

## Table des matières

REMERCIEMENTS

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

PREMIERE PARTIE

I. INTRODUCTION

II. ETUDES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA POMME DE TERRE

1. Généralités.....	4
2. Systématique .....	5
3. Description botanique .....	5
4. Biologie et écologie de la pomme de terre .....	11
5. Valeur nutritionnelle de la pomme de terre.....	14
6. Maladies de la pomme de terre .....	15

DEUXIEME PARTIE: METHODOLOGIE

1. DIAGNOSTIC DES MALADIES SUR TERRAIN .....	23
2. ISOLEMENTS ET IDENTIFICATIONS PRELIMINAIRES DES GERMES BACTERIENS ISSUS DES PLANTS MALADES.....	23
3. RECHERCHE DES GERMES BACTERIENS RESPONSABLES DES MALADIES DIAGNOSTIQUEES.....	25
4. RECHERCHE DES ACTIVITES ANTIBACTERIENNES DES PREPARATIONS TRADITIONNELLES MALAGASY .....	28

TROISIEME PARTIE:

I. RESULTATS

1. DIAGNOSTIC DES MALADIES DE POMME DE TERRE SUR TERRAIN .....	32
2. ISOLEMENTS ET IDENTIFICATIONS PRELIMINAIRES DES GERMES BACTERIENS ISSUS DES ECHANTILLONS MALADES .....	33
3. RECHERCHE DES GERMES RESPONSABLES DE CERTAINES MALADIES DIAGNOSTIQUEES PAR POSTULAT DE KOCH.....	37
4. RECHERCHE DES ACTIVITES ANTIBACTERIENNES DES PREPARATIONS TRADITIONNELLES MALAGASY SUR LES SOUCHES RESPONSABLES DES MALADIES.....	49

II. DISCUSSIONS

1. ISOLEMENTS ET IDENTIFICATIONS PRELIMINAIRES DES BACTERIES ISSUES DES PLANTS MALADES .....	52
2. RECHERCHE DES GERMES BACTERIENS RESPONSABLES DES MALADIES PAR POSTULAT DE KOCH .....	52
3. RECHERCHE DES ACTIVITES ANTIBACTERIENNES DES PREPARATIONS TRADITIONNELLES MALAGASY SUR LES SOUCHES RESPONSABLES DES MALADIES.....	56

### III. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### ANNEXES

**Liste des abréviations:**

FIFAMANOR	FiompianaFambolena Malagasy Norveziana.
McF	Mc Farland
NA	Nutrient Agar
UFC	Unité formant colonie

## Listes des figures:

- Figure 1 Une plante de *Solanumtuberosum*
- Figure 2 Tubercule de *Solanumtuberosum*
- Figure 3 Coupe longitudinale d'un tubercule de *Solanumtuberosum*
- Figure 4 Feuille de *Solanumtuberosum*
- Figure 5 Inflorescence et fleur de *Solanumtuberosum*
- Figure 6 Diagramme floral de *Solanumtuberosum*
- Figure 7 Fruits de *Solanumtuberosum*
- Figure 8 Graines et embryon de *Solanumtuberosum*
- Figure 9 Symptômes de la pourriture brune sur la partie aérienne
- Figure 10 Symptômes de la pourriture brune sur les tubercules
- Figure 11 Flétrissement bactérien au niveau de la partie aérienne
- Figure 12 Symptômes de la pourriture annulaire au niveau des tubercules
- Figure 13 Symptômes de la jambe noire sur les feuilles
- Figure 14 Symptômes de la jambe noire sur la tige
- Figure 15 Pourriture molle
- Figure 16 Pourriture lenticellaire
- Figure 17 Symptômes de la galle commune sur les tubercules
- Figure 18 Symptômes de mildiou sur la partie aérienne
- Figure 19 Symptômes de mildiou au niveau des tubercules
- Figure 20 Brulure altérmarienne sur les feuilles
- Figure 21 Pourriture fusarienne
- Figure 22 Symptômes de la maladie virale chez la pomme de terre

- Figure 23 Photo de la diffusion par disques avec la souche 1<sub>2</sub>.
- Figure 24 Photo de la diffusion par puits avec la souche 1<sub>2</sub>.
- Figure 25 Photos des bactéries isolées pures chez les 6 symptômes de maladies
- Figure 26 Symptômes observés tout les 3 jours sur 1<sub>2</sub>
- Figure 27 Symptômes observés tous les 3 jours sur 3t<sub>2</sub>
- Figure 28 Longueur de pieds (cm) inoculés sur l'aisselle de la 1<sup>ère</sup> feuille mesurés tous les 3 jours en fonction du jour de suivi.
- Figure 29 Nombre de feuilles des pieds inoculés sur l'aisselle de la 1<sup>ère</sup> feuille en fonction du jour d'observation.
- Figure 30 Longueur de pieds (cm) inoculés par pulvérisation de 2 feuilles les plus âgées en fonction du jour d'observation.
- Figure 31 Nombre de feuilles des pieds inoculés par pulvérisation des 2 feuilles les plus âgées en fonction du jour d'observation.
- Figure 32 Symptômes observés tous les 3 jours sur 1<sub>2</sub>
- Figure 33 Symptômes observés tous les 3 jours sur 3t<sub>2</sub>
- Figure 34 Longueur des pieds (cm) en fonction du jour d'observation.
- Figure 35 Nombre des feuilles en fonction du jour d'observation.
- Figure 36 Diamètre d'inhibition sur 1<sub>2</sub> après 24h d'incubation par la méthode de puits.
- Figure 37 Diamètre d'inhibition de 1<sub>2</sub> après 24h d'incubation par la méthode de disques.

### Liste des tableaux:

- Tableau 1 Echantillons prélevés sur terrains et description des symptômes.
- Tableau 2 Caractères macroscopiques de chaque colonie bactérienne.
- Tableau 3 Mobilité et mode de groupement de chaque bactérie.
- Tableau 4 Forme et Gram de chaque bactérie.
- Tableau 5 Levée et taux de germination de 2 variétés « meva » et « diamondra ».
- Tableau 6 Longueur des pieds (en cm) inoculés sur l'aisselle de la première feuille mesurée tous les 3 jours.
- Tableau 7 Nombre des feuilles des pieds inoculés sur l'aisselle de la 1<sup>ère</sup> feuille dénombré tous les 3 jours.
- Tableau 8 Longueur des pieds inoculés par pulvérisation de 2 feuilles les plus âgées.
- Tableau 9 Nombre des feuilles des pieds inoculés par pulvérisation des 2 feuilles les plus âgées.
- Tableau 10 Longueur des pieds (en cm) mesurée tous les trois jours.
- Tableau 11 Nombre des feuilles dénombrées tous les trois jours.
- Tableau 12 Zones d'inhibition obtenues sur  $1_2$  et  $3t_2$  par la méthode de puits.
- Tableau 13 Zones d'inhibition obtenues sur  $1_2$  et  $3t_2$  par la méthode de disques.
- Tableau 14 Taux d'inhibition de  $1_B$ ,  $1_F$ ,  $3_B$ ,  $3_F$  vis-à-vis de la souche  $1_2$

# PREMIERE PARTIE

# **I. INTRODUCTION**



La pomme de terre, *Solanumtuberosum*, a été cultivée il y a environ 8 000 ans avant JC dans les Andes, en Amérique du Sud [FAO, 2008; OSWALDO, 2010]. C'est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde. Elle joue un rôle clé dans le système alimentaire mondial et fait partie du quotidien mais nombreux sont ceux qui la connaissent mal [FAO, 2008; LOAËC, 2009].

Elle est facile à cultiver et elle a un apport énergétique élevé. Sa culture commerciale est importante pour des millions d'agriculteurs car elle aide des familles à gagner leur vie [FAO, 2008 ; OSWALDO, 2010]. De ce fait, la pomme de terre est cultivée dans plus d'une centaine de pays au climat tempéré, subtropical ou tropical. Elle pousse surtout dans les régions à climat tempéré et frais ; et elle figure parmi les plantes vivrières les plus primordiales du monde [FAO, 2008; OSWALDO, 2010]. En effet, la culture arrive en quatrième position des plantes alimentaires derrière le maïs, le blé et le riz. Sa production a été évaluée en 2006 à 315 millions de tonnes contre 325 millions de tonnes en 2007[LOAËC, 2009; OSWALDO, 2010].

A Madagascar, qui est un pays à vocation agricole comme la plupart des pays en voie de développement, plus de 80% de l'ensemble de la population habitent dans les zones rurales [LEIPZIG, 1996]. La plupart des ménages ruraux malgaches gagnent leur vie principalement avec des activités agricoles même si des activités non-agricoles existent aussi en milieu rural [MINTEN et al, 2003].

La pomme de terre ou «ovy» fut introduite à Madagascar au XIX<sup>e</sup> siècle par des missionnaires français. Elle fut cultivée dans la région de Mantsoa avant de s'étendre à la région d'Antananarivo puis deVakinankaratra[CITE et al, 2001].Dans les régions productrices, elle constitue un aliment de substitution au riz notamment en période de soudure et elle constitue aussi une source de revenu non négligeable pour les paysans producteurs. En effet, la pomme de terre se place en quatrième position derrière le riz, le manioc et la patate douce.

La province d'Antananarivo est la principale région productrice de pomme de terre avec 258 860 tonnes en 2000, soit 90% de la production nationale et la région du Vakinankaratra (Antanifotsy, Antsirabe, Faratsiho, Betafo) à elle seule enregistre 73% de ce volume provincial [CITE et al, 2001].

Actuellement, des zones d'extension se localisent sur les hautes terres (de Manjakandriana à Ambatondrazaka et d'Ambositra à Ambalavao) et aussi sur les régions côtières grâce aux travaux de recherche et de vulgarisation et à l'adoption des cultures de contre saison [CITE et al, 2001].

La superficie de terres cultivées de pomme de terre a augmenté, soit de 49 410 ha en 2001 à 50 280 ha en 2004. Par contre la production a baissé au cours de ces années de 294.810 tonnes en 2001 contre 246.370 tonnes en 2004 [INSTAT, 2004]. Cette baisse a encore été plus significative pour l'année 2005 à 2009 de 271.004 tonnes à 222.248 tonnes [INSTAT, 2010].

Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette diminution de la production telle que les maladies et les ennemis de cette culture. De nombreuses maladies peuvent être observées chez la pomme de terre. Celles causées par des champignons, des bactéries et des virus présentent des dégâts importants sur la production [JEAN et al, 2000].

Actuellement, il y a beaucoup de fongicides chimiques commercialisés et appliqués pour traiter les maladies fongiques de la pomme de terre. La plupart d'entre eux sont à base de soufre ou de cuivre tels que la bouillie bordelaise, la bouillie sulfocalcique et le dithane. Ce dernier est très utilisé par les agriculteurs malgaches. De même pour les maladies virales, des insecticides contre les vecteurs de virus sont déjà présents. Par contre, il n'y a pas de méthode de lutte chimique spécifique efficace contre les dégâts causés par les bactéries [LAMBION, 2007; LATOUR et al, 2008; FAO, 2008; LAREN, 2011].

Ainsi, ce travail a pour objectifs généraux de diagnostiquer des maladies bactériennes de la culture de pomme de terre et de les contrôler par des moyens de lutte biologique traditionnelle.

Ce travail a pour objectifs spécifiques:

- de diagnostiquer sur terrain les symptômes de la maladie par le biais d'une enquête et de prélèvements.
- d'isoler et de caractériser les germes bactériens responsables des infestations pour déterminer les différents pathogènes,
- de vérifier la réapparition des symptômes des maladies bactériennes sur des plantes apparemment saines,

- de maîtriser les maladies bactériennes au moyen de lutte biologique utilisé par les paysans locaux afin d'évaluer leurs efficacités sur les germes bactériens responsables de la maladie *in vitro*.

Pour atteindre ces objectifs, ce travail comporte quatre étapes. La première et la deuxième étape sont constituées du diagnostic des maladies de pomme de terre sur terrains suivi des isolements et identifications préliminaires des germes bactériens issus des plants malades. La troisième étape est axée sur la recherche des germes bactériens responsables de certaines maladies diagnostiquées. En dernier lieu, la quatrième étape qui est orientée sur la recherche des activités antibactériennes des préparations traditionnelles malagasy sur les souches responsables des maladies.

**II. ETUDES  
BIBLIOGRAPHIQUES  
SUR LA POMME DE  
TERRE**

## 1. Généralités

La pomme de terre est originaire de la Cordillère des Andes dans le sud-ouest de l'Amérique du Sud. Ses utilisations remontent à environ 8 000 ans avant J-C par les gens qui vivaient sur les bords du lac Titicaca [OSWALDO, 2010].

Au début, ce sont les Incas qui cultivaient et exploitaient la pomme de terre. Vers 1570, elle traversait l'Atlantique grâce aux conquistadors espagnols de retour des Amériques [[www.cosmovisions.com/pdtchrono.htm](http://www.cosmovisions.com/pdtchrono.htm)].

En 1573, elle est timidement cultivée en Espagne, puis elle entreprend un tour d'Europe et se développe dans certains pays, notamment en Irlande. C'était le premier pays d'Europe (pauvre à l'époque), où la pomme de terre fut installée dans les mœurs [OSWALDO, 2010].

Chaque pays européen a son "fondateur pomme de terre" qui a fait connaître ce tubercule pour être reconnu pour ses attributs. Le plus connu fut le français Antoine Augustin Parmentier. En effet, il a su utiliser son ingéniosité et sa ténacité pour amener ce tubercule malmené par la société à une consommation appréciée et indispensable dans chaque maison française [OSWALDO, 2010].

En 1846, le mildiou [FAO, 2008] détruisit plus de la moitié de la récolte en Europe. L'Irlande fut la plus touchée par cette maladie catastrophique. La famine s'installa causant la mort de plus d'un million et demi de personnes. La population irlandaise fuyait le pays et migra vers les Etats-Unis.

Ce n'est qu'à partir du XVIII<sup>ème</sup> siècle que la culture de la pomme de terre fut implantée en Europe. Elle connut un réel succès au XIX<sup>ème</sup> siècle, grâce à son rôle déterminant dans la révolution industrielle. En effet, cet aliment bon marché et abondant convenait parfaitement aux ouvriers [OSWALDO, 2010].

Depuis l'Europe, la culture de la pomme de terre s'est étendue aussi dans le Sud et le Nord de l'Afrique, à Madagascar, en Australie, en Inde, dans la Péninsule indochinoise, dans plusieurs îles océaniques et en Sibérie.

La Chine et le Japon sont les derniers à l'adopter avec succès au XIX<sup>e</sup> siècle[[www.cosmovisions.com/pdtchrono.htm](http://www.cosmovisions.com/pdtchrono.htm)].

## 2. Systématique

Le nom botanique de la pomme de terre, *Solanumtuberosum*, a été donné par Gaspar Bauhin (1560-1624), naturaliste suisse en 1595.

### Classification de Cronquist:

Règne	PLANTAE
Sous/Règne	TRACHEOBIONTA
Division	MAGNOLIPHYTA
Classe	MAGNOLIOPSIDA
Sous/classe	ASTERIDAE
Ordre	SOLANALES
Famille	SOLANACEAE
Sous/famille	SOLANOIDEAE
Genre	<i>Solanum</i>
Espèce	<i>tuberosum</i>
Nom vernaculaire	Pomme de terre
Nom malgache	Ovy

## 3. Description botanique

[OSWALDO, 2010;users.skynet.be/cerclehorticolantoing.avrilpdt.html]

L'«ovy» est une plante herbacéetubéreuse à feuilles caduques et à port dressé. Elle peut atteindre 1m de hauteur et est plus ou moins étalée avec l'âge (figure 1).

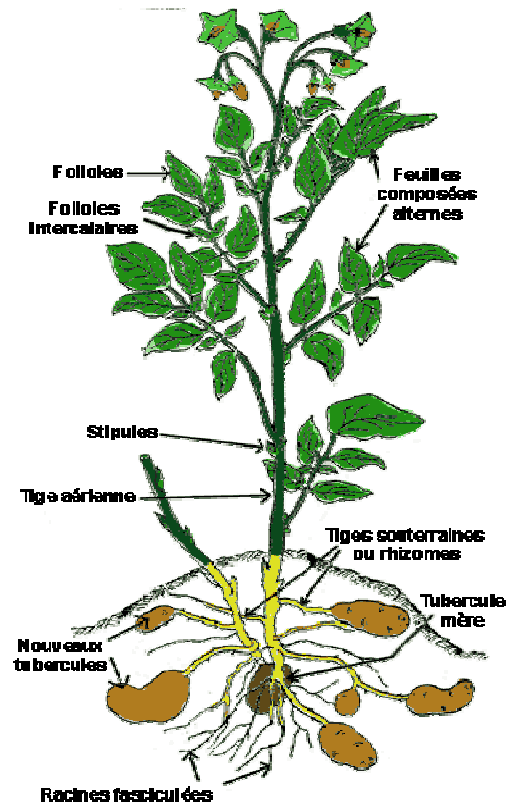


Figure1: Une plante de *Solanum tuberosum*

Source: [users.skynet.be/cerclehorticolantoing.avrilpdt.html]

### 3.1. Appareil végétatif:

#### 3.1.1. Racines

Le système racinaire est fasciculé et très ramifié. Il a tendance à s'étendre superficiellement mais peut s'enfoncer jusqu'à 0,8mètre de profondeur. Il est constitué de racines adventives qui apparaissent à la base des bourgeons du tubercule ou sur les nœuds des tiges souterraines. Les racines connaissent une croissance rapide depuis les premiers stades de développement jusqu'au moment où commence la formation des tubercules (figure 1).

### 3.1.2. Tiges

Elles sont de deux sortes:

– Tiges aériennes:

Elles sont à section circulaire ou angulaire et portent les feuilles, les fleurs et les fruits. Elles naissent à partir de bourgeons présents sur le tubercule utilisé comme semence. Elles sont au nombre de 3 à 20 par pied, herbacées, succulentes et peuvent atteindre de 0,6 à 1,0 mètre de long. Elles sont de couleur verte et peuvent être érigées ou s'inclinant progressivement vers le sol à mesure qu'avance la maturité de la plante. Dans la phase finale de leur développement, les tiges aériennes peuvent relativement devenir ligneuses à la base (figure 1).

– Tiges souterraines:

Les tiges souterraines ou stolons ou rhizomes sont formées par des bourgeons latéraux plus ou moins longs qui naissent à la base des tiges aériennes. Elles partent des sous-nœuds situés sur les tiges aériennes et croissent à l'horizontale sous la surface du sol (croissance diagéotropique). Chaque rhizome engendre un tubercule par le grossissement de son extrémité distale c'est-à-dire que les tubercules résultent d'une modification des tiges souterraines (figure 1). Ils sont de taille variable et de forme oblongue, plus ou moins allongée, cylindrique, lisse ou bosselée selon les variétés. La couleur de la peau est généralement jaune, mais peut être rouge, noire, ou rosée. La couleur de la chair est blanche, jaune plus ou moins foncé, rose ou violette selon les variétés (figure 2).



