production de la pomme de terre au Niger

Les propriétés pédoclimatiques des quatre principales régions maraîchères du Niger sont indiquées au tableau 12.

La région d'Agadez est caractérisée par un climat saharien, avec une pluviométrie moyenne annuelle de 71 mm. Le sol dominant est de type argilo sableux. Dans ce système de cultures oasiennes, l'irrigation se fait par gravité sans mouiller le feuillage des plantes avec une eau puisée à plus de 30 mètres de profondeur. Les températures sont basses la nuit (19,8 °C), avec 33% de probabilité qu'elles descendent au dessous de 15 °C. Dans cette région le taux moyen d'attaque du flétrissement bactérien est proche de 1%, avec un maximum de 2% à Fouskaye (tableau 11).

Les sols des régions de Dosso, Niamey et Tillabéri sont essentiellement sableux. Il pleut annuellement respectivement 400 mm à Tillabéri et 600 mm à Dosso et Niamey. L'irrigation se fait par aspersion du feuillage des plantes avec une eau tirée du fleuve (Niamey et une partie de Tillabéri), ou d'une nappe phréatique peu profonde (0,5 -2 mètres) comme à Bogol-Hima (Dosso) et à moins de 10 mètres à Bonkoukou et Ballayara (Tillabéri). Des adventices des espèces suivantes (*Sphenoclea zeylanica, Ludwigia abyssinica, Hyptis spicigera, Cynodon dactylon et Commelina bengalensis*) sont présentes toute l'année. Les températures minimales se situent entre 22 et 23 °C, avec une probabilité de 0% qu'elles soient inférieures ou égales à 15 °C (SIVAKUMAR *et al.*, 1993).

Le flétrissement bactérien semble mieux s'exprimer dans ces dernières régions puisque les taux moyens d'incidences les plus élevés y sont relevés. En effet, il est noté un taux moyen d'attaque du flétrissement bactérien de 12,4 % pour la région de Dosso avec un maximum de 60 % à Bogol-Hima. A Tillabéri, la moyenne est de 10,4 % avec une note de 50 % pour Ballayara.

Seuls 24% des souches collectées appartiennent à la zone saharienne située à une altitude comprise entre 800 et 1600 mètres et des températures moyennes minimales de 19°C. Le taux moyen d'attaque du flétrissement bactérien est inférieur à 1% et n'a jamais dépassé 2%. Plus de 76%, soit la majorité des souches, proviennent de la zone sahélienne de faibles altitudes (150 et 300 mètres) et de températures

moyennes minimales supérieures à 20°C. Le taux moyen l'attaque du flétrissement bactérien observé dans ces localités est de 10% avec un maximum de 60% à Bogol-Hima.

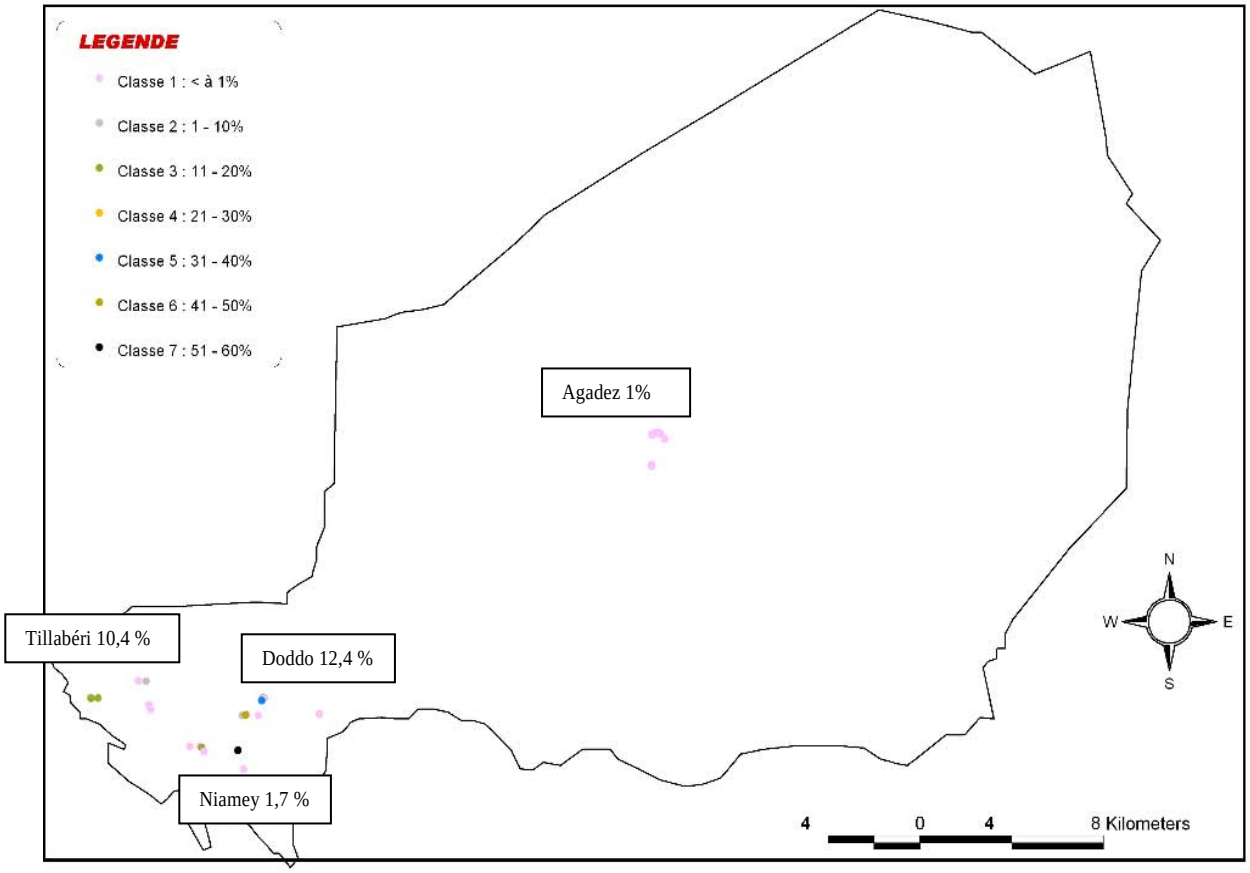


Figure 8 : Cartographie des taux du Flétrissement bactérien observés au Niger

Dans l'étude du flétrissement bactérien de la pomme de terre et des autres Solanacées, plusieurs paramètres climatologiques et agronomiques peuvent influencer une épidémie. Il s'agit entre autres de la pluviométrie annuelle, de la température minimale, de l'altitude, du type de sol, de la source d'eau et du mode d'irrigation, des espèces végétales cultivées et de l'itinéraire technique pratiqué.

Le tableau 12 présente les caractéristiques pédoclimatiques et agricoles des régions visitées au cours de l'étude.

Tableau 12 : Propriétés pédoclimatiques et agricoles des régions prospectées

Région	**Pluviométrie annuelle (mm)**	**Type de sol dominant**	**Température minimale (°C)**	**Altitude (m)**	**Mode d'irrigation**	**Principales cultures pratiquées**
Agadez	71	Argilo sableux	18°C	800 – 1546	Gravitaire	Pomme de terre
Dosso	600	Sableux	22°C	186 – 195	Aspersion	Pomme de terre Tomate
Niamey	600	Sableux	23°C	219	Aspersion	Pomme de terre Tomate Aubergine
Tillabéri	400	Sableux	23°C	186 – 256	Aspersion	Pomme de terre Tomate

(Source : MDR, 2004 ; SIVAKUMAR *et al.*, 1993)

La pomme de terre est la principale culture maraîchère au niveau des sites visités. Sa haute valeur économique et son cycle court constituent les principaux atouts de cette spéculation. Les sols sableux sont dominants et le mode d'irrigation préféré est l'aspersion. Toutes les altitudes semblent propices à la culture de la pomme de terre (ADAMOU *et al.*, 2009).

3.3 La gamme d'hôte de la maladie au Niger

L'étude des attaques du flétrissement bactérien sur les plantes est présentée dans le tableau 13. On note que la répartition de la maladie par espèce végétale, pour les 46 souches collectées donne 68,8% pour la pomme de terre, 20% pour la tomate, 11% pour le poivron et 0,2% pour l'aubergine.

Tableau 13: Liste des plantes hôtes de *Ralstonia solanacearum* collectées dans les principales régions maraîchères du Niger.

N°	Région	Code de la Souche	Plante hôte		Sites de prospections	
			Nom commun	Variété	Village	Altitude
1	AGADEZ	Awkd	Pomme de terre	Désirée	Awkadédé	1477 m
2		Bgzn 1	Pomme de terre	Pamela	Bagzane	1546 m
3		Bgzn 2	Pomme de terre	Désirée	Bagzane	1546 m
4		Tdra	Pomme de terre	Sahel	Tadara	955 m
5		Fsky 1	Pomme de terre	Sahel	Fouskaye	1472 m
6		Fsky 2	Pomme de terre	Pamela	Fouskaye	1472 m
7		Tblt 1	Pomme de terre	Désirée	Tabelote	854 m
8		Tblt 2	Poivron	ND	Tabelote	844 m
9		Tlwa 1	Pomme de terre	Désirée	Télawas	913 m
10		Tlwa 2	Pomme de terre	Désirée	Télawas	913 m
11		Tlwa 3	Pomme de terre	Désirée	Télawas	913 m
12	DOSSO	Bgl-H 1	Pomme de terre	Dan Hadjia	Bogol-Hima	195 m
13		Bgl-H 2	Pomme de terre	ND	Bogol-Hima	195 m
14		Bgl-H 3	Pomme de terre	ND	Bogol-Hima	195 m
15		Kara	Tomate	ND	Karra	192 m
16		Mtkr 1	Poivron	ND	Matankari	186 m
17		Mtkr 2	Tomate	ND	Matankari	186 m
18		Mtkr 3	Pomme de terre	ND	Matankari	186 m
19	NY	Kayé 1	Pomme de terre	ND	Kayé	219 m
20		Kayé 2	Tomate	ND	Kayé	219 m
21		Kayé 3	Aubergine	ND	Kayé	219 m
22	TILLABERI	Awla	Tomate	ND	Awlakouara	186 m
23		Bkk 2	Pomme de terre	Dan Hadjia	Bonkoukou	215 m
24		Bkk 3	Pomme de terre	Dalaway	Bonkoukou	215 m
25		Bkk 4	Pomme de terre	Rosanna	Bonkoukou	215 m
26		Bkk 5	Pomme de terre	Dan Hadjia	Bonkoukou	214 m
27		Bkk 7	Pomme de terre	Stemster	Bonkoukou	219 m
28		Bkk 8	Pomme de terre	Dan Cameroun	Bonkoukou	219 m
29		Bkk 9	Pomme de terre	Rosanna	Bonkoukou	219 m
30		Blyr 1	Pomme de terre	ND	Ballayara	211 m
31		Blyr 2	Pomme de terre	Dan Hadjia	Ballayara	205 m
32		Blyr 3	Tomate	ND	Ballayara	205 m
33		Blyr 4	Pomme de terre	Dan Hadjia	Ballayara	206 m
34		Blyr 5	Pomme de terre	Dan Hadjia	Ballayara	204 m
35		Cat 1	Piment	ND	Tillakayna	200 m
36		Cat 3	Tomate	ND	Tillakayna	200 m
37		Dmba	Pomme de terre	ND	Doumba	240 m
38		Glwa	Tomate	ND	Gualléwa	184 m
39		Kobi	Pomme de terre	ND	Kobi	212 m
40		Losa	Tomate	ND	Lossa	208 m
41		Mari	Pomme de terre	ND	Mari	215 m
42		Skk	Pomme de terre	ND	Sékoukou	186 m
43		Ssn-H	Poivron	ND	Sansani-haoussa	201 m
44		Téra 1	Poivron	ND	Téra	246 m
45		Téra 2	Pomme de terre	Dan Hadjia	Téra	256 m
46		Téra 3	Tomate	ND	Téra	256 m

Les symptômes sur la pomme de terre comprennent le flétrissement du plant (plus remarqué aux heures chaudes de la journée) et la chlorose des feuilles. En conditions favorables à la maladie, toutes les feuilles du poquet flétrissent subitement tout en demeurant vertes (Planche 5a). Des stries sont visibles à la base des tiges (au dessus du sol), à mesure que les faisceaux vasculaires infectés deviennent visibles. Sur les tubercules (Planche 5b), la zone vascularisée est habituellement d'une coloration brun grisâtre et cette coloration peut s'étendre à la chair et à la peau. Les yeux du tubercule deviennent brun grisâtre et peuvent présenter un exsudat collant de même qu'au niveau du stolon.

Planche 5 : Une vue d'un foyer de plants flétris (**a**) et d'exsudats bactériens sortant de la région vascularisée d'un tubercule de pomme de terre ùalade (**b**). (Photo : ADAMOU Issa)

Sur la tomate (*Lycopersicum esculentum*), le flétrissement bactérien apparaît initialement comme une flaccidité des jeunes feuilles. Lorsque les conditions environnementales sont favorables, un flétrissement rapide et total survient. Le stade ultime est atteint deux à trois jours plus tard, suivi d'une mort soudaine. Au contraire, si les conditions environnementales ne sont pas favorables, la maladie se développe lentement et se caractérise par une épinastie foliaire et l'apparition de racines adventives sur la tige. Une section transversale de la tige montre un système vasculaire jaune ou brun clair. Avec la progression de la maladie, la couleur de la tige devient brun foncé. Des lésions imbibées peuvent apparaître sur la tige lors de la survenue d'une invasion bactérienne massive de l'écorce, avec possibilité d'exsudation d'un liquide blanc jaunâtre (EPPO, 2004; ANONYME, 2007).

Sur le poivron (*Capscicum annuum*), les symptômes sont observés plutôt au niveau des feuilles qui subissent le flétrissement et l'épinastie. Ce flétrissement est le plus souvent unilatéral. Les feuilles d'un côté de la plante manifestent des symptômes de flétrissement sur la moitié ou la totalité du limbe. Dans les cas les plus graves, les feuilles se flétrissent sans changer de couleur mais restent attachées à la

tige. Comme chez toutes les Solanacées, une coupe transversale laisse voir une coloration brune des tissus vasculaires. Les racines primaires et secondaires virent au brun ou au noir. Toutefois, les tiges, par leur aspect plus lignifié, restent droites (EPPO, 2004).

Sur l'aubergine (*Solanum melongena*), les symptômes sont identiques à ceux observés chez le piment et le poivron. Les feuilles sont les premiers organes qui manifestent la maladie sous la forme d'un flétrissement. Les feuilles d'un côté de la plante manifestent des symptômes de flétrissement sur la moitié ou la totalité du limbe. Lorsque la maladie devient sévère, le flétrissent survient brutalement. Les feuilles s'affaissent sans changer de couleur mais restent attachées à la tige qui reste droite. Une coupe transversale de la tige au niveau du collet, laisse paraître une coloration brune des tissus vasculaires (EPPO, 2004).

4. DISCUSSION

Les résultats de l'étude de l'influence du type de sol sur le flétrissement bactérien au Niger, donnent un taux moyen d'attaque du flétrissement bactérien constaté est de 1%, avec un maximum de 2% sur les échantillons prélevés sur les sols argilo-sableux de la région d'Agadez contre respectivement 12,4 % et 10,4 % pour ceux des régions de Dosso et de Tillabéri, toutes deux possédant des sols sableux. Ces observations se rapprochent de celles de VAN VAERENBERGH *et al.* (2006) qui ont aussi constaté que la plupart des infections avaient lieu sur sol sableux à haute teneur de matière organique et bien irrigués. Par contre MESSIHA *et al.* (2006) ont plutôt fait cas d'une baisse des populations de *Ralstonia solanacearum* plus importante dans un sol sableux par rapport à un sol argileux en Egypte. Il semblerait que le type d'argile est un facteur déterminant de la survie de *Ralstonia solanacearum* dans les sols argileux. Selon SCHMIT *et al* (1990), les argiles gonflantes en se desséchant, piègent les bactéries qui succombent suite à la fermeture des réseaux poreux. Il se pourrait aussi, que des conditions climatiques soient à l'origine de cette divergence, c'est pourquoi POUSSIER (2000), affirme que les résultats portant sur la relation type de sol et flétrissement bactérien sont souvent contradictoires.

GRANADA et SEQUEIRA (1983) ont constaté que la bactérie ne survivait pas dans le sol lui-même mais dans les racines des plantes hôtes ou dans la rhizosphère des plantes non hôtes. Plus tard, SEQUEIRA (1993) remarque que *Ralstonia solanacearum* ne peut pas survivre longtemps dans un sol à cause de la présence d'autres microorganismes antagonistes. Selon MARTIN et FRENCH (1985), *Ralstonia solanacearum* est originaire de plusieurs sols tropicaux et peut survivre plusieurs années dans certains de ces sols et disparaît entre deux cycles culturaux dans d'autres.

Les travaux précités sont d'un haut niveau scientifique et montrent la complexité des mécanismes en jeu qui expliquent le lien qui existe entre le type de sol et le flétrissement bactérien. Des investigations plus approfondies restent à faire dans ce domaine.

Les températures influencent fortement le développement du flétrissement bactérien. En effet, les taux d'incidence de la maladie observés dans la région d'Agadez située en zone saharienne avec des altitudes comprises entre 800 et 1600 mètres sont inférieurs à 1%. Par contre, dans les zones sahéliennes où les altitudes sont plus faibles (150 et 300 mètres) et les températures plus fortes, les taux moyens du flétrissement bactérien relevés sont supérieurs à 10%. La corrélation négative observée entre l'incidence et l'altitude ressort dans les résultats des travaux de ATEKA *et al.* (2001). D'autres études multilocales de comportement de génotypes de pommes de terre ont abouti au fait que des semences de pomme de terre certifiées saines à 1520-2120 mètres d'altitude au Kenya ont manifesté la maladie une fois plantées à des altitudes inférieures EPPO (2005).

Dans la région d'Agadez, où les températures sont basses la nuit, l'incidence moyenne du flétrissement bactérien relevée n'a jamais dépassé 2%. A l'opposé, dans les régions de Dosso, Niamey et Tillabéri, les températures minimales élevées qui prévalent favoriseraient des taux d'infection plus élevés. Nos résultats sont en accord avec la plupart des auteurs (DIRK VAN ELSAS *et al.*, 2000 ; LEMAY *et al.*, 2003 ; EPPO, 2005 ; PETER *et al.*, 2006) qui montrent que la maladie est plus importante entre 24 et 27°C qu'entre 15 et 20°C et rare en dessous de 10 °C. BUDDENHAGEN et KELMAN (1964) ont observé que l'optimum de croissance de la race 3 de *Ralstonia solanacearum* se situait autour de 23°C alors que la plupart des souches des autres races se développaient mieux entre 30 et 35°C. Il s'agirait selon ces auteurs d'une adaptation thermique des souches de la race 3 présentes dans les zones d'altitudes élevées du monde. CELLIER et PRIOR (2010) ont observés que chez la tomate et l'aubergine, l'agressivité des souches des phylotypes I et III dépendait essentiellement de la température.

Les résultats de MARTIN et FRENCH (1985) résument nos observations sur le fait que *Ralstonia solanacearum* est inféodé à plusieurs sols tropicaux dans lesquels sa survie est influencée par la température, l'humidité et les facteurs physicochimiques.

La plainte des producteurs des régions du Sud (Niamey, Dosso et Tillabéri) qui s'approvisionnent auprès des coopératives d'Agadez (au Nord) par rapport aux forts taux d'attaques de flétrissement bactérien dont ils sont victimes pourrait s'expliquer par le fait que la maladie est favorisée par les fortes températures rencontrées dans ces régions malgré un aspect sanitaire apparemment bon des plants de semences importés de cette région septentrionale.

Les observations de VAN VAERENBERGH *et al.* (2006) ont montré la persistance de la bactérie après un hiver sur culture de *Solanum nigrum*, toutefois cette population n'était plus capable de provoquer une infection sur une nouvelle culture de pomme de terre.

Des températures élevées sont régulièrement enregistrées en journée dans la région d'Agadez au cours des mois d'avril à juin et pourraient aussi contribuer à la réduction des populations bactériennes et expliquer partiellement la faiblesse des taux d'attaque du flétrissement bactérien dans cette région. Nos observations se rapprochent de celles de PRASANNA KUMAR *et al.* (2006) selon lesquelles une température de sol de 45°C est létale pour *R. solanacearum*.

La qualité de l'eau et le mode d'irrigation ont aussi une très forte influence sur le développement du flétrissement bactérien. L'utilisation d'une eau puisée à plus de 30 mètres de profondeur combinée à une technique d'irrigation gravitaire pratiquée dans la région d'Agadez peuvent expliquer les faibles taux de maladies observés (1 à 2%). A l'inverse, dans les régions du sud, où l'irrigation de la pomme de terre est faite avec soit une eau de surface stagnante (petite marre) ou courante (fleuve), soit d'une nappe phréatique affleurante (Dallols) au sein desquelles des plantes adventices sont fréquemment trouvés, les taux d'attaques du flétrissement bactérien sont plus élevés (1 à 60%). Les observations de MCHUGH *et al.* (2006) confortent les nôtres lorsqu'ils affirment que les eaux de surface constituent des risques potentiels de propagation de la bactérie. En plus selon HONG *et al.* (2006), la bactérie est capable de se maintenir dans l'eau et sur des plantes adventices pendant des périodes relativement longues.

5. CONCLUSION PARTIELLE

Le taux moyen d'attaque du flétrissement bactérien au Niger est de 8,1 % avec cependant une disparité entre les zones pédoclimatiques. Lors des prospections réalisées au cours de cette étude au Niger, la maladie a été retrouvée principalement sur pomme de terre, et la tomate est sa seconde plante hôte. Les autres Solanacées (Aubergine, Piment, Poivron) prospectées présentaient des symptômes de flétrissement typique et des résultats du test du verre d'eau positifs ; cependant, les tests PCR réalisés en 2007 sur ces macérats oxydés de plante n'ont pas permis de mettre en évidence la présence de *Ralstonia solanacearum* sur ces plantes contrairement aux extraits provenant des plantes de pomme de terre et de tomate. Les macérats ont été conservés pendant plusieurs mois dans des conditions de températures favorisant la dégradation des échantillons ce qui pourrait expliquer les résultats PCR négatifs obtenus sur certains des échantillons.

Les sites maraîchers des régions du Sud situés entre les altitudes de 150 et 300 mètres et caractérisés par des températures minimales assez élevées, des sols sableux, et un arrosage par aspersion à partir du fleuve ou de nappes phréatiques peu profondes, semblent favoriser le développement de la bactérie par rapport aux régions situées plus au Nord. Les taux d'attaque du flétrissement bactérien particulièrement importants et les symptômes de pourriture brune avec suintement d'exsudat au niveau des yeux des tubercules dénotent de la gravité de la maladie dans ces parties du pays. Les résultats actuels attestent de la présence effective de *Ralstonia solanacearum* sur les cultures maraîchères au Niger. Les perspectives de recherches concerneront principalement l'appréciation de la diversité des souches de *Ralstonia solanacearum* susceptibles d'exister au Niger.

CHAPITRE II :

CARACTERISATION DES SOUCHES DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* (E. F. SMITH) YABUUCHI *ET AL.* COLLECTEES SUR POMME DE TERRE ET D'AUTRES SOLANACEES AU NIGER

1. INTRODUCTION

Ralstonia solanacearum est une bactérie phytopathogène responsable de la première bactériose mondiale : le flétrissement bactérien (COUPAT *et al*., 2008). Il s'agit d'une protéobactérie possédant une gamme d'hôtes couvrant plus de 50 familles botaniques en zones tropicales et intertropicales (CELLIER et PRIOR, 2010). En Europe *Ralstonia solanacearum* est considéré comme « organisme de quarantaine », c'est-à-dire dont la présence n'est pas tolérée sur le territoire et qui fait l'objet d'une surveillance stricte par rapport à son introduction, sa détention et sa manipulation (ANONYME, 1998 ; ANONYME, 1999 ; EPPO, 2001). Aux Etats-Unis, *R. solanacearum* est purement répertoriée comme agent de « bioterrorisme » à cause de sa large gamme d'hôtes, son exceptionnelle variabilité génotypique, phénotypique et écologique (WICKER et PRIOR, 2005). Il s'agit de la maladie bactérienne la plus importante observée sur culture de pomme de terre au Niger (MDR, 1982 ; ADAM, 1996; CORUS, 2006). ADAMOU *et al.*, (2009) ont observé des taux de flétrissement atteignant 60% sur une variété locale dénommée Dan-Hadjia. Aucun travail d'identification et de caractérisation de souches locales de *Ralstonia solanacearum* n'a été conduit auparavant dans ce pays. La présente étude vise à combler ce vide afin que les travaux ultérieurs, notamment de lutte, soient adaptés aux populations locales.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel d'étude

Le matériel biologique utilisé dans ce travail est constitué de Solanacées présentant des symptômes de flétrissement typiques collectées dans différentes régions productrices de pomme de terre au cours de la campagne maraîchère 2008-2009.

Une glacière a été utilisée pour conserver les échantillons à une température inférieure à 30°C.

Du papier absorbant et un sachet plastique stérile ont été utilisés pour emballer individuellement les échantillons et permettre leur transport hors du pays selon les recommandations phytosanitaires de

l'Union Européenne juste avant leur acheminement par avion au laboratoire de l'INRA (UMR-BiO3P) du Rheu où ils ont été analysés.

Un appareil photo numérique a servi à conserver l'image de chaque échantillon pour des besoins ultérieurs.

Un microscope à épifluorescence a été utilisé pour effectuer la lecture des lames colorées selon la technique d'Immunofluorescence.

Les techniques d'extraction et de purification de l'ADN bactérien ont nécéssité l'utilisation d'un incubateur, d'une centrifugeuse et d'un bain marie.

Un thermocycleur a servi à réaliser les réactions d'amplification en chaîne de l'ADN des différentes souches étudiées.

La migration des produits de la PCR est effectuée sur un gel d'agarose plongé dans bac à électrophèse.

Plusieurs tampons et réactifs et milieux de culture ont été utilisés pour réaliser différentes réactions biochimiques, sérologiques et moléculaires.

2.2. Méthodes

2.2.1 La préparation des échantillons destinés aux analyses biochimiques, sérologiques et moléculaires

La préparation des échantillons destinés aux analyses biochimiques, sérologiques et moléculaires suit la procédure suivante. Après leur prélèvement, les échantillons sont conservés à une température inférieure à 30°C dans une glacière puis dans un refroidisseur de grande capacité. Le jour de l'expédition, chaque échantillon est emballé individuellement dans du papier absorbant (Sopalin), puis enfermé individuellement en sachet plastique. Les échantillons accompagnés de la Lettre Officielle d'Autorisation (L.O.A.) ont été acheminés par avion jusqu'au laboratoire de l'INRA (UMR-BiO3P) du Rheu où ils ont été analysés.

Sur place, les analyses ont été réalisées dans des locaux respectant les normes de confinement de type 2 nécessaires pour la détention et la manipulation de parasites de quarantaine. Chaque échantillon est soigneusement déballé, examiné visuellement. Les symptômes sont notés et photographiés. L'échantillon est lavé à l'eau du robinet pour éliminer les particules de sol et de matières organiques. Il est ensuite désinfecté avec de l'éthanol 70° puis séché sur du papier absorbant à même la paillasse pendant une nuit. Une nouvelle paire de gants est utilisée pour chaque échantillon.

Planche 6 : Une vue de plants de pomme de terre flétris (a) et exsudats bactériens sur anneau vasculaire d'un tubercule en coupe longitudinale (b).
(Photo : ADAMOU Issa)

La technique de prélèvement des échantillons est la suivante : Selon la partie de la plante, des fragments d'environ 1 cm sont découpés et collectés dans des récipients stériles munis de couvercles et préalablement identifié.

Sur tubercules : la peau est enlevée au moyen d'un économe juste au niveau du stolon. Un fragment constitué majoritairement des tissus vasculaires (cône) est prélevé et mis dans le récipient.

Sur tige : des petits tronçons de tige sont prélevés au niveau du collet et juste au dessus puis sont placés dans un récipient stérile.

Sur racines : une partie ou tout le chevelu racinaire selon son importance est prélevé et découpé en petits fragments qui sont regroupés dans un récipient stérile.

Les échantillons végétaux sont recouverts avec un volume suffisant de tampon phosphate PB 0,05 M et agités pendant 4 heures à une température de 27°C. Le macérat ainsi obtenu est ensuite utilisé dans les différentes analyses. Pour chaque échantillon de plante, 500 µl de macérât sont prélevés à l'aide d'une pipette de précision et déposés dans un tube Eppendorf stérile de 2 ml, préalablement marqués aux références des échantillons. Les tubes sont centrifugés à 13.000 rpm pendant 10 minutes et le surnageant est jeté sans déranger le culot. Les culots sont conservés à – 20°C, au congélateur en attendant l'extraction des ADN

Les frottis sont réalisés par dépôt des solutions bactériennes ou des macérats de plantes sur des lames de verre revêtues de Téflon hydrophobe. Chaque lame possède huit fenêtres (2 rangées de 4 puits) de 8 mm de diamètre. Il est déposé 45 µl de solution tampon PB 0,01 1X sur les $2^{ème}$, $3^{ème}$ et $4^{ème}$ fenêtres de chaque rangée. 55 µl de macérât sont déposés dans la première fenêtre avant d'effectuer des dilutions successives en prélevant 5 µl du 1^{er} puits pour les suspendre dans le second puits (dilution au $10^{ème}$) puis 5 µl du $2^{ème}$ puits dans le $3^{ème}$ puits (dilution au $100^{ème}$), puis du $3^{ème}$ dans le $4^{ème}$ puits

(dilution au 1000ème). Les lames sont déposées sur papier à même la paillasse et laissées séchées toute la nuit. Une fois secs, les dépôts sont fixés avec une goutte d'éthanol 95°. Après évaporation de l'alcool, les lames fixées sont conservées au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur coloration.

2.2.2. L'isolement, la purification et la conservation des souches

Le milieu d'isolement utilisé est le SMSA (ENGLEBRECHT, 1994, modifié par ELPHINSTONE *et al.*, 1996). Le milieu de base est composé de 1,0 g d'acide casaminique, 10,0 g de Bacto-peptone, 5,0 ml de Glycérol, 15,0 g de Bacto-Agar le tout dans 1 litre d'eau distillée. Après dissolution des ingrédients et stérilisation du milieu à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes, celui-ci est laissé refroidir à environ 50°C avant d'y ajouter les solutions aqueuses concentrées, stérilisées par filtration, des ingrédients suivants pour obtenir les concentrations finales spécifiées:

- Violet cristallisé (Sigma) 5 mg par litre ;
- Sulfate de polymixine-B (Sigma P-1004) 600 000 U (environ 100 mg) par litre ;
- Bacitracine (Sigma B-0125) 1250 U (environ 25 mg) par litre ;
- Chloramphénicol (Sigma C-3175) 5 mg par litre ;
- Pénicilline-G (Sigma P-3032) 825 U (environ 0,5 mg) par litre ;
- Chlorure de 2, 3, 5-triphényltétrazolium (Sigma) 50 mg par litre.

Par boîte de Pétri, il est coulé environ 20 ml de milieu. Après séchage, les boîtes sont retournées et gardées ainsi pendant deux jours pour permettre au milieu de bien sécher en surface. 100 µl de macérât (solution mère) et des dilutions aux 1/10ème, 1/100ème et 1/1000ème sont étalés à l'aide de billes de verre sur le milieu sélectif SMSA et les boîtes sont incubées de 3 à 6 jours à 27°C. Les colonies de *Ralstonia solanacearum* peuvent avoir un aspect différent sur le milieu gélosé, suivant la virulence ou non des souches en cause, et celles qui sont virulentes sont fluides, à bords irréguliers, blanchâtres avec des verticilles de couleur rouge sang tandis que les formes non virulentes prennent l'aspect de petites colonies arrondies non fluides, butyreuses de couleur uniforme rouge sombre.

La purification et la production des souches nécessaires à la réalisation des tests biochimiques, moléculaires et sérologiques sont faites sur milieu LPGA (Levure Peptone Glucose Agar), composé de 7. 0 g d'Extrait de levure, 7. 0 g de Peptone, 7. 0 g de Glucose et 15. 0 g d'Agar mélangés dans un litre d'eau distillée. Le mélange est fondu au bain-marie, son pH ajusté à 7.2, puis autoclavé à 121°C pendant 21 minutes. Après refroidissement à 55°C, le milieu est coulé dans les boîtes de Pétri. Des colonies typiques identifiées sur milieu SMSA sont repiquées individuellement par piqûre dans la

colonie et étalement par épuisement à l'aide d'un cure-dent stérile sur LPGA. Les boîtes de Pétri sont incubées pendant 2 jours à 27°C. Les souches virulents de *R. solanacearum* sur milieu LPGA forment des colonies fluides, à bord irrégulier, plates, blanchâtres et présentant fréquemment des verticilles caractéristiques au centre. Les formes non virulentes de *R. solanacearum* sont de petites colonies arrondies non fluides, butyreuses de couleur uniforme blanchâtre.

Les colonies bactériennes caractérisées comme étant de l'espèce R. solanacearum sont conservées et mises en collection à – 80°C selon la procédure suivante :

Un tube contenant du bouillon Levure-Peptone est ensemencé avec une colonie bactérienne typique âgée de 48h. Les tubes sont agités de 24 à 48h à 27°C jusqu'à l'obtention d'un trouble important du milieu. 1 ml de la culture liquide est mélangé stérilement avec un même volume de LP-glycérolé à 30%. Les tubes sont mis à -20°C pendant 24h avant d'être placés en collection à -80°C.

2.2.3. Les tests de caractérisation des souches de *Ralstonia solanacearum*

De nouvelles colonies vigoureuses sont obtenues en étalant sur milieu LPGA 2 ou 3 gouttes obtenues par grattage du milieu congelé à -20°C. Les boîtes de Pétri sont incubées à 27°C pendant 48 heures. Les colonies pures (souches) ainsi obtenues sont utilisées dans les tests moléculaires et biochimiques.

Le test d'immunofluorescence indirecte

La technique d'Immunofluorescence utilisée est celle décrite dans la Directive Européenne 2006/63/CE concernant la lutte contre *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* Le principe de cette technique est basé sur la reconnaissance d'un antigène par un anticorps. Elle débute par le recouvrement des puits des lames avec 50 µl du sérum 7455, dilués dans le tampon PB 0,01 M à la concentration de 1/600ème. Les lames sont incubées 30 minutes à la température ambiante. Il faut éviter de laisser les puits se dessécher en mettant de l'eau dans le bac et en recouvrant l'ensemble avec un second bac.

Le premier rinçage est fait avec une solution de PBS 0,01 1X contenant du Tween. Il dure 5 minutes, en prenant soin de bien recouvrir tous les puits. Le second et le troisième rinçages sont faits de la même manière avec une solution de PBS 0,01 1X simple. Le tampon en excès, est éliminé avec soin en appliquant délicatement du papier absorbant (Sapolin) sur les lames. Le dépôt du conjugué (Immunoglobulines ou anticorps conjugués avec de l'Isothiocyanate de Fluorescine), dilué dans du

tampon PB 0,01 M au 600ème, en recouvrant les puits. L'incubation à la température ambiante dure 30 minutes. Les rinçages sont effectués comme précédemment de même que l'élimination du surplus de tampon. Le montage des lames se fait en recouvrant les puits avec de la Glycérine tamponnée. Ensuite, la lame est délicatement recouverte avec une lamelle en prenant soin de chasser les bulles d'air. La lame et la lamelle sont fixées avec du vernis. Les lames ainsi fixées sont conservées au frais (4°C), à l'obscurité jusqu'à leur lecture au microscope à fluorescence.

Le sérum utilisé pour le test d'Immunofluorescence est le 7455. Il s'agit d'un sérum polyclonal de la Fédération Nationale des Producteurs de Plants de Pomme de Terre (FN3PT) obtenu après immunisation d'un lapin avec une souche bien caractérisée de *R. solanacearum* (LE ROUX, 2003). Il est utilisé à une dilution d'emploi de 1/600.

Le conjugué utilisé pour ces tests est un réactif commercial de chez Sigma (référence F-6005). Il s'agit d'un sérum obtenu chez la chèvre et qui est dirigé contre les anticorps de lapin. Il est couplé à une molécule qui fluoresce sous lumière ultraviolette, l'Isothiocyanate de Fluorescine. Cet antisérum est utilisé à une dilution d'emploi de 1/600ème.

Les tests moléculaires

L'extraction de l'ADN bactérien à partir des macérats ou des cultures pures des souches remises en culture à partir des échantillons conservés à -20°C constitue un préalable aux analyses moléculaires par amplification enzymatique de l'ADN cible.

La première opération de la technique d'extraction d'ADN bactérien est la suspendu du culot dans 500 µl de TEN contenant 4 mg / ml de Lysozyme puis les échantillons sont incubés à la température ambiante pendant 1 h. Il est ajouté 30 µl de SDS 10% et 5 µl de Protéinase K à 20 mg/ml à chaque tube avant de les incuber à 37°C pendant 2 h. Puis 100 µl de NaCl 5M et 80 µl de CTAB / NaCl, homogénéisés et incubés à 65°C pendant 10 minutes. Il est ajouté un volume égal (soit 800 µl environ) de Chloroforme alcool Isoamylique (24 vol. / vol.), avant de centrifuger le tout à 13000 rpm pendant 30 minutes avant de récupérer délicatement le surnageant (500 à 600 µl) dans de nouveaux tubes. Il faut y ajouter 2 volumes (soit 1,2 ml environ) d'Ethanol absolu glacial puis mettre au congélateur pendant au moins 30 minutes, centrifuger à nouveau pendant 20 minutes à 13000 rpm et à 10°C et éliminer le surnageant. Le culot est rincé avec 1 ml d'Ethanol à 70%, centrifugé à nouveau, séché sous vide pendant 15 à 20 minutes puis encore suspendu dans 50 à 100 µl d'eau ultra pure stérile.

L'extraction de l'ADN consiste à lyser les cellules bactériennes dans un tampon de lyse par action chimique et thermique (congélation-décongélation). L'ADN est ensuite purifié par séparation d'avec les débris végétaux et les protéines avant d'être précipité.

Les échantillons de travail sont calibrés à la concentration 20 ng/µl, au spectrophotomètre optique (Eppendorf Bio-Photometer).

La réaction en chaîne par la polymérase (PCR)

Deux techniques de PCR sont recommandées par le manuel des protocoles de LE ROUX (2003).

Lors de cette étude, nous avons choisi les amorces 759-760 décrites par OPINA *et al.*, en 1997. Ces amorces permettent d'amplifier l'ADN des souches appartenant aux 4 phylotypes décrivant la diversité de *R. solanacearum*. La taille du fragment amplifié est de 280 pb.

La préparation du mélange de la PCR phylotype OPINA est faite après détermination du nombre d'échantillons à traiter aux concentrations 10^0 et 10^{-1}, ainsi que des témoins positifs et négatifs. Le volume total par tube est de 25 µl de mélange contenant 2,5 µl de Tampon 10 X, 2,0 µl de $MgCl_2$, 4,0 µl de dNTP, 0,25 µl de l'Amorce 759, 0,25 µl de l'Amorce 760, 1,25 µl de DMSO, 0,07 µl de la Taq polymérase, 11,68 µl d'eau ultra pure, 3,0 µl d'ADN soit un total de par tube (SEAL *et al*., 1993 ; OPINA *et al.*, 1997).

La préparation du mélange PCR ou Mixte se réalise aussi après détermination du nombre d'échantillons, des témoins positifs et négatifs à traiter aux concentrations 10^0 et 10^{-1}. Le volume total du mélange PCR phylotype Multiplex par tube est de 25 µl de mélange contenant 2,5 µl de Tampon 10 X, 2,0 µl de $MgCl_2$, 4,0 µl de dNTP, 2,5 µl de Primer Mix, 1,25 µl de DMSO, 0,07 µl de la Taq polymérase, 9,68 µl d'eau ultra pure, 3,0 µl d'ADN (SEAL *et al*., 1993 ; OPINA *et al.*, 1997).

Le thermocycleur est réglé sur 96 tubes de 25 µl et 30 cycles. Chaque cycle comprennent une phase de dénaturation : 0 à 1 minute à 95°C, une phase d'hybridation ou d'appariement des amorces : 2 à 60 secondes à 56-64°C, enfin une phase d'élongation : 4 à 120 secondes à 72°C.

1,5 g d'Agarose sont pesés et versés dans un Erlenmeyer de 500 ml. On y ajoute 100 ml de tampon TBE 1X. Le mélange est dissout au four à micro-ondes en 2 ou 3 minutes. Le refroidissement a lieu sous un jet d'eau fraîche de robinet. Trois (3) gouttes (environ 3 µl) de Sybr Safe sont ajoutées au mélange que l'on agite en évitant de faire des bulles avant de le couler sur la plaque préalablement préparée avec des peignes correspondants au nombre de puits souhaités. On laisser solidifier en 20 minutes, et 8 µl de Tampon de charge sont ajoutées à chaque échantillon à l'aide d'une pipette de précision, puis homogénéisé au vortex environ 1 seconde.

Le gel solidifié est placé dans un bac de migration contenant une solution tampon TBE 1X.

Il est déposé 10 µl de solution du marqueur de taille de migration de 100 pb (paires de bases), dans le 1er et le dernier puits. 12 µl d'ADN marqué (produit PCR + bleu d'Evans), sont déposés par puits en solution pure et diluée au dixième. On veille à bien homogénéiser les mélanges d'ADN en les aspirant et refoulant avec une pipette de précision.

Le bac d'électrophorèse est relié par deux bornes (positive et négative), à un générateur réglé pour dispenser 90 voltes et cela pendant 40 minutes. A la fin de l'opération, le gel est retiré de la solution tampon et lu en chambre noire sous rayonnement Ultra violet (UV) en mode transluminance, vidéo inverse pour révéler les bandes de migration et enregistrer les clichés pour exploitation ultérieure.

Le test de détermination des biovars et biotypes *de Ralstonia solanacearum*

La technique qui permet de distinguer les différents biovars de *Ralstonia solanacearum* au sein des différents isolats est basée sur des tests biochimiques en rapport avec les aptitudes des souches à utiliser et/ou à oxyder trois disaccharides, notamment le maltose, le lactose et le cellobiose ainsi que trois hexoses alcools le mannitol, le sorbitol et le dulcitol. Les biotypes du biovar 2 se reconnaissent selon leur utilisation du tréhalose et/ou du méso-inositol (HAYWARD, 1964 ; HAYWARD *et al.*, 1990). Le milieu de base utilisé à cet effet se compose de 1. 0 g Bacto-peptone, 1. 0 g de $NH_4H_2PO_4$ (Ammonium dihydrogène phosphate), 0. 2 g de KCl (Chlorure de potassium), 0. 2 g de $MgSO_4$, $7H_2O$ (magnésium sulphate), 0. 03 g de Bleu de Bromothymol, 3. 0 g d'Agar dans un litre d'Eau distillée 1.000 ml (HAYWARD, 1964 et 1976). Le pH est ajusté à 7-7.1 en y ajoutant quelques gouttelettes de solution de NaOH 40% poids/volume, puis on mélange le milieu par chauffage et agitation constante. Le milieu ainsi obtenu a une coloration vert olive. Il est réparti dans des bêcher en aliquotes de 90 ml correspondant au nombre d'hydrates de carbone à tester avant autoclavage à 121°C pendant 21 minutes.

Toutes les solutions de sucres sont stérilisées par filtration (Seitz ou membrane à millipores de 0.22 microns) dans des tubes à essai préalablement stérilisés. Il est ajouté environ 10 ml de chaque solution de 10% d'hydrate de carbone au 90 ml du milieu de base refroidi à 60°C afin d'obtenir une concentration finale de 1%. La solution est répartie à l'aide d'une pipette de précision 200 µl par puits dans les 96 puits stériles de boîtes de culture en gardant une rangée par sucre.

L'inoculum est une culture bactérienne de 48 h. Les puits contenant les différents sucres sont ensemencés en prélevant des colonies des souches pures à l'aide de cure-dents stériles. Il y a trois répétitions par sucre (sur la même ligne) et par souche. Y sont inclus un témoin négatif et deux témoins positifs constitués des souches GMI 1.000 et 19-76.

Les plaques sont incubées à 27°C et examinées à 48 h et 72 h. Un résultat positif du test est marqué par une variation du pH acide (un changement de couleur du vert olive au jaune). Selon MARTIN *et al.*

(1982) ; SCHAAD *et al.* (2001) chez les alcools de sucre, la réaction survient entre 3 et 5 jours, pour les disaccharides elle est un peu plus longue.

Le test de pathogénicité sur plantes de pomme de terre et de tomate

Nous avons voulu étudier la virulence de la collection de souches de *Ralstonia solanacearum* sur 3 variétés de pomme de terre et une variété de tomate. L'essai est conduit en serre par inoculation artificielle de jeunes plantes. La technique consiste à injecter à chaque plant test, 10 µl d'une solution de cellules bactériennes âgées de 48 h avec une concentration de 10^5 à 10^6 cellules / ml. Les variétés de pomme de terre utilisées sont (Bintje, Désirée et Spunta) ainsi que de tomate (Roma). Les variétés Bintje, Désirée sont connues des producteurs nigériens. Cinq (5) plants au stade de 4 à 5 vraies feuilles ont été utilisés par espèce végétale. Le test est suivi pendant 4 semaines à 20°C la nuit et 30°C le jour. L'humidité relative est élevée et l'arrosage est raisonné de façon à éviter un excès ou un manque d'eau. L'évaluation est faite en observant l'apparition des symptômes du flétrissement: épinastie, chlorose et/ou rabougrissement. Les symptômes sont notés selon la clé du tableau 14. Ces résultats permettent aussi d'évaluer la virulence des souches de *R. solanacearu*m.

Tableau 14 : Clé de notation des symptômes du flétrissement bactérien sur les Solanacées lors du test de pathogénicité

Classe de notation	Caractéristiques de la plante
0	Plant sain ‘‘sans symptômes apparents’’
1	Une (1) seule feuille flétrie
2	0 – 20% de la plante flétrie
3	20 – 40% de la plante flétrie
4	40 – 60% de la plante flétrie
5	60 – 80% de la plante flétrie
6	80 – 100% de la plante flétrie
7	Plante morte

Source (LEROUX, 2003)

2.2.4. Expression des résultats

Les fronts de migration des ADN des différentes souches testées sont illustrés dans les photos 1 à 7 prises après la révélation des gels des tests PCR effectués avec les amorces 759 et 760 ainsi que le complexe d'amorces de la PCR phylotype multiplexe. Les photos 8 et 9 présentent les résultats des tests

de la révélation des biovars et biotypes de *Ralstonia solanacearum* par utilisation d'hydrates de carbonne. L'évolution des symptômes de flétrissement bactérien sur pomme de terre et tomate inoculés avec différentes souches de *R.solanacearum* a servi à élaborer les courbes des figures 8 et 9. Enfin les synthèses des résultats de tous les tests biochimiques, sérologiques et moléculaires ont permis de dresser les tableaux 15 à 18.

