

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'enseignement Supérieure 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 d'un diplôme de Master

Spécialité : Production végétale

Evaluation des attaques du flétrissement bactérien causé par *Ralstonia* sur la culture de pomme de terre.

Présenté par : M^{lle} Hamaidya Zohra

M^{lle} Aissa Imane

Soutenu le 09 juillet 2019

Devant le jury

Président : Mr Karahaçane T.

Maitre conférence UKM

Promotrice : Mme Tabouche A.

Maitre assistant UKM

Examinatrice 1 : Mme Alim D.

Maitre assistant UKM

Examinatrice 2 : Mme Djebroune A

Maitre assistant UKM

Année Universitaire 2018/2019

Remerciements

Nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la santé et la patience de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous remercions particulièrement :

Notre promotrice **M^{me} Tabouche A**, pour ces orientations, ces conseils qui nous ont prodigués, nous a permis d'enrichir et de rendre plus lisible ce manuscrit.

Tous les membres du jury: **M^r Karahaçane T, M^{me} Alim D, M^{me} Djebroune A**, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

A Bentaiba Billal collègue et cadre de l'ITGC, pour son aide précieuse, et ses conseils.

A Boualem Sif, pour son aide précieuse, surtout dans cette période éprouvante qu'est la dernière ligne droite.

Nous remercions également **M^{me} Khdidja et M^{me} Afafe** techniciennes au laboratoire de microbiologie pour la réalisation de travail.

Tous les étudiants de 2^{eme} année Master production végétale

ZOHRA ET IMANE

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.

Avant tous, je dédie à :

Mon cher binôme : Imane.

Mes chers frères : Abdelkader et Ahmed.

A mes chères sœurs : Amel et Abir.

Et les enfants : Amira, Safa et Marwa.

Sans oublier tout mes amis surtout : Samira, Fatiha, Nesrine.

Ainsi qu'à toute ma famille (Hamaidya).

A tous les étudiants de 2^{ème} année Master Production végétale

Promotion 2018-2019.

ZAHRA

Dédicace

Avec l'aide de dieu, le très puissant, j'ai achevés ce modest travail que je dédie :

A mon père avec tous mes sentiments de respect, d'amour, et de reconnaissance pour tous les sacrifices déployés pour m'élever dignement et assurer mon éducation dans les meilleures conditions.

*A ma Mère,..... En vous, je voie la maman parfaite, toujours prête à se sacrifier pour le bonheur de ses enfants. Merci pour tout.
A tous ceux qui m'enseignent et m'éclairent le chemin de la science et de la connaissance.*

A mes sœurs : khadidja, Nour elhouda, Ikram.

A mon frère : Aness.

A mes filles de ma sœur: Dhikra, Tasnim.

Mon cher binôme : Zahra.

Ainsi qu'a toute ma famille Aissa.

A mes amis: Asma, Imane, Nesrin, Fatiha

*A tous les étudiants de 2^{eme} année Master Production végétale
Promotion 2018-2019.*

IMANE

Liste des tableaux

Tableau n°01 : les valeurs nutritionnelles moyennes pour 100g de pomme de terre	03
Tableau n°02 : Production mondiale de la pomme de terre entre 2011_ 2017.....	04
Tableau n°03 : Evolution de la production de la pomme de terre en Algérie entre 2011_2017.....	05
Tableau n° 04 : Evolution de la production de Pomme de terre de wilaya Ain defla entre 2011_2017	06
Tableau n°05 : les principales maladies de la pomme de terre.....	19
Tableau n°06 : les principales ravageuses de pomme de terre.....	24
Tableau n°07 : Des plantes attaquent par <i>R. solanacearum</i>	32
Tableau n°08 : Les échantillons prélèvent de la pomme de terre et le sol par régions.....	40
Tableau n° 09 : Caractéristiques différentielles utilisés pour identifier des souches bactériennes appartenant à l'espèce <i>Ralstonia solanacearum</i> par des tests biochimiques.....	49
Tableau n°10 : résultats de taux d'infestation sur les différentes régions Djandel (région 1 et 2) et Ain soltane.....	52
Tableau n°11 : Résultats de coloration de Gram (plante).....	55
Tableau n°12 : Résultats de coloration de Gram (sol).....	55
Tableau n°13 : Résultats de test catalase (plante et sol).....	56
Tableau n°14 : Résultats de test oxydase (plante et sol).....	56
Tableau n°15 : Résultats de test nitrate réductase (plante et sol).....	57
Tableau n°16 : Résultats Test de l'arginine déshydrolyase (plante et sol).....	58
Tableau n°17 : Résultats de test croissance à température 40°C (plante et sol).....	59
Tableau n°18 : Résultats de test d'hydrolyse de la gélatine (plante et sol).....	60
Tableau n°19 : Résultats de test de citrate (plante et sol).....	61
Tableau n°20 : Résultats de test de croissance dans une solution 1% NaCl (plante et sol)...	62
Tableau n°21 : Résultats de test de croissance dans une solution 2% NaCl (plante et sol)...	63
Tableau n°22 : Résultats de test de levane (plante et sol).....	64
Tableau n°23 : Résultats de test hydrolyse de l'amidon (plante et sol).....	65
Tableau n°24 : Résultats de test oxydatif-fermentatif (plante et sol).....	66
Tableau n°25 : Synthèse globale des tests biochimiques des plantes.....	67
Tableau n°26 : Synthèse globale des tests biochimiques de sol.....	68

Liste des figures

Figure n°01: Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre.....	09
Figure n°02: Les caractéristiques morphologiques de la fleur de pomme de terre.....	10
Figure n°03: Les caractéristiques morphologiques du fruit de pomme de terre.....	10
Figure n°04 : Les caractéristiques morphologiques du tubercule de pomme de terre.....	11
Figure n°05: Les différentes étapes du cycle phréologique moyen de la pomme de terre..	12
Figure n°06 : Le stockage en caisses-palettes (palox).....	16
Figure n°07: Le stockage en vrac.....	17
Figure n°08 : Le stockage en sacs.....	18
Figure n°09 : Les symptômes de <i>Ralstonia solanacearum</i> sur les feuilles.....	29
Figure n°10: Les symptômes de <i>Ralstonia solanacearum</i> sur la tige.....	30
Figure n°11: Les symptômes de <i>Ralstonia solanacearum</i> sur les tubercules.....	30
Figure n°12 : Cycle infectieux de <i>Ralstonia solanacearum</i>	35
Figure n°13 : Champ de pomme de terre de site de Djandel (région 1 et 2).....	38
Figure n°14 : Echantillon de sol de pomme de terre.....	39
Figure n°15: Champ de pomme de terre région Ain soltane .	39
Figure n°16 : Isolement à partir de la tige.....	44
Figure n°17: Symptômes foliaires du flétrissement bactérien sur les plants de pomme de terre.....	45
Figure n°18: Coloration brun au niveau des vaisseaux vasculaire de la tige.	51
Figure n°19: Aspect macroscopique des cultures bactériennes sur le milieu GN (la plante)...	51
Figure n°20: Aspect macroscopique des cultures bactériennes sur le milieu GN (le sol).....	53
Figure n°21: Aspect macroscopique des cultures bactériennes sur les milieux (LPGA, SPA), (la plante).....	53
Figure n°22: Aspect macroscopique des cultures bactériennes sur les milieux (LPGA, SPA), (le sol).....	54
Figure n°23: Coloration de Gram de l'isolat (X 100).....	54
Figure n°24: Test de la catalase de l'isolat.....	55
Figure n°25: Test oxydase de l'isolat.....	56
Figure n°26: Test du nitrate réductase.....	57
Figure n°27: Test de l'arginine déshydrolyse.....	58
Figure n°28: Test croissance à température 40°C.....	59
Figure n°29: Test d'hydrolyse de la gélatine.....	60
Figure n°30: Test de citrate.....	61

Figure n°31: Test croissance dans une solution 1% NaCl.....	62
Figure n°32: Test croissance dans une solution 2% NaCl.....	63
Figure n°33: Production de levane.....	64
Figure n°34: Test hydrolyse de l'amidon.....	65
Figure n°35: Test fermentatif.....	66
Figure n°36: Test oxydatif.....	66
Figure n°37: Test de pathogénicité sur la plante de tomate avant inoculation.....	69
Figure n°38: Résultat de test biologique sur tomate.....	69

Liste des abréviations

FAO : Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

DSA : Direction des Services Agricoles

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie

MADRP:Le Ministre de l'Agriculture, du Développement rural et de la Pêche

ITCMI : Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles.

Ha: Hectare.

Kj: Kilo joule.

UV : Ultraviolet.

R. solanacearum : *Ralstonia solanacearum*

CNCC : Service de Contrôle et certification des semences et plants

DPV : Déficit de Pression de Vapeur

SPA : Gélose à base de saccharose-peptone

LPGA: Levure Peptone Glucose Agar.

PLRV: *Potato Leafroll Virus*.

PMTV: *Potato Mop-Top virus*.

Qx: Quinton.

TRV : Tabacco Rattle Virus.

ssp: Sous-espèce.

Bv: Biovars.

GN: Gélose nutritive

Résumé

Le flétrissement bactérien est l'une des maladies bactériennes les plus graves affectant la culture de la pomme de terre (Solanacées), car elle limite la superficie cultivée dans de nombreuses régions du monde.

Notre travail consiste à évaluer les attaques de flétrissement bactérien sur les pommes de terre et à réaliser un dépistage de l'agent pathogène responsable de cette maladie à plusieurs régions (Djendel région 1 et 2, Ain Soltane) dans la wilaya d'Ain Defla.

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

D'après les résultats obtenus par les tests biochimiques et le test biologique, à montrer l'absence de *Ralstonia solanacearum* dans les échantillons testés (les plantes et sol de culture de pomme de terre).

Mots clé : Pomme de terre (plante), Évaluation, Flétrissement bactérien, Dépistage, *Ralstonia solanacearum*.

Abstract

Bacterial wilt is one of the most serious bacterial diseases affecting the cultivation of potato (Solanaceae), because it limits the area cultivated in many parts of the world.

Our work involves the evaluation of bacterial wilt attacks on potatoes and the detection of the pathogen responsible for this disease in several regions (Djendel region 1 and 2, Ainsoltane) in the state of Ain Defla.

Screening begins with a symptomatological diagnosis of the disease and then completes our research with different stages of diagnosis (isolation, identification by biochemical and biological tests).

According to our results obtained by the biochemical tests and the biological test, showed the absence of *Ralstonia solanacearum* in the tested samples (the plants and soil of culture of potato).

Key words: Potato (plant), Assessment, Bacterial wilt, Screening, *Ralstonia solanacearum*.

البكتيري وهو من أخطر الأمراض البكتيرية التي تصيب محصول البطاطا لأنه يحد من مساحات solanacées فيمناطق عديدة من العال .

يتضمن عملنا هذا على تقييم الهجوم البكتيري على نبات البطاطا و انجاز فحص حول العامل المسؤول عن هـ (1 2 ,عين السلطان) في ولاية عين الدفلى.

يبدأ الفحص بتشخيص أعراض المرض ، ثم نقوم بمختلف المراحل الأخرى (العزل ، التحديد بواسطة الاختبارات الكيميائية الحيوية والبيولوجية).

من خلال النتائج المتحصل عليهما من الاختبارات البيوكيميائية و البيولوجية *Ralstonia solanacearum* في العينات التي تم اختبارها (نبات و تربة البطاطا).

الكلمات الرئيسية : () ,الذبول البكتيري, تقييم, *Ralstonia solanacearum* ,

Sommaire

Résumé.

Abstract.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Liste des abréviations.

Introduction

Partie bibliographiques

Chapitre 1 : Généralité sur la pomme de terre

I -L'importance de pomme de terre.....	03
I-1- Importance nutritionnelle.....	03
I -2- Importance économique.....	04
II- Historique et origine de pomme de terre.....	07
III- Classification de pomme de terre.....	07
III.1-Classification botanique	07
III-2-Classification génétique.....	08
IV- La morphologie de pomme de terre.....	08
V- Cycle de reproduction.....	11
V-1- Cycle sexué.....	12
V-2-Cycle végétatif.....	12
V.2. 1-La dormance.....	13
V.2.2-La germination.....	13
V.2.3-La tubérisation.....	13
VI- Les variétés existant en Algérie.....	14
VII -La conservation.....	15
VII-1-Les conditions de stockage.....	15
VII-2-Les modes de stockage.....	15
VIII -Maladies et ravageurs.....	18

Chapitre II : Généralité sur *Ralstonia solanacearum*

I- Le flétrissement bactérien.....	28
II- Importance économique de la maladie.....	28
III - Symptomatologie.....	29
IV –Gammes hôtes	31
V - L'agent causal de flétrissement bactérien.....	33
VI – Classification.....	33

Sommaire

VII - Cycle biologique.....	34
VIII –Virulence.....	35
XIX -La lutte contre <i>R. solanacearum</i>	36
XIX.1-La lutte culturale.....	36
XIX.2- La lutte génétique.....	37
XIX.3-La lutte chimique et physique.....	37
XIX.4-La lutte biologique.....	37

Partie expérimentale

Chapitre I: Matériel et méthodes

Objectif.....	38
I- Prospections	39
II- Taux d'infestation	40
III -La méthodologie.....	41
III.1-Echantillonnage.....	41
III.1.1- Echantillonnage des plantes de pomme de terre	41
III.1.2- Echantillonnage des sols de pomme de terre	41
III.2-Isolement de l'agent pathogène.....	44
III.3-Purification de l'agent pathogène.....	45
III.4-Identification de l'agent pathogène.....	45
III.4.1-Coloration de Gram.....	45
III.4.2-Caractères biochimiques.....	45
III.4.2.1-Test catalase.....	46
III.4.2.2-Test oxydase.....	46
III.4.2.3- Recherche du nitrate réductase.....	46
III.4.2.4- Recherche de l'arginine déshydrolyase.....	47
III.4.2.5- Test de mise en évidence de l'hydrolyse de l'amidon.....	47
III.4.2.6- Hydrolyse de la gélatine.....	47
III.4.2.7- Activité levane sucrase.....	47
III.4.2.8- Le test de citrate.....	48
III.4.2.9- Croissance à 40°C.....	48
III.4.2.10-Croissance dans une solution à NaCl.....	48
III.4.2.11-Type fermentaire.....	48
III.4.3- Pathogénicité sur tomate.....	49
III.4.3.1-Les graines et la croissance des semis.....	49

Sommaire

III.4.3.2-Préparation de l'inoculum et l'inoculation.....	50
Chapitre II : Résultat Et discussion	
I - Prospections	51
II -Evaluation des attaques de flétrissement bactérien (Taux d'infestation)	52
III - Isolement de l'agent pathogène	52
IV - Purification de l'agent pathogène.....	53
V-Identification de l'agent pathogène.....	54
V.1-Résultat de coloration de Gram.....	54
V.2-Etude de caractère biochimique	55
V.3-Test de pathogénicité sur tomate.....	68
Discussion.....	70
Conclusion.....	72
Références bibliographiques.....	74
Annexe	

Introduction

Introduction

La pomme de terre (*Solanum tuberosum L.*) constitue la principale denrée alimentaire non céréalière et une ressource financière des populations à l'échelle mondiale (**Rousselle et al., 1996**). Elle est la quatrième culture la plus importante dans le monde après le riz, le maïs et le blé (**Masclat, 2017**). Elle est largement ré pondue dans le monde. Elle est assurée par trois grands pôles : l'Asie, l'Europe et l'Amérique du nord. La Chine est mondialement le plus grand producteur de pomme de terre avec de 80 million de tonnes par an, et quasiment un tiers de tous les tubercules sont désormais récoltés en Chine et en Inde. (**Diouf, 2009**).

Les tubercules sont considérés comme une source importante de glucides mais aussi de protéines et de vitamines (**Anonyme, 2000**).

En Algérie la pomme de terre représente la première culture maraîchère du point de vue superficie et production. L'Algérie reste dépendante de l'importation en matière de semence de pomme de terre, le ministère de l'agriculture vise progressivement réduire, chaque année, de 30 %, ces importations, à partir de la saison agricole 2016-2017. (**FAO 2017**).

La demande nationale en pomme de terre est assurée à 100% par la production nationale qui avait atteint 47 millions de quintaux (qx) en 2017, contre 26 millions qx en 2009, avec un rendement de près de 310 qx/hectare. La stabilité du marché en ce qui concerne ce légume a permis de rassurer les agriculteurs en les encourageant à élargir les superficies cultivées qui sont passées de 105.121 hectares en 2009 à 148.692 hectares en 2017. (**FAO 2018**).

La wilaya d'Ain Defla est parmi les zones potentielles pour la production de la pomme de terre en Algérie. En 2018 elle était classée comme deuxième wilaya productrice après la wilaya d'El oued avec 35% de la production nationale (**DSA Ain Defla, 2018**).

Cependant, la production de la pomme de terre reste instable d'une année à une autre à causes, aléas climatiques, le choix de la semence, le travail du sol et des ravageurs et des maladies fongiques ou bactériennes qui affectent tout ou une partie de la plante (racines, tiges, feuilles, tubercules) pendant la phase de végétation et/ou pendant la phase de conservation des tubercules ; occasionnant par fois des dégâts importants, parmi ces maladies le flétrissement bactérien (**Kerr, 2014**), provoque des dégâts considérables sur la culture de pomme de terre et elles sont inscrites dans la quasi-totalité des pays de monde sur la liste des maladies de quarantaines dont la lutte est obligatoire .

Introduction

Dans ce contexte, notre travail a pour objectif de dépister l'agent causal de flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*) pomme de terre et de évalué l'état d'infestation de quelque parcelles de pomme de terre par des différentes sites dans la wilaya de Ain Defla.

Notre travail est se déroule comme suite:

- Réalisation des prospections au niveau des champs de pomme de terre dans la wilaya d'AinDefla.
- Prélèvements des échantillons symptomatiques.
- Isolements des agents pathogènes.
- Identification par les tests biochimiques et biologiques.
- Etude la pathogénicité des isolats.

Partie

bibliographiques

Chapitre 1 :

Généralité sur la

pomme de terre

Généralité sur la pomme de terre

I-Importance de la pomme de terre

I.1-Importance nutritionnelle

La pomme de terre est un aliment de base majeur répondant aux besoins nutritionnels de l'homme. Dans de nombreux pays, elle sert d'aliment de base en raison de son excellente nutrition contenu. (Warsito et Van de Fliert, 2006).

Les tubercules sont riches en glucides, ce qui en fait une bonne source d'énergie. Ils ont la plus haute teneur en protéines (environ 2,1 % en poids frais) de toute la famille des racines et tubercules, et de surcroît, de qualité relativement élevée, avec une combinaison d'acides aminés parfaitement adaptée aux besoins de l'homme. Elles sont également très riches en vitamine C (une pomme de terre de taille moyenne contient environ la moitié des apports quotidiens recommandés) et un cinquième des apports quotidiens recommandés de potassium. (Pandey, 2009).

