

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Djilali BOUNAAMA Khemis Miliana



Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département des sciences Agronomiques

**Mémoire de fin d'étude**

En vue de l'obtention du diplôme de master

Spécialité: Gestion Qualitative des Productions Agricoles

**Dépistage de *Ralstonia solanacearum* agent pathogène,  
responsable de la pourriture brune de la pomme de terre.**

*Présenté par* : LARIBI Nadia

BENTIBA Amina

Soutenu le 20 juin 2017

**Devant le jury :**

**Président** : Mr Hamidi D.....Maitre assistant UKM

**Promotrice** : Mme Tabouche A.....Maitre assistant UKM

**Examinatrice I**: Mme Mohammed Bouziane R.....Maitre assistant UKM

**Examineur II** : Mr Abdessalam B.....Maitre assistant UKM

Année universitaire : 2016 /2017

## *Remerciements*

*Avant toute chose, nous remercions(Dieu), le tout puissant, pour la santé, la patience et le courage qu'il nous a donné, pour la réalisation de ce modeste travail.*

*Tout d'abord, Nos remerciements les plus vifs s'adressent à **M<sup>me</sup> Tabouche A.** pour son encadrement.*

*Nous remercions tous les membres du jury: **M<sup>me</sup> Mohammed Bouziane R** , **Mr Hamidi Dj** et **Mr Abdessalam B** D'avoir accepter d'examiner ce modeste travail.*

*Nous remercions également **M<sup>me</sup> Nadjiba**, **M<sup>em</sup> Aïcha** et **M<sup>me</sup> Afafe** techniciennes au laboratoire de microbiologie pour la réalisation de travail.*

*Nous remercions énormément tous nos collègues de la spécialité analyses biologiques et biochimique.*

***NADIA ET AMINA***

## *Dédicace*

*Je remercie tout d'abord Dieu de m'avoir accordé des connaissances de la science et de m'avoir aidé à réaliser ce travail.*

*Avant tous, je dédie à :*

*Ma très chère mère que dieu la garde et la protège qui m'a encouragé et qui m'a donné l'assistance.*

*Mon cher père qui m'a donné la force et le courage pour réaliser ce travail.*

*A mes soeurs : Nadjiya, Akila, Nabila, Folla et Sabrina*

*A mes tontons: Mohamed, Dahmane et Rachides*

*A mes tentes: khaira, Djaouer*

*Et les enfante Ishak Roaya Baiane*

*Sans oublier tout mes amis surtout : Karima, Hassiba, Hayate*

*Mon cher binôme : Amina*

*Ainsi qu'a toute ma famille (Laribi, Belaribi)*

*A tous les étudiants de 2emeannée Master gestion qualitative de*

*Production agricole*

*Promotion 2016-2017*

*NADIA*

## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire :*

*La lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.*

*Mon père, qui peut être est fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privation pour m'aider à avancer dans la vie, Merci pour les valeurs noble, d'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*Mes chers frères : Moustapha et Mohammed.*

*Mes chères sœurs : Aïcha, Nacera, Fatma et Khadidja.*

*Mes neveux : Anes, Yusef et Abed samed.*

*A mon très cher Laribi Nadia et toute sa famille.*

*A mes chères aïmes : Hanane, Nawel, Safia et Fathia.*

*A la promotion d'Agroscience 2017 pour les bons moments qu'on a passé ensemble.*

*A toutes les personnes qui connaissent Amina de près ou de loin, seulement pour leur existence. Qu'\*Allah\*leur accord santé et prospérité.*

*AMINA*

## Liste des Tableaux

<b>Tableau n°01</b> : les valeurs nutritionnelles pomme de terre cuite à l'eau (sans peau) pour 100 g de pomme de terre (Céline Richonnet, 2004).....	3
<b>Tableau n° 02</b> : Evolution des superficies, de la production et du rendement de la pomme de terre en Algérie (DSA, 2016).....	4
<b>Tableau n°03</b> : La répartition de la culture de pomme de terre en Algérie (DSA ,2016).....	5
<b>Tableau n°04</b> : Evolution de la superficie, de la production et de rendement de pomme de terre à Ain Defla (2010-2015).....	5
<b>Tableau n°05</b> : Les principales maladies de la pomme de terre (John Kerr, 2014).....	14
<b>Tableau n° 06:</b> Des plantes attaquent par <i>R. solanacearum</i> .....	23
<b>Tableau n°07</b> : Caractéristiques différentielles utilisés pour identifier des souches bactériennes appartenant à l'espèce <i>Ralstonia solanacearum</i> par des tests biochimiques (Smith, 1999).....	34
<b>Tableau n°08:</b> Résultats de coloration de Gram.....	40
<b>Tableau n° 09</b> : Résultats de test oxydase.....	40
<b>Tableau n°10</b> : Résultats de test citrate.....	41
<b>Tableau n°11:</b> Résultats de test de levane.....	43
<b>Tableau n°12:</b> Résultats de NaCl.....	43
<b>Tableau n°13:</b> Résultats de test Liquéfaction de gélatine.....	45
<b>Tableau n°14:</b> Résultats de l'hydrolase de l'amidon.....	45
<b>Tableau n°15</b> : Résultats finales des tests Biochimiques.....	46
<b>Tableau n° 16:</b> Résultats de galerie API 20E .....	47

## Liste des figures

<b>Figure n° 1:</b> Les caractéristiques morphiques du tubercule de pomme de terre (Vanderhofstadt et Jouan, 2009).....	7
<b>Figure n°2 :</b> Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre.....	8
<b>Figure n°3 :</b> Les caractéristiques morphologiques de la fleur de pomme de terre .....	8
<b>Figure n°4 :</b> Les caractéristiques morphologiques du fruit de pomme de terre.....	8
<b>Figure n° 5:</b> Cycle sexué du tubercule de pomme de terre ( <b>Bernhards, 1998</b> ).....	9
<b>Figure n°6:</b> Cycle végétative de pomme de terre ( <b>Soltner, 2005</b> ).....	11
<b>Figure n°7 :</b> Le stockage en vrac ( <b>Jean-Louis, 2007</b> ).....	12
<b>Figure n°8 :</b> Le stockage en sacs ( <b>Jean-Louis, 2007</b> ).....	13
<b>Figure n°9:</b> Le stockage en caisses en plastique.....	13
<b>Figure n°10 :</b> La morphologie de la <i>Ralstonia solanacearum</i> vu en microscope électronique.....	20
<b>Figure n°11 :</b> Cycle infectieux de <i>Ralstonia solanacearum</i> (Génin, 2010).....	22
<b>Figure n°12:</b> La morphologie de Spunta.....	28
<b>Figure n°13:</b> La galerie API 20E .....	35
<b>Figure n°14:</b> Inoculation de la suspension bactérienne sur la tomate.....	36
<b>Figure n°15 :</b> Les rondelles de pomme de terre appartiennent la suspension bactérienne.....	37
<b>Figure n°16:</b> Symptômes de <i>Ralstonia solanacearum</i> de pomme de terre.....	38
<b>Figure n°17 :</b> Description macroscopique des fragments infectés sur NG.....	39

<b>Figure n°18 :</b> Description macroscopique des suspensions bactériennes étalées sur SPA, LPGA.....	39
<b>Figure n°19:</b> Résultats du test de coloration de Gram au microscope optique(Gx100).....	40
<b>Figure n°20 :</b> Résultats de test oxydase.....	41
<b>Figure n°21 :</b> Résultats de test catalase.....	41
<b>Figure n°22:</b> Résultats de test citrate.....	42
<b>figure n°23:</b> Résultats de Test oxydatif-fermentatif .....	42
<b>Figure n°24 :</b> Test de croissance en 40 °C.....	42
<b>Figure n°25 :</b> Résultats de test de levane.....	43
<b>Figure n°26 :</b> Résultats de Croissance dans une solution de NaCl.....	44
<b>Figure n°27 :</b> Résultats de test Arginine.....	44
<b>Figure n°28 :</b> Résultats de test nitrate.....	44
<b>Figure n°29 :</b> Résultats de test de Liquéfaction de gélatine.....	45
<b>Figure n°30 :</b> Résultats test de l'hydrolase de l'amidon.....	45
<b>Figure n°31:</b> Résultats de test biologique sur tomate.....	48
<b>Figure n°32 :</b> Résultats de test biologique sur les rondelles de pomme de terre .....	48

## Liste des abréviations

***A.sativum*** : *Allium sativum*

***A.tuberosum*** : *Allium tuberosum*

**CTPT** : Centre Technique de la Pomme de Terre

**DSA** : Direction des Services Agricoles.

**HL** : Hugh et leifson

**INRA** : Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie

**LPGA** : Levure Peptone Glucose Agar.

**NG** : Gélose nutritive

**PHB** : poly- $\beta$ -hydroxybutyrate

**PLRV**: Potato Leaf Roll Virus

**PSTV**: Potato Spindel Tuber Viroid

***R. Solanacearum*** : *Ralstonia solanacearum*

**SPA** : Gélose à base de saccharose-peptone

**ssp** : Sous-espèce.

**ITCMI** : Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles.

**TRV** : Tabacco Rattle Virus

## Résumé

La pourriture brune est l'un des maladies bactériennes les plus nuisibles au niveau mondial, il provoqué des dégâts et des pertes considérable sur les productions des cultures solanacées.

Notre travail consiste à réalise un dépistage de l'agent pathogène responsable de cette maladie sur les semences (tubercules) de pomme de terre dans des points de stockages, au niveau des différentes sites (commune de bourached et de rouina) dans la wilaya de Ain Defla.

Le dépistage commence d'abord par un diagnostique symptomatologique de la maladie, puis complète notre recherche par des différentes étapes de diagnostique (isolement, identification par les tests biochimiques et biologiques).

D'après nos résultats obtenus par les tests biochimiques et les tests biologiques, nous ne avons pas détecte la présence de *Ralstonia solanacearum* dans les semences de tubercules de pomme de terre testes.

Cette identification a relevé la présence d'autres espèces bactériennes suivantes : (*Acidovorax avenae*), (*Burkholderia gladioli*), (*Burkholderia cepacia*), (*Clavibacter michiganensis*) et avec un pourcentage respectivement 31,58%, 26,32%, 12,53% et 21,05%.

**Mots clé :** Pomme de terre (semence), Dépistage, pourriture brune, *Ralstonia solanacearum*.

## Abstract

Brown rot is one of bacterial diseases the more harmful at the global level, it resulted in damage and losses considerably on the productions of cultures Solanaceae

Our job is to realize a screening of the pathogen responsible for this disease on the seed (tubers) of potato in points of storage, at the level of the different sites (commune of bourached and rouina) in the wilaya of Ain Defla.

The screening begins first by a symptomatologique diagnosis of the disease, and then complete our research by the different stages of diagnosis (isolation, identification by biochemical tests and (biological).

According to our results obtained by biochemical tests and the biological tests, we do have not detected the presence of *Ralstonia solanacearum* in the seed of potato tubers testes.this identification has noted the presence of other bacterial species : *Acidovorax avenae*), (*Burkholderia gladioli*), (*Burkholderia cepacia*), (*Clavibacter michiganensis*) with a percentage respectively 31,58%, 26.32%, 12.53% et 21,05%.

**Key words:** Potato (seed), Screening, brown rot, *Ralstonia solanacearum*.

## الملخص :

ان التعفن البني هو احد الامراض البكتيرية الاكثر سلبية على الصعيد العالمى, الذى يتسبب فى اضرار وخسائر كبيرة فى الانتاج الزراعى *solanacées*.

يتضمن عملنا هذا انجاز فحص حول العامل الممرض المسؤول عن هذا المرض فى بذور الدرنات البطاطا فى نقاط التخزين على مستوى عدة مواقع ( بور اشد, روينة) فى ولاية عين الدفلى.

الفحص يبدأ اولاً من خلال تشخيص اعراض المرض, ثم نقوم بمختلف المراحل الاخرى العزل والتحديد من خلال الاختبارات البيوكيميائية والبيولوجية.

النتائج المتحصل عليها من خلال اجراء هذه الاختبارات البيوكيميائية و البيولوجية, ثبت عدم وجود *Ralstonia solanacearum* فى بذور درنات البطاطا مع وجود انواع اخرى من البكتيريا على الترتيب: (*Burkholderia gladioli*), (*Clavibacter michiganensis*), (*Burkholderia cepacia*), 31,5%, 26,32%, 21,05 % و 12,53%.

الكلمات الرئيسية: البطاطا (البذور), والفحص *Ralstonia solanacearum*, التعفن البني.

# Sommaire

---

Remerciement.

Dédicaces.

Liste des figures.

Liste de tableaux

Liste d'abréviations

Sommaire

Résumé

Abstract

Introduction..... 1

## **Partie bibliographiques**

Chapitre I : Généralité sur la pomme de terre

I- L'importance de pomme de terre.....	3
I-1- Importance nutritionnelle.....	3
I -2- Importance économique.....	4
II- Historique et origine de pomme de terre.....	6
III- Classification de pomme de terre.....	6
III-1-Classification botanique.....	6
III-2-Classification génétique.....	7
IV- La morphologie de pomme de terre.....	7
V- Cycle de reproduction.....	9
V-1- Cycle sexué.....	9
V-2-Cycle végétatif.....	10
VI- Les variétés existe en Algérie.....	11

## *Sommaire*

---

VII- La conservation.....	12
VII-1-Les conditions de stockage.....	12
VII-2-Les modes de stockage.....	12
VIII- Maladies et ravageurs.....	14
Chapitre II : Généralité sur <i>Ralstonia solanacearum</i>	
I- L'importance économique de la maladie.....	19
II- La pourriture brune.....	19
III- L'agent causal de la pourriture brune.....	19
IV- Classification.....	20
V- Cycle biologique.....	21
VI- Les plantes attaquent par <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	23
VII- La virulence de <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	25
VIII-La lutte contre <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	26
VIII- 1- La lutte culturale.....	26
VIII-2- La lutte physique et chimique.....	26
VIII-3- La lutte biologique.....	26
VIII-4- La lutte génétique.....	27

# *Sommaire*

---

## **Partie expérimental**

### Chapitre I: Matériel et méthode

Objectif.....	28
I- Le matériel végétal.....	28
II- La présentation des régions étudiée.....	29
III- Les échantillonnages.....	29
IV- La méthodologie.....	29
IV- 1- Préparation de l'échantillon.....	31
IV- 2- Isolement bactérien et purification.....	31
IV- 3- Analyses biochimiques des isolats bactériens.....	31
IV- 3- 1- Coloration de Gram.....	31
IV- 3- 2- Test oxydase.....	31
IV- 3- 3- Test catalase.....	32
IV- 3- 4- Test de citrate.....	32
IV- 3- 5- Test métabolisme oxy/ferm.....	32
IV- 3- 6- Croissance à 40°%.....	32
IV- 3- 7- La production de levane.....	32
IV- 3- 8- Croissance dans une solution de NaCl.....	33
IV- 3- 9- Test Arginine deshydrolase.....	33
IV- 3- 10- La réduction de nitrate.....	33
IV- 3- 11- Liquéfaction de gélatine.....	33
IV- 3- 12- L'hydrolyse de l'amidon.....	33

## *Sommaire*

---

IV- 4- Identification par le système API 20E.....	34
V- Test de pouvoir pathogène.....	36

### **Résultats et discussion**

#### Chapitre II- Résultats et discussion

I- L'échantillonnage.....	38
II- Résultats du diagnostique au laboratoire.....	38
II-1- Description macroscopique des colonies.....	39
III- Résultats des Analyses biochimiques.....	40
III- 1- La coloration de Gram.....	40
III- 2- Résultats des tests biochimiques.....	40
III- 2- 1- Test oxydase.....	40
III- 2- 2- Test catalase.....	41
III- 2- 3- Test de citrate.....	41
III- 2- 4- Test métabolisme oxy/ferm.....	42
III- 2- 5- Croissance à 40°%.....	42
III- 2- 6- La production de levane.....	43
III- 2- 7- Croissance dans une solution de NaCl.....	44
III- 2- 8- Test Arginine deshydrolase.....	44
III- 2-9- La réduction de nitrate.....	44
III- 2-10- Liquéfaction de gélatine.....	45
III- 2-11- L'hydrolyse de l'amidon.....	45
IV- Résultats finale des tests biochimiques.....	46

## *Sommaire*

---

V-	Résultats d'API 20E.....	47
VI-	Résultats de pouvoir pathogène.....	48
	Discussion.....	49
	Conclusion .....	51
	Références bibliographiques	
	Annexes	

## Introduction

---

### Introduction

Les cultures maraichères représentent une composante indispensable dans le système de culture des pays méditerranée, permet lesquelles la pomme de terre est classe dans la quatrième plante cultivée dans le monde après le maïs, le blé et le riz.

La pomme de terre est entrée dans l'histoire à l'origine de la région centrale de la Cordillère des Andes, sa domestication remonte à plus de 8000 ans (**Clement, 1981**).

Elle est une plante herbacée dicotylédone tubéreuse appartient à la famille des solanacées, caractérisée par une multiplication végétative.

Dans notre pays la production de pomme de terre ne satisfait pas les besoins du consommateur, ce qui fait de l'Algérie un pays dépendant de l'étranger surtout en matière de semence. Ces semences importées ne présentent pas souvent les qualités requises et leur génotype n'est pas toujours conforme à nos conditions édaphoclimatiques (**Chauvin et al., 2008**).

