

## II. Présentation de l'Activité de Recherche

### **Contrôle intégré de la bactériose (*Ralstonia solanacearum*) de la pomme de terre dans les petites exploitations agricoles de la Région Vakinankaratra**

**Nom, adresse et nature de l'Institution porteuse : FIFAMANOR (Centre de Développement Rural et de Recherche Appliquée).**

Adresse : BP 198, Antsirabe 110

Statut : Etablissement Public à Caractère Industriel et Commercial,

Régi par le décret n° 92/853 du 23 Septembre 1992,

modifié par le décret n° 96/362 du 08 Mai 1996

#### **Résumé :**

La bactériose ou pourriture brune de la pomme de terre due à *Ralstonia solanacearum* est une maladie majeure de la pomme de terre dans les principales zones de production de la Région Vakinankaratra. La présente proposition porte sur le contrôle intégré de cette maladie, associant notamment la lutte génétique avec les pratiques culturales écologiques en vue de contribuer à la sécurité alimentaire et le développement durable. L'étude prévoit l'isolement et la caractérisation partielle des souches de *Ralstonia solanacearum* présentes dans les cinq Districts de cette Région suivis des expérimentations en milieu contrôlé et en milieu paysan axées sur le suivi des effets protecteurs des amendements de sol à base de légumineuse de couverture contre l'incidence de la pourriture brune de la pomme de terre et sur l'évolution des microorganismes du sol antagonistes à *Ralstonia solanacearum*.

#### **Outils et Méthodologie :**

Pour répondre aux objectifs spécifiques de la présente proposition, les méthodes suivantes seront mises en œuvre :

1. Isolement et caractérisation partielle des souches de *Ralstonia solanacearum* présentes dans les différentes zones de production de la pomme de terre de la Région Vakinankaratra où furent enregistrées auparavant des attaques dévastatrices de la bactériose (Faratsiho, Betafo, Ambatolampy, Antsirabe II et Antanifotsy): l'isolement peut être pratiqué à partir d'extrait de tige infectée, d'échantillon de sol ou de tubercule de pomme de terre.

- Isolement des souches de *Ralstonia solanacearum* sur milieu semi-sélectif de Kelman au chlorure de triphényltétrazolium (TZC) (Kelman, 1954). Ce milieu permet également de différencier les souches de *Ralstonia solanacearum* en souches avirulentes et souches virulentes sur la base de leur capacité à réduire le triphényltétrazolium en triphényl formazan de couleur rouge. Pour l'isolement à partir d'échantillon de sol, la sélectivité de ce milieu sera renforcée par addition d'antibiotiques.

- Détection des formes latentes de *Ralstonia solanacearum* dans les tubercules de pomme de terre au moyen de kit NCM-ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay on nitrocellulose membrane) (Priou et al, 2006) : les principales étapes de cette technique immuno-enzymatique sont constituées par la préparation d'extrait de tubercule, l'enrichissement par incubation dans un bouillon de milieu semi-sélectif, la déposition des échantillons enrichis sur membrane nitrocellulose, la fixation avec des anticorps spécifiques de *Ralstonia solanacearum*, la fixation du complexe *Ralstonia solanacearum*-anticorps avec l'anticorps de détection couplé à une enzyme et révélation de l'enzyme par addition de son substrat produisant une réaction colorée ; détection de faibles concentrations de *Ralstonia solanacearum* dans le sol au moyen du kit DAS-ELISA (Priou et al, 2006).

- Test de pathogénicité et détermination de la race des souches de *Ralstonia solanacearum* (Koch, 1950) : le pouvoir pathogène des souches de *Ralstonia solanacearum* isolées et purifiées est vérifié par inoculation artificielle, en milieu contrôlé, à des plantes hôtes dont la pomme de terre.

- Test d'utilisation des hydrates de carbone (Denny et Hayward, 2001) : l'utilisation des diholosides (lactose, maltose, cellobiose) et l'oxydation des hexoses alcools (mannitol, sorbitol, dulcitol) permettent de différencier les souches de *Ralstonia solanacearum* en 5 biovars. Le test est réalisé sur un milieu de base

(sel de Ayers) et l'utilisation des hydrates de carbone se traduit par l'acidification faisant virer la couleur de l'indicateur coloré.