3. RESULTATS

3.1. Le test d'Immunofluorescence Indirecte

La photo 1 présente des cellules bactériennes à fluorescence vive, caractéristiques de *Ralstonia solanacearum* (bâtonnet de 1,5 µm X 0,5µm) par examen de lame avec un microscope équipé d'une source lumineuse épifluorescente, sous huile et un grossissement de 500 – 1000. Le tableau 14 présente la synthèse des résultats des réactions des tests sérologiques d'Immunofluorescence (IF) effectués sur tous les macérats des échantillons collectés au Niger en février 2009. Les chiffres de 1 à 81 qui précèdent les parties de plantes en question représentent le numéro de collecte de l'échantillon. Pour chaque plante, plusieurs macérats ont été préparés avec les différentes parties de plante telles que les racines (R), les cônes de tubercules de pomme de terre (Co) ou la tige (Ti). Chaque partie est testée séparément de préférence et en association lorsque la quantité de matériel ne permettait pas d'en faite un lot entier. Au total 139 macérats de plantes ont ainsi été répertoriés et traités. Les résultats positifs sont marqués d'un plus (+) et ceux négatifs d'un moins (-).

Sur les 139 macérats testés, 70 se sont révélés positifs soit 50,4%. Au nombre des sous échantillons positifs, 34 macérats (soit 48,6%) correspondent à des parties racinaires (R) seules. L'association tige et cônes de tubercules (Ti + Co) concerne 28 macérats, soit 40,0%. Les 8 restants sont constitués de mélanges de racines, de tiges et de cônes de tubercules de pomme de terre (11,4%).

Photo 1 : Photo de cellules typiques de *Ralstonia solanacearum* présentant une fluorescence vive par examen de lame avec un microscope équipé d'une source lumineuse épifluorescente.

(Grossissement : 1000 fois)

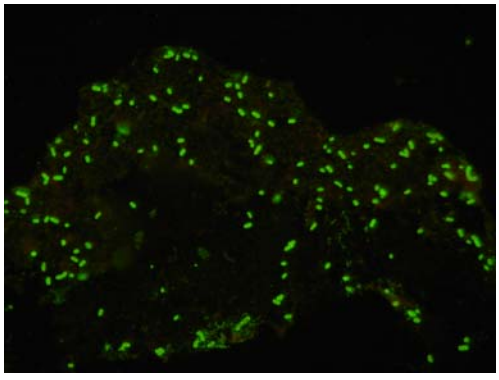


Tableau 15 : Synthèse des résultats du test d'Immunofluorescence (IF)

Code Macérât	Résultat I.F.	Code Macérât	Résultat I.F.	Code Macérât	Résultat I.F.
60 Ti + Co	+	17 Ti + Co	-	34 R	+
58 Ti + R	-	64 R	+	9 Ti + Co	-
68 Ti + Co	-	16 Ti + Co	-	26 R	+
54 R	-	23 Ti + Co	+	18 R	-
39 R	-	25 Ti + Co	-	24 Ti + Co	+
50 Ti + Co	+	23 Ti + Co	+	71 Ti + R	-
61 R	+	25 Ti + Co	-	24 R	-
51 Ti + Co	-	10 Ti + Co	-	40 R + Ti	-
68 R	-	31 R	+	36 R	-
42 Ti + Co	-	34 Ti + Co	+	15 Ti + Co	-
42 Ti + Co	-	18 Ti + Co	-	22 Ti + Co	+
38 Ti + Co	-	8 Ti + Co	+	20 Co	+
59 R + Ti	+	45 Ti + Co	-	22 Co + R	+
53 R	-	5 Ti + R	-	19 Ti + R	-
43 R	+	64 Ti + Co	-	81 R	+
48 Ti + R	+	65 R	-	77 R	+
43 Ti + Co	+	12 Ti + R	-	73 Ti + Co + R	-
49 R	+	65 Ti + Co	+	13 Ti + R	-
54 Ti + Co	+	66 R	+	37 R	+
53 Ti + Co	-	30 R	+	8 R	+
42 R	+	63 R	+	14 Co	-
60 R	+	36 Ti + Co	-	28 Ti + Co	+
57 Ti + Co	+	70 R	+	45 R	+
39 Ti + Co	+	69 Ti + Co	-	3 R	-
7 R	+	63 Ti + Co	+	78 Ti + Co	-
6 R	-	16 R	+	79 R	+
33 R	-	25 R	+	79 Ti + Co	-
4 Ti + Co	-	4 R	+	75 Ti + R	-
29 R	+	70 R + Ti + Co	-	72 Ti	-
47 R	-	9 R	-	56 R	+
38 R	-	1 Ti	-	47 Ti + Co	+
46 R + Ti	-	3 Ti + Co	-	37 Ti + Co	+
50 R	-	11 Ti + Co	-	41 R	-
60 Ti + Co	-	80 Ti + Co	+	72 R	-
57 R	+	80 R	+	77 Ti + Co	+
6 Ti + Co	+	78 R	+	81 Ti + Co	-
33 Ti + Co	+	45 (bis) R + Ti	+	41 Ti + Co	-
7 Ti + Co	+	44 Ti + R	-	55 R	+
21 Ti + Co	+	67 R	-	74 Ti + Co + R	-
30 Ti + Co	-	1 R	+	56 Ti + Co	-
29 Ti + Co	-	66 Ti + Co	+	55 Ti + Co	+
29 (b) Ti + Co	+	10 R	+	23 R	-
52 Ti + R	-	76 R + Ti	+	67 Ti + Co	-
29 R	-	15 R	+	28 R	+
69 R	-	2 Ti	+	17 R	-
21 R	+	31 Ti + Co	+		
26 Ti + Co	+	32 Co	+		

Légende : Tige (Ti) ; Cône de tubercule (Co) ; Racine (R)

Il est communément admis qu'en cas de nouvelle infection de plant à plant par le sol ou l'eau, les premiers organes atteints de la plante sont bien les racines (PRIOU et ALEY, 2002). Le nombre total de macérats de racines ayant donné un résultat positif lors du test d'Immunofluorescence indirecte est plus élevé que l'ensemble des résultats positifs des macérats des autres parties de plantes (tiges et cônes découpés sur tubercules). Le présent constat est d'une importance pratique car il renseigne sur les parties préférentielles à utiliser lors des diagnostics bactériens en particulier de *R. solanacearu*m.

3.2. Tests moléculaires

3.2.1. La réaction en chaîne par la polymérase (PCR), avec les amorces 759 et 760

Les photos 2, 3 et 4 de gels illustrent la bande spécifique de migration de *Ralstonia solanacearum* qui se situe à 280 pb (Paires de bases) selon la PCR décrite par OPINA *et al.* (1997) en utilisant les amorces 759 et 760.

Les chiffres en rouge représentent les références des échantillons qui se sont révélés positifs, c'est-à-dire qu'ils sont effectivement contaminés par la bactérie *R. solanacearum* dont une souche européenne de référence notamment la GMI 1000 est utilisée comme témoin positif (T+). Le témoin négatif (T-) est essentiellement constitué d'eau ultra pure. De part et d'autre du gel se trouve une colonne repère ou témoin de migration (MT) où sont superposées de bas en haut les bandes de 100 pb à 2500 pb, celles de 500 pb et 1000 pb étant les plus marquées. Chaque échantillon est déposé dans deux puits respectivement en solution d'ADN concentrée à 25 ng/µl et diluée au dixième (2,5 ng/µl). An niveau des échantillons contaminés, toutes les deux concentrations ont révélé une bande identique de belle intensité à 280 pb.

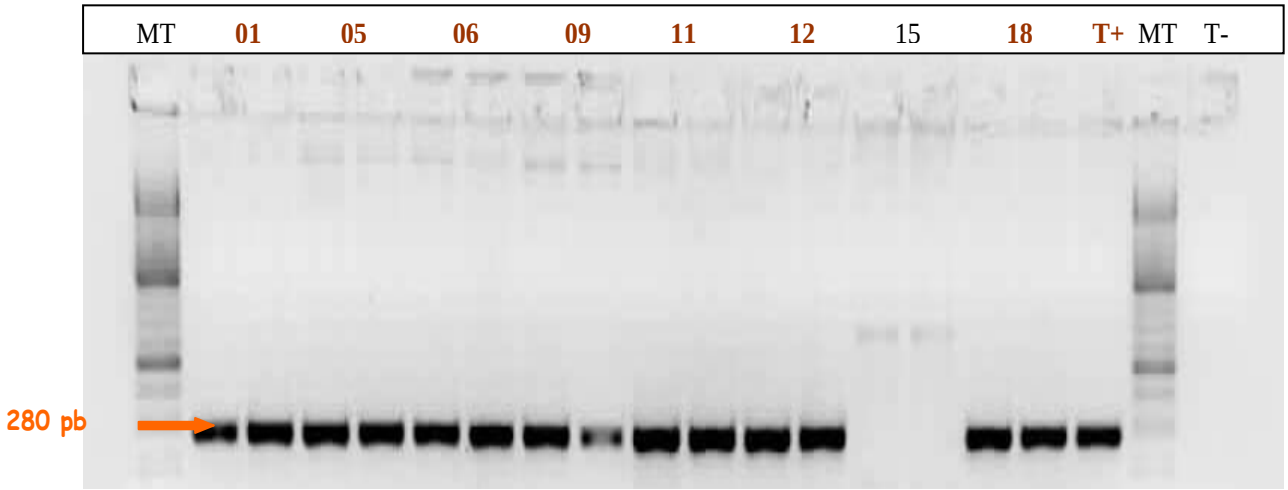


Photo 2 : Photo de gel PCR obtenue avec le couple d'amorces 759 et 760. Réactions positives pour les souches FN3PT 09-01, FN3PT 09-05, FN3PT 09-06, FN3PT 09-09, FN3PT 09-11, FN3PT 09-12 ; FN3PT 09-18 et le témoin positif (T+).

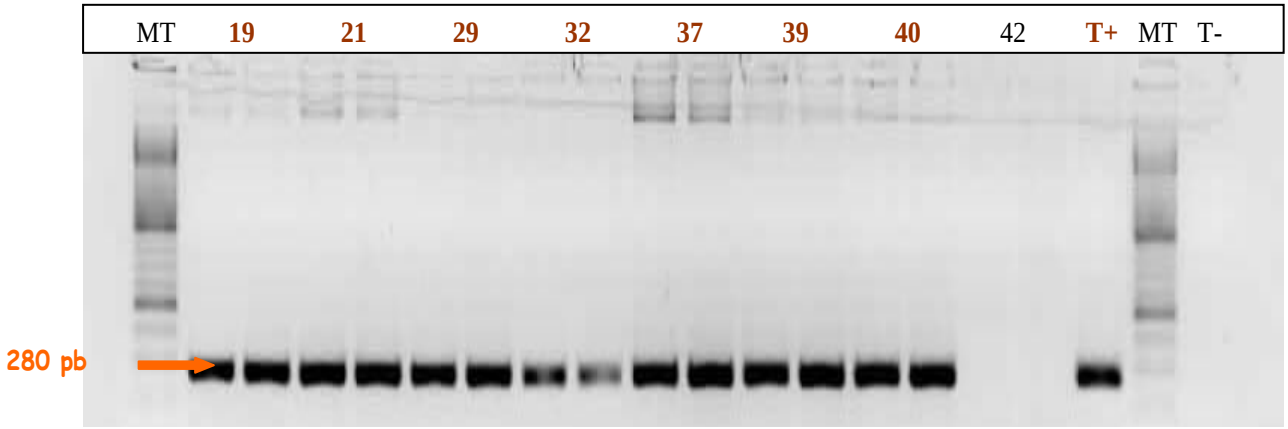


Photo 3 : Photo de gel PCR obtenue avec le couple d'amorces 759 et 760. Réactions positives pour les souches FN3PT 09-19, FN3PT 09-21, FN3PT 09-29, FN3PT 09-32, FN3PT 09-37, FN3PT 09-39, FN3PT 09-40 et le témoin positif (T+).

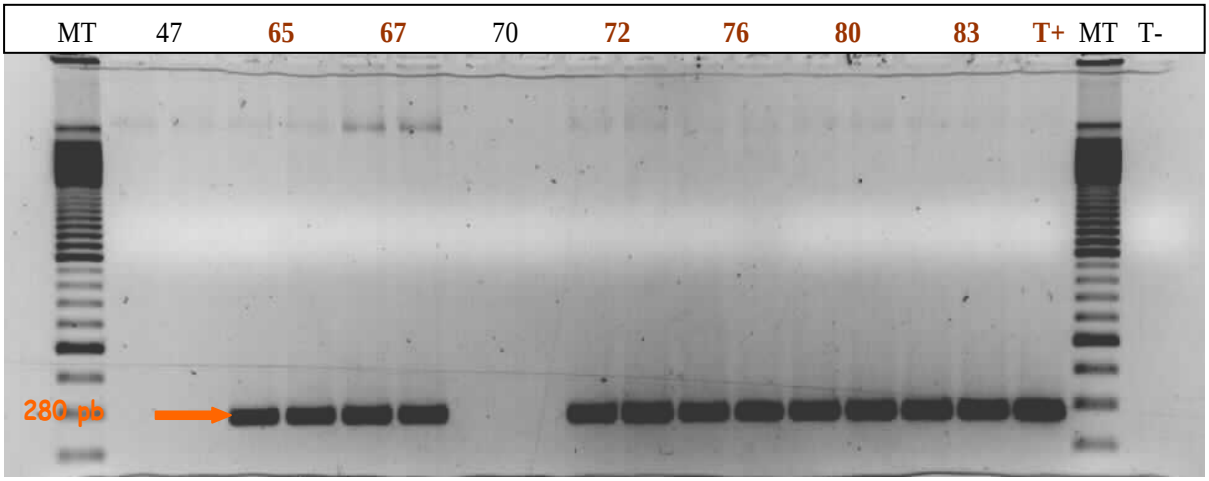


Photo 4 : Photo de gel PCR obtenue avec le couple d'amorces 759 et 760. Réactions positives pour les souches FN3PT 09-65, FN3PT 09-67, FN3PT 09-72, FN3PT 09-76, FN3PT 09-80, FN3PT 09-83 et le témoin positif (T+).

Sur les 167 différentes souches bactériennes isolées des 81 échantillons de plantes ramenés du Niger, 57 souches ont été révélées par les tests PCR spécifiques du genre *Ralstonia solanacearum.* Les amorces utilisées portent les identités 759 et 760. Elles migrent sur gel d'agarose 1,5 % à une distance de 280 pb. Sur les trois clichés ci-dessus, seuls les échantillons 15, 42, 47 et 70 ne sont pas contaminés par *R. solanacearum*.

Le tableau 16 présente l'ensemble des résultats des résultats des tests PCR spécifique du genre *Ralstonia solanacearum* réalisés avec les amorces 759 et 760.

Tableau 16 : Ensemble des résultats des analyses PCR *Ralstonia solanacearum* réalisés avec les amorces 759 et 760

Souches	P.C.R.	Souches	P.C.R.	Souches	P.C.R.	Souches	P.C.R.	Souches	P.C.R.	Souches	P.C.R.
FN3PT 09/01	+	FN3PT 09/29	+	FN3PT 09/57	-	FN3PT 09/85	-	FN3PT 09/113	-	FN3PT 09/141	-
FN3PT 09/02	+	FN3PT 09/30	-	FN3PT 09/58	-	FN3PT 09/86	-	FN3PT 09/114	-	FN3PT 09/142	-
FN3PT 09/03	+	FN3PT 09/31	+	FN3PT 09/59	-	FN3PT 09/87	+	FN3PT 09/115	-	FN3PT 09/143	-
FN3PT 09/04	-	FN3PT 09/32	+	FN3PT 09/60	-	FN3PT 09/88	+	FN3PT 09/116	-	FN3PT 09/144	-
FN3PT 09/05	+	FN3PT 09/33	+	FN3PT 09/61	-	FN3PT 09/89	+	FN3PT 09/117	-	FN3PT 09/145	-
FN3PT 09/06	+	FN3PT 09/34	+	FN3PT 09/62	-	FN3PT 09/90	+	FN3PT 09/118	-	FN3PT 09/146	-
FN3PT 09/07	+	FN3PT 09/35	-	FN3PT 09/63	+	FN3PT 09/91	+	FN3PT 09/119	-	FN3PT 09/147	-
FN3PT 09/08	+	FN3PT 09/36	-	FN3PT 09/64	+	FN3PT 09/92	+	FN3PT 09/120	-	FN3PT 09/148	-
FN3PT 09/09	+	FN3PT 09/37	+	FN3PT 09/65	+	FN3PT 09/93	-	FN3PT 09/121	-	FN3PT 09/149	-
FN3PT 09/10	-	FN3PT 09/38	+	FN3PT 09/66	+	FN3PT 09/94	-	FN3PT 09/122	-	FN3PT 09/150	-
FN3PT 09/11	+	FN3PT 09/39	+	FN3PT 09/67	+	FN3PT 09/95	-	FN3PT 09/123	-	FN3PT 09/151	-
FN3PT 09/12	+	FN3PT 09/40	+	FN3PT 09/68	+	FN3PT 09/96	-	FN3PT 09/124	-	FN3PT 09/152	-
FN3PT 09/13	-	FN3PT 09/41	-	FN3PT 09/69	-	FN3PT 09/97	-	FN3PT 09/125	-	FN3PT 09/153	-
FN3PT 09/14	+	FN3PT 09/42	-	FN3PT 09/70	-	FN3PT 09/98	-	FN3PT 09/126	-	FN3PT 09/154	-
FN3PT 09/15	-	FN3PT 09/43	-	FN3PT 09/71	-	FN3PT 09/99	-	FN3PT 09/127	-	FN3PT 09/155	-
FN3PT 09/16	+	FN3PT 09/44	-	FN3PT 09/72	+	FN3PT 09/100	-	FN3PT 09/128	-	FN3PT 09/156	-
FN3PT 09/17	+	FN3PT 09/45	+	FN3PT 09/73	+	FN3PT 09/101	-	FN3PT 09/129	-	FN3PT 09/157	-
FN3PT 09/18	+	FN3PT 09/46	-	FN3PT 09/74	+	FN3PT 09/102	-	FN3PT 09/130	-	FN3PT 09/158	-
FN3PT 09/19	+	FN3PT 09/47	-	FN3PT 09/75	+	FN3PT 09/103	-	FN3PT 09/131	-	FN3PT 09/159	-
FN3PT 09/20	+	FN3PT 09/48	-	FN3PT 09/76	+	FN3PT 09/104	-	FN3PT 09/132	-	FN3PT 09/160	-
FN3PT 09/21	+	FN3PT 09/49	+	FN3PT 09/77	+	FN3PT 09/105	-	FN3PT 09/133	-	FN3PT 09/161	-
FN3PT 09/22	+	FN3PT 09/50	-	FN3PT 09/78	-	FN3PT 09/106	-	FN3PT 09/134	-	FN3PT 09/162	-
FN3PT 09/23	+	FN3PT 09/51	-	FN3PT 09/79	-	FN3PT 09/107	+	FN3PT 09/135	-	FN3PT 09/163	-
FN3PT 09/24	+	FN3PT 09/52	-	FN3PT 09/80	+	FN3PT 09/108	+	FN3PT 09/136	-	FN3PT 09/164	-
FN3PT 09/25	+	FN3PT 09/53	-	FN3PT 09/81	-	FN3PT 09/109	-	FN3PT 09/137	-	FN3PT 09/165	-
FN3PT 09/26	-	FN3PT 09/54	-	FN3PT 09/82	+	FN3PT 09/110	-	FN3PT 09/138	-	FN3PT 09/166	-
FN3PT 09/27	-	FN3PT 09/55	-	FN3PT 09/83	+	FN3PT 09/111	-	FN3PT 09/139	-	FN3PT 09/167	-
FN3PT 09/28	+	FN3PT 09/56		FN3PT 09/84	+	FN3PT 09/112	-	FN3PT 09/140	-		

3.2.2. Résultats de la PCR Phylotype Multiplex

Les photos 5, 6, 7 et 8 des gels présentent les bandes de migration des différents phylotypes de *Ralstonia solanacearum* spécifiques des souches isolées.

Sur la photo 5, il apparaît que les souches 80, 82, 84, 90 et 92 ainsi que les témoins positifs CFBP et 19/76 appartiennent tous au phylotype II caractérisé par une bande en position 372 pb en plus de la bande spécifique de *R. solanacearum* qui se situe toujours à 280 pb.

Sur la photo 6, on note la présence de deux phylotypes. Les souches 39, 65 et 72 ainsi que les témoins positifs CFBP et 19/76 appartiennent tous au phylotype II caractérisé par une bande en position 372 pb. Les souches 45, 75, 76 et 77 présentent une bande en position inférieure se situant à seulement 91 pb. La ligne médiane située à 280 pb indique que toutes les souches présentes sur ce cliché appartiennent au genre *R. solanacearum*.

Sur la photo 7, deux phylotypes sont aussi mis à jour. Il s'agit des phylotypes I et III. La souche 28 et le témoin positif P17 appartiennent au phylotype I caractérisé par une bande très marquée en position 144 pb. Les souches 06, 24, 31, 38 et le témoin positif J25 possèdent quant à eux une bande en position inférieure située à 91 pb. Pour toutes les souches, il y a la bande de 280 pb spécifique du genre *R. solanacearum*.

Sur la photo 8, à l'exception de la souche 162 qui ne semble pas être du genre *Ralstonia*, les autres souches (45, 75, 76, 77) ainsi que le témoin positif J25 appartiennent tous au phylotype III caractérisé par une bande en position basse à 91 pb en plus de la bande spécifique de *R. solanacearum* qui se situe toujours à 280 pb. Le témoin positif P17 de phylotype I caractérisé par une bande très marquée en position 144 pb y a été ajouté pour accentuer la comparaison.

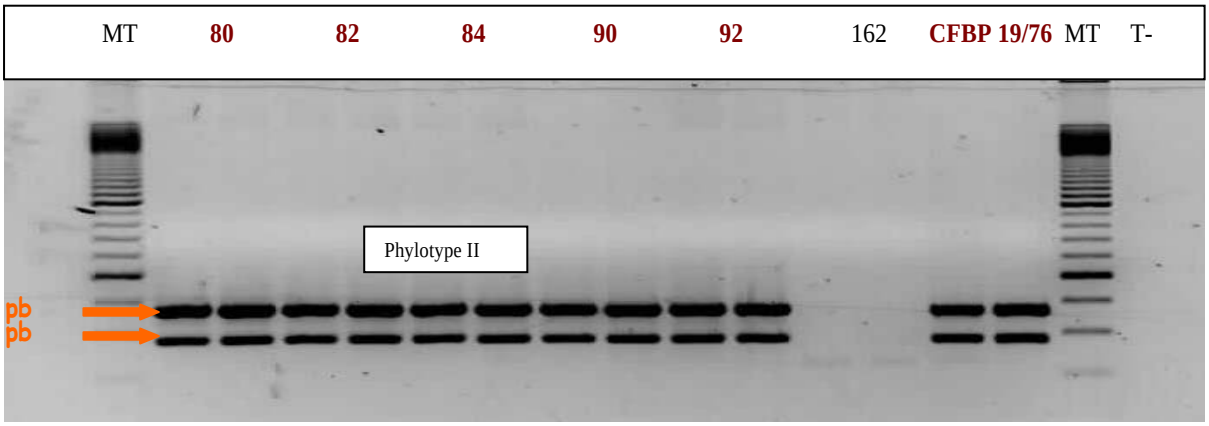


Photo 5 : Photo de gel PCR obtenue avec les amorces Phylotype Multiplex. Réactions positives pour les souches FN3PT 09-80, FN3PT 09-82, FN3PT 09-84, FN3PT 09-90, FN3PT 09-92 et du témoin positif CFBP 19/76.

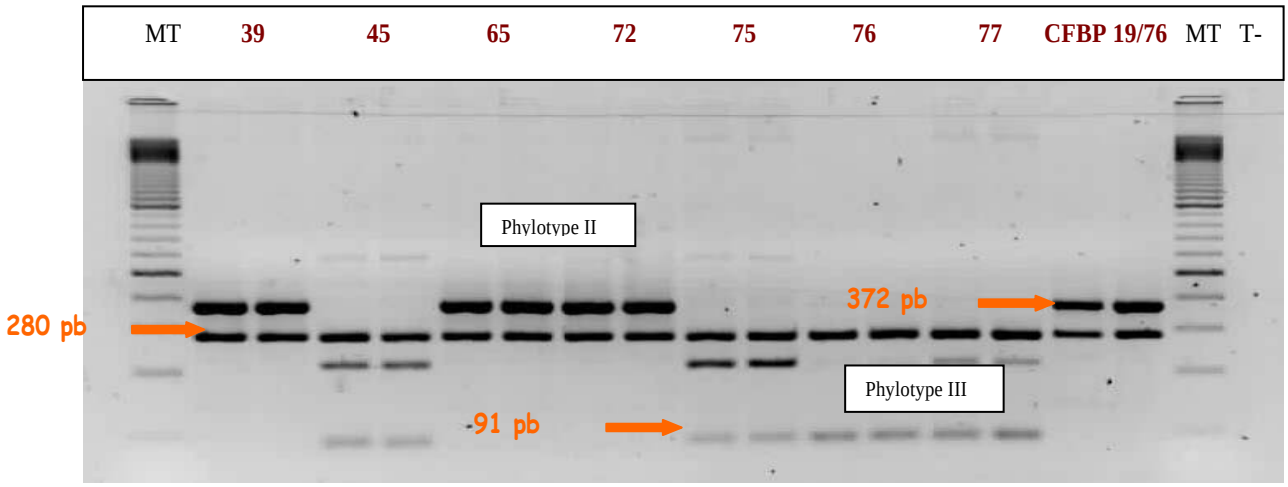


Photo 6 : Résultats de la PCR Phylotype Multiplex positive pour les souches FN3PT 09-39 ; FN3PT 09-45 ; FN3PT 09-65 ; FN3PT 09-72 ; FN3PT 09-75 ; FN3PT 09-76 ; FN3PT 09-77 et du témoin positif CFBP 19/76.

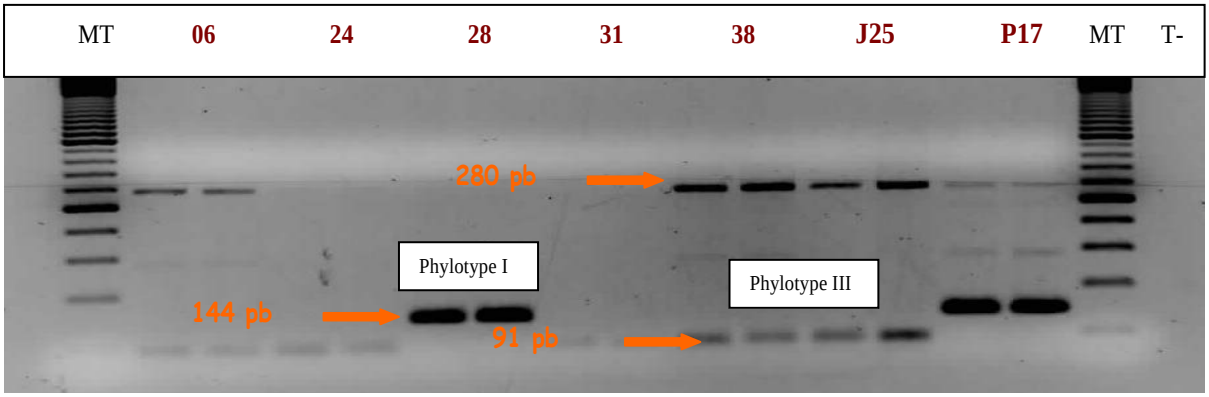


Photo 7 : Résultats de la PCR Phylotype Multiplex modifiée pour les souches FN3PT 09-06 ; FN3PT 09-24 ; FN3PT 09-28 ; FN3PT 09-31 ; FN3PT 09-38 ainsi que les témoins positifs J25 ; P17.

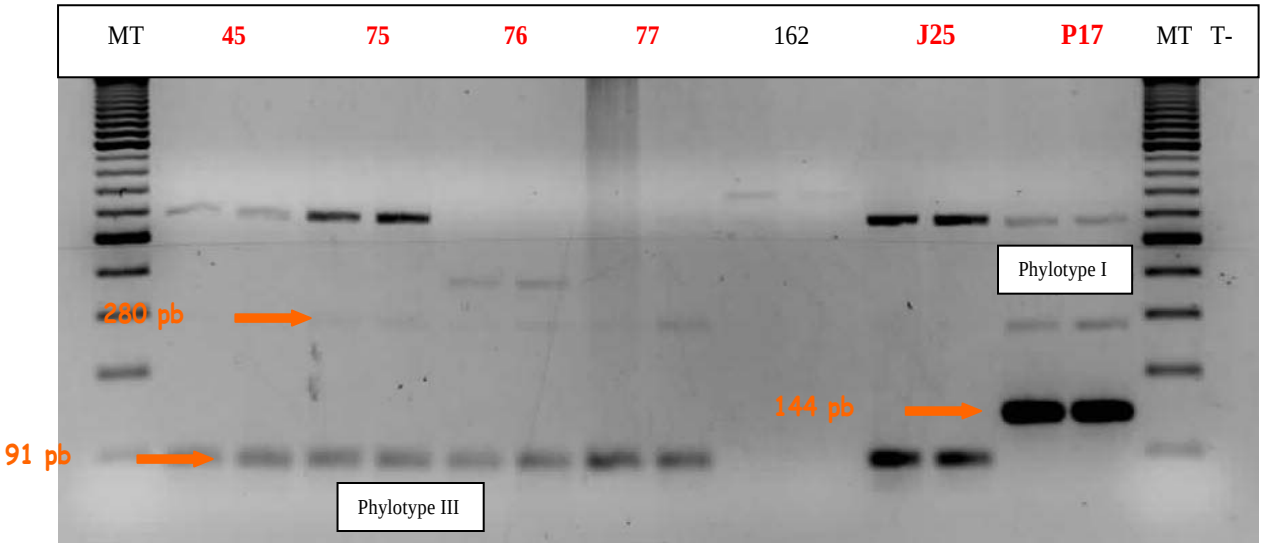


Photo 8 : Résultats de la PCR Phylotype Multiplex modifiée pour les souches FN3PT 09-45 ; FN3PT 09-75 ; FN3PT 09-76 ; FN3PT 09-77 ; FN3PT 09-162 ainsi que les témoins positifs J25 ; P17.

A l'issue des tests PCR Multiplex standard et modifié, les trois phylotypes (I, II et III) identifiés sur l'ensemble des souches testées sont portées au tableau 17. Au total, 26 souches ont été identifiées et caractérisées dans le cadre de cette étude. Deux souches de référence mondiale en l'occurrence la CFBP2047 et la CFBP 19-76, toutes deux appartenant au phylotype II, ont été utilisées comme témoins positifs. La répartition des 26 souches indique que deux (2) seulement appartiennent au phylotype I (FN3PT-28 et 29), huit (8) appartiennent au phylotype III (FN3PT-76 ; 77 ; 06 ; 24 ; 31 ; 38 ; 45 et 75) et les seize (16) autres au phylotype II. L'hôte principal contaminé est constitué de 14 échantillons différents appartenant à cinq (5) variétés de pomme de terre, surtout le cultivar local Dan-Hadjia. Seul l'échantillon 29 récolté à Ballayara sur la variété locale de pomme de terre Dan-Hadjia est infecté par un complexe de souches. Il s'agit de deux souches de phylotype III (FN3PT-06 et 24) et d'une souche de phylotype II (FN3PT-80).

Tableau 17 : Résultats des tests PCR 759/760 spécifiques de *R. solanacearum* et PCR- Phylotypes effectués sur les 26 isolats du Niger, comparés aux standards français (CFBP2047 et CFBP 19-76)

N° Ech.	Plante	Localité	Souche	PCR 759/760	PCR Phylotype
7	PdT (Pamela)	Kollo	FN3PT 09/28	+	**I**
			FN3PT 09/29	+	**I**
14	PdT (Dan-Hadjia)	Bkk Ferawe	FN3PT 09/76	+	**III**
			FN3PT 09/77	+	**III**
16	PdT (Dan-Hadjia)	Bkk Ferawe	FN3PT 09/02	+	**II**
21	PdT (Rosanna)	KBkk FDR	FN3PT 09/72	+	**II**
			FN3PT 09/90	+	**II**
22	PdT (Spunta)	Bonkoukou	FN3PT 09/11	+	**II**
			FN3PT 09/20	+	**II**
26	PdT (Dan-Hadjia)	Toulloua	FN3PT 09/82	+	**II**
			FN3PT 09/39	+	**II**
28	PdT (Blanche)	Toulloua	FN3PT 09/16	+	**II**
			FN3PT 09/18	+	**II**
29	PdT (Dan-Hadjia)	Ballayara	FN3PT 09/06	+	**III**
			FN3PT 09/24	+	**III**
			FN3PT 09/80	+	**II**
31	PdT (Dan-Hadjia)	Blyar Alkama	FN3PT 09/25	+	**II**
32	PdT (Dan-Hadjia)	Blyar Alkama	FN3PT 09/65	+	**II**
			FN3PT 09/92	+	**II**
33	PdT (Blanche)	Blyar Alkama	FN3PT 09/31	+	**III**
			FN3PT 09/38	+	**III**
34	PdT (Dan-Hadjia)	Blyar Alkama	FN3PT 09/45	+	**III**
			FN3PT 09/75	+	**III**
36	PdT (Dan-Hadjia)	Bogol-Hima	FN3PT 09/84	+	**II**
69	PdT (Yona)	Tabkin'So II	FN3PT 09/12	+	**II**
			FN3PT 09/14	+	**II**
Souches de référence de phylotypes connus			CFBP2047	+	**II**
			CFBP 19-76	+	**II**

La majorité des souches a été collectée dans la région de Tillabéri à l'exception de celles issues des localités de Toulloua, Bogol-Hima et Tabkin'So II, situées dans la région de Dosso. Incontestablement, le phylotype II, spécifique de la pomme de terre constitue la révélation de ce test.

3.3. La détermination des biovars et biotypes *de Ralstonia solanacearum*

Le test moléculaire PCR-Phylotype est suivi par un test biochimique dont le but est de déterminer les biovars auxquels appartiennent les souches étudiées. La lecture du test se fait par observation de changement ou non des milieux contenant 10% de lactose, sorbitol, inositol, tréhalose, cellobiose, dulcitol, maltose, mannitol sous l'influence du développement des 26 souches à identifier. Un changement de la coloration bleue au jaune ou jaune vert est considéré comme une réaction positive

comme illustré par les photos 9 et 10. Chaque souche est introduite dans trois puits pour chacun des sucres. Le tableau 15 regroupe l'ensemble des résultats des tests du biovar et du biotype en face du phylotype correspondant à chacune des souches. Sur les 26 souches retenues pour cette étude, seules les souches FN3PT-28 et 29 appartiennent au biovar3. Les souches FN3PT-76 ; 77 ; 16 ; 06 ; 24 ; 31 ; 38 ; 45 et 75 sont du biovar 2, biotype 2T tandis que les souches FN3PT-02 ; 72 ; 90 ; 11 ; 20 ; 82 ;39 ; 25 ;65 ;92 ; 84 ; 12 et 14 appartiennent au biotype 2A du même biovar. Les souches de référence mondiale GMI 1000 et CFBP 19-76 sont respectivement du biovar 3 et du biovar 2, biotype 2A.

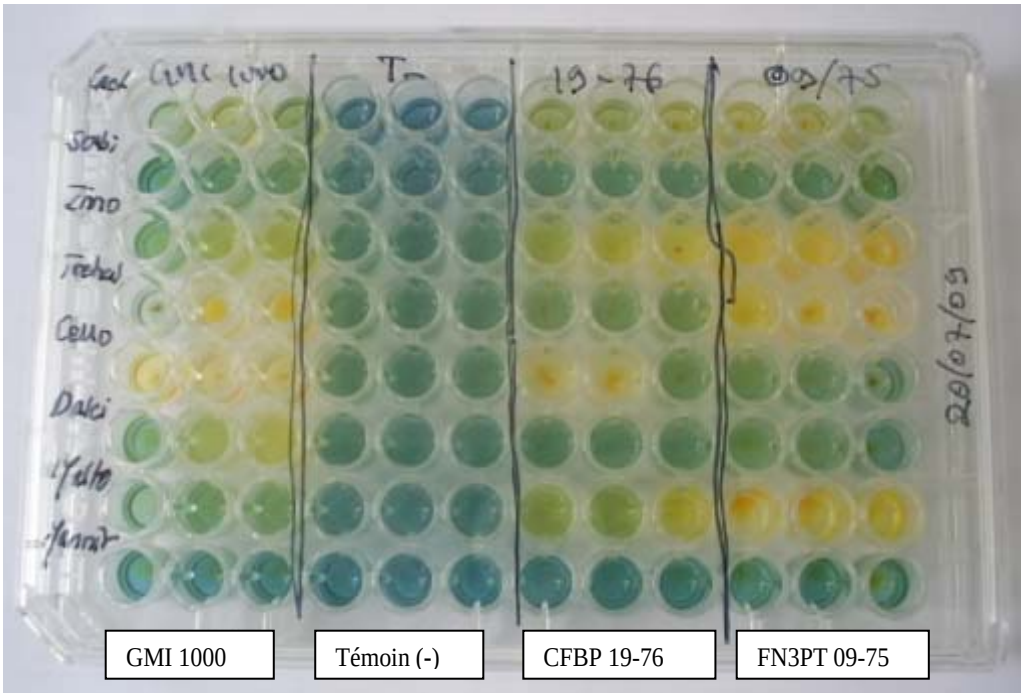


Photo 9 : Réactions biochimiques de la souche FN3PT 09-75 (à droite) et des souches standard internationales (GMI 1000 ; CFBP 19/76) face au témoin négatif (T-). (Photo : Issa ADAMOU).

La lecture de la photo 9 de gauche vers la droite présente respectivement la souche GMI 1000, un témoin positif appartenant au biovar 3 qui oxyde tous les sucres et utilise les alcools de sucre. Elle est suivie du témoin négatif dont les milieux ont conservé la couleur originale bleu verdâtre dans les puits. La souche CFBP 19-76 est aussi un témoin positif mais de biovar 2. Ses réactions sur les sucres sont identiques avec celles de la souche FN3PT 09-75. Toutes les deux n'utilisent pas les alcools de sucres notamment le sorbitol (2ème rangée), le dulcitol (6ème rangée) et le mannitol (8ème rangée). Toutefois, ces deux souches possèdent des biotypes différents. La souche CFBP 19-76 appartient au biotype 2A car elle n'oxyde pas l'inositol (3ème rangée) et le D-tréhalose (4ème rangée). Par contre la souche FN3PT 09-75 est du biotype 2T qui oxyde tous ces deux sucres.

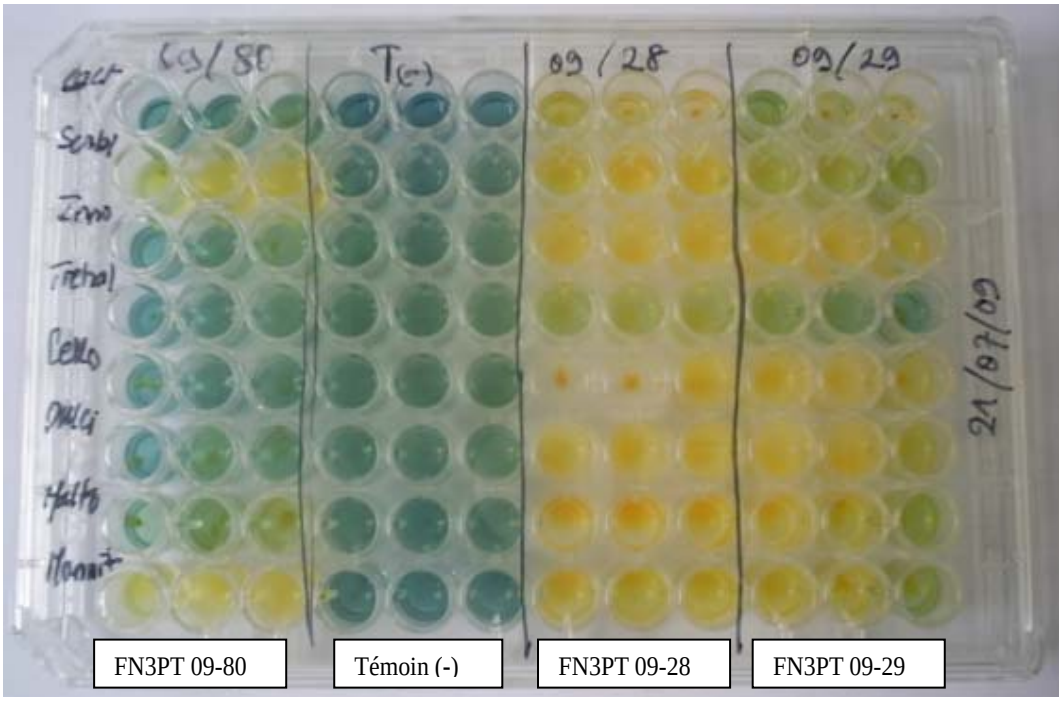


Photo 10 : Réactions biochimiques des souches FN3PT 09-80 ; 28 et 29 face au témoin négatif (T-). (Photo : Issa ADAMOU)

Sur la photo 10, la lecture de la gauche vers la droite présente respectivement la souche FN3PT 09-80 dont le biovar n'a pu être déterminée avec exactitude à cause du caractère controversé de ses réactions. L'utilisation du mannitol (8ème rangée) et du sorbitol (2ème rangée) rapproche cette souche du biovar 3. Toutefois, la non oxydation du lactose (1ère rangée) et du cellobiose (5ème rangée) est caractéristique du biovar 1. L'unique assurance demeure la certitude de la souche au phylotype II de *R. solanacearum*. Les souches CFBP 19-28 et CFBP 19-29 appartiennent toutes deux au biovar 3 caractérisé par une réaction d'oxydation des trois sucres (cellobiose, lactose et maltose) ainsi que l'utilisation des trois alcools de sucres (mannitol, sorbitol et dulcitol).

Les résultats des tests biochimiques de détermination des biovars et biotypes des souches étudiées sont rapportés à côté de ceux des tests moléculaires PCR, dans le tableau 18.

Tableau 18 : Résultats des tests PCR Phylotype, Biovar et Biotype

N° Ech.	Plante	Localité	Souche	PCR 759/760	PCR Phylotype	Biovar	Biotype
7	PdT (Pamela)	Kollo	FN3PT 09/28	+	**I**	**3**	**-**
			FN3PT 09/29	+	**I**	**3**	**-**
14	PdT (Dan-Hadjia)	BKK Férawe	FN3PT 09/76	+	**III**	**2**	**2T**
			FN3PT 09/77	+	**III**	**2**	**2T**
16	PdT (Dan-Hadjia)	BKK Férawe	FN3PT 09/02	+	**II**	**2**	**2A**
21	PdT (Rosanna)	BKK F.D.R.	FN3PT 09/72	+	**II**	**2**	**2A**
			FN3PT 09/90	+	**II**	**2**	**2A**
22	PdT (Spunta)	Bonkoukou	FN3PT 09/11	+	**II**	**2**	**2A**
			FN3PT 09/20	+	**II**	**2**	**2A**
26	PdT (Dan-Hadjia)	Toulloua	FN3PT 09/82	+	**II**	**2**	**2A**
			FN3PT 09/39	+	**II**	**2**	**2A**
28	PdT (Blanche)	Toulloua	FN3PT 09/16	+	**II**	**2**	**2T**
			FN3PT 09/18	+	**II**	**2**	**2A**
29	PdT (Dan-Hadjia)	Ballayara	FN3PT 09/06	+	**III**	**2**	**2T**
			FN3PT 09/24	+	**III**	**2**	**2T**
			FN3PT 09/80	+	**II**	**ND**	**ND**
31	PdT (Dan-Hadjia)	Blyar Alkama	FN3PT 09/25	+	**II**	**2**	**2A**
32	PdT (Dan-Hadjia)	Blyar Alkama	FN3PT 09/65	+	**II**	**2**	**2A**
			FN3PT 09/92	+	**II**	**2**	**2A**
33	PdT (Blanche)	Blyar Alkama	FN3PT 09/31	+	**III**	**2**	**2T**
			FN3PT 09/38	+	**III**	**2**	**2T**
34	PdT (Dan-Hadjia)	Blyar Alkama	FN3PT 09/45	+	**III**	**2**	**2T**
			FN3PT 09/75	+	**III**	**2**	**2T**
36	PdT (Dan-Hadjia)	Bogol-Hima	FN3PT 09/84	+	**II**	**2**	**2A**
69	PdT (Yona)	Tabkin'So II	FN3PT 09/12	+	**II**	**2**	**2A**
			FN3PT 09/14	+	**II**	**2**	**2A**
Souches de référence			GMI 1000	+	**I**	**3**	**-**
			CFBP 19-76	+	**II**	**2**	**2A**

Le biovar 2 constitue la souche dominante rencontrée dans les différentes zones agro écologiques du Niger, en particulier le biotype 2A, phylotype II (phénotype originaire de la région des Andes) et du biotype 2T, phylotype III originaire des régions tropicales (PRIOR, 2003).

3.4. Test de pathogénicité en serre sur pomme de terre et tomate

Les figures 9 et 10 montrent respectivement l'évolution des symptômes de flétrissement bactérien en pourcentage (%) sur la variété de pomme de terre Désirée et la variété de tomate Roma suite à l'inoculation de 10 µl d'une concentration bactérienne comprise entre 10^5 et 10^6 cfu. Onze souches apparemment virulentes sont comparées à la souche de référence CFBP 19-76 en présence d'un témoin négatif.