De plus des nombreux efforts déployés et en dépit des conditions agroclimatiques favorables, la production reste instable d'une année à l'autre et au sein même de la saison, les rendements de la filière pomme de terre en Algérie restent faibles comparés par exemple à ceux du Maroc avec respectivement 304 Qx/ha devant 363 Qx/ha au Maroc. (**FAO STAT, 2014**). Ce faible rendement est dû à plusieurs facteurs notamment les aléas climatiques, la non maîtrise de l'itinéraire technique particulièrement le choix du potentiel génétique de la semence, le travail du sol et les contraintes phytosanitaires (**Chehat, 2008**). Parmi ces derniers, les maladies bactériennes qui nuisent à la pomme de terre et causent des dégâts importants sur la culture de cette dernière, nous citons le flétrissement bactérien (la pourriture brune) provoqué par *Ralstonia Solanacearum*, c'est une maladie phytobactérienne d'origine tellurique qui s'attaque à plus de 200 espèces végétales appartenant à plus de 60 familles, par exemple les solanacées (tomate, pomme de terre, tabac, aubergine...), les monocotylédones (bananier, gingembre...) et des arbres et arbustes (mûrier, olivier,..) (**Hayward, 2000**).

A cause de sa facilité de dissémination, de son pouvoir hautement pathogène et de son spectre d'hôtes très large comprenant de nombreuses espèces d'importances alimentaires, *R.solanacearum* est un pathogène indispensable à contrôler.

## Introduction

---

De nombreux moyens de lutte sont utilisés contre cette phyto-bactériose, mais pour l'instant aucun d'eux n'est pleinement efficace. Pour cette raison, la stratégie s'oriente vers une protection intégrée utilisant différents moyens de lutte (culturelle, physique chimique et biologique).

Dans ce contexte, notre travail a pour objectif de dépister l'agent causal de pourriture brune de pomme de terre dans des points de stockage différents.

Notre travail se déroule comme suit :

- ✓ Réalisation des prospections au niveau des points de stockage dans la wilaya de Ain Defla
- ✓ Prélèvements des échantillons infectés.
- ✓ Isolements des agents pathogènes.
- ✓ identification par les tests biochimiques.
- ✓ Etude de la pathogénicité des isolats.

## Généralité sur la pomme de terre

### I -Importance de la pomme de terre

#### I-1- Importance nutritionnelle

Dans sa présentation la plus simple, la pomme de terre apporte des principes nutritifs qui en font un produit presque indispensable à notre alimentation, et la base du régime alimentaire de plusieurs groupes culturels. Sa valeur calorique est modeste, s'établissant entre 80 et 90 kcal (334 à 376 k j) pour 100 g de pommes de terre. elle est composée de 78 % d'eau ainsi que de 22 % de matière sèche (**Rousselle *et al.*, 1996 ; Mattila et Hellström, 2007**).

Le taux des composés minéraux et organiques pour 100 g de pomme de terre à l'eau est présenté dans le tableau 1.

**Tableau n° 01** : les valeurs nutritionnelles pomme de terre cuite à l'eau (sans peau) pour 100 gde pomme (**Céline Richonnet, 2004**).

<b>Les composés minéraux</b>	Cuivre	0,09mg
	Fer	0,04mg
	Potassium	376mg
	Magnésium	18,6mg
	Manganèse	0,14mg
	Zinc	0 ,28mg
<b>Les composés organiques</b>	Protides	2 g
	Glucides	19 g
	Lipides	0,1 g
<b>Les vitamines</b>	Vitamine B1	0,08mg
	Vitamine B2	0,03mg
	Vitamine B3 ou PP	0 ,2mg
	Vitamine B6	0,18mg
	Vitamine B9	0,01mg
	Vitamine C	0.13mg
	Vitamine E	0,1mg
<b>Fibres</b>		1g

## I-2-Importance économique de la pomme de terre

### En Algérie

La pomme de terre est cultivée depuis l'époque coloniale au milieu du XIX siècle, elle est devenue l'une des principales cultures destinées à la consommation domestique.

Elle occupe une place dominante dans le système maraîcher en Algérie. Elle représente plus de 28% des superficies consacrées au maraîchage, elle passe de 121996ha en 2010 à environ 153 313 ha en 2015 soit une augmentation de plus 30%. Le rendement moyen passe de 270,5 Qx/ha en 2010 à 296 ,1 Qx/ha avec la production a atteint le chiffre record de 45 395 769,34 Qx en 2015.

Selon les données statistiques des services agricoles de la wilaya d'Ain Defla (**DSA Ain Defla**), au plan quantitatif, la production nationale a atteint 4,53 million de tonnes en 2015 dont 160.000 T de semences.

**Tableau n° 02** : Evolution des superficies, de la production et du rendement de la pomme de terre en Algérie (**DSA, 2016**).

Les années	Superficie (ha)	Production (qx)	Rendement qx/ha
2010	121996	33 003115	270,5
2011	131903	38621936	292,8
2012	138666	42194758	304,3
2013	162707	49280280	302,9
2014	156176	46735155	299,2
2015	153 313	45 395769,34	296 ,1

En Algérie, plusieurs régions sont favorables à la production de la pomme de terre. La répartition géographique de la culture de pomme de terre est fortement influencée par les conditions agro climatique et par la possibilité d'irrigation.

Selon les données statistiques des services agricoles de la wilaya de Ain Defla (**DSA Ain Defla**), la pomme de terre est répartie comme suite :

**Tableau n° 03** : La répartition de la culture de pomme de terre en Algérie (DSA ,2016).

Wilayas	Production (Qx)
EL-OUED	10890000
AIN-DEFLA	6197030
MOSTAGANEM	3953620
MASCARA	3788000
TLEMCEM	2107000
BOUIRA	2086049
RELIZANE	1508560

**En Ain Defla**

La wilaya de Ain Defla est connue par sa production abondante de pomme de terre, selon les données statistiques des services agricoles de la wilaya (**DSA Ain Defla**), elle couvre plus de 24% des besoins du marché national, c'est la deuxième zone productrice au niveau nationale avec une production de 6 197 030 Qx.

La pomme de terre est cultivée selon trois types : primeur, la saison et l'arrière-saison.

**Tableau n° 04** : Evolution de la superficie, de la production et de rendement de pomme de terre à Ain Defla (2010-2015) (DSA, 2016).

Années	Total		
	Superficie (ha)	Production (QX)	Rendement qx/ha
2010	18736	5205500	277,8
2011	19905	6765000	339,9
2012	18385	5601681	304,7
2013	24000	7316309	304,8
2014	24525	7290260	297,3
2015	21882	6197030	283,2

La wilaya de Ain Defla est localisée dans les plaines du Chélif, caractérisée par un climat de type méditerranéen avec un caractère de continentalité marquée aux étés très chauds et hivers froids et rigoureux avec un printemps écourté et automne très bref (**Claus et Legoupil, 1972**).

**II- Historique et origine de pomme de terre**

La pomme de terre est entre dans l'histoire à originaire de la région centrale de la Cordillère des Andes. La pomme de terre actuellement cultivée est la sous-espèce *Solanum tuberosum*, sa domestication remonte à plus de 8000 ans (**Clement, 1981**).

Au XVI<sup>ème</sup> siècle les conquistadors espagnols ont découvert la pomme de terre dans les potages des indigènes (**Rousselle, 1996**). Il passe en Italie et en Espagne à la fin du 16<sup>ème</sup> siècle, s'introduit en Angleterre, puis gagne l'Irlande. Dès le milieu du 17<sup>ème</sup> siècle, il est connu en Allemagne et de là, se propage vers l'est, suivant les colonies allemandes qui s'enfoncent dans les pays slaves et vers l'ouest, pays de Montbéliard, Franche-Comté et Alsace (**Poitrineau, 2001**).

En Algérie, au XVI<sup>ème</sup> siècle la pomme de terre a probablement été introduite une première fois par Les Maures andalous. Dans la deuxième moitié du XIX<sup>ème</sup> siècle, les colons vont la cultiver pour leur propre besoin, car les algériens y sont réticents malgré les disettes successives. C'est la dernière grande famine des années 30/40 qui viendra à bout de cette opposition (**Meziane, 1991**).

Contrairement aux pays septentrionaux où la pomme de terre est cultivée durant une saison, en Algérie elle est cultivée selon trois types de culture qui sont : la saison, l'arrière saison et la primeur (**Regueig, 2008**).

**III- Classification de pomme de terre****III- 1- La classification botanique de la pomme de terre**

La pomme de terre est une plante herbacée dicotylédone tubéreuse. Elle appartient à la famille des solanacées, et plus précisément de genre *Solanum* qui regroupe environ 2000 espèces dont plus de 200 sont tubéreuses (**Hawkes, 1990**).

La classification de la pomme de terre selon **Cronquist (1981)** est :

Règne :	Plantae
Division :	Magnoliophita
Classe :	Magnoliosida
Sous classe :	Asteridae
Ordre :	Solanales
Famille :	Solanaceae
Genre :	<i>Solanum</i>
Espèce :	<u><i>Solanum tuberosum L.</i></u>

### III-2- Classification génétique de la pomme de terre

Les différentes espèces de pomme de terre cultivées inscrites dans la série Tuberosa (avec d'autre espèce sauvage). Ils sont originaires d'Amérique de sud. Le nombre de chromosomes de base est 12 et des espèces allant de diploïdes ( $2N=24$ ) jusqu'à dipentaploïde ( $2N=60$ ) sont trouvées. Les espèces cultivées actuellement seraient une sous espèce ; *S. tuberosum ssp*, par sélection au fil des siècles pour l'adaptation aux jours longs (**Rousselle et al., 1996**).

### IV- La morphologie de la pomme de terre

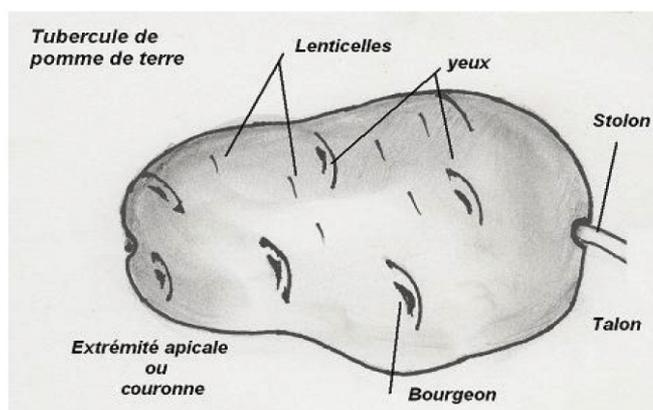
La pomme de terre est une plante vivace qui se propage par multiplication végétative qui caractérise morphologiquement par différentes parties :

- **Partie souterraine**

Le système souterrain se compose des racines fasciculées, nombreuses et fines pouvant pénétrer profondément dans les sols meubles (jusqu'à 80 cm sous le tubercule mère).

Les 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° 1:** Les caractéristiques morphologiques du tubercule de pomme de terre

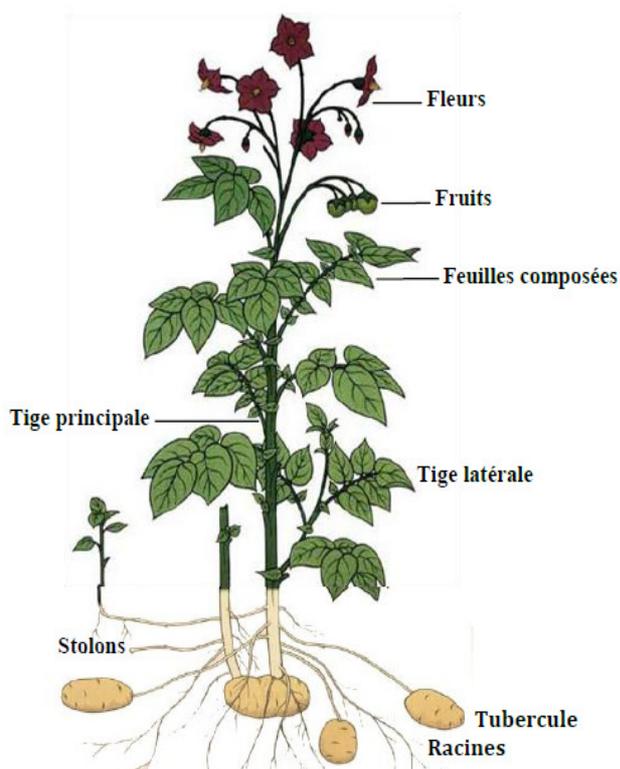
(**Vanderhofstadt et Jouan, 2009**)

• **Partie aérienne**

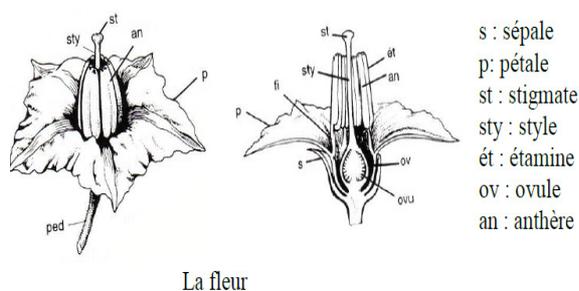
La plante est composée d'une ou plusieurs tiges herbacées de port plus ou moins dressé et portant des feuilles composées (Rousselle *et al.*, 1992), ces feuilles sont composées de 3 à 5 paires de folioles et d'une terminale. A l'aisselle d'une feuille du bourgeon apical de la tige.

La floraison de la pomme de terre est terminale et en forme de cyme bipare qui peut comporter 8 à 10 fleurs. Les fleurs peuvent être de couleur blanche, bleue ou violette. Elles donnent des fruits en forme de baie contenant des graines plates.

Aussi les fleurs sont souvent mâles stériles. La production de fruits est généralement rare parfois nulle. On connaît des variétés de pomme de terre qui fleurissent abondamment mais qui ne fructifient pas (Daproux et Debelley, 1967 ; Soltner, 1988).

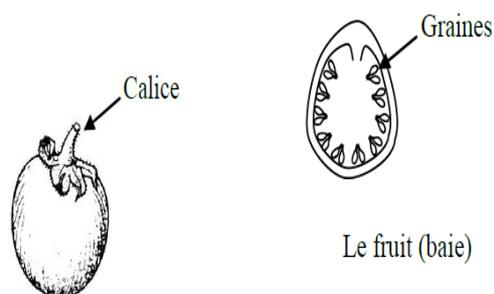


**Figure n°2 :** Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre



La fleur

**Figure n°3:** Les caractéristiques morphologiques de la fleur de pomme de terre



Le fruit (baie)

**Figure n°4:** Les caractéristiques morphologiques du fruit de pomme de terre

## V -Cycle de reproduction

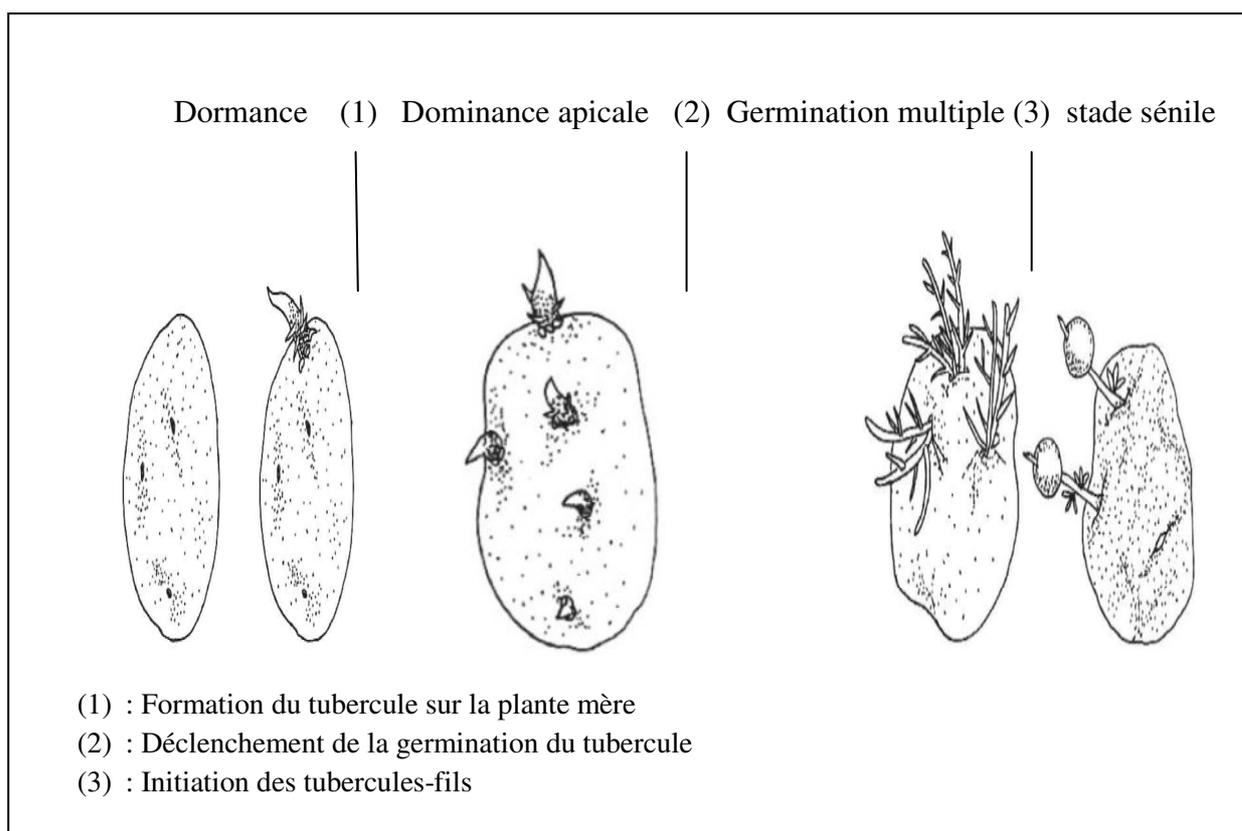
La pomme de terre peu se reproduire de deux manières, la reproduction sexuée et la reproduction végétative qui la méthode la plus utilise dans la production de pomme de terre.