La pomme de terre apporte en moyenne 80,5 kcal pour 100 g, soit 341 kJ, lorsqu'elle est cuite à l'eau et 91,90 kcal pour 100 g, soit 390 kJ lorsqu'elle est cuite au four.

Tableau n° 01 : Les valeurs nutritionnelles moyennes pour 100g de pomme de terre (Feytaud, 1949).

Eau		77g
Eléments énergétiques	Protides	2g
	Glucides	20g
	Lipides	0,1g
	Vitamine B1	0,12mg
	Vitamine B2	0,04mg
	Vitamine C	14mg
	Vitamine B6	0,03mg
Les composés minéraux	Fer	1mg
	Phosphore	60mg
	Potassium	450mg
	Calcium	15mg
	Magnésium	30mg
	Sodium	20mg
Fibres		0,7g

I.2-Importance économique de pomme de terre

) Importance Mondiale

La pomme de terre est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde et la production mondiale a atteint le chiffre record de 388 190 674 de tonnes en 2007. Dans les pays développés, la consommation de pommes de terre augmente considérablement et représente plus de la moitié de la récolte mondiale. Comme elle est facile à cultiver et que sa teneur énergétique est élevée, c'est une culture commerciale précieuse pour des millions d'agriculteurs. (FAO ,2018).

Tableau n° 02 : Production mondiale de la pomme de terre entre 2011_ 2017 (FAO ,2018).

Année	Superficies (Ha)	Production (tonnes)	Rendement (tonnes/ha)
2011	19 315 098	373 633 249	19.3441
2012	19 405 751	368 344 857	18.9812
2013	19 292 920	374 070 106	19.3890
2014	18 878 752	380 264 734	20.1425
2015	18 913 868	376 577 033	19.9101
2016	19 077 480	374 252 074	19.6175
2017	19 302 642	388 190 674	20.1108

En 2017, la production mondiale de pommes de terre est estimée à 388 190 674 tonnes, pour une surface cultivée de 19 302 642 hectares, soit un rendement moyen de 20.1108 tonne par hectare. C'est la chine qui occupe le premier rang des pays producteurs avec une production qui atteint 99.065724 tonnes en 2017. (FAOSTAT, 2018).

) En Algérie

Selon les historiens, l'entrée de la pomme de terre en Algérie remonte au milieu de la première décennie du dix-neuvième siècle, elle a été cultivée principalement pour l'exporter vers le marché Français. Après l'indépendance, elle est devenue un produit important pour la consommation locale, et elle devenue de plus en plus importante dans le régime alimentaire.

La demande en cette culture s'est alors accrue .Elle représente la première culture maraîchère du point de vue superficie et production, avec une superficie plantée de 148692 Ha et une production de 4606403 tonnes en 2017, avec un taux de rendement de 30.9795tonnes/ ha.

La filière pomme de terre dans tous ses volets semences et consommation occupe aujourd'hui une place stratégique dans la nouvelle politique du renouveau agricole et rural, où sa culture reste parmi les espèces maraîchères, qui occupe une place primordiale tant par l'importance qu'elle occupe dans l'alimentation.(MADRP, 2014).

Les zones de production sont réparties selon quatre zones géographiques : Littoral, sublittoral, atlas tellien et hautes plaines.

Primeur: Boumerdes, Tipaza, Skikda, Alger, Mostaganem, Tlemcen.

Saison: Ain-defla, Mascara, Mila, Souk ahras, Boumerdes, Mostaganem, Sétif, Tizi ousou, Tiaret, M'sila, Tlemcen, Batna, Chlef, Bouira, El-oued.

Arrière-saison: Ain-defla, Mascara, Guelma, Chlef, El oued, Tlemcen, Mostaganem, Djelfa. (MADRP, 2014).

Tableau n° 03 : Evolution de la production de la pomme de terre en Algérie entre 2011_2017. (FAOSTAT, 2018).

Année	Superficies (Ha)	Production (tonnes)	Rendement (tonnes/ha)
2011	131903	3862194	29.2806
2012	138666	4219476	30.4291
2013	161156	4886538	30.3218
2014	156176	4673516	29.9247
2015	153313	4539577	29.6099
2016	156296	4758137	30.4431
2017	148692	4606403	30.9795

En 2017, l'Algérie a occupé la première place dans la production de la pomme de terre en Afrique. La production nationale durant la dernière années (2011-2017) à augmenter de 3 862 194 tonnes en 2007 à 4606403 tonnes en 2017 pour une augmentation de la surface cultivée de 131903 hectares en 2007 à 148692 hectares en 2017. L'accroissement du rendement est aussi très significatif, de 29.2806 tonnes par hectare en 2007 à 30.9795 tonnes par hectare en 2017 ; c'est en dehors de la production de semences qui montre une nette augmentation durant cette période. (FAOSTAT, 2018).

Par catégorie, la production a été de 1,07 million de qx pour la pomme de terre de primeur, de 26,37 millions de qx pour la pomme de terre de saison et de 18,62 millions de qx pour la pomme de terre d'arrière-saison.

Les wilayas potentielles en matière de production de pomme de terre sont El Oued avec une production de 11,53 millions de qx, Ain-Defla avec 6,88 millions de qx et Mostaganem avec 4,47 millions de qx.

) En Ain Defla

Le sol de la wilaya d'Ain defla est une terre de choix pour la production de la pomme de terre. Selon les données statistiques des services agricoles de la wilaya, elle couvre près de 35% des besoins nationaux, c'est la deuxième zone productrice au niveau national après EL Oued. (DSA, 2018).

Tableau n° 04 : Evolution de la production de Pomme de terre de wilaya Ain defla
Entre 2011_2017 (DSA, 2018).

Année	Superficie(Ha)	Production (Qx)	Rendement (Qx/ha)
2011	18 385	5 601 681	305
2012	24 013	7 316 309	305
2013	24 525	7 092 875	289
2014	21 882	6 197 030	283
2015	21 569	6 433 126	298
2016	20 000	6 879 362	344
2017	15 800	5 128 700	325

II- Historique et origine de pomme de terre

L'histoire des pommes de terre a commencé il y a environ 8000 ans sur les hauts plateaux de la Cordillère des Andes, où elles poussaient à l'état sauvage. Les Incas, qui les appelaient « papas », les ont cultivées dès le XIIIe siècle (**Clement, 1981**). Elle a été domestiquée et a été cultivée par communautés agricoles autochtones depuis plus de 4 000 ans.

La pomme de terre aurait fait son entrée sur le continent européen par deux voies distinctes: l'une par l'Espagne, l'autre par l'Angleterre dans le seizième siècle, la récolte a ensuite été distribuée dans le monde entier, y compris l'Asie. (**Smith, 1995**).

Au XVIIIème siècle la culture de la pomme de terre progressivement est devenue commun dans toute l'Europe. Dans certains pays, l'expansion de cette la plante était très rapide, entre autres en Irlande, la pomme de terre est devenue la principale source de nourriture. Au tournant des XIXe et XXe siècles, la pomme de terre s'est répandue sur tous les continents. (**Birecki 1958, Karczmarczyk 1999, Leszczy ski 2007**).

Les Andalous ont transféré en Algérie au 16ème siècle plusieurs cultures, y compris la culture de la pomme de terre. Dont la culture a été limitée malgré la sécheresse qui prévaut dans la région. Il fut cultivé par les colons dans la seconde moitié du XIXe siècle et, dans les années 1930-1940, la famine qui régnait dans la région se répandit, ce qui incita les Algériens à se préoccuper de la culture de la pomme de terre. (**MADRP, 2014**).

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

La pomme de terre (*Solanumtuberosum L.*) fait partie de la famille des solanacées, et du genre *Solanum* qui est regroupe environ 1000 espèces dont plus de 200 sont tubéreuses. Selon **Cronquist (1988)**, la pomme de terre est classée comme suit :

Règne :	<i>Plantae</i>
Sous-règne :	<i>Tracheobionta</i>
Division :	<i>Magnoliophyta</i>
Classe :	<i>Magnoliopsida</i>
Sous- classe :	<i>Asteridae</i>
Ordre :	<i>Solanales</i>
Famille :	<i>Solanaceae</i>
Sous –famille :	<i>Solanoideae</i>
Genre :	<i>Solanum</i>
Espèce :	<i>Solanum tuberosum L.</i>

III.2- Classification génétique de la pomme de terre

La pomme de terre est une espèce tétraploïde avec 48 chromosomes, à multiplication végétative, cultivée pour ses tubercules, organes de réserve et de multiplication riches en substances nutritives. Du point de vue anatomique, ce tubercule est une tige modifiée, aux entrenœuds courts et épaissis et dont les bourgeons vont donner naissance à des germes appelés yeux.(Rousselle et al, 1996).

IV- La morphologie de la pomme de terre

La pomme de terre est une espèce herbacée, vivace par ses tubercules mais cultivée en culture annuelle le plus souvent.(Rousselle et al. 1992).

Il est important de connaître les différentes parties de la plante qui diffèrent selon l'espèce et la variété de pomme de terre :

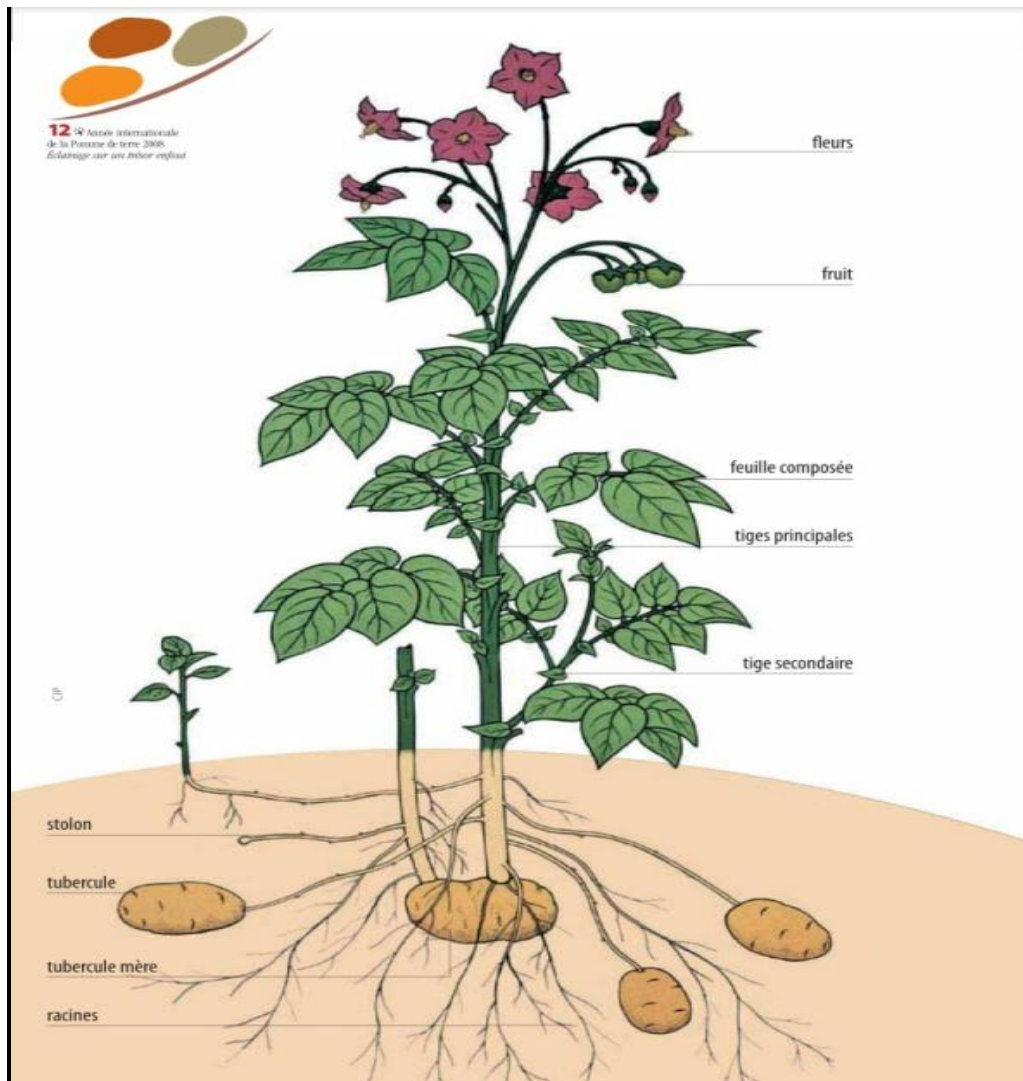


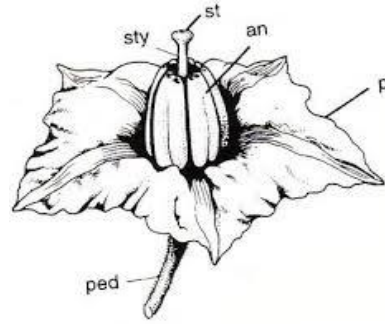
Figure n°1: Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre. (Pandey ,2009).

) Partie aérienne

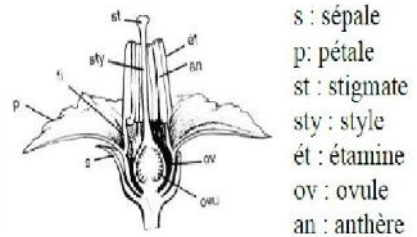
Les tiges aériennes qui se développent sur chaque tubercule sont au nombre de 2 à 10. D'abord dressées, ces tiges peuvent se coucher, donnant à la plante un port plus étalé dressée.

Les feuilles sont composées, divisées en 7 à 15 folioles. La pomme de terre possède des fleurs dont la couleur varie du blanc au violet selon les variétés, parfois les deux couleurs se trouvant sur la même fleur. Ces fleurs, comme toutes les plantes de la famille des Solanacées, sont du type 5 :

Elles ont 5 pétales (soudés, formant une corolle quasi circulaire ou au contraire très échancrée suivant les variétés), 5 sépales (soudés) et 5 étamines.



Les fleurs sont autogames: les organes femelles sont fécondés par les organes mâles de la même fleur. Ne possédant pas de nectar, elles ne sont pas visitées par les insectes pollinisateurs, et la fécondation croisée est donc quasi inexistante. De plus, la stérilité mâle est fréquente. Ces conditions font que les fruits sont assez rares (Polese ,2006).



s : sépale
 p: pétale
 st : stigmate
 sty : style
 ét : étamine
 ov : ovule
 an : anthère

Figure n°2: Les caractéristiques morphologiques de la fleur de pomme de terre.

Le fruit est une petite baie sphérique verte, jaunissant un peu à maturité, puis se détachant ou non du pédicelle. (Feytaud, 1949).

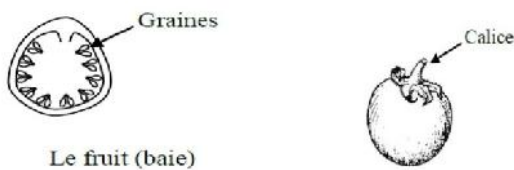


Figure n°3: Les caractéristiques morphologiques du fruit de pomme de terre.

) **Partie souterrain**

Il est constitué par les racines et par les stolons, sur lesquels se forment les tubercules, qui sont des organes gorgés de substances de réserve.

Le tubercule de pomme de terre n'est pas une portion de racine, c'est une tige souterraine. Comme toutes les tiges, il est constitué d'entre-nœuds, courts et épaissis dans le cas présent, et porte des bourgeons (que l'on appelle les « yeux »), situés dans de petites dépressions. En se développant, les tubercules de la pomme de terre sont en fait des organes souterrains gorgés de substances de réserve. Bourgeons donnent les germes et les futures tiges aériennes. (Polese, 2006)

Les racines prennent naissance sur différentes parties: au niveau des nœuds enterrés des tiges feuillées, au niveau des nœuds des stolons, ou encore au niveau des yeux du tubercule. (Polese, 2006)

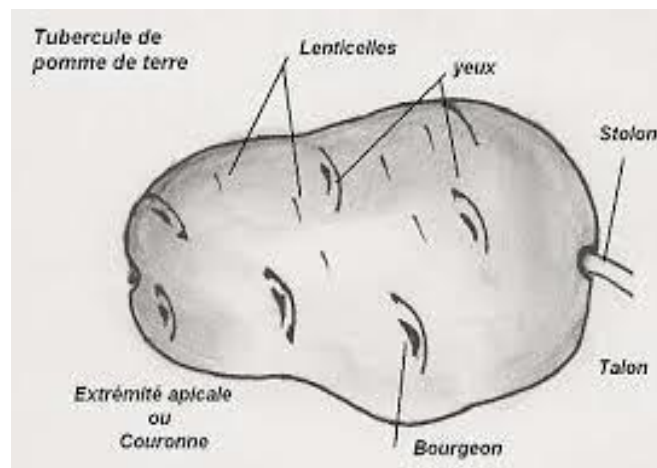


Figure n°4 : Les caractéristiques morphologiques du tubercule de pomme de terre (Vanderhofstadt et Jouan, 2009).

V - Cycle de reproduction

La pomme de terre peut se reproduire de deux manières, la reproduction sexuée qui généralement utilise pour la production de semences et la reproduction végétative qui est la méthode la plus utilisée dans la production de pomme de terre.

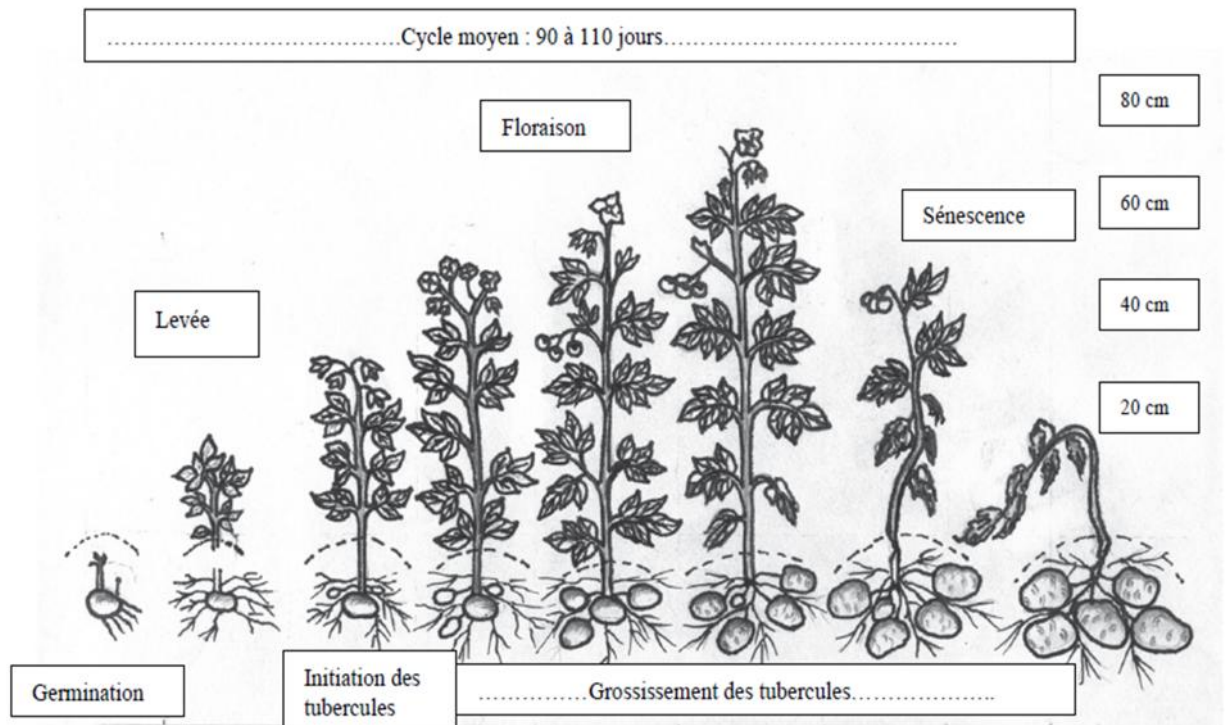


Figure n°5: Les différentes étapes du cycle phénologique moyen de la pomme de terre (Vanderhofstadt et Jouan, 2009).