Figure 2: Tubercule de *Solanumtuberosum*

Source: THOMAS et al, 2007



Ils comprennent un pôle basal, partie élargie légèrement déprimée où s'insère le rhizome, et un pôle apical ou «couronne» sur lequel sont disposés les yeux. Ces yeux y sont disposés en spirale et se trouvent tous dans cette partie du tubercule c'est à dire depuis la cicatrice basale (point d'attache du tubercule sur le stolon), jusqu'à l'apex, à l'extrémité opposée, où ils sont les plus nombreux.

Ces yeux comportent normalement trois germes, disposés à l'aisselle d'écaillés (feuilles réduites) qui sont les bourgeons végétatifs et représentent autant de tiges potentielles. Ils sont plus ou moins enfoncés pour protéger les bourgeons végétatifs. A la surface sont également disposées les lenticelles, qui sont des orifices circulaires à rôle respiratoire. Leur nombre varie en fonction de la superficie, de la taille du tubercule et des conditions de milieu (figure 3).

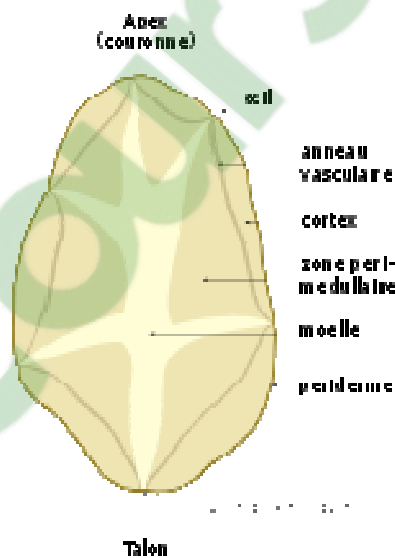


Figure 3: Coupe longitudinale d'un tubercule de *Solanum tuberosum*

Source: [fr.wikipedia.org]

### 3.1.3. Feuilles

Elles sont vertes, grandes, très découpées et disposées en spirale sur les tiges. Les feuilles, qui sont caduques et alternes, ont de dix à vingt centimètres de long. Elles comprennent 3 à 7 paires de folioles et une foliole terminale. Toutes ces folioles sont portées par de petites ramifications qui s'insèrent sur le pétiole de la feuille. Au point d'insertion, il existe des folioles plus petites ou foliolules. Ces foliolules se trouvent, dans certains cas, insérées directement sur le pétiole. Au point d'insertion du pétiole sur la tige, il y a deux stipules (figure 4).



Figure 4: Feuille de *Solanum tuberosum*

Source: [fr.wikipedia.org]

## 3.2. Appareil reproducteur

### 3.2.1. Fleur et inflorescence

L'inflorescence est une cyme qui naît à l'extrémité de la tige. Elle est composée d'une à trente fleurs, généralement entre 7 et 15. Le nombre d'inflorescences et le nombre de fleurs par inflorescence varient fortement selon les variétés. Les fleurs sont d'un diamètre de 3 à 4cm et elles sont régulières, à symétrie pentamère qui est typique de la famille des *Solanaceae*. Approximativement, au moment où s'ouvre la première fleur, une nouvelle tige, qui donnera naissance à une nouvelle inflorescence, se développe à l'aisselle de la feuille proximale. En général, deux ou trois fleurs s'ouvrent chaque jour. Elles restent ouvertes de 2 à 4 jours si bien

que chaque inflorescence présente de 5 à 10 fleurs ouvertes en même temps pendant le pic de la floraison.

Le calice est gamosépale et constitué de cinq sépales verts soudés à la base. La corolle est gamopétale ; à cinq pétales également soudés par leurs bords ; et a la forme d'une étoile. Elle peut être de couleur blanche ou d'un mélange plus ou moins complexe de bleu, pourpre et violet selon le type et la quantité d'anthocyanines présentes (figure 5 et 6).



Figure 5: Inflorescence et fleur de *Solanum tuberosum*  
Source: [fr.wikipedia.org]

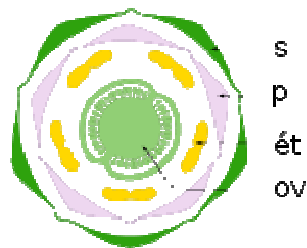


Figure 6: Diagramme floral de *Solanum tuberosum*  
Source: [fr.wikipedia.org]

### 3.2.2. Fruits et graines

L'espèce *Solanum tuberosum* produit des graines par autofécondation (comportement propre des espèces autogames), mais elle manifeste aussi une dépression endogamique (caractéristique propre aux espèces allogames). Les graines obtenues par pollinisation libre sont le résultat d'un mélange d'autopollinisation et de pollinisation croisée, la première étant la plus fréquente.

Le fruit de la pomme de terre est une baie qui ressemble à une petite tomate. Il n'est pas comestible. Sa forme peut être sphérique, allongée ou ovoïde. Son diamètre varie généralement de 1 à 3cm, et sa couleur peut aller du vert au jaunâtre, ou de marron rougeâtre à violet. Les baies présentent deux loges et peuvent contenir approximativement de 200 à 400 graines. Elles sont groupées en grappes terminales (figure 7).

Les graines sont aplaties, ovales ou réniformes et elles sont de couleur blanche, jaune ou marron jaunâtre. Elles sont petites; il peut y avoir 1000 à 1500 graines pour un gramme. Elles sont albuminées et l'embryon est enroulé (figure 8).



Figure 7: Fruits de  
*Solanumtuberosum*

Source: [fr.wikipedia.org]

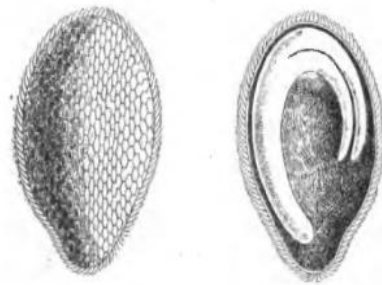


Figure 8: Graine et embryon de  
*Solanumtuberosum*

Source: ROZE, 1898

## 4. Biologie et écologie de la pomme de terre

### 4.1. Biologie

Le cycle de vie de la pomme de terre dure 100 à 150 jours en moyenne. Il se divise en 5 grandes étapes :

#### 4.1.1. Phase de germination

Entre la récolte et la transformation des yeux en germes, il s'écoule une période appelée période de dormance, qui dure 2 à 4 mois (variable selon la variété) [OSWALDO, 2010;users.skynet.be/cerclehorticolantoing.avrilpdt.html].

La période de dormance est suivie d'une évolution physiologique interne peu connue où les tubercules sont capables d'émettre des bourgeons: c'est la germination. Cette phase dépend étroitement de la température (optimum: 20 à 25°C) et de la lumière pour obtenir des germes courts et trapus.

#### **4.1.2. Phase de croissance**

Après la germination, le tubercule germé est mis en terre et ses germes se transforment en tiges feuillées. Les bourgeons axillaires donnent, au-dessus du sol, des rameaux, et au-dessous, des stolons. Cette levée se fait 2 à 3 semaines après la mise en terre des semences [OSWALDO, 2010;users.skynet.be/cerclehorticolantoing.avrilpdt.html].

#### **4.1.3. Phase de tubérisation**

Au bout d'un certain temps, variable selon la variété et le milieu, les extrémités des stolons cessent de croître et renflent pour former les ébauches des tubercules en une ou deux semaines. Cette phase se prolonge ; jusqu'à la mort de la plante ; par la phase de grossissement. Aucun indice ne permet de déceler ; sur les organes aériens ; le moment de cette ébauche des tubercules.

#### **4.1.4. Phase de floraison et de fructification**

Quand les tiges aériennes atteignent leur hauteur définitive, les fleurs apparaissent et se transforment par la suite en fruits.

#### **4.1.5. Phase de repos végétatif**

C'est la phase où les tubercules ne grossissent plus et que leur teneur en féculé est maximum. Elle se produit naturellement ou artificiellement à la mort de la plante. Pendant cette phase, les tubercules sont incapables de germer, même dans des conditions optimales de température et d'humidité.

### **4.2. Ecologie**

#### **4.2.1. Exigence édaphique**

La pomme de terre s'accommode de tous les types de sol sauf les sols salés et alcalins. Elle donne le meilleur rendement sur les sols acides (pH entre 5,2 et 6,4) [FAO, 2008]. Les sols meubles, légers, profonds, bien drainés et aérés ainsi que les sols sablo argileux ou limoneux sont idéaux [FAO, 2008; CAPAD, 2011; www.bioaktuell.ch/...cultures/4.4.11-73pdt.pdf].

#### 4.2.2. Exigence climatique

##### – Température

La température optimale pour la culture de la pomme de terre est de 18°C mais cette culture est tolérante pour les températures comprises entre 12 à 23°C. Une température située aux environs de 16°C est favorable pour la tubérisation tandis qu'une température élevée peut nuire à la formation des tubercules (supérieure à 29°C) [CAPAD, 2011].

##### – Pluviométrie

La culture de pomme de terre est exigeante en eau tout au long du cycle végétatif surtout pendant la phase de tubérisation. Elle a surtout besoin de pluies régulières et bien réparties (500 à 600mm) [CAPAD, 2011].

Elle est sensible aux périodes prolongées de sécheresse et d'humidité lors de la floraison et de la tubérisation [[www.bioaktuell.ch/...cultures/4.4.11-73pdt.pdf](http://www.bioaktuell.ch/...cultures/4.4.11-73pdt.pdf)].

##### – Photopériodisme et lumière

La culture de pomme de terre a besoin d'une luminosité bien suffisante pour la synthèse de la matière de réserve. Ceci est valable pour toutes les plantes amyloacées [CAPAD, 2011].

##### – Altitude et latitude

Dans certaines régions, une altitude au-delà de 2000m est favorablement avantageuse pour la culture de pomme de terre. A moins de 1800 m, les conditions climatiques non favorables diminuent les rendements car la culture est davantage sujette aux maladies [CAPAD, 2011].

La latitude de la culture se situe dans une fourchette de 60° LN et 53° LS.

## **5. Valeur nutritionnelle de la pomme de terre: [OSWALDO,2010]**

La teneur en matière sèche de la pomme de terre varie de 13 à 37% du poids total, soit 23% en moyenne. Elle dépend surtout et de la variété et de la durée de stockage.

La pomme de terre renferme essentiellement des glucides mais elle contient aussi des protides, diverses vitamines, des sels minéraux, des fibres alimentaires, ainsi que des traces de lipides.

### **5.1. Les glucides**

La pomme de terre est un aliment relativement riche en amidon (75 à 80 % de la matière sèche). De ce fait, elle est considérée comme un féculent.

L'amidon est constitué de 75% d'amylopectine et de 25% d'amylose. Une partie de cet amidon, environ 7%, est constituée d'amidon résistant qui n'est pas assimilé au niveau de l'intestin grêle.

### **5.2. Les protides**

Les protides représentent 2% du poids frais de pomme de terre soit 8 à 10% de la matière sèche.

Les protéines de la pomme de terre ont une bonne valeur biologique (comparable à celles du lait de vache) car elles contiennent des acides aminés essentiels en particulier la lysine. Les principales protéines sont l'albumine, la globuline, la prolamine et la gluténine. Les tubercules contiennent également des glycoprotéines (patatine et lectine).

### **5.3. Les diverses vitamines**

La pomme de terre contient une quantité impressionnante de vitamine. C'est une bonne source de vitamines hydrosolubles, en particulier de vitamine C ou acide ascorbique (une portion de 300 g de pommes de terre bouillies fournit environ 50% de l'apport journalier recommandé).

Outre la vitamine C, une quantité intéressante de vitamines B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B3 (niacine), B5 (acide pantothénique), B6 (pyridoxine) et B9 (acide folique) sont présentes.

#### **5.4. Les sels minéraux**

Les sels minéraux représentent environ 1% du poids des tubercules frais. Les pommes de terre renferment plusieurs minéraux et oligo-éléments importants pour l'alimentation humaine, dont le potassium (50% du total), du fer, du magnésium, du calcium et du phosphore. Le calcium, même s'il est en faible teneur, est facile à assimiler par rapport à celui d'autres aliments comme les céréales. Ceci grâce au faible niveau de l'acide phytique.

#### **5.5. Les fibres alimentaires**

La pomme de terre est une intéressante source de fibres. Ainsi, une pomme de terre cuite au four fournit environ 10% des apports quotidiens recommandés en fibres pour les adultes de 19ans à 50 ans.

Il est à noter que les modes de préparation culinaires peuvent affecter la valeur nutritionnelle par modification de la composition (la concentration en matière sèche, l'apport en matières grasses et la dégradation des vitamines).

### **6. Maladies de la pomme de terre**

#### **6.1. Maladies bactériennes**

Il y a quatre maladies bactériennes qui sont très courantes [D'HONDTDEFrancq, 1984].

##### **6.1.1. Pourriture brune**

Elle est causée par *Ralstoniasolanacearum* ou *Pseudomonas solanacearum*. Cette bactérie se rencontre dans toutes les régions chaudes à tempérées du monde car l'optimum thermique des souches varient entre 25 et 30°C [[www.agri-plus.net/article-275.html](http://www.agri-plus.net/article-275.html)].

Elle se manifeste par des flétrissements rapides des feuilles (figure 9). Le flétrissement est d'abord limité aux périodes chaudes de la journée puis finit par se généraliser [[www.agri-plus.net/article-275.html](http://www.agri-plus.net/article-275.html)].





Figure 9: Symptôme de la pourriture brune sur la partie aérienne

Source: UNITED NATIONS,2007

Ces symptômes au niveau des feuilles sont suivis d'une pourriture des tissus vasculaires .Les tiges et les tubercules prennent progressivement une couleur brune (figure 10). Un suintement bactérien émerge souvent à partir des yeux et des talons des tubercules infectés [[www.agri-plus.net/article-275.html](http://www.agri-plus.net/article-275.html)].

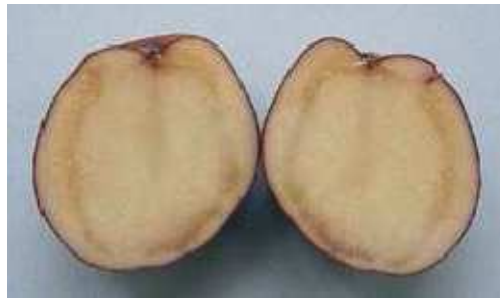


Figure 10: Symptômes de la pourriture brune sur les tubercules

Source : UNITED NATIONS, 2007

### 6.1.2. Pourriture annulaire

Cette maladie est causée par la bactérie *Clavibacter michiganensis* spp. *Sepedonicus* anciennement *Sepedonicus* dénommée *Corynebacterium sepedonicum* [D'HONDT-DEFrancq, 1984; [www.agri-plus.net/article-276.html](http://www.agri-plus.net/article-276.html)]. Elle se montre d'abord par un flétrissement, décoloration et enroulement des feuilles inférieures, puis par un jaunissement entre les nervures et finalement par un flétrissement des plantes entières [D'HONDT-DEFrancq, 1984; [www.agri-plus.net/article-276.html](http://www.agri-plus.net/article-276.html)] (figure 11).



Figure 11: Flétrissement bactérien au niveau de la partie aérienne

Source: UNITED NATIONS, 2007

Sur les tubercules, l'anneau vasculaire brunit à partir du talon évoluant en pourriture molle. Une pression du tubercule provoque le suintement d'un exsudat blanc jaunâtre bactérien provenant des tissus vasculaires (figure 12).



Figure 12: Symptômes de la pourriture annulaire au niveau des tubercules.

Source: UNITED NATIONS, 2007

### 6.1.3. Jambe noire et pourriture molle

Les symptômes de jambe noire des tiges et de pourriture molle des tubercules sont causés par les bactéries *Pectobacterium* et *Dickeya* [INRA RENNES, 2008; LATOUR et coll., 2008; HELIAS, 2008].

Sur le feuillage, des flétrissements associés ou non à des jaunissements des feuilles sont observés (figure 13).

Sur les tiges, on peut noter des pourritures humides brun foncés à des nécroses plus ou moins sèches (figure 14).



Figure13: Symptôme de la jambe noire sur les feuilles

Source: INRA RENNES, 2008



Figure 14: Symptôme de la jambe noire sur la tige

Source: UNITED NATIONS, 2007

Au niveau des tubercules, des pourritures molles et humides ainsi que des pourritures lenticellaires peuvent se développer en culture ou en conservation (figure 15 et 16).



Figure 15: Pourriture molle

Source: HELIAS, 2008



Figure 16: Pourriture lenticellaire

Source: HELIAS, 2008

#### 6.1.4 Galle commune

Cette maladie est causée par *Streptomyces scabiei* et autres *Streptomyces*. Elle affecte surtout les tubercules. Elle apparaît sous la forme de lésions superficielles, plus ou moins subérisées, des tubercules et s'enfonçant parfois en forme de cratères (figure 17).



Figure17: Symptômes de la galle commune sur les tubercules.

Source: UNITED NATIONS, 2007

## 6.2. Maladies fongiques

Il y a 4 principales maladies fongiques chez la pomme de terre.

### 6.2.1. Mildiou

C'est une maladie causée par *Phytophthora infestans*, notamment favorisée par des températures de l'ordre de 17-20°C, une forte humidité et une végétation dense.

Elle se manifeste sur la face supérieure des feuilles par des petites taches décolorées qui brunissent et entourées d'un halo jaune. Et sur la face inférieure, des fructifications du champignon apparaissent sur le pourtour des taches et donnent un feutrage blanc caractéristique.

Sur les tiges et les bouquets terminaux, des taches brunes, parfois nécrotiques, sont souvent observées, porteuses aussi de fructifications, par temps humide (figure 18).

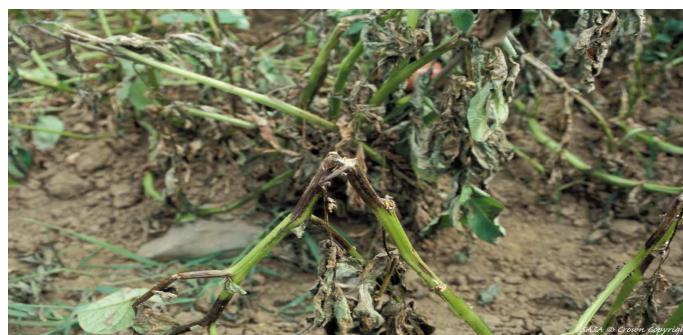


Figure 18: Symptômes de mildiou sur la partie aérienne.

Source: UNITED NATIONS, 2007

Au niveau des tubercules, des taches brunes ou grises bleuâtres apparaissent à l'extérieur, tandis que des zones marbrées de couleurs rouille s'étendent vers le centre (figure 19).