### V-1- Cycle sexué

Le fruit est une baie sphérique ou ovoïde de 1 à 3 centimètres de diamètre, il contient généralement plusieurs dizaines de graines.

Les graines de la pomme de terre ne sont utilisées qu'en amélioration génétique afin d'obtenir de nouvelles variétés.

La germination est épigée et les cotylédons sont portés au-dessus du sol par le développement de l'hypocotyle. En conditions favorables, quand la jeune plante a seulement quelques centimètres de hauteur, les stolons commencent à se développer d'abord au niveau des cotylédons puis aux aisselles situées au-dessus, et s'enfoncent dans le sol pour donner des tubercules (**Bernhards, 1998**) (**Fig.5**).



**Figure n° 5:** Cycle sexué du tubercule de pomme de terre (**Bernhards, 1998**).

## V-2- Cycle végétatif

Le tubercule n'est pas seulement un organe de réserve, c'est aussi un organe qui sert à la multiplication végétative, Cette dernière se déroule en trois étapes :

- **La dormance**

A la récolte, le tubercule de pomme de terre ne peut germer même si les conditions de croissance sont favorables (température de 18 à 25° C) et hygrométrie 90%. Sa durée constitue un caractère variétal mais peut être abrégé ou maintenu par différents constituants physiques ou chimiques. Sous l'action de haute température durant la végétation, il peut être abrégé, ou rompu à une température de 23-24°C ou par substance chimique (la rindite) par contre il est maintenu à température inférieure à 3° C par des substances antigermes ou bien par des radiations gamma à faibles doses (**Madec et Perennec, 1962**).

- **La germination**

Au cours du stockage, une évolution interne du tubercule conduit d'abord à un seul germe qui se développe lentement et dans ce cas c'est toujours le germe issu du bourgeon terminal qui inhibe les autres bourgeons : ce phénomène est la dominance apicale. Puis un petit nombre de germes à croissance rapide se développent.

Ensuite un nombre de plus en plus élevé de germes démarrent, traduisant une perte progressive de la dominance apicale. Ils s'allongent lentement, se ramifient, deviennent filiformes et finalement tubérisés (**Bernhards, 1998**).

- **La tubérisation**

C'est La croissance et le renflement de l'extrémité de stolon en une ou deux semaines pour former les ébauches des tubercules. Elle se déroule selon trois étapes successives : induction, initiation et la croissance radicale des tubercules

Ce phénomène de tubérisation commence d'abord par un arrêt d'élongation des stolons après une période de croissance. La tubérisation est réalisée dès que le diamètre des ébauches est le double de celui des stolons qui les portent. Outre les processus de multiplication cellulaire, le grossissement des ébauches de tubercules s'effectue par accumulation dans les tissus des substances de réserve synthétisées par le feuillage.

Ce grossissement ralentit puis s'arrête au cours de la sénescence du feuillage (**Bernhards, 1998**).

La tubérisation est influence par plusieurs facteurs, parmi eux:

- L'âge physiologique du tubercule mère : le tubercule qui est planté au stade de dominance apicale donne un plant qui a très peu de tiges principales, comme le nombre de tubercules est en grande partie déterminé par le nombre de tiges, on peut prévoir un faible taux de tubercules.
- Les jours courts, ou plus précisément l'obscurité de longue durée, favorisent une induction précoce de la tubérisation.
- La température influence la tubérisation et ce sont les températures fraîches qui lui sont le plus favorables.
- La température optimale pour la photosynthèse est de 20°C chez la pomme de terre.
- Les besoins en eau varient au cours du cycle végétatif : ils sont surtout importants au moment de l'initiation des tubercules (**Bernhards, 1998**).

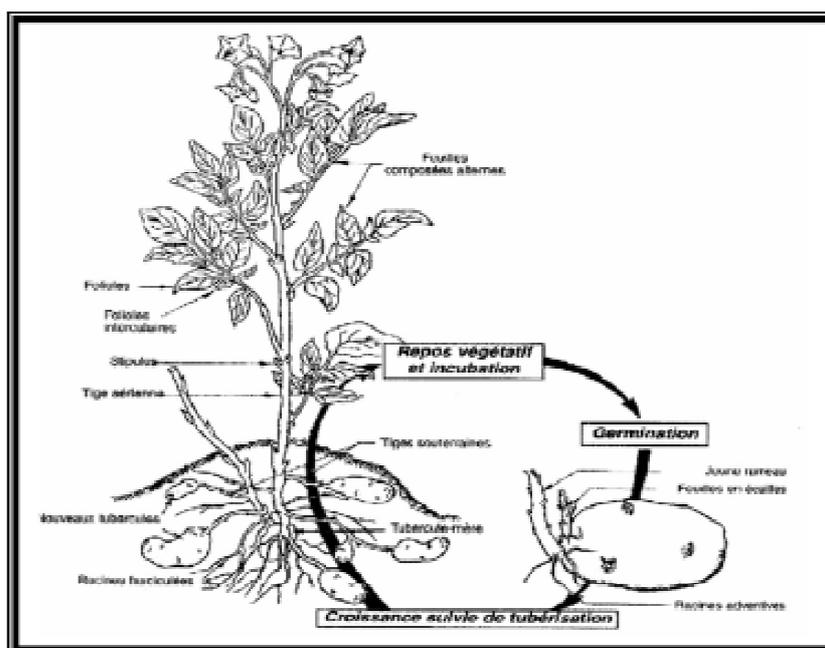


Figure n°6: cycle végétative de pomme de terre (Soltner, 2005).

## VI- les variétés existent en Algérie

Cent vingt variétés sont inscrites au catalogue algérien des espèces et variétés cultivées ; On classe ces variétés selon leur type de culture: culture de primeur ou culture de saison et arrière saison.

Pour les primeurs, les principales variétés utilisées sont: Nicola, Diamant.

Les variétés les plus utilisées en saison et en arrière-saison sont: Desirée, Spunta, Diamant, et Kondor (**Bamouh, 1999**).

## VII- Conservation

Dans les pays à climat chaud, comme le nôtre, le recours sous froid est indispensable pour assurer la conservation, pour une longue durée, des pommes de terre de consommation ou de semences.

Les semences produites en cycle saison sont destinées pour les productions d'arrière saison, de primeur, voire même de saison (TCMI, 2015).

### VII-1-Les conditions de stockage

La durée du stockage varie de 2 mois à 7 mois.

Les températures de stockage sont arrêtées comme suit :

- Stockage longue durée (plus de 4 mois) : +2 à +4 °C
- Stockage de moyenne durée (2 à 4 mois) : +5 à +8°C
- Stockage courte durée (2mois) : 8 à 10 °C

### VII -2-Le mode de stockage (CTPT)

- **Le stockage en vrac** : est envisageable dans le cas où l'entrepôt est équipé d'un système de ventilation forcée. Les ventilateurs propulsent L'air froid, sous basse pression, dans le tas de pommes de terre à travers des canalisations disposées sous le niveau du sol ou à la surface du sol.
  - La capacité de ventilation pendant le séchage est de 100 à 120 m<sup>3</sup> d'air/tonne/heure.
  - La hauteur de stockage peut atteindre 3 à 4 mètres.
- Il est, par ailleurs, très important d'assurer une distribution homogène de L'air à travers le tas pendant toute la durée de conservation.



Figure n°7 : Le stockage en vrac (Jean-Louis, 2007)

- **Le stockage en sacs** : la hauteur de stockage peut atteindre 3- 4 m. si l'entrepôt frigorifique est équipé d'un système de ventilation forcée. Dans le cas où la ventilation est naturelle, les sacs doivent être disposés en piles dont la largeur ne dépasse pas celle de deux sacs et la hauteur celle de six à huit sacs couchés. Il faut, aussi, séparer les piles de sacs par un espace vide de 30 à 40 cm pour l'aération.



**Figure n°8** : Le stockage en sacs (Jean-Louis, 2007)

- **Le stockage en paloxes ou en caisses en plastique** : ce système présente moins de risque de développement des maladies que le stockage en vrac. Sa capacité de stockage par m<sup>3</sup> est, néanmoins, relativement inférieure. Par ailleurs, il faut laisser des espaces vides :
  - d'une part, entre les piles de paloxes de caisses et les parois de la chambre froide (murs, plafonds, portes).
  - d'autre part, entre les piles de paloxes ou de caisses elles-mêmes.
  - La hauteur limite des piles ne doit pas dépasser celle à laquelle est placé l'évaporateur.

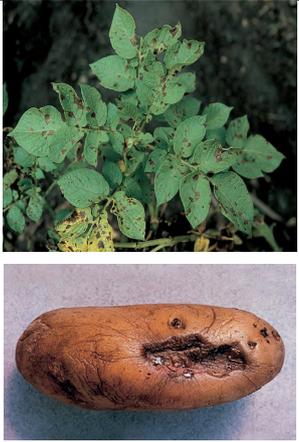


**Figure n °9**: Le stockage en caisses en plastique.

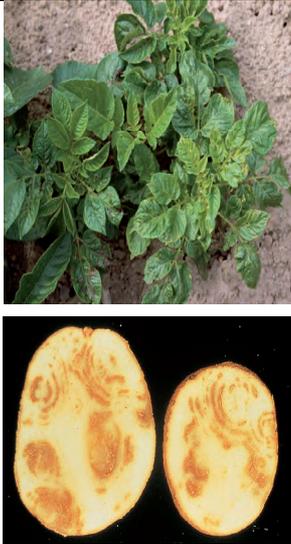
## VIII- Maladies et ravageurs

La pomme de terre est soumise à l'attaque de plusieurs maladies et ravageurs (fongiques, bactériennes, virales et parasitaires).

Tableau n°05 : Les principales maladies de la pomme de terre (John Kerr, 2014).

Les maladies	Noms	L'agent responsable	Symptômes	Image
fongiques	Alternariose	<i>Alternaria spp.</i>	Des lésions sur les feuilles qui rassemblent souvent à des taches ayant la forme d'anneaux concentrique. Sur le tubercule ; l'infection provoque une pourriture sèche essentiellement superficielle.	
	Fusariose	<i>Fusarium spp.</i>	Des plantes chétives ou se solder par des manques à la levée. Sur les tubercules, le développement des pourritures sèches autour d'une blessure entraînant une déshydratation du tubercule.	
	Mildiou	<i>Phytophthora infestans</i>	Des lésions sur les feuilles sous forme irrégulière de taches sombres. Sur les tubercules on observe une zone de couleur brun foncé, parfois violacée, en surface. La pourriture interne est une pourriture granulaire de couleur brun rougeâtre qui peut rester proche de la surface ou progresser vers le centre du tubercule.	

<b>bactériennes</b>	Pourriture annulaire	<i>Clavibacter michiganensis subsp. Sepedonicus</i>	<p>Un flétrissement d'origine vasculaire, touchant les feuilles inférieures, avec parfois enroulement des zones entre les nervures des feuilles deviennent chlorotiques et les bords des feuilles se nécrosent.</p> <p>Sur les tubercules l'anneau vasculaire et le tissu qui l'entoure sont de couleur jaune pâle ou ont un aspect vitreux, puis la formation d'une pourriture sans odeur.</p>	 
	Jambe noire	<i>Pectobacterium spp.</i>	<p>Les feuilles sont rigides et érigées, s'enroulant souvent vers l'intérieur au sommet.</p> <p>Une pourriture visqueuse noire apparaît à la base de la tige lorsque la maladie progresse.</p> <p>Tubercules : Une pourriture molle blanche, légèrement brune, se répand à partir du talon ou des lenticelles, elle dégage une odeur de poisson caractéristique.</p>	 

	<p>Pourriture brune</p>	<p><i>Ralstonia solanacearum</i></p>	<p>Le flétrissement des folioles les plus jeunes au moment le plus chaud de la journée, un jaunissement du feuillage. Un exsudat bactérien peut suinter du tissu vasculaire des tiges coupées.</p> <p>Sur les tubercules un brunissement de l'anneau vasculaire à partir de l'extrémité du stolon. La peau devient comme du papier et se craquelle. Le tissu vasculaire pourrit complètement</p>	
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">virales</p>	<p>Virus de l'enroulement</p>	<p>(PLRV) <i>Potato Leaf Roll Virus</i></p>	<p>Enroulement de la base des feuilles supérieures les plus jeunes, avec parfois, une altération de la couleur</p> <p>Tubercules : une nécrose en réseau peut se développer, sous forme de nécroses brunes dans le tissu vasculaire.</p>	
	<p>Virus du Rattle</p>	<p>(TRV) <i>Tabacco Rattle Virus</i></p>	<p>Déformation des feuilles et atrophie de certaines ou de la totalité des tiges.</p> <p>Les tubercules peuvent développer des nécroses, taches et arcs liégeux de couleur brune dans la chair du tubercule, parfois visibles sur la surface de la peau.</p>	

	Viroïde des tubercules en fuseau	(PSTV) <i>Potato Spindel Tuber Viroid</i>	Les plantes peuvent avoir une apparence anormalement érigée et rabougrie avec des folioles d'aspect rugueux. Sur le tubercule on observe un allongement anormal, Le tissu autour des yeux va de légèrement à fortement gonflé et ressemble à des «sourcils» proéminents. Dans les cas graves, les tubercules peuvent être déformés, avec des crevasses profondes.	
<b>ravageurs</b>	Nématode de la pourriture des racines	<i>Ditylenchus destructor</i>	Les symptômes des ne sont normalement visibles qu'après la récolte ; des points farineux gris-blanc se développent sous la surface du tubercule, lorsque la maladie progresse La peau devient comme du papier.	
	Altise de la pomme de terre	<i>Epitrix spp.</i>	Les adultes se nourrissent du feuillage de la pomme de terre en laissant de minuscules trous caractéristiques sur les folioles. les larves peuvent creuser des galeries à la surface des tubercules, provoquant une altération de l'épiderme.	 

	<p>Teigne de la pomme de terre</p>	<p><i>Phthorimaea</i> <i>Perculella</i></p>	<p>Les dégâts deviennent importants, prenant la forme de galeries creusées juste sous la peau ou dans la chair du Tubercule. les tubercules atteints peuvent subir une déshydratation excessive à travers les lésions et se flétrir.</p>	 <p>Entrée d'une galerie de teigne</p>
--	------------------------------------	---	--	---

## Généralité sur *Ralstonia solanacearum* (pourriture brune)

### I-Importance économique de la maladie

La pourriture brune est l'une des maladies bactériennes les plus nuisibles au niveau mondial, elle a été observée dans des vastes gammes de climat tropicale, subtropicale, méditerranéen et tempère (Janse et al., 2004).

A l'heure actuelle la pourriture brune cause des dégâts importants sur des dizaines de cultures. Elle peut provoquer jusqu'à 90% des pertes de rendement dans les cultures de pomme de terre selon le pays et la saison (Cariglia, 2007).

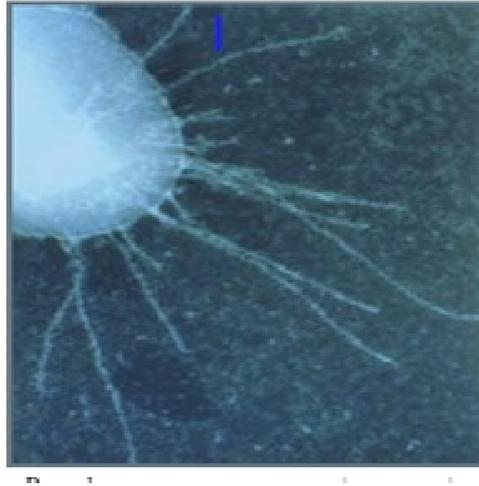
### II-Pourriture brune

La pourriture brune est une phyto bactériose d'origine tellurique, causée par *R. solanacearum*, il a été décrit pour la première fois par Erwin Fink Smith à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle (Smith, 1896). Originellement dénommé *Bacillus solanacearum*, l'agent du flétrissement bactérien a ensuite été successivement connu sous le nom de *Pseudomonas solanacearum* (Smith, 1896) puis *Burkholderia solanacearum* (Yabuuchi et al., 1992) avant d'être finalement renommé *R. solanacearum* en 1995 après une caractérisation phylogénétique par l'intermédiaire entre autres du séquençage de l'ADNr 16S (Yabuuchi et al., 1995).

### III- L'agent causal de la pourriture brune

*Ralstonia solanacearum* affecte plus de 400 espèces végétales cultivées et sauvages (EPPO, 2005). C'est une bactérie phytopathogène de quarantaine, en forme de bacille ou bâtonnet à Gram négatif, de 1,5 µm de long sur 0,5 µm de large en moyenne, asporulante, mobile par cils polaires (Fig.10).

Elle est aérobie strict de la classe des *bêta- Protéobactéries*, 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-β-hydroxybutyrate) (Girard et al., 1967 ; Hayward, 1990).