V.1- Cycle sexué

En revanche, la reproduction sexuée, assurée par une graine issue de la fécondation de la fleur femelle par le pollen, donne naissance à une plante différente. Que ce soit par autopolinisation ou par l'intervention d'un pollen étranger transporté par le vent, il y a recombinaison des gènes au moment de la fécondation. Le fruit de la pomme de terre est une baie ressemblant à une petite tomate verte. Elle contient plusieurs centaines de graines.

Le fruit est une baie sphérique ou ovoïde de 1 à 3 centimètres de diamètre, il contient généralement plusieurs dizaines de graines. (Rousselle, 1996).

V.2- Cycle végétative

La pomme de terre est une plante annuelle à multiplication végétative. Sa reproduction est alors assurée par le tubercule, qui donne naissance à des germes.

V.2. 1-La dormance

Durant cette période, le tubercule est dans un état de repos végétatif pendant lequel son aspect extérieur ne se modifie pas. Le tubercule ne germe pas même s'il est mis en conditions favorables. Ensuite, il va se « réveiller » en émettant des germes, c'est la « GERMINATION ». (Vanderhofstad, 2007).

La durée de la dormance est une caractéristique variétale, mais elle est également directement liée aux conditions de conservation ; dont la température est un facteur dominant. Les durées de dormance des variétés utilisées en Afrique de l'Ouest conservées entre 30 et 35°C varient de 70 à 100 jours.

A titre d'exemple, si ces mêmes variétés sont stockées au frais entre 12 à 15 °C, le réveil peut demander plus de 6 mois. Les tubercules stockés entre 4° et 6° voient leur cycle de développement pratiquement stoppé. (Vanderhofstad, 2007).

V.2.2-La germination

La germination des tubercules se caractérise par l'apparition d'un premier bourgeon au niveau d'un œil de la couronne. Celui-ci se développe en germe grâce aux réserves du tubercule. Après 15 à 30 jours, d'autres yeux répartis sur tout le tubercule vont donner à leur tour des germes. Après plantation, chaque germe se développe en une tige portant les feuilles. (Vanderhofstad, 2007).

V.2.3-La tubérisation

Le cycle de végétation normal se déroulant sous des conditions de milieu qui n'apportent pas de perturbation dans le développement de la plante, les germes du plant mis en terre se transforme en croissant au dessus du sol en tiges feuillés. Les bourgeons axillaires aériens donnent des rameaux, les bourgeons souterrains et des stolons.

Au bout d'un certain temps, variable suivant les variétés dans un même milieu, est pour une même variété suivant les conditions de milieu, les stolons se renflent à leur extrémité pour former les ébauches de tubercules. Cette initiation est brutale, et toutes les ébauches sont formées en un temps relativement court, souvent en une à deux semaines pour beaucoup de variétés, compte-tenu de la fluctuation entre plantes. Il en résulte que tous les tubercules ont pratiquement le même âge, quelle que soit leur grosseur. Les différences de grosseur proviennent d'un rythme

différent de grossissement que certains auteurs, Clark (1921), Krijthe (1946, 1955), Plaisted (1957), ont relié à la position des stolons sur la tige et à celle des tubercules sur un même stolon.

Il détermine deux phases distinctes: avant une phase de croissance purement végétative dont la durée définit la précocité de tubérisation d'une variété (dans un milieu donné), et après une phase de grossissement qui dure jusqu'à la mort de la plante (**Madec et Perennec ,1959**).

Les tubercules sont des structures élargies du plant de pomme de terre; utilisé comme organe de stockage pour les nutriments; la pérennité de la plante (survie en hiver ou en saison sèche) (mois); fournir de l'énergie et des nutriments pour la repousse au cours de la prochaine croissance saison, un moyen de reproduction asexuée et destiné à la consommation(**Burke, 2017**).

VI-Les variétés existent en Algérie

Cent vingt variétés sont inscrites au catalogue algérien des espèces et variétés cultivées de pomme de terre.

Cette inscription est obligatoire pour leur commercialisation. Elle est précédée de deux ans au cours desquels sont évalués les caractères d'utilisation, le rendement, le comportement vis-à-vis des parasites par le service de Contrôle et certification des semences et plants (CNCC)(**DSA, 2008**).

Wilaya	VARIETES	
	BLANCHES	ROUGES
Ain Defla	Spunta	Kondor
		Desirée
		Bartina
		Sarpomira
		Amorosa
		Kuroda

(**DSA ,2008**)

VII-La conservation

Dans les pays à climat chaud, comme le nôtre, le recours à la réfrigération 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 (**ITCMI ; 2015**).

VII.1-Les conditions de stockage

Elle varie, comme indiqué dans le tableau ci-dessous, en fonction de :

- La durée du stockage.
- La destination de la production (**Anonyme, 2017**).

Durée de stockage	Destination de la production	Température de conservation
Moins de trois mois	Consommation	8 à 10 °C
	Transformation	8 à 10 °C
	Semences	5 à 12 °C
Plus de trois mois	Consommation	4 à 7 °C
	Transformation	7 à 8 °C
	Semences	2 à 4 °C

(**Anonyme, 2017**).

VII.2-Les modes de stockage

) Stockage en caisses-palettes (palox) des pommes de terre

Le stockage en caisses permet d'assurer un circuit court de manutention des tubercules à la réception, avec un contrôle maîtrisé des hauteurs de chute grâce à des remplisseurs automatisés ou un remplissage directement au champ.

Les forces de pression s'exerçant sur les tubercules de la base des caisses sont fortement réduites et la manutention des caisses n'est pas traumatisante pour les tubercules, même à basse température.

De plus, l'isolement des lots peut être parfaitement assuré et la traçabilité est facilitée l'utilisation d'un groupe froid permet, à volonté, l'abaissement et le maintien quasi parfait du bâtiment à la température de consigne, un meilleur contrôle de la gale argentée et de la dartrose, une réduction de l'utilisation d'inhibiteurs de germination, une maîtrise du Déficit de Pression de Vapeur (DPV) et une réduction des pertes de poids (**Martin, 2012**).**Figure n°06**.



Figure n°06 : Le stockage en caisses-palettes (palox) (**Martin, 2012**).

) **Stockage en vrac des pommes de terre**

Les pommes de terre sont mises en tas directement sur le sol. La ventilation est assurée par des gaines sous le tas posées sur le sol ou enterrées. Pour une hauteur de tas de 3,50 m, les caniveaux enterrés sont espacés de 2,70 m maximum. La distance entre axe des gaines aériennes ne doit pas excéder 3,50 m.

Le stockage peut également être réalisé sur un réseau de gaines jointives (caillebotis intégral). Dans ce cas l'air est soufflé sur toute la surface du tas.

La régulation de la ventilation est basée sur le contrôle de la température du tas par ventilation froide.

L'objectif est de maintenir une température extérieure plus basse par rapport à la température des tubercules. Des volets à ouverture réglable permettent d'insuffler dans le tas de l'air extérieur avec ou sans mélange avec de l'air recyclé intérieur au bâtiment. (**Martin, 2012**).



Figure n°07: Le stockage en vrac. (Jean-Louis, 2007).

) **Stockage en sacs des pommes de terre**

Parler de la façon de stocker les pommes de terre dans la cave dans des sacs, il faut dire qu'il est tout à fait pratique et la méthode la plus courante. Paille réchauffe et protège contre les légumes froids. Il est également un matériau naturel, bon pour faire passer l'air. Aujourd'hui, il y a des sacs en papier densifié, mais ils sont moins perméables à l'air. Pour éviter d'endommager les couches inférieures d'une pomme de terre dans les sacs doivent également installer une palette ou un autre revêtement de sol qui protège le fruit du gel et de la pourriture.

Les sacs remplis sont empilés sur des palettes ou dans un cercle de 5 chacune en position couchée en hauteur de 3 mètres. Après que les légumes peuvent être couverts de vieilles couvertures, la sciure de bois ou de foin. Si la période de stockage est assez grande, vous devez enregistrer un peu d'espace entre les sacs, laissant ainsi l'espace pour la prise d'air. Il est très pratique pour stocker la récolte dans des sacs s'il y a un besoin pour son chargement ou le déchargement fréquent. Stockage des pommes de terre est interdit dans des sacs en plastique et des sacs, dans lesquels peu d'air. (Jean-Louis, 2007).

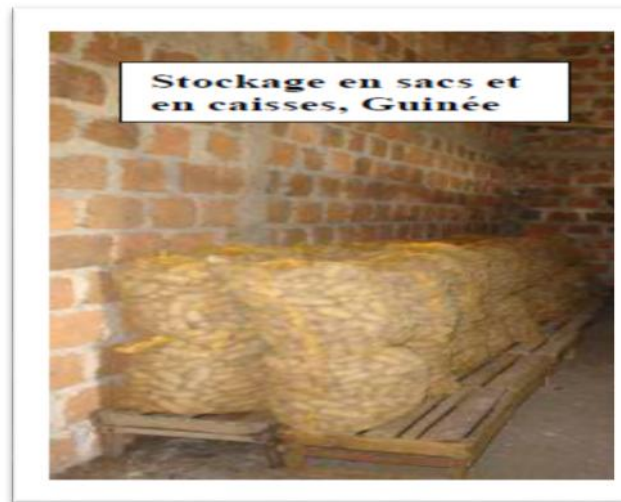
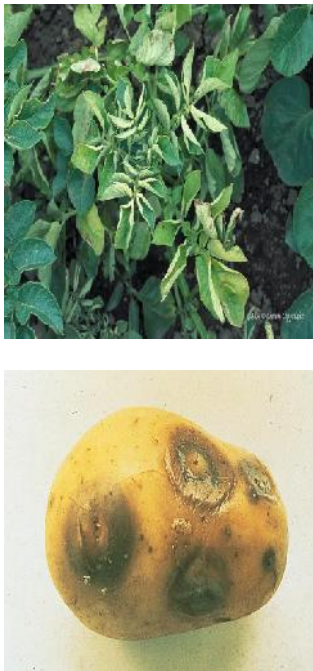




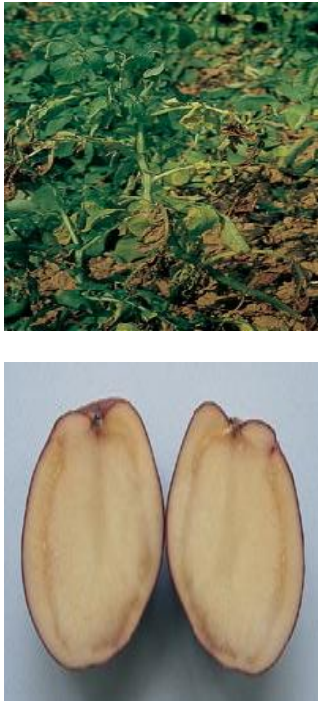
Figure n°08: Le stockage en sacs (Jean-Louis, 2007).



VIII-Maladies et ravageurs


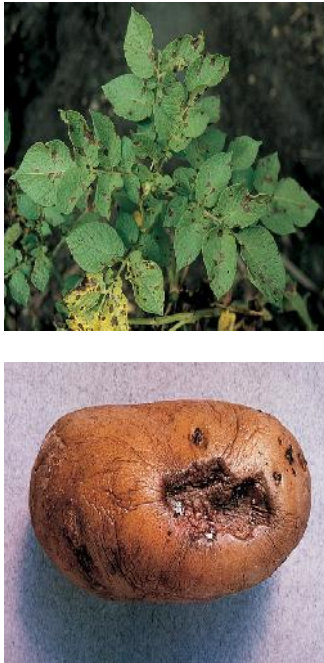

Comme toutes les cultures, la pomme de terre est soumise à l'attaque de plusieurs maladies (fongiques, bactériennes, virale) et les ravageurs occasionnant parfois des dégâts importants. Les principales maladies et ravageurs de la pomme de terre rencontrés en Algérie sont catalogués comme suit :




Tableau n°05 : Les principales maladies de la pomme de terre.

Maladies bactériennes				
Maladies	Causées par	Symptômes	Images	Auteurs
Jambe noire	<i>Pectobacterium spp.</i>	<p>Les plantes sont rabougries et ont une apparence «dure». Les feuilles sont rigides et érigées, s'enroulant souvent vers l'intérieur au sommet. Une pourriture visqueuse noire apparaît généralement à la base de la tige lorsque la maladie progresse. Les tiges atteintes sont facilement arrachées.</p> <p>Sur les tubercules: Une pourriture molle blanche, légèrement brune, se répand à partir du talon ou des lenticelles. Un bord sombre entoure la zone touchée. La pourriture dégage une odeur de poisson caractéristique.</p>		Kerr, 2014
Gale commune	<i>Streptomyces scabiei</i>	Ils vont de lésions superficielles subéreuses à de larges galles ou des pustules, qui atteignent les pommes de terre individuellement ou en groupe. Parfois, les symptômes peuvent ressembler à ceux de la gale poudreuse. Les symptômes de la gale plate se présentent comme des taches liégeuses brunes sur l'épiderme.		Kerr, 2014

<p>pourriture annulaire</p>	<p><i>Clavibacter michiganensis subsp. Sepedonicus</i></p>	<p>Touchant habituellement les feuilles inférieures, avec parfois enroulement des feuilles. Les 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 s’assombrissent à mesure que la maladie progresse pénétrer dans la moelle centrale.</p>		<p>Kerr, 2014</p>
<p>pourriture brun</p>	<p><i>Ralstonia solanacearum</i></p>	<p>le flétrissement des folioles les plus jeunes au moment le plus chaud de la journée, puis rabougrissement des plantes, un flétrissement général, un jaunissement du feuillage et la mort de la plante. Un exsudat bactérien peut suinter du tissu vasculaire des tiges coupées.</p> <p>Sur les tubercules brunissement de l’anneau vasculaire à partir de l’extrémité du stolon. À mesure que la maladie progresse, le tissu vasculaire pourrit complètement et un suintement gluant de couleur pâle peut apparaître au niveau des yeux, des lenticelles et/ou des stolons du tubercule, entraînant des adhérences de terre à ces</p>		<p>Kerr, 2014</p>

		endroits.		
Maladies fongiques				
Maladie	Causées par	Symptômes	Image	Auteurs
Mildiou	<i>Phytophthora infestans</i>	Des taches allongées de couleurs blanches ou jaunes blanchâtres ou jaunâtres apparaissent sur les feuilles (souvent à l'extrémité), et éventuellement un feutrage blanc-gris sur la face inférieure. Les feuilles blanchissent rapidement, puis se dessèchent. Le mildiou provoque aussi des taches brunes sur et à l'intérieur des tubercules. Le champignon reste dans le sol et peut donc infecter les nouveaux plants de pommes de terre.		Kerr, 2014
Fusariose	<i>Fusarium spp</i>	Les feuilles de la plante jaunissent et se flétrissent. Puis la plante finit par être complètement desséchée. La maladie se manifeste également lors de la conservation. À l'endroit où les pommes de terre présentent des blessures, des taches de pourriture brun-pâle apparaissent. Les champignons responsables de la fusariose résistent au froid et donc à l'hiver.		Kerr, 2014

<p>Dartrose</p>	<p><i>Colletotrichum coccodes</i></p>	<p>Sur l'épiderme du tubercule se forment des taches (ou plages) de couleur argentée, de forme irrégulière et présentes au moment de la récolte. Des points noirs, de formes ovales, et grandes comme une tête d'épingle (micro sclérotés), sont souvent visibles sur la peau.</p>		<p>Kerr, 2014</p>
<p>Alternariose</p>	<p><i>Alternaria spp.</i></p>	<p>Sur les feuilles apparaissent des taches circulaires ou angulaires brunes, souvent avec des anneaux concentriques, parfois présence d'un halo jaune.</p> <p>Sur les tubercules apparaissent des taches brunes foncés à noires, circulaires à elliptiques, et déprimées ; ces taches pénètrent dans la chair sur une profondeur de 1 à 2mm.</p>		<p>Kerr, 2014</p>
<p>Maladies virales</p>				
<p>Maladies</p>	<p>Causées par</p>	<p>Symptômes</p>	<p>Images</p>	<p>Auteurs</p>
<p>Virus de l'enroulement de pomme de terre</p>	<p><i>PLRV Potato Leafroll Virus (PLRV)</i></p>	<p>Les feuilles s'enroulent vers l'intérieur et deviennent sèches et friables, prenant parfois une couleur brune. L'enroulement démarre au niveau des feuilles inférieures et remonte le long de la plante. Les plantes sont rabougries et peuvent être cachées</p>		<p>Kerr, 2014</p>

		<p>sous le couvert végétal de plantes saines adjacentes.</p> <p>Une nécrose en réseau peut se développer, sous forme de nécroses brunes dans le tissu vasculaire. Dans le cas des variétés sensibles, cela peut se produire après une infection primaire ou secondaire.</p>		
<p>Rattle</p>	<p><i>Tobacco rattle virus</i></p>	<p>Plante: marbrure et déformation des feuilles et retard de croissance de tout ou partie des tiges</p> <p>Tubercule: arcs bruns et bouchés et boutons dans la chair du tubercule, parfois visibles à la surface de la peau</p>	 	<p>Kerr, 2014</p>





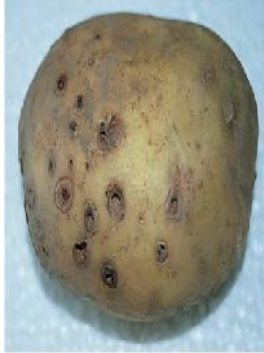



<p>Virus du Mop-Top de la pomme de terre</p>	<p><i>PMTV</i> <i>Potato Mop-Top virus</i></p>	<p>Sur les parties aériennes apparaissent taches ou marbrures jaunes surtout sur les feuilles de la base, chlorose en forme de chevrons, fort rabougrissement de l'ensemble de la plante.</p> <p>Les tubercules présentent des lésions brunes, superficielles ou internes.</p>		<p>Rousselle et al, 1996</p>
---	--	--	---	-------------------------------------

Tableau n°06: les principales ravageuses de pomme de terre.