Figure 19: Symptômes de mildiou au niveau des tubercules

Source: UNITED NATIONS, 2007

### 6.2.2. Alternariose

C'est une maladie causée par *Alternaria solani* et *Alternaria alternata*. Les symptômes se manifestent d'abord par des taches dispersées, bien délimitées, brunes à noires et à bord anguleux puis le centre des taches se dessèchent (figure 20). Les symptômes sont assez rares sur les tubercules. Ces champignons se développent à un optimum de température entre 25 à 30°C.

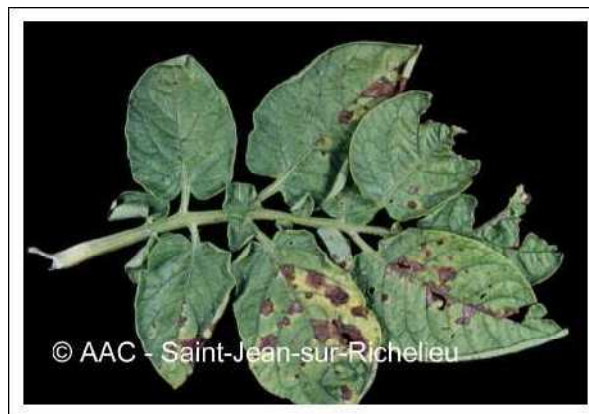


Figure 20: Brûlure alternarienne sur les feuilles

Source: RYCKMANS, 2006



### 6.2.3. Fusariose

La fusariose ou pourriture sèche des tubercules est provoquée par le genre *Fusarium* (notamment *Fusarium roseum* var. *sambucinum* et *Fusarium solani* var. *coeruleum*).

Les températures optimales pour l'infection des tubercules sont de l'ordre de 15 à 25°C.

Les tissus en surface brunissent et se dépriment (déshydratation), pouvant présenter des stries concentriques avec de coussinets mycéliens blanchâtres (figure 21).



Figure 21: Pourriture fusarienne

Source: UNITED NATIONS, 2007

### 6.3. Maladies virales

Plusieurs virus à l'origine des maladies de la pomme de terre sont recensés (figure 22).

Les virus les plus courants sont :

a- Virus Y ordinaire, qui provoque des taches nécrotiques noires sur les feuilles et sur les nervures. Les feuilles se dessèchent et se frissent et elles ont ensuite un aspect gaufré.

b- Virus Y nécrotique, qui donne le même symptôme que le virus Y ordinaire mais les taches sont plus nombreuses.

c- Virus X, qui sont de type mosaïques.

d- Virus A, qui donne des symptômes semblables à la mosaïque.

e- Virus S: le symptôme se manifeste par des feuillages rugueux au toucher et par la réduction de la taille du plant.

f- Virus M, qui provoque des symptômes semblables à la mosaïque et aussi un enroulement des feuilles du sommet.

g- Virus de l'enroulement, qui donne de l'enroulement, du jaunissement et du rougissement des feuilles du sommet et aussi de la nécrose sur les tubercules



Figure 22: Symptômes de la maladie virale chez la pomme de terre  
Source: UNITED NATIONS, 2007

**DEUXIEME PARTIE :**  
**METHODOLOGIE**



## **1. DIAGNOSTIC DES MALADIES SUR TERRAIN**

Le but de cette étape est de décrire les symptômes observés sur terrain et de collecter les explants malades.

Des symptômes sont observés macroscopiquement sur les parties aériennes des plantes malades. Ces parties sont collectées après avoir décrit les différents symptômes de la maladie.

### **1.1. Matériel utilisé:**

Matériels et équipement (ANNEXE IV)

### **1.2. Enquêtes sur terrain**

Des enquêtes ont été menées dans la région de Vakinankaratra du 31 mai au 02 juin 2011. Les informations recueillies ont été notées sur des fiches préalablement élaborées pour recueillir des renseignements concernant les paysans, les maladies de la pomme de terre et les descriptions des symptômes observés (ANNEXE V).

### **1.3. Prélèvement des échantillons malades sur terrain**

En même temps que les enquêtes, des parties de plantes présentant des symptômes ont été prélevées. Elles ont été découpées soigneusement à l'aide d'un sécateur et mises séparément dans des sachets plastiques numérotés selon les ordres de sites de prélèvement. Les échantillons prélevés ont été conservés dans une glacière pendant le trajet jusqu'au laboratoire mobile. Le temps moyen du trajet était de six heures.

## **2. ISOLEMENTS ET IDENTIFICATIONS PRELIMINAIRES DES GERMES BACTERIENS ISSUS DES PLANTS MALADES**

Le but de cette étape est d'isoler et de purifier les bactéries à partir des parties malades des plantes prélevées sur terrain.

Les échantillons présentant des symptômes ont été traités et mis en culture sur des milieux spécifiques permettant d'isoler le ou les agents pathogènes. Ces derniers subissent

ensuite une étape de purification puis des identifications préliminaires avec des séries d'observations microscopiques.

## **2.1. Matériels utilisés:**

### **2.1.1. Matériel biologique:**

- Parties de pomme de terre malades prélevées sur terrain
- Solvants utilisés : alcool à 70%, Eau de Javel à 10%, eau distillée stérile.
- Milieu de culture utilisé: Nutrient Agar (NA) (ANNEXE I)

### **2.1.2. Matériels et équipements: (ANNEXEIV)**

## **2.2. Isolements et identifications préliminaires des germes des échantillons malades**

### **2.2.1. Prétraitement des matériels végétaux**

La technique de prétraitement utilisée est celle adoptée par FIFAMANOR. Les échantillons conservés ont été trempés dans de l'alcool 70% pendant 1 minute puis rincés à l'eau distillée stérile pendant 5 minutes. Ils ont été ensuite transférés dans de l'eau de javel à 10% pendant 15 minutes puis rincés 3 fois dans de l'eau distillée stérile pendant 15 minutes.

### **2.2.2. Isolement et purification des souches bactériennes**

Sous la hotte à flux laminaire et autour de la flamme du bec Bunsen, les échantillons désinfectés précédemment ont été découpés en petit carré à l'aide d'un scalpel stérile puis déposés sur une gélose nutritive ou Nutrient Agar (NA) additionnée d'antifongique (ANNEXE III). Les boîtes ont été ensuite incubées à 25°C. Les cultures ont été observées tous les jours et les souches bactériennes qui émergent des explants ont été transférées sur NA stérile sans antifongique.

Pour la purification, les souches ont été repiquées tous les 24 heures sur des nouveaux milieux NA stériles sans antifongique jusqu'à l'obtention de souche pure (un seul type de colonies dans la boîte).

Le nombre de différentes souches isolées et purifiées pour chaque explant malade a été noté.

### **2.2.3. Identification préliminaire des souches bactériennes isolées et purifiées**

Elle s'est déroulée en 3 étapes:

La première étape a été la caractérisation macroscopique des différentes colonies pures isolées. A partir d'une souche de 24 heures, la forme, la couleur, la taille, le contour, l'aspect, la consistance, le relief et la transparence de chaque colonie ont été observés puis notés.

Chaque colonie isolée pure a été ensuite prélevée et montée sur lame et lamelle avec une goutte d'eau distillée stérile puis la préparation a été observée au microscope. Le mode de groupement et la mobilité de chaque bactérie observée ont été notés.

La troisième étape a été la coloration de Gram. A partir d'une souche jeune de 24 heures de chaque bactérie, une colonie isolée a été prélevée et étalée sur une lame puis fixée par séchage sur une plaque chauffante. Le frottis a été couvert avec du violet de Gentiane pendant une minute puis avec du lugol pendant 30 secondes. Il a été ensuite décoloré avec de l'alcool/acétone et rincé à l'eau de robinet puis couvert par de la Fuschine pendant une minute. La lame a été lavée à l'eau de robinet puis séchée sur plaque chauffante et observée au microscope optique à immersion. La forme, la taille et la couleur de la bactérie ont été notées. La bactérie qui se colore en rose est une bactérie à Gram négatif et celle en violet est une bactérie à Gram positif.

## **3. RECHERCHE DES GERMES BACTERIENS RESPONSABLES DES MALADIES DIAGNOSTIQUES**

Cette étape a pour but de confirmer le diagnostic observé sur terrain au laboratoire et d'identifier l'agent pathogène responsable des symptômes de la ou des maladies.

La technique utilisée est le postulat de Koch. Elle consiste à inoculer un germe susceptible d'être le responsable de maladies isolé à partir des pieds malades sur une plante saine. Les observations des symptômes apparus permettent de comparer si ces symptômes sont identiques à ceux observés sur terrain et d'identifier par la suite le germe responsable correspondant.

### **3.1. Matériel utilisé**

#### **3.1.1. Matériel biologique:**

- Souches bactériennes isolées
- Semences de *Solanum tuberosum*:
  - variété «meva»
  - variété «diamondra» de FIFAMANOR (résistante aux maladies fongiques)
- Substrat de culture: 2/3 de sol et 1/3 de sable

#### **3.1.2. Matériels et équipements:(ANNEXE IV)**

### **3.2. Mise au point de culture saine**

Le premier essai a été effectué sur la variété «meva» dont les semences ont été achetées au marché d'Anosibe.

Les semences ont été désinfectées selon le processus de désinfection de FIFAMANOR (décrit au paragraphe 2.2.1 : Prétraitement des matériels végétaux). Elles ont été ensuite mises à l'obscurité à une température environ 25°C pendant une semaine. Les tubercules avec des germes ont été transférés dans un endroit préalablement désinfecté et exposé à la lumière pendant 38 jours où des germes bien verts de 0,8 à 2,2cm de longueur ont été obtenus.

Pour le cas de la variété «diamondra», dont les semences sont déjà pré-germées chez FIFAMANOR avec des germes allant de 0,4 à 0,8 cm, l'étape décrite ci-dessus n'est pas nécessaire.

Les semences pré-germées ont été mises en culture dans les substrats préalablement stérilisés (2 fois à la température de 120°C et à la pression de 1 bar pendant 20 minutes) et distribués en sachet plastique. Les cultures ont été ensuite déposées dans des bacs en plastique et mises dans un endroit clos bien éclairé à température ambiante. Les cultures ont été arrosées tous les trois jours avec de l'eau de robinet stérile.

### **3.3. Préparation de l'inoculum**

Pour chaque souche de bactéries pures isolées des échantillons malades et à partir d'une culture de 24 heures, une suspension bactérienne de  $10^8$  UFC équivalent à 0,5 Mcf a été préparée par le biais d'un Densicheck.

### **3.4. Inoculation des pieds sains**

Après 11 jours de mise en terre de la variété «meva», les pieds tests ont été inoculés par un volume d'inoculum de  $10^8$  UFC /ml de chaque souche bactérienne, et les pieds témoins par un même volume d'eau physiologique stérile (en raison de 2 pieds de pomme de terre par traitement).

Pour les bactéries isolées des pieds malades ayant les symptômes de flétrissement bactérien pendant le diagnostic sur terrain, 20  $\mu$ l de la suspension bactérienne ont été inoculées à l'aisselle de la feuille inférieure préalablement creusée par une aiguille de seringue stérile.

Et pour les autres bactéries ayant causé des taches foliaires sans flétrissement, 100 $\mu$ l de la suspension bactérienne ont été pulvérisés sur la face supérieure du limbe de deux feuilles inférieures préalablement blessées par une aiguille de seringue stérile.

Par la suite, les bactéries qui ont reproduit les symptômes similaires à ceux qui sont observés sur terrain ont été inoculées sur de nouveaux plants de pomme de terre de variété «diamondra ». L'inoculation a été effectuée après 15 jours de mise en terre en raison de 9 pieds par traitement.

### **3.5. Observations et suivis**

Des observations ont été faites tous les trois jours. Les taches foliaires, le flétrissement de la partie aérienne et la mort de la plante ont été les caractères observés. Le moment d'apparition des symptômes, l'augmentation des taches ou du flétrissement et la mort de la plante ont été notés. A partir du moment de l'inoculation, les nombres des feuilles et les longueurs de chaque pied de différents traitements (test et témoin négatif) ont été respectivement comptés et mesurés tous les trois jours.

Les parties de la plante présentant des symptômes similaires à ceux qui sont observés et prélevés sur terrain ont été prélevées après les 9 jours de suivi. Elles ont subi le même protocole d'isolement et de purification que les échantillons prélevés sur terrains. Les colonies bactériennes obtenues ont été comparées macroscopiquement avec celle qui a été inoculée.

#### **4. RECHERCHE DES ACTIVITES ANTIBACTERIENNES DES PREPARATIONS TRADITIONNELLES MALAGASY**

Le but de cette étape est de tester les préparations traditionnelles utilisées comme moyen de lutte biologique sur les germes bactériens isolés des pieds malades de pomme de terre et qui ont reproduit les symptômes similaires par le Postulat de Koch.

Deux méthodes de test d'activité antimicrobienne sont adoptées. Elles consistent à mettre les germes en contact avec un produit (soit la préparation traditionnelle soit le témoin positif) à concentration connue et d'évaluer la sensibilité des germes vis-à-vis du produit (méthode de diffusion sur gélose) et de déterminer sa concentration minimale inhibitrice ou CMI (méthode de microdilution).

##### **4.1. Matériel utilisé:**

###### **4.1.1. Matériels biologiques:**

- Trois préparations (ANNEXE VI)
  - Préparation 1 : rumen de vache, *Sida rhombifolia*, *Tephrosia populnea*, *Agave sp.*
  - Préparation 2 : *Agave sp.*, *Tephrosia populnea*, bouse de vache, savon local
  - Préparation 3 : *Agave sp.*, *Melia azedarack*, purin de bouse de vache
- Souches bactériennes isolées des pieds malades sur terrain et vérifiées par le Postulat de Koch
- Milieu solide: Nutrient Agar (NA)
- Milieu liquide: bouillon Nutritif (ANNEXE II)

#### **4.1.2. Matériels non biologiques et équipements: (ANNEXE IV)**

#### **4.2. Choix et préparation des recettes**

Au cours des enquêtes sur terrains concernant les moyens de lutte biologique qui ont été effectuées dans la région de VAKINAKARATRA et d'ANALAMANGA (août-décembre 2010) par le projet PIC: ULB/UA/LBM, des préparations traditionnelles utilisées comme moyen de lutte biologique ont été recensées.

Parmi ces préparations, trois ont été sélectionnées pour ce travail dont celles qui sont encore en cours d'utilisation et contre les maladies les plus fréquentes de la culture de pomme de terre. Elles ont été préparées suivant les pratiques paysannes (ANNEXE VI).

Pour les trois préparations sélectionnées (préparation 1, préparation 2, préparation 3), trois(3) variantes ont été utilisées pour chaque type de test d'activité antimicrobienne: préparations brutes (B), préparations filtrées successivement sur filtres de 0,45 µm puis de 0,20 µm (F) et préparations autoclavées à 120°C pendant 20 minutes (A). D'où les préparations ont été codées en :

- 1<sub>B</sub>, 2<sub>B</sub>, 3<sub>B</sub>(Préparations brutes)
- 1<sub>F</sub>, 2<sub>F</sub>, 3<sub>F</sub>(Préparations filtrées)
- 1<sub>A</sub>, 2<sub>A</sub>, 3<sub>A</sub>(Préparations autoclavées)

#### **4.3. Préparation de l'inoculum**

Pour chaque souche bactérienne, un inoculum de 10<sup>6</sup>UFC/ml a été préparé (cf. Préparation de l'inoculum).

#### **4.4. Test d'activité antimicrobienne**[ALLOUCHE et al, 2010 ; ALI-EMMANUEL et al, 2002]

##### **4.4.1. Méthode de diffusion sur gélose**

##### **– Méthode de disque**

Une culture en nappe sur NA (ANNEXE I) a été faite avec chaque suspension bactérienne. Après séchage d'environ 10 minutes, des disques stériles imbibés de 20 µl de recette à tester et de chloramphénicol (témoin positif à 0,4mg/ml) ont été déposés sur la culture (Figure 23).

Clicours.COM

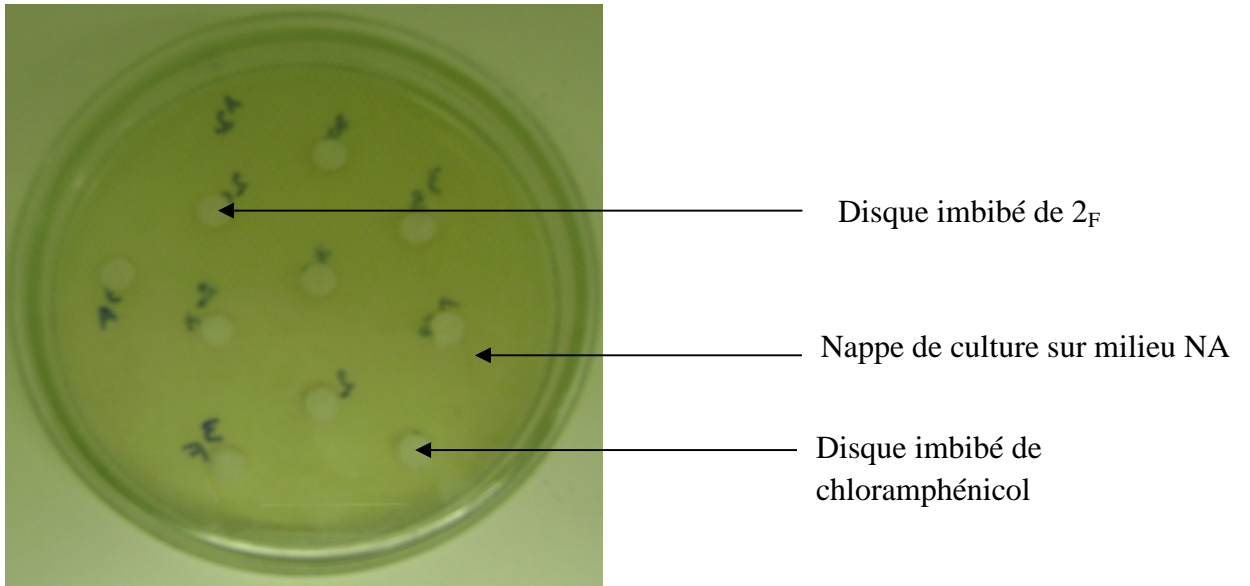


Figure 23 : Photo de la diffusion par disque avec la souche 1<sub>2</sub>

– **Méthodes des puits**

La culture en nappe a été délicatement creusée pour faire des puits d'environ à 6mm de diamètre. Chaque puits a été couvert de 50µl de recette à tester et de chloramphénicol (témoin positif à 0,4mg/ml) (Figure 24).

La boîte est ensuite incubée à la température de 25°C. Après 24 heures d'incubation, la présence de zone d'inhibition est observée puis mesurée.