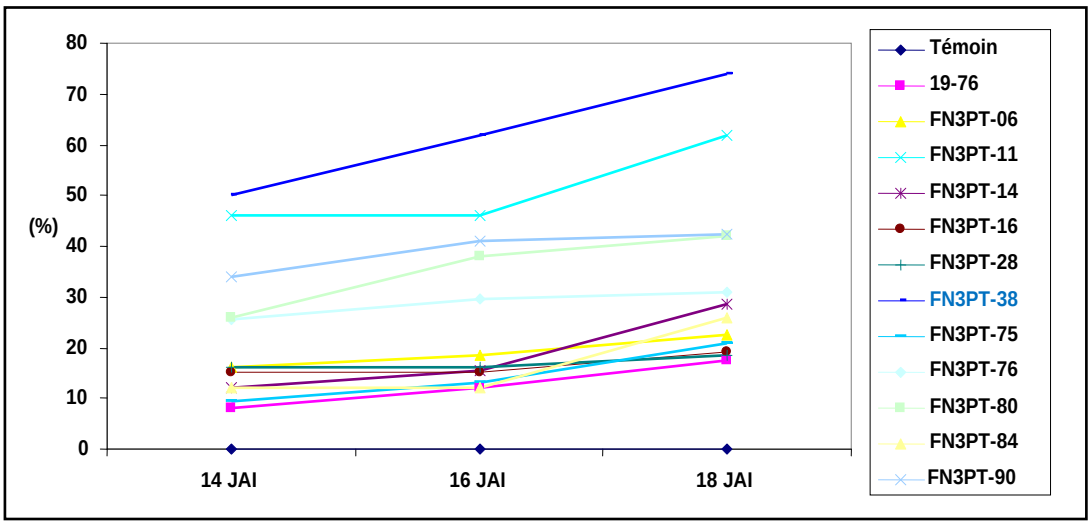


Figure 9 : Evolution des symptômes induits par les différentes souches de *Ralstonia solanacearum* sur les plants de pomme de terre de la variété Désirée.

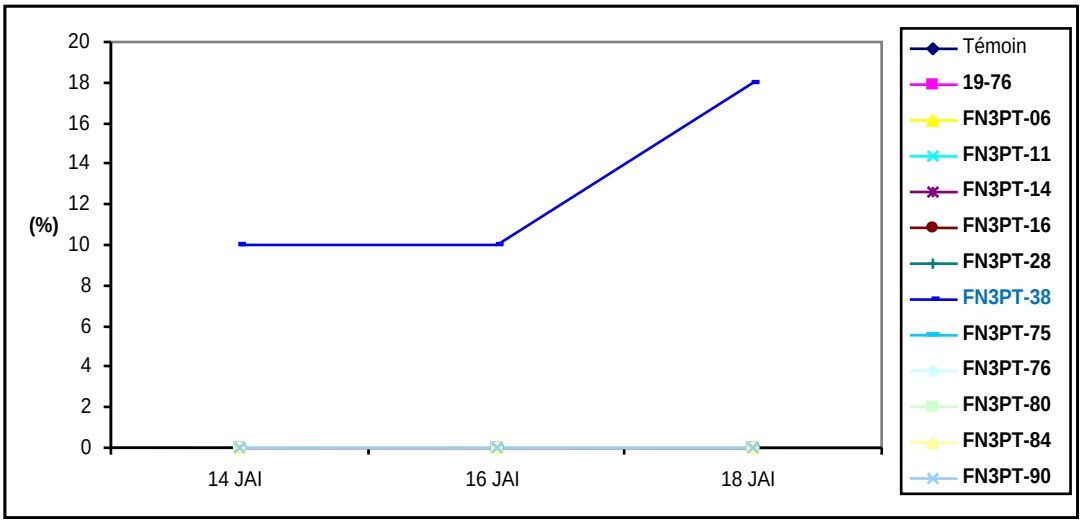


Figure 10 : Evolution des symptômes induits par FN3PT-38 (Phylotype III, biovar 2, biotype 2T) de *Ralstonia solanacearum* sur les plants de tomate de la variété Roma VF.

L'apparition des symptômes du flétrissement bactérien chez la variété Désirée rapportée à la figure 9 se présente sur quatre niveaux. Le premier niveau est constitué du témoin négatif dont les pourcentages de symptômes sont nuls (0%) pour les différentes périodes d'observations soit 14 JAI (jours après inoculation), 16 JAI et 18 JAI. Le second groupe est constitué du témoin positif (19-76) et des souches FN3PT-06, FN3PT-14, FN3PT-16, FN3PT-28, FN3PT-75 et FN3PT-84. Le niveau des symptômes observés est globalement compris entre 10% et 20%. Le troisième groupe se compose des souches FN3PT-76, FN3PT-80 et FN3PT-90, avec des pourcentages de flétrissement compris entre 20 et

40%. Le quatrième niveau comprend les souches FN3PT-11 (Phylotype II, biovar 2, biotype 2A) et FN3PT-38 (Phylotype III, biovar 2, biotype 2T) avec plus de 40% de flétrissement. Il est noté respectivement 62 % et 74 % à 18 JAI.

La figure 10 présente l'évolution des symptômes chez la variété de tomate Roma. Elle se caractérise par deux courbes distinctes. La première courbe située au bas de la figure, indique un score de 0% pour les trois périodes de relevé à savoir, 14 JAI, 16 JAI et 18 JAI. Il s'agit du plant témoin négatif. La seconde courbe située au centre de la figure présente l'évolution de la maladie au niveau du plant inoculé avec la souche FN3PT-38 (Phylotype III, biovar 2, biotype 2T) de *Ralstonia solanacearum*. Il apparaît respectivement 10 % de flétrissement à 14 JAI et 16 JAI et 18 % à 18 JAI.

Les photos 11 et 12 présentent des vues comparatives de plants sains (témoins négatifs) et plants à symptômes de la variété Désirée pour la pomme de terre ainsi que la tomate Roma.

Photo 11 : Vue de symptômes typiques de flétrissement avec chlorose et nécrose foliaires sur des plants de pomme de terre de la variété Désirée inoculés avec la souche FN3PT 09-80 de *Ralstonia solanacearum*. (Photo : Issa ADAMOU)

Photo 12 : Symptômes typiques de flétrissement avec épinastie des pétioles foliaires provoqués par la souche FN3PT 09-38 de *Ralstonia solanacearum* sur un plant de tomate de la variété Roma VF (à gauche), à côté d'un plant témoin bien épanoui (à droite). (Photo : Issa ADAMOU)

Sur la photo 11, Il s'agit de deux plants de pomme de terre de la variété Désirée. Le plant de droite est le témoin non inoculé. Il ne présente aucun symptôme et porte de belles feuilles vertes bien épanouies. Par contre le plant de gauche a été inoculé avec la souche FN3PT 09-80 au niveau de la

ramification de droite qui présente des feuilles nécrotiques de couleur brune. Les deux autres rameaux ont été contaminés de manière systémique et ont les feuilles chlorotiques.

Sur la photo 12, le plant de tomate situé à droite est le témoin non inoculé. Il présente une croissance saine et ne montre aucun symptôme apparent. Par contre le plant de gauche est celui ayant été inoculé avec la souche FN3PT 09-80 au niveau de la première feuille. Il présente des signes typiques du flétrissement bactérien des Solanacées avec une épinastie des pétioles foliaires.

4. DISCUSSION

Les nombreuses prospections effectuées à la faveur de cette étude ont permis de diagnostiquer le flétrissement bactérien dû à *Ralstonia solanacearum* au niveau de plusieurs Solanacées (pomme de terre, tomate, aubergine etc.). La principale espèce végétale infectée au Niger est la pomme de terre. La culture a été introduite dès les années cinquante (ASSOUMANE, 2006 Comm. personnelle), à la faveur de la colonisation. De nouvelles introductions ont encore lieu de nos jours avec l'aide des organisations paysannes, des ONG et des services d'encadrement. Tous les échantillons incriminés sont des variétés de l'espèce *Solanum tuberosum* notamment la variété Dan-Hadjia introduite dans les années 1980, la variété Rosanna introduite à la fin des années 1990 et la Spunta et la Yona plus récentes ont été obtenues en 2007. Nos observations se rapprochent de celles de MIAN *et al.* (2003) qui dénoncent l'émergence d'une nouvelle population de *R. solanacearum* à large gamme d'hôtes et à fort taux de dissémination, suite à une introduction accidentelle dans les plantations d'*Anthurium* en Martinique. Ils pensent même que la nouvelle espèce serait susceptible de recouvrir les populations d'origine. WILLIAMSON *et al.* (2002) ont fait une constatation similaire par rapport à des souches *R. solanacearum* inféodées au Géranium et dotées d'un caractère hautement pathogène sur la pomme de terre.

En se basant sur les tests d'immunofluorescence effectués sur les 139 macérats de Solanacées, il apparaît que les échantillons constitués de racines seules ou des racines associées à d'autres parties de plante semblent contenir plus de bactéries que les mélanges de tiges et de cônes de tubercules. En effet, plusieurs auteurs s'accordent sur le fait que *Ralstonia solanacearum* se multiplie d'abord dans la rhizosphère de ses hôtes (HAYWARD, 1991), avant de les infecter à partir de blessures naturelles ou artificielles du système racinaire (ANONYME, 2008 ; GRANADA et SEQUEIRA, 1981a ; PRIOU et ALEY, 2002). En outre *R. solanacearum* présente un très fort tropisme pour les vaisseaux du xylème (ANONYME, 2002).

Les résultats de la PCR Multiplex ont permis d'identifier trois phylotypes (I, II et III) au Niger. Le phylotype I (biovar 3) à amplicon de 144 pb, a été collecté à Kollo sur la rive gauche du fleuve Niger

à 184 mètres d'altitude sur des plants de pomme de terre alors que GUNAWAN *et al.* (2003) situent ses optimums topographiques entre 800 et 1500 mètres. ADAMOU *et al.* (2009) avaient retrouvé le même phylotype mais uniquement sur tomate deux années plus tôt. Le phylotype II (biovar 2A), ayant un amplicon de 372 pb, est aussi retrouvé sur des plants de pomme de terre. Ce biovar domine au Niger sur un gradient d'altitudes allant de 184 m (zone sahélienne), à 1546 m (zone saharienne). Selon VANIET *et al.* (2005), la pathogénicité des différentes souches du phylotype II de *Ralstonia solanacearum* présente une grande variabilité face à un même hôte végétal. Le phylotype III (biovar 2T) à amplicon de 91 pb, est aussi retrouvé principalement sur plants de pomme de terre. Ce biovar suit de près le biovar 2A au Niger. Selon FEGAN et PRIOR (2005), REYNAUD (2005), WICKER et PRIOR (2005), *Ralstonia solanacearum* est classé en 4 phylotypes et est considéré comme un complexe d'espèces. Le phylotype I a été identifié pour la première fois en Asie. Il est principalement pathogène de la pomme de terre. Le phylotype II est originaire d'Amérique et est inféodé à la pomme de terre. Quant au phylotype III, il est originaire d'Afrique. Ce schéma taxonomique est basé sur l'analyse des séquences d'ADN (PRIOR et GUIDOT, 2005). COUPAT *et al.* (2008) ont observé chez la souche de référence GMI 1000 des mécanismes de transformation naturelle qu'ils qualifient de force principale de diversification génétique dans le complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum*. Il s'agit de la capacité d'échanger des fragments d'ADN allant de 30 à 90 kb par remplacement d'ADN *in-vitro* et dans la plante.

La distribution des différents phylotypes, biovars et biotypes à travers les sites maraîchers du Niger confirme les observations de PLENER *et al.* (2008) selon lesquelles *Ralstonia solanacearum* est capable de se développer dans différentes niches écologiques car il dispose pour cela d'un système de régularisation très complexe pour intégrer les signaux environnementaux et s'adapter aux conditions dans lesquelles il se trouve.

L'échantillon 29 récolté à Ballayara sur la variété locale de pomme de terre Dan-Hadjia est simultanément infecté par le phylotype II (souche FN3PT-80) et le phylotype III, biotype 2T (souches FN3PT-06 et FN3PT-24). Ceci corrobore les observations de MACIEL *et al.* (1997) selon lesquelles plusieurs biovars peuvent être retrouvés sur un même plant.

Concernant le développement des symptômes en serre, seules les différentes variétés de pomme de terre ont été sensibles, ce qui laisse penser que nous sommes en présence de souches de la race 3 de *Ralstonia solanacearum*. En effet, FEGAN et PRIOR (2005) et WICKER et PRIOR (2005) ont démontré que les souches de la race 3 possèdent un spectre d'hôte plutôt étroit, principalement constitué par la pomme de terre et à un degré moindre, la tomate. La plupart des souches isolées produisaient des colonies de forme circulaire (ronde), régulière, de petit diamètre (environ 2 mm à 48h) et d'aspect

rugueux sur milieu LPGA. Selon PRIOR (2003) ce type de colonie produisant peu d'exopolysaccharides est dit avirulent.

Les souches FN3PT09/90 ; FN3PT09/80 ; FN3PT09/11 et FN3PT09/14 ont provoqué plus de 50% de symptômes de flétrissement sur la variété de pomme de terre Bintje et plus de 40% sur la variété Désirée au niveau des essais en serre. Toutes ces souches sont du Phylotype II, biovar 2A décrit par PRIOR (2003) ainsi que WICKER et PRIOR (2005) selon lesquels elles appartiennent aussi à la race 3 de *R. solanacearum*. Selon SCHAAD *et al.,* (2001) le biovar 2A est principalement pathogène de la pomme de terre et attaque accessoirement la tomate. La souche FN3PT09/38 (Phylotype III, biovar 2T) a donné le meilleur score sur la variété de pomme de terre Désirée (74 %). Elle est aussi la seule souche ayant provoqué un flétrissement typique sur plant de tomate (18 %). Ce Phylotype dénommé « Africain » par PRIOR (2003) appartient à la race 1 de *R. solanacearum*. Une souche appartenant au phylotype I a été révélée par PCR sur un macérât de tomate récolté à Gualléwa, région de Tillabéri (ADAMOU *et al.,* 2007).

5. CONCLUSION PARTIELLE

Les résultats des présents travaux confirment la présence de *Ralstonia solanacearum* au Niger et qui a été déjà signalée dans les conclusions du chapitre précédent. Ils apportent en plus un éclairage sur la diversité phylogénique qui existe au sein des souches collectées localement. En effet, sur les cinq phylotypes décrits à travers le monde, trois phylotypes de *Ralstonia solanacearum* ont été retrouvés au Niger. Ils ont été isolés et caractérisés du point de vue biochimique, sérologique et moléculaire à partir de 26 souches collectées à travers le pays sur des échantillons de diverses Solanacées, principalement sur différentes variétés de pomme de terre. Le phylotype II domine tous les autres groupes. Au sein de ce groupe génétique, le biotype 2A signalé pour la première fois en Asie et inféodé à la pomme de terre *Solanum tuberosum,* détient le plus grand nombre de souches. Il dépasse numériquement le biotype 2T originaire des régions tropicales. Le phylotype III occupe le second rang avec des souches appartenant également au biotype 2T. Le phylotype I (biovar 3) est isolé d'un seul échantillon de pomme de terre de la variété Pamela. Toutes ces souches infectent principalement la pomme de terre et provoquent chez cette espèce un flétrissement des parties aériennes et une pourriture brune de la région vasculaire du tubercule. Il n'a pas été possible d'isoler des souches *R. solanacearum* sur les échantillons des autres Solanacées (tomate, aubergine, poivron) ainsi que la courge, l'arachide et l'amaranthe collectés dans les zones prospectées au Niger. Au cours du test de pathogénicité en serre, une souche de Phylotype III, biotype 2T, a provoqué des symptômes de flétrissement typique aussi bien sur des plants de pomme de terre que sur des plants de tomate.

TROISIEMME PARTIE :

ETUDE DU COMPORTEMENT DE SIX VARIETES DE POMME DE TERRE VIS-A-VIS DE LA SOUCHE RS-09-76 DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* ET VERIFICATION DE L'IDENTITE DE LA SOUCHE INNOCULEE ARTIFICIELLEMENT PAR DES TESTS BIOCHIMIQUES ET MOLECULAIRES

CHAPITRE I

ETUDE DU COMPORTEMENT DE SIX VARIETES DE POMME DE TERRE FACE A LA SOUCHE Rs-09-76 DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* E. F. SMITH AU NIGER

1. INTRODUCTION

Les premiers plants de pomme de terre ont été introduits dans les localités de Bonkoukou et Agadez dans les années 60 (ASSOUMANA, 2006 ; Comm. Pers.), par les colons français. Les conditions climatiques qui prévalent sur la partie nord du pays (Région d'Agadez) permettent la culture de la pomme de terre du 1er janvier au 31 décembre. Par contre pour tout le reste du pays il n'existe qu'une principale période de maraîchage comprise entre novembre et mars. Les grandes quantités de tubercules récoltés (24 000 tonnes en 2007) ne pouvant être conservés pendant sept mois (Avril à Octobre), les producteurs nigériens se trouvent assujettis à renouveler leurs commandes de plants chaque année. Ainsi en 2009, près d'un millier de tonnes de plants certifiés de variétés et d'origine diverses ont été achetés par l'Etat, les Organisations paysannes (OP) et surtout les partenaires au développement auprès de firmes étrangères.

L'objectif de cet essai est de connaître le comportement des principales variétés appréciées par les producteurs nigériens notamment cinq variétés certifiés d'origine française (Pamela, Pamina, Rosanna, Stemster et Yona) et la variété locale Dan-Hadjia par rapport à la souche autochtone de *Ralstonia solanacearum* (Rs-09-76), isolée en 2009 sur un plant malade de pomme de terre de la variété Dan-Hadjia de la localité de Bonkoukou à environ 150 km au nord de Niamey.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Le site expérimental

L'expérience a été conduite sur les terres de la station de l'Institut National de Recherches Agronomiques du Niger (INRAN) du département de Kollo, région de Tillabéri à 30 km de Niamey. Les sols sont de texture sableuse et sablo argileuse. Il pleut annuellement 400 mm à Tillabéri et 600 mm à Dosso et à Niamey. Les températures minimales se situent entre 22 et 23 °C, avec une probabilité de 0% qu'elles soient inférieures ou égales à 15 °C.

Le taux moyen d'incidence du flétrissement bactérien est de 10,4 % pour la région de Tillabéri. L'irrigation se fait par aspersion du feuillage des plantes avec une eau tirée du fleuve. Des adventices

des espèces suivantes (*Sphenoclea zeylanica, Ludwigia abyssinica, Hyptis spicigera, Cynodon dactylon et Commelina bengalensis*) sont présentes toute l'année.

2.2. MATERIEL

La souche bactérienne utilisée provient de la collection faite entre Mai et Juillet 2009 à l'UMR-BiO3P. Il s'agit de la Rs-09-76 ; appartenant au phylotype III, isolée d'un échantillon de la variété Pamela collecté dans la localité de Kollo à 30 km de Niamey.

- Rs : Nom d'espèce (*Ralstonia solanacearum*) ;
- 09 : Année de récolte et d'isolement (2009) ;
- 76 : 76ème échantillon collecté lors de la prospection 2009 au Niger.

La souche virulente est livrée en solution dans un milieu de culture et redémarrée à Niamey. L'inoculum utilisé est issu d'une culture âgée de 48h au plus, incubée à 28°C +/-2°C, avec une concentration d'environ 2,54 x 10^9 cfu/ml. La technique d'inoculation retenue est le trempage des fragments de tubercules de semences prégermées dans 500 ml de la suspension bactérienne pendant 30 minutes juste avant plantation.

Six (6) variétés certifiées de pomme de terre fournies par la GERMICOPA ont été utilisées dans cet essai. Ces génotypes considérés indemnes de *Ralstonia solanacearum*, sont déjà cultivés en milieu paysan. Il s'agit des variétés Pamela, Pamina, Rosanna, Stemster et Yona. A leur côté, l'on trouve la variété Dan Hadjia, un cultivar local de référence, introduit du Nigeria il y a de cela plusieurs années. Au Niger, elle semble être le principal réservoir de *Ralstonia solanacearum.* Le principal critère d'appréciation par les paysans est la précocité à cause des difficultés d'approvisionnement en eau. Puis viennent le rendement, la proportion de gros tubercules, l'aptitude à la conservation et enfin la couleur de la peau. Les paysans nigériens affectionnent les pommes de terre à peau rouge alors que les Burkinabés et les Maliens préfèrent les tubercules à peau blanche. Les caractéristiques morphologiques et agronomiques de ces variétés sont données dans le tableau 19.

Tableau 19 : Récapitulatif des caractéristiques des différentes variétés de pomme de terre cultivées au Niger et utilisées lors de l'expérimentation.

Variété	Tubercule	Germe	Fleur	Maturité	Cycle	Obtenteur (s)
Dan Hadjia	Oblong court ; Yeux peu profonds ; Peau rouge ; Chair jaune pâle	Rouge violacé ; Conique ; Pilosité très forte	Blanche	Moyennement précoce	ND	INCONNU
Pamela	Oblong allongé ; Yeux peu profonds ; Peau rouge ; Chair jaune pâle	Rouge violacé ; Conique ; Pilosité très forte	Blanche	Moyennement précoce	90-110 j	GERMICOPA
Pamina	Oblong régulier ; yeux très superficiels ; peau jaune ; chair jaune	Violet, cylindrique ; pilosité faible à moyenne	Violette	Demi tardive	110-140 j	UNICOPA et SOCIETE CLAUSE - (FRANCE) Origine génétique : Spunta x Hydra
Rosanna	Oblong allongé ; Yeux peu profonds ; Peau rouge ; Chair jaune pâle	Rouge violacé ; Cylindrique ; Pilosité moyenne à forte	Blanche	Précoce	80-90 j	GERMICOPA
Stemster	Oblong long ; Yeux moyennement enfoncés ; Peau rose et lisse ; Chair jaune pâle	Rose	Rouge violacé foncé	Demi tardive	110-140 j	J. DUNNETT (U.K.) Origine génétique : Désirée x Maris Piper

ND : Non déterminée

2.3. METHODES

2.3.1. Le dispositif expérimental

Le dispositif expérimental comprend deux blocs (un inoculé et l'autre non). Dans chaque bloc les répétitions sont randomisées avec trois (3) répétitions des six (6) traitements ou variétés soit un total de 36 parcelles élémentaires. Dans chaque parcelle élémentaire, une seule variété de pomme de terre est semée sur trois (3) lignes de 1,5 mètres. Les lignes sont espacées de 60 cm et les poquets de 30 cm. Il y

a 21 poquets par parcelle élémentaire. Les variétés sont disposées de façon aléatoire par répétition. La superficie totale de l'essai est de 323,32 m², soit 23,60 m x 13,70 m.

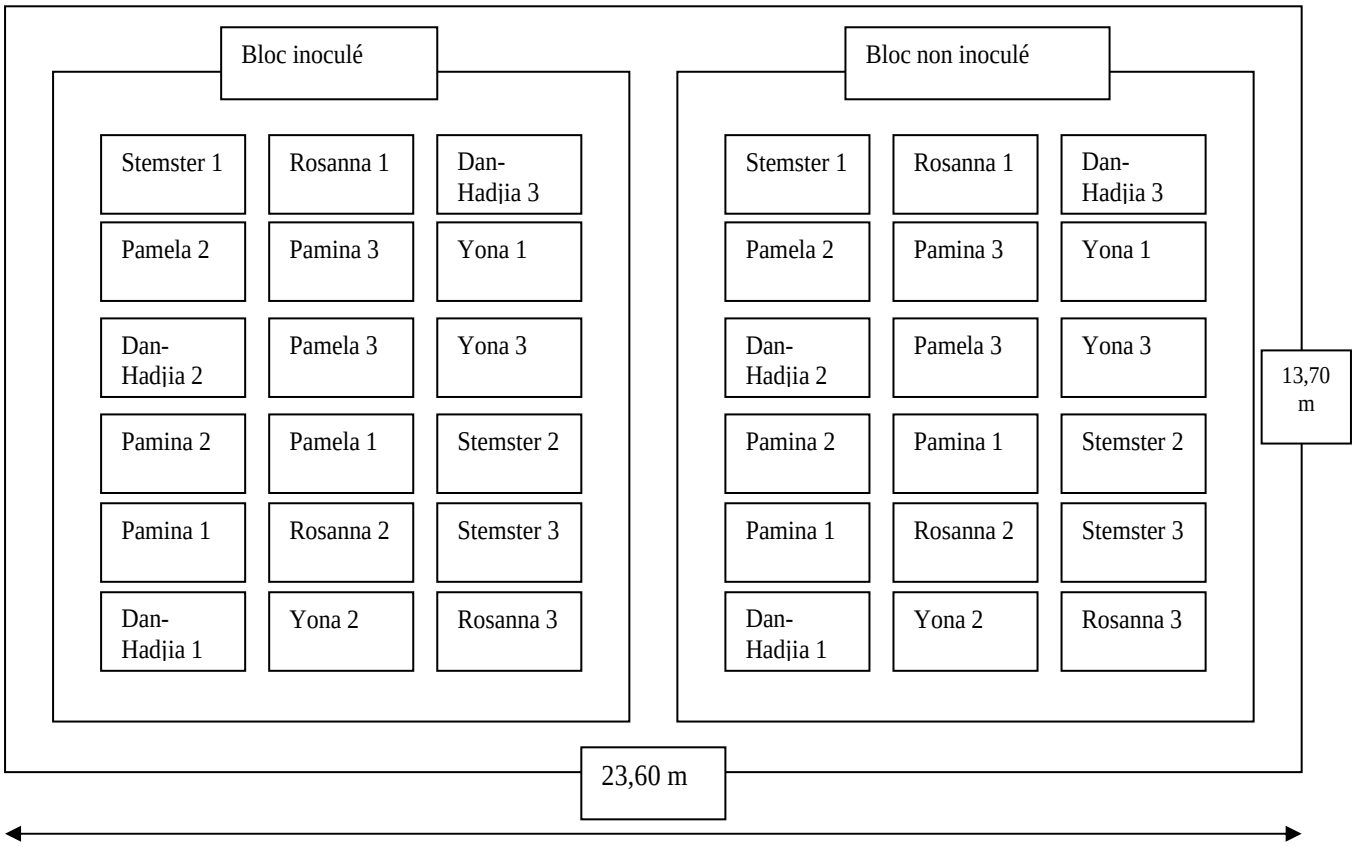


Figure 11 : Dispositif expérimental de l'essai de criblage variétal en blocs de Fischer complètement randomisés avec trois répétitions.

2.3.2. Les opérations culturales :

L'itinéraire technique correspond à celui du paysan exploitant la parcelle retenue. Il comprend un labour du sol à la houe suivi du planage à l'aide d'un râteau.

Les tubercules sont prégermés une semaine, découpés en deux ou trois fragments en fonction du nombre de germes. Les fragments sont exposés à l'air une demi-journée pour favoriser une légère cicatrisation. La plantation a lieu le même jour au soir après un trempage de 30 minutes dans l'inoculum.

Deux sarclages ont été effectués à quatre semaines d'intervalles. Toutes les parcelles sont irriguées quotidiennement avec deux arrosoirs de 18 litres chacun. Les échantillons ont été récoltés manuellement.

2.3.3. L'inoculation des fragments de tubercules de semences

L'inoculum bactérien utilisé est un liquide légèrement trouble conditionné dans un bidon de 10 litres et maintenue au frais dans une thermos contenant de la glace. Il s'agit de 9,9 litres d'eau permutée stérile ayant une concentration de 8 % de chlorure de sodium (NaCl). Il y est ajouté 100 ml de bouillon constitué de 99 ml d'eau physiologique et 1 ml d'une culture de la souche Rs-09-76 de Ralstonia solanacearum sur milieu liquide LPGA (Levure Peptone Glucose Agar), composé de 7.0 g d'Extrait de levure, 7.0 g de Peptone, 7.0 g de Glucose et 15 g d'Agar mélangés dans un litre d'eau distillée. La culture est incubée à 28°C +/-2°C pendant 48 heures. La concentration finale de l'inoculum est d'environ $2,5x10^9$ cellules/ml.

La technique d'inoculation utilisée est le trempage des fragments de tubercules de semence prégermés dans 500 ml de la suspension bactérienne pendant 30 minutes juste avant plantation.

2.3.4. L'isolement de nouveau de *Ralstonia solanacearum* à partir des plants inoculés

Il s'agira de confirmer que c'est bien la souche inoculée qui a été à la base des manques de levée et des symptômes observés chez les plants malades au cour du développement végétatif. La vérification est faite par l'isolement de nouveau sur milieu Tétrazolium Chloride (acides casaminiques 1 g, peptone 10 g, dextrose 5 g, agar 15 g, eau distillée 1 litre) suivie de sa purification sur milieu LPGA (levure 7 g, peptone 7 g, glucose 7 g, agar 15 g, eau permutée 1 litre).

Photo 13 : Culture pure de *Ralstonia solanacearum* sur milieu LPGA (Levure peptone glucose agar).

2.3.5. La collecte des données

Le développement des symptômes est noté de façon régulière pendant 2 mois. L'évaluation est faite sur les parties aériennes en observant l'apparition des symptômes du flétrissement: épinastie, chlorose et/ou rabougrissement à un intervalle régulier de sept (7) jours à partir de la levée complète ; c'est-à-dire environ 21 jours après la plantation. Ceci permet d'évaluer la cinétique de développement de la maladie selon les huit classes de l'échelle de LE ROUX (2003). Les huit (8) classes de notation sont : Classe 0 = plante saine ; classe1 = 1 seule feuille flétrie ; classe 2 = 5 à 20% de la plante flétrie ; classe 3 = 20 à 40 % de la plante flétrie ; classe 4 = 40 à 60 % de la plante flétrie ; classe 5 = 60 à 80 % de la plante flétrie ; classe 6 = 80 à 100% de la plante flétrie ; classe 7 = plante morte. Les tubercules fils sont récoltés en fin de culture et soumis à des tests moléculaires afin de détecter la bactérie même sous forme latente.

Les données sont collectées au niveau des trois (3) plants centraux de la seconde ligne. Il est procédé entre autre à l'appréciation de :

- les classes de symptômes selon l'échelle de notation ;
- le nombre de tubercules par plant échantillonné;
- le poids (rendement) des tubercules par plant échantillonné;
- le diamètre moyen (calibre) des tubercules par plant échantillonné.

L'appréciation de la maladie a été faite en calculant les paramètres suivants :

L'incidence de la maladie évaluée en pourcentage (%) du nombre de plantes malades quelque soit le degré des symptômes sur le nombre de plantes observées dan la parcelle, multiplié par cent (100).

L'Indice de maladie (IMr) de WINSTEAD et KELMAN (1952) en utilisant la formule :

$$IMr = \sum Ci\ Ni / \sum Ni$$

IMr : Indice de maladie ; Ci : Cœfficient ; Ni : Nombre de plantes.

Les pourcentages de maladies obtenus sont comparés aux valeurs du tableau 20 et les symptômes sont appréciés.

Tableau 20 : Critères d'estimation de la sévérité de la maladie (WINSTEAD et KELMAN, 1952)

Classe	Caractéristiques	
	% de maladie	Symptômes
0	0%	Plant sain ‘‘sans symptômes apparents’’
1	< 5%	1 seule feuille flétrie ‘‘entièrement ou partiellement’’
2	5 – 25%	2 à 3 feuilles flétries
3	25 – 50%	Toutes les feuilles flétries excepté 2 à 3
4	50 – 75%	Flétrissement total du plant
5	75 -100%	Plant mort

2.3.6. L'analyse des données et expression des résultats

Des histogrammes et des courbes ont été produits en fonction des données récoltées. Parmi les tests statistiques effectués on note l'ANOVA de Fisher, la comparaison des moyennes par le test de Duncan (DMRT) ainsi que l'Analyse factorielle des correspondances (AFC). Le logiciel utilisé est le XLSTAT-Pro de ADDINSOFT (2004).

3. RESULTATS

3.1. Les taux de levée des plants des six variétés après trois semaines de plantation

La figure 12 présente des taux de levée des plants à 23 JAP (jours après plantation) des différentes variétés testées dans cet essai. En général, toutes les variétés ont eu un taux de levée de 100% au niveau des parcelles du bloc non inoculé. Au niveau du bloc inoculé le plus faible taux de levée est de 80%. Il est détenu par la variété Stemster. Toutes les autres variétés ont des taux compris entre 90% et 100% pour la variété Dan-Hadjia. Les manques de levées observés sont respectivement de 19,05% chez la variété Stemster, 9,52% pour la variété Pamina et 4,76% pour les variétés Pamela et Yona.

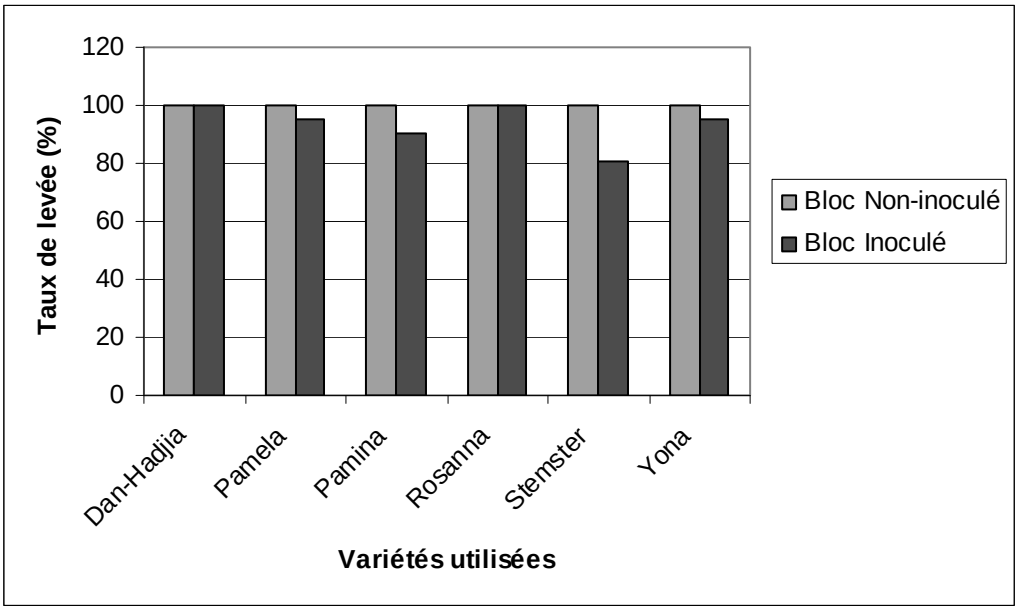


Figure 12 : Histogramme d'estimation des taux de levée des plants des 6 variétés testées à 23 JAP (jours après plantation)

Les données de la figure 12 attestent de la bonne qualité des lots de semences certifiées mais aussi des semences de la variété locale Dan-Hadjia. Il apparaît que cette variété locale et la variété Rosanna sont parmi toutes les six testées, les deux seules qui ont obtenus aussi 100 % de taux de levée au niveau des plants du bloc inoculé.

Une semaine plus tard, l'incidence du flétrissement a été appréciée pour toutes les parcelles des deux blocs (inoculé et non inoculé). Les données sont présentées dans le tableau 20.

3.2. Le niveau de sévérité du flétrissement bactérien

La sévérité de la maladie évaluée en pourcentage (%) du nombre de plantes malades quel que soit le degré des symptômes sur le nombre de plantes observées dans la parcelle, multiplié par cent (100). Le tableau 21 présente les taux d'incidence de la maladie à 30 jours après plantation (JAP). Les plants des parcelles du bloc non inoculé sont restés indemnes de flétrissement bactérien d'où la note de 0% dans toutes les cellules de la seconde colonne du tableau. Au niveau du bloc inoculé, la variété Pamela détient la plus forte note (42,86%), et se présente ainsi comme la variété la plus sensible. La variété Rosanna semble être la moins attaquée avec 4,76%. La variété locale Dan-Hadjia a le second meilleur score avec 9,52 %.

Tableau 21 : Estimation de l'incidence du flétrissement bactérien 30 jours après plantation.

Variété	Taux d'incidence (%)	
	Bloc Inoculé	Bloc Non inoculé
Dan-Hadjia	9,52	0
Pamela	42,86	0
Pamina	38,10	0
Rosanna	4,76	0
Stemster	19,05	0
Yona	14,29	0

Les résultats du test montrent que toutes les variétés utilisées ont été sensibles à l'inoculation de la souche Rs-09-76 de *Ralstonia solanacearum* dans les conditions de réalisation de l'essai à seulement un mois après plantation. Les différentes variétés testées ont montré leur degré de résistance au flétrissement bactérien en ces débuts du cycle végétatif. La variété Rosanna et la variété locale Dan-Hadjia ont présenté les plus faibles taux d'attaque dans les parcelles du bloc inoculé à la différence des variétés Pamina et surtout Pamela qui exhibe près de 43% de taux d'attaque.

3.3. L'Indice de maladie (IMr) de WINSTEAD et KELMAN (1952)

La figure 13 présente les courbes respectives de l'évolution de l'indice du flétrissement bactérien entre les périodes 23 et 79 jours après inoculation, chez les plants des six variétés étudiées au niveau du bloc inoculé.

Chez la variété locale Dan-Hadjia, jusqu'à la période J37, la courbe indique la valeur (0%). Une légère remontée a été observée à J44 avec 5,56% et s'est poursuivie de manière ascendante avec 15,89% à J51, 26,94% à J58 et 46,68% à J65, pour se stabiliser à J72 avec la valeur de 66,67%. Chez la variété certifiée Pamela, il est observé 15,06% dès la première évaluation à J23. Puis 63,67% à J44 ; 82,22% à J58 pour atteindre le maximum (100%) dès J72. Cette valeur est restée constante jusqu'à la fin de l'évaluation à J79. Chez la variété certifiée Pamina, il est observé jusqu'à 28% dès la première évaluation à J23. Un léger plateau est observé entre J30 et J37 avec respectivement 43,67% et 47,33%. Une remontée assez brutale est constatée à J44 avec 76,67% et 90,28% dès J58. L'indice de 100% est facilement atteint à J72 et est resté constant jusqu'à la fin de l'évaluation à J79. Chez la variété certifiée Rosanna, la maladie ne s'est exprimée qu'à J30. La valeur de l'indice de maladie prend un caractère ascendant avec 5,56% à J37 ; 14,72 à J44 ; 31,39% à J51 ; 48,06% à J58 ; 62,56% à J65 ; 79,22% à J72

et 83,61% à la fin de l'évaluation, c'est-à-dire à J79. Chez la variété certifiée Stemster, l'indice du flétrissement bactérien atteignait 11,44% dès J23. Une légère remontée de la maladie a été observée entre J23 à J37 pour atteindre 28,89%. Une brusque remontée est observée avec 64,44% à J44. La courbe s'est approchée de sa valeur maximale dès la date J65 avec 98,89% pour atteindre 100% dès J72. Chez la variété certifiée Yona, la valeur de l'indice de la maladie était nulle (0%) uniquement à J23. Elle atteint 11,44% à J30 et 14,44% à J37 avant d'entamer son ascendance avec successivement 31,44% à J44 ; 53,61% à J51 ; 70,28% à J58 ; 77,78% à J65 ; 87,78% à J72 et 88,89% à J79, date de fin d'évaluation.

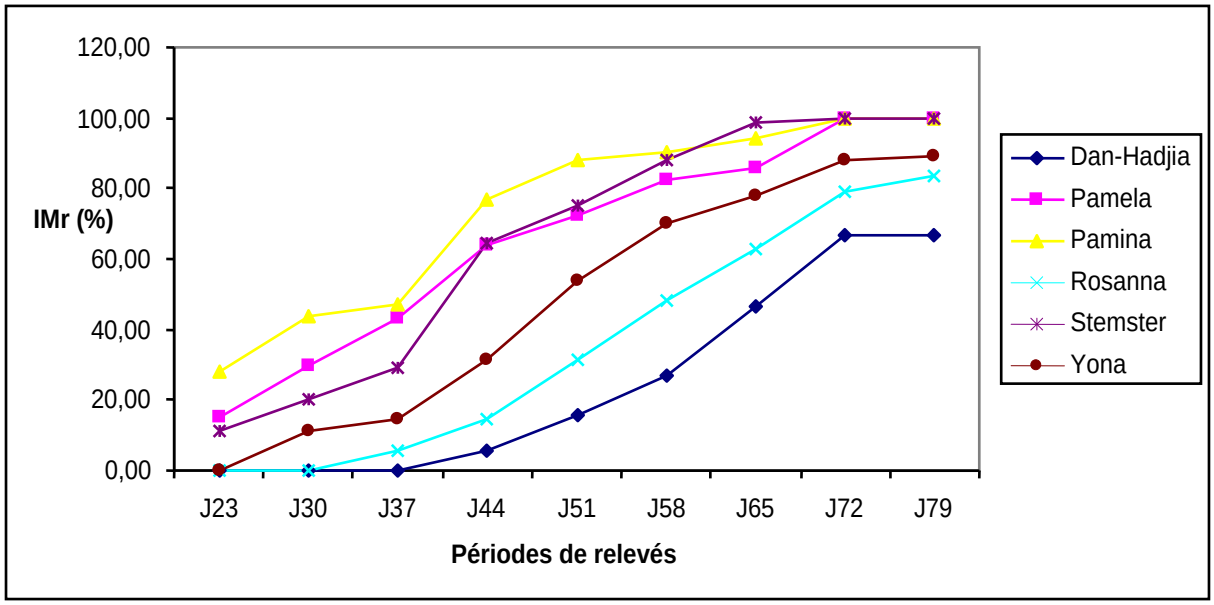


Figure 13 : Evolution de l'indice du flétrissement bactérien sur les plants des parcelles du bloc inoculé chez les six variétés étudiées.

Au cours de la dernière semaine de l'essai (entre J72 et J79), toutes les variétés ont exprimé leurs meilleures potentialités en termes de résistance au flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum*. Les variétés Stemster, Pamina et Pamela ont eu un IMr de 100 % dès J72. La variété Yona a eu un indice de maladie de 88,89 % à J79. L'IMr de la variété Rosanna n'atteint 83,61% J79. La variété locale Dan-Hadjia est la seule qui présente un indice de maladie 66,67% à la fin de l'expérimentation. Elle est aussi l'unique variété parmi toutes les six à détenir un indice de maladie inférieur à 50% après deux mois de développement végétatif (J65).

3.4. Effet du flétrissement bactérien sur la hauteur moyenne des plants

La figure 14 présente les hauteurs moyennes des plants des 6 variétés étudiées au niveau des blocs inoculés et non inoculés à la date J53. D'une manière générale, les hauteurs moyennes mesurées chez les plants du bloc non inoculé sont plus élevées que celles des plants du bloc inoculé. Les écarts les plus élevés sont constatés respectivement chez la variété Pamina (16,7 cm), la variété Yona (14,1 cm), la variété Pamela (8,4 cm) et 4,9 cm pour la variété Stemster. L'écart le plus faible est observé chez la variété Dan-hadjia avec 1,6 cm suivie de la variété Rosanna (2,1 cm).

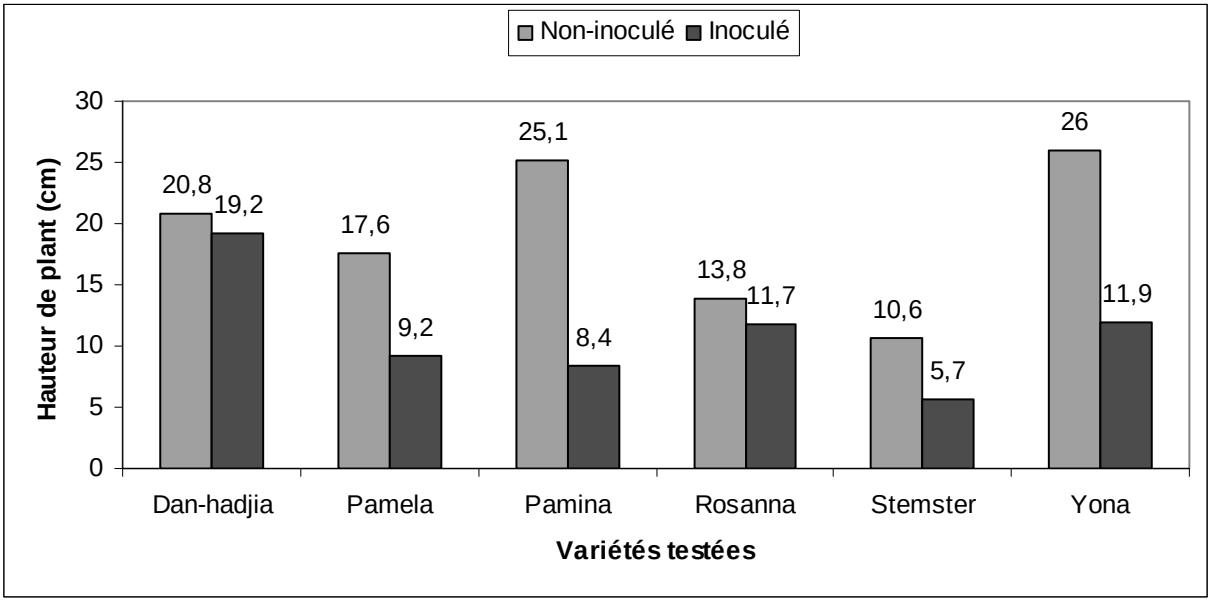


Figure 14 : Histogramme de l'appréciation de la hauteur des plants chez les six (6) variétés testées, à 53 jours après plantation.

La maladie semble effectivement avoir eu une influence sur le développement végétatif de toutes les variétés testées avec réduction notoire de la taille des plants inoculés par rapport à ceux non inoculés. Le constat est tout de même moins marqué chez la variété locale Dan-Hadjia. Chez la variété Pamina, l'effet de la maladie est ressenti à tel point que le développement des plants du bloc inoculé ne représente plus que le tiers de celui des plants du bloc non inoculé.

3.5. Effet du flétrissement bactérien sur le nombre de tubercules par plant, leurs calibres et poids

3.5.1. Effet de la bactériose sur le nombre de tubercules fils par plant

Les figures 15 et 16 présentent les nombres moyens de tubercules fils produits par les plants des 6 variétés étudiées au niveau des trois répétitions, respectivement dans le bloc non inoculé et inoculé à la date J79.

On constate sur la figure 15 une production de tubercules au niveau des trois répétitions des six variétés du bloc non inoculé. La répétition 2 détient les meilleurs productions moyennes avec 6,33 tubercules chez la variété Pamela, 5,33 tubercules chez la variété Dan-Hadjia et 4,33 tubercules chez la variété Yona. La répétition 1 vient en second, suivie de la répétition 3 avec une moyenne maximale de 3,67 tubercules.