- Caractérisation moléculaire des souches de *Ralstonia solanacearum* par analyse Multiplex-PCR (polymerase chain reaction) : utilisation d'amorces et sondes spécifiques des races et biovars (Cirad, 2006).

2. Essais de lutte intégrée de la bactériose de la pomme de terre due à *Ralstonia solanacearum* : ces expérimentations seront respectivement conduites en station de recherche et en milieu paysannal, dans les zones de production de la pomme de terre de la Région Vakinankaratra. Les traitements seront constitués par la combinaison de la lutte génétique, avec l'association culturale et les amendements de sol à base de légumineuse de couverture. Les observations retenues comprennent le rendement de la pomme de terre, l'incidence de la bactériose, l'évolution des populations respectives de *Ralstonia solanacearum* et des ses microorganismes antagonistes éventuels dans la rhizosphère de la pomme de terre ainsi que l'évolution des nutriments dans le sol. Les résultats obtenus seront soumis à l'analyse statistique au moyen du logiciel Genstat.

## **Résultats et produits. Leurs impacts dans le monde de la recherche :**

### **Résultats scientifiques attendus :**

- souches de *Ralstonia solanacearum* présentes dans les cinq Districts de la Région Vakinankaratra isolées et caractérisées ;
- systèmes de contrôle intégré de la pourriture brune de la pomme de terre à base d'amendements de sol avec des légumineuses de couverture adaptées localement, évalués en milieu contrôlé et en milieu paysannal ;
- microorganismes (actinomycètes, bactéries) de la rhizosphère de la pomme de terre isolés ;
- microorganismes de la rhizosphère de la pomme de terre présentant des effets antagonistes contre *Ralstonia solanacearum* identifiés et testés

### **Résultats opérationnels et produits :**

- articles originaux et communications orales publiés dans les revues scientifiques à commission de lecture ;
- bases de données pour thèse de doctorat en protection des plantes et mémoire de diplôme d'études approfondies en biotechnologie et microbiologie ;
- bases de données sur pratiques agroécologiques dans le portail web du réseau IRACC (Initiative Régionale Agroécologie-Changement Climatique) ;
- fiches techniques sur les systèmes de contrôle intégré de la bactériose de la pomme de terre due à *Ralstonia solanacearum* ;
- bases de données races et biovars des souches de *Ralstonia solanacearum* à Madagascar, dans la Région Océan Indien ;
- rapport d'activité et rapport de recherche de Fifamanor
- atelier de restitution des résultats

### **Leurs impacts :**

- sécurité alimentaire et amélioration durable de la productivité agricole ;
- amélioration de la qualité de la production agricole ;
- accroissement des revenus des petits exploitants agricoles et développement socio-économique de la Région Vakinankaratra ;
- maintien et amélioration durable de la fertilité du sol ;
- utilisation et conservation de la biodiversité génétique végétale dans les exploitations

### **Bénéficiaires**

Paysans, chercheurs, étudiants, Organismes de recherche, multiplicateurs de semences de pomme de terre, projets de développement, exportateurs, transformateurs, consommateurs.

## Effets attendus pour la recherche et pour le développement

- contribution à la connaissance scientifique
- amélioration de la performance et de la visibilité des recherches
- développement durable du secteur agricole

### Chronogramme :

Activités (sur 12 mois)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Bibliographie et programmation	x											
Prélèvement d'échantillons infectés suivi de l'isolement et caractérisation partielle des souches de <i>Ralstonia solanacearum</i>		x	x	x	x	x	x	x	x	x		
Essais de lutte intégrée de la pourriture brune en milieu paysannal				x	x	x	x	x				
Essais de lutte intégrée de la pourriture brune en milieu contrôlé				x	x	x	x	x				
Formation et caractérisation moléculaire des souches de <i>Ralstonia solanacearum</i>								x				
Analyse de la microflore de la rhizosphère de la pomme de terre antagonistes à <i>R. solanacearum</i>				x	x	x	x	x	x			
Etude d'antibiogramme contre <i>R. solanacearum</i>						x	x	x	x	x		
Publications scientifiques											x	x
Restitution des résultats												x