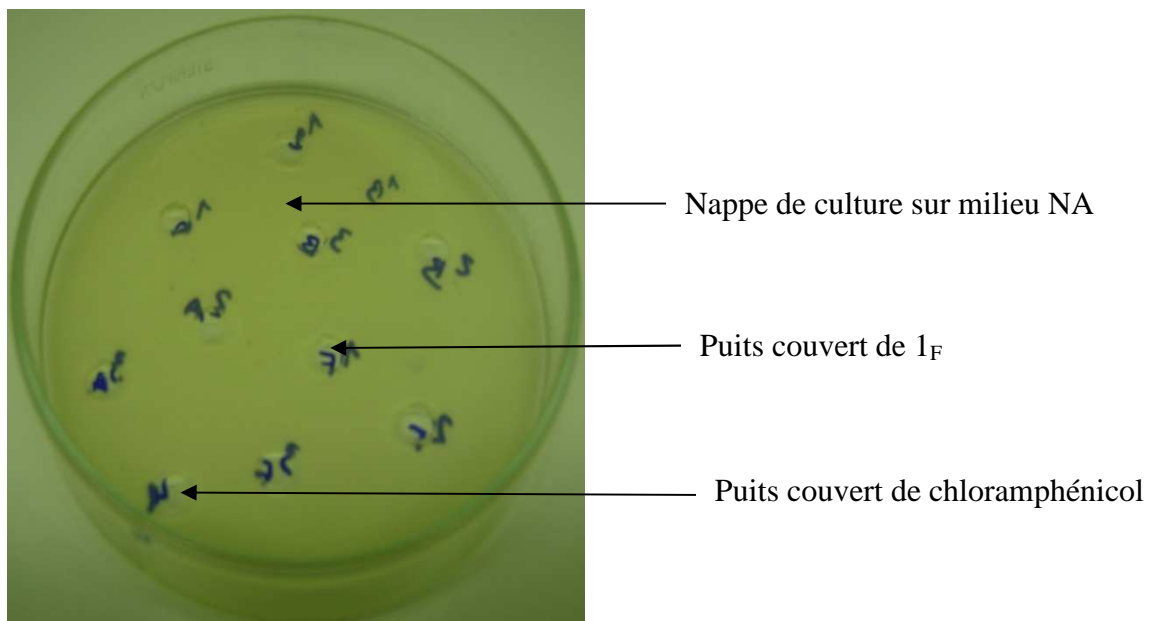


Figure 24 : Photo de la diffusion par puits avec la souche 1<sub>2</sub>



#### 4.4.2. Méthode de microdilution

Les préparations qui ont présenté des zones d'inhibition supérieures à 10 mm sont sélectionnées pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode de microdilution en milieu liquide.

Des dilutions géométriques successives de raison 2 ont été effectuées sur plaque de 96puits. La concentration des recettes utilisées a été celle de la préparation de départ. Le chloramphénicol a été utilisé à une concentration de 0,05mg/ml, comme antibiotique de référence. Une lecture de densité optique à 630nm a été faite dès que la préparation sur plaque a été terminée. La culture a été ensuite incubée à 25°C pendant 24heures et une deuxième lecture a été faite après l'incubation. Une coloration, avec 40µl de MTT ou sel de tétrazolium à 0,7mg/ml, a été procédée après la deuxième lecture pour évaluer macroscopiquement la croissance bactérienne en fonction des dilutions successives. Le pourcentage d'inhibition ou taux d'inhibition a été calculé selon la formule:

$$\% \text{ d'inhibition} = DO (1-(T/C)) \times 100 \text{ où}$$

% d'inhibition : taux d'inhibition ou pourcentage d'inhibition

T : test avec  $T = DO (\text{milieu} + \text{inoculum} + \text{extrait}) - DO (\text{milieu} + \text{extrait})$

C : croissance avec  $C = DO (\text{milieu} + \text{inoculum}) - DO (\text{milieu})$

La concentration de l'extrait avec laquelle l'inhibition est à partir de 90% constitue la CMI.

# TROISIEME PARTIE

# **I. RESULTATS**

## **1. DIAGNOSTIC DES MALADIES DE POMME DE TERRE SUR TERRAIN**

### **1.1. Enquêtes sur terrain**







Six propriétaires de champs de pomme de terre malades ont été enquêtés lors de la descente dans la zone du Vakinankaratra. Les coordonnées GPS de différents sites de prélèvement, les informations sur la culture en général, l'apparition de différents symptômes observés ainsi que leur évolution, et les traitements de la maladie utilisés par les paysans locaux enquêtés ont été recueillis sur des fiches d'enquêtes préalablement élaborées (ANNEXE V).

### **1.2. Prélèvement des échantillons malades sur terrain**

Seize échantillons malades ont été prélevés sur les différents sites d'altitude de la région de Vakinankaratra dont six échantillons sont souvent répétés avec des symptômes différents (tableau 1). Ils ont été rencontrés sur différentes parcelles à diverses altitudes et les symptômes sont parfois observés sur une parcelle entière.

La suite de ce travail est alors axée sur ces six échantillons malades. Ils ont présenté des symptômes de taches foliaires centrées ou éparpillées sur les limbes, des tiges marron et du flétrissement de la partie aérienne (tableau 1).

Tableau 1: Echantillons prélevés sur terrain et description des symptômes

Numéro échantillon et description des symptômes	Photos des symptômes
1 : Tâche marron qui commence au bord du limbe, centre du limbe jaune, feuille fanée	
2 : Tâche marron foncée s'éparpillant sur tout le limbe, la feuille n'est pas fanée	
3 : Feuille et tige marron, partie aérienne entière fanée	
4 : Feuille verte fanée et enroulée avec grosse tache noire au centre	
5 : Tache jaune pointillée de marron foncée au bord du limbe et se converge vers le centre, feuille gaufrée tendant à s'enrouler	
6 : Feuille verte avec une tache en cercle concentrique brune	

## 2. ISOLEMENTS ET IDENTIFICATIONS PRELIMINAIRES DES GERMES BACTERIENS ISSUS DES ECHANTILLONS MALADES

Après les différentes étapes d'isolement, 11 bactéries pures ont été isolées des échantillons différents avec des caractères macroscopiques différents (tableau 2). Parmi ces

11 bactéries, trois ( $2_1$ ,  $2_2$  et  $2_3$ ) ont été isolées de l'échantillon 2 et une bactérie de l'échantillon 5 et 6 (figure 25).

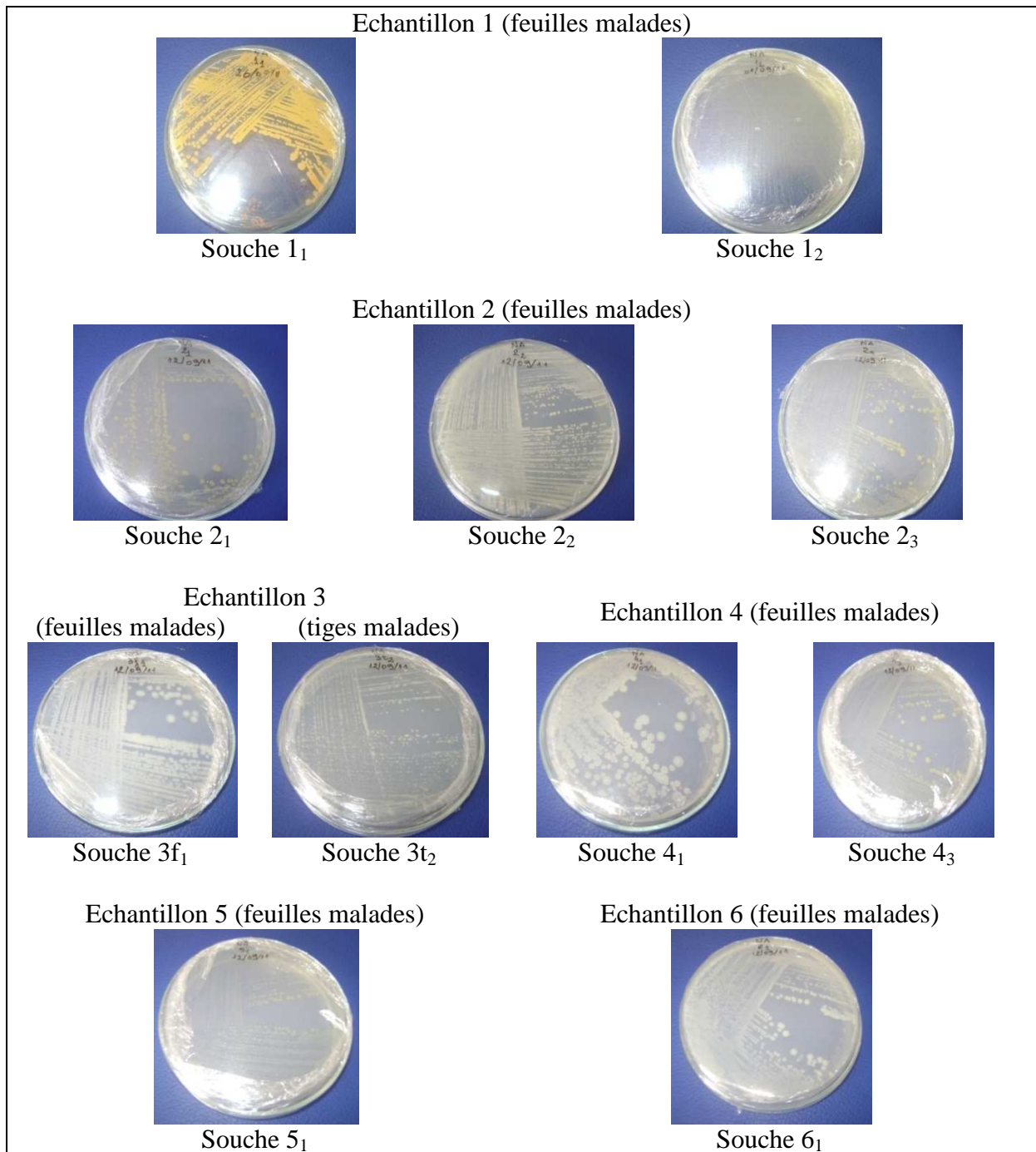


Figure 25: Photos des bactéries pures isolées de 6 symptômes de maladies.

Tableau 2: Caractères macroscopiques de chaque colonie bactérienne:

Souches	couleur	taille	contour	transparence	relief	aspect	consistance
1 <sub>1</sub>	orange	petite	régulier	opaque	bombée	lisse	grasse
1 <sub>2</sub>	jaune	moyenne	régulier	opaque	bombée	lisse	grasse
2 <sub>1</sub>	jaunâtre	moyenne	régulier	translucide	Semi-bombée	lisse	grasse
2 <sub>2</sub>	blanchâtre	moyenne	régulier	translucide	Semi-bombée	lisse	grasse
2 <sub>3</sub>	jaunâtre	moyenne	régulier	translucide	Semi-bombée	lisse	grasse
3f <sub>1</sub>	blanchâtre	grande	rugueux	opaque	bombée	rugueux	crémeux
3t <sub>2</sub>	blanchâtre	petite	régulier	translucide	bombée	lisse	grasse
4 <sub>1</sub>	blanchâtre	grande	régulier	opaque	bombée	lisse	grasse
4 <sub>3</sub>	orangeâtre	moyenne	régulier	translucide	Semi-bombée	lisse	grasse
5 <sub>1</sub>	blanchâtre	Très grande	régulier	translucide	bombée	lisse	grasse
6 <sub>1</sub>	blanchâtre	moyenne	régulier	translucide	bombée	lisse	grasse

Après observation microscopique sans colorant (examen à l'état frais), 8 bactéries sont immobiles et 6 bactéries groupées (tableau 3).

Tableau 3: Mobilité et mode de groupement de chaque bactérie:

Souches	Mobilité	Mode de groupement
1 <sub>1</sub>	immobile	groupées 2 à 2
1 <sub>2</sub>	immobile	groupées 2 à 2
2 <sub>1</sub>	mobile	isolée
2 <sub>2</sub>	immobile	isolée
2 <sub>3</sub>	immobile	groupées 2 à 2
3f <sub>1</sub>	immobile	groupées en chaînettes
3t <sub>2</sub>	mobile	isolée
4 <sub>1</sub>	immobile	groupées en chaînettes
4 <sub>3</sub>	immobile	groupées 2 à 2
5 <sub>1</sub>	immobile	isolée
6 <sub>1</sub>	mobile	isolée

Après coloration de Gram, 6 sont des bactéries à Gram négatif (colorées en rose) alors que 7 bactéries sont de forme allongées ou en bâtonnets ou des bacilles (tableau 4).

Tableau 4: Forme et Gram de chaque bactérie:

Souches	Forme	Gram
1 <sub>1</sub>	cocci	négatif
1 <sub>2</sub>	cocci	négatif
2 <sub>1</sub>	bacille	négatif
2 <sub>2</sub>	bacille	positif
2 <sub>3</sub>	cocci	négatif
3f <sub>1</sub>	bacille	positif
3t <sub>2</sub>	bacille	négatif
4 <sub>1</sub>	bacille	positif
4 <sub>3</sub>	cocci	négatif
5 <sub>1</sub>	bacille	positif
6 <sub>1</sub>	bacille	positif



### 3. RECHERCHE DES GERMES RESPONSABLES DE CERTAINES MALADIES DIAGNOSTIQUES PAR POSTULAT DE KOCH

#### 3.1. Mise au point de la culture saine

Pour la variété «meva», la levée est après 6 jours de mise en terre avec un taux de germination de 71,11%. Pour la variété «diamondra», le taux de germination est de 94,44% après 11 jours de mise en terre (tableau 5).

Tableau 5: Levée et taux de germination de 2 variétés «meva» et «diamondra»:

	Meva	Diamondra
Nombre de pieds cultivés	45	36
Levée après mise en terre	6 jours	11 jours
Nombre de pieds germés	32	34
Taux de germination (%)	71,11	94,44

#### 3.2. Inoculation des pieds sains

##### 3.2.1. Variété «meva»

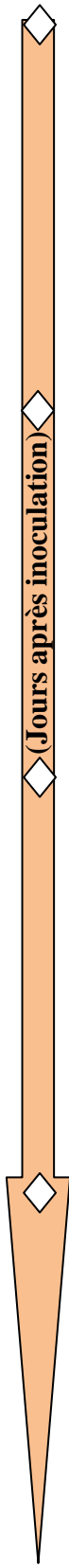
L'inoculation s'est faite après 11 jours de la mise en terre

##### – Inoculation à l'aisselle de la première feuille

Le pied témoin est resté intact pendant les 9 jours de suivis. De même pour les souches 1<sub>1</sub>, 3f<sub>1</sub>, 4<sub>1</sub> et 4<sub>3</sub>, aucun symptôme n'est apparu.

Pour la souche 1<sub>2</sub>, après 6 jours d'inoculation, des symptômes de taches sont apparus au niveau de la zone inoculée sur les deux pieds observés. Les taches et le flétrissement ont affecté les limbes foliaires au 9<sup>ème</sup> jour après inoculation (Figure 26).

Pour la souche 3t<sub>2</sub> et dès le 3<sup>ème</sup> jour après l'inoculation, les symptômes observés sur les deux pieds sont le fanage foliaire et le changement de couleur de la tige (verte au marron) partant de la zone inoculée. Seul le pied P<sub>2</sub> est mort au 9<sup>ème</sup> jour après l'inoculation (Figure 27).



0 : Inoculation



3<sup>ème</sup> : aucun symptôme



6<sup>ème</sup> : P<sub>1</sub>, p<sub>2</sub> : Tache marron au niveau de la zone inoculée (3 mm)



Tache marron

9<sup>ème</sup> : P<sub>1</sub>, p<sub>2</sub> : Tache marron au bord de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> feuille (2 mm) ; fanage de ces 2 feuilles.



Figure 26: Symptômes observés tout les 3 jours sur 1<sub>2</sub>

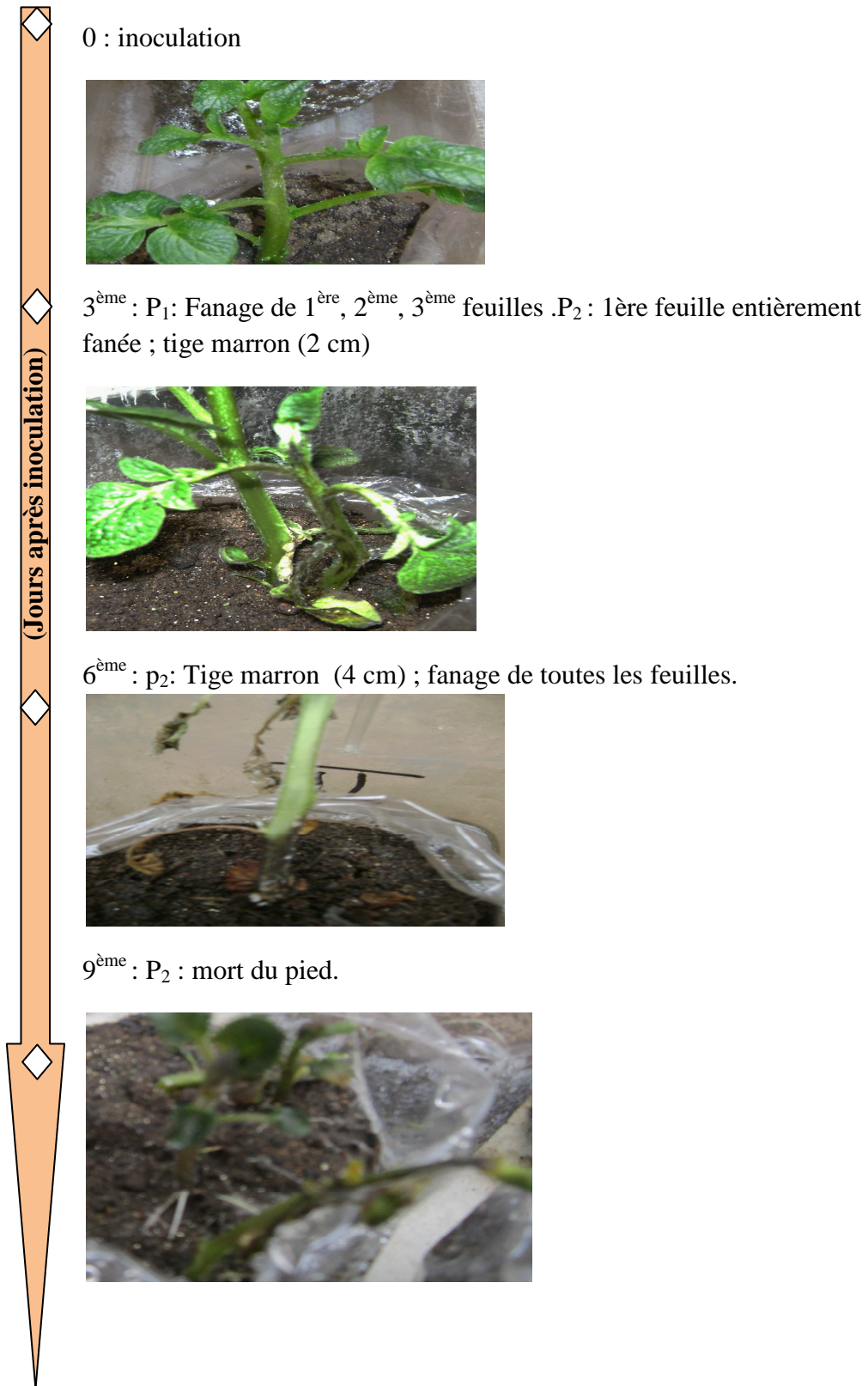


Figure 27: Symptômes observés tous les 3 jours sur 3t<sub>2</sub>

Au cours des suivis des tests, la croissance des longueurs moyennes des tiges est de 21,5 cm pour les pieds témoins et entre 16 à 31,5 cm pour les pieds tests à partir du moment d'inoculation (11<sup>ème</sup> jour après mise en terre) jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour après mise en terre (tableau 6 et figure 28). Les pieds témoins ont mis en moyenne une évolution de 7,5 feuilles du moment d'inoculation jusqu'au dernier jour de suivi et les pieds tests en ont mis de 5 à 7,5 en moyenne (tableau 7 et figure 29).