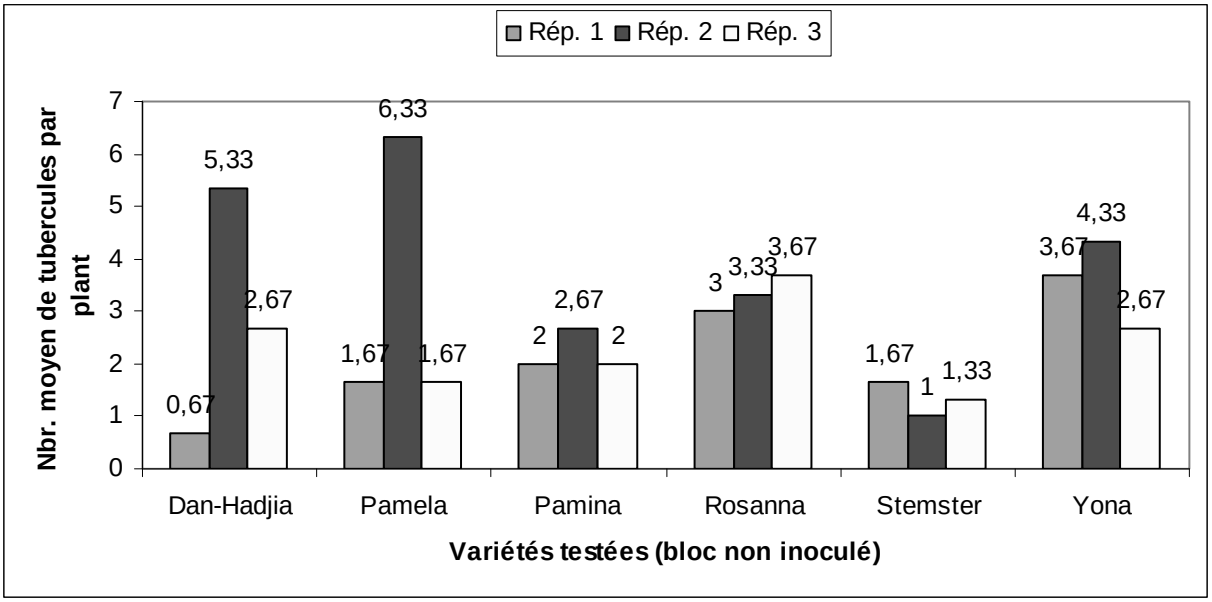


Figure 15 : Histogramme du nombre moyen de tubercules fils produits par les plants des 6 variétés étudiées au niveau des parcelles du bloc non inoculé.

Par contre dans le bloc inoculé (Figure 16), seules les variétés Dan-Hadjia et Rosanna ont produit des tubercules avec des moyennes de 4 et 3,67 tubercules pour les répétitions 2 et 1 de la première variété.

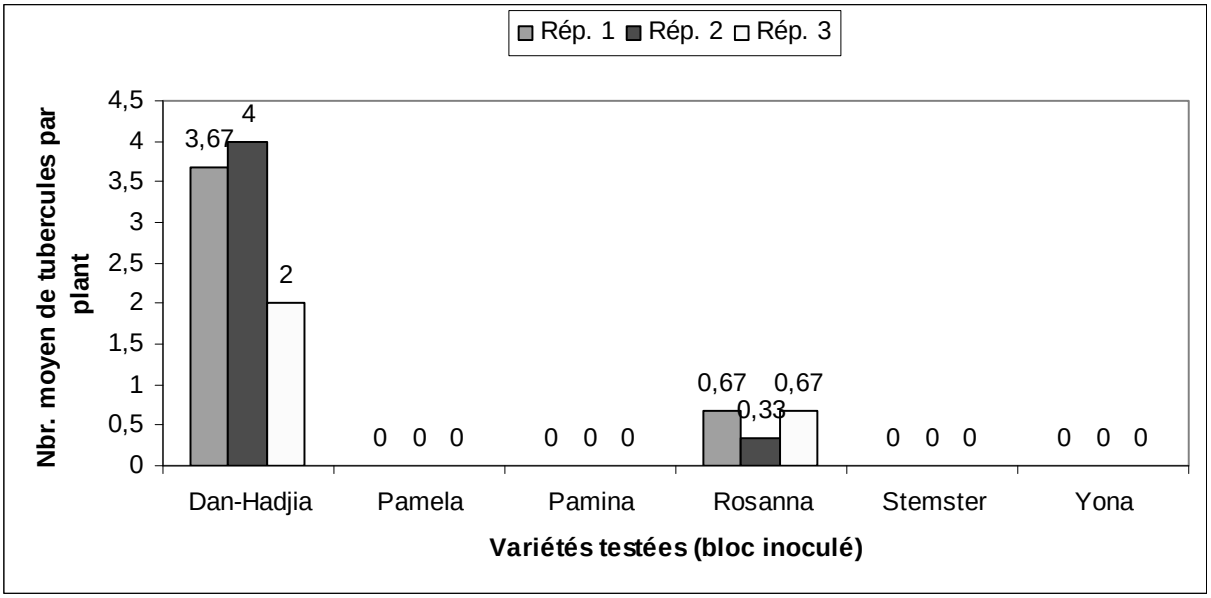


Figure 16 : Histogramme du nombre moyen de tubercules fils produits par les plants des 6 variétés étudiées au niveau des parcelles du bloc inoculé.

Les dommages dus au flétrissement bactérien ont empêché toute production chez les variétés Pamela, Pamina, Stemster et Yona. L'analyse des variances (ANOVA) indique une différence significative au seuil de 5% ($p<0,0001$) entre les 6 variétés d'une part et entre les parcelles du bloc non inoculé et celles du bloc inoculé. Il existe aussi une différence significative selon le test de LEVENE de comparaison des variances de k échantillons au seuil de 5% ($p<0,0001$).

3.5.2. Effet du flétrissement bactérien sur les caractères biométriques (diamètres moyens) des tubercules fils

Les figures 17 et 18 présentent les diamètres moyens de tubercules fils produits par les plants des 6 variétés étudiées au niveau des trois répétitions, respectivement dans le bloc non- inoculé et inoculé à la date J79.

Sur la figure 17, les plus grands diamètres moyens se retrouvent au niveau des variétés certifiés avec respectivement 28,6 mm pour la deuxième répétition de la variété Yona, 28,6 mm pour la deuxième répétition de la variété Pamina et 28,4 mm pour la première répétition de la variété Rosanna.

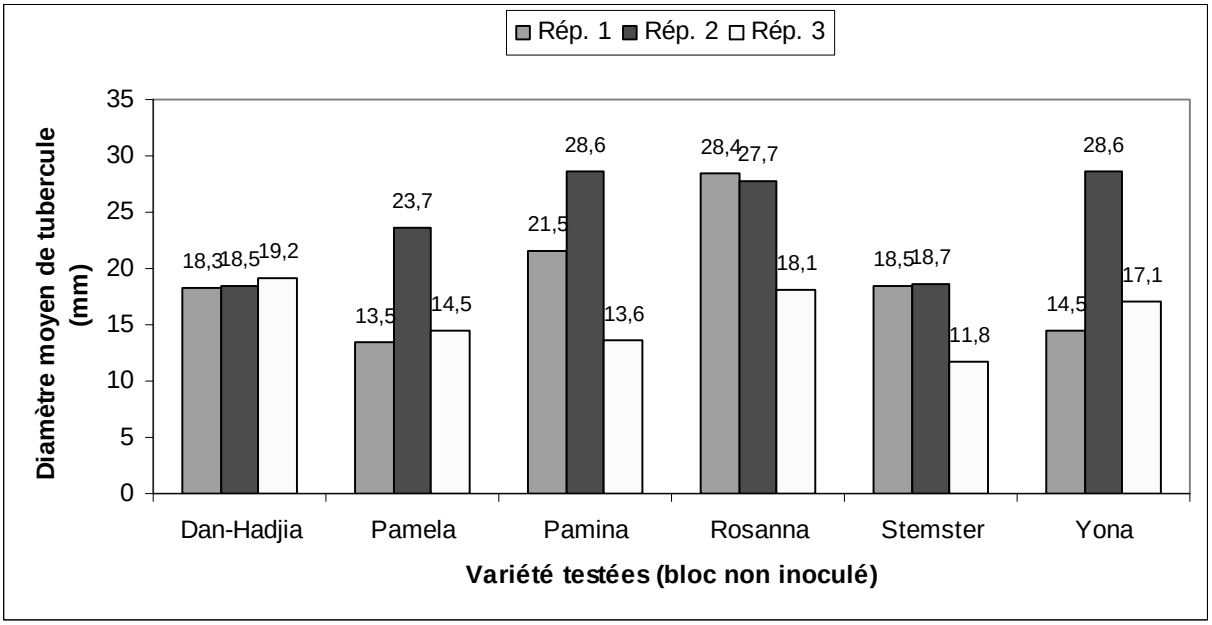


Figure 17 : Histogramme de l'effet du flétrissement bactérien sur le diamètre moyen des tubercules fils chez les plants des parcelles non inoculées.

Dans le bloc inoculé (Figure 18), le plus grand diamètre moyen de tubercule pour la variété Dan-Hadjia est retrouvé au niveau de la première répétition. Il est de 27,7 mm contre 10,2 mm de diamètre moyen au niveau de la deuxième répétition de la variété Rosanna. L'analyse des variances (ANOVA) indique une différence significative au seuil de 5% ($p<0,0001$) entre les 6 variétés.

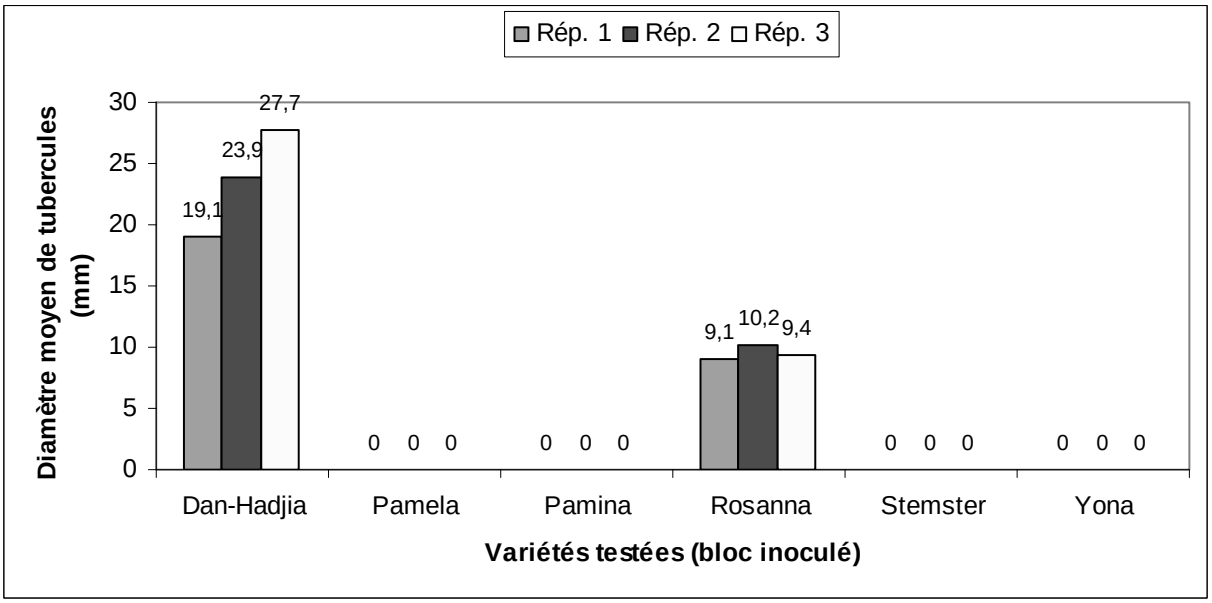


Figure 18 : Histogramme de l'effet du flétrissement bactérien sur le diamètre moyen des tubercules fils chez les plants des parcelles inoculées.

L'influence du flétrissement bactérien sur le diamètre moyen des tubercules a été plus sensible chez la variété Rosanna avec une réduction de plus de 50% de la taille des tubercules
Du bloc inoculé par rapport à ceux obtenus dans le bloc témoins. Pour les variétés très affectées comme Pamela, Pamina, Stemster et Yona, il a été constaté une inhibition du développement et le dépérissement et la mort des plants avant la maturité entraînant une absence de production.

3.5.3. Effet du flétrissement bactérien sur le poids des tubercules fils

Les figures 19 et 20 présentent les poids moyens de tubercules fils produits par les plants des 6 variétés étudiées au niveau des trois répétitions, respectivement dans le bloc non inoculé et inoculé à la date J79.

Les plus gros tubercules sont produits par les plants de la seconde répétition chez les six variétés du bloc non inoculé (Figure 19). Il est noté 18,33 grammes (g) pour la variété Dan-Hadjia, 11,86 g pour la variété Pamina, 12,69 g chez la variété Rosanna. La répétition 1 vient en second avec une moyenne de 12,92 g chez la variété Pamina. Le meilleur poids moyen de la répétition 3 a été pesé au niveau de la variété Dan-Hadjia. Il est de 9,91 g.

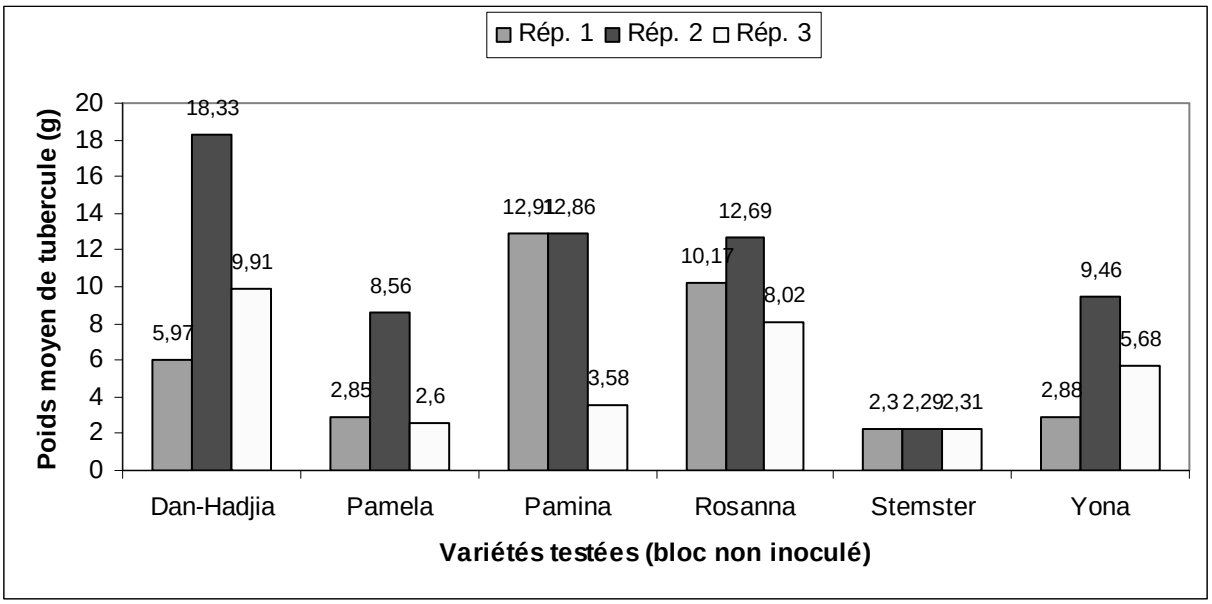


Figure 19 : Histogramme de l'évolution du flétrissement bactérien sur le poids moyen des tubercules fils chez les plants des parcelles non inoculées.

Au niveau du bloc inoculé (Figure 20), le poids moyen chez la variété Dan-Hadjia est de 11,26 g pour la première répétition, une valeur supérieure à celle correspondante au niveau du bloc non inoculé. Il est observé 6,91 g pour la seconde répétition et 9,02 g pour la troisième répétition.

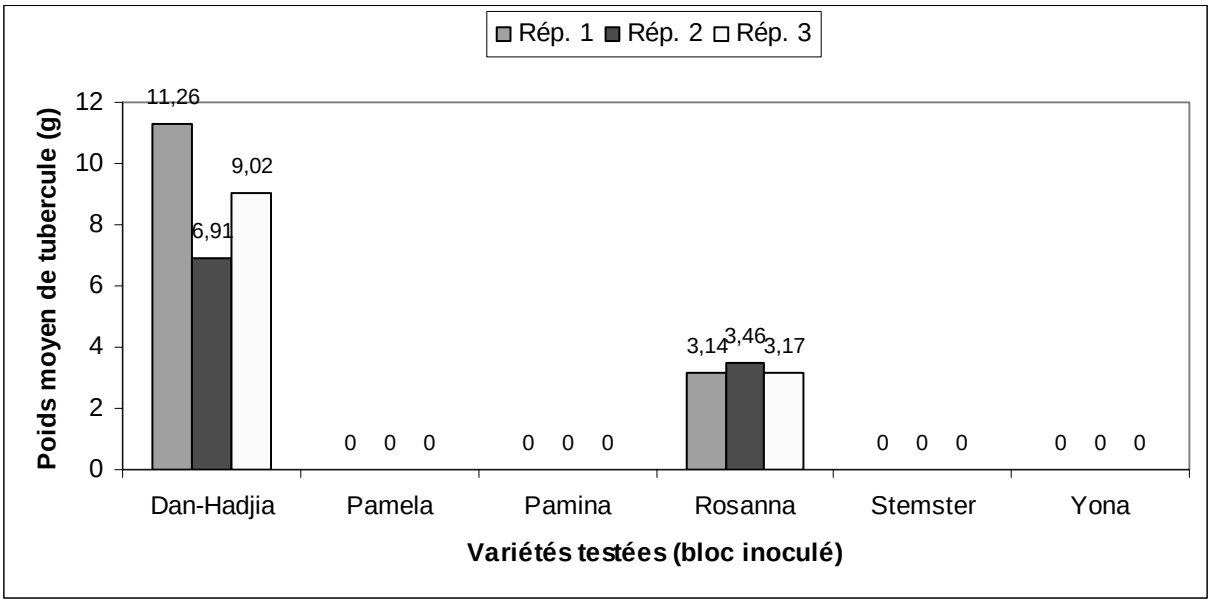


Figure 20 : Histogramme de l'évolution du flétrissement bactérien sur le poids moyen des tubercules fils chez les plants des parcelles inoculées.

Chez la variété Rosanna les poids moyens observés sont 3 à 4 fois inférieurs à ceux observés au niveau du bloc non inoculé. Ils sont respectivement de 3,14 g pour la première répétition, 3,46 g pour la seconde répétition et 3,17 g pour la troisième répétition. Il existe une différence significative au seuil de 5% ($p<0,0001$) entre les 6 variétés. Il existe aussi une différence significative selon le test de LEVENE de comparaison des variances de k échantillons au seuil de 5% ($p<0,0001$) et une valeur crique ($F = 3,147$).

4. DISCUSSION

L'indice de maladie (IMr) :

L'incidence de la maladie calculée selon la formule de WINSTEAD et KELMAN (1952) donne respectivement 42,86% et 38,05% pour les variétés Pamela et Pamina à la date 30 jours après plantation comme indiqué dans le tableau 22. Ces deux variétés sont considérées comme étant les plus sensibles. Elles sont suivies par la variété Stemster avec 19,05% et la variété Yona avec 14,29%. La variété locale

Dan-Hadjia qui est habituellement le réservoir de la maladie n'est atteinte qu'à 9,02% juste derrière la variété Rosanna avec 4,76%. Ces deux dernières variétés semblent avoir toléré la maladie, en particulier la variété locale Dan-Hadjia. Ces résultats se rapprochent de ceux de LOPES *et al.* (2006) selon lesquels une variété est dite résistante lorsque sa performance est stable au cours de l'année et ne dépasse guerre 10% d'incidence de flétrissement bactérien.

Dans une autre étude de l'incidence de *Ralstonia solanacearum* sur arachide en Ouganda, BUSOLO-BULAFU (1997) considère une variété ayant un taux d'incidence du flétrissement bactérien inférieur à 10% comme étant peu sensible. Entre 11 et 20% la variété est dite modérément résistante. Par ailleurs, WANG *et al.* (1997a) considèrent une variété avec une note de 11% d'incidence, comme étant à haut degré de résistance. A partir de 57% d'incidence la variété est dite à résistance intermédiaire. Elle est caractérisée de très sensible à partir de 90% d'incidence. Enfin, PETER *et al.* (2006) considèrent la variété indienne d'aubergine comme résistante avec 5,36% de flétrissement bactérien.

Tableau 22 : Comportement des six variétés du bloc inoculé à la date de 30 jours après la plantation (JAP)

Variété	**Incidence moyenne A 30 JAP (%)**	**Classe de résistance**
Dan-Hadjia	9,52	Tolérante
Pamela	42,86	Très sensible
Pamina	38,09	Très sensible
Rosanna	4,76	Tolérante
Stemster	19,05	Sensible
Yona	14,29	Sensible

Le comportement des six variétés testées indique que la variété locale Dan-Hadjia et la Rosanna ont exprimé un certain degré de tolérance au flétrissement bactérien avec 33,33% de plants ayant survécu à l'inoculation avec la souche Rs-09-76 à la fin du test à 79 jours après plantation (79JAP) comme rapporté au tableau 23. La variété Yona est qualifiée de sensible avec 11, 11%. Quant aux variétés Pamela, Pamina et Stemster avec 0,0% de plants ayant survécu à la fin de l'expérience, elles sont considérées comme étant très sensibles. Nos observations confirment celles de WANG *et al.* (1997b) qui apprécient la résistance au flétrissement bactérien par les estimations en % de plantes ayant survécu à la fin de l'essai.

Tableau 23 : Comportement des six variétés en fin d'évaluation de l'essai

Variété	**Pourcentage de plantes ayant survécu à la fin de l'essai J79. (%)**	**Classe de sensibilité au flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*)**
Dan-Hadjia	33,33	**Tolérante**
Pamela	0	Très sensible
Pamina	0	Très sensible
Rosanna	33,33	**Tolérante**
Stemster	0	Très sensible
Yona	11,11	Sensible

Il est communément admis que la résistance contre *Ralstonia solanacearum* est de type polygénique (WANG *et al.,* 1997b ; DESLANDES *et al.,* 1997). De ce fait, le meilleur moyen de contrôle du flétrissement bactérien est la recherche de variétés résistantes. Mais GRIMSLEY et HANSON (1997) ont remarqué que la résistance de type monogénique est plus facilement contournée par les différentes souches de *Ralstonia solanacearum*. Enfin, LEBEAU *et al.*, (2010) ont testé 12 souches de *Ralstonia solanacearum* appartenant aux phylotypes I, II et III sur 30 différentes variétés de tomate, d'aubergine et de piment. Ils conclurent que, chez la tomate, certaines souches de *Ralstonia solanacearum* contournent toutes les sources de résistance testées. A l'inverse, les souches les plus virulentes de *R. solanacearum* sont contrôlées par au moins une source de résistance chez l'aubergine ou le piment. Selon lui, le piment est l'espèce qui montre le plus de cas d'infection latente. Des résultats similaires ont été obtenus par CELLIER et PRIOR (2010) au cours de leurs travaux sur la diversité génétique, phylogénétique et discernement du pouvoir pathogène sur Solanacées des souches de *Ralstonia solanacearum*.

5. CONCLUSION PARTIELLE

Le flétrissement bactérien est causé par un complexe de souches de *Ralstonia solanacearum* qui s'attaquent à plus de 400 espèces végétales sur tous les cinq continents. La difficulté majeure pour la sélection variétale pour la résistance au flétrissement bactérien réside dans la grande variabilité et la plasticité génotypique et phénotypique de l'agent pathogène. La faible effectivité des stratégies classiques de lutte chimique, agronomique et biologique de contrôle efficace de ce pathogène en évolution constante oriente la recherche vers l'obtention de génotypes résistants ou tolérants. Les succès enregistrés au niveau des espèces de Solanacées semblent avoir un caractère régional ou en rapport avec

les conditions climatiques. L'importance socio–économique croissante de la culture de la pomme dans les productions maraîchères et la réduction de la pauvreté dans les campagnes nigériennes semble menacée par le développent d'épidémies de flétrissement bactérien dans les régions du Sud. Les résultats de ce test de comportement de six variétés de pomme de terre face à une souche locale de *R. solanacearum* constituent une base d'éléments de décision dans la gestion rationnelle de cette maladie bactérienne. Au regard des résultats obtenus, on peut sans réserve conseiller aux producteurs nigériens la variété Rosanna suivie de la variété locale Dan-Hadjia pour leur bon comportement en terme de survie vis-à-vis de la maladie et leur bon potentiel de production malgré l'infection, dans les conditions locales de l'essai. Par contre, il faudrait éviter la variété Pamela, la plus sensible ainsi que la variété Pamina qui ont toutes deux démontré un nombre élevé de plants morts avant le stade de floraison (44 JAP). La variété Dan-Hadjia s'est révélée être aussi la variété la plus précoce des 6 variétés. Elle est suivie des variétés Pamela, Pamina, Rosanna et Yona. La variété Stemster est plutôt tardive. Or, plus le cycle est court, plus les charges relatives à l'irrigation et à l'entretient sont réduites. Ce critère peut être déterminant dans le choix des variétés en région sahélienne.

CHAPITRE II :

VERIFICATION DE L'IDENTITE DE LA SOUCHE Rs-09-76 DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* INOCULEE ARTIFICIELLEMENT PAR DES TESTS BIOCHIMIQUES ET MOLECULAIRES

1. INTRODUCTION

La vérification de l'authenticité de la souche autochtone Rs-09-76 de *Ralstonia solanacearum*, inoculée aux six variétés testées se fait avec certitudes à travers des tests moléculaires. Il s'agit d'une souche autochtone isolée en 2009 sur un plant malade de pomme de terre de la variété Dan-Hadjia de la localité de Bonkoukou à environ 150 km au nord de Niamey. Les résultats de sa caractérisation au laboratoire de l'INRA en France précise qu'il s'agit d'une souche appartenant au phylotype III, Biovar 2 et biotype 2T présente en région tropicale.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. MATERIEL

2.1.1. Matériel de laboratoire

Sept amorces sont utilisées dans les tests d'amplification d'ADN bactériens. Le tableau 24 présente les séquences respectives des amorces.

Tableau 24 : Amorces nécessaires aux tests PCR OPINA et multiplexe

Amorce	Séquence (5' 3')	Phylotype	Taille de l'amplicon lorsqu'il est apparié à l'amorce Nmult : 22 :RR
Nmult : 21 :1F	CGTTGATGAGGCGCGCAATTT	I (Asiaticum)	144 pb
Nmult : 21 :2F	AAGTTATGGACGGTGGAAGTC	II (Americanum)	372 pb
Nmult : 23 :AF*	ATTAC**S**AGAGCAATCGAAAGATT	III (Africain)	91 pb
Nmult : 22 :InF	ATTGCCAAGACGAGAGAAGTA	IV (Tropical)	213 pb
Nmult : 22 :RR	TCGCTTGACCCTATAACGAGTA	Tout Phylotype	Non applicable (amorce reverse)
759 R	GTCGCCGTCAACTCACTTTCC	*Ralstonia*	280 pb (marqueur interne)
760 F	GTCGCCGTCAGCAATGCGGAATCG		

* S = G ou C (Source : FEGAN et PRIOR, 2005).

Un thermocycleur à 96 tubes de 25 µl est utilisé pour effectuer les réactions en chaîne par la polymérase. 30 cycles ont été complétés. Chaque cycle comprend une phase de dénaturation : 0 à 1 minute à 95°C, une phase d'hybridation ou d'appariement des amorces : 2 à 60 secondes à 56-64°C, enfin une phase d'élongation : 4 à 120 secondes à 72°C.

2.1.2. Matériel végétal

Il s'agit des tubercules récoltés sur les plants des variétés certifiées Pamela, Pamina, Rosanna, Stemster et Yona obtenues de GERMICOPA et de la variété locale Dan Hadjia au niveau des échantillons des blocs inoculé et non inoculé de l'essai de comportement réalisé à Kollo.

2.1.3. La souche bactérienne

La souche bactérienne impliquée est la même que celle qui a été utilisée lors de l'inoculation des plants de semences des six variétés de pomme de terre éprouvées dans le test de comportement vis-à-vis du flétrissement bactérien. Il s'agit de la souche Rs-09-76 appartenant au phylotype III, biovar 2, biotype 2T. Elle a été isolée à partir d'échantillons de racine et de tige de pomme de terre, principalement sur le cultivar local Dan-Hadjia dans les localités de Bonkoukou, Alkama et Ballayara. La souche virulente est livrée en solution dans un milieu de culture et remise en culture à Niamey.

2.2. METHODES

2.2.1. L'inoculation des fragments de tubercules de semences

L'inoculum utilisé est issu de la culture de la souche Rs-09-76 de *Ralstonia solanacearum* à 28°C +/-2°C pendant 48 h sur milieu LPGA (Levure Peptone Glucose Agar), composé de 7.0 g d'Extrait de levure, 7.0 g de Peptone, 7.0 g de Glucose et 15 g d'Agar mélangés dans un litre d'eau distillée. La technique d'inoculation retenue est le trempage des fragments de tubercules de semence prégermés dans 500 ml de la suspension bactérienne pendant 30 minutes juste avant plantation. La concentration de l'inoculum est de $2,5x10^9$ cellules/ml.

2.2.2. La préparation des échantillons

Il s'agit d'échantillons de tubercules fils prélevés sur les trois (3) plants retenus par parcelle élémentaire. Chaque échantillon est soigneusement déballé, examiné visuellement, les symptômes notés et photographiés. Il est utilisé une nouvelle paire de gants pour la manipulation de chaque échantillon. L'échantillon est lavé à l'eau du robinet pour éliminer les particules de sol et de matière organique. Il est ensuite désinfecté avec de l'éthanol 95° puis séché sur du papier absorbant à même la paillasse pendant une nuit. La peau de chaque tubercule est enlevée au moyen d'un scalpel muni d'une lame stérile juste au niveau du stolon. Un cône est découpé des tissus vasculaires. Les cônes de tous les tubercules d'un même échantillon sont mis dans un pot muni de couvercle et préalablement identifié.
Les cônes de chaque pot échantillon sont recouverts avec un volume suffisant (3 à 5 ml) de tampon d'extraction PB 0,05 1X et placé sur un agitateur rotatif (50 tours/minute) pendant 4 heures à une température de 27 °C. Les macérats ou bouillons de cellules bactériennes et végétales en suspension dans le tampon d'extraction sont ainsi obtenus.
A l'aide d'une pipette de précision, 500 µl de macérât sont prélevés et déposés dans des tubes Eppendorf stériles de 2 ml, préalablement marqués aux références des échantillons. Les tubes sont centrifugés à 13.000 rpm pendant 10 minutes et le surnageant est jeté sans déranger le culot. L'ensemble des culots sont stockés à – 20°C au congélateur en attendant l'extraction des ADN

2.2.3. La caractérisation moléculaire de confirmation de la souche de *Ralstonia solanacearum* Rs-09-76 à partir des plants inoculés

Il s'agira de confirmer que c'est bien la souche inoculée qui a été à la base des symptômes observés les plants malades dans l'essai. La caractérisation est faite grâce aux tests moléculaires par amplification enzymatique de l'ADN bactérien extrait du culot obtenu après centrifugation des macérats.

2.2.3.1. L'extraction d'ADN bactérien

Chaque culot est suspendu à nouveau dans 500 µl de TEN contenant 4 mg / ml de Lysozyme puis incubé à la température ambiante pendant 1 h. Il est ajouté 30 µl de SDS 10% et 5 µl de Protéinase K à 20 mg/ml à chaque tube avant de les incuber à 37°C pendant 2 h. En suite, 100 µl de NaCL 5M sont ajoutés par tube et bien homogénéisés avant l'addition de 80 µl de CTAB / NaCL et incubés à 65°C pendant 10 minutes. Il est rajouté un volume égal (soit 800 µl environ) de Chloroforme

alcool Isoamylique (24 vol. / vol.), puis les tubes sont centrifugés à 13000 rpm pendant 30 minutes. On récupère délicatement le surnageant (500 à 600 µl) dans de nouveaux tubes. Il faut y ajouter 1,2 ml d'Ethanol absolu glacial et remettre au congélateur (- 20°C) pendant au moins 30 minutes. Centrifuger à nouveau les tubes pendant 20 minutes à 13000 rpm, 10°C et éliminer le surnageant. Le culot récupéré est rincé avec 1 ml d'Ethanol à 70%, centrifugé à nouveau puis séché sur la paillasse toute une nuit. 100 µl d'eau ultra pure stérile sont utilisés pour suspendre les culots d'ADN bactérien.

2.2.3.2. Les réactions en chaîne par la polymérase (PCR)

Des dosages d'ADN sont effectués afin d'obtenir des échantillons de travail calibrés à la concentration 20 - 25 ng/µl. La procédure consiste à calculer la concentration d'ADN en comparant l'intensité de la bande de l'échantillon à une échelle de l'intensité des bandes du marqueur qui varie de 55 ng/µl à 10 ng/µl.

La formule consacrée est :

$$\text{Concentration d'ADN} = \frac{\text{Intensité estimée (ng/µl)}}{\text{Volume d'ADN déposé (µl)}} \text{ X Facteur de dilution}$$

Deux techniques ont été utilisées. La PCR Phylotype OPINA a pour but de détecter la présence de la bactérie *R. solanacearum* dans les macérats tandis que la PCR Phylotype Multiplex permet de séparer les différents phylotypes *R. solanacearum*.

La préparation du mélange la PCR (Mix PCR) pour l'une ou l'autre des techniques est faite après détermination du nombre total d'échantillons à traiter aux concentrations 10^0 et 10^{-1} et des témoins positifs et négatifs. Le mélange PCR Phylotype « *Ralstonia* » contient 2,5 µl de Tampon 10 X ; 2,0 µl de Mg CL_2 ; 4,0 µl de dNTP ; 0,25 µl de l'Amorce 759 ; 0,25 µl de l'Amorce 760 ; 1,25 µl de DMSO ; 0,07 µl de la Taq polymérase ; 11,68 µl d'eau ultra pure et 3,0 µl d'ADN (SEAL *et al*., 1993 ; OPINA *et al.*, 1997).

Quant au mélange PCR phylotype Multiplex, il se compose de 2,5 µl de Tampon 10 X ; 2,0 µl de Mg CL_2 ; 4,0 µl de dNTP ; 2,5 µl de Primer Mix ; 1,25 µl de DMSO ; 0,07 µl de la Taq polymérase ; 9,68 µl d'eau ultra pure et 3,0 µl d'ADN (POUSSIER *et al.*, 1999 ; POUSSIER *et al.*, 2000). Le volume total du mélange par tube est de 25 µl pour chacune des techniques.

Le thermocycleur est réglé sur 96 tubes de 25 µl et 30 cycles. Chaque cycle comprend une phase de dénaturation d'une durée de 0 à 1 minute à 95°C, une phase d'hybridation ou d'appariement des amorces de 2 à 60 secondes à 56-64°C, enfin une phase d'élongation de 4 à 120 secondes à 72°C.

Le gel de migration est obtenu en mélangeant 1,5 g d'Agarose à 100 ml de tampon TBE 1X dans un Erlenmeyer de 500 ml. Le mélange est dissout au four à micro-ondes en 2 minutes et 30 secondes. Le refroidissement a lieu sous un jet d'eau fraîche de robinet. Le mélange est coulé sur la plaque préalablement préparée avec des peignes correspondants au nombre de puits souhaités. La solidification du gel survient en 20 minutes. Huit microlitres de Bleu d'Evans sont ajoutés à chaque échantillon à l'aide d'une pipette de précision, puis homogénéisés au vortex environ 1 seconde. Le gel solidifié est placé dans un bac de migration contenant une solution tampon TBE 0,5X. Il est déposé 10 µl de solution du Marqueur de taille de migration de 100 pb (paires de bases), dans le 1er et le dernier puits. 12 µl d'ADN marqué (produit PCR + bleu d'Evans), sont déposés par puits.

Le bac d'électrophorèse est relié par deux bornes (positive et négative), à un générateur réglé pour dispenser 90 volts et cela pendant 40 minutes. A la fin de l'opération, le gel est retiré de la solution tampon et lu en chambre noire sous rayonnement Ultra violet (UV) en mode transluminance, vidéo inverse pour révéler les bandes de migration et enregistrer les clichés pour exploitation ultérieure.

2.2.4. La technique d'isolement de nouveau de *Ralstonia solanacearum* à partir des plants inoculés

Il s'agira de confirmer que c'est bien la souche inoculée qui a été à la base des manques de levée et des symptômes observés sur les plants malades au cours du développement végétatif. 100 µl d'un macérat de cônes de tubercules de pommes de terre lacérés dans 10 ml de tampon d'extraction ou de l'eau permutée stérile sont étalés par boîte de Pétri contenant environ 20 ml de milieu d'isolement Triphenyl Tetrazolium Chloride (TZC) de KELMAN (1954). Le milieu de base contenant 1 g de Casamino acid, 10 g de Peptone, 10 g de Glucose et 18 g de Agar, par litre d'eau distillée. Le mélange dissout est réparti en bouteilles de 200 ml puis autoclavé à 121°C pendant 21 minutes. Le milieu de culture est obtenu en ajoutant 5 ml de la solution de stock TZC à 1 litre de milieu de base à 55°C, ce qui donne une concentration finale de 0.005% de TZC. Les cultures sont incubées à 28°C pendant 72 heures. Les colonies typiques sont purifiées par repiquage sur milieu LPGA (7 g d'Extrait de levure, 7 g de Peptone, 7 g de Glucose et 15 g de Agar mélangés dans un litre d'eau distillée). Les souches pures ainsi produites servent à la réalisation des tests biochimiques, moléculaires et sérologiques afin de déterminer les phylotypes, biovars et biotypes correspondants.

3. RESULTATS

3.1. Les résultats sur les tests PCR de confirmation de la souche Rs-09-76 de *R. solanacearum* dans les macérats des échantillons de plants malades

La comparaison de l'intensité des bandes de migration des échantillons représentés par leurs numéros d'ordre sur la photo 14 aux standards de l'IRD permet d'estimer la valeur de cette intensité indiquée dans la quatrième colonne du tableau 21. A titre d'exemple l'échantillon n°1 a une bande d'intensité égale à 120 ng/µl. La bande d'intensité de l'échantillon n°4 n'étant pas perceptible est notée 0,0 ng/µl. Pour cet échantillon n°4, il sera utilisé la solution mère et à défaut une nouvelle extraction est recommandée. L'échantillon n°14 a une bande d'intensité égale à 75 ng/µl. La valeur de l'intensité de la bande détermine les rapports du mélange entre la solution mère de l'ADN bactérien et l'eau ultra pure afin d'obtenir une solution d'ADN concentrée d'environ 25 ng/µl (dernière colonne du tableau) pour parfaire la PCR.

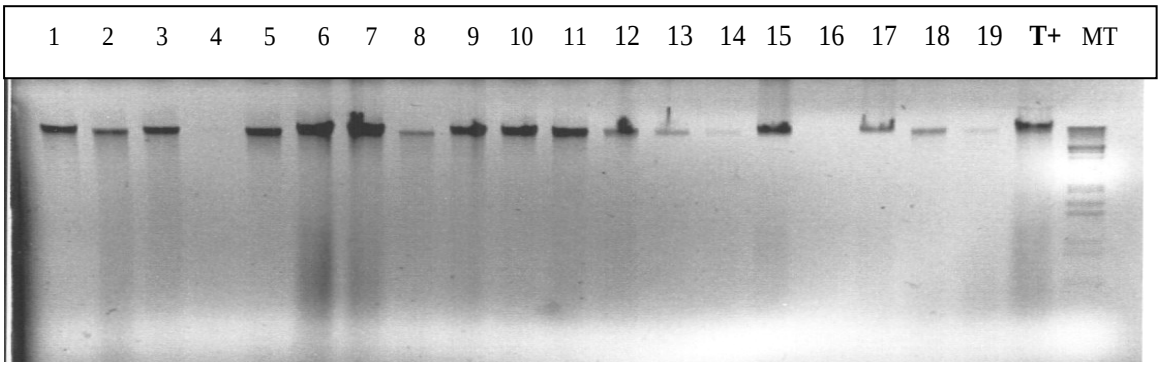


Photo 14 : Gel du dosage des ADN de quelques échantillons. (photo : Issa ADAMOU)

Tous les échantillons testés ont signalé une importante concentration d'ADN à l'exception des entrées des puits numéros 4 et 16. L'épaisseur du trait et l'intensité dans les nuances du gris permettent une meilleure estimation de la concentration de l'ADN en nanogrammes par microlitre de préparation PCR. Il faut noter que la quantité totale d'ADN obtenue représente le cumule des ADN d'origine bactérienne et végétale.

Les résultats des estimations des volumes de solutions d'ADN et d'eau ultrapure permettant d'obtenir une concentration finale de 25 ng/µl et de l'intensité des bandes sont rapportés au tableau 25.

Tableau 25 : Estimation de l'intensité des bandes de dosage des ADN de quelques macérats et ajustement de leur concentration à 25 ng/µl.

N°	Variété	Code	Intensité estimée de la bande (ng/µl)	Volume total de l'échantillon (100 µl)		Concentration finale ADN échantillon (25 ng/µl)
				Volume ADN échantillon (µl)	Volume Eau ultra pure (µl)	
1	Dan-Hadjia	DH 13i	120	20,83	79,17	25
2	Dan-Hadjia	DH 22i	75	33,33	66,67	25
3	Dan-Hadjia	DH 23i	75	33,33	66,67	25
4	Dan-Hadjia	DH 32i	00	25	00	25
5	Dan-Hadjia	DH 33i	120	20,83	79,17	25
6	Rosanna	RA 11i	75	33,33	66,67	25
7	Rosanna	RA 12i	100	25	75	25
8	Rosanna	RA 13i	100	25	75	25
9	Rosanna	RA 21i	100	25	75	25
10	Rosanna	RA 22i	100	25	75	25
11	Rosanna	RA 23i	100	25	75	25
12	Rosanna	RA 31i	100	25	75	25
13	Rosanna	RA 32i	100	25	75	25
14	Rosanna	RS 33i	75	33,33	66,67	25
15	Dan-Hadjia	DH 11n	100	25	75	25
16	Dan-Hadjia	DH 12n	75	33,33	66,67	25
17	Dan-Hadjia	DH 21n	100	25	75	25
18	Dan-Hadjia	DH 22n	50	50	50	25
19	Dan-Hadjia	DH 23n	100	25	75	25
20	Dan-Hadjia	DH 31n	50	50	50	25
21	Dan-Hadjia	DH 32n	150	16,67	83,33	25
22	Témoins (+)	RS09-12	50	50	50	25
23	Témoins (+)	RS09-76	50	50	50	25
24	Témoins (-)	T-	0	0	100	25

Les résultats de ce test de dosage des ADN des différents échantillons permettent d'ajuster avec précision les concentrations finales de tous les échantillons à 25 nanogrammes d'ADN par microlitre (ng/µl) de préparation PCR.

3.1.1. Les tests de réaction en chaîne par la polymérase (PCR), avec les amorces 759 et 760 spécifiques de l'espèce *Ralstonia solanacearum*

Les résultats des tests biochimiques (isolements sur milieux TZC et LPGA) et moléculaires ont permis d'isoler et de révéler la souche Rs-09-76 sur les plants inoculés des 6 variétés. La photo 15 présente les résultats du test PCR *Ralstonia solanacearum* avec les amorces 759 et 760. La présence de la bande de migration des ADN à 280 pb est caractéristique de l'espèce *Ralstonia solanacearum*. Tous les échantillons indiqués sur la photo 15 et le témoin positif en l'occurrence une souche pure Rs-09-76 se sont révélés positifs à l'exception des échantillons 2, 4 et 5.

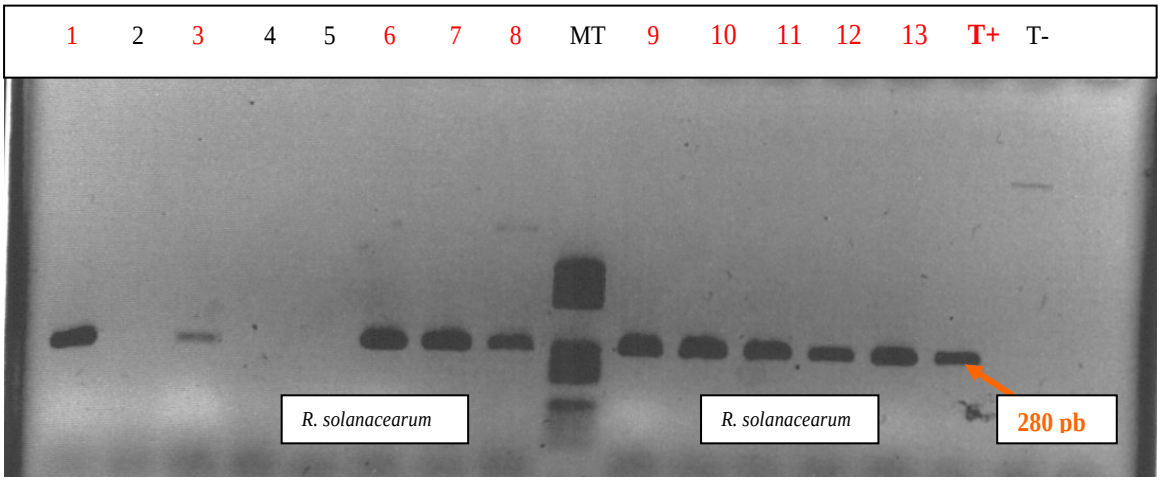


Photo 15 : Gel de migration des ADN des échantillons contaminés par la souche Rs 09-76 selon la technique de la PCR Phylotype 759 / 760.

Tous les échantillons qui ont réagi positivement à la PCR utilisant les amorces 759/760 sont soumis au test de la PCR Multiplexe afin d'identifier leur phylotype. La photo 16 présente les bandes de migration (91 pb et 280 pb) caractéristiques du phylotype III de *R. solanacearum* pour les échantillons de la variété Dan-Hadjia.

3.1.2. Les tests de migration PCR Phylotype Multiplex spécifique aux différents phylotypes de *Ralstonia solanacearum*

Les résultats du test PCR Multiplexe de *Ralstonia solanacearum* sont caractérisés par la présence de deux bandes de migration superposées. Une des bandes est celle spécifique de l'espèce *Ralstonia solanacearum* et est toujours située en position 280 pb. La seconde est située soit au dessus, soit en dessous selon le phylotype. Tous les échantillons numérotés de 1 à 9 ainsi que le témoin positif

(la souche Rs-O9-76) appartiennent au phylotype III caractérisé par une deuxième bande en dessous, à la position 91 pb. Les échantillons positifs sont issus des plants du bloc inoculé avec la souche Rs-O9-76 chez la variété Rosanna. Les autres proviennent du bloc non inoculé de la même variété.