**Figure n°10** : La morphologie de la *Ralstonia solanacearum* vu en microscope électronique.

#### IV- Classification

*Ralstonia solanacearum* est une  $\beta$ -protéobactérie Gram-, un groupe qui comprend aussi bien des espèces pathogènes d'animaux (*Yersinia*, *Salmonella*, *Escherichia*...) que de plantes (*Xanthomonas*, *Pseudomonas*...). Les différentes souches de *R. solanacearum* ont longtemps été classifiées :

- ❖ En races en se base sur le spectre de plantes hôtes.

**Race 1** : race polyphage regroupant les souches pathogènes sur la plupart des solanacées, bananiers diploïdes.

**Race 2** : spécifique aux musacées, responsable de la maladie de Moko.

**Race 3** : restreinte aux solanacées et capable de se développer et d'être pathogène à des températures tempérées (18-20°C) (**Buddenhagen et al., 1962**).

**Race 4** : pathogène du gingembre (**Pegg and Moffett, 1971**).

**Race 5** : inféodée au mûrier (**He et al., 1983**).

- ❖ En biovars en se basant sur la capacité des isolats bactériens :

Les isolats utilisent et/ou oxyder trois hexose alcools: le mannitol, le sorbitol et le dulcitol et trois disaccharides : le lactose, le maltose et le cellobiose (**Hayward et al., 1990**).

Six biovars ont donc été définis : **1, 2, 3, 4, 5 et 2T**. Le même problème de représentativité de la variabilité de l'organisme a été rencontré.

- ❖ une classification phylogénétique basée sur des marqueurs moléculaires a abouti à la répartition des différentes souches de *R. solanacearum* dans 4 groupes appelés phylotypes. Ces 4 phylotypes, très hétérogènes, sont liés à l'origine géographique des souches bactériennes (Fegan et Prior, 2005 ; Poussier *et al.*, 2000).
- **Le phylotype I** : rassemble des souches d'origine asiatique, appartenant aux biovars 3, 4 et 5
  - **Le phylotype II** : d'origine américaine, appartenant aux biovars 1, 2 et 2T
  - **Le phylotype III** : d'origine africaine, appartenant aux biovars 1 et 2T
  - **Le phylotype IV** : les souches sont d'origine indonésienne, appartenant aux biovars 1, 2 et 2T

## V- Cycle biologique

*Ralstonia solanacearum* est un organisme phytopathogène qui se développe sous une forme infectieuse dans une plante hôte (Denny, 2006), mais aussi une parasite non obligatoire puisqu'il est capable de survivre sous une forme saprophyte dans le sol (Messiha, Van Bruggen, *et al.*, 2009; Van Elsas, Kastelein, *et al.*, 2000) et sous une forme planctonique dans les eaux de surface et les rivières (Van Elsas, Kastelein, *et al.*, 2001).

### 1- le cycle saprophyte dans le sol :

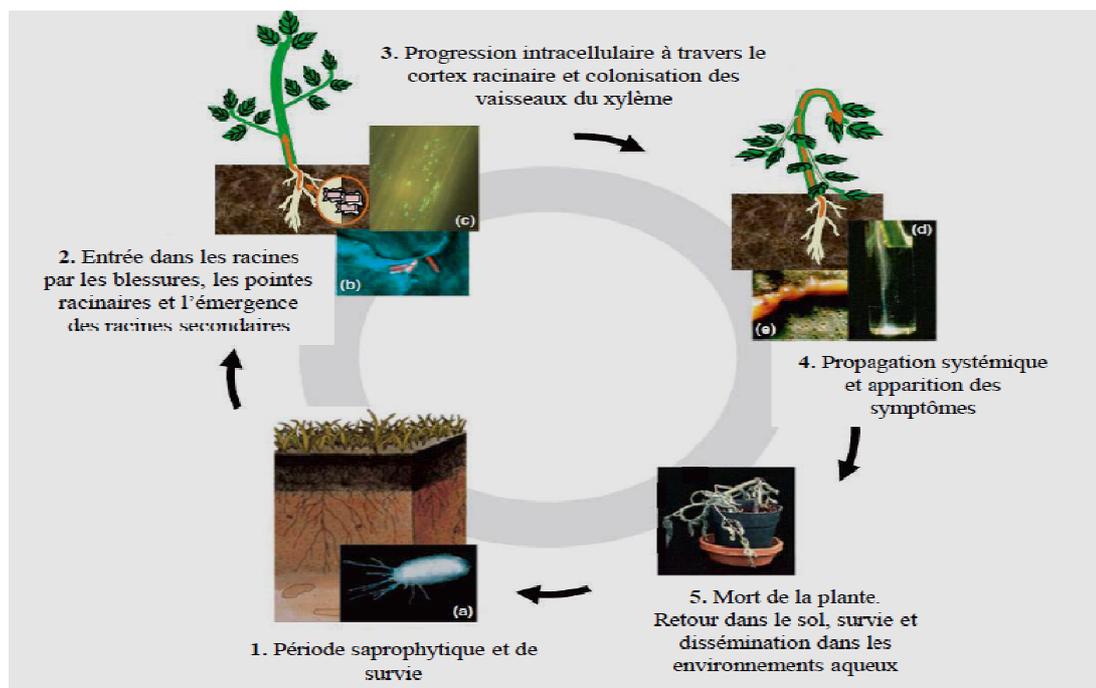
Dans lequel la bactérie peut survivre de nombreuses années (Van Elsas *et al.*, 2000). La survie de *R. solanacearum* dans le sol est favorisée par plusieurs facteurs, principalement l'humidité et la température. Les ressources nutritives ne sont pas des facteurs limitant sa survie à court terme, car la bactérie dispose de réserves lipidiques (inclusions de poly- $\beta$ -hydroxybutyrate ou PHB) (Alvarez, Lopez, *et al.*, 2008).

Cependant, d'autres facteurs limitent significativement sa survie, comme un taux de matière organique élevé (Gorissen, Van Overbeek, *et al.*, 2004; Hayward, 1991; Schönfeld, Gelsomino, *et al.*, 2003), la profondeur, la nature des débris de plantes, la microfaune et la microflore environnante (Coutinho, 2005; Hayward, 1991; Persley, 1986), ainsi que le type de sol.

La survie de *R. solanacearum* dans l'eau est généralement excellente peut survivre plus de 40 ans dans un'eau pure comprise entre 20 et 25°C (Alvarez, Lopez, *et al.*, 2008; Denny, 2006; Hayward, 1991; Schaad, Jones, *et al.*, 2001) ; d'ailleurs, le stockage dans l'eau pure est toujours considéré comme une bonne solution.

## 2- le cycle infectieux dans la plante :

Lors de la pénétration dans les tissus, l'hôte meurt généralement à l'issue du processus infectieux, mais il peut tout aussi bien y survivre en continuant de se développer comme porteur sain (réactions dites compatibles)



**Figure n°11** : Cycle infectieux de *Ralstonia solanacearum* (Génin, 2010).

- (a) Observation de la souche GMI1000 au microscope électronique à transmission.
- (b) Observation en microscopie des bactéries attachées à la surface des cellules Végétales.
- (c) Visualisation de bactéries exprimant la « Green Fluorescent Protein » à la surface des Racines de tomate.
- (d) Suintement bactérien d'une tige infectée de tomate sortant dans l'eau.
- (e) Ecoulement d'exopolysaccharides à partir de la section transversales d'une tige Infectée des tissus vasculaires.

Après un cycle infectieux, l'agent pathogène est à nouveau disséminé et peut ainsi contaminer d'autres hôtes. Si les conditions sont favorables : plante sensible, conditions de croissance, forte pluviométrie... il est possible que *R. solanacearum* provoque des épidémies à grande échelle (Coutinho, 2005; Hayward, 1991; Persley, 1986).

La production d'un exsudat bactérien important est aussi observable lors d'une lésion des tissus externes de la plante hôte infectée (Buddenhagen et Kelman, 1964).

Ces caractéristiques permettent à *R. solanacearum* une grande flexibilité d'adaptation et ainsi de contaminer le sol, l'eau, le matériel agricole... jusqu'à présenter pour certaines souches une adaptation aux insectes (Buddenhagen, 2009).

### VI- Les plantes attaquent par *R. solanacearum*

La gamme d'hôtes de *R. solanacearum* comporte des solanacées (tomate, pomme de terre, tabac, aubergine...) mais également des légumineuses (arachide, haricot...), des monocotylédones (bananier, gingembre...) et des arbres et arbustes (mûrier, olivier, ...) (Hayward, 2000). Le *R. solanacearum* est donc capable d'infecter de nombreuses plantes ornementales mais aussi des plantes d'intérêt agronomique provoquant des pertes économiques importantes dans les pays touchés.

**Tableau n°06** : Des plantes attaquent par *R. solanacearum*

Les plantes	Symptômes	Images	Les auteurs
<b>Pomme de terre</b>	<p>Feuillage : le premier symptôme visible est le flétrissement des feuilles des extrémités des branches. Une décoloration linéaire brune peut s'observer sur les tiges, à partir de 2,5 cm au-dessus du sol. De plus, une épïnastie des pétioles peuvent se produire. Un exsudat bactérien blanc et gluant suinte à partir des faisceaux vasculaires cassés ou coupés.</p> <p>Sur tubercule : une coloration jaune vitreux à brun clair de l'anneau vasculaire, Par la suite, la décoloration vasculaire devient plus nettement brune et la nécrose s'étend parfois au tissu parenchymateux. Aux stades avancés, l'infection se</p>		(Smith, 1999)

	<p>propage à partir du talon et des yeux, et l'épiderme des tubercules présents alors des lésions brun rougeâtre légèrement concaves ; de ces lésions peut suinter un liquide bactérien provoquant l'adhérence des particules de sol.</p>		
<p><b>Tomate</b></p>	<p>Un flétrissement des plus jeunes feuilles 5 à 10 jours après l'infection. Quelques jours après avoir observé les premiers symptômes, la plante continue à dépérir de manière irréversible jusqu'à la mort Des retards de croissance peuvent aussi être observés chez les plantes hôtes. <i>R. solanacearum</i> infecte le cortex des plantes hôtes par les blessures au niveau des racines. Ensuite, elle colonise les vaisseaux du xylème et remonte dans l'entièreté de la plante menant ainsi à une infection systémique.</p>		<p>(Hayward, 1991).</p>

<b>Tabac</b>	Flétrissement unilatéral et le jaunissement prématuré des plantes. Les feuilles d'un côté de la plante ou même la moitié d'une feuille présenteront des signes de flétrissement. En cas de sévérité de l'attaque, la feuille flétrira sans changer de couleur et restera attachée à la plante (OEMPP, 2004).		(OEMPP, 2004).
<b>Bananier</b>	Le nanisme et la distorsion d'organes jusqu'au flétrissement rapide et la destruction du plant.		(INRA, 2003)

### VII- La virulence de *Ralstonia solanaceum*

La bactérie commence d'abord par la colonisation des extrémités racinaire, des zones d'émergences, ou bien par les blessures occasionnées par des nématodes ou les blessures causées par le travail mécanique de sol, cette colonisation assure par trois systèmes lesquels chimiotactisme pour les exsudats racinaire (Yao et Allen, 2006), la mobilité permet par les flagelles (Tans-Kersten, Brown, *et al.*, 2004), L'adhérence aux cellules hôtes (Kang, Liu, *et al.*, 2002). Par la suite la bactérie continue à coloniser l'espace intercellulaire du cylindre central et du parenchyme vasculaire (Vasse, Frey, *et al.*, 1995).

*Ralstonia solanaceum* se multiplie partiellement à l'intérieur des vaisseaux de xylème et se migre vers les tiges ; à ce moment là, la bactérie produit des exopolysaccharides dans laquelle il va ralentir la circulation de la sève dans les tissus vasculaires : c'est un blocage de circulation du flux hydrique qui il provoque le flétrissement de la plante.

Après la mort de la plante, la bactérie va retourner vers le sol pour la conservation (Buddenhagen et Kelman, 1964; Denny, Carney, *et al.*, 1990).

## VIII- La lutte contre *R. solanacearum*

### VIII -1 La lutte culturale

Une première stratégie consiste à raisonner les rotations en évitant les successions d'espèces hôtes. Il est préconisé d'éviter les rotations cucurbitacées-solanacées, ces deux familles étant hôtes de *R. solanacearum* (Wicker et al. 2009).

Une des voies les plus prometteuses consiste à utiliser des cultures assainissantes en rotation et/ou en association destinées à lutter contre *R. solanacearum*. C'est parmi les alliacées que l'on trouve les espèces assainissantes les plus efficaces : l'oignon (*Allium cepa*), la cive (*Allium fistulosum*, *A. tuberosum*) et l'ail (*A. sativum*) sont reconnues pour leur caractère non-hôte, leur effet suppressif sur les populations bactériennes et leur effet suppressif sur l'incidence de la maladie (Yu, 1999).

### VIII-2- La lutte physique et chimique :

Ces luttes sont rarement utilisées à cause du coût élevé des méthodes et de la dangerosité pour l'utilisateur et l'environnement.

La solarisation consiste en une désinfection thermique du sol par recouvrement avec un film plastique transparent.

Des traitements de fumigation peuvent aussi être utilisés mais de nombreux produits sont maintenant interdits. L'acide par acétique et le dioxyde de chlore peuvent aussi être utilisés pour désinfecter les eaux d'irrigation (Wicker, 2007).

### VIII-3- La lutte biologique :

Cette lutte consiste en général en l'utilisation de bactéries antagonistes ou de souches avirulentes de *R. solanacearum*.

Différents microorganismes comme *Trichoderma sp.* ou *Bacillus sp.* Peuvent être utilisées pour leurs propriétés d'inhibition de la croissance de *R. solanacearum*. Cependant elles ne sont pas forcément adaptées à la même niche écologique et n'ont pas la même capacité de colonisation de la rhizosphère.

Les mutants avirulents de *R. solanacearum* présentent ces caractéristiques et peuvent donc induire des phénomènes de résistance chez la plante, cependant ils sont en général moins compétitifs que les souches virulentes (Poussier, 2000).

**VIII-4-La lutte génétique**

La résistance variétale correspond à la stratégie la plus efficace pour lutte contre le flétrissement bactérien.

Le travail de recherche consiste, dans un premier temps, à identifier des sources de résistance ou de tolérance (plantes colonisées mais dépourvues de symptômes) et adaptées aux conditions climatiques. Dans un deuxième temps, des variétés résistantes sont créées en tentant d'introduire les gènes de résistances dans des variétés sensibles tout en s'attachant à conserver la valeur agronomique.

Le mécanisme de résistance est lié à la capacité de la plante à limiter la colonisation bactérienne au niveau des tissus conducteurs notamment par la production de thylles et donc non au niveau du système racinaires (**Grimault et Prior, 1993 ; Grimault *et al.*, 1994**).

**Objectif**

Notre travail consiste de détecter l'agent causal de la maladie de pourriture brune sur les tubercules de semence de pomme de terre en poste récolte (*Ralstonia solanacearum*).

Pour cela nous avons adopté le plan suivant :

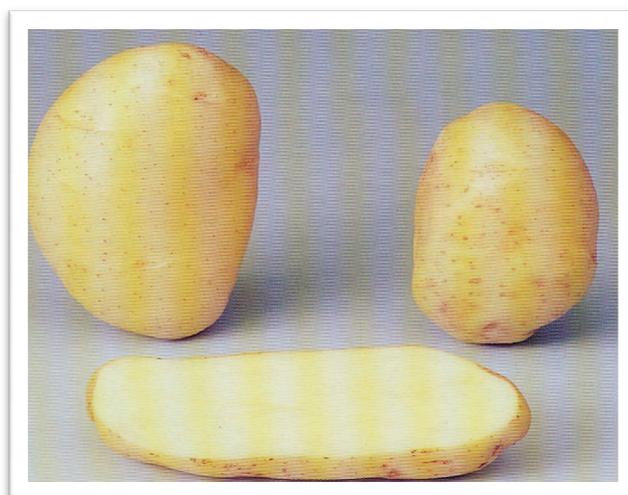
- choisis et ramène des échantillons de semence de tubercules de pomme de terre portants les différents symptômes de pourriture brune.
- la préparation de ses échantillons pour l'isolement
- l'identification des isolats bactériens par les tests biochimiques et biologiques.

**I- Le matériel végétal**

La variété étudiée est Spunta, elle est d'origine Danoise, Hollandaise et Française.

Chaque variété présente des spécificités, la variété Spunta caractériser par :

- Maturité : Demi précoce (110-120 jours).
- Rendement : Elevé, en gros tubercules.
- Feuillage : Plante assez haute, développement rapide avec bonne couverture.
- Tubérisation rapide.
- Tubercules : Peau et chaire jaune pâle, tubercules gros oblongs avec des yeux superficiels.
- Faible aptitude à la conservation, dormance assez courte.
- Résistance : Sensible au mildiou du feuillage et des tubercules. La peau est sensible aux virus, gale commune. Bonne résistance à la sécheresse et à la chaleur.



**Figure n°12:** La morphologie de Spunt

**II- La présentation des régions étudiée**

- Bourached : c'est le premier point de stockage de 220 m<sup>2</sup> de surface, avec une quantité stockée a peu pris 600 qtx, d'origine de semence est denmark, on a fait l'échantillonnage à partir de cette date : le 2/02/2017.
- Rouina : C'est le deuxième point de stockage de 170 m<sup>2</sup> de surface, avec une quantité stockée a peu pris 450 qtx, d'origine de semence est la Hollande, on a fait l'échantillonnage à partir de cette date : le 2/02/2017.