Tableau 6: Longueur des pieds(en cm) inoculés sur l'aisselle de la première feuille mesurée tous les 3 jours:

Jour de mesure	Souches inoculées						
	t <sub>1</sub>	1 <sub>1</sub>	1 <sub>2</sub>	3f <sub>1</sub>	3t <sub>2</sub>	4 <sub>1</sub>	4 <sub>3</sub>
0	0	0	0	0	0	0	0
11	9,5 ± 2,5	12,5 ± 0,5	10,0 ± 0	5,0 ± 0	6,0 ± 1	9,0 ± 3,0	6,5 ± 0,5
14	19,0 ± 1,0	21,0 ± 1,0	17,5 ± 0,5	13,0 ± 0	13,0 ± 2,0	18,0 ± 0	18,5 ± 0,5
17	26,5 ± 0,5	29,0 ± 3,0	28,5 ± 2,5	21,0 ± 0	22,0 ± 0	31,0 ± 1,0	32,0 ± 0
20	31,0 ± 1,0	32,0 ± 3,0	33,5 ± 3,5	24,5 ± 0,5	22,0 ± 0	35,5 ± 0,5	38,0 ± 0

t<sub>1</sub>: eau physiologique stérile inoculée comme témoin.

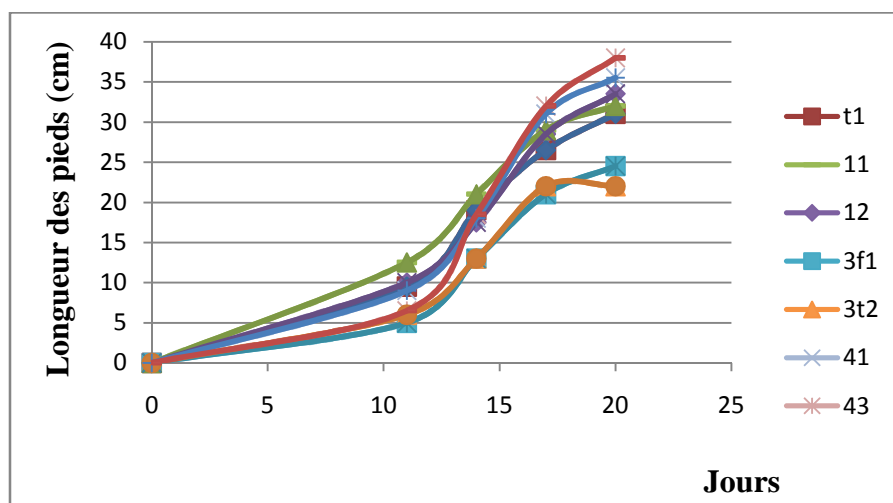


Figure 28: Longueur de pieds (cm) inoculés sur l'aisselle de la 1<sup>ère</sup> feuille mesurée tous les 3 jours en fonction du jour de suivi.

Tableau 7: Nombre des feuilles des pieds inoculés sur l'aisselle de la 1<sup>ère</sup> feuille, dénombré tous les 3 jours:

Jour de mesure	Souches inoculées						
	t <sub>1</sub>	1 <sub>1</sub>	1 <sub>2</sub>	3f <sub>1</sub>	3t <sub>2</sub>	4 <sub>1</sub>	4 <sub>3</sub>
0	0	0	0	0	0	0	0
11	5,0 ± 1,0	5,5±0,5	5,0 ± 1,0	3,0 ± 0	4,0± 0	5,0±1.0	4,5±0,5
14	7,5 ± 0,5	8,5±0,5	6,0 ± 1,0	6,0 ± 0	6,0± 0	5,5±3,5	7,0±1,0
17	10,5±0,5	11,0±0,0	8,5 ± 0,5	9,5±0,5	9,0± 0	9,5±2,5	9,5±1,0
20	12,5±0,5	13,0±0,0	10,5±0,5	12,0± 0	9,0±0	11,0±3,0	12,0±2,5

t<sub>1</sub> : eau physiologique stérile utilisée comme témoin.

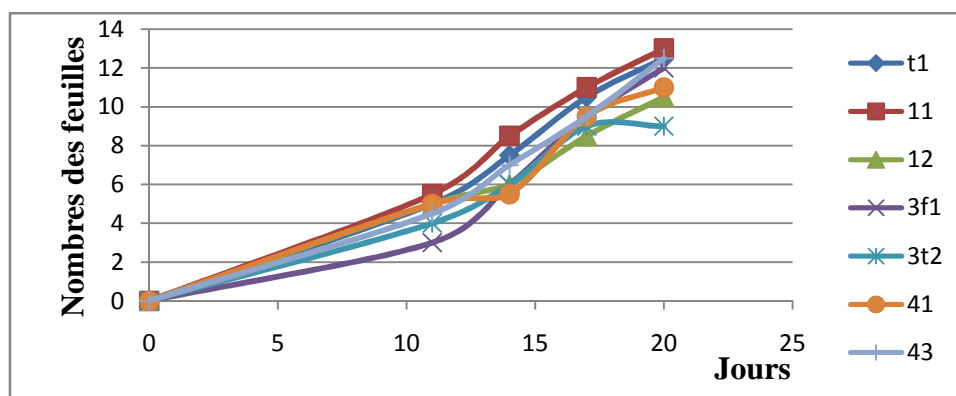


Figure 29: Nombre de feuilles des pieds inoculés sur l'aisselle de la 1<sup>ère</sup> feuille en fonction du jour d'observation.

#### – Inoculation par pulvérisation de la surface des limbes de 2 feuilles les plus âgées

Le témoin reste intact pendant les 9 jours de suivi. De même pour les pieds tests, il n'y a eu aucun symptôme.

La croissance des longueurs moyennes des tiges des pieds témoins était de 30,5 cm et celle observée des pieds tests était entre 20,5 et 32 cm au cours des suivis (tableau 8 et figure 30).

Pour l'évolution du nombre de feuille, il y a eu en moyenne une augmentation de 9 feuilles sur les pieds témoins et 5,5 à 9,5 feuilles sur les pieds tests du moment d'inoculation jusqu'au dernier jour de suivi (tableau 9 et figure 31).

Tableau 8: Longueur des pieds inoculés par pulvérisation de 2 feuilles les plus âgées :

Jour de mesure	Souches inoculées					
	t <sub>2</sub>	2 <sub>1</sub>	2 <sub>2</sub>	2 <sub>3</sub>	5 <sub>1</sub>	6 <sub>1</sub>
0	0	0	0	0	0	0
11	8,0 ± 0	6,5 ± 0,5	6,0 ± 1,0	5,5 ± 0,5	9,5 ± 3,5	8,0 ± 2,0
14	17,5 ± 0,5	13,5 ± 0,5	15,0 ± 3,0	12,0 ± 1,0	19,0 ± 1,0	17,0 ± 2,0
17	29,5 ± 2,5	25,5 ± 4,5	24,0 ± 4,0	26,5 ± 3,5	24,5 ± 0,5	25,0 ± 4,0
20	38,5 ± 3,5	31,5 ± 4,5	32,0 ± 6,0	37,5 ± 6,5	30,0 ± 0	33,0 ± 6,0

t<sub>2</sub> : eau physiologique stérile inoculée comme témoin.

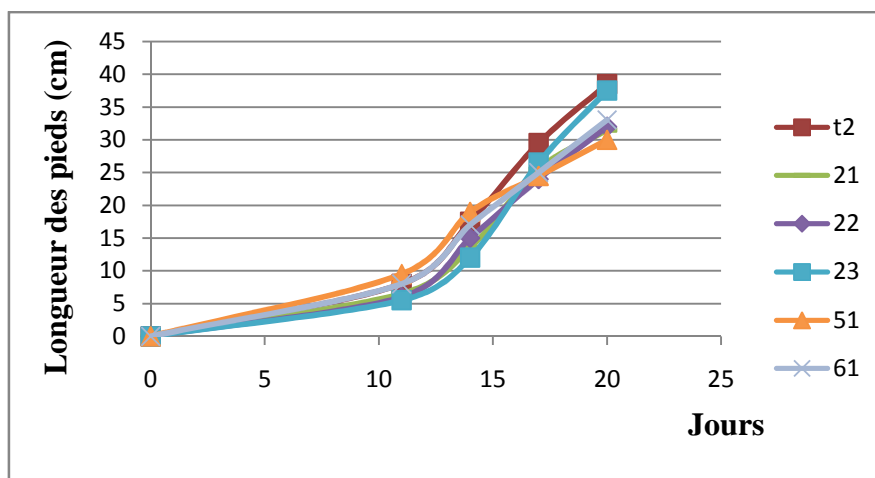


Figure 30: Longueur de pieds (cm) inoculés par pulvérisation de 2 feuilles les plus âgées en fonction du jour d'observation.

Tableau 9: Nombre des feuilles des pieds inoculés par pulvérisation des 2 feuilles les plus âgées:

Jour de mesure	Souches inoculées					
	t <sub>2</sub>	2 <sub>1</sub>	2 <sub>2</sub>	2 <sub>3</sub>	5 <sub>1</sub>	6 <sub>1</sub>
0	0	0	0	0	0	0
11	4,0 ± 0	5,0 ± 0,0	5,5 ± 0,5	4,0 ± 1	5,0 ± 0	5,5 ± 0
14	6,0 ± 1,0	6,5 ± 0,5	7,0 ± 0	5,5 ± 0,5	7,0 ± 0	7,5 ± 1,5
17	9,5 ± 1,5	8,5 ± 0,5	9,0 ± 0	10,0 ± 0	9,0 ± 0	9,5 ± 1,5
20	13,0 ± 2,0	10,5 ± 0,5	11,0 ± 0	13,5 ± 1,5	11,0 ± 0	11,5 ± 1,5

t<sub>2</sub> : eau physiologique stérile inoculée comme témoin.

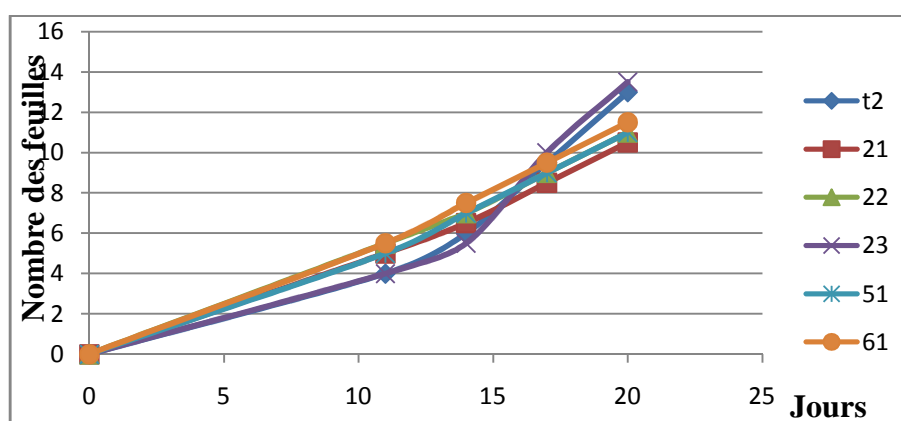


Figure 31: Nombre de feuilles des pieds inoculés par pulvérisation des 2 feuilles les plus âgées en fonction du jour d'observation

### 3.2.2. Variété «diamondra»

L'inoculation de 1<sub>2</sub> et de 3t<sub>2</sub> s'est fait après 15 jours de la mise en terre en raison de 9 pieds par souche.

Les 2 souches ont été inoculées sur l'aisselle de la première feuille de chaque pied.

Les 2 souches 1<sub>2</sub> et 3t<sub>2</sub> n'ont encore provoqué aucun symptôme sur la pomme de terre au 3<sup>ème</sup> jour après l'inoculation soit au 18<sup>ème</sup> jour après la mise en terre.

Pour la souche 1<sub>2</sub>, des symptômes de jaunissement et de taches foliaires accompagnés du flétrissement de la partie aérienne ont été observés à partir du 6<sup>ème</sup> jour après l'inoculation. Au 9<sup>ème</sup> jour après l'inoculation, la mort de 5 pieds (soit 55,55%) a été également observée. Un seul pied est resté intact pendant les 9 jours de suivi (p<sub>5</sub>) (soit 11,11% des pieds inoculés)(Figure 32)

Pour la souche 3t<sub>2</sub>, un pied (p<sub>1</sub>) sur 9 est mort (soit 11,11% des pieds inoculés) au 6<sup>ème</sup> jour après l'inoculation. Des symptômes de fanage et de changement de la couleur des tiges (verte au marron) ont évolué pendant les 9 jours de suivi. Au 9<sup>ème</sup> jour après l'inoculation, 66,66% des pieds sont morts (p<sub>1</sub>, p<sub>2</sub>, p<sub>4</sub>, p<sub>5</sub>, p<sub>7</sub>, p<sub>9</sub>) et tous les pieds restants sont symptomatiquement malades (p<sub>3</sub>, p<sub>6</sub>, p<sub>8</sub>) (Figure 33).