Maladie	Causer par	Symptômes	Images	Auteurs
<p>Teigne guatémaltèque de la pomme de terre</p>	<p><i>Tecia solanivora</i></p>	<p>Celles-ci forment des galeries dans les tubercules et peuvent les détruire complètement. Les galeries se remplissent des restes de nourriture et d'excréments des larves, souvent la pourriture vient s'ajouter aux dégâts. Alors que les orifices d'entrée sont difficilement détectables, les larves laissent des trous de sortie bien visibles (2 à 3 mm de diamètre) en quittant</p>		<p>Kerr, 2014</p>

		<p>les tubercules.</p>		
<p>Larves de taupin</p>	<p><i>Agriotes</i> <i>/Tandonia / Arion</i> <i>spp</i></p>	<p>Les taupins peuvent se nourrir du feuillage des plantes en végétation mais les dégâts ne sont généralement pas importants sur le plan économique.</p> <p>Tubercule : Les larves creusent de petits trous peu profonds ou des tunnels plus profonds à l'intérieur du tubercule. Les dégâts dus aux larves de taupin constituent un point d'entrée pour d'autres agents pathogènes, ce qui peut entraîner une pourriture des tubercules</p>	 	<p>Kerr, 2014</p>

<p>Nématodes à galle</p>	<p><i>Meloidogyne spp.</i></p>	<p>En végétation, des nœuds et des galles se développent sur les racines. Les galles peuvent apparaître sur la surface du tubercule. Les galles de tubercule apparaissent sous forme de petits bosses au-dessus des nématodes en train de se développer, donnant à la peau une apparence rugueuse. Lorsque des tubercules infestés sont coupés, de petits points bruns peuvent apparaître à l'intérieur du cortex du tubercule.</p>		<p>Kerr, 2014</p>
<p>Doryphore</p>	<p><i>Leptinotarsa decemlineata</i></p>	<p>Les doryphores et leurs larves se nourrissent sur les feuilles et parfois sur les tiges des plantes, ce qui produit des trous irréguliers sur les folioles. Les plantes peuvent perdre une grande partie, voire la totalité, de leurs feuilles en cas de grave infestation des cultures. À tous les stades où ils sont mobiles, les doryphores se</p>		<p>Kerr, 2014</p>

		<p>nourrissent du feuillage de la plante.</p>		
--	--	---	---	--

Chapitre II :
Généralité sur *Ralstonia solanacearum*

Généralité sur *Ralstonia solanacearum* (flétrissement bactérien)**I- Le flétrissement bactérien**

Le flétrissement bactérien est une phyto bactériose d'origine tellurique provoquée par *Ralstonia solanacearum* est un organisme de quarantaine. Cette bactériose est l'une des maladies les plus nuisibles au niveau mondial, observée sur les cinq continents, dans une vaste gamme de climats et sur plus de 60 familles botaniques. (Tilma et Fontaine, 2015).

Le flétrissement bactérien de la pomme de terre, encore appelé pourriture annulaire des tubercules, bactériose annulaire ou flétrissure bactérienne est mentionné pour la première fois en Allemagne en 1906 par Apple. (Rousselle et al., 1992). Il a été décrit pour la première fois par Erwin Fink Smith à la fin du 19ème 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).

II -Importance économique de la maladie

Le flétrissement bactérien est causé par la bactérie *Ralstonia solanacearum*, est l'un des plus importants organismes pathogènes sur le plan mondial. Elle s'attaque à plus de 200 espèces végétales appartenant à plus de 60 familles. *Ralstonia solanacearum* est un organisme de quarantaine. Cela signifie que toute suspicion d'atteinte par cette bactérie doit être immédiatement signalée au service phytosanitaire.

La lutte et les mesures pour limiter sa propagation sont organisées selon les prescriptions de l'Ordonnance sur la protection des végétaux. *Ralstonia solanacearum* est inoffensive pour l'homme et les animaux. (Kupferschmied et al., 2017).

L'importance des dégâts, à la fois quantitatifs, conduit assez fréquemment à l'abandon de production maraîchères ou de grande culture de solanacées. La maladie est un facteur limitant, que ce soit sur des cultures dispersées destinées à la consommation familiale ou en maraîchage mené en production traditionnelles ou intensive. Le flétrissement bactérien a donc un impact économique majeur sur l'agriculture de subsistance et d'exportation des pays tropicaux. (Rousselle et al., 1992).

III -Symptômatologie

Le flétrissement de la pomme de terre se manifeste très brutalement sans jaunissement préalable des feuilles qui s'enroulent et commence à faner seulement aux heures les plus chaudes de la journée tandis que les pétioles s'infléchissent vers le bas comme si le flétrissement était dû à un manque d'eau (**Rousselle et al. 1992**).



Figure n°09 : Les symptômes de *Ralstonia solanacearum* sur les feuilles de pomme de terre. (**Kerr, 2014**).

Lorsque la maladie évolue plutôt lentement, le flétrissement du système aérien, voire des feuilles correspondant aux tissus conducteurs colonisés, est d'abord unilatéral. En coupant la tige on observe une coloration brune des tissus vasculaire et en plongeant un fragment de cette tige dans un tube d'eau on voit diffuser un exsudat blanchâtre à partir des vaisseaux sectionnés(**Rousselle et al. 1992**).



Figure n°10 : Les symptômes de *Ralstonia solanacearum* sur la tige (Blancard ,2017).

Les tubercules, aussi sont attaqués. Extérieurement, on peut voir affleurer au niveau du talon de quelques yeux une pourriture qui exsude un mucus blanchâtre, Une section du tubercule montre des tissus vasculaire brun_rouge(Rousselle et al. 1992).

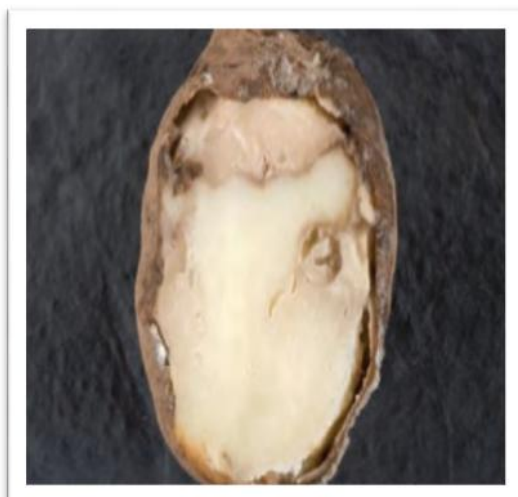


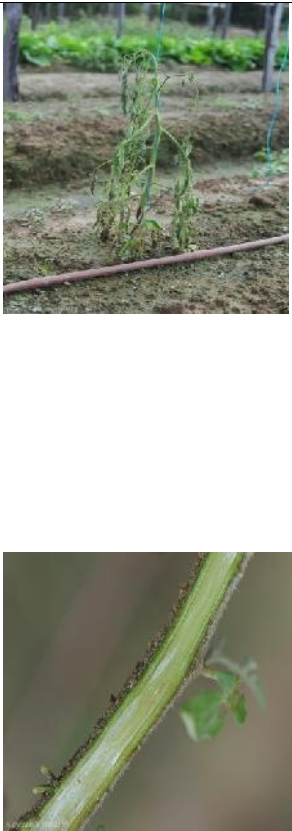
Figure n°11: Les symptômes de *Ralstonia solanacearum* sur les tubercules (Kerr, 2014).



Les vaisseaux sectionnés transversalement laissent apparaître un mucus blanc nacré constitué d'une masse bactérienne de *Ralstonia solanacearum*(Figure n°10). Tous les tubercules d'un plant flétri ne sont pas forcément infectés et tous les tubercules infectés ne présentent pas obligatoirement des symptômes, surtout s'ils sont produits en altitude (au-dessus de 2500m). (Rousselle et al. 1992).

IV – Gamme hôtes

Ralstonia solanacearum est surtout connue comme pathogène causal de flétrissement bactérien de la pomme de terre. Cette bactérie s’attaque en particulier aux espèces de la famille des solanacées telles la pomme de terre, la tomate, le poivron et l’aubergine. Elle peut aussi s’attaquer à un grand nombre d’espèces ornementales ou sauvages. L’ensemble des plantes hôtes comprend plus de 200 espèces appartenant à plus de 60 familles végétales. La prévention et la lutte sont compliquées par le fait que les plantes infectées ne montrent souvent pas toutes des symptômes. L’infection n’est alors pas visible et les plantes, touchées de façon latente, pourront transmettre la bactérie et contaminer des plantes saines. (Kupferschmied et al., 2017).

Tableau n°07: Des plantes attaquent par *R. solanacearum*.

Les Plantes	Symptômes	Image	Les auteurs
Tomate	<p>Flétrissement rapide des jeunes feuilles aux moments les plus chauds de la journée.</p> <p>Les folioles et les feuilles finissent par se dessécher comme les plantes entières à terme.</p> <p>En condition moins favorables : croissance ralentie des plantes, épi nastie foliaire, émission d’ébauches de racines adventives sur la tige, jaunissement des feuilles.</p> <p>Coloration jaunâtre à brune plus ou moins foncée des vaisseaux observable dans les racines, le pivot et la tige. La moelle et le cortex peuvent présenter des lésions humides et brunes. Absence de symptômes sur fruits.</p>		Blancard, 2017

<p>Tabac</p>	<p>Apparition de flétrissements foliaires unilatéraux, parfois accompagnés de jaunissements. Assez rapidement, les tissus affectés se nécrosent et se dessèchent.</p> <p>Une coupe longitudinale de la tige permet de constater que les vaisseaux ont souvent pris une coloration brune et que l'altération a pu gagner la moelle et le cortex.</p>		<p>Blancard 2017</p>
<p>Bananier</p>	<p>Décoloration et flétrissement des bractées florales, noircissement et racornissement du bourgeon mâle. Les feuilles jaunissent, flétrissent, noircissent, fanent et se cassent (y compris le faux tronc). On observe des rayures jaunes ou marron au niveau vasculaire sur l'ensemble de la plante et, sur une section à la base du faux tronc ou de la souche, une sécrétion jaune pâle bactérienne. Ce entraîne le flétrissement des régimes avec maturation prématurée et coloration interne brun rougeâtre des fruits. La plante meurt dans le mois de l'apparition de n'importe lequel de ces symptômes (un mois après l'infection).</p>		<p>Assobacam, 2009</p>

V - L'agent causal de flétrissement bactérien

Ralstonia solanacearum est une bactérie Gram négatif appartenant à la famille des pseudomonaceae, c'est un bâtonnet mobiles par une flagelle polaire, aérobic strict, non fluorescent, possédant une oxydase, qui métabolise le glucose par voie oxydative et qui accumule du poly-b-hydroxybutyrate dans son cytoplasme à partir d'un milieu de culture riche en carbone. Elle produit la réaction d'hypersensibilité du tabac par infiltration dans le parenchyme foliaire d'une suspension à 10^9 bactérie par ; *Ralstonia solanacearum*, espèce très différente des espèces de *Ralstonia* fluorescents (groupe d'homologie 1 des ARN), fait l'objet d'une proposition de reclassement dans le nouveau genre *Burkholderia*. (Rousselle et al., 1992).

VI - Classification

Ralstonia solanacearum ne se comporte pas comme une bactérie unique avec une biologie et une gamme de plantes-hôtes uniformes, mais comme un complexe de variant, décrits de manière variable en tant que groupes, races, biovars, biotypes, sous-races et souches.

Le classement des races et des biovars a été largement accepté pour la subdivision de *R. solanacearum*. Le système de schéma racial regroupe les souches de *R. solanacearum* en fonction de leur capacité à infecter différentes plantes hôtes, à savoir :

- **La race 1** : comprend de nombreuses souches ayant une large gamme d'hôtes et est pathogène sur différentes plantes solanacées et hôtes adventices.
- **La race 2** : étant limitée la banane triploïde et Heliconia.
- **La race 3** : (pomme de terre) affecte la pomme de terre.
- **La race 4** : infecte le gingembre.
- **La race 5** : est pathogène sur le mûrier (Nagarathna et al., 2012).

L'espèce a été subdivisée en six biovars (Bv) : **1, 2, 3, 4, 5** et **2T** selon l'aptitude à oxyder trois disaccharides (maltose, lactose et cellobiose), et trois hexoses-alcools (mannitol, sorbitol et dulcitol) (Nushrat, 2013).

Récemment, une analyse phylogénique basée sur différentes approches moléculaires a montré que cette bactérie devrait être appréciée comme un complexe d'espèces appartenant à 4 phylotypes relié à des souches d'origines géographiques différentes :

-) **Phylotype I** : *Asiaticum* (ex biovars 3, 4 et 5 et ex races 1, 4 et 5).
-) **Phylotype II** : *Americanum* (ex biovars 1, 2 et 2T et ex races 1, 2, 3...).

- J **Phylotype III** : *Africanum* (ex biovars 1 et 2T et ex races 1, 3).
- J **Phylotype IV** : *Indonesium* (ex biovars 1, 2, 2T et ex races 1, 3). (**Blancard et Prior 2014**).

VII - Cycle biologique

La bactérie se développe à une température comprise entre 24 et 30°C, généralement dans des conditions d'aérobie stricte (**Cabi, 2016**). Sa croissance est inhibée pour des températures inférieures ou égales à 10°C et au-delà de 37°C. Des périodes de temps pluvieux sont associées à une incidence élevée de la maladie en favorisant sa dispersion.

1- Le cycle saprophyte dans le sol

Ralstonia solanacearum peut survivre plusieurs années dans le sol en tant que saprophyte. Elle possède l'équipement génétique nécessaire au catabolisme de sources d'énergie variées, ce qui laisse penser qu'elle peut vivre sur les débris végétaux dans le sol. (**Genin et Boucher, 2004**). Elle survit et se dissémine par ailleurs dans les cours d'eau (**Alvarez et al., 2008**).

2- Le cycle infectieux dans la plante

La bactérie est un pathogène racinaire qui infecte la plante au niveau de blessures ainsi qu'aux extrémités racinaires ou aux points d'émergence des racines secondaires (Figure 20). Elle progresse ensuite dans les espaces intercellulaires du cortex racinaire et du parenchyme vasculaire et détériore les parois végétales. Elle atteint ensuite les vaisseaux du xylème et colonise alors de manière systémique son hôte (**Vasse et al., 1995**). La prolifération bactérienne coordonnée à une synthèse massive d'exo polysaccharides obstrue les vaisseaux et bloque la circulation de la sève brute, ce qui conduit au flétrissement de la plante infectée. La bactérie retourne alors dans le sol et peut atteindre à nouveau des racines saines (Figure n°13).

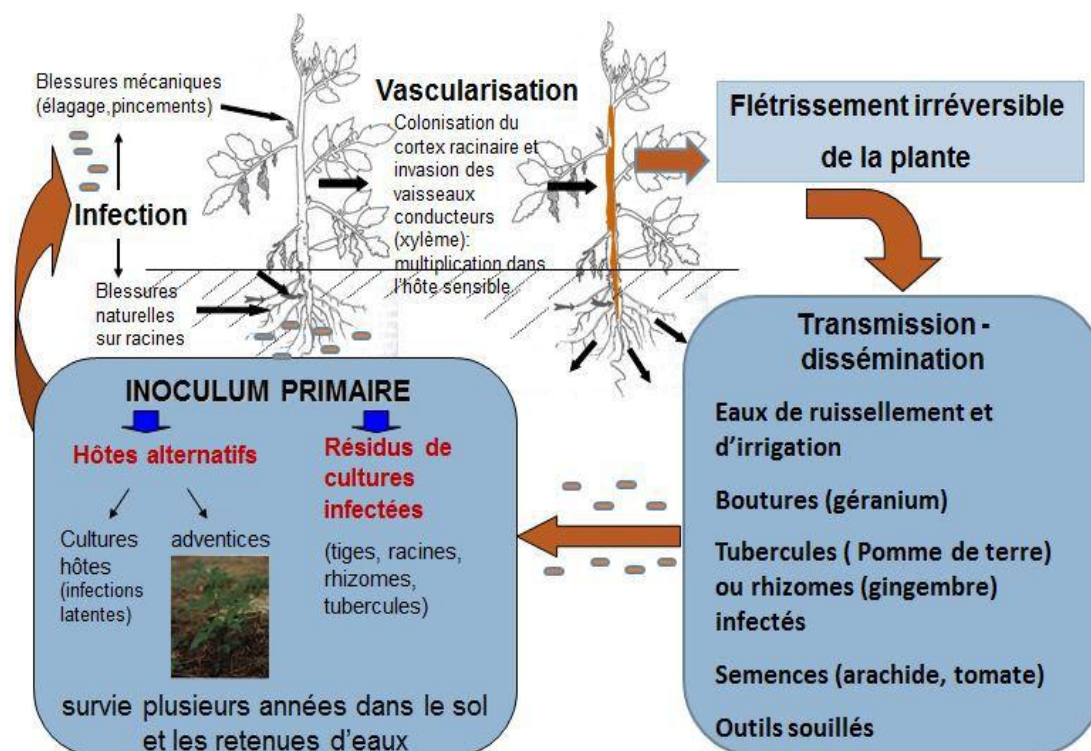


Figure n°12 : Cycle infectieux de *Ralstonia solanacearum* (Deberdt et Fernandes, 2013).

Après cela, la bactérie est à nouveau libérée dans le sol. Elle est, en outre, capable d'infections latentes dans les tubercules de pommes de terre ainsi que dans d'autres plantes hôtes réservoirs (Hayward 1991 ; Skoglund et al. 1993). Ainsi, la plante conservera un aspect sain et deviendra un porteur sain pouvant disséminer la bactérie.

VIII –Virulence

Ralstonia solanacearum pénètre dans la plante par des racines blessées, des lésions de la tige ou les stomates. Une fois dans la plante, la bactérie s'y multiplie et s'achemine vers les tissus vasculaires ; les températures chaudes (c.-à-d., au-dessus de 25 °C) et un excès d'eau favorisent la multiplication et la progression de la maladie.

L'infection mène éventuellement à la flétrissure de la plante lorsque la bactérie bloque les vaisseaux du xylème. Le résultat final est la mort de la plante.