**III-Les échantillonnages**

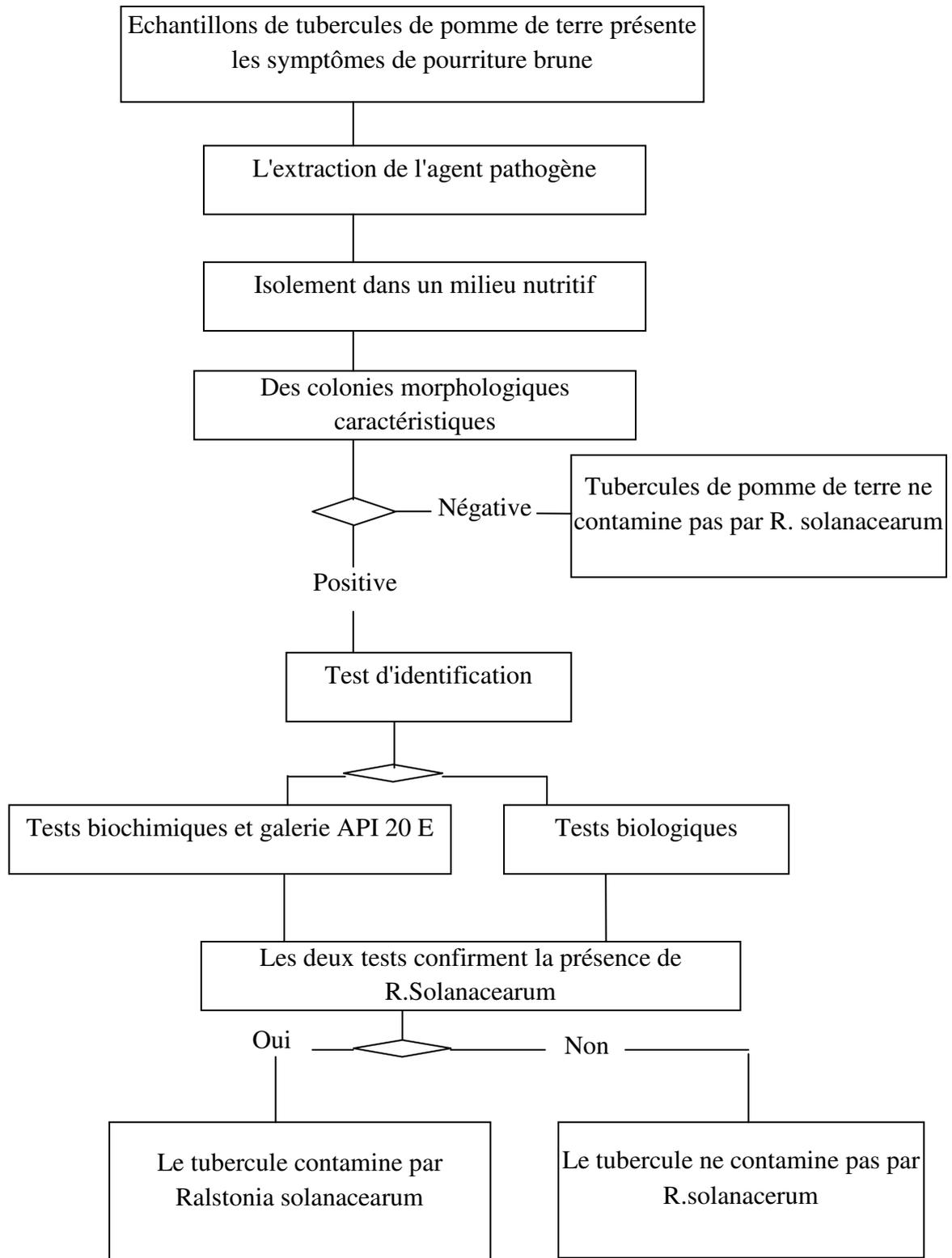
Les échantillons sont prélevés à partir des chambres froides situées au niveau de deux sites différents : le premier situé à la commune de Bourached et l'autre à la commune de Rouina, dans chaque site on collecte une quantité de 4 à 5 kg de tubercules de la variété Spunta, laquelle est mise au réfrigérateur à 4°C pour conservation.

Les prélèvements des tubercules sont basés sur la présence des symptômes de la pourriture brune ; lorsqu'on fait une coupe transversale on observe une coloration brune claire de l'anneau vasculaire. Quand on applique une légère pression des doigts à proximité de la coupe on observe une crème pâle.

**IV-La méthodologie**

La méthode utilisée pour détecter et identifier *Ralstonia solanacearum* sur des échantillons de pomme de terre est résumée dans le plan suivant:

Procédure pour détecter et identifier *Ralstonia solanacearum* sur des échantillons de tubercles de pomme de Terre.



**IV- 1-Préparation de l'échantillon**

Tout d'abord nous avons lavé les tubercules à l'eau courant en utilisant les désinfectants, laisse les tubercules à l'air pour le séchage puis nous avons enlève la peau de chaque tubercule au moyen d'un scalpel stérile de façon à faire apparaitre le tissu vasculaire et découpe soigneusement les échantillons au niveau de talon.

**IV-2- Isolement bactérien et purification**

1-la premier méthode est l'isolement direct par utilisation des petites fragments infecte sur des boites de Pétri contentent un milieu nutritifs générale.

2-la deuxième méthode :

Nous avons place les talons de tubercule dans un sac de macération pendant 15 à 20 min, broyée ces talons au moyen d'un outil approprié par exemple un marteau jusqu'à homogénéisation juste complète, puis on ajoute une quantité suffisante de tampon de macération de façon a recouvrir les talons broyés et laissé le macérat décanter de 15 à 30 min, après la préparation faire la préparation des séries des dilutions au dixième de la suspension précédent et agite chaque dilution pendant 2 à 3min à l'aide d'un vortex.

Transféré une quantité de 50 ul de la suspension dans des boites de Pétri contenant un milieu de culture général (SPA, LPGA). Incube les boites pendant 2 à 4 jours à 30 °C.

Après l'incubation nous avons réalise une série de purification des isolats obtenus pour obtention des souches pures.

**IV-3- Analyses biochimiques des isolats bactériens****IV- 3-1- Coloration de Gram**

La coloration de Gram est la coloration la plus utilisée en bactériologie. C'est une coloration différentielle permet de visualiser facilement les bactéries et de donne des indicateurs sur leurs forme et divise ces derniers en 2 groupes : les Gram positif et les Gram négatif (Prescott L.M.n, *et al* 2003).

**IV-3-2-Test oxydase**

Le test d'Oxydase est un examen rapide, utilisé pour identifier les bactéries Gram-négatifs, Un prélèvement de culture bactérienne de 24 à 48 h est effectué à l'aide d'une anse et frottée dans une goutte d'oxydase déposée, l'apparition d'une coloration violette en moins de 10 seconde indique la présence de l'oxydase (Kovac's, 1956).

**IV-3-3-Test de la catalase**

La catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée, sa présence est mise en évidence en déposant à l'aide d'une pipette pasteur. Quelques gouttes d'eau oxygénée à 1 % sur une colonie isolée (Guiraud *et al.*, 2003). La décomposition de l'eau oxygénée se traduit par un dégagement de bulles de gaz selon la réaction suivante :

**IV-3-4- L'utilisation de citrate**

Le citrate est la seule source de carbone son utilisation se traduit par une alcalinisation du milieu. Sur le milieu citrate de Simmons une crème bactérienne est ensemencée en stries sur la pente du milieu, incubé les tubes à 30°C pendant 24 à 48h (Simmons, 1926).

**IV-3-5- Test de métabolisme oxydatif-fermentatif (O/F)**

Ce test consiste à vérifier si la bactérie peut utiliser le glucose en présence de ou l'absence d'oxygène. Pour chaque isolat à tester, 2 tubes contenant le milieu O/F sont inoculés à l'aide d'une culture bactérienne de 24 à 48 h. L'inoculation consiste à introduire une anse pleine de bactéries directement au fond du tube à essai. L'un des tubes est recouvert d'huile de paraffine d'une goutte à deux d'épaisseur afin d'empêcher toute infiltration d'oxygène.

Les tubes sont mis en incubation à 30 °C et les observations sont faites quotidiennement pendant 48h. Un changement de couleur de vert olive au jaune dans le tube non couvert d'huile indique une oxydation tandis qu'une coloration jaune dans les 2 tubes indique une fermentation (Fahy et Persley, 1983).

**IV-3-6- Croissance à 40°C**

Ce test permet de savoir la capacité de pousser à une température élevée, l'ensemencement des colonies bactériennes sur le milieu LPGA et incubés pendant 2 jours, *Ralstonia solanacearum* ne pousse pas à 40°C (Lelliot et Stead, 1987).

**IV-3-7- La production de levane**

Le test levane sert à déterminer la polymérisation de fructose en polyfructose. A l'aide d'une anse d'ensemencement, on dépose une colonie bactérienne sur le milieu à base de levane, Après 48 h d'incubation à la température de 28 à 30 °C, on observe les boîtes de Pétri pour la formation de levane. une réaction négative indique la présence des stries prostrées, dans le cas d'une réaction positives, les stries apparaissent bombées et brillantes (Lelliot et Stead, 1987).

**IV-3-8- Croissance dans une solution à (1% et 2%) de NaCl)**

Ce test permet de savoir si les bactéries ont la capacité de croître dans le milieu hypersalé. La méthode consiste à ensemencer ces bactéries dans les tubes de milieu LPGA à (1% et 2%) de NaCl et les incubent à 30 °C pendant 24 heures. Après incubation, la croissance de ces bactéries se manifeste par un trouble du milieu.

**IV-3-10- Le test Arginine dés hydrolase (ADH)**

Il sert à déterminer si la bactérie transforme l'arginine par l'enzyme arginine dés hydrolase. À l'aide d'une anse stérile, on dépose des colonies bactériennes sur le milieu de culture liquide. Après 24 à 48h d'incubation à 30°C, le changement de couleur indique la transformation de l'arginine par l'enzyme (**Hildbrand et Scroth, 1988**).

**IV-3-11- La réduction de nitrate**

Le test permet de mettre en évidence la production de nitrate par la bactérie. Sur des tubes contenant un milieu à base de nitrate. Les bactéries sont ensemencées à l'aide d'une anse. Après 24 h à 48 h d'incubation à 27 °C, on ajoute (NR1, NR2) le changement de couleur en rose indique que la réaction est positive. Si il n'y a pas de changement de couleur on ajoute le poudre de Zn), L'apparition d'une couleur rose indique que la réaction est négative. (**Lelliot, 1987**).

**IV-3-11- Liquéfaction de la gélatine**

Sur des tubes contenant un milieu à base de gélatine, les bactéries sont ensemencées à l'aide d'une anse. Après 7 jours d'incubation à 30°C, les tubes sont placés à 4°C pendant 30 mn. *Ralstonia solanacearum* répondue négative pour ce test (**Dickey et kelman, 1988**).

**IV-3-12- L'hydrolyse de l'amidon**

Une culture bactérienne de 24 h est prélevée à l'aide de la pipette Pasteur dépose des colonies sur le milieu d'amidon contenu dans une boîte de Pétri. Les boîtes de Pétri inoculées (une boîte par isolat) sont incubées pendant 48 h à la température 30 °C. À la fin de la période d'incubation les boîtes sont inondées avec de l'iode de lugol. L'apparition d'une couleur jaunâtre autour ou sous la culture bactérienne indique une réaction positive. Par contre si le milieu vire au bleu ou si on obtient une coloration Rougeâtre la réaction est négative, donc l'amidon n'est pas hydrolysé (**Lelliot. et Stead., 1987**).

**Tableau 07 :** Caractéristiques différentielles utilisés pour identifier des souches bactériennes appartenant à l'espèce *Ralstonia solanacearum* par des tests biochimiques (Smith, 1999).

Tests	Résultat attendu
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	-
Production de levane	-

#### IV-4- Identification par le système API 20E

La galerie API 20E (bioMérieux) est une version miniaturisée des tests biochimiques classique destinés à l'identification des Entrobacteriaceae (bactérie Gram négatif et anaérobies facultatives).

Ce système regroupe 20 tests biochimiques. Des substrats déshydratés sont contenus dans des microtubes. Ces substrats sont mis en solution grâce à l'addition d'une suspension de la bactérie à identifier. A la suite d'une période d'incubation (24 heures 30°C), permettant à la bactérie de réagir avec les substrats.



**Figure n°13:** la galerie API 20E

- **Inoculation d'une galerie API 20E :**

- 1- La préparation d'une suspension bactérienne ayant une concentration de  $10^8$  bactéries/ml d'une culture pure, la suspension fait dans 5ml de l'eau physiologie à pH entre 5,5 et 7. avec une agitation au vortex 20 secondes.
- 2- On remplir les supports par l'eau désilé stérile et dépose la galerie puis mettre le couvercle.
- 3- Nous avons dépose un volume de 150 ul de la suspension bactérien dans chaque cupule de la galerie. puis on ajouter de nouveau 150 ul de la suspension bactérienne aux cupules CIT, VP et GEL.
- 4- Nous avons remplir les cupules ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S et URE d'huile de paraffine.
- 5- L'incubation à 30°C pendant 24 heures.

- **Légende :**

ONPG : détermination de la présence de l'enzyme B-galactosidase.

ADH : Transformation de l'arginine (acide aminé) par l'arginine déshydrolyase.

LDC : transformation de la lysine (acide aminé) par la lysine décarboxylase.

ODC : transformation de l'ornithine (acide aminé) par l'ornithine décarboxylase.

CIT : Utilisation du citrate comme seule source de carbone.

H<sub>2</sub>S : production du sulfure d'hydrogéné à partir du thiosulfate (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

URE : libération d'ammoniac à partir de l'urée grâce a l'uréase

TDA : formation de l'acide indolepyruvique à partir du tryptophane (acide aminé) grâce à tryptophane désaminase.

IND : formation d'indole à partir du tryptophane (acide aminé).

VP : formation d'acétoine à partir du purivate de sodium.

GEL : Liquéfaction de la gélatine (protéine).

GLU (glucose), MAN(mannitol), INO(inositol), SOR(sorbitol), RHA(rhamnose), SAC(sucrose), MEL(mélobiose), AMY(amygdaline), ARA(L+arabinose) - formation d'acide à la suite de l'utilisation d'un hydrate de carbone.

### **V- Test de pouvoir pathogène**

Ce test réalise pour la confirmation des résultats des tests biochimiques des isolats obtenus. On va préparer une suspension bactérienne ( $10^8$ ) des isolats testés et ramener des plantules de variété de tomate et des rondelles de pomme de terre de même variété (spunta).

#### **❖ Tomate:**

Inoculer 5 à 15 plantes de tomates au stade, de préférence, de la troisième vraie feuille ou plus à l'aide d'une seringue stérile, on injecte un volume de la suspension dans la tige.

Incuber pendant une période pouvant atteindre 2 semaines à une température de 22 à 28° C à raison d'un arrosage quotidien. Nous avons suivis l'évolution des plantes pendant 2 semaines en notant l'apparition des symptômes caractéristiques de flétrissement.

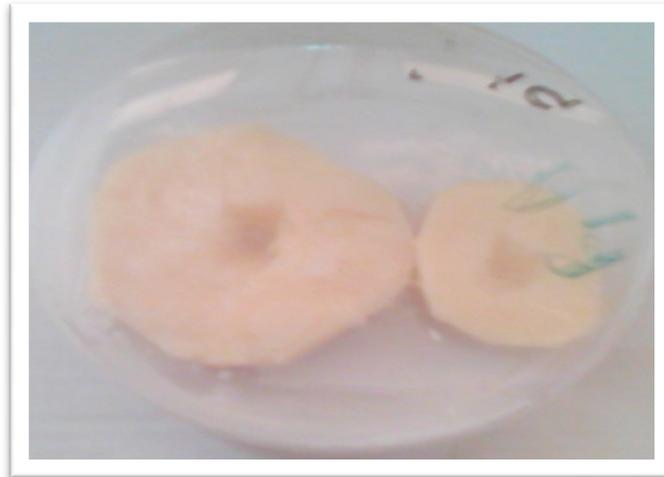


**Figure n°14:** inoculation de la suspension bactérienne sur la tomate.

**❖ Rondelle de pomme de terre:**

Sur la surface des rondelles de pomme de terre on va étaler une quantité de la suspension bactérienne.

L'incubation des rondelles de pomme de terre à 30°C pendant 3à5 jours.



**Figure n°15:** les rondelles de pomme de terre appartiennent la suspension bactérienne.

### I- L'échantillonnage

Au cours de notre prospection au niveau les deux sites visites (Rouina et bourached) nous somme constaté la présence des symptômes de pourriture. Les échantillons prélevé contenu des symptômes de la pourriture brune soupçonne être cause par *Ralstonia solanacearum* qu'ils sont les suivants : des colorations brunes claires de l'anneau vasculaire et des crèmes jaunes pales à proximité de la coupe transversale (**fig.16**).



A-Coloration de l'anneau vasculaire

B- pourriture brune

**Figure n°16:** Les symptômes observés sur les tubercules de pomme de terre.

## II-Résultats du diagnostique au laboratoire

### II-1-Description macroscopique des colonies

#### 1- Isolement à partir des fragments infectés:

Les échantillons isolé sur les géloses nutritives sont croitre et forme des colonies ; qu'ils correspondent à des caractéristiques typiques de la forme de la colonie de *Ralstonia solanacearum*.