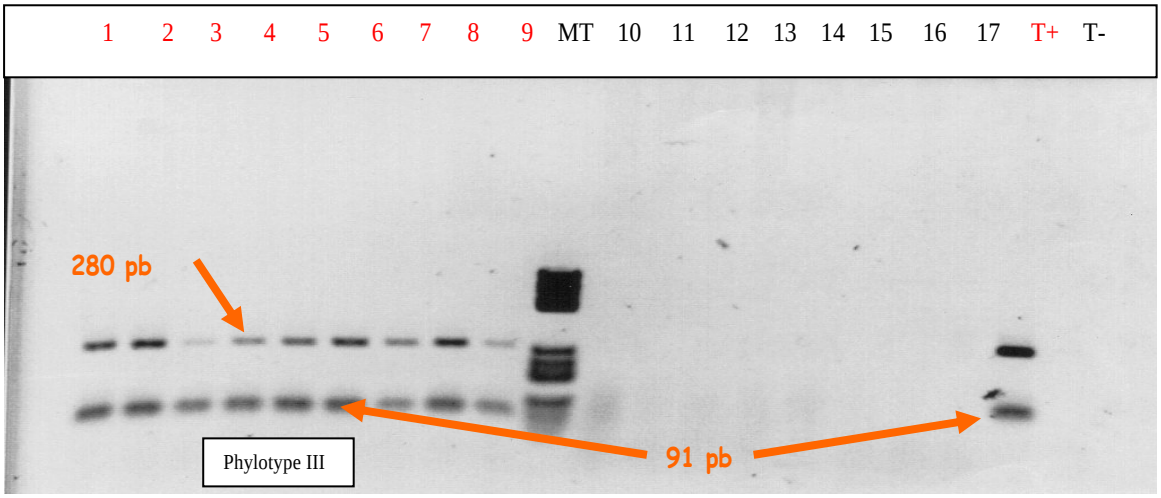


Photo 16 : Résultats de la PCR Phylotype sur les macérats de la variété Rosanna inoculé (RA11i à RA 33i représentés par les numéros 1 à 9) à gauche et Rosanna non inoculé (RA11n à RA 33n soit les numéros 10 à 17) à droite.

Les résultats de la PCR phylotype de la variété locale Dan-Hadjia sont indiqués sur la photo 17. Seuls les échantillons 3 et 6, le témoin positif (la souche Rs-O9-76) ont présenté la bande à amplicon de 91 pb spécifique du phylotype III de *Ralstonia solanacearum*. Les échantillons positifs sont issus des plants du bloc inoculé avec la souche Rs-O9-76 chez la variété Dan-Hadjia. Les échantillons 1, 2, 4, 5, 7, 8 et 9 se sont révélés négatifs bien qu'ayant été inoculés avec la souche Rs-09-76. Les échantillons 10 à 17 provenant du bloc non inoculé de la même variété locale sont tous négatifs.

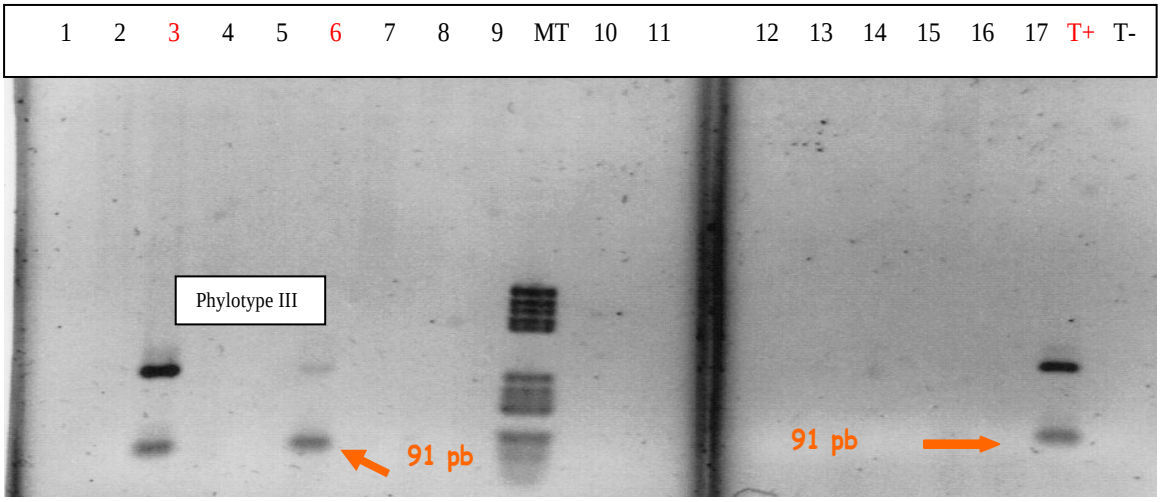


Photo 17 : Gel de migration de la PCR Phylotype pour les macérats de la variété Dan-Hadjia inoculé (D-H11i à D-H 33i) à gauche et Dan-Hadjia non inoculé (R-H11n à D-H 33n) à droite.

Sur la partie droite du gel seul le témoin positif (T+) a présenté une bande spécifique de la souche Rs 09-76. Tous les échantillons issus des plants du bloc non inoculé (numéros 12 à 17) sont PCR négatifs. Dans la partie de gauche, seuls les échantillons numérotés 3 et 6 ont révélé la présence de *Ralstonia* dans les macérats testés. Par contre les échantillons numéros 1, 2, 4, 5, 7 et 8 prélevés dans le bloc inoculé n'ont pas montré une réaction PCR positive malgré le trempage des plants de semences dans la solution inoculante pendant 30 minutes.

L'ensemble des résultats des analyses moléculaires (PCR 759/760 et Phylotypes multiplexe) sont présentés dans le tableau 26. Dans ce tableau, il ressort que tous les échantillons issus du bloc non inoculé des six variétés ont réagi négativement aux deux tests PCR. Pour ce qui est des échantillons du bloc inoculé, tous les tests des variétés Pamela, Pamina, Rosanna, Stemster et Yona ont été positifs. Pour la variété locale Dan-Hadjia 7 échantillons sur les 9 inoculés se sont révélés négatifs.

Tableau 26 : Ensemble des résultats PCR effectuées avec les amorces 759/760 et Phylotype multiplexe utilisant un complexe de sept amorces

N°	Variété	Code	Résultats des tests PCR	
			Amorces 759/760	Multiplexe Phylotype
1	Dan-Hadjia	D-H11i	-	-
2	Dan-Hadjia	D-H12i	+	**III**
3	Dan-Hadjia	D-H13i	-	-
4	Dan-Hadjia	D-H21i	-	-
5	Dan-Hadjia	D-H22i	+	**III**
6	Dan-Hadjia	D-H23i	-	-
7	Dan-Hadjia	D-H31i	-	-
8	Dan-Hadjia	D-H32i	-	-
9	Dan-Hadjia	D-H33i	-	-
10	Dan-Hadjia	D-H11n	-	-
11	Dan-Hadjia	D-H12n	-	-
12	Dan-Hadjia	D-H13n	-	-
13	Dan-Hadjia	D-H21n	-	-
14	Dan-Hadjia	D-H22n	-	-
15	Dan-Hadjia	D-H23n	-	-
16	Dan-Hadjia	D-H31n	-	-
17	Dan-Hadjia	D-H32n	-	-
18	Dan-Hadjia	D-H33n	-	-
19	Pamela	PA 11n	-	-
20	Pamela	PA 12n	-	-
21	Pamela	PA 13n	-	-
22	Pamela	PA 21n	-	-
23	Pamela	PA 22n	-	-
24	Pamela	PA 23n	-	-
25	Pamela	PA 31n	-	-
26	Pamela	PA 32n	-	-
27	Pamina	PI 11n	-	-
28	Pamina	PI 12n	-	-
29	Pamina	PI 13n	-	-
30	Pamina	PI 21n	-	-
31	Pamina	PI 22n	-	-
32	Pamina	PI 23n	-	-
33	Pamina	PI 31n	-	-
34	Pamina	PI 32n	-	-
35	Pamina	PI 33n	-	-
36	Rosanna	PI 11i	+	**III**
37	Rosanna	PI 12i	+	**III**
38	Rosanna	PI 13i	+	**III**
39	Rosanna	PI 21i	+	**III**
40	Rosanna	PI 22i	+	**III**
41	Rosanna	PI 23i	+	**III**
42	Rosanna	PI 31i	+	**III**
43	Rosanna	PI 32i	+	**III**

44	Rosanna	PI 33i	+	**III**
45	Rosanna	PI 11n	-	-
46	Rosanna	PI 12n	-	-
47	Rosanna	PI 13n	-	-
48	Rosanna	PI 21n	-	-
49	Rosanna	PI 22n	-	-
50	Rosanna	PI 23n	-	-
51	Rosanna	PI 31n	-	-
52	Rosanna	PI 32n	-	-
53	Rosanna	PI 33n	-	-
54	Stemster	PI 11n	-	-
55	Stemster	PI 12n	-	-
56	Stemster	PI 13n	-	-
57	Stemster	PI 21n	-	-
58	Stemster	PI 22n	-	-
59	Stemster	PI 23n	-	-
60	Stemster	PI 31n	-	-
61	Stemster	PI 32n	-	-
62	Stemster	PI 33n	-	-
63	Yona	PI 11i	+	**III**
64	Yona	PI 12i	+	**III**
65	Yona	PI 13i	+	**III**
66	Yona	PI 21i	+	**III**
67	Yona	PI 22i	+	**III**
68	Yona	PI 23i	+	**III**
69	Yona	PI 31i	+	**III**
70	Yona	PI 32i	+	**III**
71	Yona	PI 33i	+	**III**
72	Yona	PI 11n	-	-
73	Yona	PI 12n	-	-
74	Yona	PI 13n	-	-
75	Yona	PI 21n	-	-
76	Yona	PI 22n	-	-
77	Yona	PI 23n	-	-
78	Yona	PI 31n	-	-
79	Yona	PI 32n	-	-
80	Yona	PI 33n	-	-
81	Indéterminée	Rs09-06	+	**III**
82	Yona	Rs09-12	+	**II**
83	Dan-Hadjia	Rs09-76	+	**III**

4. DISCUSSION

Les résultats des analyses moléculaires effectuées avec les amorces 759/760 et la PCR Phylotypes multiplexe ont fait ressortir deux aspects. Premièrement, tous les échantillons issus des parcelles du bloc non inoculé se sont révélés négatifs pour les deux tests, démontant l'absence de tubercule portant une infection latente aussi bien chez les variétés importées d'Europe que chez la variété locale. Deuxièmement, les PCR ont été positifs pour les échantillons du bloc inoculé, pour les variétés Pamela, Pamina, Rosanna, Stemster et Yona et globalement négatifs pour la variété locale Dan-Hadjia malgré le trempage de 30 minutes dans la solution de l'inoculum à la quelle tous les tubercules de semences destinés à ce bloc ont été soumis. Nos observations se rapprochent des conclusions de LEROUX-NIO *et al.* (2008) selon lesquelles le taux de contamination latente de la descendance d'une culture de pomme de terre infectée par *Ralstonia solanacearum* pouvait atteindre 30% à la récolte. Pour MARCO *et al.* (2005) et DESLANDES *et al.* (1997), il existe une grande variabilité dans les interactions du complexe de souches *Ralstonia solanacearum* et sa gamme d'hôtes ; l'importance des conditions environnementales qui influencent ces interactions et la complexité des mécanismes impliqués dans ce pathosystème caractérisé par la faiblesse des résistances de type gène pour gène fragilisent la stabilité des variétés résistantes.

Tous les échantillons utilisés dans ces tests moléculaires sont issus de tubercules fils issus des plants sélectionnés dans les parcelles du bloc inoculé avec la souche Rs-09-76. Les résultats positifs des tests PCR effectués sur les tubercules fils prouvent qu'ils étaient porteurs d'une infection latente puisqu'ils ne présentent pas de symptômes apparents. Ces observations confirment ceux de KINYUA *et al.* (2006) qui ont démontré qu'un plant malade issu d'un tubercule infecté de manière latente pouvait transmettre la maladie aux autres plantes saines situées dans un rayon de 60 cm autour de lui. Plus récemment, LEROUX-NIO *et al.* (2008) ont démontré que des tubercules certifiés sains par des tests sérologiques d'Immunofluorescence et moléculaires (PCR) pouvaient produire une descendance contaminée 11% et 8% après respectivement une et deux années de multiplication. Par contre, PRIOU *et al.* (2006) affirment que le CIP a mis au point des variétés de pomme de terre ayant un bon potentiel de production en sol fortement infesté par *Ralstonia solanacearum* dans les années 90; mais la pluspart de ces génotypes présentaient une infection latente au niveau des tubercules fils ce qui demeurent toujours un risque de dispersion de la maladie. Au terme de leurs études, ils conclurent qu'en réalité aucun niveau satisfaisant de résistance ne pouvait être obtenu chez la pomme de terre car tous les génotypes présentent une infection latente des tubercules susceptible de conduire à une épidémie lorsque ceux-ci sont plantés. Par conséquent, la latence tend à être un caractère négligeable en matière de sélection

variétale vis-à-vis de *Ralstonia solanacearum* surtout lorsqu'elle est associée à une absence de symptômes extérieurs de flétrissement.

5. CONCLUSION PARTIELLE

Les tests PCR effectués directement sur les macérats de cônes de tubercules fils récoltés sur des plants issus de semences contaminées artificiellement ont produit de bons résultats. L'isolement et la purification de la souche inoculée au champ à partir des tubercules sur milieu TZC et LPGA se sont révélés assez aisés. Les résultats PCR négatifs des échantillons issus du bloc non inoculé dénotent du bon suivi technique de l'essai par le paysan exploitant la parcelle choisie. Chez les variétés Pamela, Pamina, Rosanna Stemster et Yona, tous les échantillons collectés sur les plants du bloc inoculé ont donné des bandes de forte intensité lors du test de dosage des ADN ainsi qu'une réaction positive au niveau des tests PCR avec les amorces 759/760 et PCR phylotype multiplexe. De son côté, la variété locale Dan-Hadjia s'est bien comportée à travers ses caractéristiques particulières notamment sa précocité, son faible taux d'attaque de flétrissement bactérien, ses bonnes dispositions en termes de nombre de tubercules fils produits par plant. Les résultats des tests moléculaires semblent démontrer un phénomène d'échappement de la maladie par ce génotype assez mal connu car certains échantillons issus de plants inoculés n'ont pas réagi positivement à ces tests. Il serait intéressant d'approfondir les connaissances sur les caractères génétiques et agronomiques de ce cultivar en vue de son amélioration étant donné l'engouement dont elle fait l'objet chez les producteurs nigériens de pomme de terre.

CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES

Le flétrissement bactérien qui sévit sur les Solanacées au Niger a été signalé dès le début des années 80 par les maraîchers des régions d'Agadez, Diffa Tillabéri, Dosso et Zinder. Malgré l'insuffisance des connaissances sur la biologie et l'épidémiologie de la maladie, les techniciens préconisaient l'arrachage des premiers plants malades et la réduction des volumes des sources d'azote. La méconnaissance de la transmission de la bactérie par les tubercules de pomme de terre infectés et l'association ou l'alternance entre Solanacées a accentué les pertes de rendement et les pollutions des terres à travers les échanges de plantules entre les maraîchers.

Les premières études effectuées au Niger sur *Ralstonia solanacearum* ont été réalisées avec une souche de la race 3, biovar 1, originaire du Mali. Les travaux de prospection et de caractérisation de souches locales présentés dans les différents chapitres de la deuxième partie de cette thèse nous apprennent que *Ralstonia solanacearum* est rencontrée principalement sur la pomme de terre au Niger. La tomate est son second hôte. Les autres Solanacées (Aubergine, Piment, Poivron) semblent plutôt épargnées de la maladie. Les sites maraîchers des régions du sud, situés entre les altitudes de 150 et 300 mètres et caractérisés par des températures minimales plus élevées, des sols sableux et fortement arrosés par aspersion à partir du fleuve ou de nappes phréatiques peu profondes, présentent les plus forts taux de flétrissement bactérien. Par contre, la région d'Agadez située au Nord, entre 800 et 1546 mètres d'altitudes est caractérisée par un climat saharien, une pluviométrie moyenne annuelle de 71 mm, un sol argilo sableux, une irrigation gravitaire qui ne mouille pas le feuillage des plantes, avec une eau puisée à plus de 30 mètres de profondeur. Les températures sont basses la nuit (19,8 °C), dans cette zone de cultures oasiennes et le taux moyen d'attaque du flétrissement bactérien est inférieur à 2%.

L'étude de la diversité génétique au sein des souches de *Ralstonia solanacearum* isolées du Niger, révèle que parmi les 46 souches de *Ralstonia solanacearum*, collectées au cours de l'année 2007, le phylotype II était apparu dominant, particulièrement sur la pomme de terre. Le phylotype I avait été identifié uniquement sur tomate. Les macérats oxydés de parties d'autres Solanacées (aubergine, poivron) présentant des symptômes apparents de flétrissement lors des collectes, n'avaient pas réagi positivement aux tests en laboratoire. Des travaux plus avancés, réalisés en 2009 sur 139 échantillons ont permis d'isoler, d'identifier et de caractériser du point de vue biochimique, sérologique et moléculaire, 26 souches appartenant à trois des quatre phylotypes reconnus à travers le monde. Il s'agit des phylotypes I, II et III.

Le phylotype II (biovar 2A), ayant un amplicon de 372 pb, est retrouvé essentiellement sur des plants de pomme de terre. Le biovar 2A est le plus répandu au Niger et se situe sur un gradient d'altitudes allant de 184 m (zone sahélienne), à 1546 m (zone saharienne).

Le phylotype III (biovar 2T), à amplicon de 91 pb, est aussi retrouvé principalement sur des plants de pomme de terre. Il suit de près le phylotype 2A.

Le phylotype I (biovar 3) a un amplicon de 144 pb, est aussi inféodé à la pomme de terre. Il est retrouvé à Kollo sur la rive gauche du fleuve Niger à 184 mètres d'altitude.

Le caractère complexe de *Ralstonia solanacearum* et la faible effectivité des stratégies classiques de lutte nous ont orientés vers la recherche de génotypes résistants ou tolérants au sein des variétés de pomme de terre présentes au Niger, étant donné l'importance socio–économique acquise de plus en plus par cette culture. Les travaux concernant ces objectifs sont développés dans la troisième partie du document.

L'inoculation artificielle des fragments de plants de semences est réalisée par trempage dans un inoculum préparé avec la souche Rs-09-76 de *Ralstonia solanacearum*. Les fragments de plants de semences de cinq variétés certifiées importées d'Europe (Pamela, Pamina, Désirée, Stemster et Yona) et d'un cultivar local dénommé Dan-Hadjia ont été artificiellement contaminés avec l'inoculum préparé à partir de la culture sur milieu LPGA liquide de la souche Rs-09-76 de *Ralstonia solanacearum* isolée et caractérisée au cours des travaux précédents. La variété Rosanna et la variété locale Dan-Hadjia ont présenté les plus faibles taux d'attaques dans les parcelles du bloc inoculé à la différence des variétés Pamina et surtout Pamela qui exhibe près de 43% de taux d'attaque à un mois après plantation. Au cours de la dernière semaine de l'essai (entre J72 et J79) les variétés Pamela, Pamina et Stemster présentaient un taux de 100 % de flétrissement bactérien. La variété Yona et la variété Rosanna ont enregistré des taux de maladie respectifs de 88,89 % et 83,61%. La variété locale Dan-Hadjia est la seule qui présente un taux de maladie de 66,67% à la fin de l'expérimentation. Elle a également montré des signes de précocité par rapport aux 5 autres variétés.

De l'ensemble des résultats de nos travaux, il ressort que *Ralstonia solanacearum* existe bel en bien au Niger. Il existe même une certaine diversité du complexe des espèces de *R. solanacearum* avec la présence des phylotypes I, II et III ; des biovars 3 et 2 ainsi que les biotypes 2A et 2T. Deux principales zones agroclimatiques sont retrouvées au Niger. La zone saharienne située dans la partie septentrionale du pays caractérisée par des sols argilo sableux, des altitudes élevées (800 à 1600 mètres) et des températures nocturnes basses, semble peu favorable au développement d'épidémies foudroyantes de pourriture brune. Par contre, le Sud présente des sols sableux portant une nappe phréatique affleurante, des altitudes faibles (150 et 300 mètres) ainsi que des températures nocturnes

proches de l'optimum de développement de la bactérie, se sont révélés très propices à la survenue d'épidémie dévastatrices.

Les tentatives de recherches de méthodes efficaces de contrôle de la maladie ont permi de conduire un test de comportement variétal sous inoculation artificielle. Les résultats encourageants obtenus dans les conditions environnementales de réalisation de l'essai ont permis de conseiller aux producteurs nigériens, l'utilisation de la variété Rosanna suivie de la locale Dan-Hadjia pour leur bon comportement en termes de survie vis-à-vis de la maladie et leur bon potentiel de production malgré l'infection. Par contre, il faudrait éviter les variétés Pamela et Pamina.

La variété Rosanna possède un tubercule à peau rouge, chaire ferme ainsi qu'une forte proportion de tubercules de gros calibre qui se conservent bien. Il s'agit là, d'autant de facteurs socio-économiques qui font de cette variété la préférée des maraîchers et consommateurs nigériens.

La variété Dan-Hadjia est surtout recherchée à cause de sa constante disponibilité en début de saison des cultures maraîchères ainsi que son exceptionnelle précocité, car elle est le plus souvent récoltée entre 70 et 90 jours de cycle cultural. Du coup, les producteurs de ce cultivar peuvent bénéficier des prix de primeur.

Au regard de tout ce qui précède, nous pouvons affirmer en toute modestie avoir atteint les principaux objectifs que nous nous sommes fixés au début de la présente étude, à savoir :

- Faire l'inventaire du flétrissement bactérien dû à *Ralstonia solanacearum* dans les principales zones de productions maraîchères du Niger ;
- Caractériser les souches de *Ralstonia solanacearum* rencontrées au Niger sur la pomme de terre et les autres solanacées ;
- Identifier des variétés de pomme de terre résistantes à *Ralstonia solanacearum* parmi celles cultivées au Niger.

Les présents travaux réalisés sur le flétrissement bactérien de la pomme de terre et des Solanacées ont ainsi permis l'identification et la caractérisation de souches locales de *Ralstonia solanacearum* pour la première fois au Niger. Ils constituent un socle sur lequel pourront reposer de nombreuses recherches vu le caractère complexe des espèces de *Ralstonia solanacearum* et leur évolution constante face au nombre de plus en plus croissant d'espèces végétales exploitées.

Au Niger, de nombreuses espèces horticoles cultivées comme le Jaxatou, la courge, le tabac et quelques mauvaises herbes ont montré des symptômes de flétrissement typiques et un suintement positif du test

du verre d'eau mais les tests moléculaires réalisés plusieurs mois plus tard en Europe, se sont révélés négatifs. Il apparaît dès lors nécessaire de rechercher un test de diagnostic rapide, efficace et peu onéreux, réalisable au champ sur les échantillons frais. Ainsi, une étude aussi exhaustive que possible de la gamme d'hôtes de *Ralstonia solanacearum* présents au Niger et la dispersion de la maladie au sein des populations de plantes hôtes devrait être envisagée.

Par ailleurs, les taux élevés de flétrissement bactérien constatés dans les régions du Sud semblaient positivement reliés au type d'irrigation par aspersion avec des eaux de surface. Une étude épidémiologique du pouvoir pathogène des eaux d'irrigation permettrait d'identifier les éventuels réservoirs d'inoculum et poser les jalons d'une lutte intégrée efficace.

Enfin, au regard du bon comportement agronomique de la variété locale Dan-Hadjia dans les différents tests, il nous apparaît intéressant de recommander à la recherche d'entreprendre des travaux de caractérisation génétique sur cette variété prometteuse.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADAM, T., 1996. Maladies parasitaires des plantes à tubercules cultivées au Niger (Manioc, Patate douce, Pomme de terre). Rapport de consultation. INRAN, PCI, CERRA, B.P.: 10.960, Niamey, 48p.

ADAMOU, I., 2007. Contrôle de la qualité des semences de pomme de terre produites au cours de la période de contre-saison 2006-2007, en préparation de l'opération de multiplication des semences en hivernage 2007 par la réintroduction des semenceaux produits dans la zone du Bagzane. Rapport de mission, Représentation FAO au Niger, B.P.: 11.155, Niamey, 19p.

ADAMOU I., LE ROUX A-C., ADAM T., ANDRIVON D., SANKARA P., JOUAN B et NDIAYE M., 2007. Incidence du flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* E. F. SMITH sur solanacées au Niger et détermination des phylotypes impliqués. 03 B.P.: 7047 Ouagadougou 03. Poster, présenté à l'atelier CORUS, Dakar, Université Check Anta Diop (UCAD), du 2 au 12 novembre 2007, Sénégal, 1p.

ADAMOU I., ADAM T., SIDIKOU R. S. D., SANKARA P. et JOUAN B., 2009. Etude de l'incidence du flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* (E. F. SMITH) YABUUCHI *et al.* au champ, sur pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) et d'autres solanacées au Niger. 03 B.P.: 7047 Ouagadougou 03. *Annales de l'Université Abdou Moumouni* de Niamey, Niger, pp. 87-97.

ADDINSOFT, 2007. XLSTAT-Pro :Manuel de l'utilisateur. Paris, France, pp 596.

ALVAREZ A. M., 2005. Diversity and diagnosis of *Ralstonia solanacearum*. In: Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. C. ALLEN, P. PRIOR, and A. C. HAYWARD (Eds.), *The American phytopathological society*, ISBN: 0-89054-329-1, pp. 437-447.

ANONYME, **1993.** Arcview GIS 3.2a (2). LizardTech Inc., 39 p.

ANONYME, **1998.** Council Directive 98/57/EC of 20 July 1998 on the control of *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al*. Off. J. Eur. Communities L235/1, 74 p.

ANONYME, 1999. Arrêté du 11 février 1999 relatif à la lutte contre *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Journal Officiel de la République française (JORF / LD), AGRG9900326A.html, 26 p.

ANONYME, 2002. *Ralstonia solanacearum* GMI 1000, MOLK 2 et 1609. Projet : Séquençage aléatoire global. Site du Génoscope, 3p.

ANONYME, 2008a. Maladies et ravageurs de la pomme de terre : Pourriture brune *Ralstonia solanacearum*. INRA, Rennes- Service communication, Juin 2008, 2p.

ANONYME, 2008b. Maladies, ravageurs et désordres de la pomme de terre : Guide pratique. FNPPPT, GNIS, ARVALIS, (édits.), Septembre 2008, 192p.

ANONYME, 2010. La pomme de terre. *Wikipédia*, Téléchargé le 29/03/2010, 30 p.

ASSOUMANE A., 2006. Communication personnelle, Chambre Régionale d'Agriculture de Tillabéri, B.P. : 686, Tillabéri, Niger.

ATEKA, E. M., MWANG'OMBE, A.W. AND KIMENJU, J.W., 2001. Reaction of potato cultivars to *Ralstonia solanacearum* in Kenya. *African crop science journal*, Vol. 9, N°1, 251-256.

BONNEL E., 2008. Les progrès réalisés dans la sélection de la pomme de terre et perspectives. In : La pomme de terre-Recherche pour une production de qualité. 7 Février 2008, Changins-Nyon, Confédération Suisse, pp. 3-4.

BREITENMOSER S., THORIMBERT M. et SCHAUB L., 2008. Nématodes à kystes de la pomme de terre. In : La pomme de terre-Recherche pour une production de qualité. 7 Février 2008, Changins-Nyon, Confédération Suisse, [Poster], pp. 54.

BUDDENHAGEN I. W. et KELMAN A., 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol*. Vol. 2, pp. 294-230.

BUDDENHAGEN I. W. SEQUEIRA L. et KELMAN A., 1962. Designation of races of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*. Vol. 52, pp. 726.

BURR T. J. and NORELLI J.L., 1990. Antibiotics. In: *Methods in phytopathology*. Z. KLEMENT R., RUDOLPH and D.C. SANDS (edit.), AKADEMIAI KIADO, pp. 327-331.

BUSOLO-BULAFU C. M., 1997. Resistance to bacterial wilt in Uganda. In: *Bacterial wilt disease, Molecular and ecological aspects*. Ph. PRIOR, C. ALLEN and J. ELPHINSTONE (edit.), Gosier, Guadeloupe, France, 22-27 June 1997, pp. 306-308.

CARUSO P., PALOMOJ.L., BERTOLINI E., ALVAREZ B., LÓPEZ M.M., and BIOSCA E.G., 2004. Seasonal variation of *Ralstonia solanacearum* Biovar 2 populations in a Spanish river: Recovery of stressed cells at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol*., Vol. 71 N°1, pp. 140–148.

CELLIER G. et PRIOR P., 2010. Diversité génétique, phylogénétique et discernement du pouvoir pathogène sur Solanacées des souches de *Ralstonia solanacearum*: [Résumé]. IN : 9èmes rencontres plantes-bactéries, 18-22 janvier 2010, Paris, AUSSOIS, France, p 39.

CIP-CGIAR, 2008. The odyssey of the potato (L'odyssée de la pomme de terre). 24/04/2006, 24 p.

CLEMENT J-M. 1981. *Larousse agricole*. Librairie Larousse, Paris, ISBN 2-03-514301-2, 1208 p.

CORUS-NIGER, 2006. Rapport technique à mi-parcours du Projet de recherche sur les problèmes parasitaires de la culture de pomme de terre au Niger, Décembre, 2006, Niamey, 21 p.

COOK D. R. and SEQUEIRA L., 1988. The use of restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in taxonomy and diagnosis. ACIAR *Bacterial Wilt Newsletter*, N° 4, pp. 4.

COOK D. R., BARLOW E. and SEQUEIRA L., 1989. Genetic diversity of *Pseudomonas solanacearum* : Detection of restriction fragment length polymorphism with DNA probes that specify virulence and the hyperse,sitive response. *Molecular plant-Microbe Interaction*, N° 2, pp. 113-121.

COOK D. & SEQUEIRA L., 1994. Strain differenciation of *Pseudomonas solanacearum* by molecular genetics methods. IN: Bacterial wilt: the disease and it's causative agent, *Pseudomonas solanacearum*, Edited by A. C. HAYWARD &G. L. HARTMAN, Wallingford, UK, CAB International. pp. 77-93.

COUPAT B., GUIDOT A., FALL S., PRIOR P., NESME X., et BERTOLLA F., 2008. Transformation naturelle dans le complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* : détection d'évènements de transferts multiples d'ADN et d'ADN de grande taille. In : AUSSOIS 2008, 8èmes rencontres plantes-bactéries. INRAN, Angers, du 14 – 18/01/2008, p. 13.

CRAMER H. H., 1967. Plant protection and world crop production. Bayer Pflanzenschutz-Nachr, pp. 524.

DALLAIRE C., 2008. Les agents pathogènes (*Streptomyces* et *Spongospora*) responsables des gales que l'on retrouve chez la pomme de terre. Laboratoire de diagnostic en phytoprotection, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), Canada, pp. 8.

DEBERDT P. and PRIOR P., 1999. Analyse de la résistance au flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum* -Race1) gouvernée par le chromosome 6 chez la tomate. Thèse de Doctorat : Biol. Des populations et écol. : Montpellier 2. Résumé N°047115351.

DESLANDES L., PILEUR F., LIAUBET L., CAMUT S., BEYNON J., ARLAT M. and MARCO Y., 1997. Identification and mapping of RRS1, a single recessive locus in *Arabidopsis thaliana* that confers resistance to *Ralstonia solanacearum*. In: *Bacterial wilt disease, Molecular and ecological aspects*. Ph. PRIOR, C. ALLEN and J. ELPHINSTONE (edit.), Gosier, Guadeloupe, France, 22-27 June 1997, pp. 205-254.

DIRK VAN ELSAS, J., KASTELEIN, P., VAN BEKKUM, P., VAN DER WOLF, J-M., DE VRIES, P.M. AND VAN OVERBEEK, L. S., 2000. Survival of *Ralstonia solanacearum* biovar 2, the causative agent of potato brown rot, in field on microcosm soils in temperate climates. *Phytopathology*, Vol. 90, N°12, 1358-1366.

ELPHINSTONE J.G., HENNESSY J., WILSON J.K. and STEAD D.E., 1996. Sensitivity of different methods for the detection of *Ralstonia solanacearum* in potato tuber extracts. *Bull. OEPP*, Vol. 26, pp. 663-678.

ELPHINSTONE J.G., PARKINSON N. M., TOMLINSON D.L., BEW J. and STANFORD H., 2006. Ecology and management of the *Ralstonia solanacearum* Phylotype II, séquévars 1 strain, pandemic on potato. In: *The 4th bacterial wilt symposium, The Lakeside Conference Center, Central Science Laboratory, York, U.K. 17th – 20th july 2006*., pp. 43.

ENGLEBRECHT, M. C., 1994. Modification of a semi-selective medium for the isolation and quantification of *Pseudomonas solanacearum*. In: A. C. Hayward (ed.), Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia. *Bacterial Wilt Newsletter*, No. 10, pp. 3-5.

EPPO, 2001. New data on quarantine pests and pests of the EPPO alert list. Reporting service, N° 2, 13 p.

EPPO, 2004. Protocoles de diagnostic pour les organismes réglémentés ''*Ralstonia solanacearum*'' PM 7/21. *Bulletin OEPP*, Vol. 34, 173-178.

EPPO, 2005. Fiche informative sur les organismes de quarantaine ''*Ralstonia solanacearum*''. CABI/OEPP/UE Contrat 90/399003. pp 1.

FAO, 2008. *Année internationale de la pomme de terre*: Eclairage sur un trésor enfoui. Compte rendu de fin d'année. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, Rome, ISBN : 978-92-5-306142-7, 148 p.

FAOSTAT, 2007. Le monde de la pomme de terre: Production et consummation. Année Internationale de la pomme de terre 2008, FAO, Rome, 3 p.

FEGAN M. and PRIOR P., 2005. How complex is the ''*Ralstonia solanacearum* species complex''. In: Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. C. ALLEN, P. PRIOR, and A. C. HAYWARD (Eds.), *The American phytopathological society*, pp. 449-461.

GILDEMACHER P.R., KINYUA Z. M., WAKAHIU M. and PRIOU S., 2006. Integrated management of bacterial wilt in potato in the East African highlands. In: *The 4th bacterial wilt symposium, The Lakeside Conference Center, Central Science Laboratory, York, U.K. 17th – 20th july 2006*., pp. 44.

GILLIANO H. et RÜEGGER A., 2008. Qualité des plants sous haute surveillance. In : La pomme de terre-Recherche pour une production de qualité. 7 Février 2008, Changins-Nyon, Confédération Suisse, pp. 25-28.

GIRARD H., ROUGIEUX R. et LEMOIGNE M., 1967. Techniques de microbiologie agricole. DUNOD (2ème Edit.), 205 p.

GOTH R. W., 1983. Effect of root knot nematode on bacterial wilt of tomato. Abstract, *Phytopathology*, Vol. 73 N°6, p. 966.

GRANADA and SEQUEIRA, 1981a. A selective medium for *Pseudomonas solanacearum*. Abstract, *Phytopathology*, Vol. 71 N°2, p. 220.

GRANADA G. A. and SEQUEIRA L., 1981b. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in the soil rhizosphere, and plant roots. Abstract, *Phytopathology*, Vol. 71 N°8, p. 877.

GRANADA G. A. and SEQUEIRA L., 1983. A new selective medium for *Pseudomonas solanacearum*. *Plant Disease*, Vol. 67 N°10, pp. 1084-1087.

GRIMSLEY N. and HANSON P., 1997. Genetics of plant resistance to bacterial wilt: Round table report. In: *Bacterial wilt disease, Molecular and ecological aspects*. Ph. PRIOR, C. ALLEN and J. ELPHINSTONE (edit.), Gosier, Guadeloupe, France, 22-27 June 1997, pp. 263-266.

GUGERLI P., 2008. Viroses de la pomme de terre, evolution et diagnostic. In : La pomme de terre-Recherche pour une production de qualité. 7 Février 2008, Changins-Nyon, Confédération Suisse, pp. 13-14.

GUNAWAN, O.S., ABIDIN, Z., BASUKI, R.S., DIMYATI, A., ASGAR, A. AND VAN DE FLIERT, E., 2003. Development of component technologies for control of bacterial wilt in potato. *CIPotato publication*, 16 p.

HAYWARD A. C., 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology* Vol. 27, pp. 265-277.

HAYWARD A. C., 1976. Systematics and relationship of *Pseudomonas solanacearum*, p. 6-21. In: Proceedings of the 1st International Conference and Workshop on the Ecology and Control of Bacterial Wilt Caused by Pseudomonas solanacearum. L. Sequeira and A. Kelman (Edi.), North Carolina State University, Raleigh, N.C.

HAYWARD A. C., 1983. *Pseudomonas solanacearum*: bacterial wilt and moko disease. In: *plant bacterial diseases*. FAHY P. C. and PERSLEY G.J. (edit.), Academic Press, Sydney, Australie, pp. 129-135.

HAYWARD A. C., 1990. Proposal for a quick practical identification. In: *Methods in phytopathology*. Z. KLEMENT R., RUDOLPH and D.C. SANDS (edit.), AKADEMIAI KIADO, pp. 272-274.

HAYWARD A. C., 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology* Vol. 29, pp. 65-87.

HAYWARD A.C., El-NASHAAR H.M., NYDEGGER U. and DE LINDO L. 1990. Variation in nitrate metabolism in biovars of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology*, Vol. 69, pp. 269-280.

HE L. Y., SEQUEIRA L., KELMAN A., 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Disease*, Vol. 67, pp. 1357–1361.

HONG, J., JI, P., MOMOL, M.T., OLSON, S.M. AND JONES, J. B., 2006. Association of *Ralstonia solanacearum* in irrigation ponds and on semi-aquatic weeds in North Florida. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 80.

JEAN C., 2000. Maladies, insectes nuisibles et utiles de la pomme de terre : Guide d'identification. Institut de Recherche et de Développement en Agroenvironnement (IRDA). Sainte-foy, Quebec, pp. 32.

JENKINS S. F. and AVERRE C. W., 1986. Problems ad progress in integrated control of Southern blight of vegetables. *Plant disease*, Vol. 70; N°7,pp. 614-619.

JOUAN B., 2009. La pomme de terre en Afrique subsaharienne : Atouts et contraintes. pp. 16.

JOUAN B., VANDERHOFSTADT B., GUILLERY E. et RIQUIER X., 2003. Projet pour le développement de la culture de la pomme de terre en Afrique de l'Ouest : un exemple de partenariat ONG / Secteur technico-économique. In : Les entreprises face aux enjeux du développement durable, **Karthala** (édit.), pp. 341-358.

KELMAN A. and PERSON L., 1961. Strains of *Ralstonia solanacearum* differing in pathogenicity to tobacco and peanut. *Phytopatholo*. Vol. 51, pp 158-161.

KEMPE J. and SEQUEIRA L., 1983. Biological control of bacterial wilt of potatoes: Attempts to induce resistance by treating tubers with bacteria. *Plant disease*, Vol. 67, N°5, pp. 499-503.

KINYUA Z. M., GILDEMACHER P.R., DEMO. P., PRIOU S. and OTIPA M. J., 2006. Opportunities and challenges of field sanitation in potato bacterial wilt management. In: *The 4th bacterial wilt symposium, The Lakeside Conference Center, Central Science Laboratory, York, U.K. 17th – 20th july 2006*., pp. 48.

KLEMENT Z., RUDOLPH K. and SANDS C., 1990. Methods in phytobacteriology. Akadémiai Kiado, Budapest, 568 pp.

KUMAR A., SARMA Y. R. and ANANDARAJ M., 2004. Evaluation of genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt of ginger using REP-PCR and PCR-RFLP. *Current Science*, Vol. 87, N°11, pp. 1555-1561.

LAWRENCE F. 2004. Regional report of potatoes in Africa. World potato Congres, Durban, South Africa, 19 August, 2004, 14 p.

LEBEAU A., DAUNAYM C., PALLOIX A., WANG J.F., DINTINGER J., CHIROLEU F., WICKER E. et PRIOR P., 2010. Interactions entre le complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* et les ressources génétiques pour la résistance au flétrissement bactérien chez la tomate, l'aubergine et le piment : [Poster]. IN : 9èmes rencontres plantes-bactéries, 18-22 janvier 2010, Paris, AUSSOIS, France, p 75.

LE JEANN, Y., JOUAN, B., JOUAN, M.P. ET RAULT, Y., 2000. Compte rendu de voyage dans la région d'Agadez (Niger), 22 p.

LEMAY, A., REDLIN, S., FOWLER, G. AND DIRANI, M., 2003. Pest data sheet: *Ralstonia solanacearum* Race 3, biovar 2 (Smith) Yabuuchi *et al*., USDA/APHIS/PPQ, 9 p.

Le PENNEC J.P., 1991. Amplification enzymatique *in vitro* de l'ADN: Technique PCR. *Phytoma*, N°430, pp. 23-26.

LEROUX A-C. 1996. Etude de la résistance de variétés et de génotypes de pomme de terre à *Ralstonia solanacearum*, In : Production de réactifs sérologiques pour la détection de *Ralstonia solanacearum*. Rapport d'activités INRA-FNPPPT, pp. 27-31.

LEROUX A-C., 2003. Détection des bactéries *Ralstonia solanacearum* et
Clavibacter michiganensis sepadonicus. Poster, INRA, UMR BiO3P, Rennes, France, 1p.

LEROUX-NIO A.C., HUCHET E. et MORLIERE S., 2008. Evaluation du risque sanitaire lié à la contamination latente de tubercules de pomme de terre par *Ralstonia solanacearum* sur plusieurs années de multiplication. In : AUSSOIS 2008. 8ème rencontres plantes-bactéries 14-18/01/2008. INRA- Centre de recherche d'Angers. Résumé, Plantes-bacteries-AUSSOIS-2008-.pdf, p. 81.

LOPES C. A., LIMA-NETO A.F. and BOITEUX L. S., 2006. Progress in breeding potato for large spectrum bacterial wilt resistance in Brazil. In: *The 4th bacterial wilt symposium, The Lakeside Conference Center, Central Science Laboratory, York, U.K. 17th – 20th july 2006*., pp. 20.

MAAS GEESTERANUS H. P. and STALL R. E., 1990. Examples of eradication methods. In: *Methods in phytopathology*. Z. KLEMENT R., RUDOLPH and D.C. SANDS (edit.), AKADEMIAI KIADO, pp. 307-313.

MAAS GEESTERANUS H. P. and VRUGGINK H., 1990. Methods for phytosanitary measures. In: *Methods in phytopathology*. Z. KLEMENT R., RUDOLPH and D.C. SANDS (edit.), AKADEMIAI KIADO, pp. 307-313.

MACIEL J.L.N., ST VAN DER SAND and DUARTE V., 1997. Incidence of *Ralstonia solanacearum* groups on a single potato field determined by TRNA Consensus primers. Departemto de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, UFRGS, C.P. 776, Porto Alegre, RS 90001-970, Brazil, Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, pp. 77.

MARCO Y., TRIGALET A., VASSE J., OLIVIER J., FENG D. X. and DESLANDES L., 2005. Host resistance to *Ralstonia solanacearum*. In: *Bacterial wilt disease and the* Ralstonia solanacearum *species complex*. C. ALLEN, Ph. PRIOR and A. C. HAYWARD (edit.), pp. 275-283.

MARTIN, C., FRENCH, E.R., 1985. Bacterial wilt of potato *Pseudomonas solanacearum*. Centro international de la papa (CIP), *Bulletin* No 13, Section 2-97,1-8.

MARTIN, C., FRENCH, E.R. AND NYDEGGER, U., 1982. Strains of *Pseudomonas solanacearum* affecting Solanaceae in the Americas. *Plant disease*, Vol. 66, No 6, 458-460.

MAVRIDIS A., RUDOLPH K. and VIDAVER A.,1990. Screening for resistance to wilt diseases. In: *Methods in phytopathology*. Z. KLEMENT R., RUDOLPH and D.C. SANDS (edit.), AKADEMIAI KIADO, pp. 345-349.

MCHUGH, R.C., VAN DE GRAAF, P., DANIAL, J. AND SADDLER, G.S., 2006. *Ralstonia solanacearum* : The risk to the Scottish seed potato industry. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 37.

MDA, 2003a. Synthèse de l'évaluation des productions de racines et tubercules de 1995 à 2003. Direction des Statistiques Agricoles, Ministère du Développement Agricole du Niger, Niamey, pp. 6-17.

MDA, 2003b. *Stratégie de développement rural*. Ministère du Développement Agricole du Niger, Niamey, 56 p.

MDA, 2004. *Rapport annuel*. Direction des Statistiques Agricoles, Ministère du Développement Agricole du Niger, Niamey, pp. 6-17.

MDA, 2008. Résultats de l'enquête sur les produits horticoles 2007-2008. Direction des Statistiques Agricoles, Ministère du Développement Agricole du Niger, Niamey, Septembre 2008, 44 p.

MDA, 2010. Evaluation de la campagne agricole 2009-2010 et Résultats définitifs. Direction des Statistiques Agricoles, Ministère du Développement Agricole du Niger, Niamey, Février 2010, 33 p.

MDR, 1982. *Fiche Technique*. Maladies de la pomme de terre : Flétrissement bactérien. Service de la Protection des Végétaux, Direction de l'Agriculture/Ministère du Développement Rural du Niger, Niamey, 1 p.

MIAN, D., CORANSON BEAUDU, R., GRASSART, L., WICKER, E., GUIBAUD, C. AND PRIOR, P., 2003. *A new* Ralstonia *population affects* Anthurium *plantations and Cucurbitaceous crops in Martinique*. [Abstract] *In*: Proceeding of the 39th Annual meeting on the Caribbean Food crops Society "Food production, marketing, and safety: Strategies for Caribbean Food Society", St George's Grenada, 13-18 july 2003, pp. 173.

MESSIHA, N.A.S., 2006. Bacterial wilt of potato (*Ralstonia solanacearum* Race 3, biovar 2): Disease management, pathogen survival and possible eradication. Ph. D Thesis, Wageningen University, the Netherlands, 151 p.

MURIITHI, L.M.M., 2000. Farmer participation in management of potato wilt in central and eastern Kenya. African potato association conference proceedings, Kampala, Uganda, 29th may – 2nd june 2000, Vol. 5, pp. 361-367.

OCDE, 1997. Consensus document on the biology of Solanum tuberosum subsp; tuberosum (Potato), 38 p.

OERKE E. C. and DEHNE H. W., 2004. Safeguarding protection-losses in major crops and the role of crop protection. *Cropro*, Vol. 23, pp. 275-285.

OKON J.,1990. Methods in agronomy to reduce bacterial diseases. In: *Methods in phytopathology*. Z. KLEMENT R., RUDOLPH and D.C. SANDS (edit.), AKADEMIAI KIADO, pp. 301-306.