Ralstonia solanacearum est une bactérie terricole. La recherche dans les climats chauds a montré que la bactérie est capable de survivre pendant des périodes prolongées dans les couches profondes du sol, des sites abrités comme les racines d'hôtes substituts (p. ex., des mauvaises

herbes), les débris de plantes infectées ou des tubercules de pommes de terre de repousse provenant d'anciennes cultures. Dans les climats tempérés, la survie de la bactérie dans le sol (c.-à-d., sans hôte) pendant de longues périodes est jugée être peu probable (**Nameth, 2014**).

XIX -La lutte contre *R. solanacearum*

À 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. De nombreux moyens de lutte sont utilisés, 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 repris ci-dessous.

XIX .1-La lutte culturale

De bonnes pratiques culturales permettent de freiner le développement des maladies liées aux bactéries. Par exemple, arracher et détruire des plantes contaminées ou encore éviter de blesser les plantes lors de leur culture. Dans le cas de *R. solanacearum*, de nombreuses études (**Sharma et Kumar, 2004**) ont montré que l'alternance de cultures commerciales non hôtes a un effet bénéfique sur l'assainissement du sol. Par contre, l'effet de ces rotations n'est pas très important et doit s'étaler sur de nombreuses années.

L'alternative à ce type de rotation est l'utilisation de plantes de services n'ayant pas d'intérêts commerciaux, mais seulement un rôle assainissant.

Les meilleurs résultats sont obtenus à l'aide de ces plantes dites de services qui sont enfouies partiellement ou totalement. Par exemple, les plantes riches en glucosinolates¹ peuvent être plantées en alternance pour être utilisées pour la bio fumigation (**Michel et al, 2007**). Le glucosinolate va se décomposer en molécules volatiles qui seront toxiques pour certains organismes du sol.^m

XIX .2- La lutte génétique

L'utilisation de variétés résistantes pour le contrôle de *R. solanacearum* est pour le moment une des méthodes les plus utilisées. De nombreuses variétés (**Dalal et al., 1999**) chez les aubergines (**Quezado-Soares, 1997**), les poivrons, les tomates, les arachides ou encore le tabac ont prouvé leur efficacité, mais dans des conditions environnementales précises. Par contre, vu le nombre élevé de races et de souches de ce pathogène, les plantes ne sont résistantes que pour de

faibles laps de temps. Il existe aussi un risque lié à ces plantes résistantes qui peuvent porter le pathogène sans l'exprimer et donc le disséminer à travers le monde (**Ano et al, 2002**).

XIX .3-La lutte chimique et physique

La lutte chimique est très peu efficace. Le bromure de méthyle utilisé comme fumigant à large spectre pour la stérilisation des sols est efficace, mais son effet destructeur sur la couche d'ozone a conduit à son interdiction dans la plupart des pays. Ce moyen n'est donc pas à privilégier dans la lutte contre *R. solanacearum*.

Désinfection du sol et de l'eau d'irrigation : plusieurs méthodes existent et sont à l'étude : solarisation sous bâche (désinfection du sol), désinfection du substrat en four solaire ou à vapeur (quand la quantité de substrat à désinfecter reste faible), bio fumigation en incorporant au substrat des plantes à qualité bactéricide, désinfection de l'eau par U.V. (**Tilma et Fontaine, 2015**).

XIX .4- La lutte biologique

La lutte biologique vise à utiliser des organismes antagonistes de bios agresseurs pour contrôler le développement et la dissémination de ces derniers. L'introduction ou la stimulation de ces microorganismes peut s'avérer efficace dans la lutte contre les pathogènes telluriques. Ils agissent de deux façons différentes :

- des microorganismes antagonistes ou mutants virulents peuvent être introduits dans le but d'occuper la niche écologique de la souche sauvage. Mais pour l'instant, les souches à virulentes ne sont pas encore assez compétitives et les deux souches vivent ensemble dans la plante avec une prédominance pour la souche sauvage.
- des microorganismes symbiotiques peuvent aussi être inoculés ou stimulés pour jouer un rôle positif sur la plante. Ils peuvent renforcer les défenses naturelles de la plante, créer une barrière physique, chimique ou encore une combinaison de ces trois possibilités qui permettront à la plante de mieux résister aux pathogènes(**Pascal et Trigalet, 1994**).

Partie expérimentale

Chapitre I:

Matériel et méthodes

Chapitre I: Matériel et méthodes

Objectif :

Notre travail consiste à évaluer les attaques du flétrissement bactérien et de détecter l'agent causal de cette maladie (*Ralstonia solanacearum*) sur les plantes et sols des cultures de pomme de terre

Pour cela nous avons adopté le plan suivant :

- ✓ Collecte et ramène des échantillons des plantes et des sols de culture de pomme de terre portants les différents symptômes de flétrissement bactérien.
- ✓ La préparation de ses échantillons pour l'isolement.
- ✓ L'identification des isolats bactériens par les tests biochimiques et biologiques.

Ce travail est réalisé au laboratoire de microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie et des sciences de la terre, université de Khémis miliana.

I-Prospections

La prospection sur terrain ainsi que la récolte d'échantillons de plante de pomme de terre infectes et des sols des parcelles prospectes (culture de pomme de terre) se sont déroulées dans les trois régions : Ain Soltane, Djandel (région 1 et 2), les trois régions sont destinées pour la production de pomme de terre dans la wilaya d'Ain Defla.



A-Djandel région 01.



B-Djandel région 02.

Figure n°13: Champ de pomme de terre de site de Djandel .



Figure n°14 : Echantillon de sol de pomme de terre.



Figure n°15: Champ de pomme de terre région Ain Soltane .

Une dizaine de champs ont été prospectées, chacune occupe une superficie plus de 4 ha, contenant deux ou trois variétés différentes : Sponta, Désirée, Condor Les techniques culturales utilisées dans les champs sont le labour, le désherbage, l'irrigation. Des traitements phytosanitaires ont été appliqués: des fongicides (en particulier contre le mildiou, alternariose), des insecticides, des herbicides, et des nématocides. Les échantillons prélevés représentent les symptômes de flétrissement, ils sont destinés à l'isolement et l'identification de l'agent pathogène.

Les prélèvements ont été effectués à partir de la plante de pomme de terre infectée et du sol (culture de pomme de terre).

Tableau n°08 : Les échantillons prélevés de la pomme de terre et le sol par régions.

Régions	Echantillons	Variétés	La date	Nombre d'échantillons	Symptômes
Djendel région 1	Plantes et sol de pomme de terre.	Sponta.	22/11/2018	03	- Flétrissement des jeunes feuilles.
Djendel région 2	Plantes et sol de pomme de terre.	Désirée. Sponta.	22/11/2018	01	- Changement de couleur des feuilles (jaune)
Ain Soltane	Plantes et sol de pomme de terre.	Sponta.	14/03/2018	02	

II- Taux d'infestation :

Après le comptage des plantes présentant des symptômes similaires à la maladie de flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*) nous avons calculé le taux d'infestation comme suit :

$$TI\% = \frac{NI}{NT} \times 100$$

TI : taux des plantes infectés

NI : nombre des plantes infectés

NT : nombre total des plantes

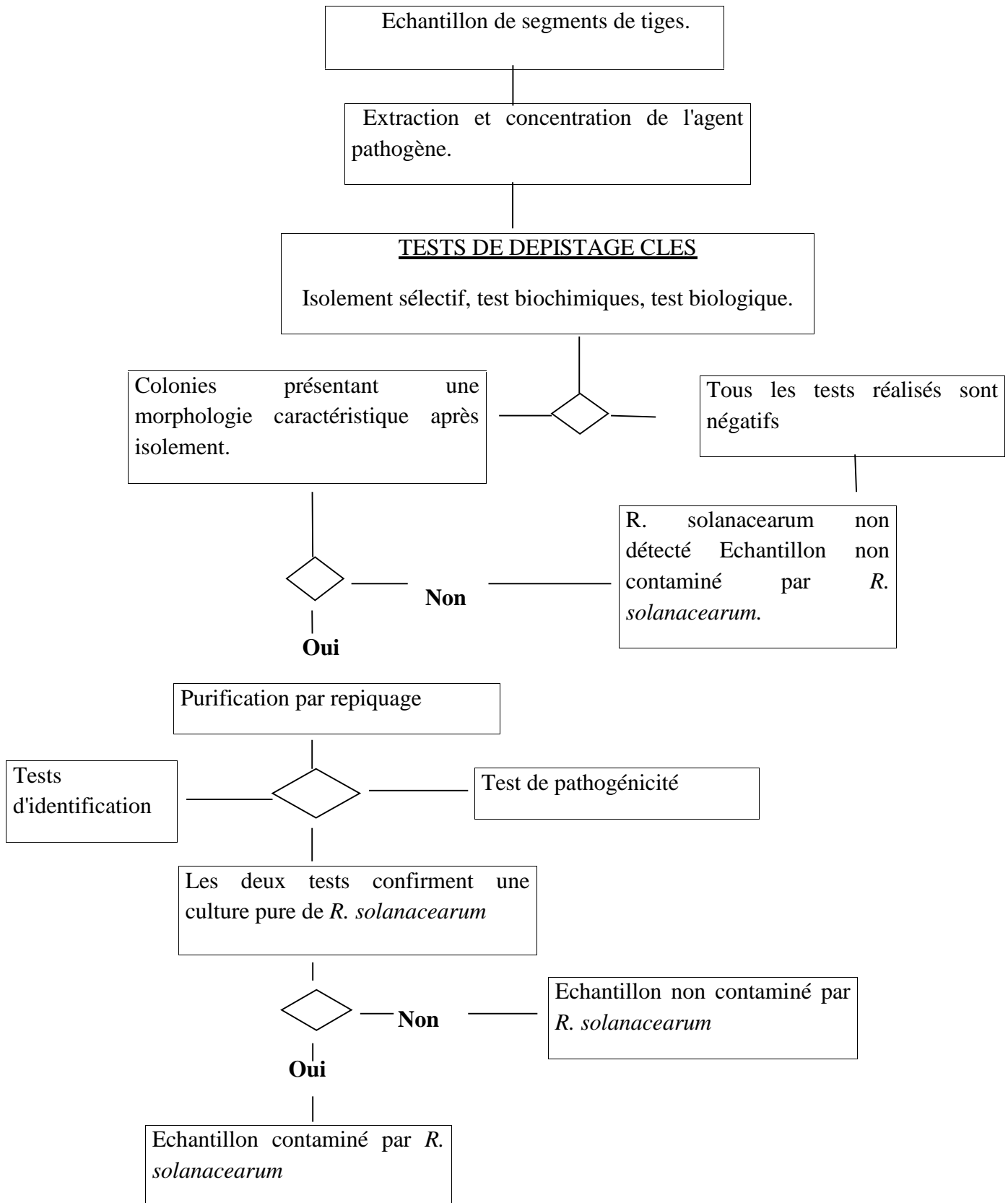
III -La méthodologie**III.1- Echantillonnage****III.1.1- Echantillonnage des plantes de pomme de terre**

Les prélèvements des échantillons sont effectués à partir de différentes plantes de pomme de terre qui présentent des symptômes typiques de flétrissement bactérien. Les échantillons prélevés ont été placés dans des sacs en plastique et transportés au laboratoire pour l'isolement et l'identification de l'agent pathogène.

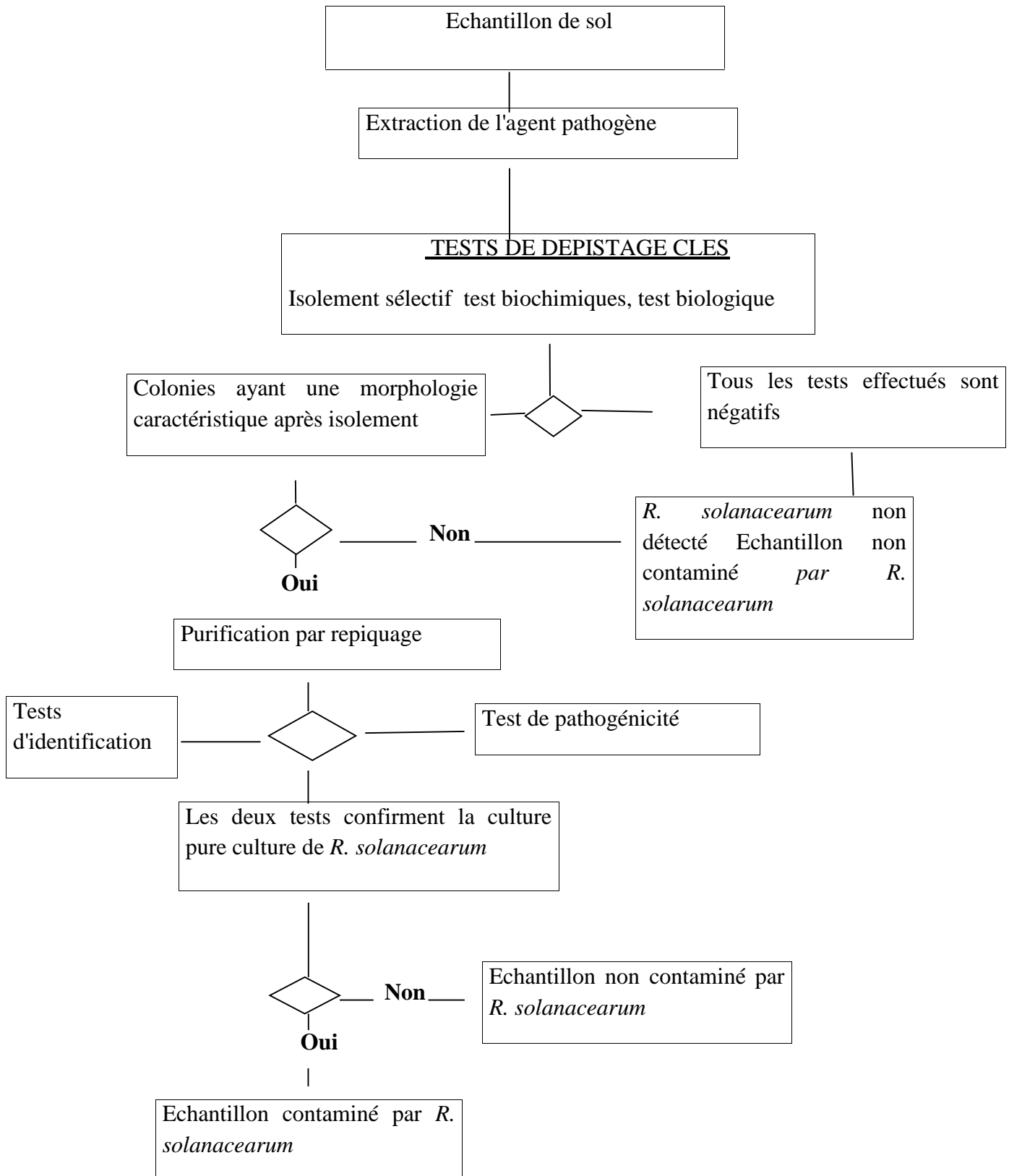
III.1.2- Echantillonnage des sols de pomme de terre

Le prélèvement de sol du champ doit suivre les normes fondamentales utilisées pour le prélèvement de nématodes. Collecter de 0,5 à 1 kg de sol par échantillon dans 60 sites pour 0,3 ha à une profondeur de 10 à 20 cm (ou dans un tamis de 7x7 mètres). Si l'on soupçonne la présence de l'agent pathogène, accroître le nombre de points de collecte à 120 pour 0,3 ha. Maintenir les échantillons à une température de 12 à 15 °C avant le test. Prélever les boues issues de la transformation de pommes de terre et les boues d'épuration en collectant au total 1 kg dans des sites représentant le volume total de boues à tester. Bien mélanger chaque échantillon avant le test. **(Henri et Boden., 2007).**

Procédure pour détecter et identifier *Ralstonia solanacearum* dans des échantillons de plantes de pommes de terre (Henri et Boden., 2007).



Procédure pour détecter et identifier *Ralstonia solanacearum* dans le sol (Henri et Boden., 2007).



III.2 -Isolement de l'agent pathogène

) A partir des plantes

La technique consiste d'abord à coupe transversalement la tige en petits fragments, ces dernières rincer à l'eau distillée stérile.

Ces fragment (2 à 3) sont mis dans des boites de pétri contenant du milieu gélose nutritive puis ils sont incubées à une température de 28°C pendant 48 à 72h.



Figure n°16: Isolement à partir de la tige.

) A partir du sol

Disperser les sous échantillons de 10 à 25 g de sol ou de boue avec un agitateur rotatif (250 tours/minute) dans un tampon d'extraction de 60 à 150 ml pendant 2 heures au maximum. Au besoin, l'ajout de 0,02 % de Tween-20 stérile et de 10 à 20 g de gravier stérile peut favoriser la dispersion.

Maintenir la suspension à 4°C pendant le test.

A l'aide de l'anse à inoculation, des gouttes de la suspension du sol sontensemencées dans des boites de pétri contenant du milieu gélose nutritive. Ces dernières sont incubées à une température de 28°C pendant 48 à 72h.



Figure n°17: Isolement à partir de la suspension de sol.

III.3-Purification de l'agent pathogène

Après 48h d'incubation, des boîtes de pétri contenant des fragments des plantes et suspensions de sol, des crème bactériennes sont développées. A la suite, nous avons effectuées des repiquages successifs dans des nouvelles boîtes de pétri contenant deux milieux LPGA et SPA pour obtenir des cultures pures. (Henri et Boden., 2007).

III.4- Identification de l'agent pathogène

III.4.1- Coloration de Gram

La coloration de Gram est un aspect important et essentiel pour l'identification d'une bactérie isolée et la vérification de la pureté de l'isolat. A partir d'une colonie de 24h, un frottis est fixé à la chaleur puis recouvert par le violet de Gentiane pendant une minute, ensuite il est éliminé par l'ajout du Lugol pendant une minute. Le frottis est ensuite décoloré avec de l'éthanol jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. A ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores et les cellules Gram positives violettes. Ensuite, le frottis est soumis à une contre coloration de 30 secondes à la fuchsine, pour colorer les cellules Gram- présentes. Après un bref rinçage, le frottis est séché au bec bunsen puis examiné, consécutivement, à l'objectif 40X et à immersion 100 X (Singleton, 2005).

III.4.2-Caractères biochimiques

Les tests biochimiques constituent une approche classique pour l'identification des bactéries, et la détermination de certaines espèces, ainsi que de connaître certaines caractéristiques du métabolisme des bactéries isolées (Goszczyńska et al, 2000).

III.4.2.1-Test catalase

Le test catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène ou l'eau oxygénée (H₂O₂) en eau et en oxygène. Elle permet sa mise en évidence par contact de la culture avec une solution fraîche d'eau oxygénée (Singleton, 2005).

La technique consiste à transférer un peu de matériel bactérien au moyen d'une boucle d'anse stérile dans une goutte d'eau oxygénée 3% déposée sur une lame (Prescott et al, 2007). Une réaction positive se traduit par l'apparition de bulles (Singleton, 2005).