Après l'observation visuelle, les colonies apparaitre de couleur jaune, fluides et de forme circulaire (**Fig.17**).



**Figure n°17** : Description macroscopique des fragments infectés sur NG.

1- Isolement à partir des suspensions :

D'après les observations visuelles des échantillons qui nous avons isolé par l'étalement de la suspension bactérienne dans les milieux (LPGA, SPA). Nous avons remarqué des colonies d'un aspect blanc crémeux et de forme irrégulière (**Fig.18**).



**A- LPGA**

**B- SPA**

**Figure n°18** : Description macroscopique des suspensions bactériennes étalées sur SPA, LPGA

### III-Résultats des analyses biochimiques

#### III-1-La coloration de Gram

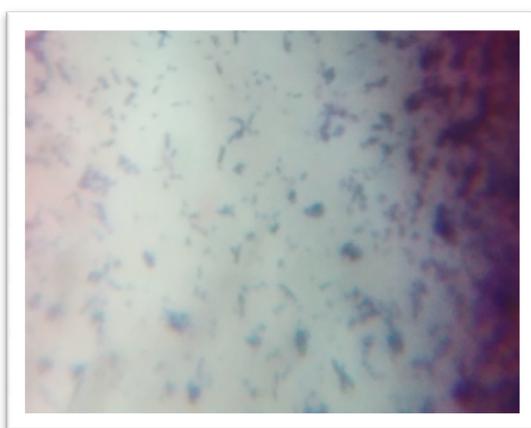
C'est une coloration permet de déterminer deux groupes de Gram ; les bactéries de Gram positive(+) sous microscope optique apparaissent de couleur violet et les bactéries de Gram négative(-) apparaissent de couleur rose.

Dans notre recherche nous avons obtenu les deux groupes de Gram. Des bactéries de forme bacille et cocci de type de Gram négative (-) et de bactéries de forme bâtonnet à Gram positive(+) (**Tab.08**).

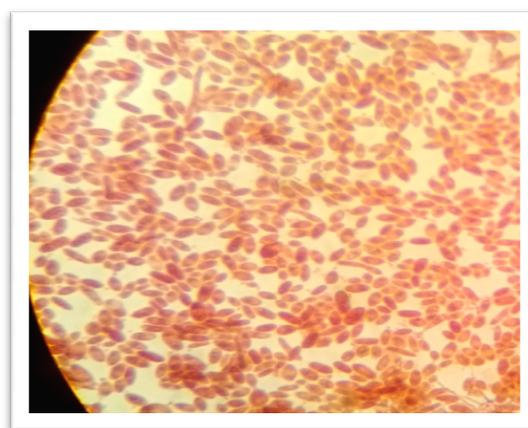
Tableau n° 08: Résultats de coloration de Gram

Résultats de Gram		Forme
Les bactéries Gram(+)	11	Bacille
Les bactéries Gram(-)	27	Cocci
	12	Bacille

Sur l'ensemble des isolats obtenus (50 isolats), nous avons 39 isolats sont Gram négatif à des formes bacille et cocci, et 11 isolats sont de Gram positif à forme bâtonnet.



A- Gram (+)



B- Gram (-)

Figure n°19: Résultat du test de coloration de Gram au microscope optique(Gx100).

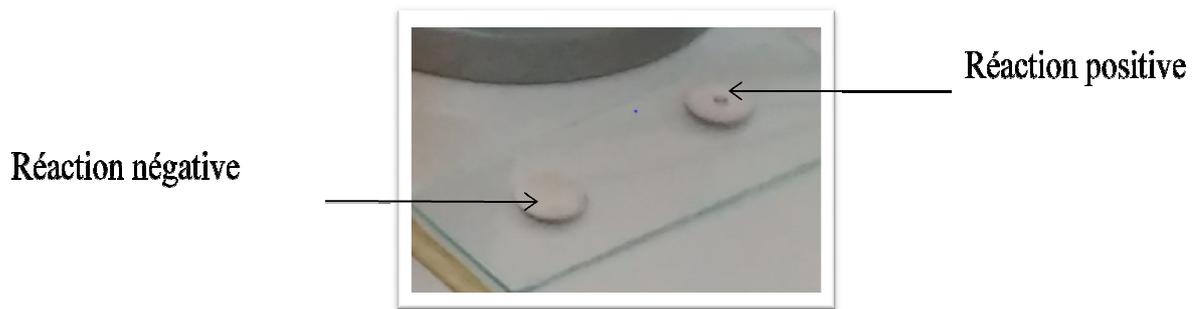
### III-2-Les résultats des tests biochimiques

#### III-2-1Test oxydase

Dans ce test nous avons obtenu des colonies d'une coloration violette indique la présence de l'oxydase : réaction positive(+), par contre des autres colonies ne colorer pas, la réaction est négative(-), les résultats sont présentes dans (Tab.09, Fig.20).

Tableau n° 09 : Résultats de test oxydase

Résultats de test oxydase	
Réaction(+)	06
Réaction (-)	44

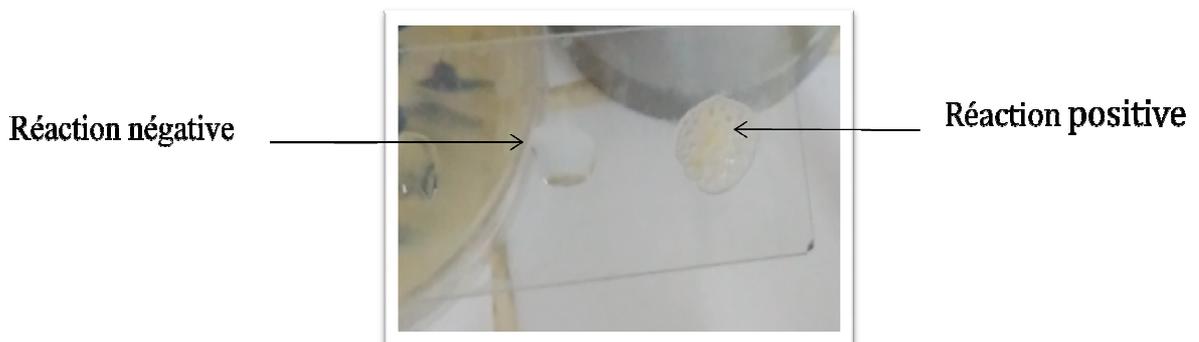


**Figure n°20:** Résultats de test oxydase

### III-2-2- Test de la catalase

La bactérie qui nous avons étudié capable de dégrade l'eau oxygénée dont la présence de catalase il ya dégagement des bulles.

Dans notre recherché nous avons obtenu 37 isolats qu'ils dégradent l'eau oxygénée (+) et (13 isolats ne dégrade pas (-) (**Fig.21**).



**Figure n°21 :** Résultats de test catalase

A Partir des résultats obtenu de (coloration de Gram, la forme, les tests catalase et oxydase), nous avons choisis 19 isolats soupçonne être la bactérie recherché pour la réalisation des autres tests biochimiques restent.

### III-2-3-L'utilisation de citrate

Pour ce test l'alcalinisation du milieu signifie que la bactérie utilise le carbone qui se traduit par des colonies jaune. Donc solen notre résultats, seulement 07 isolats répons négativement a ce test (**Tab.10, Fig.22**).

**Tableau n°10 :** Résultats de test citrate

Résultats de test citrate	
Réaction positive(+)	12
Réaction négative(-)	07



Figure n°22: Résultats de test citrate

III-2-4- Test de métabolismes oxydatif-fermentatif ( O/F)

Nous avons remarqué qu'il ya 14 isolats changent leur couleur vers le jaune, indique que la reaction est positive (+) par contre 05 isolats ne changent pas leurs couleur (Fig.23).

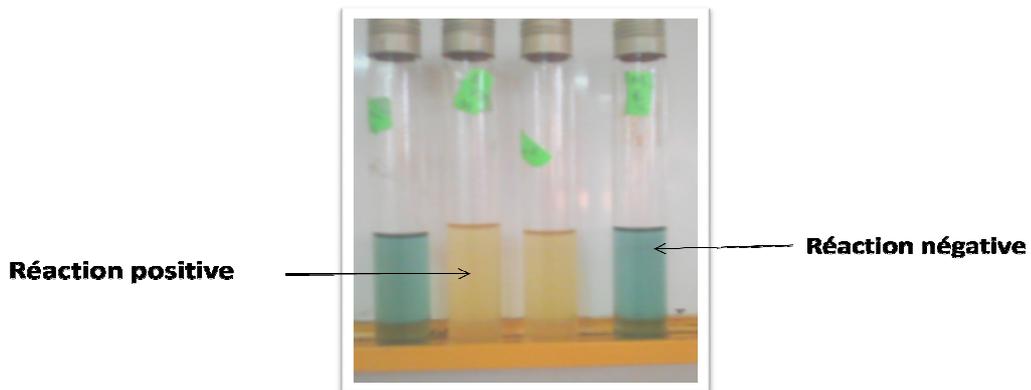


figure n°23: Résultats de Test oxydatif-fermentatif

III-2-5-Croissance à 40°C

Les résultats obtenus de croissance à 40 °C, 16 isolats sont développés et 03 isolats ne développent pas (Fig. 24).

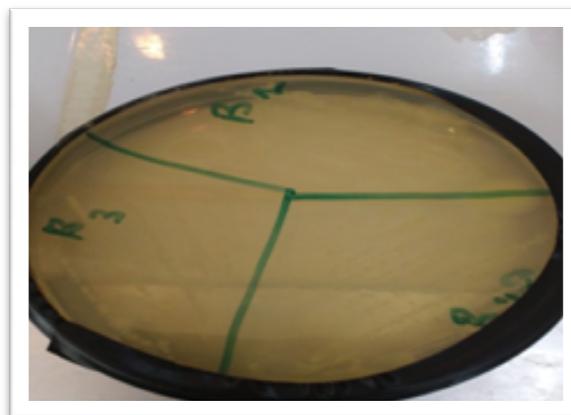


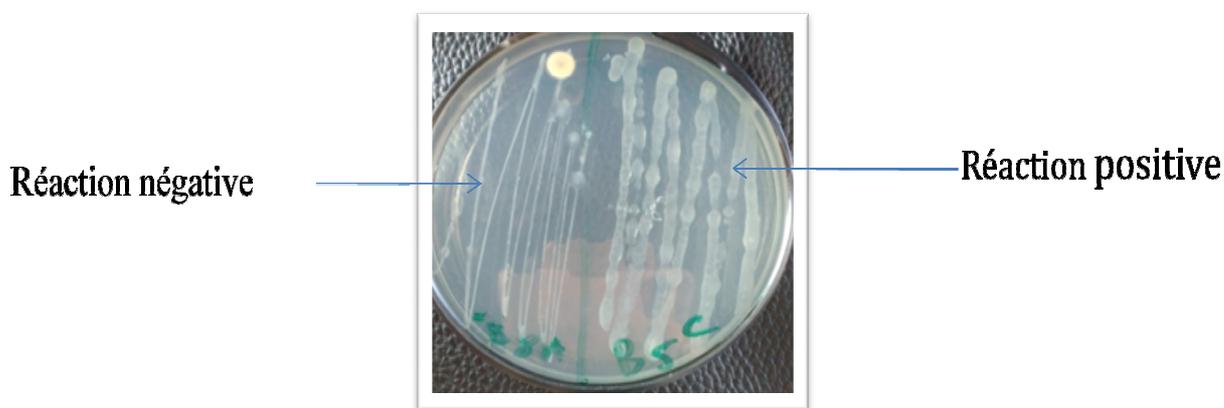
Figure n°24 : Test de croissance en 40 °C

**III-2-6-La production de levane**

Notre test permet de déterminer que la bactérie capable de polymériser le fructose en polyfructose. L'apparition des colonies bombées et brillantes est une réaction positive(+), l'absence des colonies bombées et brillantes indique la réaction négative(-) (Tab.11, Fig.25).

**Tableau n°11: Résultats de test de levane**

Résultats de test de levane	
Réaction positive(+)	12
Réaction négative(-)	07



**Figure n°25 : Résultats de test de levane**

**III-2-7-Croissance dans une solution de NaCl**

Ce test permet de déterminer la capacité d'une bactérie de pousser dans un milieu hypersalé. Les résultats obtenus sur deux milieux de solution 1% et 2% de NaCl sont présentés dans (Tab.12, Fig26).

**Tableau n°12: Résultats de NaCl**

Résultats de NaCl	1% NaCl	2% NaCl
Réaction positive(+)	10	06
Réaction négative(-)	09	13

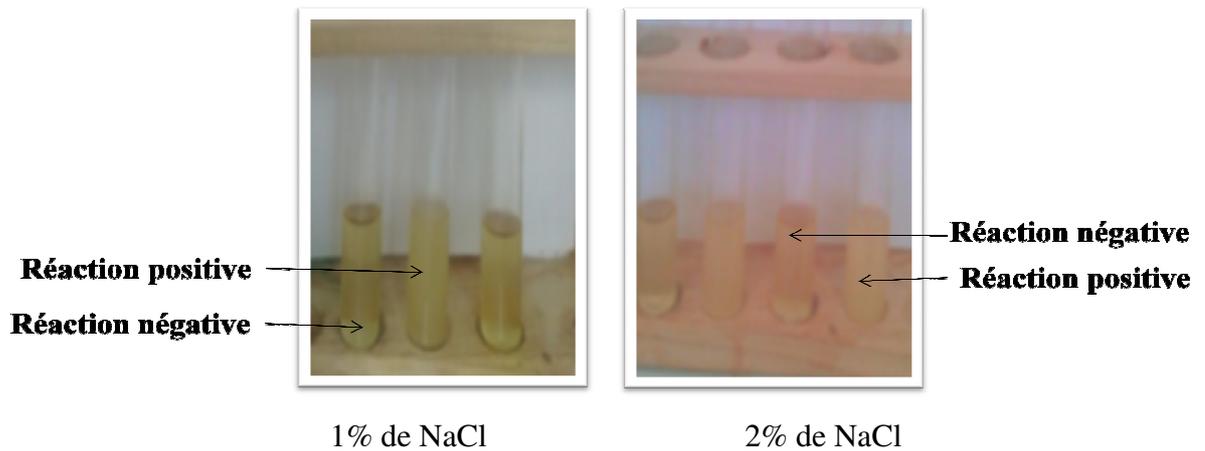


Figure n°26 : Résultats de Croissance dans une solution de NaCl

III-2-8-Le test Arginine des hydrolases (ADH)

Dans notre résultat nous avons obtenu 03 isolats qui transforment l'arginine par arginine hydrolase et 16 isolats ne transforment pas l'arginine (Fig.27).



Figure n°27 : Résultats de test Arginine

III-2-9-La réaction de nitrate

Nous avons obtenu (03) isolats changent leur couleur vers le rouge qu'il indique une réaction positives(+) et (16) isolats ne changent pas leur couleur donc ils sont négative (-) (Fig.28).

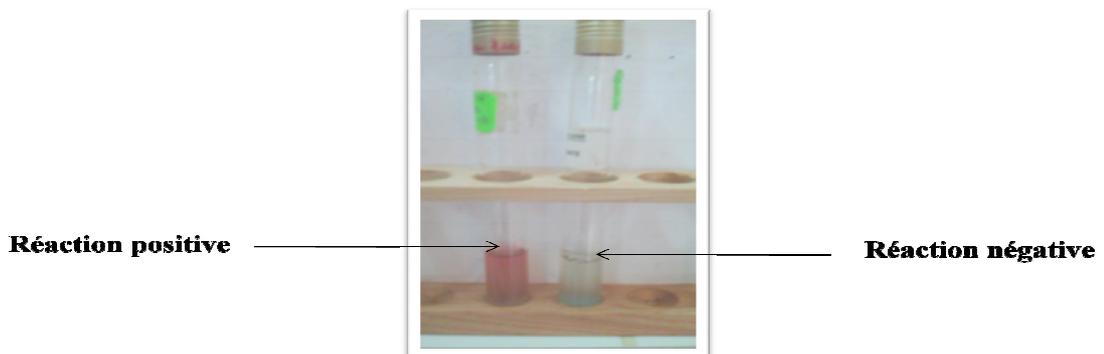


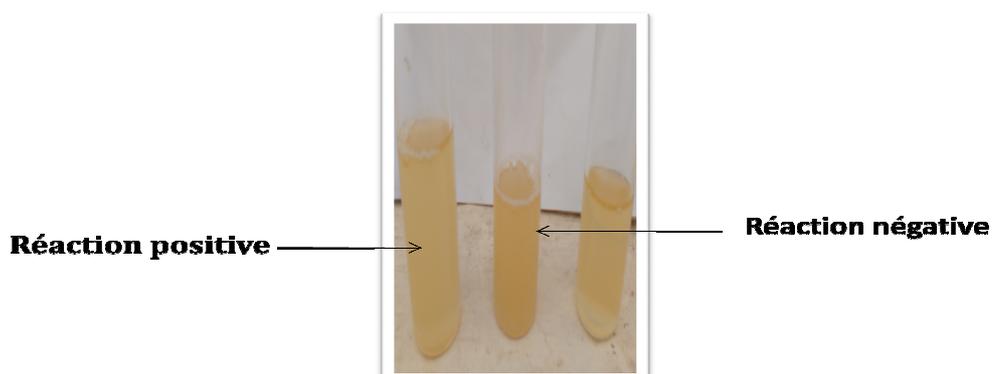
Figure n°28 : Résultats de test nitrate

### III-2-10- Liquéfaction de gélatine

A partir de tableau des résultats obtenu (Tab.13, Fig29), de test liquéfaction de gélatine, 06 isolats sont répondus positivement, et les autres réponds négative.