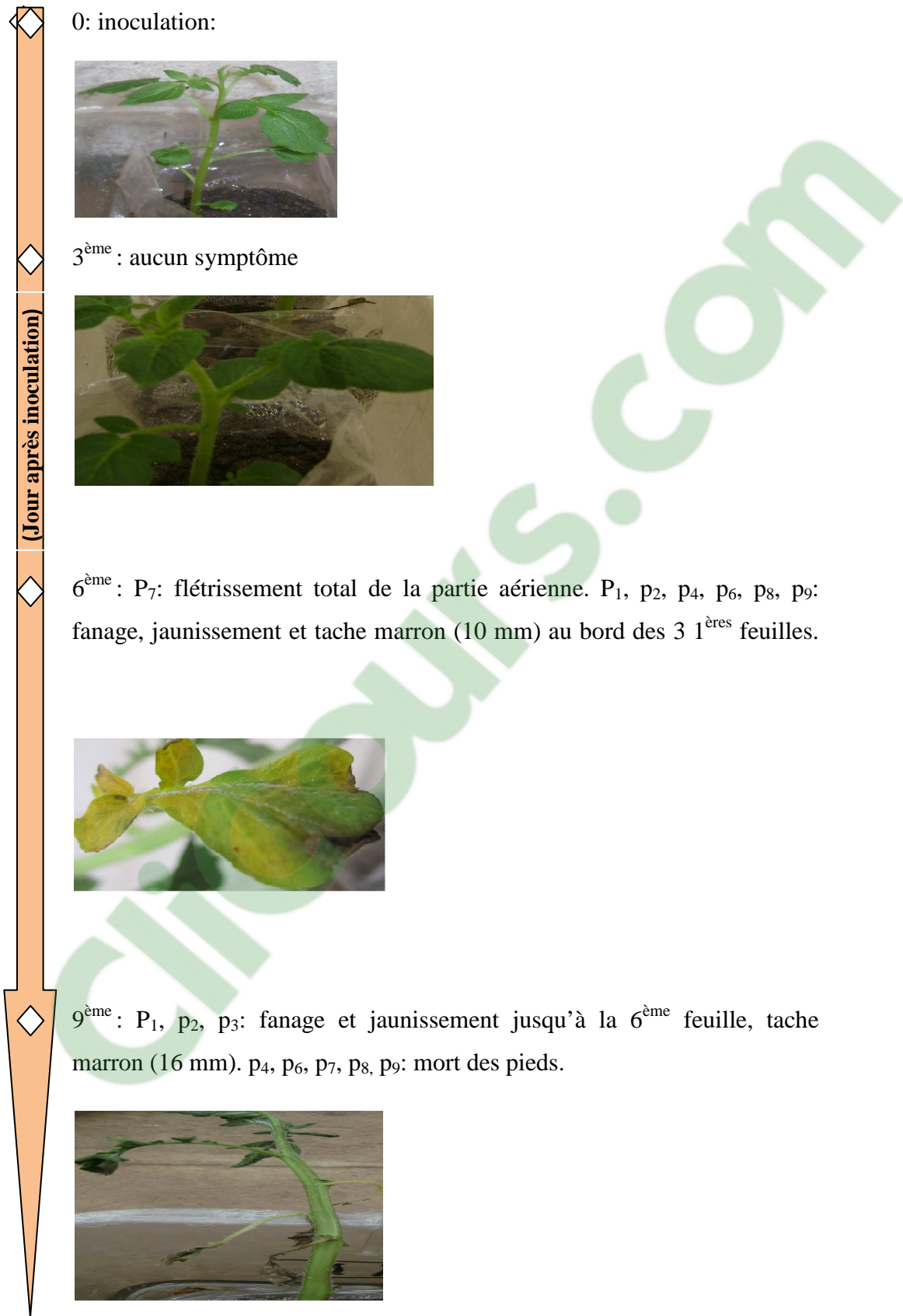


Figure 32: Symptômes observés tous les 3 jours sur 1<sub>2</sub>

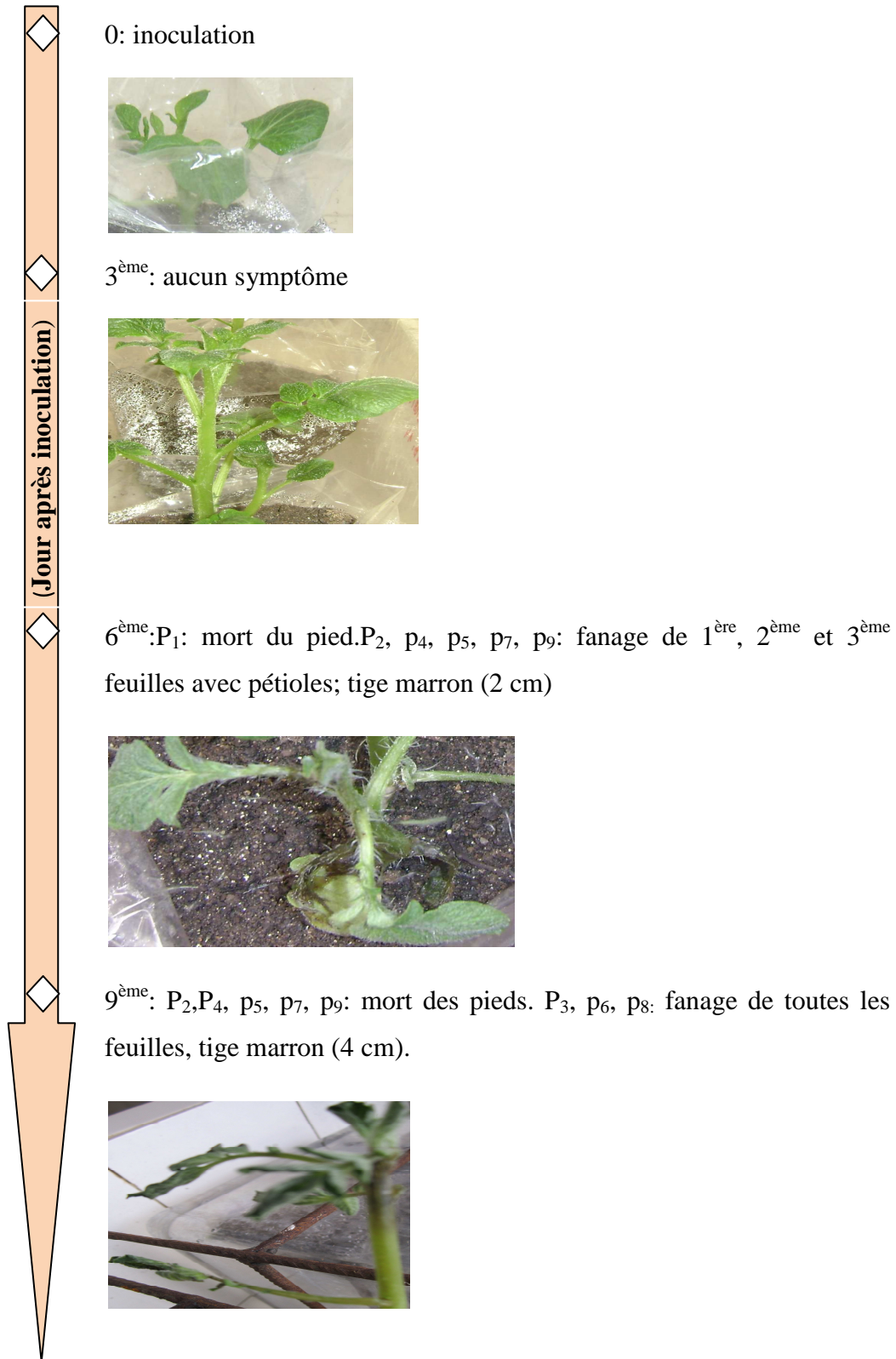


Figure 33: Symptômes observés tous les 3 jours sur 3t<sub>2</sub>

A partir du moment d'inoculation jusqu'au dernier jour de suivi, les pieds témoins ont une croissance de 17,44cm de longueurs moyenne des tiges et les pieds inoculés par  $1_2$  et  $3t_2$  ont respectivement 13,23cm et 22,62cm (tableau 10 et figure 34).

L'augmentation du nombre moyen de feuilles obtenues sur les pieds témoins a été de 5,98 et celle sur les pieds tests ont été de 3,74 sur les pieds inoculés par  $1_2$  et de 5,87 sur ceux qui sont inoculés par  $3t_2$  (tableau 11 et figure 35).

Tableau 10: Longueur des pieds (en cm) mesurés tous les trois jours:

Jours de mesure	Souches inoculées		
	témoin	$1_2$	$3t_2$
0	0	0	0
15	$7,11 \pm 1,20$	$6,77 \pm 2,66$	$21,66 \pm 5,96$
18	$13,11 \pm 3,18$	$11,11 \pm 3,60$	$31,22 \pm 6,23$
21	$19,55 \pm 6,45$	$15,77 \pm 5,55$	$38,87 \pm 8,37$
24	$24,55 \pm 8,14$	$20,00 \pm 7,59$	$44,28 \pm 10,30$

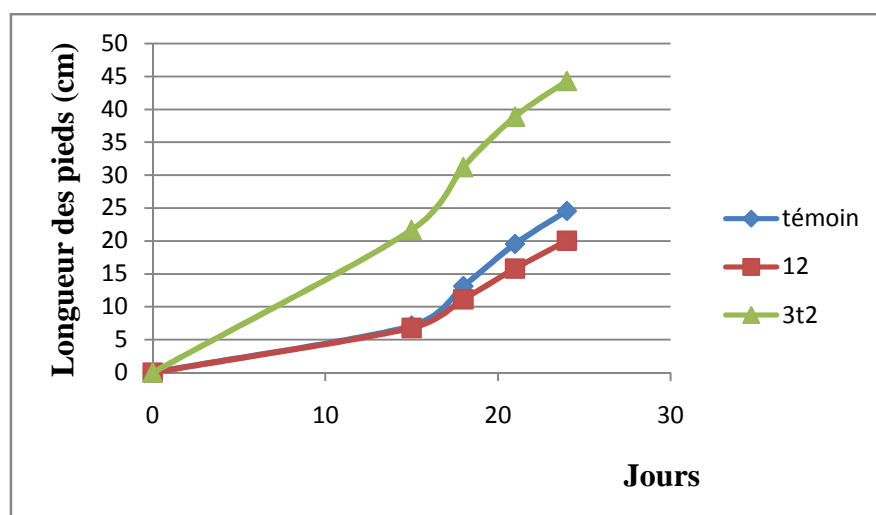


Figure 34: Longueur des pieds (cm) en fonction du jour d'observation.

Tableau 11: Nombre des feuilles dénombrées tous les trois jours :

Jours de mesure	Souches inoculées		
	témoin	1 <sub>2</sub>	3t <sub>2</sub>
0	0	0	0
15	5,00 ± 0,47	4,66 ± 0,66	5,66 ± 1,63
18	6,44 ± 0,50	5,77 ± 0,78	7,88 ± 1,52
21	7,88 ± 0,74	7,00 ± 1,05	9,75 ± 1,30
24	10,88 ± 3,75	8,4 ± 1,74	11,43 ± 1,18

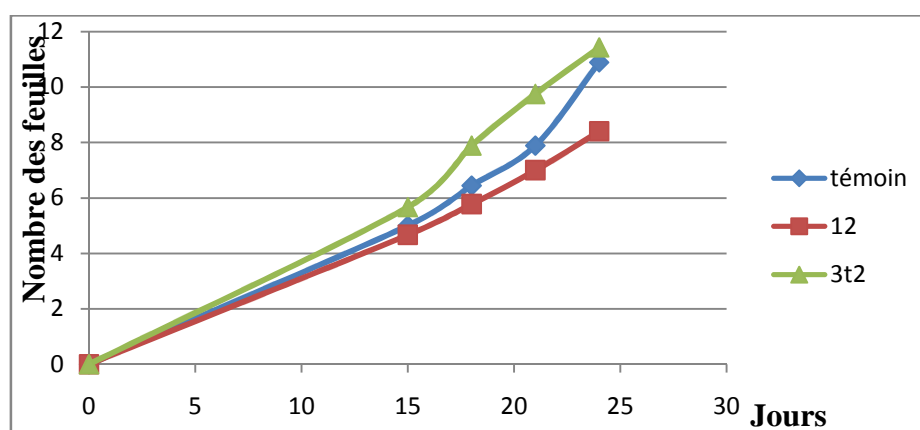


Figure 35: Nombre des feuilles en fonction du jour d'observation.

### 3.3. Ré-isolément des symptômes apparus

Après les 9 jours de suivi, les symptômes ont été similaires à ceux observés sur terrain. Ce résultat a été obtenu avec les 2 souches 1<sub>2</sub> et 3t<sub>2</sub> et chez les 2 variétés testées «meva» et «diamondra». Après le prélèvement et après 24 heures de culture sur milieu NA ajouté de cycloheximide, des bactéries sont apparues sur les explants. Après une série de purification, d'autres colonies bactériennes entre autres des colonies macroscopiquement identiques à celles de 1<sub>2</sub> et de 3t<sub>2</sub> ont été obtenues.

#### 4. RECHERCHE DES ACTIVITES ANTIBACTERIENNES DES PREPARATIONS TRADITIONNELLES MALAGASY SUR LES SOUCHES RESPONSABLES DES MALADIES

##### 4.1. Enquêtes sur terrain

Les informations sur les moyens de lutte biologique recueillis lors des enquêtes de août-décembre 2010 dans le cadre du projet PIC : ULB/UA/LBM, sont enregistrées sur les fiches d'enquête (ANNEXE VI).

##### 4.2. Méthode de diffusion sur gélose

Les 2 souches  $1_2$  et  $3_{t_2}$  qui ont donné des résultats positifs par le Postulat de Koch ont été testées avec les 3 variantes des 3 préparations sélectionnées ( $1_B$ ,  $2_B$ ,  $3_B$ ,  $1_F$ ,  $2_F$ ,  $3_F$ ,  $1_A$ ,  $2_A$ ,  $3_A$ ). Deux répétitions ont été faites avec la diffusion par disque et 2 répétitions avec la diffusion par puits.

Les moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) entre les 2 répétitions ont été calculées.

##### 4.2.1. Diffusion par puits

Les extraits  $1_B$ ,  $3_B$ ,  $1_F$ ,  $3_F$ , et 4 ont donné des zones d'inhibition avec la souche  $1_2$ . Les zones d'inhibition ont été très grandes (allant de 14 à 45mm).

Avec la souche  $3_{t_2}$ , seulement le chloramphénicol a donné une zone d'inhibition (40mm). (Tableau 12 et figure 36)

Tableau 12: Zones d'inhibition obtenues sur  $1_2$  et  $3_{t_2}$  par la méthode de puits :

Extraits souches	$1_B$	$2_B$	$3_B$	$1_F$	$2_F$	$3_F$	$1_A$	$2_A$	$3_A$	4
$1_2$	14±2	0±0	16±1, 5	14,75 ±2,75	0±0	14,25 ±0,75	0±0	0±0	0±0	45±3
$3_{t_2}$	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	40±2

$1_A$  : préparation 1 autoclavée,  $1_B$  : préparation 1 brute,  $1_F$  : préparation 1 filtrée.

$2_A$  : préparation 2 autoclavée,  $2_B$  : préparation 2 brute,  $2_F$  : préparation 2 filtrée.

$3_A$  : préparation 3 autoclavée,  $3_B$  : préparation 3 brute,  $3_F$  : préparation 3 filtrée.

4: chloramphénicol utilisé comme antibactérien.

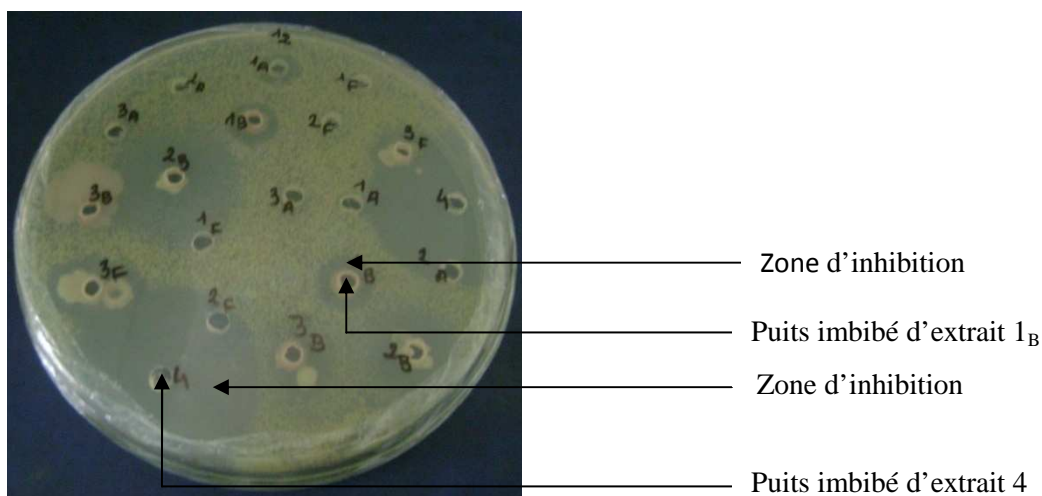


Figure 36: Diamètre d'inhibition sur  $1_2$  après 24heures d'incubation par la méthode de puits.

#### 4.2.2. Diffusion par disque

Avec la souche  $1_2$ , les extraits  $1_B$ ,  $3_B$ ,  $1_F$ ,  $3_F$  et 4 ont donné des zones d'inhibition (allant de 12 à 44mm) tandisqu'avec  $3t_2$ , seulement le chloramphénicol a donné une zone d'inhibition (38mm). (Tableau 13).

La figure 37 illustre les zones d'inhibition de  $1_2$  après 24heures d'incubation.

Tableau 13: Zones d'inhibition obtenues sur  $1_2$  et  $3t_2$  par la méthode de disques:

Extractions souches	$1_B$	$2_B$	$3_B$	$1_F$	$2_F$	$3_F$	$1_A$	$2_A$	$3_A$	4
$1_2$	12±0	0±0	15,5±1,5	12±0	0±0	13±1	0±0	0±0	0±0	44±4
$3t_2$	0±0	0±0	0 ± 0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	38±4

$1_A$  : préparation 1 autoclavée,  $1_B$  : préparation 1 brute,  $1_F$  : préparation 1 filtrée.

$2_A$  : préparation 2 autoclavée,  $2_B$  : préparation 2 brute,  $2_F$  : préparation 2 filtrée.

$3_A$  : préparation 3 autoclavée,  $3_B$  : préparation 3 brute,  $3_F$  : préparation 3 filtrée.

4: chloramphénicol utilisé comme antibactérien.

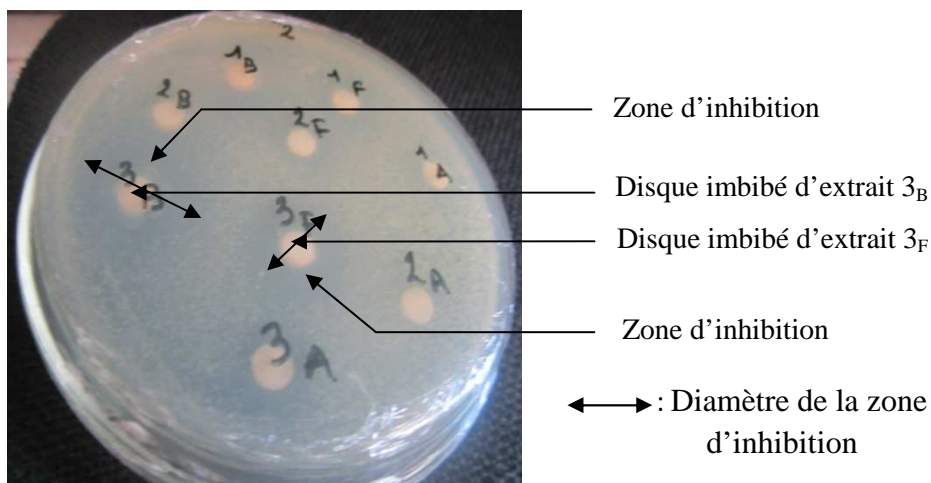


Figure 37: Diamètre d'inhibition de  $1_2$  après 24 heures d'incubation par la méthode de disques.

### 4.3. Recherche de CMI par microdilution

Trois répétitions ont été procédées pour la recherche de la CMI avec les dilutions de 1/2, 1/4, et 1/8 de chaque préparation.

Les moyennes des taux d'inhibition entre les 3 répétitions ont été calculées. Le tableau 14 montre ces moyennes des taux d'inhibition pour chaque recette et pour les différentes concentrations utilisées.

Tableau 14: Taux d'inhibition de  $1_B$ ,  $1_F$ ,  $3_B$ ,  $3_F$  vis-à-vis de la souche  $1_2$ :

	$1_B$	$1_F$	$3_B$	$3_F$
Concentration				
1/2	$118,795838 \pm 0,81830991$	$142,808849 \pm 5,42376218$	$118,566988 \pm 10,395384$	$112,991475 \pm 9,675109$
1/4	$91,4072039 \pm 1,84676435$	$140,50515 \pm 38,3193574$	$98,8512839 \pm 3,15235913$	$100,296217 \pm 15,020401$
1/8	$91,0973975 \pm 0,42802627$	$112,07292 \pm 12,8590836$	$82,9190116 \pm 17,3529739$	$108,146367 \pm 2,73257762$

## **II. DISCUSSIONS**



## **1. ISOLEMENTS ET IDENTIFICATIONS PRELIMINAIRES DES BACTERIES ISSUES DES PLANTS MALADES**

D'après les résultats obtenus après les isolements et les identifications préliminaires effectués à partir d'un symptôme décrit, on a pu isoler plus d'une bactérie (sauf pour le cas des échantillons 5 et 6).

Pour certains cas, une même bactérie a été isolée pour des symptômes différents.

Ainsi, certaines bactéries pourraient causer des symptômes différents selon les tissus vasculaires envahis et selon les métabolites bactériens mis en jeu [TURNER, 2009].

Deux espèces génétiquement différentes peuvent coloniser un même habitat strictement limité du xylème et induisent de ce fait des symptômes pathogéniques identiques. Cette pathogénie est fonction de toxines spécifiques produites [PIERETTI, 2009].

Sept bactéries, sur onze isolées, soit 63%, sont des bacilles. D'après les différentes études précédentes, la plupart des bactéries pathogènes de la pomme de terre sont des bacilles. Des cocciphytopathogènes de la pomme de terre n'étaient pas encore trouvés lors de ces études [SCHAAD et al, 2001].

## **2. RECHERCHE DES GERMES BACTERIENS RESPONSABLES DES MALADIES PAR POSTULAT DE KOCH**

### **2.1. Mise au point de la culture saine**

#### **2.1.1. Pré-germination de semences de la variété « meva »**

Après la récolte, la pomme de terre entre en période de dormance qui varie en fonction de la variété. La pré-germination est une étape primordiale pour influencer favorablement la croissance de la prochaine culture. La technique de pré-germination adoptée a été similaire à celle adoptée par les cultivateurs néerlandais [BAARVELD et al, 2001]. L'obscurité est en fait nécessaire pour faire germer les tubercules (jusqu'à l'apparition des points blancs) puis le transfert à la lumière l'est pour le durcissement des germes.

### **2.1.2. Germination des variétés «meva» et «diamondra»**

La variété «diamondra» a mis presque deux fois le temps nécessaire de celui de la variété «meva» pour la levée tandis que le taux de germination de la variété «diamondra» (94,44%) est plus élevé que celui de la variété «meva» (71,11%).

Parmi les variétés de pomme de terre cultivées à Madagascar, la variété « meva » est classée comme variété à cycle court [MIN.AGRI et al, 2011], d'où la levée a été seulement de 6 jours après la mise en terre. De plus, le temps de pré-germination (1 semaine à l'obscurité et 38 jours à la lumière) a dépassé celui décrit par Daniel RYCKMANS en 2004 (4 à 5 semaines); ce temps de pré-germination long est important pour l'accélération de la levée.