OLSON H. A., 2005. *Ralstonia solanacearum*. *In*: Soilborne plant pathogens, pp 728.

OPINA, N., TAVNER F., HOLLOWAY G., WANG J.-F., LI T.-H., MAGHIRANG R., FEGAN M., HAYWARD A. C., KRISHNAPILLAI V., HONG W.F., HOLLOWAY B.W. and TIMMIS J.N., 1997. A novel method for development of species and strain-specific DNA probes and PCR primers for identifying *Burkholderia solanacearum* (formerly *Pseudomonas solanacearum*). As Pac. *J. Mol. Biol. Biotechnol*. Vol. 5, pp. 19-33.

PETER, K.V., SADAN KUMAR P.G. AND MATHEW, S.K., 2006. Stability of resistance to bacterial wilt in eggplant, tomato and chilli. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 97.

PGSC 2009. Potato Genome Sequencing Consortium : Potato genome sequence released by International group of scientists, http://potatogenome.net/CGSC_press_release_0909.pdf, Téléchargé le 11/07/2009, 1p.

PLENER, L., VALLS, M., DELASPRE, F., NIETO-PENALVER, C., VORHOLT, J., BOUCHER, C. AND GENIN, S., 2008. Réseau de régulation des gènes de pathogénicité chez *Ralstonia solanacearum*: signaux, gènes cibles et identification de nouvelles fonctions de virulence. *In*: AUSSOIS 2008, 8ème rencontres plantes-bactéries. 14-18 janvier 2008. INRA (Centre de recherche d'Engers), pp. 5.

POUSSIER, S., 2000. Exploration de la diversité génétique de *Ralstonia solanacearum*, agent du flétrissement bactérien. Détection et dynamique des populations dans les réservoirs d'inoculum. Thèse de doctorat de l'Université de Rennes I, Rennes, France, N° 2443, 149 p.

POUSSIER S. AND LUISETTI P., 2000. Genetic diversity of African and worldwide strains of *Ralstonia solanacearum* as determined by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of the *hrp* gene region. *App. Environ. Microbiol.*, Vol. 65, N° 5, pp. 2184-2194.

POUSSIER S., VANDEWALLE P. and LUISETTI P., 1999. Genetic diversity of African and worldwide strains of *Ralstonia solanacearum* as determined by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of the *hrp* gene region. *App. Environ. Microbiol.*, Vol. 65, N° 5, pp. 2184-2194.

POUSSIER S., TRIGALET-DEMERY D., VANDEWALLE P., GOFFINET B., LUISETTI J. and TRIGALET A., 2000. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* as assessed by PCR-RFLP of the *hrp* gene region. AFLP and 16S rRNA sequence analysis, and identification of an African subdivision. *Microbiol.*, Vol. 146, pp. 1679-1692.

PRASANNA KUMAR, M.K., KHAN, A.N.A., CHANDRASHEKARA, K.N. AND VANI, A., 2006. Studies on the ecology of *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt of tomato. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 99.

PRIOR P., 2003. Analyse du risque phytosanitaire (ARP), Ra ‘‘race 2’’ Moko, INRA, La Réunion, France, pp. 31. BAN-b1.pdf du 15/05/08, 16h 33’ 38’’

PRIOR P. et GUIDOT A., 2005. Epidémiologie des maladies bactériennes et virales. ‘‘Le flétrissement bactérien à *Ralstonia solanacearum* : dynamique et adaptation des populations de pathogènes’’. Rapport annuel, CIRAD, pp. 58-59. protectiondesplantes.pdf du 15/05/2008 16h 33’ 38’’.

PRIOU, S. AND ALEY, P., 2002. Bacterial wilt of potato. International potato center (CIP), Apartado 1558, Lima 12, Peru, 5 p.

PRIOU, S. AND ALEY, P., CHUJOY, E. LEMAGA, B. AND FRENCH, E.R., 1999. Integrated control of Bacterial wilt of potato. International potato center (CIP), Apartado 1558, Lima 12, Peru, pp. 1-30.

PRIOU S. VARGAS M., ALEY P., GUTARRA L. and SALAS A. 2006. Characterization of promising sources of hight levels of resistance to bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* biovar 2A) in wild species of potato. In: *The 4th bacterial wilt symposium, The Lakeside Conference Center, Central Science Laboratory, York, U.K. 17th – 20th july 2006*., pp. 16.

REIDY M. E., 1993. Le Chiendent : Fiche technique. Ministère de l’Agriculture, de l’Alimentation et des Affaires Rurales, pp. 6.

REMENANT B., COUPA-GOUTALAND B., CELLIER G., GUIDOT A., WICKER E., MANGENOT S., BARBE V., MEDIGUE C. et PRIOR P., 2010. Séquençage de trois nouvelles souches du complexe d’espèces *Ralstonia solanacearum*: Pangénome et génomique comparative. [Résumé]. IN : 9èmes rencontres plantes-bactéries, 18-22 janvier 2010, Paris, AUSSOIS, France, p 32.

REYNAUD. B., 2005. Epidémiologie des maladies bactériennes et virales. ‘‘Etude de la dynamique des populations de *Ralstonia solanacearum* dans le but d’orienter les programmes de résistance variétale’’. Rapport annuel, CIRAD, 53 p.

ROUSSEL P., ROBERT Y. et CROSNIER J.C., 1996. La pomme de terre : production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. P. ROUSSEL, Y. ROBERT et J.C. CROSNIER (edit.), INRA Paris, France, ISBN: 2-7380-0676-0, 607 p.

SCHAAD W., 2001. Laboratoty guide for identification of plant bacterial. SCHAAD [Hrsg.].-3, Edit. St. PAUL, Minnesota, 373 p.

SCHAAD, N. W., GAUSH P., POSTNIKOVA E. and FREDERICK R., 2001. On-site one hour PCR diagnosis of bacterial diseases. APS congress, 2001.

SCHROTH M. N. BAHME J. B. C.,1990. Rhizosphere bacteria: Biological control. In: *Methods in phytopathology*. Z. KLEMENT R., RUDOLPH and D.C. SANDS (edit.), AKADEMIAI KIADO, pp. 375-379.

SEAL S.E.; LUKE A., JACKSON and DANIELS M.J., 1992. Use of tRNA consensus primers to indicate subgroups of *Pseudomonas solanacearum* by polymerase chain reaction amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 58, pp. 3759-3761.

SEAL S.E., JACKSON, L. A., YOUNG J. P. W., DANIELS M. J., 1993. Differentiation of *Pseudomonas solanacearum, Pseudomonas syzygii, Pseudomonas pikettii* and the blood disease bacterium by partial 16S rRNA sequencing; construction of oligonucleotide primers for sensitive detection by polymerase chain reaction. *Journal of General Microbiology* Vol.139, pp. 1587-1594.

SEKIZAWA Y. and WAKABAYASHI K., 1990. Bactéricides. In: *Methods in phytopathology*. Z. KLEMENT R., RUDOLPH and D.C. SANDS (edit.), AKADEMIAI KIADO, pp. 319-326.

SEQUEIRA 1993. Bacterial wilt: past, present and future. In: *Bacterial wilt*, pp. 1221. Edited by G. L. HARTMAN & A. C. HAYWARD. Canberra, Australia : AC/AR Proc. No. 45.

SIDIKOU, R.D.S., 2002. Contribution des biotechnologies végétales à l'adaptation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) au Niger. Thèse de Doctorat d'Etat es Sciences, Université Abdou Moumouni de Niamey, Niamey, Niger, 359 p.

SIDIKOU, R.D.S., SIHACHAKR, D., LE ROUX, A.C., SERVAES, A., AMBROISE, A., JOUAN, B., ELLISSECHE, D. ET DUCREUX, G., 2005. Etude de la résistance *in vitro* à *Ralstonia solanacearum* chez six hybrides somatiques de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) et leurs parents. *Cames*, Série A sciences et médecine, Vol. 3, pp. 75-80.

SIVAKUMAR, M.V.K., MAIDOUKIA, A. ET STERN, R. D., 1993. Agroclimatologie de l'Afrique de l'Ouest : le Niger. Deuxième édition, ICRISAT/DMN du Niger, Bulletin d'information N°. 5, 108 p.

SOLSTNER D., 1983. *Les grandes productions végétales*. Collection Sciences et Techniques Agricoles, 13ème édit., Paris, France, pp. 242-278.

SUKHOTU T. and HOSAKA K., 2006. Origin and evolution of Andigena potatoes revealed by chloroplast and nuclear DNA markers. *Genome*, Vol. 49, pp. 636-647.

STEVENS, P. AND VAN ELSAS, J. D., 2006. Detection of a genomic island in a Dutch *R. solanacearum* strain. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 24.

TUCKER R. E., 2010. A potato Chronology Introduction. http://tuckertater.com/potato-chronology.pdf, Téléchargé le 20/02/2010, 93 p.

VANDERHOFSTADT, B., 2007. La filière pomme de terre. Proplant. SOC International, Hoegaarden, Belgium, 33 p.

VANDERHOFSTADT, B. et JOUAN B., 2009. Guide technique de la culture de la pomme de terre en Afrique de l'Ouest. Centre pour le Développement de l'Entreprise. Union Européenne, Hoegaarden, Belgium, 82 p.

VANIET S., KODJA H. et PETIT-PALY G., 2005. Etude des mécanismes de défence mis en jeu lors de l'interaction entre *Ralstonia solanacearum* et des solanacées. Thèse de doctorat, Biologie et phytopathologie végétale, France, Réunion, N° 2005 LAR E0008, 146 p.

VAN VAERENBERGH, J., DE PAEPE, B., HOEDEKIE, A. AND TAHZIMA, R., 2006. Persistence and infectivity of *Ralstonia solanacearum* R3bv2 in weeds and crop rotation on a potato farm using contaminated river water. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 54.

WANG J. F., THOQUET P., OLIVIER J. and GRIMSLEY N., 1997a. Genetic analysis of quantitative resistance loci (QRL) of tomato variety Hawaii 7996 in Taiwan. In: *Bacterial wilt disease, Molecular and ecological aspects*. Ph. PRIOR, C. ALLEN and J. ELPHINSTONE (edit.), Gosier, Guadeloupe, France, 22-27 June 1997, pp. 245-249.

WANG J. F., HANSON P. and BARNES J. A., 1997b. Worldwide evaluation of an international set of resistance sources of bacterial wilt in tomato. In: *Bacterial wilt disease, Molecular and ecological aspects*. Ph. PRIOR, C. ALLEN and J. ELPHINSTONE (edit.), Gosier, Guadeloupe, France, 22-27 June 1997, pp. 269-275.

WHIPPS J. M., 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of experimental botany*, Vol. 52, Roots special issue, pp. 487-511.

WICKER E. et PRIOR P., 2005. Classification et diagnostic moléculaire du complex d'espèces *Ralstonia solanacearum*. Poster, UMR, PVBMT, La Réunion, France. Ralstonia solanacearum.pdf du 8/10/2007, 16 h 09' 44'', pp. 1.

WICKER E., GRASSART L., CORANSON-BEAUDU R., MIAN D., GUILBAUD C., FEGAN M. et PRIOR P., 2007. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential. *App. Environ. Microbiol.*, Vol. 73, N° 21, pp. 6790-6801.

WILLIAMSON L., NAKAHO K., HUDELSON B. and ALLEN C., 2002. *Ralstonia solanacearum*. Race 3, biovar 2 strains isolated from *Geranim* are pathogenic on potato. *Plant disease*, Vol. 86, N° 9, pp. 987-991.

WINSTEAD N.N. and KELMAN A., 1952. Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, Vol. 42, pp. 628-634.

WULLINGS B. A., Van BEUNINGEN A. R., JANSE J. D. and AKKERMANS A. D. L., 1998. Detection of *Ralstonia solanacearum*, which causes brown rot of potato, by Fluorescent *In Situ* Hybridization with 23S rRNA-Targeted Probes. *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 64, N°11, pp. 4546-4554.

ANNEXES

Annexe 1 : Données agrométéorologiques (pluviométrie, températures minima et maxima) des trois localités retenues pour les activités de recherche

Données climatologiques pour Niamey et Bonkoukou

Evaporation mensuelle (mm)

Année	Janv.	Févr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Total
1997	390,2	397,7	406,1	442,5	387	322,3	285,7	253	240,3	316,5	357,2	340,7	4139,2
1998	364,2	377,2	493,7	480	402,4	314,6	240	147,8	157	302,1	301,6	289,6	3870,2
1999	290,4	274,9	395,9	386,3	408,3	372,6	225,7	154,4	157,4	263,7	293,9	304	3527,5
2000	361,3	363	459,4	423,6	429,8		227,3	177,6	238,8	279,9	294,3	298	3553
2001	337,5	334,2	402,7	451,4	439	340,2	241,5	170,2	197,9	275	306,1	305,2	3800,9
2002	327,6	312,4	415,8	430,6	463,8	329,8	281,4	212,9	236,6	235,9	276,9	313,8	3837,5
2003	319,4	341,3	414,9	416,9	435,5	286,5	231,7	185,2	177,2	309	308,7	309,1	3735,4
2004	305,3	359,4	443,4	450,2	431	355,7	243,4	222,4		305,1	323,8	295,1	3734,8
2005	320,7	377	444,4	420,9	432,2	258,3	251,8	198,6	221,6	277,4	295,3	291,2	3789,4
2006	260,4	298,1	419,7	430,6	413,7	351,2	260,4	197	193,1	262,2	306	280	3672,4

Pluviométrie (mm) pour Bonkoukou

Année	Janv.	Févr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Total
1997	0	0	0	0	5,7	54,6	90,7	60,1	19,3	2,2	0	0	232,6
1998	0	0	0	0	16,7	23	151,1	131,1	84,2	0	0	0	406,1
1999	0	0	0	0	25,2	23,7		255,1		0	0	0	304
2000	0	0	0	0	0	44,8	206,8	101,2	20,7	0	0	0	373,5
2001	0	0	0	0	14,9	46,1	213	46,5	145,9	0	0	0	466,4
2002	0	0	0	0	0	99,2	64,3	43,3	86,9		0	0	293,7
2004	0	0	0	10,7	0	36,9	97,4	168	63,1	0	0	0	376,1
2006	0	0	0	0	4	54,5	193,5	226,9	130	0	0	0	608,9

Température maximale (°C)

Année	Janv.	Févr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.
1997	34,3	32,6	36,6	40,6	39,2	37,3	35,1	35	36,1	38,9	38,1	33,9
1998	32,8	37,1	37,1	42,5	40,9	37,5	34,3	31,8	33,4	37,8	37,4	34
1999	33	34,9	41,1	41,6	41,1	39,8	34,3	31,6	33,5	37,1	37	33,1
2000	34,7	32,2	38	42,9	41,8	38,3	33,7	33	36,1	37,6	37,3	32,8
2001	32,4	33,6	39,9	41,7	40,8	37,9	34	32,6	34,6	38,2	36,8	35,1
2002	30,6	34,7	40,1	42,1	42,6	37,7	35,5	33,5	35	35,8	36,7	34,1
2003	33,4	37,2	38,1	41,6	41,2	36,2	34,2	32,6	34,5	39	37,1	33,6
2004	33,3	35,3	37,4	41,3	39,8	38	33,5	33,3	35,1	39,4	37,5	36,1
2005	30,8	38	41,1	42,4	41	36,7	33,7	33,2	35	37,8	37,2	34,7
2006	35,1	37,4	39,9	41,7	40,9	39,1	35,6	32,9	33,6	38,1	35,3	32,5

Température minimale (°C)

Année	Janv.	Févr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.
1997	17,7	18,5	24	27	27,7	26	25	25,1	25,3	26,7	22,3	17,1
1998	16,7	20,7	22,1	28,5	29,2	26,6	24,7	23,4	23,6	26,5	20,7	17,8
1999	17,2	19,4	24,5	27,5	28,7	28	24,4	23,3	23,5	23,9	20,4	16,5
2000	19,4	16	21,6	27,4	29,3	26,1	24,2	23,7	25,3	25	19,4	16,5
2001	14,8	17,5	21,6	28	29,4	26,4	24,4	23,7	24,2	24,4	19,2	17,9
2002	16,6	17	23,4	28,4	30	26,3	25,5	24,2	24,3	24,2	20,5	17,9
2003	17	20,1	22,8	28,6	27,5	25,1	24,7	23,6	24,3	26,7	21,4	16,9
2004	17,6	20	23,3	28,3	28,1	26,2	24,1	24,1	24,6	24,6	21,9	19
2005	17,2	23,8	26,7	27,9	28,6	25,5	24,4	23,9	24,8	23,9	20,3	17,4
2006	18,8	20,4	23,4	25,9	28,6	27,5	24,6	23,4	23,9	25,6	19,3	16,5

Données climatologiques pour Tabelot

Pluviométrie (mm) pour Tabelot

Année	Janv.	Févr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Total
1997	0	0	0	0	3,5	12	7,6	22,6	10,9	0	0	0	56,6
1998	1,2	0	0	1,5	0	0	12,5	75,4	8,3	0	0	0	98,9
1999	0	0	0	0	0	0	33,8	129,1	2	0	0	0	164,9
2000	0	0	0	0	0	1,4	30,2	1,5	0	0	0	0	33,1
2001	0	0	0	0	0	0	9,7	0	0	0	0	0	9,7
2002	0	0	0	0	0	0	20,7	40,8	3,4	19,5	0	0	84,4
2003	0	0	0	0	0	6,2	4,1	27,6	0	42	0	0	79,9
2004	0	0	0	0	5,6	1,9	20	12,5	0	0	0	0	40

Données climatologiques mensuelles pour Dogondoutchi

Pluviométrie (mm) pour Doutchi

Année	Janv.	Févr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Total
1997	0	0	4,2	0,6	59,4	184,1	112,3	84,4	46,6	0	0	0	491,6
1998	0	0	0	0	48,5	35,6	91,4	170,3	158,9	11,2	0	0	515,9
1999	0	0	0	0,1	4,7	7,4	155,4	294,1	111,3	16,2	0	0	589,2
2000	0	0	0	0	15,7	63,4	210,4	149,4	34,5	19,3	0	0	492,7
2001	0	0	0	0	35,8	42,3	173,7	113	73,1	0	0	0	437,9
2002	0	0	0	5,8	23,9	30,9	106,8	144	124,5	80,8	0	0	516,7
2003	0	0	0	6	22	131,4	85	222,5	95,4	2	0	0	564,3
2004	0	0	0	10,5	17,1	55,8	110	185,6	51	7,5	0	0	437,5
2005	0	0	0	0	52,7	97,3	116,8	100,6	49,9	5	0	0	422,3
2006	0	0	0	0	10	24,5	184,6	221,3	198,6	4	0	0	643

Température maximale (°C)

Année	Janv.	Févr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.
1997	33,7	31,7	37,1	41,1	39	36,7	34,1	33,5	36,9	39,7	38,3	32,9
1998	32,4	36,5	36,2	43	41,5	37,6	34,6	32,1	33,4	37,7	37,5	33,5
1999	33	35,4	41,5	**	26,4	26,4	34	22,8	33,6	36,1	36,3	32,3
2000	33,7	30,7	37,3	42,8	41,3	37,4	33	31,7	34,5	**	**	**
2001	31,5	33,1	39,3	41,3	40,5	37,6	33,6	32,2	33,8	34,6	32,3	30,3
2002	27,4	31,3	36,8	38,9	28,3	35,8	35,4	32,9	33,4	34	34,9	32,8
2003	32,1	36,6	37,4	40,9	41	37,1	35	31,9	33,6	37,9	36,6	32,4
2004	33,1	35,1	37	41,6	39,7	38,4	34,5	32,6	34,7	38,3	37,1	35,2
2005	306	38,6	41,6	42,6	40,5	36,9	33,5	32,7	35,5	38	36,9	34,3
2006	35	37,2	40,1	41,8	40,7	37,7	35,3	31,4	33,3	36,9	34	31,1

Température minimale (°C)

Année	Janv.	Févr.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.
1997	17	17,5	23,5	24,4	26,4	25	25	24	24,6	24,8	19,3	17,5
1998	16,8	19,5	20,9	26,9	29	26,9	25,5	23,8	23,4	24,1	19,2	16,7
1999	16,1	19,1	22,8	25,8	26,4	26,4	23,6	22,8	22,8	21,4	18	16,1
2000	18,4	16,4	20,8	23,3	27,2	26,2	24,1	23,1	23,7	**	**	**
2001	15,6	17,9	21,1	26	27,4	26,5	24,3	23,8	23,8	22,3	18,8	18,3
2002	15,9	16,7	22,4	25,4	27,9	26,6	24,6	24,3	23,9	22,3	18,8	16,8
2003	**	19,7	20,8	25,4	25,5	25,8	24,6	23,5	23,7	24,1	19,6	16
2004	16,8	18,9	21	26,4	26,9	26,3	24,6	23,8	24,7	17,1	14,7	12,6
2005	10	21	27,2	25,9	27,8	26,3	24,5	24,6	25,1	23,2	20,1	18,5
2006	19,9	20,3	23,4	25,6	28	28	25,3	23,7	24,3	24,4	18,9	17,3

Annexe 2 : Poster sur ‘‘Incidence du flétrissement bactérien causé par Ralstonia solanacearum E. F. SMITH sur Solanacées au Niger et détermination des phylotypes impliqués’’, présenté à l'atelier : Rencontre CORUS portant sur le thème « Biologie – Ecologie » Conservation et valorisation de la biodiversité et des écosystèmes en Afrique. Dakar, Sénégal, 05 - 10 Novembre 2007

CORUS Octobre 2007

Issa ADAMOU adamou99is@yahoo.fr

INRA FNPPPT

INCIDENCE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN CAUSE PAR *RALSTONIA SOLANACEARUM* E. F. SMITH SUR SOLANACEES AU NIGER ET DETERMINATION DES PHYLOTYPES IMPLIQUES

Université de Ouagadougou Université Abdou Moumouni de Niamey

ADAMOU I., LE ROUX A-C., ADAM T., ANDRIVON D., SANKARA P., JOUAN B et NDIAYE M.

Ralstonia solanacearum est responsable du flétrissement bactérien sur de nombreuses cultures végétales. Sur pomme de terre elle provoque la pourriture brune du tubercule. Les pertes occasionnées par cette bactérie sur les cultures peuvent être très importantes. Elle a été signalée pour la première fois au Niger en 1982 par le Service de la Protection des Végétaux (MDR, 1982). Afin de mieux connaître l'importance de cette bactériose au Niger nous avons cherché au cours de cette étude i) à évaluer l'incidence du flétrissement bactérien sur des cultures de solanacées et ii) à caractériser les souches de *Ralstonia solanacearum* présentes dans des macérats de plantes.

Matériel et Méthodes

+ Evaluation de l'incidence du flétrissement bactérien dû à *Ralstonia solanacearum* sur des cultures de pomme de terre et d'autres Solanacées au Niger

- Des prospections ont été réalisées en février et mars 2007 sur 46 parcelles regroupées dans les 4 plus grandes régions productrices de pommes de terre au Niger (Figure 1). Les caractéristiques de ces régions sont décrites dans le tableau 1.
- Les espèces végétales cultivées sur ces parcelles étaient la pomme de terre (8 variétés différentes), la tomate, l'aubergine, le piment et le poivron.
- L'incidence de la maladie a été évaluée en pourcentage de plantes malades sur la parcelle et ce quelle que soit la gravité des symptômes.

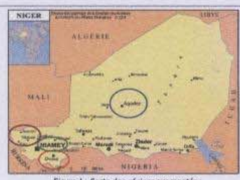


Figure 1 : Carte des régions prospectées

Tableau 1 : Caractéristiques des régions prospectées

	Pluviométrie annuelle (mm)	Type de sol	Température minimale	Altitude (m)
Agadez	71	Argilo-sableux	18°C	800 à 1600 m
Dosso	600	sableux	22°C	186-195
Niamey	600	sableux	22°C	219
Tillabéri	400	sableux	22°C	186-256

+ Détection et caractérisation des souches de *R. solanacearum* sur les macérats de plantes

- Des segments de tiges prélevés sur des plantes malades ont été désinfectés superficiellement avant d'être mis à macérer dans de l'eau permutée stérile pendant 3 heures. Les macérats ainsi obtenus ont été conservés pendant 6 mois avant analyse.
- La présence de *Ralstonia solanacearum* au sein des échantillons a été évaluée par deux techniques reposant sur des principes biologiques différents :
  - **L'immunofluorescence indirecte** (IF) en utilisant le sérum polyclonal 7454 (FNPPPT).
  - **L'amplification par PCR** de l'ADN extrait avec les amorces 759-760 (Opina *et al.*, 1997).
- Les échantillons positifs en PCR ont ensuite été testés en PCR multiplexe afin de connaître le phylotype des souches impliquées dans les symptômes (Fegan et Prior, 2005).

Résultats

- L'incidence moyenne du flétrissement bactérien sur une parcelle au Niger est de 8,1 % avec toutefois une grande disparité selon les zones prospectées. Alors que le flétrissement moyen est seulement de 1% dans la région d'Agadez, il atteint 12,4 % en moyenne dans celle de Dosso. Ces différences peuvent s'expliquer par des conditions pédoclimatiques différentes (tableaux 1 et 2).
- La bactérie a été mise en évidence dans 29 échantillons par IF et dans 19 par PCR (Figure 2). L'oxydation des macérats lors de leur stockage peut expliquer la non amplification de l'ADN dans certains échantillons. Les échantillons positifs sont majoritairement issus de pomme de terre (23).
- La PCR multiplexe a montré la présence d'un phylotype majoritaire, le II, présent sur pomme de terre. Le phylotype I a pu également être mis en évidence sur un échantillon de tomate (Figure 3).

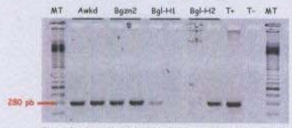


Figure 2 : Exemple de résultats obtenus après migration de l'ADN amplifié avec les amorces 759-760 sur gel d'agarose à 1,5%. Chaque échantillon est déposé en double exemplaires (pur et 1/10ème)

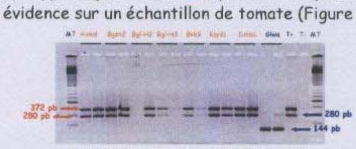


Figure 3 : Exemple de résultat obtenu après migration de l'ADN amplifié par PCR Multiplexe sur gel d'agarose à 1,5%.

Tableau 2 : Caractéristiques des échantillons analysés

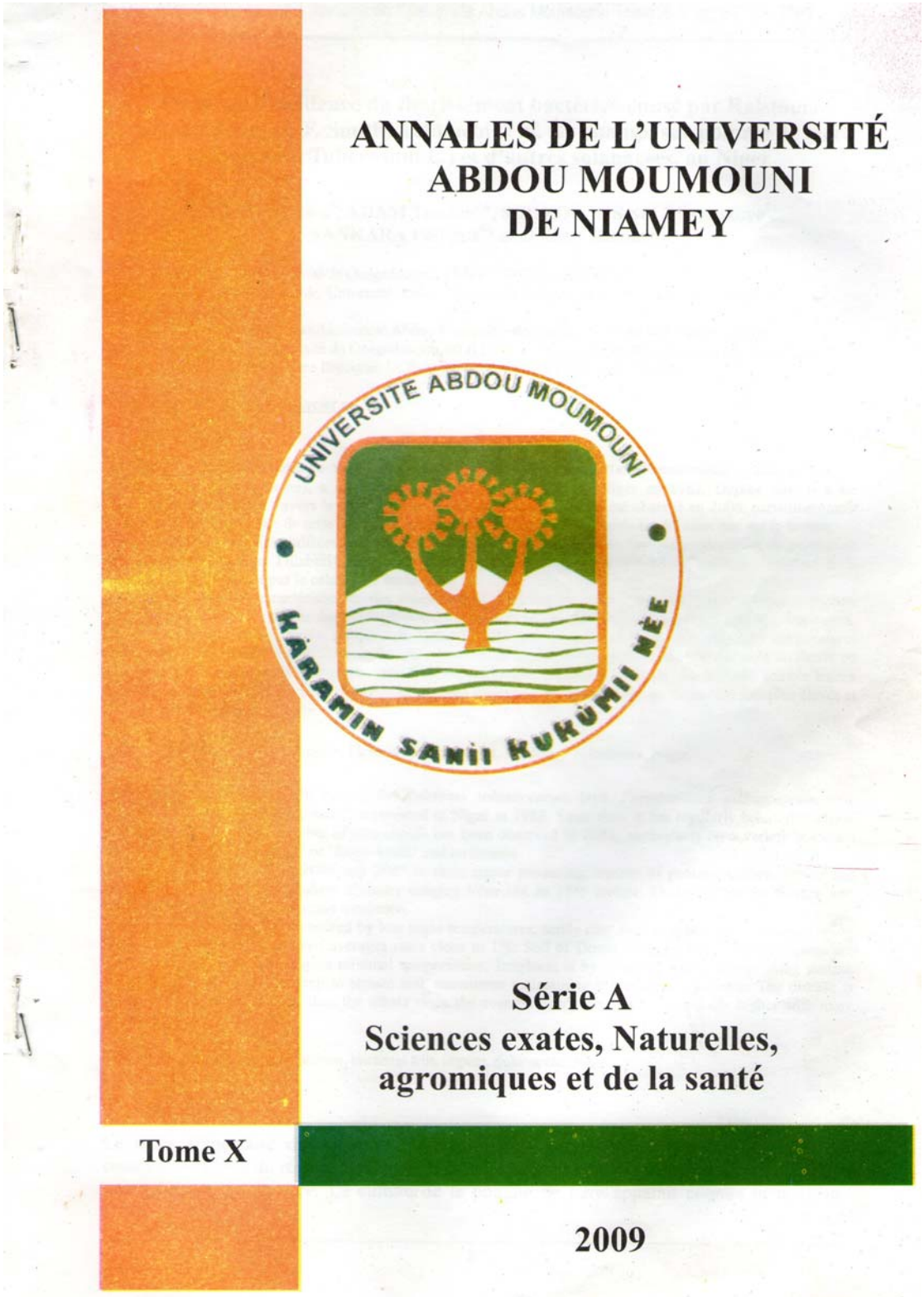
N°	Région	Nom de code de la souche	Plante Hôte: Nom commun	Plante Hôte: Variété	Localisation de l'échantillon: Village	Localisation de l'échantillon: Altitude (m)	Incidence de maladie (%)	Résultats des tests: IF indirecte	Résultats des tests: PCR
1	AGADEZ	Awkd	Pomme de terre	Désirée	Awkadédé	1477	1	+	+
2		Bgzn 1	Pomme de terre	Pamela	Bagzane	1546	1	+	+
3		Bgzn 2	Pomme de terre	Désirée	Bagzane	1546	1	+	+
4		Tdro	Pomme de terre	Sahel	Tadara	955	1	-	-
5		Fdky 1	Pomme de terre	Sahel	Fouduokye	1472	2	-	-
6		Fdky 2	Pomme de terre	Pamela	Fouduokye	1472	1	-	-
7		Tblt 1	Pomme de terre	Désirée	Tabelote	854	1	+	-
8		Tblt 2	Poivron		Tabelote	844	1	+	-
9		Tlwa 1	Pomme de terre	Désirée	Télewa	913	1	-	-
10		Tlwa 2	Pomme de terre	Désirée	Télewa	913	1	-	-
11		Tlwa 3	Pomme de terre	Désirée	Télewa	913	1	-	-
12	DOSSO	Bgl-H1	Pomme de terre	Dan Hadj	Bogol-Hima	195	2	+	+
13		Bgl-H2	Pomme de terre		Bogol-Hima	195	11	+	+
14		Bgl-H3	Pomme de terre		Bogol-Hima	195	60	+	+
15		Karo	Tomate		Karra	192	1	-	-
16		Mtkr 1	Poivron		Matankari	186	5	-	-
17		Mtkr 2	Tomate		Matankari	186	4	+	-
18		Mtkr 3	Pomme de terre		Matankari	186	1	-	-
19	NIAMEY	Kayé 1	Pomme de terre		Kayé	219	3	+	+
20		Kayé 2	Tomate		Kayé	219	1	+	-
21		Kayé 3	Aubergine		Kayé	219	1	+	-
22	TILLABERI	Awla	Tomate		Awlakouara	186	1	-	-
23		Bkk 2	Pomme de terre	Dan Hadj	Bonkoukou	215	1	+	+
24		Bkk 3	Pomme de terre	Ddkway	Bonkoukou	215	5	+	+
25		Bkk 4	Pomme de terre	Rosanna	Bonkoukou	215	30	+	-
26		Bkk 5	Pomme de terre	Dan Hadj	Bonkoukou	214	6	+	+
27		Bkk 7	Pomme de terre	Stemster	Bonkoukou	219	19	+	+
28		Bkk 8	Pomme de terre	Dan Caé	Bonkoukou	219	4	+	+
29		Bkk 9	Pomme de terre	Rosanna	Bonkoukou	219	1	+	+
30		Blyr 1	Pomme de terre		Ballayara	211	7	+	-
31		Blyr 2	Pomme de terre	Dan Hadj	Ballayara	205	15	+	+
32		Blyr 3	Tomate		Ballayara	205	1	-	-
33		Blyr 4	Pomme de terre	Dan Hadj	Ballayara	206	50	+	+
34		Blyr 5	Pomme de terre	Dan Hadj	Ballayara	204	37	+	+
35		Cat 1	Piment		Tillakayna	200	1	-	-
36		Cat 3	Tomate		Tillakayna	200	1	-	-
37		Douba	Pomme de terre		Doumba	240	15	+	+
38		Glwa	Tomate		Guellewa	184	19	+	+
39		Kobi	Pomme de terre		Kobi	212	1	+	+
40		Lsso	Tomate		Lasso	208	1	-	-
41		Mari	Pomme de terre		Mari	215	7	+	-
42		Skk	Pomme de terre		Sékoukou	186	1	-	-
43		Sar-H	Poivron		Saraoni-haoussa	201	1	-	-
44		Téra 1	Poivron		Téra	246	1	+	-
45		Téra 2	Pomme de terre	Dan Hadj	Téra	256	20	+	-
46		Téra 3	Tomate		Téra	256	15	-	-

Conclusion – Perspectives

- Des souches de *Ralstonia solanacearum* ont été caractérisées à partir de macérats récoltés du Niger. La bactérie a été retrouvée principalement sur pomme de terre. Les cultures des régions du sud où l'on a des températures élevées, des sols sableux, une nappe phréatique peu profonde et où l'on pratique une irrigation par aspersion, montrent les plus forts taux d'incidence de maladie. Les résultats de la PCR multiplexe indiquent l'existence des Phylotypes I et II au Niger.
- Ce travail devra être mené sur une gamme d'hôtes plus large afin de connaître plus précisément la nature des souches de *Ralstonia solanacearum* présentes au Niger. Cette connaissance permettra de lutter plus efficacement contre cette bactériose, notamment par la mise en place de pratiques culturales bien réfléchies.

Responsable INRA : Didier ANDRIVON

Annexe 3 :


ANNALES DE L'UNIVERSITÉ
ABDOU MOUMOUNI
DE NIAMEY
UNIVERSITE ABDOU MOUMOUNI
KARAMIN SANII KUKUMII NEE
Série A
Sciences exates, Naturelles,
agromiques et de la santé
Tome X
2009

Etude de l'incidence du flétrissement bactérien causé par Ralstonia Solanacearum (E.F. Smith) Yabuuchi *et al.* Au champ, sur pomme de terre (Solanum Tuberosum L.) et d'autres solanacees, au Niger

ADAMOU Issa[1], ADAM Toudou[2]*, SIDIKOU R. Seyni Djermakoye[3], SANKARA Philippe[4]* et JOUAN Bernard[5]

[1].UFR-SVT, Université de Ouagadougou, 03 B.P.: 7047 Ouagadougou 03.
[2].Faculté d'Agronomie, Université Abdou Moumouni, Niamey. B.P.: 10.960 Niamey, Niger, atoudou@refer.ne.
[3].Faculté des Sciences, Université Abdou Moumouni de Niamey. B.P.: 10.662 Niamey, Niger.
[4].UFR-SVT, Université de Ouagadougou, 03 B.P.: 7047 Ouagadougou 03, sankph@univ-ouaga.bf.
[5].Agro Sans Frontières Bretagne, Le Puits Berger 35740 PACE, Rennes, France.

* Correspondance : atoudou@refer.ne.

Résumé : Le flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* (ex. *Pseudomonas solanacearum*, ex. *Burkholderia solanacearum*), a été signalé pour la première fois au Niger en 1982. Depuis lors, il a été régulièrement signalé à travers le pays. Le plus grand nombre de foyers a été observé en 2006, particulièrement sur un cultivar de pomme de terre dénommé en haussa "Dan Hadjia" ou "Kouli-kouli" ainsi que sur la tomate.
Des prospections ont été réalisées en 2006 et 2007 dans les trois principales régions productrices de pomme de terre (Agadez, Dosso et Tillabéri), suivant un gradient d'altitudes allant de 184 à 1546 mètres. L'ampleur de la maladie a été appréciée par le calcul de l'incidence.
La région d'Agadez, caractérisée par des températures nocturnes basses, un sol argilo sableux, une irrigation gravitaire avec une eau puisée des profondeurs, détient des taux moyens d'incidence proches de 1%. Par contre, les sols des régions de Dosso, Niamey et Tillabéri sont tous à dominance sableux avec des températures minimales plus chaudes. L'irrigation se fait par aspersion du feuillage des plantes avec une eau tirée du fleuve ou d'une nappe phréatique peu profonde, entretenant parfois une végétation pérenne. La maladie semble mieux s'exprimer dans ces dernières régions puisque les taux moyens d'incidences sont au moins dix fois plus élevés et des symptômes plus prononcés.

Mots clés : *Ralstonia solanacearum*, Flétrissement bactérien, Incidence, Solanacées, Niger.

Abstract : The brown rot caused by *Ralstonia solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*, syn. *Burkholderia solanacearum*), was first reported in Niger in 1982. Since then, it has regularly been cited across the country. The largest number of households has been observed in 2006, particularly on a variety of potato called in haussa "Dan Hadjia" or "Kouli-kouli" and on tomato.
Surveys were conducted in 2006 and 2007 in three major producing regions of potato (Agadez, Dosso and Tillabéri), according to a gradient altitudes ranging from 184 to 1546 meters. The extent of the disease was assessed by calculating the disease incidence.
The region of Agadez, characterized by low night temperatures, sandy clay soil, a surface irrigation with water drawn from the depths, showed averages rates close to 1%. Soil of Dosso, Niamey and Tillabéri regions are predominantly sandy with higher minimal temperatures. Irrigation is by spraying plants foliage using surface water (river) or watertable deep to stream soil, sometimes maintaining a perennial vegetation. The disease is more severe in these regions than the others since the average incidence rates are ten folds higher with more pronounced symptoms.

Key words: *Ralstonia solanacearum*, bacterial wilt, impact, Solanaceae, Niger.

1. Introduction

Le bilan alimentaire du Niger est déficitaire trois années sur quatre. Les céréales qui constituent la base du régime alimentaire des populations ont des rendements qui ne dépassent guère 400 kg par hectare. La culture de la pomme de terre apparaît comme la meilleure

alternative vers une sécurité alimentaire. La région d'Agadez au Nord Niger (zone Aïr) offre des conditions climatiques exceptionnelles qui autorisent la pratique de trois cycles successifs de pomme de terre chaque année avec maîtrise d'eau. Dans les autres régions (Tillabéri, Dosso, Maradi, Zinder et Diffa), il est pratiqué un à deux cycles culturaux de pomme de terre par an. Cette culture vient en troisième position après l'oignon et la tomate dans la région d'Agadez. Dans la région de Tillabéri, la pomme de terre occupe le quatrième rang après l'oignon, le manioc et la patate douce (MDA, 2004). Le rendement moyen de la pomme de terre était de 10,1 t/ha en 2001 et 15,9 t/ha en 2004 avec un maximum de 24 t/ha à Diffa (MDA, 2004). Comme on le constate, cette culture peut faire l'objet d'une intensification plus poussée si l'on sait que les rendements peuvent être portés à plus de 30 t/ha contre la moyenne des 16 t/ha, soit une augmentation d'environ 47 %. L'expansion de cette culture de rente est croissante du fait du rôle de plus en plus important qu'elle joue dans la diète des ménages nigériens urbains et ruraux et l'amélioration sensible des revenus des maraîchers. Par rapport aux plantes à racines et à tubercules, la pomme de terre produit plus de tubercules par jour d'occupation du sol soit un rendement moyen de 25 tonnes par ha, sur 100 jours de cycle (VANDERHOFSTADT, 2007).

Au stade actuel, la culture de la pomme de terre n'est pas sans contraintes au Niger. Au nombre de ces contraintes au développement de la pomme de terre, on peut citer l'absence d'une stratégie efficace de développement de la filière, le faible suivi agronomique et phytosanitaire, l'absence d'un cadre adéquat de commercialisation. Un gros obstacle à la culture est constitué par le flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* (ex. *Pseudomonas solanacearum*, ex. *Burkholderia solanacearum*). C'est sans doute la maladie bactérienne la plus importante au Niger (ADAM, 1996; CORUS, 2006; Le JEANN *et al.*, 2000; MDR, 1982; SIDIKOU, 2002; SIDIKOU *et al.*, 2005).). Cette maladie affecte plus de 400 espèces végétales cultivées et sauvages (OEPP, 2005). Parmi les espèces les plus sensibles, on trouve la pomme de terre, le tabac, la tomate, l'aubergine, le piment, le poivron ainsi que l'arachide (MARTIN et FRENCH, 1985; MURIITHI, 2000; PRIOU et ALEY, 2002) et les Cucurbitacées (MIAN *et al.*, 2003). La maladie limite la production de semences à travers le monde (MARTIN et FRENCH, 1985). Selon MURIITHI (2000), le flétrissement bactérien est la seconde maladie de la pomme de terre au Kenya, ses dommages y atteignent 50 à 100%. Au niveau mondial, les dégâts sont plus importants dans les régions tropicales et subtropicales.

2. Matériel et méthodes

Régions de prospections

Trois prospections ont été effectuées dans les principales régions productrices de pomme de terre (Agadez, Tillabéri et Dosso), de novembre 2006 à juin 2007 (Tableau 1). La région d'Agadez est caractérisée par un climat saharien, avec une pluviométrie moyenne annuelle de 71 mm. Les températures sont basses la nuit (19,8 °C), avec 33% de probabilité qu'elles descendent au dessous de 15 °C. Le sol dominant est de type argilo sableux. Dans les régions de Dosso, Niamey et Tillabéri les sols sont sableux. Il pleut annuellement respectivement 400 mm à Tillabéri et 600 mm à Dosso et Niamey. Les températures minimales se situent entre 22 et 23 °C et n'atteignent jamais 15 °C (SIVAKUMAR *et al.*, 1993).

La prospection dans ces différentes régions a été effectuée dans 27 villages et sur 46 parcelles de pomme de terre ou d'autres solanacées de dimensions moyennes variant de 150 m² à 3 ha.

Tableau 1 : Caractéristiques des régions prospectées

Région	Pluviométrie annuelle (mm)	Type de sol dominant	Température minimale (°C)	Altitude (m)	Mode d'irrigation
Agadez	71	Argilo-sableux	18°C	800 – 1546	Gravitaire
Dosso	600	Sableux	22°C	186 – 195	Aspersion
Niamey	600	Sableux	23°C	219	Aspersion
Tillabéri	400	Sableux	23°C	186 – 256	Aspersion

Source : (MDR, 2004 ; SIVAKUMAR *et al.*, 1993)

Evaluation de l'incidence du flétrissement bactérien au champ

L'incidence de la maladie a été évaluée en pourcentage (%) du nombre de plantes malades quelque soit l'ampleur des symptômes, sur le nombre de plantes observées dans une parcelle; le tout multiplié par cent (100). C'est la moyenne de trois échantillonnages au hasard de 100 plants qui est retenue par parcelle observée.

La collecte des échantillons de plantes malades

Deux échantillons sont prélèvements sur des plantes présentant des symptômes de flétrissement typique et brutal. Les plantes sont déterrées à l'aide d'une pelle-bêche. Les racines secondaires sont réduites au scalpel stérile et la racine principale est superficiellement stérilisée à l'éthanol 95°. Un segment de tige de 1 cm est coupé en partant du collet vers le bas. Sur tubercule le prélèvement a lieu au niveau du point d'attache du stolon.

Diagnostic au champ

Le test de suintement bactérien ou test du verre d'eau

Chaque échantillon est placé dans un tube contenant 20 ml d'eau permutée stérile et retiré après 3 heures. Un macérat blanc laiteux caractérise la présence de Ralstonia solanacearum dans le système vasculaire de la plante évitant ainsi toute confusion avec des symptômes dus à des infections bactériennes causées par *Corynebacterium sepedonicus* ou *Erwinia chrysanthemi* ou encore des maladies fongiques provoquées par *Verticillium sp.* et *Fusarium eumartii* (PRIOU *et al.*, 1999). Les macérats sont conservés à 20°C jusqu'à leur utilisation au laboratoire (MARTIN *et al.*, 1982).

Le test de GRAM

Deux gouttes d'une solution d'hydroxyde de potassium KOH (3%) sont déposées sur une lame propre. A l'aide d'un cure-dent stérile, il est prélevé une goutte d'exsudat bactérien au niveau de la région vascularisée du tubercule ou de la tige présentant les symptômes de la maladie. La préparation est alors remuée durant une dizaine de secondes en faisant des mouvements circulaires continus pour bien mélanger. L'observation d'un filament lorsque le cure-dent est soulevé confirme que la bactérie est Gram-négatif comme *Ralstonia solanacearum*, contrairement à *Corynebacterium sepedonicus* (PRIOU *et al.*, 1999).

3. Résultats

L'incidence du flétrissement bactérien

L'incidence moyenne du flétrissement bactérien au Niger est de 8,1 % avec cependant une disparité entre les zones pédoclimatiques (Figure 1 et Tableau 2).

L'incidence moyenne de la maladie est inférieure à 1% et n'a jamais dépassé 2% dans la zone saharienne (région d'Agadez). La maladie semble mieux s'exprimer dans les régions de Dosso, Niamey et Tillabéri puisque les taux moyens d'incidences les plus élevés y sont relevés. En effet, il est noté une moyenne de 12,4 % pour la région de Dosso avec un maximum de 60 % à Bogol-Hima. A Tillabéri, la moyenne est de 10,4 % avec une note de 50

% pour Ballayara.

Souches bactériennes détectées

Quarante six (46) macérats de plantes (collets de tiges ou parties de tubercules) ont été collectés du sud dans les régions de Tillabéri et Dosso et au nord dans la région d'Agadez selon des gradients d'altitude allant de 184 à 1 546 (Tableau 2).