**Tableau n°13:** Résultats de test Liquéfaction de gélatine

Résultats de test Liquéfaction de gélatine	
Réaction positive(+)	06
Réaction négative(-)	13



**Figure n°29 :** Résultats de test de Liquéfaction de gélatine

### III-2-11-Test de l'hydrolase de l'amidon

L'apparition d'une couleur jaunâtre autour ou sous la culture bactérienne indique une réaction positive (+) par contre si le milieu vire au bleu la réaction est négative(-) (Tab. 14, Fig.30).

**Tableau n°14:** Résultats de l'hydrolase de l'amidon

Résultats de l'hydrolase de l'amidon	
Réaction positive(+)	04
Réaction négative(-)	15



**Réaction positive(+)**



**Réaction négative(-)**

**Figure n°30 :** Résultats Test de l'hydrolase de l'amidon

#### IV- Résultats finales des tests Biochimiques

D'après les résultats obtenus dans (Tab.15) des tests biochimique nous avons choisi 05 groupes d'isolats, soupçonne la présence de la bactérie étudiée permet ces groupes.

**Tableau n°15:** Résultats finales des tests Biochimiques.

Les tests biochimiques	Réaction positive (+)	Réaction négative(-)
Test citrate	12	07
Test oxydatif-fermentatif	14	05
Test de croissance en 40 °C	16	03
Test de levane	12	07
Croissance dans une solution de 1% NaCl	10	09
Croissance dans une solution de 2% NaCl	06	13
Test Arginine	03	16
Test nitrate	03	16
Test de Liquéfaction de gélatine	06	13
Test de l'hydrolase de l'amidon	04	15

V-Résultats d'API 20 E

Nous avons testée une seule d'isolat par groupe bactériennes sur la galerie API 20 E pour confirmation des résultats des tests biochimiques classiques.

Tableau n°16: Résultats de galerie API 20E

Les échantillons	Les images	Réaction
R <sub>4</sub> c		Négative
R <sub>4</sub> B		Négative
R <sub>5</sub> D		Négative
B7		Négative
B <sub>1</sub> A		Négative

Les résultats de la galerie montre l'absence de *Ralstonia solanacearum* et révèle la présence d'autre bactérie.

## VI- Résultat de pouvoir pathogène

Ce test permet de distinguer le pouvoir pathogène des isolats bactériens appartenant des symptômes caractérisent la maladie.

### -les plantes de tomate:

Nous avons obtenu des plantes appartenent le jaunissement et le flétrissement.



A- Témoin

B-Infecté

**Figure n°31:** Résultat de test biologique sur tomate

### - Les rondelles de pomme de terre:

La formation d'une pourriture brune sur la surface des rondelles de pomme de terre a été bien observée pour les différents isolats (**Fig.32**).



A-pourriture jaune

B- pourriture brune

**Figure n°32 :** Résultat de test biologique sur les rondelles de pomme de terre

## Discussion

Notre travail consiste à réaliser un dépistage d'un agent pathogène responsable de la pourriture brune sur les semences (tubercules) de pomme de terre dans des points de stockages différentes situés au niveau de commune de Bourached et de commune de Rouina dans la wilaya de Ain Defla.

Le dépistage commence d'abord par un diagnostic symptomatologique de la maladie, les différents symptômes observés sont : une coloration jaune vitreuse clair de l'anneau vasculaire, l'épiderme des tubercules présente des lésions brun rougeâtre, ces derniers ont été décrits en bibliographie d'après plusieurs chercheurs (**Elphinstone, 2005 ; Rodrigues-Neto et al, 1984; Smith, 1999**).

À partir des symptômes observés sur les points de stockages, nous avons formulé des hypothèses sur la présence de *Ralstonia solanacearum* pour compléter notre recherche par des différentes étapes de diagnostic de cette bactérie.

### - **L'isolement des suspensions bactériennes préparées sur les milieux de cultures LPGA et SPA.**

Après l'incubation, nous avons obtenu des colonies d'aspects différents, certaines colonies apparaissent blanches crémeuses et de forme irrégulière sur les milieux LPGA et SPA, par contre il y a d'autres colonies ont un aspect de couleur jaune, fluides et de forme circulaire sur le milieu NG où montre la présence de *Ralstonia solanacearum*.

La coloration de Gram qui permet de visualiser facilement les bactéries et de donner des indicateurs sur leurs formes. Ces derniers sont divisés en 2 groupes : les Gram positifs et les Gram négatifs.

Nos résultats démontrent que les observations microscopiques de la coloration de Gram réalisées sur 50 isolats, 11 isolats sont des Gram positives avec une forme bâtonnet et 39 isolats sont des Gram négatives et forme bacille (12) et cocci (27).

Les résultats de l'identification de la coloration Gram et la forme sont comparés avec ceux relevés sur les références bibliographiques. C'est une bactérie phytopathogène de quarantaine, en forme de bacille ou bâtonnet à Gram négatif (**Girard et al., 1967 ; Hayward, 1990**).

### -Les résultats des tests biochimiques

D'après les 19 isolats étudiés par les tests biochimiques nous avons obtenu 05 groupes d'isolats

Nous avons testé un seul isolat par groupe bactérien sur la galerie API 20E pour la confirmation des résultats des tests biochimiques classiques.

Le test biologique réalisé sur les rondelles de pomme de terre et les plantes de tomate à montré l'apparition des symptômes de la pourriture brune, sur les rondelles de pomme de terre après trois jours d'inoculation et le flétrissement, jaunissement sur les plantules de tomate inoculées après deux semaines.

Donc à partir des résultats des tests biochimiques classiques, la galerie API 20E et les tests biologiques on a confirmé l'absence de la bactérie de *Ralstonia solanacearum* dans tout l'échantillon que nous avons analysé, mais il y a la présence d'autres bactéries qui ont été identifiées (pour 31,58% : (*Acidovorax avenae*), 26,32% : (*Burkholderia gladioli*), 12,53% : (*Burkholderia cepacia*), 21,05% : (*Clavibacter michiganensis*) et 08,50% (non identifiées).

Les résultats ont été comparés aux résultats obtenus par Janse (1991); Smith *et al.* (1998); Poussier *et al.* (1999); Poussier et Luisetti (2000); Poussier *et al.* (2000); van der Wolf *et al.* (1998) (Annexe 03), les caractéristiques biochimiques du différentiel de *Ralstonia solanacearum*, *Acidovorax*, *Burkholderia* et *Pseudomonas*. Et les caractéristiques différentielles utilisées pour identifier des souches bactériennes appartenant à l'espèce *Ralstonia solanacearum* par des tests biochimiques (Smith, 1999).

---

## Conclusion

---

### Conclusion

En temps actuel la culture de pomme de terre connue des maladies bactériennes très dangereuse telle que la pourriture brune.

Cette bactériose est l'un des maladies bactériennes les plus nuisibles au niveau mondial causé par *Ralstonia solanacearum* provoqué des dégâts importantes sur les cultures et donc la perte de production dans le monde.

Dans le cas de maladie de pourriture brune, des mesures phytosanitaires strictes devaient être mise en œuvre pour éviter l'installation et la dissémination de cette maladie de quarantaine.

Notre travail est pour objectif de détecter *Ralstonia solanacearum* l'agent de pourriture brune affecte les tubercules de pomme de terre, dans le quelle nous avons réalisé un échantillonnage des tubercules, on basent sur les symptômes typiques de la maladie, puis l'identification par des tests biochimiques et biologiques.

D'après les résultats obtenus par les tests biochimiques et les tests biologiques réalisés sur plantule saine de tomate et les rondelles de pomme de terre saine, a révélé absence de *Ralstonia solanacearum* dans les semences des tubercules de pomme de terre testés qu'ils sont prélevés à partir des chambres froides situées au niveau de wilaya de Ain Defla.

cette identification a détecté la présence d'autres genres de bactéries : (*Acidovorax avenae*), (*Burkholderia gladioli*), (*Burkholderia cepacia*) (*Clavibacter michiganensis*), et les autres bactéries ne sont pas identifiées.

### Perspective :

L'Algérie possède des capacités non négligeables en équipements (laboratoire de phytopathologie, de virologie et de bactériologie), et en ressources humaines (phytopathologues spécialistes de maladies de la pomme de terre), pour jouer un rôle de leader sur les aspects de développement de la filière:

- inventaire et hiérarchisation des problèmes parasitaires.
- mise au point d'analyse et de tests adaptés (techniquement et économiquement) pour le contrôle sanitaire des pommes de terre.
- élaboration des normes d'état sanitaire adaptées aux contextes parasitaires et épidémiologique locaux.

## Conclusion

---

- contrôle au laboratoire pour la certification, etc.
- Encourager la production locale de semence dépourvue des maladies.

Cet aspect est particulièrement d'importance dans la mesure où il n'est pas possible d'en faire l'économie dans un programme de production locale de plants.

## Références Bibliographiques:

### A

- **Alvarez, B., Lopez, M. M., et Biosca, E. G. (2008)**. Survival strategies and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* phylotype II subjected to prolonged starvation in environmental water microcosms. *Microbiology*, 154(Pt 11), 3590-3598.

### B

-**Bamouh h. (1999)**. Technique de production la culture de pomme de terre, bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, N° 58, PP1-15.

**Bernhards U., 1998**. La pomme de terre *Solanum tuberosum* L. Monographie. Institut National Agronomique Paris – Grignon.

**Buddenhagen, I. (2009)**. Blood Bacterial Wilt of Banana: History, Field Biology and Solution. *Acta Horticulturae*, 828, 57-68 p.

**Buddenhagen, I., et Kelman, A. (1964)**. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, 2, 203-230.

**Buddenhagen IW, Sequeira L, Kelman A (1962)** Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 52:726 .

### C

**Chehat, F., 2008**. La filière pomme de terre Algérienne : une situation précaire ; pp : 1-13, in Journée d'étude sur la filière pomme de terre : situation actuelle et perspectives, 18 juin 2008. INA EL-HARRACH, Alger

**Chauvin J., Esnault F., Ellisséche D. (2008)**. Les recherches pour la filière pomme de terre; verrous et avancées. Ressources génétiques et innovation variétale chez la pomme de terre. Stand Inra. Parc des expositions de Paris.

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

**Céline Richonnet, 2004** « Les pommes de terre, quelle santé ! ([http://www.cnipt.com/datas/files/cnipt\\_lettre\\_n01.pdf](http://www.cnipt.com/datas/files/cnipt_lettre_n01.pdf)) », Comité national interprofessionnel de la pomme de terre.

**Coutinho, T. A. (2005)**. Introduction and prospectus of the survival of *Ralstonia*

solanacearum. In C. Allen, P. Prior & A. C. Hayward (Eds.), *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex* (pp. 29-38). St Paul, MN: APS Press.

**Cronquist A. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press. 1262.

## **D**

**Darpoux R et Debelley M., 1967.** Les plantes sarclées. Edition. J.B. Baillière et fils France. Collection d'Enseignement Agricole. 307p.

**Denny, T. P., Brumbley, S. M., Carney, B. F., Clough, S. J., et Schell, M. (1994).** Phenotype conversion of *Pseudomonas solanacearum*: its molecular basis and potential function. In A. C. Hayward et G. L. Hartman (Eds.), *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum* (pp.137-144). Wallingford: CAB International.

**Denny, T. (2006).** Plant pathogenic Ralstonia species. In S. S. Gnanamanickam (Ed.), *Plant-Associated Bacteria* (pp. 573-644). Dordrecht, The Netherlands: Springer Netherlands

**Dickey et Kelman, 1988)** In plant pathogenic bacteria, laboratory guide for identification, Schaad (Ed) N.W.APS. Minnesota, USA, p 158.

## **E**

**Elphinstone, J. G. (2005).** The current bacterial wilt situation: A global overview. In C. Allen, P. Prior

## **F**

**Fahy P.C. et Persley G. J. 1983 :** Plant bacterial diseases : A diagnostic Guide. 39p.

**Fegan M, Prior P (2005)** How complex is the "Ralstonia solanacearum species complex". In: Allen C, Prior P, Hayward AC (eds) *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. APS Press, Madison.

## **G**

**Genin S (2010)** Molecular traits controlling host range and adaptation to plants in *Ralstonia solanacearum*. *New Phytologist* 187:920-928

**Girard H., Rougieux R. et Lemoigne M., 1967.** Techniques de microbiologie agricole. DUNOD (2ème Edit.), 205 p

**Gorissen, A., van Overbeek, L. S., et van Elsas, J. D. (2004).** Pig slurry reduces the survival of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 in soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 50(8), 587-593.

**Guiraud J. (2003):** Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyse microbiologiques. Ed, Dund, Paris, 2003, 651p.

## **H.**

**Hayward AC (1964)** Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology*.

**Hayward A. C., 1990.** Proposal for a quick practical identification. In: *Methods in phytopathology*. Z. Klement R., Rudolph and D.C. Sands, Akademiai kiado, pp. 272-274.

**Hayward, A. C. (1991).** Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, 29, 67-87.

**Hayward A.C. (2000).** *Ralstonia solanacearum*. In *Encyclopedia of Microbiology*, Vol. 4. Edited by Lederberg J. Academic Press;:32-42.

**Hayward AC, El-Nashaar HM, Nydegger U, De Lindo L (1990)** Variation in nitrate

metabolism in biovars of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology*

69:269-280.

**Hawkes J.G., 1990.** The potato, Evolution, biodiversity and genetic resources. London, Belhaven Press, 259 p.

**He LY, Sequeira L, Kelman A (1983)** Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Disease* 67:1357-1361

## **J**

**Janse JD (1991)** Infra- and intraspecific classification of *Pseudomonas solanacearum* strains, using whole cell fatty acid analysis. *Systematic and Applied Microbiology* 14, 335–345.

**Janse, J.D., Van den Beld, H.E., Elphinstone, J., Simpkins, S., Tjou-Tam-Sin, N.N.A., and Van Vaerenbergh, J. (2004)** Introduction of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 race 3 in

*Pelargonium zonale* cuttings. *J Plant Pathol* 86: 147-155.

**Jean-Louis, 2007.** Guide pratique de la culture de la pomme de terre en Afrique de l'Ouest

**John Kerr, 2014.** Guide de la CEE-ONU sur les maladies, parasites et défauts des plants de pomme de terre, p. 11-79.

## ***K***

**Kang, Y. W., Liu, H. L., Genin, S., Schell, M. A., et Denny, T. P. (2002).** *Ralstonia solanacearum* requires type 4 pili to adhere to multiple surfaces and for natural transformation and virulence. *Molecular Microbiology*, 46(2), 427-437.

**Kelman A. 1998.** One hundred and one years of research on bacterial wilt. Pp. 1-5 In Prior P., Allen C., et J. Elphinstone. (eds). *Bacterial Wilt Disease: molecular and Ecological aspects*. Springer.

**Kovacs N. 1956 :** Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*. London 178, 703.

## ***L***

**Lelliot R. et Stead D. E. 1987:** Methods for the diagnosis for bacterial diseases of plants. 216p

## ***M***

**Mattila, P., Hellström, J., 2007.** Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 20, 152-160.

**Messiha, N. A. S., van Bruggen, A. H. C., Franz, E., Janse, J. D., Schoeman-Weerdesteijn, M. E., Termorshuizen, A. J., et van Diepeningen, A. D. (2009).** Effects of soil type, management type and soil amendments on the survival of the potato brown rot bacterium *Ralstonia solanacearum*. *Applied Soil Ecology*, 43(2-3), 206-215.

**Méziane D. (1991).** Histoire de pomme de terre. *Diététique* n°25. 29 p.

**Madec et Perennec. (1962).** Les relations entre l'induction de la tubérisation et la croissance chez la pomme de terre. *Ann. Phsio. Veg* PP.05-83.

## ***P***

**Pegg K, Moffett M (1971)** Host range of the ginger strain of *Pseudomonas solanacearum* in Queensland. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*.

**Persley, G. J. (1986).** Ecology of *Pseudomonas solanacearum*, the causal agent of bacterial wilt. Paper presented at the Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific: proceedings n°13 of an international workshop held at PCARRD, Los Banos, Philippines, 8-10 October 1985, Canberra, Australia.

**Poitrineau A., 2001.** Les Solanacées. In Universallis.

**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. Ecole Doctorale Vie-Agronomie-Santé. Rennes I, Rennes, p 149.

**Poussier S et Luisetti J (2000)** Specific detection of biovars of *Ralstonia solanacearum* in plant tissues by Nested-PCR-RFLP. *European Journal of Plant Pathology* **106**, 255–265.

**Poussier, S., Prior, P., Luisetti, J., Hayward, C., and Fegan, M. (2000)** Partial sequencing of the *hrpB* and endoglucanase genes confirms and expands the known diversity within the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Syst Appl Microbiol* **23**: 479-486.

**Prescott L.M., Harley J.P. et Donald A. (2003)** :Microbiologie, De boeck université, 2eme édition française.128 : 28-29.

## **R**

**Regueig L., 2008**–Itinéraire technique de la culture de pomme de terre en Algérie.

**Rodrigues-Neto, J.; Malavolta, V.A.; Hamahiga, I. (1984)** [Atypical symptoms in potato tubers infected with *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith]. *Biologico* **50**, 93-95.