III.4.2.2-Test oxydase

Le test oxydase permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme capable d'oxyder le substrat employé et ne signifie pas la présence d'une oxydase particulière (Guiraud, 1998). Le substrat utilisé dans ce test est sous forme d'un disque de papier filtre pré-imprégné par le réactif qui est l'oxalate de diméthyl-paraphénylène-diamine. Le disque est placé sur une lame puis une petite quantité de matériel bactérien est étalée à sa surface au moyen d'une boucle de platine. La présence de l'oxydase se manifeste par une coloration violette après 30 secondes, lorsque la bactérie est oxydase + (Singleton, 2005).

III.4.2.3-Recherche du nitrate réductase

Ce test détecte si un organisme est capable de réduire le nitrate. La recherche du nitrate réductase (NR) est réalisée sur un bouillon nitraté par les réactifs de Griesse, qui permet de détecter le nitrite. Le test consiste à cultiver l'organisme dans un bouillon nitraté à 28°C pendant 48h à 72h. Après incubation le milieu est examiné pour savoir s'il ya réduction des nitrates en nitrites.

Pour détecter la présence du nitrite, 0.5 ml de réactif 1 et 0.5 ml du réactif 2 de Griesse sont ajoutés. Ces réactifs se combinent à tout nitrite présent pour former un colorant rouge azoïque soluble. L'absence de coloration rouge peut signifier, soit que le nitrate n'a pas été réduit, soit que le nitrite s'est formé mais a été ensuite réduit, soit, en azote, soit et en ammoniac. Pour distinguer entre ces deux possibilités, une trace de poudre de zinc permettant de réduire le nitrate en nitrite est ajoutée. Si du nitrate existe encore, un virage de couleur vers le rouge sera observé car le nitrite nouvellement formé se combinera avec les réactifs du milieu (Singleton, 2005).

III.4.2.4-Recherche de l'arginine déshydrogénase

Ce test permet de détecter la capacité d'un organisme à produire de l'arginine déshydrogénase (ADH), enzymes qui décarboxyle l'acide aminé arginine en agmatine. Pour ce faire, un tube contenant du bouillon möller plus l'acide aminé arginine est inoculé par la bactérie au même temps que le tube témoin (contenant milieu möller uniquement). Le bouillon est recouvert d'une couche d'huile de vaseline stérile (pour l'isoler de l'air) car l'anaérobiose est obligatoire pour la recherche des décarboxylases. L'incubation est effectuée à 28°C pendant 48h à 72h.

III.4.2.5-Test de mise en évidence de l'hydrolyse de l'amidon

Ce test détecte la présence d'une enzyme, l'amylase qui hydrolyse l'amidon en glucose. Pour ce test on ensemence en stries une boîte de Pétri contenant du milieu amidon avec une culture bactérienne âgée de 24 heures à 48 heures. Après incubation à 28°C pendant environ 72 heures, puis une solution de Lugol est ajoutée sur le milieu. Lorsqu'il se forme un halo clair autour de la colonie, le test est positif et si le milieu reste inchangé, le test est négatif (**Schaad et al, 2001**).

III.4.2.6-Hydrolyse de la gélatine

Ce test permet de détecter l'activité protéolytique forte des bactéries et la capacité de produire une gélatinase. La gélatinase ou collagénase est une protéase qui hydrolyse le collagène en acides aminés ou en peptides. A l'aide de l'anse à inoculer, une culture bactérienne est ensemencée par piqure centrale au fil droit au centre du culot de gélatine. Après 07 jours d'incubation à 28°C, les tubes sont mis pendant 10 mn dans le réfrigérateur à 4°C pour favoriser la prise en gel. La liquéfaction indique la gélatinolyse et si aucune hydrolyse ne se produisait le milieu demeurera un gel (**Goszczyńska et al, 2000**).

III.4.2.7-Production levane

Le test levane sucrase sert à déterminer si la bactérie polymérise le fructose en polyfructose. A l'aide de l'anse à inoculation, inoculer le milieu de culture levane par stries avec une culture bactérienne jeune. Après 3 jours d'incubation à 28°C, l'apparition d'une culture abondante, bombée, muqueuse et brillante indique que la bactérie possède une levane sucrase (**Goszczyńska et al, 2000**).

III.4.2.8-Le test de citrate

Il a pour but de déterminer si un organisme peut utiliser le citrate comme seule source de carbone. L'inoculation du milieu se fait à partir d'une culture sur milieu gélosé un ou deux jours. L'apparition d'une culture avec virage de l'indicateur coloré qui passe du vert au bleu indique que le test est positif (**Carbonnelle et al, 1987**).

III.4.2.9-Croissance à 40°C

La croissance bactérienne est évaluée par un trouble en milieu LPGA après 05 jours d'incubation à 40°C. (**Guessas et Kihal, 2004**).

III.4.2.10-Croissance dans une solution à NaCl

La croissance des souches a été testée dans de deux solution différents NaCl (1% et 2%). la croissance se manifeste par un trouble en milieu liquide LPGA (**Guiraud, 1998**).

III.4.2.11-Type fermentaire

Ce test permet de s'avoir le type du métabolisme (homofermentaire ou heterofermentaire) par le quel le substrat carboné est transformé, et la production du gaz à partir de la dégradation du glucose.

Technique d'utilisation

Un tube contenant le milieu highet leifson et une cloche de Durham est inoculé avec la souche à étudier après incubation de 24h à 30°C la présence du gaz dans la cloche indique un métabolisme hétérofermentaire (**Hariri et al, 2009**).Alors que leur absence indique les bactéries homofermentaires.

Tableau n° 09 : 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	-

III.4.3- Pathogénicité sur tomate

III.4.3.1 -Les graines et la croissance des semis

Les semences de tomate (*L. esculentum* Mill) variété Rio grande ont été semées dans un terreau stérile mélangé avec de la terre dans des pots en plastique. Les pots sont placés dans la serre à une température comprise entre 22 et 25°C. Ils sont arrosés au besoin pour garder le sol humide jusqu'à la croissance des semis au stade d'inoculation (3 à 5 feuilles).

III.4.3.2-Préparation de l'inoculum et l'inoculation

Une suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture bactérienne de 48 h cultivée sur milieu LPGa, (Jones et al, 1984). En effet, Les plantules de tomate sont inoculées par l'injection dans la tige. Les pots sont déposés dans la serre. Les symptômes de la maladie ont été observés après 1 à 2 semaines de l'inoculation. Les plantules inoculées avec de l'eau distillée stérile servent comme contrôle négatif (témoin).

Chapitre II :

Résultats et discussion

Chapitre II : Résultats et discussion

1- Prospections

Le diagnostic symptomatologique au niveau des sites prospectés (Djandel région 1 et 2, Ain soltane), à monte la présence des symptômes de flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* qu'ils sont les suivants: des flétrissements partiales et des jaunissements au niveau des feuilles et des colorations brun au niveau des vaisseaux vasculaires des tiges (Figures n°18,19).



Figure n°18: Symptômes foliaires du flétrissement bactérien sur les plantes de pomme de terre (Djandel région 1).



Figure n°19: Coloration brun au niveau des vaisseaux vasculaire de la tige.

Chapitre II Résultats et discussion

II- Evaluation des attaques de flétrissement bactérien (Taux d'infestation)

Après le comptage des plantes présentant des symptômes similaires à flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*) et s'appuyant sur la règle précédente, nous obtenons les résultats présents dans le tableau

Le taux d'infestation est variable entre les différents régions, la région 1 de Djandel est la plus infect, présente le symptôme de flétrissement partielle des feuilles avec un taux de 25%.

Tableau n°10 : résultats de taux d'infestation sur les différentes régions Djandel (région 1 et 2) et Ain soltane.

Région	Taux d'infestation	Symptômes	Variétés
Djandel (région 1)	25%	Flétrissement partielle des feuilles	-Spunta
Djandel (région 2)	12,5%	Flétrissement partielle des feuilles	-Spunta -Désirée
Ain soltane	16%	Jaunissement des feuilles	-Spunta

III-Isolement de l'agent pathogène

On a utilisé dans notre étude pour isoler *Ralstonia solanacearum* dans un milieu pour ce genre qui est gélose nutritive.

Les échantillons (la plante et sol) sont ensemencés dans le milieu GN, après une incubation à 28°C pendant 24 à 48h les boîtes de pétri sont examinés.(Figure n°20).

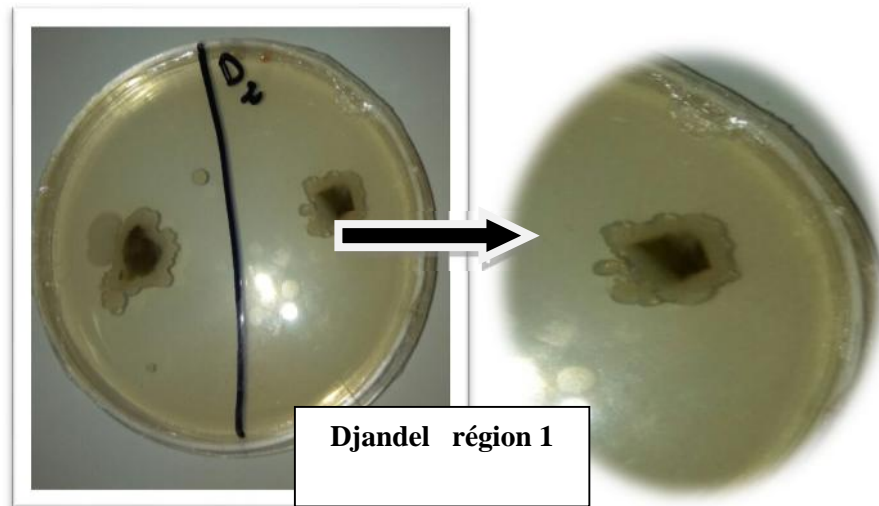


Figure n°20: Aspect macroscopique des cultures bactériennes sur le milieu GN (la plante).

IV-Purification de l'agent pathogène

Prélevée des Isolats à partir des boîtes contenant le milieu GN et repiquées dans les deux milieux (LPGA, SPA) incubé à 28°C.

L'aspect des colonies isolées sur les milieux (LPGA, SPA). (Figures n°21,22).

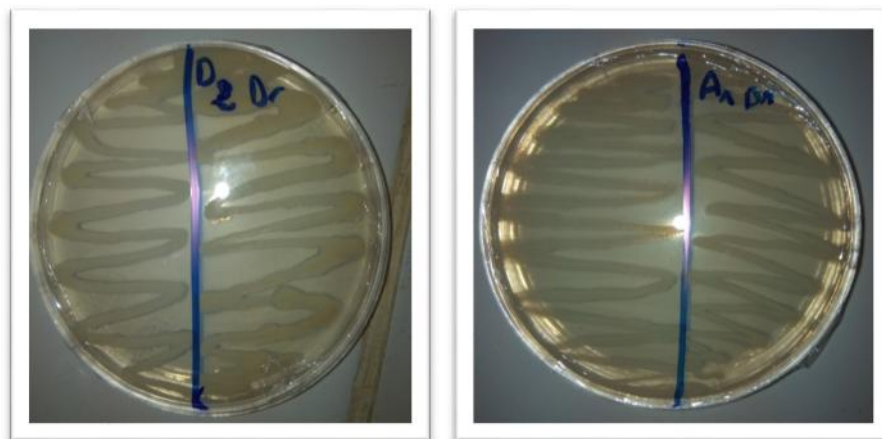


Figure n°21: Aspect macroscopique des cultures bactériennes sur les milieux (LPGA, SPA), (la plante).

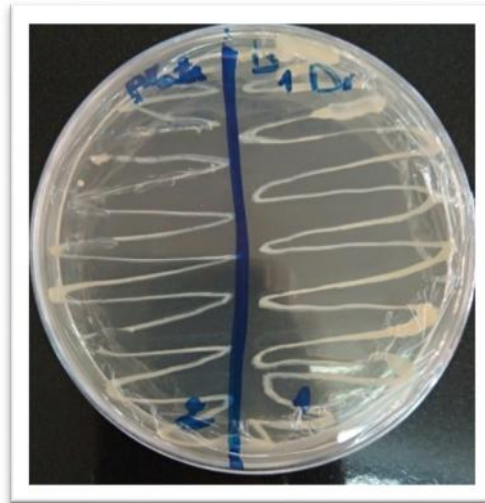
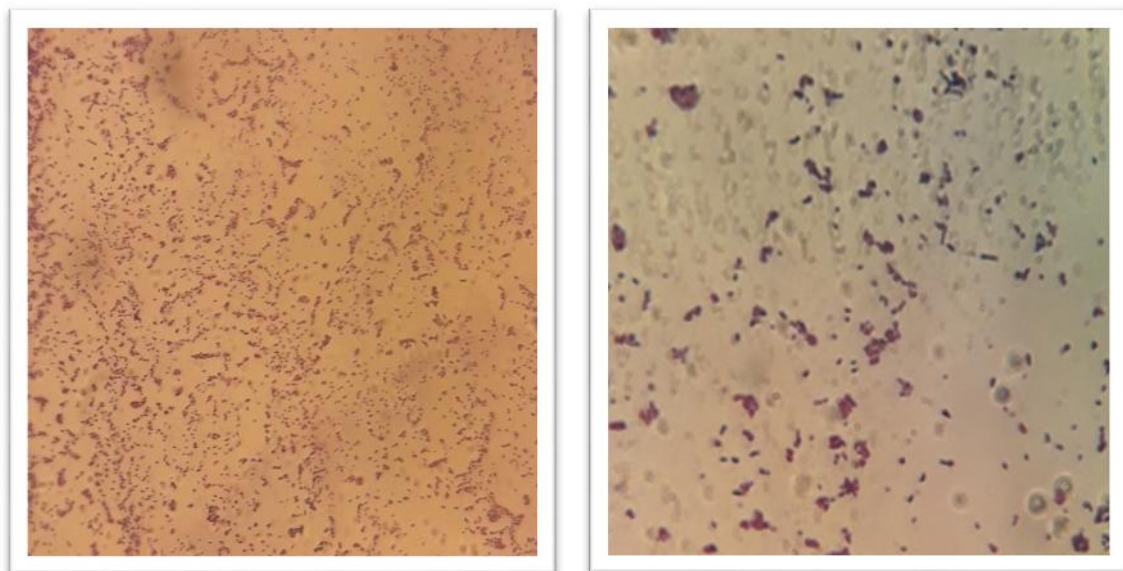


Figure n°22: Aspect macroscopique des cultures bactériennes sur les milieux (LPGA, SPA), (le sol).

V-Identification de l'agent pathogène

V.1-Coloration de Gram

Le test de coloration de Gram a montré que l'isolat est de coloration rose, il s'agit, de ce fait, d'un bacille Gram négatif. Nos résultats sont présents au niveau des tableaux 11 et 12. (Figure n°23).



A -Gram(-) .

B-Gram(+).

Figure n°23: Coloration de Gram de l'isolat (X 100).

Chapitre II Résultats et discussion

Tableau n°11: Résultats de coloration de Gram (plante).

Résultats de Gram			Forme
Les bactéries Gram(+)	48	35	Bacille
		13	Cocci
Les bactéries Gram(-)	34	29	Bacille
		04	Cocci

Tableau n °12: Résultats de coloration de Gram (sol).

Résultats de Gram			Forme
Les bactéries Gram(+)	63	40	Bacille
		23	Cocci
Les bactéries Gram(-)	09	08	Bacille
		01	Cocci

V.2- Etude des caractères biochimiques

V.2.1-Test de catalase

Le test de la catalase a montré que l'isolat est catalase positive, car elle a dégagé des bulles après le dépôt du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sur la colonie de l'isolat. (Figure n°24).

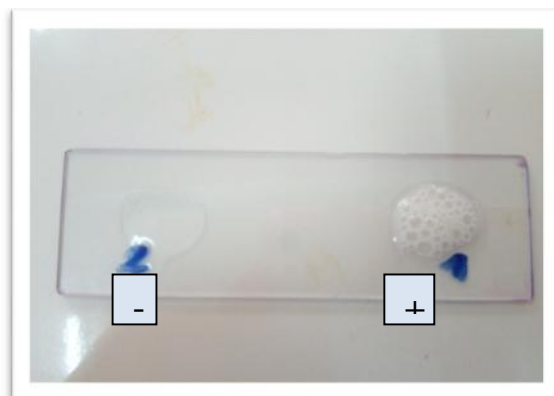


Figure n°24: Test de la catalase de l'isolat.

Chapitre II Résultats et discussion

Tableau n°13: Résultats de test catalase (plante et sol).

Résultats de test catalase		
Echantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	33	09
Réaction (-)	01	00

V.2.2-Test de l'oxydase

L'étalement de l'isolat sur le disque pré-imprégné par le réactif Oxalate de diméthyl paraphénylène-diamine est resté incolore, ce qui signifie que le test oxydase est négatif (Figure n°25).

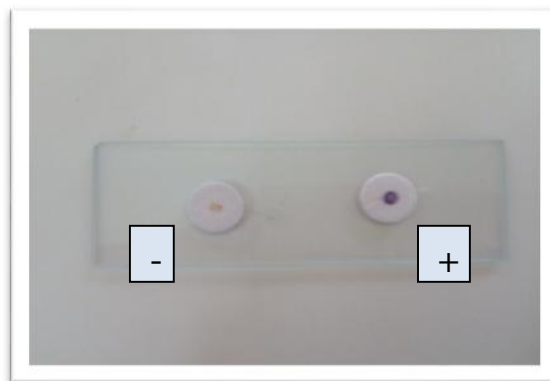


Figure n°25: Test oxydase de l'isolat.

Tableau n°14: Résultats de test oxydase (plante et sol).

Résultats de test oxydase		
Echantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	31	07
Réaction (-)	03	02

Chapitre II Résultats et discussion

V.2.3- Recherche de nitrate réductase

Le test de nitrate réductase révèle que l'isolat, possède une nitrate réductase car après le dépôt des réactifs 1 et 2 de Griess, la bactérie donne de couleur rouge ce qui signifie la présence d'ion nitrite combinés au réactif. (Figure n°26).

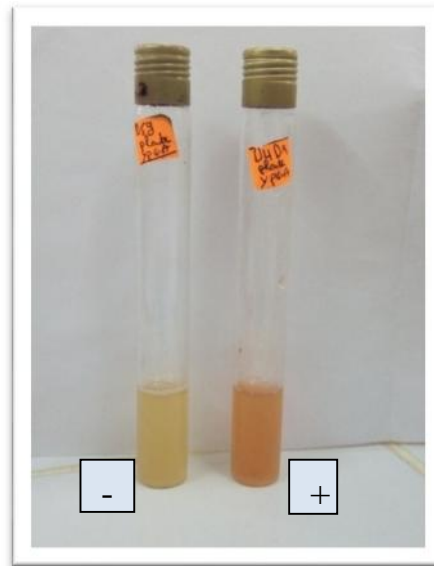


Figure n°26: Test du nitrate réductase.