Des macérats collectés, seulement 24% des souches identifiées appartiennent à la zone saharienne située à une altitude comprise entre 800 et 1600 mètres. Plus de 76%, soit la majorité des souches, proviennent de la zone sahélienne de faibles altitudes (150 et 300 mètres).

La répartition par espèce végétale donne 68,8% pour la pomme de terre, 20% pour la tomate, 11% pour le poivron et 0,2% pour l'aubergine.

La distribution géographique de la maladie au Niger

La région d'Agadez est caractérisée par un climat saharien, avec une pluviométrie moyenne annuelle de 71 mm. Le sol dominant est de type argilo sableux. Dans ce système de cultures oisiennes, l'irrigation se fait par gravité sans mouiller le feuillage des plantes avec une eau puisée à plus de 30 mètres de profondeur. Les températures sont basses la nuit (19,8 °C), avec 33% de probabilité qu'elles descendent au dessous de 15 °C. Dans cette région l'incidence moyenne de la maladie est proche de 1%, avec un maximum de 2% à Fouskaye.

Les sols des régions de Dosso, Niamey et Tillabéri sont essentiellement sableux. Il pleut annuellement respectivement 400 mm à Tillabéri et 600 mm à Dosso et Niamey. L'irrigation se fait par aspersion du feuillage des plantes avec une eau tirée du fleuve (Niamey et une partie de Tillabéri), ou d'une nappe phréatique peu profonde (0,5 -2 mètres) comme à Bogol-Hima (Dosso) et à moins de 10 mètres à Bonkoukou et Ballayara (Tillabéri). Des adventices des espèces suivantes (*Sphenoclea zeylanica, Ludwigia abyssinica, Hyptis spicigera, Cynodon dactylon et Comelina bengalensis*) sont présentes toute l'année. Les températures minimales se situent entre 22 et 23 °C, avec une probabilité de 0% qu'elles soient inférieures ou égales à 15 °C.

La maladie semble mieux s'exprimer dans ces dernières régions puisque les taux moyens d'incidences les plus élevés y sont relevés. En effet, il est noté une moyenne de 12,4 % pour la région de Dosso avec un maximum de 60 % à Bogol-Hima. A Tillabéri, la moyenne est de 10,4 % avec une note de 50 % pour Ballayara.

Seuls 24% des souches collectées appartiennent à la zone saharienne située à une altitude comprise entre 800 et 1600 mètres et des températures moyennes minimales de 19°C. L'incidence moyenne de la maladie est inférieure à 1% et n'a jamais dépassé 2%. Plus de 76%, soit la majorité des souches, proviennent de la zone sahélienne de faibles altitudes (150 et 300 mètres) et de températures moyennes minimales supérieures à 20°C. L'incidence moyenne de la maladie atteint 10% avec un maximum de 60%.

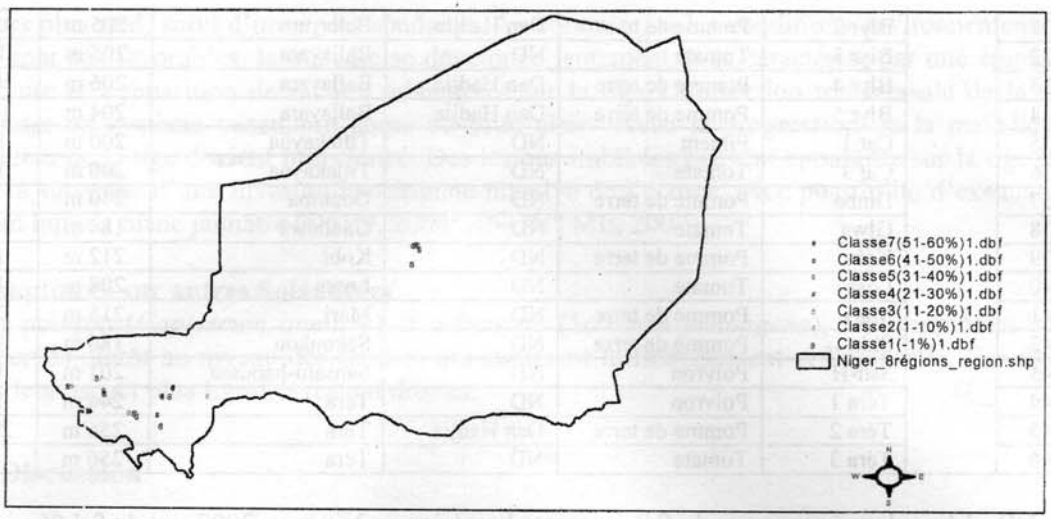


Figure 1 : Carte des incidences du Flétrissement bactérien au Niger

Tableau 2 : Liste des souches isolées à partir des plantes collectées dans les principales régions productrices de pomme de terre et d'autres Solanacées, et incidence du flétrissement.

N°	Régior	Code de la Souche	Plante hôte		Sites de prospections		Incidence de la maladie(%)
			Nom commun	Variété	Village	Altitude	
1	A G A D E Z	Awkd	Pomme de terre	Désirée	Awkadédé	1477 m	1
2		Bgzn 1	Pomme de terre	Pamela	Bagzane	1546 m	1
3		Bgzn 2	Pomme de terre	Désirée	Bagzane	1546 m	1
4		Tdra	Pomme de terre	Sahel	Tadara	955 m	1
5		Fsky 1	Pomme de terre	Sahel	Fouskaye	1472 m	2
6		Fsky 2	Pomme de terre	Pamela	Fouskaye	1472 m	1
7		Tblt 1	Pomme de terre	Désirée	Tabelote	854 m	1
8		Tblt 2	Poivron	ND	Tabelote	844 m	1
9		Tlwa 1	Pomme de terre	Désirée	Télawas	913 m	1
10		Tlwa 2	Pomme de terre	Désirée	Télawas	913 m	1
11		Tlwa 3	Pomme de terre	Désirée	Télawas	913 m	1
12	D O S S O	Bgl-H 1	Pomme de terre	Dan Hadjia	Bogol-Hima	195 m	2
13		Bgl-H 2	Pomme de terre	ND	Bogol-Hima	195 m	11
14		Bgl-H 3	Pomme de terre	ND	Bogol-Hima	195 m	60
15		Kara	Tomate	ND	Karra	192 m	1
16		Mtkr 1	Poivron	ND	Matankari	186 m	6
17		Mtkr 2	Tomate	ND	Matankari	186 m	4
18		Mtkr 3	Pomme de terre	ND	Matankari	186 m	1
19	NY	Kayé 1	Pomme de terre	ND	Kayé	219 m	3
20		Kayé 2	Tomate	ND	Kayé	219 m	1
21		Kayé 3	Aubergine	ND	Kayé	219 m	1
22	T I L L A B E R I	Awla	Tomate	ND	Awlakouara	186 m	1
23		Bkk 2	Pomme de terre	Dan Hadjia	Bonkoukou	215 m	1
24		Bkk 3	Pomme de terre	Dalaway	Bonkoukou	215 m	5
25		Bkk 4	Pomme de terre	Rosanna	Bonkoukou	215 m	30
26		Bkk 5	Pomme de terre	Dan Hadjia	Bonkoukou	214 m	6
27		Bkk 7	Pomme de terre	Stemster	Bonkoukou	219 m	19
28		Bkk 8	Pomme de terre	Dan Cameroun	Bonkoukou	219 m	4
29		Bkk 9	Pomme de terre	Rosanna	Bonkoukou	219 m	1
30		Blyr 1	Pomme de terre	ND	Ballayara	211 m	7

31		Blyr 2	Pomme de terre	Dan Hadjia	Ballayara	205 m	15
32		Blyr 3	Tomate	ND	Ballayara	205 m	1
33		Blyr 4	Pomme de terre	Dan Hadjia	Ballayara	206 m	50
34		Blyr 5	Pomme de terre	Dan Hadjia	Ballayara	204 m	37
35		Cat 1	Piment	ND	Tillakayna	200 m	1
36		Cat 3	Tomate	ND	Tillakayna	200 m	1
37		Dmba	Pomme de terre	ND	Doumba	240 m	15
38		Glwa	Tomate	ND	Gualléwa	184 m	19
39		Kobi	Pomme de terre	ND	Kobi	212 m	1
40		Losa	Tomate	ND	Lossa	208 m	1
41		Mari	Pomme de terre	ND	Mari	215 m	7
42		Skk	Pomme de terre	ND	Sékoukou	186 m	1
43		Ssn-H	Poivron	ND	Sansani-haoussa	201 m	1
44		Téra 1	Poivron	ND	Téra	246 m	1
45		Téra 2	Pomme de terre	Dan Hadjia	Téra	256 m	20
46		Téra 3	Tomate	ND	Téra	256 m	15

NB : L'incidence moyenne du flétrissement bactérien au Niger en 2007, est de 8,1 %.

La gamme d'hôte de la maladie au Niger

La répartition de la maladie par espèce végétale, pour les 46 souches collectées donne 68,8% pour la pomme de terre, 20% pour la tomate, 11% pour le poivron et 0,2% pour l'aubergine.

Symptômes sur pomme de terre

Les symptômes sur la pomme de terre comprennent le flétrissement du plant (plus remarqué aux heures chaudes de la journée) et la chlorose des feuilles. En conditions favorables à la maladie, toutes les feuilles du poquet flétrissent subitement tout en demeurant vertes (Planche 1a). Des stries sont visibles à la base des tiges (au dessus du sol), à mesure que les faisceaux vasculaires infectés deviennent visibles. Sur les tubercules (Planche 1b), la zone vascularisée est habituellement d'une coloration brun grisâtre et cette coloration peut s'étendre à la chair et à la peau. Les yeux du tubercule deviennent brun grisâtre et peuvent présenter un exsudat collant de même qu'au niveau du stolon.

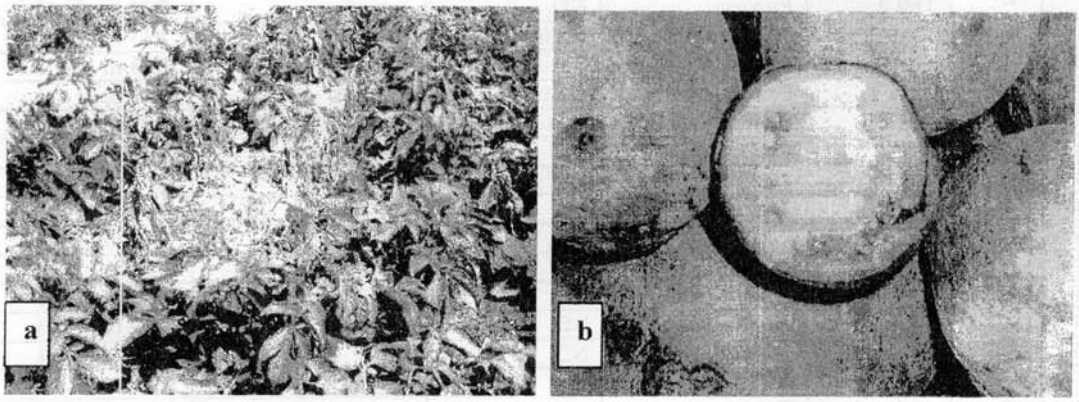


Planche 1 : Poche de plants flétris (a) et exsudat sortant de la région vascularisée sur tubercule (b)

Symptômes sur tomate

Sur la tomate (*Lycopersicum esculentum*), le flétrissement bactérien apparaît initialement comme une flaccidité des jeunes feuilles. Lorsque les conditions environnementales sont favorables, un flétrissement rapide et total survient. Le stade ultime est atteint deux à trois

jours plus tard, suivi d'une mort soudaine. Au contraire, si les conditions environnementales ne sont pas favorables, la maladie se développe lentement et se caractérise par une épinastie foliaire et l'apparition de racines adventives sur la tige. Une section transversale de la tige montre un système vasculaire jaune ou brun clair. Avec la progression de la maladie, la couleur de la tige devient brun foncé. Des lésions imbibées peuvent apparaître sur la tige lors de la survenue d'une invasion bactérienne massive de l'écorce, avec possibilité d'exsudation d'un liquide blanc jaunâtre (OEPP, 2004; ANONYME, 2007).

Symptômes sur autres Solanacées

Sur poivron (*Capscicum annuum*) et aubergine (*Solanum melongena*), les symptômes sont observés plutôt au niveau des feuilles qui subissent le flétrissement et l'épinastie. Les tiges, par leur aspect plus lignifié, restent droites.

4. Discussion

Selon MARTIN et FRENCH (1985), *Ralstonia solanacearum* est inféodé à plusieurs sols tropicaux dans lesquels sa survie est influencée par la température, l'humidité et les facteurs physicochimiques. Une hétérogénéité est observée entre souches de différentes niches écologiques à cause d'une délétion putative identifiée par STEVENS et VAN ELSAS (2006) dans une région du génome, constituant un élément mobile impliqué dans le processus d'adaptation. En effet, *R. solanacearum* est capable de se développer dans différentes niches écologiques, pour cela elle dispose d'un système de régulation très complexe pour intégrer les signaux environnementaux et s'adapter aux conditions dans les quelles elle se trouve (PLENER *et al.*, 2008)

Influence du type de sol

Les résultats portant sur la relation type de sol et flétrissement bactérien sont souvent contradictoires selon POUSSIER (2000). En effet, pour MARTIN et FRENCH (1985), *Ralstonia solanacearum* est originaire de plusieurs sols tropicaux, il survit plusieurs années dans certains de ces sols et disparaît entre deux cycles culturaux dans d'autres. MESSIHA *et al.* (2006) ont quant à eux constaté une baisse des populations de *Ralstonia solanacearum* plus importante dans un sol sableux par rapport à un sol argileux.

Au Niger, l'incidence moyenne du flétrissement bactérien constatée est de 1%, avec un maximum de 2% sur les échantillons prélevés sur les sols argilo-sableux de la région d'Agadez contre respectivement 12,4 % et 10,4 % pour ceux des régions de Dosso et de Tillabéri, toutes deux possédant des sols sableux. VAN VAERENBERGH *et al.* (2006) ont aussi constaté que la plupart des infections avaient lieu sur sol sableux à haute teneur de matière organique et bien irrigués. Or, dans la région d'Agadez, les maraîchers n'utilisent pas le fumier des petits ruminants (cheptel dominant) par craintes des graines de mauvaises herbes (*Orobanche sp.*) ingérées au cours du pâturage (ADAMOU, 2007).

Altitude et température

Selon ATEKA *et al.* (2001) il existe une corrélation négative entre l'incidence et l'altitude. Les taux d'incidence de la maladie inférieurs à 1% sont observés dans la région d'Agadez située en zone saharienne d'altitudes comprises entre 800 et 1600 mètres alors que les taux moyens supérieurs à 10% sont relevés dans la zone sahélienne de faibles altitudes (150 et 300 mètres). Ceci corrobore les observations de OEPP (2005) selon lesquelles des semences certifiées saines à 1520-2120 mètres d'altitude au Kenya ont manifesté la maladie une fois plantées à des altitudes inférieures. Ceci peut expliquer que les producteurs du sud (Niamey,

Dosso et Tillabéri) qui, pourtant s'approvisionnent de préférence auprès des coopératives d'Agadez se plaignent des incidences de la maladie plus fortes que ce qui est signalé dans l'Aïr. GUNAWAN *et al.* (2003) précisent que pour la pomme de terre, la race3 (Biovar 2) est plus virulente à 1300 m d'altitude contre 800 - 1500 m pour la race 1 (Biovar 3).
Les taux d'incidence de la maladie évoluent avec la température. Dans la région d'Agadez, où les températures sont basses la nuit, l'incidence moyenne du flétrissement bactérien ne dépasse guère 2%. A l'opposé, les températures minimales élevées prévalant dans les régions de Dosso, Niamey et Tillabéri favoriseraient des taux d'infection plus élevés. Nos résultats sont en accord avec la plupart des auteurs (DIRK VAN ELSAS *et al.*, 2000 ; LEMAY *et al.*, 2003 ; OEPP, 2005 ; PETER *et al.*, 2006) qui montrent que la maladie est plus grave entre 24 et 27°C, réduite entre 15 et 20°C et rare en dessous de 10 °C. VAN VAERENBERGH *et al.* (2006) ont observé la persistance de la bactérie après un hiver sur culture de *Solanum nigrum*, toutefois cette population n'était plus capable de provoquer une infection sur une nouvelle culture de pomme de terre. La température maximale létale de *R. solanacearum* dans le sol est 45 °C selon PRASANNA KUMAR *et al.*, (2006). Des températures élevées sont régulièrement enregistrées dans la région d'Agadez au cours des mois d'avril à juin et pourraient expliquer les faibles incidences du flétrissement bactérien dans cette région.

Source d'eau et mode d'irrigation

L'eau d'irrigation puisée à plus de 30 mètres de profondeur serait moins infectée par la bactérie ce qui expliquerait les plus faibles taux de maladies observés dans la région d'Agadez. Dans les régions du sud, la nappe phréatique affleurante et l'eau de surface sont les sources d'eau pour l'irrigation de la pomme de terre. La bactérie étant capable de se maintenir dans l'eau (HONG *et al.* 2006) et sur des plantes adventices (MCHUGH *et al.* 2006), les eaux de surface constituent des risques potentiels de propagation de la bactérie. Ce mode d'irrigation appliqué dans les régions du sud expliquerait les fortes incidences de la maladie dans ces régions.

5. Conclusion

Ralstonia solanacearum est rencontrée principalement sur pomme de terre au Niger. La tomate est son second hôte. Les autres Solanacées (Aubergine, Piment, Poivron) semblent plutôt épargnées de la maladie. Les sites maraîchers des régions du sud, situés entre les altitudes de 150 et 300 mètres et caractérisés par des températures minimales plus élevées, des sols sableux, copieusement arrosés par aspersion à partir du fleuve ou de nappes phréatiques peu profondes, présentent les plus fortes incidences de la maladie. Les recherches en perspectives concerneront l'étude de la gamme d'hôtes (plantes cultivées et adventices), ainsi que l'appréciation de la diversité des souches de *Ralstonia solanacearum* susceptibles d'exister au Niger.

Remerciements

Les auteurs remercient très vivement les organismes suivants pour leur appui matériel et financier à la réalisation de ce travail :

- Ministère Français des Affaires Etrangères, Programme CORUS 1 (2004-2007)
- Université Abdou Moumouni de Niamey (Fonds de recherche)
- AGRO-sans –Frontères /Bretagne
- Les partenaires de terrain, notamment le GIE-Takroust d'Agadez et le DFR /INRAN de Bonkoukou.

Références bibliographiques

Adam, T., 1996. Maladies parasitaires des plantes à tubercules cultivées au Niger (Manioc, Patate douce, Pomme de terre). Rapport de consultation. INRAN, PCI, CERRA, Niamey, 48p.

Adamou, I., 2007. Contrôle de la qualité des semences de pomme de terre produites au cours de la période de contre-saison 2006-2007, en préparation de l'opération de multiplication des semences en hivernage 2007 par la réintroduction des semenceaux produits dans la zone du Bagzan. Rapport de mission, Représentation FAO au Niger, Niamey, 19p.

Anonyme, 2007. *Ralstonia solanacearum*. *In*: www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Ralstonia/Ralstonia. Téléchargé le 15/01/2007.

Ateka, E. M., Mwang'ombe, A.W. and Kimenju, J.W., 2001. Reaction of potato cultivars to *Ralstonia solanacearum* in Kenya. African crop science journal, Vol. 9, N°1, 251-255.

CORUS-Niger, 2006. Rapport technique à mi-parcours du Projet de recherche sur les problèmes parasitaires de la culture de pomme de terre au Niger, Décembre, 2006. Niamey, 21 p.

Dirk Van Elsas, J., Kastelein, P., Van Bekkum, P., Van Der Wolf, J-M., De Vries, P.M. and Van Overbeek, L. S., 2000. Survival of *Ralstonia solanacearum* biovar 2, the causative agent of potato brown rot, in field on microcosm soils in temperate climates. *Phytopathology*, Vol. 90, N°12, 1358-1366.

Gunawan, O.S., Abidin, Z., Basuki, R.S., Dimyati, A., Asgar, A. and Van De Fliert, E., 2003. Development of component technologies for control of bacterial wilt in potato. http://www.eseap.cipotato.org/MF-ESEAP/Publications/PSP-2003/10-Oni-Control%20of%20BW.pdf. Téléchargé le 19/06/2006.

Hong, J., Ji, P., Momol, M.T., Olson, S.M. and Jones, J. B., 2006. Association of *Ralstonia solanacearum* in irrigation ponds and on semi-aquatic weeds in North Florida. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 80.

Le Jeann, Y., Jouan, B., Jouan, M.P. et Rault, Y., 2000. Compte rendu de voyage dans la région d'Agadez (Niger), 22 p.

Lemay, A., Redlin, S., Fowler, G. and Dirani, M., 2003. Pest data sheet: *Ralstonia solanacearum* Race 3, biovar 2 (Smith) Yabuuchi *et al.*, USDA/APHIS/PPQ, 9 p.

Martin, C., French, E.R., 1985. Bacterial wilt of potato *Pseudomonas solanacearum*. Centro international de la papa (CIP), Bulletin No 13, Section 2-97,1-8.

Martin, C., French, E.R. and Nydegger, U., 1982. Strains of *Pseudomonas solanacearum* affecting Solanaceae in the Americas. *Plant disease*, Vol. 66, No 6, 458-460.

McHugh, R.C., Van de Graaf, P., Danial, J. and Saddler, G.S., 2006. *Ralstonia solanacearum* : The risk to the Scottish seed potato industry. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 37.

MDA, 2004. *Rapport annuel.* Direction des Statistiques Agricoles, Ministère du Développement Agricole du Niger, Niamey, 6-17.

MDR, 1982. *Fiche Technique.* Maladies de la pomme de terre : Flétrissement bactérien. Service de la Protection des Végétaux, Direction de l'Agriculture/Ministère du Développement Rural du Niger, Niamey, 1 p.

Mian, D., Coranson Beaudu, R., Grassart, L., Wicker, E., Guibaud, C. and Prior, P., 2003. *A new* Ralstonia *population affects* Anthurium *plantations and Cucurbitaceous crops in Martinique.* [Abstract] *In*: Proceeding of the 39th Annual meeting on the Caribbean Food crops Society "Food production, marketing, and safety: Strategies for Caribbean Food Society", St George's Grenada, 13-18 july 2003, pp. 173.

Messiha, N.A.S., 2006. Bacterial wilt of potato (*Ralstonia solanacearum* Race 3, biovar 2): Disease management, pathogen survival and possible eradication. Ph. D Thesis, Wageningen University, the Netherlands, 151 p.

Muriithi, L.M.M., 2000. Farmer participation in management of potato wilt in central and eastern Kenya. African potato association conference proceedings, Kampala, Uganda, 29th may – 2nd june 2000, Vol. 5, pp. 361-367.

OEPP., 2004. Protocoles de diagnostic pour les organismes réglémentés ''*Ralstonia solanacearum* '' PM 7/21. *Bulletin OEPP,* Vol. 34, 173-178.

OEPP., 2005. Fiche informative sur les organismes de quarantaine ''*Ralstonia solanacearum* ''. CABI/OEPP/UE Contrat 90/399003. www.eppo.org/QUARANTINE/bacteria/Ralstonia_solanacearum/F-psdmso.pdf. Téléchargé le 27/07/2006.

Peter, K.V., Sadan Kumar P.G. and Mathew, S.K., 2006. Stability of resistance to bacterial wilt in eggplant, tomato and chilli. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 97.

Plener, L., Valls, M., Delaspre, F., Nieto-Penalver, C., Vorholt, J., Boucher, C. and Genin, S., 2008. Réseau de régulation des gènes de pathogénicité chez *Ralstonia solanacearum*: signaux, gènes cibles et identification de nouvelles fonctions de virulence. *In*: AUSSOIS 2008, 8ème rencontres plantes-bactéries. 14-18 janvier 2008. INRA (Centre de recherche d'Engers), pp. 5.

Poussier, S., 2000. Exploration de la diversité génétique de *Ralstonia solanacearum*, agent du flétrissement bactérien. Détection et dynamique des populations dans les réservoirs d'inoculum. Thèse de doctorat de l'Université de Rennes I, Rennes, France, N° 2443, 149 p.

Prasanna Kumar, M.K., Khan, A.N.A., Chandrashekara, K.N. and Vani, A., 2006. Studies on the ecology of *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt of tomato. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 99.

Priou, S. and Aley, P., 2002. Bacterial wilt of potato. International potato center (CIP), Apartado 1558, Lima 12, Peru, 5p. http://www.cipotato.org/potato/pests_diseases/bacterial_wilt/symptoms.asp. Téléchargé le 21/04/2006.

Priou, S. and Aley, P., Chujoy, E. Lemaga, B. and French, E.R., 1999. Integrated control

of Bacterial wilt of potato. International potato center (CIP), Apartado 1558, Lima 12, Peru, pp. 1-30. http://www.cipotato.org/csd/Materials/Publications/guiaing.pdf. Téléchargé le 22/06/2006.

Sidikou, R.D.S., 2002. Contribution des biotechnologies végétales à l'adaptation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) au Niger. Thèse de Doctorat d'Etat es Sciences, Université Abdou Moumouni de Niamey, Niamey, Niger, 359 p.

Sidikou, R.D.S., Sihachakr, D., Le Roux, A.C., Servaes, A., Ambroise, A., Jouan, B., Ellisseche, D. et Ducreux, G., 2005. Etude de la résistance *in vitro* à *Ralstonia solanacearum* chez six hybrides somatiques de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) et leurs parents. *Cames*, Série A sciences et médecine, Vol. 3, 75-80.

Sivakumar, M.V.K., Maidoukia, A. et Stern, R. D., 1993. Agroclimatologie de l'Afrique de l'Ouest : le Niger. Deuxième édition, ICRISAT/DMN du Niger, Bulletin d'information N°. 5, 108 p.

Stevens, P. and Van Elsas, J. D., 2006. Detection of a genomic island in a Dutch *R. solanacearum* strain. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 24.

Van Vaerenbergh, J., De Paepe, B., Hoedekie, A. and Tahzima, R., 2006. Persistence and infectivity of *Ralstonia solanacearum* R3bv2 in weeds and crop rotation on a potato farm using contaminated river water. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 54.

Vanderhofstadt, B., 2007. La filière pomme de terre. Proplant. SOC International, Hoegaarden, Belgium, p. 33.

Annexe 4 (Communication aux journées scientifiques internationales de Lomé 2010, programme et résumé)

REPUBLIQUE TOGOLAISE
Travail - Liberté - Patrie

ADAMOU DAN
NIGER

UNIVERSITE DE LOME

DIRECTION DE LA RECHERCHE

JOURNEES SCIENTIFIQUES INTERNATIONALES DE LOME

XIV^{ème} EDITION (JSIL 2010)

25 - 29 OCTOBRE 2010

CAMPUS UNIVERSITAIRE , LOME - TOGO

THEME :

LA CONTRIBUTION DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE A LA REDUCTION DE LA PAUVRETE EN AFRIQUE SUB-SAHARIENNE

PROGRAMME DES PRESENTATIONS
RESUMES DES COMMUNICATIONS

Ambassade des Etats Unis d'Amérique

Ambassade de France (SCAC)

AGENCE UNIVERSITAIRE DE LA FRANCOPHONIE

CTA

OPCW

B.P. 1515, LOME (TOGO) Tél. : (+228) 225 40 76 / FAX (+228) 221 85 95 / E-mail : dr_ul@yahoo.fr

NSIKA MIKOKO Elie
Laboratoire de Pathologie Végétale. Département de Biologie et Physiologie Végétales, Faculté des Sciences Université Marien NGOUABI. B.P. 69 Brazzaville CONGO.
Tél 00 242 662 85 67. Email : nsikamik@yahoo.fr

14H 50 – 15H 10 **REPONSE ADAPTIVE DE DEUX LIGNEES DE NIEBE (VIGNA UNGUICULATA (L) WALP) A DOUBLE USAGE A UN STRESS HYDRIQUE.**

M. AZIADEKEY et MAGAMANA Abalo-Esso
Faculté des Sciences.Université de Lomé BP 1515 Lomé. Togo

15H 10 – 15H 30 **ANALYSE DE LA PRODUCTION DE FONIO (DIGITARIA EXILIS) DANS LA COMMUNE DE BOUKOMBE**

PARAÏSO
arparaiso@yahoo.fr

15H 30 – 15H 50 **UTILISATION DE L'HUMIDITE ATMOSPHERIQUE POUR LA CORRECTION DU STRESS HYDRIQUE CHEZ LE MAÏS**

KOTO N'GOBI Gabin, KOUNOUHEWA Basile, MAMADOU Ossénatou, AWANOU Cossi Norbert
Laboratoire de Physique du Rayonnement(LPR) Université d'Abomey Calavi, BP 526 Cotonou; kbbasile@yahoo.fr, kotgabin36@yahoo.fr

15H 50 – 16H 10 **EFFET DE DIFFERENTES SOURCES D'ENGRAIS ORGANIQUES SUR LA PRODUCTION ET LA COMPOSITION CHIMIQUE DE LA LAITUE (LACTUCA SATIVA L.) ET DE LA CAROTTE (DAUCUS CAROTA L.) SUR SOL FERRALITIQUE AU SUD BENIN**

BIAOU Olaïtan Diane Bernice[(1)] ; BACHABI S. François – Xavier[(1)(*)] ; SAIDOU Aliou[(2)]
[(1)] Faculté d'Agronomie – Université de Parakou – Parakou, République du Benin
[(2)] Faculté des Sciences Agronomiques – Université d'Abomey-Calavi ; République du Benin
FA/UP, BP 123 Parakou (Benin); Email : fxbachabi@yahoo.fr

16H 10 – 16H 30 **ETUDE COMPAREE DE LA STRUCTURE ET DE LA PRODUCTION EN FRUITS DU KARITE (VITELLARIA PARADOXA C.F. GAERTN) DES PARCS A KARITE-COTON DE LA ZONE SOUDANIENNE AU BENIN**

GBEMAVO DSJCi, GLELE Kakaï , ASSOGBA D., HOUNATO H, CODJIA JTC1.
Faculté des sciences agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Cotonou, Bénin
Email: cgbemavo@yahoo.fr; gleleromain@yahoo.fr;

16H 30 – 16H 50 **IMPACTS DE L'OCCUPATION DU SOL SUR LES RESSOURCES EN EAU DU COMPLEXE MONO-COUFFO (AFRIQUE DE L'OUEST)**

AMOUSSOU Ernest
UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI ; ajernest@yahoo.fr, ernestamoussou@gmail.com

16H 50 –17H 10 **LA FUSARIOSE DU PALMIER A HUILE : Rôle de la sélection**

SEKOU DIABATE
Centre National de Recherche Agronomique , 01 bp 1740 Abidjan 01, Km 17 Route D'adiopodoumé,
Tel : (225) 23 47 24 24, Fax :(225) 23 47 24 11 , E mail : sekou_diabate2002@yahoo.fr

17H 10 – 17H 30 **LA DIVERSIFICATION DES CULTURES PAR LE DEVELOPPEMENT DE LA POMME DE TERRE : VERS UNE SECURITE ALIMENTAIRE ET UNE LUTTE CONTRE LA PAUVRETE AU NIGER**

ADAMOU Issa , ADAM Toudou, SANKARA philippe
Université de Niamey et Université de Ouagadougou

17H 30 – 17H 50 **INDUCTION OF TETRAPLOIDY IN WHITE COCOYAM CULTIVARS**

OUMAR Doungous
Institute of Agricultural Research for Development, IRAD Ekona Regional Research Centre, PMB 25, Buea, Cameroon

17H 50 – 18H 10 **POTENTIEL ACTIVATEUR DU BENZOTHIADIAZOLE (BTH) ET DU CHITOSANE (CTH) A**

A94- LA DIVERSIFICATION DES CULTURES PAR LE DEVELOPPEMENT DE LA POMME DE TERRE : VERS UNE SECURITE ALIMENTAIRE ET UNE LUTTE CONTRE LA PAUVRETE AU NIGER

ADAMOU Issa, ADAM Toudou, SANKARA philippe
Université de Niamey et Université de Ouagadougou

RESUME

L'agriculture nigérienne est dominée par une céréaliculture (mil, sorgho). Les rendements ne dépassent guère 400 kg par hectare, d'où un bilan alimentaire régulièrement déficitaire. Parmi les causes on peut citer une baisse notoire des précipitations, leur mauvaise répartition dans l'espace et dans le temps ; une érosion génétiques des variétés populations ainsi que la pression démographique.
La recherche de la sécurité alimentaire a guidé le choix des producteurs, des développeurs et des autorités politiques vers une culture alimentaire et de rente à forte potentialité en l'occurrence la pomme de terre (*Solanum tuberosum*). La possibilité d'accroissement du rendement moyen de cette culture observée au Niger est prouvée par sont évolution croissante de 10,1 tonnes/ha en 2001 à 15,9 t/ha en 2004 et 20 t/ha en 2006 (MDA, 2006) pour un cycle cultural particulièrement court (90 jours). Le prix du kg au paysan varie quant à lui 175 FCFA à la récolte à 400 FCFA en hivernage. Pour la même période ces montants sont de 300 FCFA à 1500 FCFA au niveau des revendeurs. Les contraintes au développement de cette culture sont l'absence d'une stratégie efficace de développement de la pomme de terre et sa commercialisation, le faible suivi agronomique et phytosanitaire ainsi que le manque de chambres froides et infrastructures de conservation. Au nombre des ennemis de la pomme de terre le flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* s'est montré particulièrement contraignant.
L'approche de résolution de ces contraintes a consisté à connaître et maîtriser des ennemis (insectes, maladies, nématodes, etc.) d'importance économiques de la pomme de terre. Le recensement et la correction des mauvaises pratiques culturales auprès des producteurs. L'étude de la filière de commercialisation du plant et des tubercules consommables et la construction de structures améliorées de stockage et conservation des récoltes.
Un accent particulier a été mis sur l'étude de la principale maladie bactérienne notamment *Ralstonia solanacearum*. Elle a été signalée pour la première fois au Niger en 1982 (MDR, 1982), sur tomate et pomme de terre. Un inventaire a été effectué dans les principales zones de production au Niger selon un gradient d'altitude allant de 188 à 1 600 mètres respectivement dans les zones soudaniennes à sahariennes. Une caractérisation des souches autochtones a eu lieu, suivie d'un criblage des variétés cultivées au Niger. Les résultats obtenus indiquent que les souches de *Ralstonia solanacearum* collectées au Niger appartiennent pour leur majorité au phylotype II particulièrement rencontré sur la pomme de terre, son principal hôte. Le phylotype I a été identifié sur tomate.

Mots clés : Pomme de terre, Flétrissement bactérien, *Ralstonia solanacearum*, Phylotypes, Niger.

Annexe 5 (Soumis et accepté aux Presses de l'Université de Ouagadougou au Burkina Faso)

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

SECRÉTARIAT GÉNÉRAL

Presses Universitaires de Ouagadougou
SERVICE EDITION
ANNALES DE L'UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU
03 BP 7021 Ouagadougou 03
Tél.: (226) 50 31 31 37 - Fax : (226) 50 30 72 42
e-mail : puo@univ-ouaga.bf

BURKINA FASO
Unité - Progrès - Justice

Ouagadougou, le 01 APR 2011

N° 2011 00031 /UO/SG/PUO/AUO

Le Directeur des Presses Universitaires

A
Monsieur Issa ADAMOU
Université Abdou Mououni
REPUBLIQUE DU NIGER

Objet : Correction de votre article AUO/C-135

Chère collègue,

J'ai le plaisir de vous informer que votre article intitulé **"Etude du comportement de six variétés de pomme de terre (*Solanum Tuberosum L.*) face à la souche Rs-09-76 de *Ralstonia Solanacearum* (E. F. SMITH) Yabuuchi et al. au champ, au sud du Niger"** a été retenu pour publication dans les ANNALES DE L'UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU Série C (*Sciences de la Vie et de la Terre*). Vous voudrez bien effectuer les corrections et tenir compte des suggestions indiquées par l'instructeur et nous retourner la version corrigée électronique sur clé USB, CD, disquette ou par voie de courriel à l'adresse suivante : *puo@univ-ouaga.bf* pour la publication.

Salutations distinguées

Le Directeur,

Presses Universitaires de Ouagadougou * Le Directeur * 03 BP. 7021 Ouaga 03

Pr Abou NAPON
Chevalier de l'Ordre des Palmes Académiques

ETUDE DU COMPORTEMENT DE SIX VARIETES DE POMME DE TERRE (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) FACE A LA SOUCHE Rs-09-76 DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* (E. F. SMITH) YABUUCHI *et al.* AU CHAMP, AU SUD DU NIGER

ADAMOU Issa[1]*, ADAM Toudou[2], LEROUX A-C. [3], SIDIKOU R. Seyni.Djermakoye[4], BARAGE Moussa[5], SANKARA Philippe[6]

[1]*. UFR-SVT, Université de Ouagadougou, 03 B.P.: 7047 Ouagadougou 03, adamou99is@yahoo.fr;

[2]. Faculté d'Agronomie, Université Abdou Moumouni, Niamey. B.P.: 10.960 Niamey, Niger, toudouadam@yahoo.fr;

[3]. INRA, UMR BiO3P Rennes, 35653 Le Rheu cedex ; aleroux@rennes.inra.fr;

[4]. Faculté des Sciences, Université Abdou Moumouni de Niamey. B.P.: 10.662 Niamey, Niger, rsidikouseyni@yahoo.com;

[5]. Faculté d'Agronomie, Université Abdou Moumouni, Niamey. B.P.: 10.960 Niamey, Niger, mouba@refer.ne;

[4]. UFR-SVT, Université de Ouagadougou, 03 B.P.: 7047 Ouagadougou 03, sankph@ird.fr

Correspondance *: adamou99is@yahoo.fr

ETUDE DU COMPORTEMENT DE SIX VARIETES DE POMME DE TERRE (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) FACE A LA SOUCHE Rs-09-76 DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* (E. F. SMITH) YABUUCHI *et al.* AU CHAMP, AU SUD DU NIGER

RESUME

Le comportement de cinq variétés certifiées de pomme de terre d'origine française (Pamela, Pamina, Rosanna, Stemster et Yona) et une variété locale Dan-Hadjia a été évalué sous inoculation artificielle avec la souche autochtone Rs-09-76 de *Ralstonia solanacearum* isolée en 2009 à Bonkoukou. L'étude a été menée sur une parcelle du site expérimental de l'Institut Nationale de la Recherche Agronomique du Niger (INRAN) de Kollo en milieu paysan. Les fragments de tubercules de semences prégermés ont été trempés pendant 30 minutes dans une solution bactérienne concentrée à 2,5 x 10^9 cfu/ml. Le dispositif expérimental comprend un bloc un inoculé et un bloc non inoculé. Il y a trois répétitions de des six traitements (variétés) par bloc. Les principales données collectées concernent le niveau de sévérité de la maladie et l'indice de maladie selon la méthode WINSTEAD et KELMAN (1952), complétés par les tests moléculaires (PCR). Les autres paramètres relevés sont le taux de levée à 23 jours après plantation, la hauteur moyenne des plants, le nombre moyen de tubercules par plant, le poids moyen ainsi que le diamètre moyen des tubercules. L'analyse statistique (ANOVA) de Fisher à 5% (p=0,001) nous a permis de conclure que la variété certifiée Rosanna et la variété locale Dan-Hadjia présente un haut degré de tolérance par rapport à la souche Rs-09-76 de *Ralstonia solanacearum*. Par contre, les variétés Pamela, Pamina et Stemster se sont montré sensibles dans les conditions environnementales de Kollo. En effet, sur ces plantes on a observé le flétrissement de la totalité des plants de ces quatre variétés à 79 jours après inoculation.

Mots-clés
Ralstonia solanacearum, Flétrissement bactérien, Incidence, Indice de maladie, Sud-Niger.

1. INTRODUCTION

Le Niger est un pays sahélien dont les principales activités sont l'agriculture et l'élevage. L'agriculture concerne les cultures céréalières et maraîchères. Les premiers plants de pomme de terre ont été introduits dans les localités de Bonkoukou et Agadez dans les années 60 (ASSOUMANA, 2006 ; Comm. Pers.), par les colons français. La faible implication de la pomme de terre dans l'alimentation des populations locales a entraîné une stagnation de la production de cette spéculation. La recherche de la sécurité alimentaire a orienté le choix des producteurs et des décideurs politiques vers la pomme de terre comme culture alternative d'alimentation et de rente pourvue d'un fort potentiel de production dès l'an 2000. L'effet immédiat a été l'accroissement de la production nationale de pomme de terre qui est passée de 8 000 tonnes au cours de l'année 2000 à 25 000 tonnes en 2004. Les conditions climatiques qui prévalent sur la majeure partie du pays permettent une bonne pratique du maraîchage de novembre à mars. Les tubercules récoltés ne pouvant être conservés entre les mois d'avril et octobre par manque d'abri adéquat et la rigueur du climat, les producteurs nigériens se trouvent assujettis à renouveler leurs commandes de plants de semences chaque année. Ainsi en 2009, près d'un million de tonnes de plants certifiés de variétés et d'origines diverses ont été achetés par l'Etat, les Organisations paysannes (OP) et surtout les partenaires au développement auprès de firmes telle que GERMICOPA. Le mode de multiplication végétatif de la pomme de terre favorise la transmission de nombreux pathogènes viraux, bactériens et fongiques. Les autres parasites de la pomme de terre sont les nématodes, les insectes, les acariens, etc.

L'objectif de cet essai est d'étudier le comportement des principales variétés appréciées par les producteurs nigériens notamment, cinq variétés certifiées d'origine française (Pamela, Pamina, Rosanna, Stemster et Yona) et la variété locale Dan-Hadjia sous inoculation artificielle avec la souche Rs-09-76 de *Ralstonia solanacearum* isolée en 2009 sur un plant infecté de pomme de terre de la variété Dan-Hadjia à Bonkoukou.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel

2.1.1. Le matériel végétal

Six (6) variétés certifiées de pomme de terre obtenues de la firme GERMICOPA ont été utilisées au cours de cette évaluation. Ces génotypes considérés indemnes de *Ralstonia solanacearum*, sont déjà cultivés en milieu paysan. Il s'agit des variétés Pamela, Pamina, Rosanna, Stemster, Yona et Dan Hadjia un cultivar local de référence, introduit du Nigeria depuis une dizaine années et qui semble être le principal réservoir de *Ralstonia solanacearum*.

2.1.2. Le site expérimental

L'expérience a été conduite sur les terres de la station de l'Institut Nationale de Recherches Agronomiques du Niger (INRAN) du département de Kollo, région de Tillabéri à 30 km au sud de Niamey, la capitale du Niger. La station est située à 184 mètres d'altitude avec comme coordonnées géographiques 13° 19' 22'' Nord de latitude et 02° 20' 00'' Est de longitude. Les sols sont de texture sableuse et sablo argileuse. Les températures minimales se situent entre 22 et 23 °C, et les maxima entre 39 et 41°C. La pluviométrie moyenne annuelle est d'environ 500 mm.

2.1.3. L'inoculum bactérien

La souche bactérienne utilisée provient de la collection faite entre Mai et Juillet 2009 à l'UMR-BiO3P. Il s'agit de la Rs-09-76 ; appartenant au phylotype III, isolée d'un échantillon de la variété Dan-Hadjia collecté dans la localité de Bonkoukou à 150 km au nord de Niamey. La dénomination signifie : (Rs) pour l'espèce *Ralstonia solanacearum* ; (09) pour 2009, année de récolte et d'isolement et (76) pour le 76ème échantillon collecté lors de la prospection 2009 au Niger.

2.2. Méthode

2.2.1. Le dispositif expérimental au champ :

Le dispositif expérimental comprend deux blocs (un inoculé et un témoin non inoculé). Chaque bloc compte trois (3) répétitions des six (6) variétés soit un total de 36 parcelles élémentaires. Dans une parcelle élémentaire, chaque variété de pomme de terre est semée sur trois (3) lignes de 1,5 mètres. Les lignes sont espacées de 60 cm et les poquets de 30 cm, soit 21 poquets par parcelle élémentaire. Les variétés sont disposées de façon aléatoire suivant les répétitions.

2.2.2. Technique d'inoculation des fragments de plants de semences

L'inoculum a une concentration de $2,5x10^9$ cellules/ml. Il est obtenu de la culture de la souche Rs-09-76 de *Ralstonia solanacearum* à 28°C +/-2°C pendant 48 h sur le milieu LPGA (Levure Peptone Glucose Agar), composé de 7.0 g d'Extrait de levure, 7.0 g de Peptone, 7.0 g de Glucose et 15 g d'Agar mélangés dans un litre d'eau distillée. La technique d'inoculation retenue est le trempage des fragments de tubercules de semence prégermés dans 500 ml de la suspension bactérienne pendant 30 minutes juste avant la plantation.

2.2.3. Technique de collecte des données

Le développement des symptômes est noté de façon régulière pendant 2 mois. L'évaluation est faite sur les parties aériennes en observant l'apparition des symptômes du flétrissement: épinastie, chlorose et/ou rabougrissement à un intervalle régulier de sept (7) jours à partir de la levée complète ; c'est-à-dire environ 21 jours après la plantation. Ceci permet d'évaluer la cinétique de développement de la maladie selon l'échelle de LE ROUX (2003). Les huit (8) classes de notation sont : Classe 0 = plante saine ; classe1 = 1 seule feuille flétrie ; classe 2 = 5 à 20% de la plante flétrie ; classe 3 = 20 à 40 % de la plante flétrie ; classe 4 = 40 à 60 % de la plante flétrie ; classe 5 = 60 à 80 % de la plante flétrie ; classe 6 = 80 à 100% de la plante flétrie ; classe 7 = plante morte. Les tubercules fils sont récoltés en fin de culture et soumis à des tests moléculaires afin de détecter la bactérie même sous forme latente. Les données sont collectées au niveau des trois (3) poquets centraux de la seconde ligne. On appréciera entre autres, le nombre de tubercules par plant échantillonné, le poids moyen des tubercules par plant échantillonné et le diamètre moyen des tubercules par plant échantillonné.
L'Indice de maladie (IMr) de WINSTEAD et KELMAN (1952) est obtenu en utilisant la formule suivante :

$$IMr = \sum Ci\ Ni / \sum Ni$$

IMr : Indice de maladie ; Ci : Cœfficient ; Ni : Nombre de plantes.