### **2.2. Inoculation des pieds apparemment sains**

Sur les pieds témoins pendant les 9 jours, les suivis montrent que les cultures de pommes de terre ont été apparemment saines. La non apparition des symptômes est une des étapes fondamentales du Postulat de Koch [MICHEL, 1988]. Ce résultat a été prouvé pour les 2 essais successifs.

La technique du postulat de Koch a été fondée par Robert Koch en 1884, suite à sa découverte des bacilles tuberculeux et cholériques. A cette époque, il a été connu pour avoir énoncé les règles destinées à lier un micro-organisme à une maladie infectieuse donnée. [DEDET, 2007].

Appliquée à la phytopathologie végétale, cette technique a déjà montré ses fruits sur divers tests de pathogénicité: pouvoir pathogène des bactéries endo-racinaires de la luzerne [GAGNE et al, 1988], maladie virale de la pomme de terre due au virus Y [ROMANCER et KERLAN, 1991], lutte biologique contre l'adventice *Imperata cylindrica* [AVOCANH, 2007].

Le choix de l'inoculation par pulvérisation des limbes des 2 feuilles les plus âgées a été fondé sur le fait que les tâches foliaires accompagnés ou non de brûlures chez la pomme de terre ainsi que d'autres plantes telles que le géranium et le pélargonium sont causées surtout par *Xanthomonas* [LAMBERT et al, 2003; DALLAIRE, 2008]. Le test de

pathogénicité par postulat de Koch de *Xanthomonas* se fait par blessures des 2 plus vieilles feuilles suivies de la pulvérisation par l'inoculum préparé [SCHAAD et al, 2001]

La voie d'inoculation sur l'aisselle de la première feuille a été choisie à cause des symptômes observés lors de l'observation sur terrain. En fait, le flétrissement de la partie aérienne, accompagné ou non des taches foliaires chez la pomme de terre est dans la plupart des cas dû à *Ralstoniasolanacearum* [CABI et OEPP, 2011; LAMBERT et al, 2003].

Cette bactérie qui est l'une des bactéries phytopathogènes de la pomme de terre peut facilement être testée et inoculée par ponction ou injection à l'aisselle de la feuille [SCHAAD et al, 2001].

Lors de l'essai avec la variété « meva », les souches 1<sub>1</sub>, 3f<sub>1</sub>, 4<sub>1</sub> et 4<sub>3</sub>, quelque soit la voie d'inoculation, n'ont pas reproduit les symptômes observés pendant les prélèvements sur terrain. Il a été donc confirmé que ces souches ne sont pas les agents causaux des ces symptômes en question [MICHEL, 1988].

Pour la souche 1<sub>2</sub>, ce n'était qu'au 6<sup>ème</sup> jour après l'inoculation que le flétrissement et les tâches ont apparus. Ce cas a été similaire pour les 2 variétés testées.

Pour la variété « meva », le symptôme débute au niveau de la zone inoculée puis il atteint les surfaces foliaires au 9<sup>ème</sup> jour après l'inoculation. Le symptôme s'est manifesté par une tâche marron (de 3mm au niveau de la zone inoculée et de 2mm au bord des feuilles) et le fanage des 2 feuilles les plus âgées sans leur jaunissement. Aucun pied n'a été mort.

Le symptôme a été plus accentué chez la variété « diamondra » car au 6<sup>ème</sup> jour après inoculation, 11,11% de pieds inoculés ont été complètement flétris si 77,77% ont été symptomatiquement malades (tache marron de 10mm, fanage et jaunissement des 3 premières feuilles). Au 9<sup>ème</sup> jour après inoculation, 88,88% des pieds ont été malades avec augmentation de sévérité des symptômes (tache marron de 16mm, fanage et jaunissement sur 6 premières feuilles et 55,55% des pieds ont été morts).

La souche 3t<sub>2a</sub> a causé des symptômes qui se sont manifestés par le fanage et une couleur marron sur la tige au niveau de 2 pieds de la variété « meva » au 3<sup>ème</sup> jour après l'inoculation. Au 6<sup>ème</sup> jour après l'inoculation, seulement les symptômes sur l'un des 2 pieds (p<sub>2</sub>) ont évolué, ce pied qui a fini par mourir à la fin du suivi.

Par contre les symptômes ne sont apparus qu'au 6<sup>ème</sup> jour après l'inoculation chez la variété «diamondra», mais ils ont été plus sévères par rapport à ceux observés chez «meva» car 11,11% des pieds ont été déjà morts si 66,66% ont été symptomatiquement malades. Au 9<sup>ème</sup> jour après l'inoculation, les 66,66% ont été morts et les 33,34% des pieds restants ont été atteints des mêmes symptômes mais plus généralisés et plus importants. En somme, 100% des pieds ont été donc touchés par les symptômes à la fin du suivi ; ce qui suppose l'importance de la pathogénicité. Ces symptômes, pouvant se généraliser, obtenus avec la souche 3t<sub>2</sub> sont similaires avec ceux causés par *Ralstoniasolanacearum*. *Ralstoniasolanacearum* peut induire la mort de beaucoup de végétaux, de ce fait, elle est considérée comme la bactérie la plus dévastatrice au monde [TURNER, 2009].

Le flétrissement bactérien, débutant au niveau des feuilles basales puis pouvant se généraliser sur toute la partie aérienne de la plante, surtout chez la pomme de terre et la tomate, est dû à une difficulté de transport d'eau et d'éléments nutritifs suite à l'infection par une ou plusieurs bactéries. Un jaunissement ou brûlure de feuilles peut accompagner ce flétrissement [LAMBERT et al, 2003].

Parmi les 2 variétés testées, la variété «diamondra» a été plus affectée par les différents symptômes observés par rapport à la variété «meva». La variété «diamondra» est plus résistante au mildiou qui est une maladie fongique [MIN.AGRI et al, 2011] mais est, par contre, sensible aux maladies bactériennes.

Les différents symptômes observés au cours des suivis n'ont pas dangereusement influés ni sur la croissance des longueurs moyennes des pieds ni sur l'augmentation des nombres moyens de feuilles.

Dans le cas général, les bactéries qui n'ont pas reproduit les symptômes observés sur terrain, quel que soit la voie d'inoculation, n'ont pas affecté défavorablement ni la croissance des pieds ni l'augmentation du nombre de feuilles. Les plants ont une croissance normale après inoculation. Certains pieds ont même une croissance rapide par rapport aux pieds témoins (avant l'inoculation, ils ont mis une croissance lente par rapport aux pieds témoins et, vers la fin de l'observation, ils ont eu presque la même longueur de pied ainsi que le même nombre de feuilles que les pieds témoins). C'est le cas de pieds inoculés par la souche 2<sub>3</sub>.

Dans ce cas, les bactéries semblent favoriser la croissance de la plante. Ces bactéries pourraient probablement contribuer à l'alimentation minérale de la plante ou à la stimulation

de la formation des systèmes racinaires ou même à la stimulation de sa réaction de défense [LEMANCEAU et al, 2008].

Les pieds inoculés par les souches 1<sub>2</sub> et 3t<sub>2</sub> ne montraient pas de différence significative pour la croissance de pieds et l'évolution de nombre de feuilles comparés aux pieds témoins. Ce cas est valable pour les 2 variétés testées. Lors de l'apparition de différents symptômes, les feuilles basales (vieilles feuilles) et les bases de tige ont jauni, fané ou pourri. En même temps, de nouvelles feuilles sont toujours apparues jusqu'à ce que les symptômes se soient généralisés sur toute la partie aérienne de la plante induisant sa mort. De ce fait, la longueur des pieds a augmentée.

Généralement, les méristèmes apicaux ne sont pas infectés par les microorganismes phytopathogènes [GADRAT, 2008].

### **2.3. Ré-isolement des symptômes apparus**

Après ré-isolement des symptômes apparus et une série de purifications, une caractérisation macroscopique des colonies pures isolées ont été procédée. Les 2 souches 1<sub>2</sub> et 3t<sub>2</sub> ont été présentes dans la culture. Ce qui montre qu'elles sont les responsables de la maladie en question. Le diagnostic est donc confirmé.

Un microorganisme phytopathogène responsable d'une maladie, en pratiquant le Postulat de Koch, doit reproduire les mêmes symptômes de cette maladie sur des plantes apparemment saines [MICHEL, 1988].

## **3. RECHERCHE DES ACTIVITES ANTIBACTERIENNES DES PREPARATIONS TRADITIONNELLES MALAGASY SUR LES SOUCHES RESPONSABLES DES MALADIES**

Par la méthode de puits, les zones d'inhibition obtenues avec les préparations actives ont été plus larges que celles obtenues par la méthode des disques

Les zones d'inhibition avec le chloramphénicol ont été plus larges sur 1<sub>2</sub> que sur 3t<sub>2</sub>. Ce cas est le même pour les 2 méthodes de diffusion.

Les préparations 1<sub>B</sub>, 1<sub>F</sub>, 3<sub>B</sub>, et 3<sub>F</sub> ont été actives sur la souche 1<sub>2</sub> si aucune préparation ne l'a été sur la souche 3<sub>t2</sub>.

La souche 1<sub>2</sub> est sensible aux préparations 1<sub>B</sub>, 1<sub>F</sub>, 3<sub>B</sub>, et 3<sub>F</sub>. Ceci a été prouvé par les grandes zones d'inhibition obtenues après 24 heures: zones d'inhibition allant de 14 à 16 mm avec la méthode des puits et de 12 à 15,5 mm avec la méthode de disque.

Pour la diffusion par puits, la quantité de recette (50 µl) ajoutée dans chaque puits ainsi que les zones d'inhibition obtenues sont similaires avec la méthode précédée et les résultats obtenus par Fella Naouel ALLOUCHE et al en 2010.

La méthode de diffusion par disque concorde avec celle précédée par ALI-EMMANUEL et al en 2002 ainsi que plusieurs études sur les activités antibactériennes des extraits végétaux.

La souche 1<sub>2</sub> est sensible pour 4 préparations si 3<sub>t2</sub> est résistante à ces mêmes préparations, étant donné que ces 2 bactéries sont toutes les 2 des bactéries à gram négatif. La structure de leur paroi cellulaire leur permet une perméabilité sélective vis-à-vis des substances pouvant pénétrer à l'intérieur de la cellule. Cette paroi est constituée par une mince couche de peptidoglycane entourée d'une enveloppe externe. Cette enveloppe externe est elle-même constituée surtout de lipopolysaccharide et de la porine. Ces deux constituants sont responsables de la perméabilité cellulaire et de la résistance des bactéries à gram négatif aux antibiotiques et divers extraits antibactériens [CARLE, 2009].

La sensibilité de la souche 1<sub>2</sub> aux différentes préparations biologiques pourrait aussi être due à l'absence d'un système enzymatique capable de détruire ou d'inactiver les principes actifs de ces préparations; ce système qui pourrait probablement être présent chez la souche 3<sub>t2</sub> [CARLE, 2009].

Pour les 2 préparations 1 et 3 qui ont été actives sur 1<sub>2</sub>, celles qui ont été autoclavées n'ont montré aucune activité antibactérienne. Ces préparations auraient probablement perdu leurs principes actifs majoritairement non thermostables, probablement de nature protéique. Entre autre, les enzymes perdent leur activité quand elles sont soumises à une température élevée. [JUAN et al, 1989]

L'inhibition de la croissance de la souche 1<sub>2</sub> est autour de 100% (82% à 112%) même à la concentration 1/8 (volume/volume).

### **III. CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

La pomme de terre ou «ovy» est une plante non céréalière qui tient une place très importante dans l'alimentation mondiale entre autres dans l'alimentation malgache. Sa culture est actuellement pratiquée dans beaucoup de régions de Madagascar. La pomme de terre est surtout connue par sa richesse en amidon qui le fait considérée pour être un féculent.

Quatre principales maladies bactériennes affectent dangereusement la culture et la production de la pomme de terre. Ce travail a contribué au diagnostic ainsi qu'au contrôle de ces maladies par le moyen de lutte biologique pour diminuer les recours aux produits chimiques.

Lors de ce travail, onze germes bactériens ( $1_1$ ,  $1_2$ ,  $2_1$ ,  $2_2$ ,  $2_3$ ,  $3f_1$ ,  $3t_2$ ,  $4_1$ ,  $4_3$ ,  $5_1$ ,  $6_1$ ) ont été isolés à partir des six symptômes observés et prélevés sur terrains. Parmi ces onze bactéries pures isolées, deux d'entre elles ( $1_2$  et  $3t_2$ ) ont reproduit les symptômes observés sur terrain après les techniques d'inoculation par Postulat de Koch. Ces techniques qui sont des techniques simples, faciles à appliquer pour compléter et confirmer le diagnostic des maladies effectué sur terrain. Il a été mis en évidence que, dans certains cas, ce ne sont pas toutes les bactéries isolées à partir d'un symptôme observé qui sont les responsables de ce symptôme.

Deux bactéries ont permis d'évaluer l'activité antibactérienne des trois préparations biologiques traditionnelles dont trois variantes ont été préparées pour chaque préparation (brute B, filtrée F et autoclavée A). Deux méthodes complémentaires et confirmatives (méthode de diffusion sur gélose et méthode de microdilution) ont été procédées pour cette évaluation de l'activité antibactérienne. Les recettes utilisées ont manifesté des activités différentes vis à vis des 2 souches testées même si elles sont toutes les deux des bactéries à Gram négatif (la souche  $3t_2$  a été résistante à toutes les préparations biologiques testées alors que 2 préparations avec 2 variantes de chacune d'elles ont été actives sur la souche  $1_2$  ( $1_B$ ,  $1_F$ ,  $3_B$ ,  $3_F$ )).

Dans l'avenir, il serait primordial de compléter les identifications préliminaires utilisées afin de connaître les genres et espèces des germes responsables des symptômes diagnostiqués. Il serait également intéressant d'identifier les familles chimiques responsables de l'activité antibactérienne des préparations actives par des méthodes chromatographiques et de caractériser les matières actives de ces préparations.



REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

1. ALI-EMMANUEL N. et al. 2002. Activités antibactériennes in vitro de *Cassia alata*, *Lantana camara* et *Mitracarpus scaber* sur *Dermatophilus congolensis* isolée au Bénin. Pathologie infectieuse. Revue .elev.Méd.Vét. pays trop. pp.183-187.
2. ALLOUCHE. F. N. et al. 2010. Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière in « Nature et technologie ». Pp 13-20.
3. AVOCANH A. S. 2007. Lutte biologique contre l'adventice *Imperata cylindrica*(L.) Beauv., à partir des champignons pathogènes indigènes au Bénin. Mémoire online. Université d'Abomey Calavi. Pp. 21-26.
4. BAARVELD H. R. et al. 2001. Culture professionnelle de la pomme de terre. Pré-germination. Edition NIVAA. Deuxième édition. 15 pages.
5. BAMOUH A. Janvier 1999. Technique de Production de la Pomme de terre au Maroc. Programme national de transfert de technologie en Agriculture. Sommaire n°52. 4 pages.
6. CABI et OEPP. 2011. *Ralstonia solanacearum*. Fiche informative pour les Organismes de quarantaine. 12 pages
7. CAPAD. 2011. La pomme de terre au Burundi. Introduction générale. 1 page.
8. CARLE S. 2009. La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important ! Article 1. Pharmactuel Vol.42. Supplément. 2. Pp. 6-21.
9. CITE- FOFIFA-SCAC-Minagri- UPDR. 2001. Diagnostic approfondi de la filière pomme de terre à Madagascar. Synthèse et recommandations. 9 pages.
10. D'HONDT-DEFRANCQ M. Expert FAO en protection des végétaux. Avril 1984. Les principales maladies bactériennes et cryptogamiques de la pomme de terre. Cambérène. Pp. 2-7.
11. DALLAIRE C. 2008. Comment différencier les symptômes causés par *Xanthomonashortorumpelargonii* et *Ralstoniasolanacearum* chez le géranium ? Laboratoire de diagnostic en phytoprotection, MAPAQ. 11 pages.
12. DEDET J. P. 2007. La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes. Dunot, Paris. Pp. 34-37.
13. FAO. 2008. Culture. Année internationale de la pomme de terre. 1 page.
14. FAO. 2008. La pomme de terre et la biodiversité. Année internationale de la pomme de terre. 2 pages.

15. FAO. 2008. La pomme de terre: l'aliment de futur. Année internationale de la pomme de terre. 1 page.
16. FAO. 2008. Lutte raisonnée contre les ravageurs et les maladies de la pomme de terre. Année internationale de la pomme de terre. 2 pages.
17. FAO. 2008. Pourquoi la pomme de terre. Année internationale de la pomme de terre. 1 page.
18. FOFIFA-FIFAMANOR-CIP. 1987. La pomme de terre pour l'autosuffisance alimentaire à Madagascar. 102 pages.
19. GADRAT B. Septembre 2008. Maladies- Références. Horticulture. 6 pages.
20. GAGNE S. et al. 1988. Pouvoir pathogène des bactéries endoracinaires de la luzerne. Canadian journal of plant pathology II. Pp. 22-27.
21. HELIAS V. Juillet-Août 2008. *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. De la pomme de terre: nouvelle nomenclature pour *Erwinia* spp. symptomatologie, épidémiologie et prophylaxie. Cahiers Agriculture, vol.17, n°4. pp. 349-354.
22. INRA Rennes. 2008. Maladies et ravageurs de la pomme de terre. Jambe noire et pourriture molle. *Pectobacterium* et *Dickeya*. Service de la communication. 2 pages.
23. INSTAT. 2004. Statistique agricole. Annuaire 2004. pp. 7, 8, 28, 80.
24. INSTAT. 2010. Situation économique du 1<sup>er</sup> Janvier 2010. Pp. 14.
25. JEAN C. et al. 2000. Maladies, insectes nuisibles et utiles de la pomme de terre. Institut de Recherche et de Développement en Agroenvironnement, Sainte-Foy Québec. Pp. 9-27.
26. JUAN.L et al. 1989. Purification and Characterization of an Antibacterial Substance Produced by a marine *Alteromonas* Species. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol. 33. N°10. Pp. 1674-1679.
27. LAMBERT L. et al. 2003. *Ralstonia* de race 3 dans le géranium, un cas suspect au Québec. Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation de Québec (MAPAQ), Agence Canadienne d'Inspection des Aliments (ACIA). 4 pages.
28. LAMBION J. Janvier 2007. Protection phytosanitaire en culture de pomme de terre biologique. Fiche 2: Lutte contre les ravageurs. Pp. 35-38.
29. LAREN D. 17/03/2011. BPI06-320- Incidence du virus Y de la pomme de terre (PVY O et PVY N : O) sur les cultivars de la pomme de terre et la lutte par vaporisation d'huile. Agriculture et Agroalimentaire Canada. Pp. 2.