Tableau n°15: Résultats de test du nitrate réductase (plante et sol).

Résultats de test nitrate		
Echantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	09	03
Réaction (-)	25	06

V.2.4-Recherche de décarboxylase

L'absence de l'arginine déshydrolyase (ADH) est constatée chez la bactérie, ce qui est justifié par le virage de la couleur au violet (test négatif).(Figure n°27).



Figure n°27: Test de l'arginine déshydrolyse.

Tableau n°16: Résultats de test de l'arginine déshydrolyse (plante et sol).

Résultats de test Arginine déshydrolyse.		
Echantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	03	01
Réaction (-)	31	08

V.2.5- Croissance à Température 40°C

La culture de la bactérie à température 40°C, elle manifesté développement (test positif). En outre, elle n'a manifesté aucun développement (test négatif).(Figure n°28).

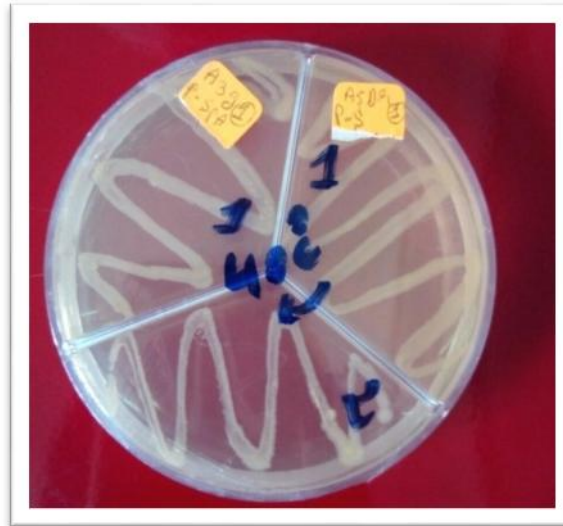


Figure n°28: Test croissance à température 40°C.

Tableau n°17: Résultats de test croissance à température 40°C (plante et sol).

Résultats de test croissance à 40		
Echantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	34	03
Réaction (-)	00	06

V.2.6-Hydrolyse de la gélatine

Le test d'hydrolyse de la gélatine a révélé la présence d'une gélatinase car après la mise des tubes dans le réfrigérateur à 4°C, pour favoriser la prise en gel, la liquéfaction du milieu a lieu dans le tube où il y a la bactérie.(Figure n°31).

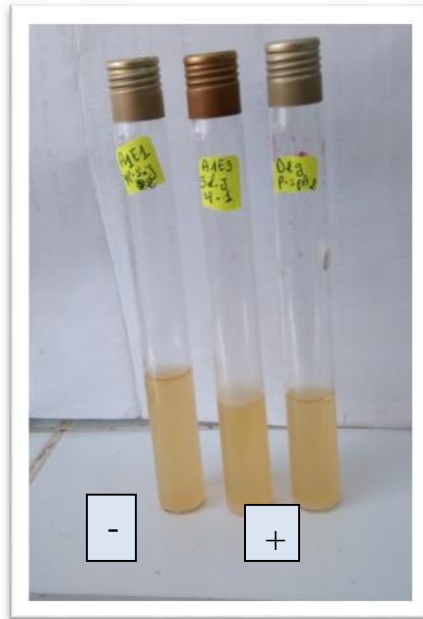


Figure n°29: Test d'hydrolyse de la gélatine.

Tableau n°18: Résultats de test d'hydrolyse de la gélatine.

Résultats de test d'hydrolyse de la gélatine		
Echantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	32	06
Réaction (-)	02	03

V.2.7- Test utilisation de citrate

Ce test a montré que la bactérie utilise le citrate comme source de carbone, car il y a un développement et changement d'indicateur de couleur (test positif).



Figure n°30: Test de citrate.

Tableau n°19: Résultats de test de citrate (plante et sol).

Résultats de test de citrate		
échantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	04	0
Réaction (-)	30	09

V.2.8-Croissance dans une solution à 1% de NaCl

Ce test montrait que la bactérie se manifestait une croissance dans la solution à 1% de NaCl (test positif). En outre, elle n'a manifesté aucune croissance (test négatif).



Figure n°31: Test croissance dans une solution 1% NaCl.

Tableau n°20: Résultats decroissance dans une solution 1% NaCl (plante et sol).

Résultats de test croissance dans une solution 1% NaCl		
échantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	33	08
Réaction (-)	01	01

V.2.9-Croissance dans une solution à 2% de NaCl

Ce test montré que la bactérie se manifesté une croissance dans la solution à 2% de NaCl (test positif). En outre, elle n'a manifesté aucune croissance (test négatif).



Figure n°32: Test croissance dans une solution 2% NaCl.

Tableau n°21: Résultats de test de croissance dans une solution 2% NaCl (plante et sol).

Résultats de test croissance dans une solution 2% NaCl		
Echantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	34	09
Réaction (-)	0	0

V.2.10- Production de levane

Le test de production de la levane sucrase a montré que la bactérie polymérise le fructose en polyfructose, car, il y a apparition d'une culture abondant (test positif). Ou il n'y a aucun apparition d'une culture abondant (test négatif).

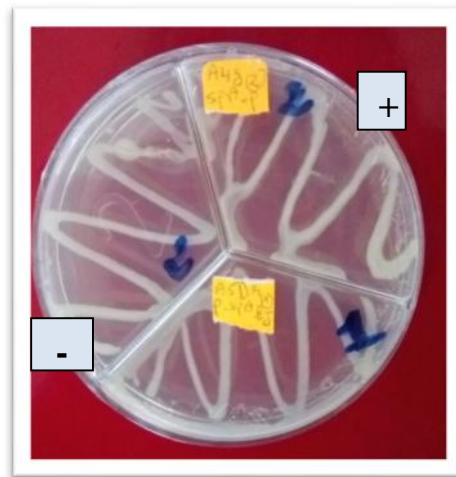


Figure n°33: Production de levane.

Tableau n°22: Résultats de test de levane (plante et sol).

Résultats de test de production de levane		
échantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	09	0
Réaction (-)	25	09

V.2.11- Test hydrolyse de l'amidon

Le test de mise en évidence de l'hydrolyse de l'amidon a révélé l'absence et la présence de l'amylase qui hydrolyse l'amidon en glucose, car après l'ajout de la solution de Lugol, le milieu est resté inchangeable (test positif). Ou changé votre couleur (test négatif).

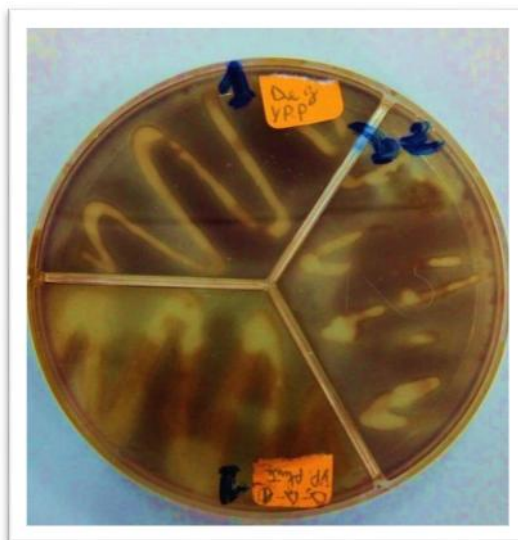


Figure n°34: Test hydrolyse de l'amidon.

Tableau n°23: Résultats de test hydrolyse de l'amidon (plante et sol).

Résultats de test hydrolyse de l'amidon		
Echantillon	Plante	Sol
Réaction		
Réaction(+)	23	01
Réaction (-)	11	08

V.2.12- Type fermentaire

Dans le test d'oxydation-fermentation (test O / F), la bactérie d'essai est cultivée de manière aérobie et anaérobie séparément, dans des tubes. Si les bactéries ont la capacité d'utiliser le glucose, la couleur du milieu passe du jaune au vert. Si elle utilise le glucose de manière aérobie, elle est oxydante et si elle utilise du glucose de manière anaérobie, elle est fermentative. (Figures n°37,38).

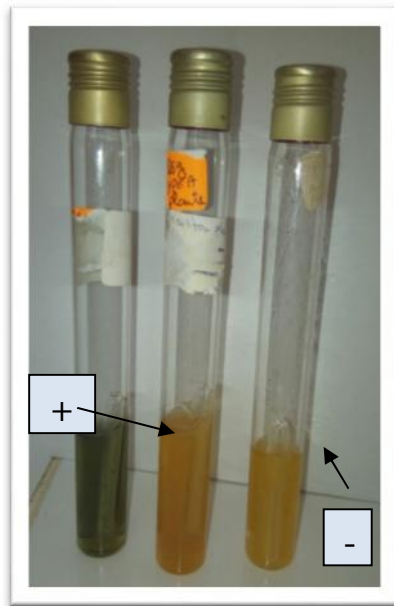


Figure n°35: Test oxydatif.

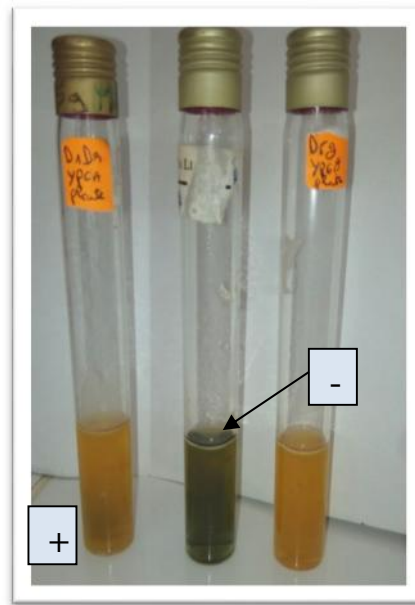


Figure n°36: Test fermentatif.

Tableau n°24: Résultats de test oxydatif-fermentatif (plante et sol).

Résultats de test oxydatif			Résultats de test fermentatif		
échantillon	Plante	Sol	échantillon	Plante	Sol
Réaction			Réaction		
Réaction(+)	25	02	Réaction(+)	33	06
Réaction (-)	09	07	Réaction (-)	01	03

Chapitre II Résultats et discussion

Tableau n°25:Synthèse globale des tests biochimiques des plantes.

Les tests biochimiques	Réaction positive (+)	Réaction négative(-)
Activité de catalase	33	01
Test de l'oxydase	31	03
Réduction du nitrate	09	25
Activité de la dihydrolase d'arginine	03	31
Hydrolyse de l'amidon	23	11
Liquéfaction de la gélatine	32	02
Test croissance à 40	34	00
Test de citrate	04	30
Croissance dans une solution à 1% de NaCl	33	01
Croissance dans une solution à 2% de NaCl	34	00
Production de levane	09	25
Résultats de test oxydatif	25	09
Résultats de test fermentatif	33	01

Chapitre II Résultats et discussion

Tableau n°26 : Synthèse globale des tests biochimiques de sol.

Les tests biochimiques	Réaction positive (+)	Réaction négative(-)
Activité de catalase	09	00
Test de l'oxydase	07	02
Réduction du nitrate	03	06
Activité de la dihydrolase d'arginine	01	08
Hydrolyse de l'amidon	01	08
Liquéfaction de la gélatine	06	03
Test croissance à 40	03	06
Test de citrate	00	09
Croissance dans une solution à 1% de NaCl	08	01
Croissance dans une solution à 2% de NaCl	09	00
Production de levane	00	09
Résultats de test oxydatif	02	07
Résultats de test fermentatif	06	03

VI.3-Test de Pathogénicité sur tomate

Après 7 jours d'inoculation, l'isolat a produit les symptômes typiques de la maladie sur les feuilles inoculées artificiellement. La plante témoin maintenue dans les mêmes conditions n'a manifesté aucun indice de la maladie.



Figure n°37: Test de pathogénicité sur la plante de tomate avant inoculation.



A- Témoin

B-Infecté

Figure n°38 : Résultat de test biologique sur tomate.

Discussion

Notre travail consiste à réaliser un dépistage d'un agent pathogène responsable du flétrissement bactérien sur les plantes et sol de culture de pomme de terre situés aux différentes régions : deux régions (1 et 2) dans la commune de Djendel et une région dans la commune Ain Soltane, située dans la wilaya de Ain Defla.

Le dépistage commence par un diagnostic symptomatologique de la maladie réalisé au niveau des différentes régions de production de culture de pomme de terre, les symptômes observés sont le flétrissement des plantes (partielle ou totale), l'enroulement des feuilles à des extrémités des rameaux, des colorations linéaires brunes des vaisseaux conducteurs au niveau des tiges. Ces symptômes correspondaient exactement à ceux du flétrissement bactérien qui ont été décrits en bibliographie (Elphinstone, 2005 ; Rodrigues-Neto et al., 1990).

Le degré de l'attaque du flétrissement bactérien au champ a été évalué en pourcentage (%) du nombre de plantes malades par rapport au nombre de plantes observées dans une parcelle. D'après les résultats obtenus, la région 1 de Djendel, le taux d'attaques est 25% et le plus infecté par rapport aux autres régions (région 2 de Djendel et Ain Soltane (12.5% et 16% respectivement).

Un passage au laboratoire par le matériel végétal symptomatologique (plantes) et des sols prélevés de quelques parcelles cultivées par la pomme de terre, il est nécessaire afin d'isoler et d'identifier l'agent pathogène de la maladie

- L'isolement des fragments des plantes et suspensions bactériennes du sol préparé 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 GN où soupçonne la présence de *Ralstonia solanacearum*.

Nos résultats de l'observation microscopique de la coloration de Gram réalisés sur 82 isolats obtenus à partir de l'isolement des fragments des plantes sont de 48 isolats de Gram positive avec 35 isolats de forme bâtonnet et 13 isolats de forme cocci, ainsi que 34 isolats de Gram négatives avec les formes bacilles et cocci respectivement de 29 et 04.

Chapitre II Résultats et discussion

Par contre, les résultats obtenus à partir des suspensions des sols sont de 72 isolats, avec 63 isolats de Gram positive, de forme bâtonnet et cocci (40 et 23 respectivement) ; et 09 isolats de Gram négative de formes bacilles (08) et cocci (01).

Etude des caractères morphologiques a montré la présence de la bactérie recherchée dans les échantillons étudiés. Plusieurs auteurs, dans la littérature, ont montré que *Ralstoniasolanacearum* se présente sous formes de bacille ou bâtonnet, Gram négatif et mobiles (**Girard et al., 1967 ; Hayward, 1991**).

-Les résultats des tests biochimiques

D'après les 34 isolats obtenus à partir des fragments des plantes infectés et 9 isolats obtenus à partir des suspensions des sols, sont mis à des tests biochimiques.

Le test de pathogénicité effectué avec les 05 isolats soupçonne la présence de la bactérie sur des plantules saines de la tomate, ils ont développé les symptômes de flétrissement des plantes semblables à celles causées, habituellement, par *Ralstoniasolanacearum*. (**Blancard et al., 2014**).

L'identification par utilisation des tests biochimiques et le test biologique ont révélé l'absence de la bactérie *Ralstoniasolanacearum* dans tous les échantillons étudiés.

L'absence de *Ralstoniasolanacearum* dans les échantillons étudiés, peut s'expliquer par le fait que les facteurs climatiques sont défavorables pour la bactérie ou l'utilisation des semences de pomme de terre saine.

D'après les résultats obtenus par **Laribi et Bentiba (2017)** basés sur l'identification de *Ralstoniasolanacearum* sur les tubercules de pomme de terre destinés pour le semis, l'absence de la bactérie.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L) appartient à la famille des Solanacées, elle présente une grande importance économique dans le monde. Actuellement la pomme de terre est soumise à l'attaque de plusieurs maladies bactériennes telle que le flétrissement bactérien.

Le flétrissement bactérien est l'une des principales maladies vasculaires d'origine tellurique causé par *Ralstonia solanacearum*, Cette bactérie ne présente absolument aucun danger pour la santé humaine. Elle cause des dégâts d'importance économique à travers le monde.

Notre travail consiste de évalué les attaques de flétrissement bactérien et de détecte l'agent causal de cette maladie (*Ralstonia solanacearum*) sur les plantes et sols des cultures de pomme de terre situés aux différentes régions (de Djendel et Ain Soltane), situés dans la wilaya de Ain Defla.

Le dépistage commence par un diagnostic symptomatologique de la maladie réalisé au niveau des différentes régions de production de culture de pomme de terre, les symptômes observés sont le flétrissement des plantes (partielle ou totale), l'enroulement des feuilles à des extrémités des rameaux,

Le degré de l'attaque du flétrissement bactérien au champ a été obtenu dans la région de Djendel, avec un taux d'attaques est 25% dans la région 1 et 12.5% région 2.

D'après les résultats obtenus par les tests biochimiques et les tests biologiques réalisés sur plantule saine de tomate, a révélé absence de *Ralstonia solanacearum* dans les plantes et sols de pomme de terre étudiés.

Perspective:

Afin de réduire l'entrée et la propagation de la maladie, l'État doit prendre des mesures strictes, dans ce but, nous proposons d'appliquer les procédures suivantes :

- Réaliser des études sur l'identification des races de *Ralstonia solanacearum* sur des autres régions et sur d'autres variétés de pomme de terre.

Conclusion

- La recherche vers l'obtention de géotypes résistants ou tolérants.
- Développement de méthodes de détection de *Ralstonia solanacearum*.
- Contrôles phytosanitaires import/export. (INPV, CNCC).
- Utilisation de semences certifiées.
- Méthodes de lutte adaptées.

Références

Références

A

- Z **Alvarez B., Lopez M.M., Biosca E.G. 2008.** Survival strategies and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* phylotype II subjected to prolonged starvation in environmental water microcosms. *Microbiology* 154: 3590-3598.
- Z **Ano G., Anais G., Chidiac A.2002.** Création de variétés résistantes aux maladies en Guadeloupe .Eléments indispensables de diversification agricole: PHYTOMA, p. 36-37.
- Z **Anonyme., 2000.** Histoire de la pomme de terre, Fédération des producteurs de pomme De terre de Québec CF.PPTQ :
- Z **Anonyme.2017.** Le stockage frigorifique de la pomme de terre de saison.les bulletins du centre technique de la pomme de terre.
- Z **Assobacam .2009.** Fiche techniques maladies bactériennes, Association bananière du Cameroun.

B

- Z **Birecki M., Ziemniaki. 1958.** PWRiL Warszawa. 1-346.
- Z **Blancard D (INRA)., Prior P (INRA - CIRAD) .2014.** Fiche technique. *Ralstonia solanacearum* (Smith, 1896) Yabuuchi *et al.* 1996, Flétrissement bactérien.
- Z **Blancard D.2017.**Fiche techniques. Symptômes de *Ralstonia solanacearum* sur Tomate, tabac. (INRA)
- Z **Burke J.J.2017.**Growing the potato crop .394p.