2.2.4. La préparation des échantillons

Il s'agit d'échantillons de tubercules fils prélevés sur les trois (3) plants retenus par parcelle élémentaire. Chaque échantillon est lavé à l'eau du robinet pour éliminer les particules de sol et de

matières organiques. Il est ensuite désinfecté avec de l'éthanol à 95° puis séché sur du papier absorbant à même la paillasse pendant une nuit. La peau de chaque tubercule est enlevée au moyen d'un scalpel muni d'une lame stérile juste au niveau du stolon. Un cône est découpé des tissus vasculaires. Les cônes de tous les tubercules d'un même échantillon sont mis dans un pot muni de couvercle et préalablement identifié.

Les cônes de chaque pot échantillon sont recouverts avec un volume suffisant (3 à 5 ml) de tampon d'extraction PB 0,05 1X et placés sur un agitateur rotatif (50 tours/minute) pendant 4 heures à une température de 27 °C. 500 µl de bouillon de cellules bactériennes et végétales (macérat) sont prélevés à l'aide d'une pipette de précision et déposés dans des tubes Eppendorf stériles de 2 ml, préalablement marqués aux références des échantillons. Les tubes sont centrifugés à 13.000 rpm pendant 10 minutes et le surnagent est jeté sans déranger le culot. L'ensemble des culots sont stockés à – 20°C au congélateur en attendant l'extraction des ADN.

2.2.5. La caractérisation des souches de *Ralstonia solanacearum*

La caractérisation est faite grâce aux tests moléculaires par amplification enzymatique de l'ADN bactérien extrait du culot obtenu après centrifugation des macérats. Elle permet de confirmer que c'est bien la souche inoculée qui a été à la base des symptômes observés sur les plants malades dans l'essai.

2.2.5.1. L'extraction d'ADN bactérien

Les culots sont suspendus à nouveau, chacun, dans 500 µl de TEN contenant 4 mg / ml de Lysozyme puis incubé à la température ambiante pendant 1 h. Il est ajouté 30 µl de SDS 10% et 5 µl de Protéinase K à 20 mg/ml à chaque tube avant de les incuber à 37°C pendant 2 h. En suite, 100 µl de NaCl 5M sont ajoutés par tube et bien homogénéisés avant l'addition de 80 µl de CTAB / NaCl et incubés à 65°C pendant 10 minutes. Un volume égal (soit 800 µl environ) de Chloroforme-alcool Isoamylique (24 vol. / vol.) y est rajouté, puis les tubes sont centrifugés à 13000 rpm pendant 30 minutes. 500 à 600 µl de surnagent sont délicatement récupère dans de nouveaux tubes. Il faut y ajouter 1,2 ml d'Ethanol absolu glacial et remettre au congélateur (- 20°C) pendant au moins 30 minutes. Centrifuger à nouveau les tubes pendant 20 minutes à 13000 rpm, 10°C et éliminer le surnagent. Le culot récupéré est rincé avec 1 ml d'Ethanol à 70%, centrifugé à nouveau puis séché sur la paillasse toute une nuit. 100 µl d'eau ultrapure stérile sont utilisés pour suspendre les culots d'ADN bactérien. Des dosages d'ADN sont effectués afin d'obtenir des échantillons de travail calibrés à la concentration 20 - 25 ng/µl. La procédure consiste à calculer la concentration d'ADN en comparant l'intensité de la bande de l'échantillon à une échelle de l'intensité des bandes du marqueur qui varie de 55 ng/µl à 10 ng/µl.

2.2.5.2. La réaction de Polymérisation en chaîne (PCR)

La préparation du mélange de la PCR appelée encore Mix PCR est faite après détermination du nombre total d'échantillons à traiter aux concentrations 10^0 et 10^{-1} et des témoins positifs et négatifs. Deux techniques ont été utilisées. La PCR phylothype OPINA (1997) dont le but est de détecter les bactéries de l'espèce *R. solanacearum* dans les macérats et la PCR phylothype Multiplex qui permet de séparer les différents phylotypes *R. solanacearum*. Le thermocycleur est réglé sur 96 tubes de 25 µl et 30 cycles. Chaque cycle comprennent une phase de dénaturation : 0 à 1 minute à 95°C, une phase d'hybridation ou d'appariement des amorces : 2 à 60 secondes à 56-64°C, enfin une phase d'élongation : 4 à 120 secondes à 72°C. La migration est effectuée sur un gel d'Agarose (1,5%). La lecture est faite en chambre noire sous rayonnement Ultra violet (UV) en mode transluminance, vidéo inverse.

2.2.5.3. Le réisolement de la souche inoculée, Rs-09-76

Il s'agit de confirmer que c'est bien la souche inoculée qui a été à la base des symptômes observés sur les plants malades au cours du développement végétatif. La caractérisation est faite par culture sur milieux Tétrazolium Chloride (TZC). La purification se fait sur milieu LPGA (Levure peptone glucose agar).

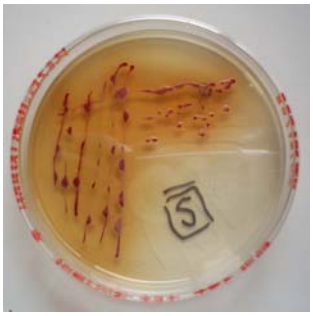


Photo 1 : Culture pure de *R. solanacearum* sur milieu LPGA (Levure peptone glucose agar).

2.2.6. L'analyse des données et expression des résultats

Des histogrammes et des courbes ont été produits en fonction des données récoltées. Parmi les tests statistiques effectués on note l'ANOVA de Fisher, la comparaison des moyennes par le Duncan multiple range test (DMRT) ainsi que l'Analyse factorielle des correspondances (AFC).

3. RESULTATS

3.1. L'influence du flétrissement bactérien sur le taux de levée

Le tableau 1 présente des taux de levée au 23ème JAP (jour après plantation) des différentes variétés testées dans cet essai. En générale, toutes les variétés ont levé à 100% au niveau des parcelles du bloc non inoculé et à plus de 80% dans celles du bloc inoculé. Il a été observé des manques de levées respectifs de 19,05% chez la variété Stemster, 9,52% pour la variété Pamina et 4,76% pour les variétés Pamela et Yona.

Tableau 1 : Estimation du taux de levée à 23 jours après plantation.

Variété	Taux de levée (%)	
	Bloc Inoculé	Bloc Non inoculé
Dan-Hadjia	100	100
Pamela	95,24	100
Pamina	90,48	100
Rosanna	100	100
Stemster	80,95	100
Yona	95,24	100

Les données du tableau 1 attestent de la bonne qualité des lots de semences certifiées importées, ainsi que celles de la variété locale Dan-Hadjia. La variété locale et la variété Rosanna ont toutes deux présenté 100% de levée au niveau des plants du bloc inoculé.

3.2. L'incidence du flétrissement bactérien estimée à 30 pours après plantation

Les taux d'incidence de la maladie évaluée en pourcentage (%) du nombre de plantes malades quelque soit le degré des symptômes sur le nombre de plantes observées dan la parcelle, multiplié par cent (100) sont représentés dans le tableau 2. Les résultats indiquent qu'à 30 JAP aucun plant ne présentait de symptômes au niveau des parcelles du bloc non inoculé. Par contre, au niveau des parcelles du bloc inoculé, les taux moyens d'incidence du flétrissement bactérien du à *Ralstonia solanacearum* sont respectivement de 9,52% pour la variété locale Dan-Hadjia ; 14,29% pour la variété Yona et 19,05% pour la variété Stemster. La variété Rosanna présente l'incidence la plus faible (4,76%), par contre la variété Pamela a démontré le taux le plus élevé (42,86%) suivie de la variété Pamina (38,10%).

Tableau 2 : Estimation de l'incidence du flétrissement bactérien 30 jours après plantation.

Variété	Taux d'incidence (%)	
	Bloc Inoculé	Bloc Non inoculé
Dan-Hadjia	9,52	0
Pamela	42,86	0
Pamina	38,10	0
Rosanna	4,76	0
Stemster	19,05	0
Yona	14,29	0

Les résultats du test montrent que toutes les variétés utilisées ont été sensibles à l'inoculation avec la souche Rs-09-76. La variété Rosanna et la variété Dan-Hadjia ont présenté les plus faibles taux d'attaque dans les parcelles du bloc inoculé.

3.3. L'évolution de l'indice du flétrissement bactérien chez les six variétés

L'évolution de l'indice du flétrissement bactérien sur les plants des parcelles du bloc inoculé chez les six variétés étudiées est présentée sur la figure 1. Chez la variété locale Dan-Hadjia, jusqu'au 37ème jour après plantation (37JAP), la courbe indique la valeur (0%). Une légère remonté a été observée à 44JAP avec 5,56% et s'est poursuivie de manière ascendante avec 15,89% à 51JAP, 26,94% à 58JAP et 46,68% à 65JAP, pour se stabiliser à 72JAP avec la valeur de 66,67%. Par contre chez les plantes de la variété Pamela, il est observé 15,06% dès la première évaluation à 23JAP. Puis 63,67% à 44JAP ; 82,22% à 58JAP pour atteindre le maximum (100%) dès 72JAP. Cette valeur est restée constante jusqu'à la fin de l'évaluation à 79JAP. Au niveau des plantes de la variété Pamina, il est observé jusqu'à 28% dès la première évaluation à 23JAP. Un léger plateau est observé entre 30JAP et 37JAP avec respectivement 43,67% et 47,33%. Une remontée assez brutale est constatée entre 37JAP et 44JAP avec respectivement 47,33% et 76,67%. 90,28% sont atteints dès la date de 58JAP. L'indice de 100% est atteint à 72JAP, cette valeur est restée constante jusqu'à la fin de l'évaluation à 79JAP. Chez les plantes de la variété Rosanna, la maladie s'est manifestée seulement à 30JAP. La valeur de l'indice de maladie prend un caractère ascendant avec 5,56% à 37JAP ; 14,72 à 44JAP ; 31,39% à 51JAP ; 48,06% à 58JAP ; 62,56% à 65JAP ; 79,22% à 72JAP et 83,61% à la fin de l'évaluation, soit à 79JAP. Chez les plantes de la variété Stemster, la maladie est observée dès la première évaluation à 23JAP. Une légère remontée est observée de 23JAP à 37JAP avec respectivement 11,44% et 28,89%, tandis qu'une brusque remontée est observée avec 64,44% à 44JAP. La courbe s'est approchée de sa valeur maximale dès la date 65JAP avec 98,89% pour atteindre 100% à 72JAP et persister jusqu'à la fin de l'évaluation (79JAP). Pour ce qui est des plantes de la variété Yona, la valeur nulle (0%) a été observée seulement à 23JAP. La valeur de l'indice de maladie est restée quasiment constante entre 30JAP et 37JAP avec

respectivement 11,44% et 14,44% avant d'entamer son ascension à 44JAP avec 31,44%. Il est observé 53,61% à 51JAP ; 70,28% à 58JAP ; 77,78% à 65JAP ; 87,78% à 72JAP et 88,89% à la fin de l'évaluation.

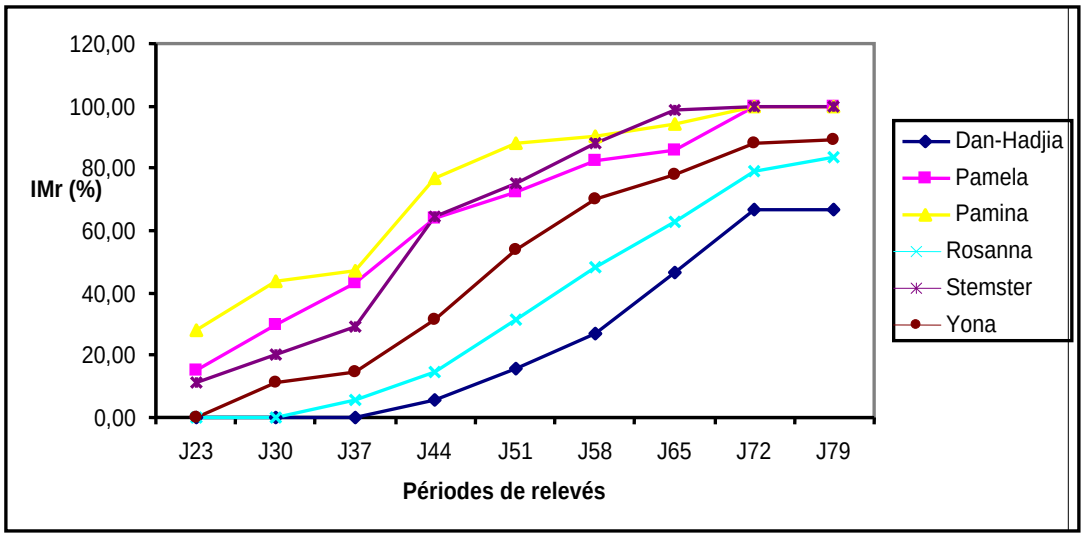


Figure 1 : Evolution de l'indice du flétrissement bactérien sur les plants des parcelles du bloc inoculé chez les six variétés étudiées.

3.4. Effet du flétrissement bactérien sur la hauteur des plants

La figure 2 présente les hauteurs moyennes des plants des 6 variétés étudiées au niveau des blocs inoculés et non inoculés à 53JAP. D'une manière générale, les hauteurs moyennes mesurées chez les plants du bloc non inoculé sont plus élevées que celles des plants du bloc inoculé. Les écarts les plus élevés sont constatés respectivement chez la variété Pamina (16,7 cm), la variété Yona (14,1 cm), la variété Pamela (8,4 cm) et 4,9 cm pour la variété Stemster. L'écart le plus faible est observé chez la variété Dan-hadjia avec 1,6 cm suivie de la variété Rosanna (2,1 cm).

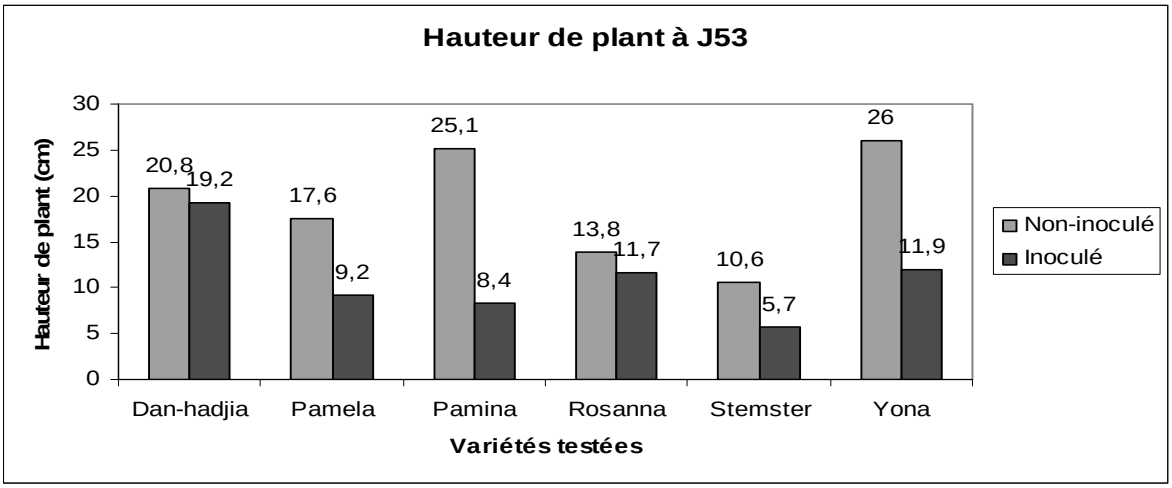


Figure 2 : Evaluation de la hauteur des plants chez les six (6) variétés étudiées au 53ème jour après plantation.

3.5. Effet du flétrissement bactérien sur le nombre de tubercules par plant, leurs calibres et leurs poids

3.5.1. Effet de la bactériose sur le nombre de tubercules fils par plant

La figure 3 présente les nombres moyens de tubercules fils produits par les plants des 6 variétés étudiées au niveau des deux blocs à 79JAP. Dans le bloc inoculé, seules les variétés Dan-Hadjia et Rosanna ont produit des tubercules avec des moyennes de 3,22 et 0,56 tubercules. Les dommages dus au flétrissement bactérien ont empêché toute production chez les variétés Pamela, Pamina, Stemster et Yona. Par contre au niveau du bloc non inocule, toutes les six variétés ont présenté une production. Les moyennes observées par plant varient de 3,56 tubercules pour la variété Yona à 1,33 tubercules pour la variété Stemster. L'analyse des variances (ANOVA) indique une différence significative au seuil de 5% ($p<0,0001$) entre les 6 variétés d'une part et entre les parcelles du bloc non inoculé et celles du bloc inoculé.

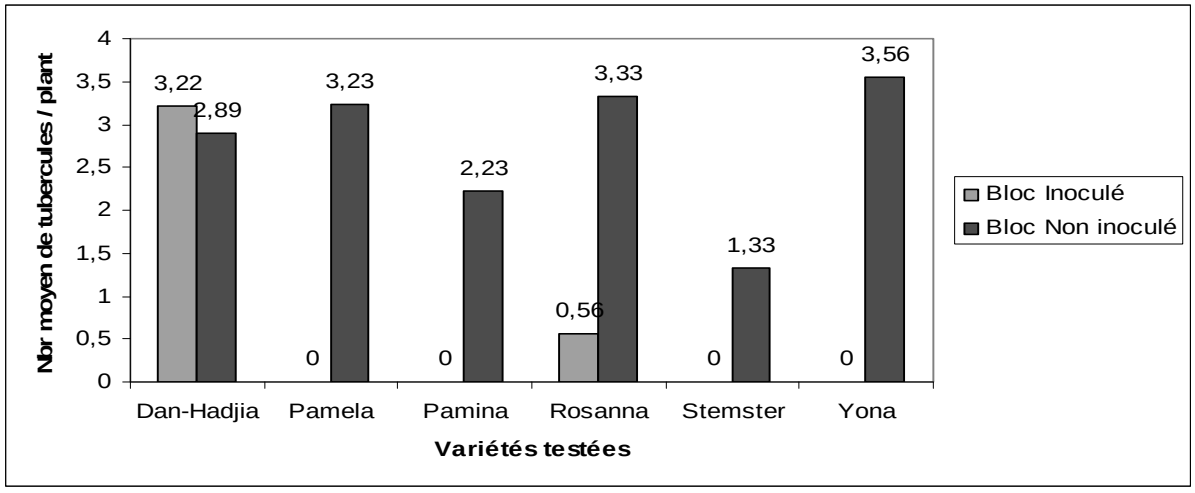


Figure 3 : Evaluation du nombre moyen de tubercules chez les plants des six (6) variétés étudiées au 79ème jour après plantation.

3.5.2. Effet du flétrissement bactérien sur le diamètre moyen des tubercules fils

La figure 4 présente les diamètres moyens de tubercules fils produits par les plants des 6 variétés étudiées au niveau des trois répétitions, respectivement dans le bloc non inoculé et inoculé à 79JAP. L'analyse des variances (ANOVA) indique une différence significative au seuil de 5% ($p<0,0001$) entre les 6 variétés. Il est observé une similarité entre le diamètre moyen du tubercule et le nombre moyen de tubercules produits par variété et par bloc.

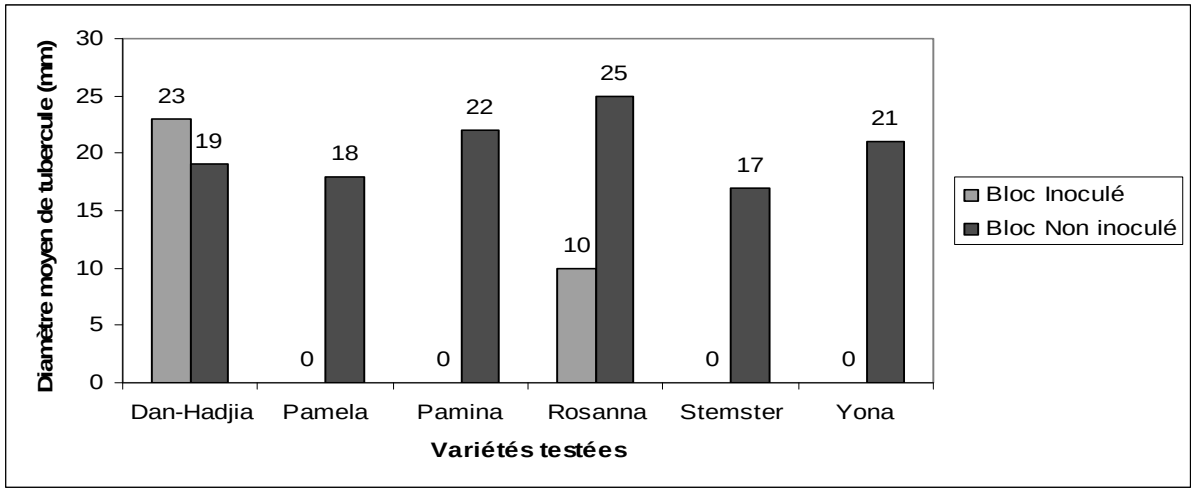


Figure 4 : Evaluation du diamètre moyen des tubercules chez les plants des six (6) variétés étudiées au 79ème jour après plantation.

3.5.3. Effet du flétrissement bactérien sur le poids des tubercules fils

Les poids moyens de tubercules fils produits par les plants des 6 variétés étudiées au niveau du bloc non inoculé et du bloc inoculé à 79JAP sont présentés sur la figure 5.
Les plus gros tubercules sont produits par les plants de la seconde répétition chez les six variétés du bloc non inoculé. Il est noté 11,40 grammes (g) pour la variété Dan-Hadjia, 09,78 g pour la variété Pamina, 10,29 g chez la variété Rosanna. Chez la même variété, le poids moyen observé au niveau du bloc inoculé est de 3, 26 g environ 3 à 4 fois inférieur à la valeur observée au niveau du bloc Non inoculé. Il existe une différence significative au seuil de 5% ($p<0,0001$) entre les 6 variétés.

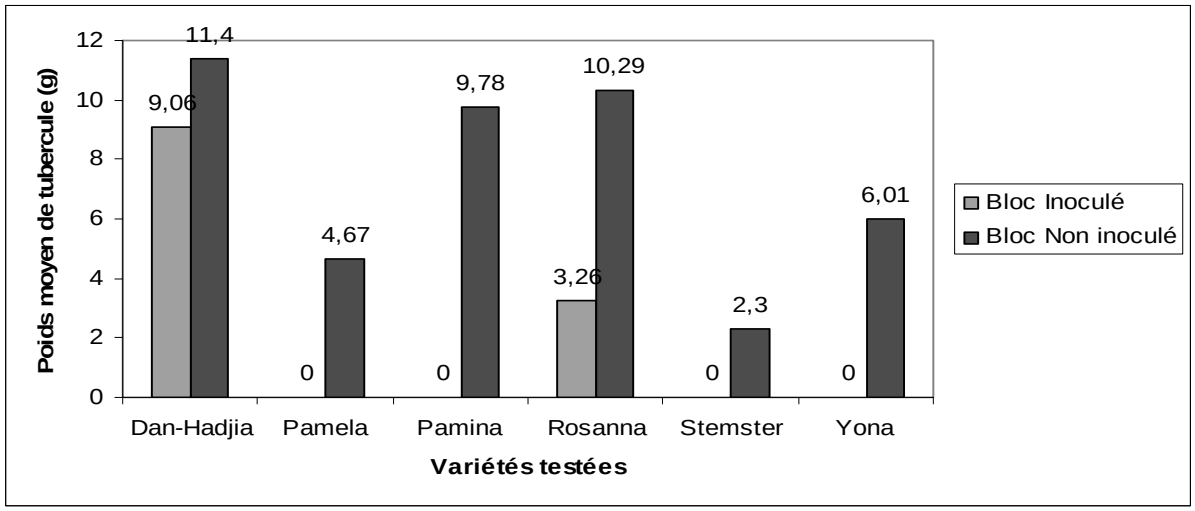


Figure 5 : Evaluation du poids moyen des tubercules chez les plants des six (6) variétés étudiées au 79ème jour après plantation.

3.5.4. Résultats des tests de caractérisation des souches de *Ralstonia solanacearum*

A l'issue des tests PCR Multiplex standard et modifiée, la souche Rs-09-76 de *Ralstonia solanacearum* de phylotype III initialement inoculée artificiellement aux fragments de tubercules de semences a été retrouvée sur l'ensemble des plantes échantillonnées. Les résultats sont présentés sur les figures 6, 7 et 8.

3.5.4.1. Résultats de la Polymérisation en chaîne (PCR), avec les amorces 759 et 760 PCR spécifique de l'espèce *Ralstonia solanacearum*

Les résultats des tests biochimiques (isolements sur milieux TZC et LPGA) et moléculaires ont permis d'isoler et de révéler la souche Rs-09-76 sur les plants inoculés des 6 variétés. La figure 6 présente les résultats du test PCR avec les amorces 759 et 769, sur gel d'agarose.

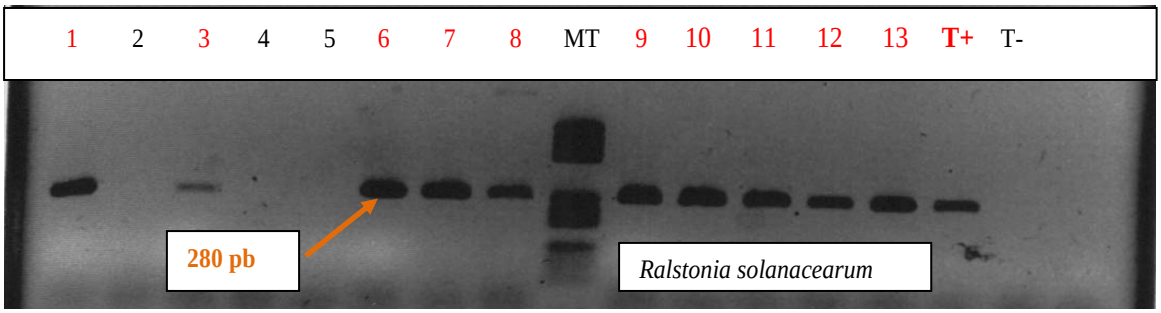


Figure 6 : Gel de migration des ADN des échantillons contaminés par la souche Rs-09-76 selon la technique de la PCR phylotype 759/760.

Les échantillons numéros 1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 et le témoin positif (T+) présentent une bande à 280 pb caractéristique de l'espèce *Ralstonia solanacearum*. Tous les échantillons qui ont réagi positivement à la PCR phylotype 759/760 sont ensuite soumis à une PCR Multiplexe afin de confirmer l'identité du phylotype III de la souche inoculée. Les figures 7 et 8 présentent les résultats du test de la PCR Multiplexe.

3.5.4.2. Résultats de la PCR Phylotype Multiplex spécifique aux phylotypes de *Ralstonia solanacearum*

La Figure 7 présente les résultats du test PCR Multiplexe chez la variété Rosanna. Les échantillons positifs (rouge) sont issus des plants du bloc inoculé avec la souche Rs-09-76.

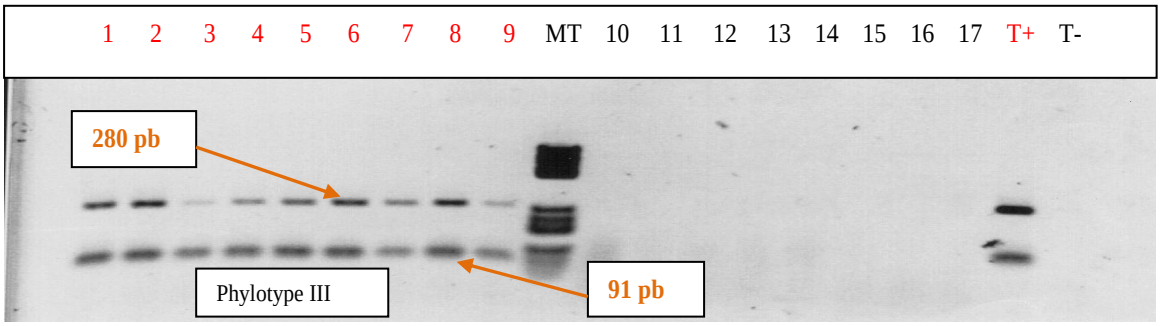


Figure 7 : Résultats de la PCR Phylotype sur les macérats de la variété Rosanna inoculé (numéros 1 à 9) à gauche et Rosanna non inoculé (numéros 10 à 17) à droite.

Au niveau de la variété Rosanna, tous les macérats obtenus des plants des trois répétitions du bloc inoculé (numéros 1 à 9) ont révélé la présence de la souche Rs-O9-76 de phylotype III, caractérisés par la présence de deux bandes l'une à 280 pb spécifique de l'espèce *Ralstonia* et l'autre à 91 pb indiquant le phylotype III. Par contre les macérats issus des plants du bloc non inoculé sont tous négatifs.

La Figure 8 présente les résultats du test PCR Multiplexe chez la variété locale Dan-Hadjia. Seuls les échantillons 3 et 6 et le témoin positif (rouge) ont présenté la bande à amplicon de 91 pb spécifique du phylotype III auquel appartient la souche Rs-09-76.

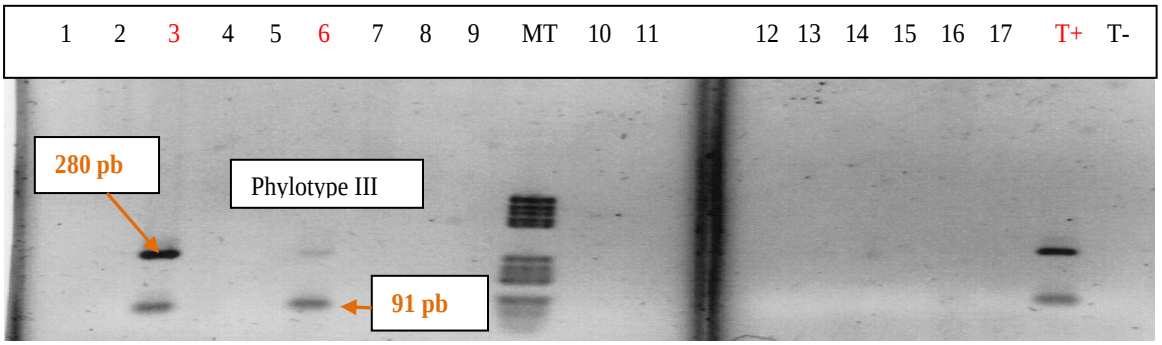


Figure 8 : Gel de migration de la PCR Phylotype pour les macérats de la variété Dan-Hadjia inoculé (numéros 1 à 9) à gauche et Dan-Hadjia non inoculé (numéros 10 à 17) à droite.

Chez la variété Dan-Hadjia, se sont seulement les échantillons numéros 3 et 6 du bloc inoculé, ainsi que le témoin positif (T+) qui ont révélé la présence de deux bandes l'une à 280 pb spécifique de l'espèce *Ralstonia* et l'autre à 91 pb spécifique de la souche Rs-O9-76 de phylotype III. Sur la partie gauche du gel, les macérats issus des échantillons du bloc non inoculé (numéros 10 à 17) ont réagi négativement à la PCR phylotype multiplexe.

4. DISCUSSION

L'incidence de la maladie calculée selon la formule de WINSTEAD et KELMAN (1952) donne respectivement 42,86% et 38,05% pour les variétés Pamela et Pamina à la date 30 jours après plantation comme indiqué dans le tableau 3. Ces deux variétés sont considérées comme étant les plus sensibles. Elles sont suivies par la variété Stemster avec 19,05% et la variété Yona avec 14,29%. La forte sensibilité des variétés importées d'Europe a déjà été constatée par ADAMOU *et al.* (2007 ; 2009) avec les variétés Désirée, Sahel. La variété locale Dan-Hadjia qui est habituellement le réservoir de la maladie n'est atteinte qu'à 9,02% juste derrière la variété Rosanna avec 4,76%. Ces deux dernières variétés semblent avoir toléré la maladie, en particulier la variété locale Dan-Hadjia. Ces résultats se rapprochent de ceux de LOPES *et al.* (2006) selon lesquels une variété est dite résistante lorsque sa performance est stable au cours de l'année et ne dépasse guerre 10% d'incidence de flétrissement bactérien.

Dans une autre étude de l'incidence de *Ralstonia solanacearum* sur arachide en Ouganda, BUSOLO-BULAFU (1997) considère une variété ayant un taux d'incidence du flétrissement bactérien inférieur à 10% comme étant peu sensible. Entre 11 et 20% la variété est dite modérément résistante. Par ailleurs, WANG *et al.* (1997a) considèrent une variété avec une note de 11% d'incidence, comme étant à haut degré de résistance. A partir de 57% d'incidence la variété est dite à résistance intermédiaire. Elle est caractérisée de très sensible à partir de 90% d'incidence. Enfin, PETER *et al.* (2006) considèrent la variété indienne d'aubergine comme résistante avec 5,36% de flétrissement bactérien.

Tableau 3 : Comportement des six variétés du bloc inoculé à la date de 30 jours après la plantation (JAP)

Variété	**Incidence moyenne A 30 JAP (%)**	**Classe de résistance**
Dan-Hadjia	9,52	Tolérante
Pamela	42,86	Très sensible
Pamina	38,09	Très sensible
Rosanna	4,76	Tolérante
Stemster	19,05	Sensible
Yona	14,29	Sensible

Le comportement des six variétés testées indique que la variété locale Dan-Hadjia et la Rosanna ont exprimé un certain degré de tolérance au flétrissement bactérien avec 33,33% de plants ayant survécu à l'inoculation avec la souche Rs-09-76 à la fin du test à 79 jours après plantation (79JAP) comme rapporté au tableau 4. La variété Yona est qualifiée de sensible avec 11, 11%. Quant aux variétés Pamela, Pamina et Stemster avec 0,0% de plants ayant survécu à la fin de l'expérience, elles sont considérées comme étant très sensibles. Nos observations confirment celles de WANG *et al.* (1997b) qui apprécient la résistance au flétrissement bactérien par les estimations en % de plantes ayant survécu à la fin de l'essai.

Tableau 4 : Comportement des six variétés en fin d'évaluation de l'essai

Variété	**Pourcentage de plantes ayant survécu à la fin de l'essai J79. (%)**	**Classe de sensibilité au flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*)**
Dan-Hadjia	33,33	**Tolérante**
Pamela	0	Très sensible
Pamina	0	Très sensible
Rosanna	33,33	**Tolérante**
Stemster	0	Très sensible
Yona	11,11	Sensible

Il est communément admis que la résistance contre *Ralstonia solanacearum* est de type polygénique (WANG *et al.,* 1997b ; DESLANDES *et al.,* 1997). De ce fait, le meilleur moyen de contrôle du flétrissement bactérien est la recherche de variétés résistantes. Mais GRIMSLEY et HANSON (1997) ont remarqué que la résistance de type monogénique est plus facilement contournée par les différentes souches de *Ralstonia solanacearum*. Enfin, LEBEAU *et al.,* (2010) ont testé 12 souches de *Ralstonia solanacearum* appartenant aux phylotypes I, II et III sur 30 différentes variétés de tomate, d'aubergine et de piment. Ils conclurent que, chez la tomate, certaines souches de *Ralstonia solanacearum* contournent toutes les sources de résistance testées. A l'inverse, les souches les plus virulentes de *R. solanacearum* sont contrôlées par au moins une source de résistance chez l'aubergine ou le piment. Selon lui, le piment est l'espèce qui montre le plus de cas d'infection latente. Des résultats similaires ont été obtenus par CELLIER et PRIOR (2010) au cours de leurs travaux sur la diversité génétique, phylogénétique et discernement du pouvoir pathogène sur Solanacées des souches de *Ralstonia solanacearum*.

Les résultats des analyses moléculaires effectuées avec les amorces 759/760 et la PCR Phylotypes multiplexe ont fait ressortir deux aspects. Premièrement, tous les échantillons issus des

parcelles du bloc non inoculé se sont révélés négatifs pour les deux tests, démontant l'absence de tubercule portant une infection latente aussi bien chez les variétés certifiées importées d'Europe que chez la variété locale. Deuxièmement, les PCR ont été positifs pour les échantillons du bloc inoculé, pour les variétés Pamela, Pamina, Rosanna, Stemster et Yona et globalement négatifs pour la variété locale Dan-Hadjia malgré le trempage de 30 minutes dans la solution de l'inoculum à la quelle tous les tubercules de semences destinés à ce bloc ont été soumis. Nos observations se rapprochent des conclusions de LEROUX-NIO *et al.* (2008) selon lesquelles le taux de contamination latente de la descendance d'une culture de pomme de terre infectée par *Ralstonia solanacearum* pouvait atteindre 30% à la récolte. Pour MARCO *et al.* (2005) et DESLANDES *et al.* (1997), il existe une grande variabilité dans les interactions du complexe de souches *Ralstonia solanacearum* et sa gamme d'hôtes ; l'importance des conditions environnementales qui influencent ces interactions et la complexité des mécanismes impliqués dans ce pathosystème caractérisé par la faiblesse des résistances de type gène pour gène fragilisent la stabilité des variétés résistantes.

Tous les échantillons utilisés dans ces tests moléculaires sont issus de tubercules fils issus des plants sélectionnés dans les parcelles du bloc inoculé avec la souche Rs-09-76. Les résultats positifs des tests PCR effectués sur les tubercules fils prouvent qu'ils étaient porteurs d'une infection latente puisqu'ils ne présentent pas de symptômes apparents. Ces observations confirment ceux de KINYUA *et al.* (2006) qui ont démontré qu'un plant malade issu d'un tubercule infecté de manière latente pouvait transmettre la maladie aux autres plantes saines situées dans un rayon de 60 cm autour de lui. Plus récemment, LEROUX-NIO *et al.* (2008) ont démontré que des tubercules certifiés sains par des tests sérologiques d'Immunofluorescence et moléculaires (PCR) pouvaient produire une descendance contaminée 11% et 8% après respectivement une et deux années de multiplication. Par contre, PRIOU *et al.* (2006) affirment que le CIP a mis au point des variétés de pomme de terre ayant un bon potentiel de production en sol fortement infesté par *Ralstonia solanacearum* dans les années 90; mais la plupart de ces génotypes présentaient une infection latente au niveau des tubercules fils ce qui demeure toujours un risque de dispersion de la maladie. Au terme de leurs études, ils conclurent qu'en réalité aucun niveau satisfaisant de résistance ne pouvait être obtenu chez la pomme de terre car tous les génotypes présentent une infection latente des tubercules susceptible de conduire à une épidémie lorsque ceux-ci sont plantés. Par conséquent, la latence tend à être un caractère négligeable en matière de sélection variétale vis-à-vis de *Ralstonia solanacearum* surtout lorsqu'elle est associée à une absence de symptômes extérieurs de flétrissement.

5. CONCLUSION

Le caractère complexe de *Ralstonia solanacearum* et la faible effectivité des stratégies classiques de lutte nous orientent vers la recherche de génotypes résistants ou tolérants de pomme de terre qui acquiert de plus en plus une importance socio–économique au Niger. Au regard des résultats de cette étude, on peut conseiller aux producteurs nigériens et à la représentation de la FAO au Niger qui soutenu cette étude la variété Rosanna suivie de la locale Dan-Hadjia pour leur bon comportement en terme de survie vis-à-vis des attaques du flétrissement bactérien et leur bon potentiels de production malgré l'infection. Par contre, variétés Pamela et Pamina sont à craindre car elles ont montré une forte sensibilité dès les premières phases de végétation. La variété Dan-Hadjia est quant à elle, la plus précoce comparée aux 6 variétés testées. Elle est suivie de la variété Pamela, la variété Pamina, la variété Rosanna et la variété Yona. La variété Stemster est plutôt tardive. La précocité est un caractère recherché par les maraîchers car plus le cycle est court, plus les charges relatives à l'irrigation et à l'entretient sont réduites.

La variété locale Dan-Hadjia s'est aussi bien comportée à travers ses caractéristiques particulières notamment, son faible taux d'attaque de flétrissement bactérien, ses bonnes dispositions en termes de nombre de tubercules produits par plant. Les résultats des tests moléculaires semblent démontrer une sorte d'évitement de la maladie par ce génotype assez mal connu. Il serait intéressant

d'approfondir les connaissances sur les caractères génétiques et agronomiques de cette variété en vue de son amélioration étant donné l'engouement dont elle fait l'objet au niveau des producteurs nigériens.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADAMOU I., LE ROUX A-C., ADAM T., ANDRIVON D., SANKARA P., JOUAN B et NDIAYE M., 2007. Incidence du flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* E. F. SMITH sur solanacées au Niger et détermination des phylotypes impliqués. 03 B.P.: 7047 Ouagadougou 03. Poster, présenté à l'atelier CORUS, Dakar, Université Check Anta Diop (UCAD), du 2 au 12 novembre 2007, Sénégal, 1p.

ADAMOU I, ADAM T, SIDIKOU R. S. D., SANKARA P. et JOUAN B., 2009. Etude de l'incidence du flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* (E. F. SMITH) YABUUCHI *et al.* au champ, sur pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) et d'autres solanacées au Niger. 03 B.P.: 7047 Ouagadougou 03. *Annales de l'Université Abdou Moumouni* de Niamey, Niger, pp. 87-97.

ASSOUMANE A., 2006. Communication personnelle.

BUSOLO-BULAFU C. M., 1997. Resistance to bacterial wilt in Uganda. In: *Bacterial wilt disease, Molecular and ecological aspects*. Ph. PRIOR, C. ALLEN and J. ELPHINSTONE (edit.), Gosier, Guadeloupe, France, 22-27 June 1997, pp. 306-308.

CELLIER G. et PRIOR P., 2010. Diversité génétique, phylogénétique et discernement du pouvoir pathogène sur Solanacées des souches de *Ralstonia solanacearum*: [Résumé]. IN : 9èmes rencontres plantes-bactéries, 18-22 janvier 2010, Paris, AUSSOIS, France, p 39.

DESLANDES L., PILEUR F., LIAUBET L., CAMUT S., BEYNON J., ARLAT M. and MARCO Y., 1997. Identification and mapping of RRS1, a single recessive locus in *Arabidopsis thaliana* that confers resistance to *Ralstonia solanacearum*. In: *Bacterial wilt disease, Molecular and ecological aspects*. Ph. PRIOR, C. ALLEN and J. ELPHINSTONE (edit.), Gosier, Guadeloupe, France, 22-27 June 1997, pp. 205-254.

GRIMSLEY N. and HANSON P., 1997. Genetics of plant resistance to bacterial wilt: Round table report. In: *Bacterial wilt disease, Molecular and ecological aspects*. Ph. PRIOR, C. ALLEN and J. ELPHINSTONE (edit.), Gosier, Guadeloupe, France, -27 June 1997, pp. 263-266.

KINYUA Z. M., GILDEMACHER P.R., DEMO. P., PRIOU S. and OTIPA M. J., 2006. Opportunities and challenges of field sanitation in potato bacterial wilt management. In: *The 4th bacterial wilt symposium, The Lakeside Conference Center, Central Science Laboratory, York, U.K. 17th – 20th july 2006*., pp. 48.

LEBEAU A., DAUNAYM C., PALLOIX A., WANG J.F., DINTINGER J., CHIROLEU F., WICKER E. et PRIOR P., 2010. Interactions entre le complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* et les ressources génétiques pour la résistance au flétrissement bactérien chez la tomate, l'aubergine et le piment : [Poster]. IN : 9èmes rencontres plantes-bactéries, 18-22 janvier 2010, Paris, AUSSOIS, France, p 75.

LEROUX A-C., 2003. Détection des bactéries *Ralstonia solanacearum* et *Clavibacter michiganensis sepadonicus*. Poster, INRA, UMR BiO3P, Rennes, France, 1p.

LEROUX-NIO A.C., HUCHET E. et MORLIERE S., 2008. Evaluation du risque sanitaire lié à la contamination latente de tubercules de pomme de terre par *Ralstonia solanacearum* sur plusieurs années de multiplication. In : AUSSOIS 2008. 8ème rencontres plantes-bactéries 14-18/01/2008. INRA- Centre de recherche d'Angers. Résumé, Plantes-bactéries-AUSSOIS-2008-.pdf, p. 81.

LOPES C. A., LIMA-NETO A.F. and BOITEUX L. S., 2006. Progress in breeding potato for large spectrum bacterial wilt resistance in Brazil. In: *The 4th bacterial wilt symposium, The Lakeside Conference Center, Central Science Laboratory, York, U.K. 17th – 20th july 2006*., pp. 20.

MARCO Y., TRIGALET A., VASSE J., OLIVIER J., FENG D. X. and DESLANDES L., 2005. Host resistance to *Ralstonia solanacearum*. In: *Bacterial wilt disease and the* Ralstonia solanacearum *species complex*. C. ALLEN, Ph. PRIOR and A. C. HAYWARD (edit.), pp. 275-283.

OPINA, N., TAVNER F., HOLLOWAY G., WANG J.-F., LI T.-H., MAGHIRANG R., FEGAN M., HAYWARD A. C., KRISHNAPILLAI V., HONG W.F., HOLLOWAY B.W. and TIMMIS J.N., 1997. A novel method for development of species and strain-specific DNA probes and PCR primers for identifying *Burkholderia solanacearum* (formerly *Pseudomonas* solanacearum). As Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol. Vol. 5, pp. 19-33.

PETER, K.V., SADAN KUMAR P.G. AND MATHEW, S.K., 2006. Stability of resistance to bacterial wilt in eggplant, tomato and chilli. *In*: The 4th International bacterial wilt symposium: Programme and abstracts book. 17th-20th july 2006, the Lakeside conference center, Central science laboratory, York, United Kingdom, pp. 97.

PRIOU S. VARGAS M., ALEY P., GUTARRA L. and SALAS A. 2006. Characterization of promising sources of hight levels of resistance to bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* biovar 2A) in wild species of potato. In: The 4th bacterial wilt symposium, The Lakeside Conference Center, Central Science Laboratory, York, U.K. 17th – 20th july 2006., pp. 16.

WANG J. F., THOQUET P., OLIVIER J. and GRIMSLEY N., 1997a. Genetic analysis of quantitative resistance loci (QRL) of tomato variety Hawaii 7996 in Taiwan. In: *Bacterial wilt disease, Molecular and ecological aspects*. Ph. PRIOR, C. ALLEN and J. ELPHINSTONE (edit.), Gosier, Guadeloupe, France, 22-27 June 1997, pp. 245-249.

WANG J. F., HANSON P. and BARNES J. A., 1997b. Worldwide evaluation of an international set of resistance sources of bacterial wilt in tomato. In: *Bacterial wilt disease, Molecular and ecological aspects*. Ph. PRIOR, C. ALLEN and J. ELPHINSTONE (edit.), Gosier, Guadeloupe, France, 22-27 June 1997, pp. 269-275.

WINSTEAD N.N. and KELMAN A., 1952. Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, Vol. 42, pp. 628-634.