**Rousselle P. Roberty. Crosnier J.C, ed 1996** ; la pomme de terre .Production, Amélioration, ennemis et maladies, utilisation paris INR, 607 p

**Rousselle P., Rousselle-Bourgeois., Ellisseche D., 1992.** La pomme de terre. In Amélioration des espèces végétales cultivées

## **S**

**Schaad, N. W., Jones, J. B., et Chun, W. (2001).** Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria (3rd edition). Saint Paul: APS Press.

**Schönfeld, J., Gelsomino, A., van Overbeek, L. S., Gorissen, A., Smalla, K., et van Elsas, J. D. (2003).** Effects of compost addition and simulated solarisation on the

fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 43(1), 63-74.

**Simmons, 1926** : Manuel de microbiologie, MERCKE. Simmons citrate agar, production n°2501, p128.

**Smith, E.F.1896**. A bacterial disease of tomato, eggplant, and Irish potato (*Bacterium solanacearum* nov. sp.).USDA Div. Veg. Physiol. Pathol. Bull. 39:11:897Y904.

**Smith JJ, 1999**. La lutte contre *Ralstonia solanacearum*.

**Smith JJ, Kibata GN, Murimi ZK, Lum KY, Fernandez-Northcote E, Offord LC et Saddler GS (1998)** Biogeographic studies on *Ralstonia solanacearum* race 1 and 3 by genomic fingerprinting. In: *Bacterial Wilt Disease, Molecular and Ecological Aspects* (Ed. Prior P, Allen J et Elphinstone J), pp. 50–55. Springer, Berlin (DE).

**Soltner D., 1988**. Les grandes productions végétales. Collection Scientifique des Technologies Agricoles. 16ème édition 494p.

**Soltner D., 2005**. Les grandes production végétales. 20ème edition. Collection Sciences et Techniques Agricoles. 472p.

## **T**

**Takaezu K, Natsume M, Taba S, Nasu K, Uehara M and Muramoto Y. 2004**.

Identification and use of a wild plant with antimicrobial activity against *Ralstonia solanacearum*, the cause of bacterial wilt of potato. *Weed Biology*, 4:187194.

**Tans-Kersten, J., Brown, D. G., et Allen, C. (2004)**. Swimming motility, a virulence trait of *Ralstonia solanacearum*, is regulated by *FlhDC* and the plant host environment. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17(6), 686-695.

## **V**

**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

**van der Wolf JM, Bonants PJM, Smith JJ, Hagenaar M, Nijhuis E, van Beckhoven JRCM, Saddler GS, Trigalet A et Feuillade R (1998)** Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* race 3 in Western Europe determined by AFLP, RC-PFGE

and Rep-PCR. In: *Bacterial Wilt Disease, Molecular and Ecological Aspects* (Ed. Prior P, Allen J et Elphinstone J), pp. 44–49. Springer, Berlin (DE).

**Van Elsas, J. D., Kastelein, P., de Vries, P. M., et Van Overbeek, L. S. (2001).** Effects of ecological factors on the survival and physiology of *Ralstonia solanacearum* bv. 2 in irrigation water. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(9), 842-854.

**Van Elsas, J. D., Kastelein, P., Van Bekkum, P., Van der Wolf, J. M., de Vries, P. M., et Van Overbeek, L. S. (2000).** Survival of *Ralstonia solanacearum* biovar 2, the causative agent of potato brown rot, in field and microcosm soils in temperate climates. *Phytopathology*, 90(12), 1358-1366.

**Vasse, J., Frey, P., et Trigalet, A. (1995).** Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 8(2), 241-251.

## W

**Wicker E, Grassart L, Coranson-Beaudu R, Mian D, Guilbaud C, Fegan M, Prior P (2007)** *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French west indies) exhibiting a new pathogenic potential. *Applied and environmental microbiology* 73:6790-6801

**Wicker E, Grassart L, Coranson-Beaudu R, Mian D, Prior P (2009)** Epidemiological evidence for the emergence of a new pathogenic variant of *Ralstonia solanacearum* in Martinique (French West Indies). *Plant pathology* 58:853-861

## Y

**Yabuuchi, E., Kosako, Y., Oyaizu, H., Yano, I., Hotta, H., Hashimoto, Y., Ezaki, T., and Arakawa, M. 1992.** Proposal of *Burkholderia* gen. nov. And transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. *Microbiology and Immunology* 36:1251Y1275.

**Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., and Nishiuchi, Y. 1995.** Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. Nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (**Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973**) comb. Nov., *Ralstonia solanacearum*

**Yao, J., et Allen, C. 2006.** Chemotaxis is required for virulence and competitive fitness of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Bacteriology*, 188(10), 3697–3708.

**Yu J, 1999** Allelopathic suppression of *Pseudomonas solanacearum* infection of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in a tomato-Chinese chive (*Allium tuberosum*) intercropping system. *Journal of Chemical Ecology* 25:2409-2417

## **- Les organisations :**

- **INRA, 2003:** INFORMATIONS NECESSAIRES A L'ANALYSE DU RISQUE PHYTOSANITAIRE.
- **TCMI, 2015:** guide pratique la conservation et stockage sous froid de la pomme de terre .
- **CTPT:** Centre Technique de la Pomme de Terre.
- **FAO STAT, 2014.** Statistiques de la FAO  
<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor 51>.
- **OEPP :** Organisation Européenne et méditerranée pour la protection des Plantes.
- OEPP, 2004:** Diagnostic protocols for regulated pests. Protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés 173-178 p.

# Annexes

---

## **I-Matériels utilisés :**

Pour le bon déroulement de l'expérimentation ; il est nécessaire de se Procurer le matériel suivant :

- Agitateur
- Les anses à inoculer stériles
- Appareil de PH mètre
- Autoclave
- Balance de précision
- Ballon
- Bec bunsen
- Becher
- Ben marrie
- L'étuve
- Entonnoir
- Flacon
- Lames
- Micropipette
- Microscope optique
- Papier aluminium
- Papier filtre stérile
- Parafilm
- Pince à lame
- Pipetes pasteur
- pissettes de l'eau distillée
- Scalp
- Les seringues
- Spatule
- Les tubes assis
- Ver à montre

## Annexes

---

### II- les produits utilisent :

- L'eau physiologie
- L'huile d'immersion
- L'eau distillée
- L'eau de javel
- L'eau oxygénée
- L'huile de paraffine

### III- les colorants :

- Violet de gentiane
- Lugol
- La fuchsine
- Alcool

### III - Composition des milieux de cultures utilisés :

#### (Données pour un litre de milieu)

#### - Gélose nutritive (NA) :

Gélose nutritive (Difco)	23 g
Eau distillée	1 litre

Préparer le milieu par volumes d'un demi-litre dans des flacons d'un litre.

Dissoudre les ingrédients ; Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant quinze minutes ; Refroidir à 50 °C. Verser dans les boîtes

#### - Gélose à base de levure-peptone-glucose (LPGA):

Extrait de levure	5 g
Bacot peptone	5 g
D(+)-glucose	10 g
Bacot agar	15 g
Eau distillée	1 litre

Ajuster le pH à 7,2-7,4, si nécessaire.

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

## Annexes

---

### **-Gélose à base de saccharose-peptone (SPA):**

Saccharose	20 g
Peptone	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,25 g
Bacot agar	15 g
Eau distillée	1 litre

Ajuster le pH à 7,2-7,4, si nécessaire.

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### **-Tampon de macération:**

Ce tampon est utilisé pour la macération des tissus et l'extraction de la bactérie des tissus de la plante par homogénéisation ou agitation :

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4,26 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2,72 g
Eau distillée	1 litre

Contrôler le pH. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant quinze minutes.

### **- Milieu de réduction de nitrate :**

KNO <sub>3</sub>	1g
Peptone	5g
Extrait de levure	3g
Agar	3g

pH=7,2 stérilisé pendant 20 minutes à 120°C.

### **-Milieu de levane :**

Extrait de levure	2g
Bacto peptone	5g
NaCl	50g

pH=7, autoclaver pendant 20min à 120°C.

## Annexes

---

### **-Milieu de Hugh et Leifson (de Hugh et Leifson, 1953) :**

-Bacto trypton	2g
-Phosphate de potassium dibasique	0,3g
-NaCl	5g
-bleu de bromothymol	0,03g
-D(+)-glucose	10g
-Agar	3g
-autoclave pendant 20min à 120°C.	

### **- Milieu à base de gélatine :**

Peptone	10g
Extrait de viande	4g
Gélatine	120g
NaCl	2,5g
-autoclave pendant 20min à 120°C.	

### **-Milieu Arginine:**

Peptone	1g
NaCl	5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,3g
Agar	3g
Rouge phénol	10ml
Arginine HCl	10g
- autoclave pendant 20min à 120°C.	

## Annexes

### Annexe 01: Résultats de galerie API 20E –incubation de 18 à 24 heures.

Tubes	Réaction		Commentaires
	Positive	Négative	
ONPG	Jaune	Incolore	Une teinte jaune pale est souvent obtenu, la considère comme une réaction négative.
ADH	Rouge ou orange	Jaune	
LDC	Rouge ou orange	Jaune	
ODC	Rouge ou orange	Jaune	
CIT	Bleu foncé	Vert pale ou Jaune	La lecture se fait dans la supérieure de la cupule (en aérobie)
H <sub>2</sub> S	Dépôt noir	Aucun dépôt noir	
URE	Rouge ou orange	Jaune	
TDA	Brun-Rouge	Jaune	Ajoute 1 goutte de chlorure de fer à 10%, lire immédiatement la réaction.
IND	Anneau rouge	Jaune	Ajoute 1 goutte du réactif de Kovac, lire la réaction après 2 min
VP	Rose foncé ou Rouge	Incolore ou rose pale	Ajoute 1 goutte de KOH puis une goutte d'alpha-naphtol, lire la réaction après 10 min
GEL	Diffusion du pigment	Aucune diffusion, incolore	La répartition des particules solides à travers la cupule doit être considéré comme un résultat négative
LAC GLU MAN SAC SOR RHA ADO DUL INO	Jaune	Bleu	Le changement de couleur vers le jaune considère comme une réaction positive

## Annexes

### Annexe 02: Résultats de coloration de Gram, test catalase et test oxydase

Les milieux Les échantillons	SPA		LPGA		Catalase	Oxydase
	Gram	forme	Gram	forme		
B <sub>1</sub> A	-	Coccci	-	coccci	+	-
B <sub>1</sub> B	-	Coccci	-	coccci	+	-
B <sub>1</sub> C	-	Coccci	-	coccci	+	-
B <sub>1</sub> D	-	Coccci	-	coccci	+	-
B <sub>2</sub> A	-	Bacille	-	bacille	-	-
B <sub>2</sub> B	-	Bacille	-	bacille	-	-
B <sub>2</sub> C	-	Cocci	-	coccci	-	-
B <sub>2</sub> D	-	Bacille	-	coccci	-	-
B <sub>3</sub> A	-	Coccci	-	coccci	-	-
B <sub>3</sub> B	-	Coccci	-	coccci	-	-
B <sub>3</sub> C	+	Bacille	-	coccci	-	-
B <sub>3</sub> D	-	Coccci	-	coccci	+	-
B <sub>4</sub> A	-	Coccci	-	coccci	-	-
B <sub>4</sub> B	-	Bacille	-	Bacille	-	-
B <sub>4</sub> C	-	Coccci	-	Coccci	-	-
B <sub>4</sub> D	+	Bacille	-	Coccci	-	-
B <sub>5</sub> A	+	Bacille	-	Coccci	-	-
B <sub>5</sub> B	+	Bacille	-	Coccci	-	+
B <sub>5</sub> C	-	Coccci	-	Coccci	+	-
B <sub>5</sub> D	-	Coccci	-	Coccci	-	+
B1	+	Bacille	+	Bacille	-	-
B2	+	Bacille	+	Bacille	+	-
B7	+	Bacille	+	Bacille	+	-
B9	+	Bacille	+	Bacille	+	-
B5	-	Coccci	-	Coccci	+	-
R <sub>1</sub> A	-	Bacille	-	Bacille	+	+
R <sub>1</sub> B	-	Coccci	-	Coccci	-	-
R <sub>1</sub> C	-	Coccci	-	Coccci	-	-
R <sub>1</sub> D	-	Bacille	-	Bacille	-	-
R <sub>2</sub> A	-	Coccci	-	Coccci	-	-
R <sub>2</sub> B	-	Coccci	-	Coccci	-	-
R <sub>2</sub> C	-	Bacille	-	Bacille	-	-
R <sub>2</sub> D	-	Coccci	-	Coccci	-	-
R <sub>7</sub> A	Ch					
R <sub>7</sub> B	-	Coccci	-	Coccci	-	-
R <sub>7</sub> C	Ch					
R <sub>7</sub> D	-	Coccci	-	Coccci	-	-
R <sub>4</sub> A	-	Coccci	-	Coccci	-	-
R <sub>4</sub> B	+	Bacille	+	Bacille	-	-
R <sub>4</sub> C	-	Coccci	-	Coccci	-	+

## Annexes

<b>R<sub>4</sub>D</b>	-	<b>Cocci</b>	-	<b>Cocci</b>	-	-
<b>R<sub>5</sub>A</b>	-	<b>Bacille</b>	-	<b>Bacille</b>	+	+
<b>R<sub>5</sub>B</b>	-	<b>Bacille</b>	-	<b>Bacille</b>	-	-
<b>R<sub>5</sub>C</b>	-	<b>Bacille</b>	-	<b>Bacille</b>	+	-
<b>R<sub>5</sub>D</b>	-	<b>Cocci</b>	-	<b>Cocci</b>	-	+
<b>R1</b>	-	<b>Cocci</b>	-	<b>Cocci</b>	-	-
<b>R5</b>	+	<b>Bacille</b>	+	<b>Bacille</b>	-	-
<b>R7</b>	-	<b>Cocci</b>	-	<b>Cocci</b>	+	-
<b>R8</b>	+	<b>Bacille</b>	+	<b>Bacille</b>	-	-
<b>R9</b>	-	<b>Cocci</b>	-	<b>Cocci</b>	+	-

**Annexe 03** : les Caractéristiques biochimiques des différentes bactéries pathogènes des plantes, appartenant à *Ralstonia solanacearum*, *Acidovorax*, *Burkholderia* et *Pseudomonas* Janse (1991); Smith *et al.* (1998); Poussier *et al.* (1999); Poussier et Luisetti (2000); Poussier *et al.* (2000); van der Wolf *et al.* (1998).

Tests	<i>Ralstonia solanacearum</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Burkholderia Gladioli</i>	<i>Burkholderia Caryophylli</i>	<i>Pseudomonas Corrugata</i>	<i>Acidovorax avenae</i>
<b>-Oxydase</b>	+	+	V	+	+	+
<b>-Arginine d'hydrolyase</b>	-	-	-	+	-	-
<b>-Reduction de nitrate</b>	+	-	-	+	+	-
<b>-croissance 41°C</b>	-	V	V	+	-	+
<b>-oxydation de:</b>						
Galactose	+/v	+	+	-		
Glycerol	+	-	-	+		
Mannose	+/v	-	+	-		
<b>-utilisation de:</b>						
Cellebiose	V	+	+	V	-	
Trehalose	V	V	+	+		
D-arabinose	-	+	+	+	-	-
D-tartrate	-/v	-	+	-	V	
Manitol	V	+	+	+	+	+
Sorbitol	V	+	+	+	+	+
L-rhamnose	-	-	-	-	-	
Sucrose	+	+	+	+		-
Glucose	+	+	+	+	+	+
Benzoate	V	/-v	+	-		
L-Arginine	-	+	+	+		
L-Lysine	-	+	+	V		
D-fucose	-	+	+	+		
D-raffinose	-	v	-	+		

# Annexes

## .Annexe 04: Résultats des analyses biochimiques.

	Gram	catalas	oxydase	test de métabolisme oxy-ferm	réduction du nitrate	utilisation de citrate	Croissance en 40°C	Croissance avec 1% de NaCl	Croissance avec 2% de NaCl	ADH	Liquéfaction De Gélatine	Production de levane
B <sub>1A</sub>	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-
B <sub>3C</sub>	-	+	-	+	-	-	++	--	-	-	+	+
B <sub>3D</sub>	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-
B <sub>5D</sub>	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
B <sub>6D</sub>	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-
B <sub>1</sub>	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
B <sub>2</sub>	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
B <sub>7</sub>	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+
B <sub>9</sub>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+
R <sub>1A</sub>	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
R <sub>4B</sub>	+	+	-	-	-	--	+	-	-	-	--	+
R <sub>5A</sub>	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
R <sub>5D</sub>	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
R <sub>7A</sub>	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
R <sub>1</sub>	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
R <sub>5</sub>	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
R <sub>7</sub>	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
R <sub>8</sub>	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+
R <sub>9</sub>	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+

## Annexes

### Annexe 05 : Résultats de galerie API 20 E

	R <sub>4</sub> C	R <sub>4</sub> B	R <sub>5</sub> D	B7	B <sub>1</sub> A
ONPG	-	-	-	-	-
ADH	-	-	-	+	-
LDC	-	-	-	-	-
ODC	-	-	-	-	-
CIT	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-
URE	-	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-	-
IND	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-
GEL	-	-	-	-	-
GLU	+	+	+	+	+

### Annexe 06: Résultat de pouvoir pathogène(les plantes de tomat).

Les plantes	R <sub>4</sub> C	R <sub>4</sub> B	R <sub>5</sub> D	B7	B <sub>1</sub> A
Le jaunissement	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
le flétrissement	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Le jaunissement et le flétrissement	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>2</b>
Sainte	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1</b>