C

- Z **Cabi. 2016.** *Ralstonia solanacearum* (bacterial wilt of potato). Available at <http://www.cabi.org/isc/datasheet/45009#20133173129> (accessed 28 January 2016).
- Z **Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R.1987.**Bactériologie médicale Technique usuelles .SIMPE SA. Paris, France.
- Z **Cariglia A (Armefflor). Février2007 .**Lutte préventive contre le flétrissement bactérien en culture de tomate hors sol, Etats des connaissances et conseils, pole de protection des plantes, St-pierre(Réunion).
- Z **Cronquist A .1981.**En integrated système of classification of flowering plants .New York Colomb University .1262.

Références

- Z **Clement J-M. 1981.** Larousse agricole. Librairie Larousse, Paris, ISBN 2-03- 514301-2, 1208p.
- Z **Cronquist A. 1981.**En integrated système of classification of flowering plants. New York Colomb university press.1262.

D

- Z **Dalal N., Dalal S., Golliwar V., Khobragade R. 1999.**Studies on grading and prepackaging of some bacterial wilt resistant brinjal (*Solanum melongena* L.) varieties., Journal of Soils and Crops p. 223-226.
- Z **Deberdt P., Fernandes P. 2013.** Fiche technique, Cycle infectieux de *R. solanacearum*.
- Z **Diouf J.2008.**Fiche technique .L'année internationale de la pomme de terre .

E

- Z **Elphiinstone J .G.2005.** The current bacterial wilt situation: A global overview. In C.Allen, P.Pior.

F

- Z **Farag N., Lashin S., All-Abdel R., Shatta H., Seif-Elyazal H. 1982.** Antibiotics and control of potato black leg and brown rot diseases Agricultural Research Review, p. 149-166.
- Z **Feytaud J.1949** .La pomme de terre, Boulevard Saint-Germain, Paris .126P.

G

- Z **Genin S., Boucher C. 2004.** Lessons learned from the genome analysis of *Ralstonia solanacearum*. Annu Rev Phytopathol 42: 107-134.
- Z **Goszynska T.,Serfontein J.J.,Serfontein S. et Safrinet.2000.**Introduction to practical phytopathology :A manual for phytobacteriology.ISBN:0-620-25487-4.Ultra litho(Pty)Ltd,Heriotdale,Johannesburg.
- Z **Guessas B., Kihal M. 2004.**Cractérisation of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goat's milk African Journal of biotechnology vol.
- Z **Guiraud J.P .1998** .Microbiologie alimentaire le Ed.Dunod.Paris.

H

Références

- Z **Hariri A., Ouïs N., Sahnouni F., Bouhadi D .2009** .Mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base axtreits de caroube.Rev.Microbiol.Ind.San et Environ.
- Z **Hayward A. C. (1991)**. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annual Review of Phytopathology.
- Z **Henri ., Boden F.2007**.Lutte contre *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al.50p.

J

- Z **Jone J.B., Carter S.M.MC., Stal R.E.1984**.*Pseudomonas viridiflava*: causal of agent of bacterial leaf blight of tomato. Plant diseas.68:341-342P.

K

- Z **Karczmarczuk R., Ziemniak 1999**. jego rodowód i u ytkowanie. Wiadomoici Zielarskie, (9). 10-12.
- Z **Kerr J. 2014**. Plants de pomme de terre, Guide de la CEE-ONU sur les maladies, parasites et défauts des plants de pomme de terre. New York et Genève. 112P.
- Z **Kupferschmied P (BLW)., Bünter M et Schaerer S. 2017**. Agroscope, Fiche technique *Ralstonia solanacearum* (Smith) Une bactérie potentiellement dévastatrice pour de nombreuses espèces végétales. No.51-P.

L

- Z **Leszczy ski W. 2007** .Historia ziemniaka. Ziemniak Polski, (4). 4-7.
- Z **Louis J. 2007**. Guide pratique de la culture de la pomme de terre en Afrique de l'Ouest.

M

- Z **Madec P., Perennec P. 1959**. Le rôle respectif du feuillage et du tubercule –mère dans la Tubérisation la pomme de terre p. 44Eur. PotatoJ. Vol 2.
- Z **Martin M, 2012**. Les différents types de stockage des pommes de terre, Fiche technique ARVALIS-Institut du Végétal.
- Z **Masclat J. 12.03.17**. La question de développement.1p.

Références

- Z **Michel V., Ahmed H., Dutheil A.2007.** La bio fumigation, une méthode de lutte contre les maladies du sol, Revue suisse de viticulture, arboriculture et horticulture, p. 145-150.

N

- Z **Nagarathna K., Chandrashekara., Krishnareddy M., Prasannakumar., Deepa M, Vani A, Ahmad Khan A. 2012.** Prevalence of races and biotypes of *Ralstonia solanacearum* in India, Journal of plant protection research Vol. 52, No. 1.
- Z **Nameth .2014.** Dept. of Plant Pathology, Ohio State University, Ohio, USA.
- Z **Nushrat N., Ahmed., Islam R., Hossain M., Meah B ., M. Hossain M.2013** .Determination of Races and Biovars of *Ralstonia solanacearum* Causing Bacterial Wilt Disease of Potato, Journal of Agricultural Science; Vol. 5, No. 6; 2013 ISSN 1916-9752 E-ISSN 1916-9760 P91.

P

- Z **Pandey S. 2009.** Année internationale de la pomme de terre 2008 Éclairage sur un trésor enfoui. Rome. 143 p.
- Z **Pascal F., Trigalet A. 1994.**Lutte biologique contre le flétrissement bactérien des Solanacées à l'aide de mutants Hrp [-] de *Pseudomonas solanacearum*, Université de Paris 11, Orsay, FRANCE (Université de soutenance), Travaux Universitaires - Thèse nouveau doctorat, p. 218.
- Z **Polese J. 2006.**La culture des pommes de terre. Slovaquie 96P.
- Z **Prescott.Harly.et Kelin.2007.**Microbiologie .2th Ed.Boeck-wesmael.Bruxelles.

R

- Z **Rodrigues-Neo J., Malavolta V.A., Hamahiga I .1984.** (Atypical symptoms in potato tubers infected with *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith).Biologie 50, 93-95.
- Z **Rousselle P., Rousselle-Bourgeois., Ellisseche D. 1992.** La pomme de terre. In Amélioration des espèces végétales cultivées.
- Z **Rousselle P., Roberty. Crosnier J.C. 1996.** La pomme de terre .Production, Amélioration, ennemis et maladies, utilisation paris INR, 607 p

S

Références

- Z **Schaad N.W., Jones.J.B et Chun W.2001** .Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria .APS press.3rded.ST paul, Minnesota (US):373P.
- Z **Sharma J. P., Kumar S.2004**.Effect of crop rotation on population dynamics of *Ralstoniasolanacearum* in tomato wilt sick soil: Indian Phytopathology, v. 57, p. 80-81.
- Z **Singleton D.R., Powell S.N., Sangaiah R., Gold, A., Ball, L.M., Aitken, M.D. 2005** .Stable isotope probing of bacteria capable of degrading salicylate, naphthalene, or phenanthrene in a bioreactor treating contaminated soil. Appl. Environ. Microbiol; 71:1202.
- Z **Skoglund LG. 1993**.Future research objectives for bacterial wilt control in the PARAPACE Countries.
- Z **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.
- Z **Smith, J.J., Offord, L.C., Holderness, M. and Saddler, G.S. 1995**. Genetic diversity of *Burkholderia solanacearum* (synonym *Pseudomonas solanacearum*) race 3 in Kenya. Applied and Environmental Microbiology 61; 4262-4268.
- Z **Smith J.J .1999** .La lutte contre *Ralstonia solanacearum*.
- Z **Soltner D., 1998**. Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. SainteGemme-sur-Loire, Sciences et Techniques Agricoles.
- Z **Sostizzo T., Bünter M., Stève Breitenmoser.2018**. Agroscope Teigne guatémaltèque de la pomme de terre, Plantes Agroscope Fiche technique. No 84.

T

- Z **Tilma P., Fontaine R. 2015**.Fiche phytosanitaire. Cultures maraîchères, flétrissement bactérien

V

- Z **Vanderhofstadt B. novembre 2007**. Guide pratique de la culture de la pomme de terre en Afrique de l'Ouest., Consultant CDE et SOC International, France.
- Z **Vanderhofstadt B., 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

Références

- Z **Vasse J., Frey P., Trigalet A. 1995.** Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. *Mol Plant Microbe Interact* 8: 241-251.

W

- Z **Warsito T., Van de Fliert E.2006.**All about potatoes An Ecological Guide to Potato Integrated Crop Management, Thailand, 90p.

Y

- Z **Yabuuchi E.,Kosako Y., Oyaizu H., Yano I., Hotta H .,Hashimoto Y ,Ezaki T, 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. 8.

Annexes

Annexes

-Matériels

1-Milieus de culture

Les milieux utilisés pour la recherche de bactéries sont :

- Bouillon nitraté : le test de la réduction de nitrate en nitrite.
- Milieu citrate de simmons : l'utilisation de citrate.
- Bouillon moeller à arginine (ADH) : la recherche de l'arginine déshydrogénase.
- Bouillon fermentaire sans sucre : test de fermentation des sucres.
- Gélose à l'amidon : pour le test de l'amidon.
- Milieu de levane : pour production de levane.
- Milieu gélose à base de saccharose-peptone (SPA).
- Milieu gélose avec levure, peptone et glucose (LPGA).

.2-Produits chimiques et Réactifs

Les colorants de gram : violet de gentiane, Lugol, fuchsine, éthanol, huile d'immersion.

Le réactif : réactif de NR1 et NR2, Zinc, l'eau oxygénée H₂O₂, oxydase.

L'eau distillée stérile.

Reactif₁ de voges proskauer-VP1.

Reactif₂ de voges proskauer-VP2.

Kovacs.

.3-Les appareillages et matériels

- Autoclave.
- Bain Marie.
- Balance.
- Micropipettes.
- Microscope optique.
- Réfrigérateur.
- Bec bunsen.

Annexes

- Tubes à aussi.
- les boîtes de pétri.
- les lames.
- Pince à lame.
- Pissette d'eau.
- L'étuve.
- pipettes pasteur.
- disque d'oxydase.
- Les anses à inoculer stérile.
- Para film.
- Disque d'oxydase.

Composition des milieux de cultures utilisés

(Données pour un litre de milieu)

▪ Gélose nutritive:

Gélose nutritive ou gélose ordinaire (GNO), est un milieu d'isolement non-sélectif dont la composition chimique théorique en g/L D'eau purifiée est :

Peptone10g.

Extrait de viande05g.

Chlorure de sodium.....05g.

Gélose15g.

Ph 7.2, auto claver 20 minutes à 120 c (Guiraud, 1992).

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

Extrait de levure (Difco).....05g.

Bacto peptone (Difco).....05g.

D (+)-glucose (monohydraté).....10g.

Bacto agare (Difco).....15g.

Eau distillée.....01L.

▪ Gélose a base de saccharose-peptone(SPA) :

Saccharose.....20g.

Annexes

Peptone.....05g.
K₂HPO₄.....0.5g.
MgSO₄7H₂O.....0.25g.
Bacto agar (Difco)15g.
Eau distillée01L .

▪ **Milieu levane (Ph=7) :**

Extrait de levure02g.
Peptone05g.
NaCl.....05g.
Saccharose50g.
Agare.....15g.

Ph 7.2, autoclave 15 minutes à 121 c (Goszczyńska et al, 2000).

)] **Milieu de Hugh et Leifson (Hugh et Leifson, 1953) :**

Bacto tryptone.....02g.
Phosphate de potassium dibasique.....05g.
Chlorure de sodium05g.
Bleu de bromothymol.....0.03g.
D(+)-glucose.....10g.
Agar bactériologique type A03g.

▪ **Milieu à la gélatine :**

La composition chimique de ce milieu en g/L d'eau distillée est la suivante :

Extrait de levure.....03g.
Peptone.....05g.

Annexes

Gélatine.....120g.

Ph 7.0, stériliser 15 minutes à 121°C (Goszczyńska et al, 2000).

- **Milieu Amidon :**

La composition chimique de ce milieu en g/L d'eau distillée est la suivante :

Ajouter 2 % d'amidon soluble à la gélose nutritive (Goszczyńska et al, 2000).

- **Tampon d'extraction :**

Na₂HPO₄ (anhydre) 4.26g.

KH₂PO₄.....2.72g.

Eau distillée 01L.

Dissoudre les ingrédients, vérifier le pH et stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes

Z Taux d'infestation (les données)

- **Djandel (Région 1) :**

NT= 40000 plante /hectare (nombre de plants total).

NI= 10 000 plante /hectare (nombre de plante infectés).

- **Djandel (Région 2):**

NT= 40 000 plante /hectare (nombre de plants total).

NI=5 000 plante /hectare (nombre de plante infectés).

- **Ain soltane :**

NT=60000 plante /hectare (nombre de plants total).

NI=10 000 plante /hectare (nombre de plante infectés).

Annexes

Annexe n°01: Résultats de coloration de Gram (plante : Djandel 1 et Ain soltan).

Les milieux Les échantillons	SPA		LPGY	
	Gram	Forme	Gram	Forme
D1Dr	+	Cocci	+	Bacille
	+	Cocci	-	Bacille
D1g	+	Cocci	-	Cocci
	+	Bacille	-	Cocci
D2Dr	+	Cocci	+	Bacille
	+	Cocci	+	Bacille
D2g	-	Bacille	-	Bacille
	+	Bacille	+	Bacille
D3Dr	+	Cocci	+	Bacille
	+	Bacille	+	Bacille
D3g	+	Cocci	+	Cocci
	+	Bacille	+	Cocci
D4Dr	-	Bacille	-	Bacille
	-	Bacille	-	Bacille
D4g	+	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	+	Bacille
D5Dr	-	Bacille	-	Cocci
	-	Bacille	-	Cocci
D5g	+	Cocci	-	Bacille
	+	Cocci	-	Bacille
A1Dr	+	Bacille	-	Bacille
	+	Bacille	-	Bacille
A1g	+	Cocci	+	Bacille
	+	Cocci	-	Bacille
A2Dr	+	Bacille	-	Bacille
	+	Bacille	-	Bacille
A2g	+	Bacille	-	Bacille
	+	Bacille	-	Bacille
A3Dr	+	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	-	Bacille
A3g	-	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	+	Bacille
A4Dr	+	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	-	Bacille
A4g	+	Bacille	-	Bacille
	-	Bacille	-	Bacille
A5Dr	-	Bacille	-	Bacille
	-	Bacille	-	Bacille
A5g	+	Bacille	-	Bacille
	+	Bacille	-	Bacille

Annexes

Annexe n°02:

) Résultats de coloration de Gram (Bactéries jaunes), (sol : Djandel1, Djandel2, Ain soltan)

Les milieux Les échantillons	SPA		LPGY	
	Gram	Forme	Gram	Forme
D1E1	+	Bacille	+	Cocci
	+	Bacille	-	Cocci
D1E2	+	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	-	Bacille
D1E3	+	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	+	Bacille
D2E1	+	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	+	Bacille
D2E2	+	Cocci	+	Cocci
	+	Cocci	+	Cocci
D2E3	+	Cocci	+	Bacille
	+	Cocci	+	Bacille
A1E1	-	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	-	Bacille
A1E2	-	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	+	Bacille
A1E3	+	Bacille	-	Bacille
	+	Cocci	+	Bacille

Annexes

J Résultats de coloration de Gram (Bactéries Blanches), (sol : Djandel1, Djandel2, Ain soltan).

Les milieux Les échantillons	SPA		LPGY	
	Gram	Forme	Gram	Forme
D1E1	+	Cocci	+	Cocci
	+	Bacille	+	Cocci
D1E2	+	Cocci	+	Bacille
	+	Cocci	+	Bacille
D1E3	+	Cocci	+	Cocci
	-	Bacille	+	Cocci
D2E1	+	Cocci	+	Cocci
	+	Bacille	+	Cocci
D2E2	-	Bacille	+	Bacille
	-	Bacille	+	Bacille
D2E3	+	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	+	Bacille
A1E1	+	Bacille	+	Cocci
	+	Bacille	+	Bacille
A1E2	+	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	+	Bacille
A1E3	+	Bacille	+	Bacille
	+	Bacille	+	Bacille

Annexes

Annexe n°03 : Résultats des analyses biochimiques (Plante Milieu LPGA).

	Gram	Catalase	Oxydase	Réduction de nitrat	ADH	Hydrolyse de l'amidon	Liquéfaction De gélatine	Production de levane	Utilisation de citrate	Croissance à 40	Croissance avec 1 %NACL	Croissance avec 2% NACL	Oxy-ferm	
D1Dr	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-
D1g	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
D2g	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D4Dr	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D5Dr	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
D5g	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
A1Dr	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
A1g	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
A2Dr	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+
A2g	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
A3Dr	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
A4Dr	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
A4g	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
A5Dr	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
A5g	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+

Annexes

	Gram	Catalase	Oxydase	Réduction de nitrat	ADH	Hydrolyse de l'amidon	Liquéfaction De gélatine	Production de levane	Utilisation de citrate	Croissance à 40	Croissance avec 1 %NACL	Croissance avec 2 %NACL	Oxy-ferm	
D5Dr	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+

) Résultats des analyses biochimiques (Sol milieuLPGA)

	Gram	Catalase	Oxydase	Réduction de nitrat	ADH	Hydrolyse de l'amidon	Liquéfaction De gélatine	Production de levane	Utilisation de citrate	Croissance à 40	Croissance avec 1 %NACL	Croissance avec 1 %NACL	Oxy-ferm	
D1E1	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+
D1E2	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+
A1E1	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
A1E3	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+

) Résultats des analyses biochimiques (Plante milieu SPA)

Annexes

D4Dr	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
D2g	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
A3g	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
A4g	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
A5Dr	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+

Annexes

J Résultats des analyses biochimiques (Sol milieu SPA)

	Gram	Catalase	Oxydase	Réduction de nitrat	ADH	Hydrolyse de l'amidon	Liquéfaction De gélatine	Production de levane	Utilisation de citrate	Croissance à 40	Croissance avec 1 %NACL	Croissance avec 2%NACL	Oxyferm
A1E 1	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	- +
A1E 2	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	- +
D1E 3	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	- -
D2E 2	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+ -
	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+ -

Annexes

Annexe n°03: Résultat de pouvioir pathogène(les plantes de tomate).

Les plantes	A5Dr1	A5Dr2	A1E3	D1E3	D2E2
Le jaunissement	0	0	0	0	0
le flétrissement	02	01	01	01	0
Le jaunissement et le flétrissement	0	0	0	0	0
Sainte	0	01	01	01	02