30. LATOUR X. et al. Juillet-Aout 2008. Lutte contre les maladies bactériennes de la pomme de terre dues aux *Pectobacterium*spp. (*Erwiniacarotovora*). Cahiers Agricultures vol.17. pp. 355-360.
31. LEIPZIG. 1996. Madagascar : Rapport de pays pour la conférence technique internationale de la FAO sur les ressources phytogénétiques. Pp. 6.
32. LEMANCEAU Ph. et al. 2008. Ecosphère continentale : processus, modélisation et risques environnementaux. Rapport scientifique final ECOGER. Pp. 1-2.
33. LOAËC M. H. 2009. La pomme de terre: une valeur sûre à retrouver. Extrait de revue de Jardin de France, la revue de la SNRH. Pp. 1-2.
34. MARIE A. et QUASHIE. L. Juillet-août 2008. La pomme de terre en Afrique.Cahiers Agricultures Vol. 17, n° 4. pp. 413.
35. MICHEL M. F. 1988. Le diagnostic des bactérioses. Centre de recherches forestières, INRA.Pp. 110-113.
36. MIN.AGRI, AROPA, FERT. Janvier 2011. Etude de la filière pomme de terre de la région Amoron'i Mania. Rapport final. Pp. 4-19
37. Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche. Juillet 2008. Analyse de la filière pomme de terre dans la région Itasy. Programme de soutien aux pôles de micro entreprise rurales et aux économies régionales (PROSPERER).Pp. 6-9.
38. MINTEN B. et al. Novembre 2003. Agriculture, pauvreté rurale et politique économique à Madagascar. Thème 3.Pp. 50-52.
39. OSWALDO T. Juin 2010. Hommage à la pomme de terre.11 pages.
40. PIERETTI I. 2009. Vers l'identification de nouveaux facteurs de pathogénie chez *Xanthomonasalbilineans*, l'agent causal de l'échaudure des feuilles de la canne à sucre. Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'Ecole pratique des Hautes Etudes. Science de la Vie et de la Terre.Pp. 11-22.
41. PLATT B. Juillet-août 2008. Maladies de la pomme de terre causées par des oomycètes. Cahiers Agricultures Vol. 17, n° 4. pp. 361-367.
42. ROMANCER et KERLAN. 1991. La maladie des nécroses annulaires superficielles des tubercules: une affection de la pomme de terre, due au virus Y. Agronomie(1991) 11. Elsevier/INRA. Pp. 889-900.
43. ROUSSELLE P. et al. 1996. La pomme de terre. INRA, Paris. Pp. 563-577.
44. ROZE E. et al. 1898. Histoire de la pomme de terre traitée au point de vue historique, biologique, pathologique et culturelle. pp. 88.
45. RYCKMANS D. 2006. L'Alternariose: le point sur la question. pp. 1-4.

46. SCHAAD N. W. et al. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant pathogenic bacteria. Third Edition. Pp. 6-217.
47. THOMAS N. B. et al. 2007. Guide pratique de la culture des pommes de terre. Programme National de Développement des racines et des tubercules. République de Cameroun. Pp. 6-8.
48. TURNER M. 2009. Plusieurs niveaux de contrôle sont mis en jeu lors du flétrissement bactérien chez la légumineuse modèle *Medicago truncatula*. Thèse en vue de l'obtention de Doctorat de l'Université de Toulouse. Institut National Polytechnique de Toulouse. Pp. 24-35.
49. UNITED NATIONS. 2007. Lists of diseases and pests. Economic commission for Europe. Pp. 3-12.

#### REFERENCES WEBOGRAPHIQUES:

- 1- <http://www.fao.org>.
- 2- [www.cosmovisions.com/pdtchrono.htm](http://www.cosmovisions.com/pdtchrono.htm).
- 3- [users.skynet.be/cerclehorticolantoing.avrilpdt.html](http://users.skynet.be/cerclehorticolantoing.avrilpdt.html).
- 4- [www.bioaktuell.ch/...cultures/4.4.11-73pdt.pdf](http://www.bioaktuell.ch/...cultures/4.4.11-73pdt.pdf).
- 5- [www.agri-plus.net/article-275.html](http://www.agri-plus.net/article-275.html).
- 6- [www.agri-plus.net/article-276.html](http://www.agri-plus.net/article-276.html).
- 7- [jardinsfamiliauxhsc.wifeo.com/les-pommes-de-terre-varietes-plantations-maladies-php](http://jardinsfamiliauxhsc.wifeo.com/les-pommes-de-terre-varietes-plantations-maladies-php).

# **ANNEXES**

### **ANNEXE I: Composition du milieu de culture solide NA (Nutrient Agar)**

- Peptone Water 10g/l
- Beef Extract 5g/l
- East Extract 5g/l
- Agar microbiologique 5g/l
- pH = 7.2

### **ANNEXE II: Composition du milieu de culture liquide**

- Peptone Water 10g/l
- Beef Extract 5g/l
- East Extract 5g/l
- pH = 7.2

### **ANNEXE III: Antifongique utilisé et sa concentration**

- Cycloheximide à 40mg/l

### **ANNEXE IV: Liste des Matériels et Equipements:**

- Instruments:
- GPS
- Sécateurs
- Appareil Photo
- Glacière
- Sachets plastiques
- Fiches d'enquêtes
- Scalpel
- Une paire de pinces

Clicours.COM

- Micropipettes : 20µl, 200µl, 1000µl
- Anse d'ensemencement
- Seringue
- Papier Wattman n°41
- Bacs plastiques
- Barreaux magnétiques
- Microfiltres de 0,45µm et de 0,20µm
  
- Equipements:
  - Densicheck *VITEK*
  - Vortex *Heidolph TOP-MIX 94323*
  - Incubateur à 25°C *SANYO*
  - Hotte à flux laminaire *FLUFRANCE*
  - Bec Bunsen
  - Microscope optique
  - Autoclave *SANYO*
  - Balances de précisions: Mettler AE 50 et Sanctorius
  - Plaques chauffantes AG 450
  - Etuve memmert
  - Réfrigérateur à +4°C
  - Spectrophotomètre avec Lecteur de plaque
  
- Verreries:
  - Boîtes de Pétri
  - Tubes à essais
  - Pipettes pasteurs
  - Bocaux
  - Microplaques de 96puits
  - Erlen Meyer
  - Eprouvettes graduées
  - Pipettes graduées




**ANNEXE V: Fiche d'enquête sur les différents symptômes et les informations sur la culture**

Date: 01/06/11		Heure: 16 H 05			
<b>RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LE PAYSAN</b>					
Nom & prénom		Elson BERNARD			
Localité		ANTSEVA			
Commune		AMBOHIMANARIVO			
District		ANTSIRABE I			
Région		VAKINANKARATRA			
Coordonnées GPS		Longitude : S 19°55'130''		Altitude :	
		Latitude : EO 47°02'44-5'		1469 m	
<b>SYMPTOMES OBSERVES PAR LE PAYSAN</b>					
Culture : pomme de terre					
<u>Description</u> : 84=partie aérienne complètement fanées (mandazo)					
85= feuille fanée avec tache marron (départ de maladie), pétiole et tige marron					
86=feuilles verte pointillées de taches marrons (gale)					
Moment d'apparition			06 semaines de culture/ apparait 04 semaine		
Partie de la plante atteinte			Partie aérienne		
Importances de la maladie (fréquence et surface atteinte) :			Toute la parcelle		
Identité de la maladie :			Fano		
<b>INFORMATION SUR LA CULTURE</b>					
<u>travaux</u>	<u>Type de sol</u>	<u>pH</u>	<u>engrais</u> zezikomby	<u>Amendement</u>	<u>Semis</u>
<b>INFORMATION SUR LES TRAITEMENTS PHYTOSANITAIRES UTILISES</b>					
<u>Produits</u> -	<u>dose</u>	<u>mode</u>	<u>Application</u> <u>durée</u>	<u>Dernière</u>	
<u>Observation</u> : pas d'organisation paysanne					
<b>INFORMATION SUR LA CULTURE PRECEDENTE</b>					
<u>Type de culture</u> riz		<u>Problème phytosanitaire</u> -		<u>Traitement</u> -	

**ANNEXE VI: Fiches d'enquêtes sur les 3 recettes traditionnelles malgaches  
utilisées par les paysans de Vakinankaratra**


▪ Fiche d'enquête sur la Préparation 1:

<b>FICHE D'ENQUETE</b>				
Date : 20 /09/2010		Heure : 9 h 14 mn		
<b>RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LE PAYSANS</b>				
Nom & Prénom	RAKOTONJANAHARY Emile (48 ans)			
Localité	Soanafindra			
Commune	Vakinifasina			
District	Betafo			
Région	VAKINAKARATRA			
Coordonnées GPS	Longitude : S 19,00°50,00'06,30''	Altitude		
	Latitude : EO 46,00°50,00'24,02''	1 332 m		
<b>LUTTE BIOLOGIQUE UTILISEE</b>				
Contre la gale de pomme terre				
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mélanger 1 l de rumen de vache avec 1 l d'eau sucré pendant 5 minutes</li> <li>- Broyer 1 kg de chaque plante</li> <li>- Ajouter le jus de rumen</li> <li>- Rappporter le volume à 20 l</li> <li>- Macérer pendant 15 jours dans un récipient en plastique à l'air libre.</li> <li>- Additionner 2 l d'eau pour 1 l de préparation</li> </ul>				
Application	Mode	Moment	Nombre	
	Pulvérisation	2 semaines après levée	Par semaine	
<b>Renseignements sur les plantes nécessaires pour la préparation</b>				
Plante	Quantité	Port	Disponibilité	
Tsiamatimpangady	<i>Sida rhombifolia</i>	Grande	arbuste	Toute l'année
<i>Tephrosia</i>	<i>Tephrosia populnea</i>	Grande	arbuste	Toute l'année
Taretralahikely	<i>Agave sp.</i>	Grande		Toute l'année

▪ Fiche d'enquête sur la Préparation 2:

FICHE D'ENQUETE		N°020	
Date: 15 /11/2010		Heure: 14 h 14 mn	
<b>RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LE PAYSANS</b>			
Nom & Prénom	RAZAFIMANDIMBY Aimé Jacques		
Localité	AndohafarihyMahabodo		
Commune	Alakamisy		
District	Antsirabe II		
Région	VAKINAKARATRA		
Coordonnées GPS	Longitude : S 19,00°24,00'30,80''	Altitude	
	Latitude : EO 47,00°25,00'31,00''	1 497 m	
<b>LUTTE BIOLOGIQUE UTILISEE</b>			
Contre la gale de pomme terre			
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Broyer 1 kg de « taretralahikely » puis additionner 1 kg de bouse de vache sèche</li> <li>- Mélanger avec 03 paquets de <i>Tephrosia</i> et 20 l de d'eau</li> <li>- Mettre 50 g de savon locale ou « savonygasy »</li> <li>- Macérer pendant 15 jours</li> <li>- Ajouter 10 l d'eau avant utilisation</li> </ul>			
Application	Mode	Moment	Nombre
	Pulvérisation	1 semaine après levée	1 à 3 /semaine
<b>Renseignements sur les plantes nécessaires pour la préparation</b>			
Plante	Quantité	Port	Disponibilité
Taretralahy	<i>Agave sp</i>	Beaucoup	Toute l'année
Tephrosia	<i>Tephrosia populnea</i>	Beaucoup	Arbuste
Toute l'année			
<u>Remarques</u>			
Les préparations des luttés sont effectuées une semaine avant le lancement des cultures.			

▪ Fiche d'enquête sur la Préparation 3:

FICHE D'ENQUETE			N°021	
Date : 16 /11/2010		Heure : 11h 00 mn		
<b>RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LE PAYSANS</b>				
Nom & Prénom	RANDRIAMAHOLY Harilanto			
Localité	Amberobe			
Commune	Andranomanelatra			
District	Antsirabe II			
Région	VAKINAKARATRA			
Coordonnées GPS	Longitude : S 19,00°48,00'01,00''		Altitude	
	Latitude : EO 47,00°09,00'36,40''		1 545 m	
<b>LUTTE BIOLOGIQUE UTILISEE</b>				
<p>Contre la gale de pomme terre</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Broyer 1 kg de « voandelaka » et 1 kg de « taretra »</li> <li>- Ajouter 20 l de purin de bouse de vache</li> <li>- Macérer pendant 15 jours</li> </ul>				
Application	Mode	Moment		Nombre
	Pulvérisation	levée		1 fois / 2 semaines
<b>Renseignements sur les plantes nécessaires pour la préparation</b>				
Plante		Quantité	Port	Disponibilité
Voandelaka	<i>Melia azedarack</i>	Grande	Arbre	Toute l'année
Taretralahy	<i>Agave sp</i>	Grande		Toute l'année

## ANNEXE VII: Structure de la paroi d'une bactérie à Gram négatif

La paroi de la bactérie à Gram négatif est plus mince que celle de la bactérie à Gram positif (10 à 15nm).

Elle est moins riche en peptidoglycane (10% de la paroi seulement) qui est composée de 1 à 3 couches seulement. Le peptidoglycane est moins réticulé que celui de la paroi de bactérie à Gram positif.

L'enveloppe externe est surtout constituée de Lipopolysaccharides et de la porine.

La porine constitue la protéine majeure de l'enveloppe externe.

Le lipopolysaccharide lui-même est constitué:

- d'une partie interne, le lipide A, responsable de la toxicité
- d'une partie externe, l'antigène O qui est composée d'unités répétées de sucres.

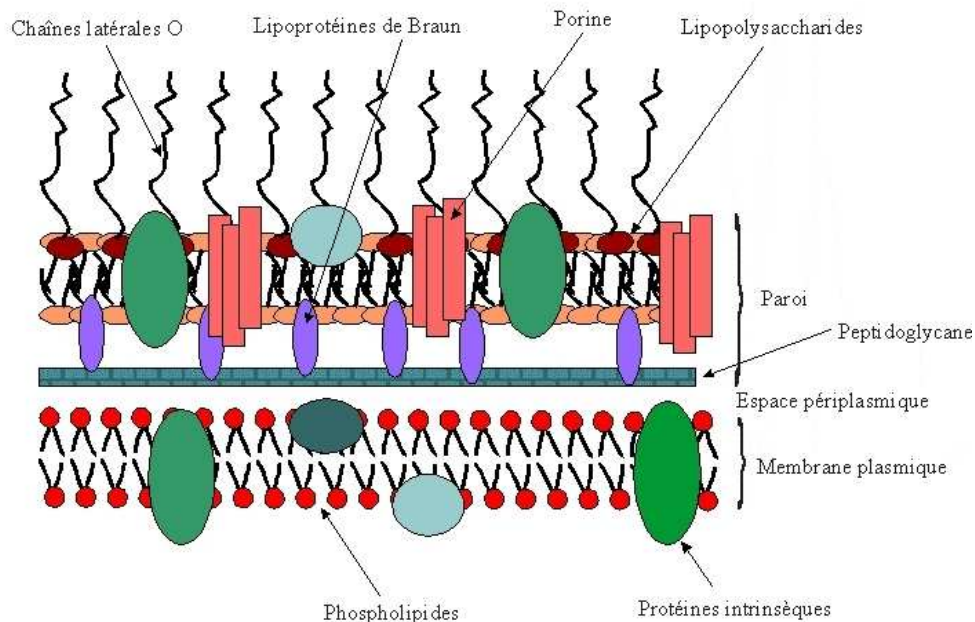


Photo de la paroi de la bactérie à Gram négatif

Source : [www.bactériologie.net](http://www.bactériologie.net)

**Name:** HARINARIVO

**First name:** HobyLalatiana

**Title:** DIAGNOSTIC AND CONTROL OF BACTERIAL DISEASES OF THE  
**POTATO:** *Solanumtuberosum*

### ABSTRACT

A coming down on lands track in the region of Vakinankaratra permitted to diagnose and to appropriate different symptoms of bacterial diseases affecting the potato or *Solanumtuberosum*. Six symptoms were predominant and made the materials of study of their responsible bacteria.

Eleven bacteria have been isolated from these six symptoms by the corresponding microbiological technique.

The method of Köch Postulate, used with two different inoculation ways, permitted to confirm and to identify the bacteria responsible for some pathology observed on lands. Potato seeds of different varieties “meva” and “diamondra” have been used for the two successive tests. Thus, two bacteria among the eleven isolated pure have been proven to be the responsible pathogens of the observed and deducted corresponding symptoms on lands.

These two bacteria were the subject of the assessment of the antibacterial activities of the three Malagasy traditional biologic returns used by the peasants of Vakinankaratra. The method of diffusion on agar confirmed by the one of microdillution for the research of the inhibitory minimal concentration permitted to value these antibacterial activities. The returns 1<sub>B</sub>, 1<sub>F</sub>, 3<sub>B</sub> and 3<sub>F</sub> were active on 1<sub>2</sub> whereas the stump 3t<sub>2</sub> was resistant to all tested returns.

**Keywords:** *Solanumtuberosum*, bacterial diseases, KöchPostulate, antibacterial activities.

**Encadreurs:** Docteur RAMAMONJISOA Daniel

Docteur RABEMANANTSOA Christian

**Nom :** HARINARIVO

**Prénoms:** HobyLalatiana

**Titre:** DIAGNOSTIC ET CONTROLE DES MALADIES BACTERIENNES DE LA POMME DE TERRE : *Solanumtuberosum*.

### RESUME

Une descente sur terrain, menée dans la région duVakinankaratra, a permis de diagnostiquer et de prélever différentes maladies bactériennes affectant la pomme de terre ou *Solanumtuberosum*. Six symptômes ont été prédominants et l'étude de leurs bactéries responsables a été effectuée.

Onze bactéries ont été isolées à partir de ces six symptômes par la technique microbiologique correspondante.

La méthode du Postulat de Koch, utilisée avec deux voies d'inoculation différentes, a permis de confirmer et d'identifier les bactéries responsables de certaines maladies observées sur terrain. Des semences de pomme de terre de variétés différentes « meva » et « diamondra » ont été utilisées pour les deux essais successifs. Ainsi, deux bactéries parmi les onze isolées pures ont été prouvées pour être les responsables des symptômes correspondants observés et prélevés sur terrains.

Ces deux bactéries ont fait l'objet de l'évaluation des activités antibactériennes des trois préparations biologiques traditionnelles malagasy utilisées par les paysans duVakinankaratra. La méthode de diffusion sur gélose confirmée par celle de microdilution pour la recherche de la concentration minimale inhibitrice ont permis d'évaluer ces activités antibactériennes. Les préparations 1<sub>B</sub>, 1<sub>F</sub>, 3<sub>B</sub> et 3<sub>F</sub> ont été actives sur 1<sub>2</sub> alors que la souche 3<sub>t2</sub> a été résistante à toutes les préparations testées.

**Mots clés :** *Solanumtuberosum*, maladies bactériennes, Postulat de Koch, activités antibactériennes.

**Encadreurs :** Docteur RAMAMONJISOA Daniel

Docteur RABEMANANTSOA Christian