

<b>TABLE DES MATIERES</b>	<b>PAGES</b>
DEDICACE.....	iii
REMERCIEMENTS .....	iv
SIGLES ET ABREVIATIONS.....	v
LISTE DES FIGURES.....	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES PHOTOS.....	viii
RESUME.....	ix
ABSTRACT .....	x
INTRODUCTION.....	1
<b>CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES SOLANACEES ET LE FLETRISSEMENT BACTERIEN DÛ A <i>RALSTONIA SOLANACEARUM</i></b> .....	3
I.1.        Généralités sur les solanacées.....	4
I.1.1.    Cas spécifique de la tomate.....	4
I.2.        Généralités sur le flétrissement bactérien causé par <i>Ralstonia solanacearum</i> ...	8
I.2.1.    Flétrissement bactérien en Afrique .....	8
I.2.2.    Flétrissement bactérien au Burkina Faso .....	8
I.2.3.    Gamme d'hôtes de l'agent pathogène .....	9
I.2.4.    Symptomatologie de la maladie .....	9
I.2.5.    Caractéristiques de l'agent causal, <i>R. solanaacearum</i> .....	10
<b>CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES</b> .....	19
II.1.        Matériel.....	20
II.1.1.    Présentation des sites.....	20
II.1.2.    Matériel biologique .....	20
II.2.        Méthodes .....	22
II.2.1.    Prospection et échantillonnage.....	22
II.2.2.    Isolément et identification des souches.....	22

II.2.3.	Evaluation du pouvoir pathogène des souches.....	26
II.2.4.	Criblage de 13 variétés de tomate avec les phylotypes de référence I et III de <i>R. solanacearum</i> .....	29
II.2.5.	Analyses statistiques .....	30
<b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS .....</b>		<b>31</b>
III.1.	Résultats.....	32
III.1.1.	Caractérisation moléculaire des souches de <i>R. solanacearum</i> collectées .....	32
III.1.2.	Evaluation du pouvoir pathogène des souches collectées .....	33
III.1.3.	Interactions entre les souches collectées et les variétés de tomate .....	37
III.2.	Discussion.....	40
III.2.1.	Prévalences du flétrissement bactérien dans les provinces du Houet, du Passoré et du Kénédougou .....	40
III.2.2.	Prédominance du phylotypes III dans les 3 provinces .....	40
III.2.3.	Pouvoir pathogène des souches .....	40
III.2.4.	Variétés résistantes .....	41
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....		42
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....		43
ANNEXES		

## **DEDICACE**

Je dédie ce document à

- mon père Ouédraogo Irénée et ma mère Zwetyandé Marie Dorothée qui m'ont donné la vie,
- mes frères pour leur soutien et leur amour.

## **REMERCIEMENTS**

Le présent mémoire est le fruit de 10 mois de travaux effectués dans les laboratoires de phytopathologie et bactériologie du département de Production Végétale de l'INERA à Bobo-Dioulasso. A cet effet, nous tenons à remercier Dr S. Léonard Ouédraogo responsable du laboratoire de phytopathologie/bactériologie, pour son accueil et la fourniture du matériel nécessaire pour la réalisation de notre travail.

Nous remercions la direction de l'IDR pour la formation reçue.

Nous tenons à remercier notre directeur de mémoire Pr Irénée Somda, à qui nous devons la qualité scientifique de ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à Madame Christine Kéré, directrice de l'IRSAT qui nous a facilité l'obtention de ce stage.

Nous remercions grandement M. Oumarou Traoré qui nous a fortement assisté lors de nos différents travaux.

Nos profonds remerciements vont également à l'endroit de Dr Issa Wonni et de Dr Charlotte Tollenaere pour leurs soutiens lors de nos travaux de laboratoire.

Nous remercions tout le personnel du département de Production Végétale de l'INERA à Bobo-Dioulasso, particulièrement Messieurs Amadou Diallo, Fousséni Boro, Manaka Douanio, Paul Ilboudo, Ibrahim Ouédraogo, Sylvain Zoungrana, Cyrille Zombré et Oumarou Dianda pour leurs multiples soutiens.

## SIGLES ET ABBREVIATIONS

<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ANOVA</b>	Analyse Of Variance
<b>AUDPC</b>	Area Under the Disease Progress Curve
<b>CFU</b>	Colony Forming Unit
<b>CORAF</b>	Conseil Ouest et Centre africain pour la recherche et le développement agricole
<b>DNA</b>	Deoxyribonucleic Acid
<b>dNTPs</b>	Deoxynucleotide
<b>DO</b>	Densité Optique
<b>ECEC</b>	Effective Cation Exchange Capacity
<b>FAO</b>	Food Agriculture Organization
<b>IF</b>	Indice de Flétrissement
<b>INERA</b>	Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles
<b>IRSAT</b>	Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies
<b>ITS</b>	Internal Transcribed Spacer
<b>MAHRH</b>	Ministère de l'Agriculture, de l'Hydraulique et des Ressources Halieutiques
<b>MLSA</b>	Multilocus Sequence Analysis
<b>NB</b>	Nutrient Broth
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PV</b>	Production Végétale
<b>QTLs</b>	Quantitative Trait Locus
<b>SMSA</b>	Semiselective South Africa Agar

LISTE DES FIGURES	PAGES
Figure 1 : Arbre phylogénétique basé sur l'analyse de la séquence partielle du gène codant l'endoglucanase (egl). ....	14
Figure 2 : Cycle infectieux de <i>R. solanacearum</i> . ....	16
Figure 3 : Carte de la zone d'étude.....	20
Figure 4 : Caractérisation moléculaire des isolats.....	32
Figure 5 : Comparaison des souches collectées au phylotype I (RUN1743). ....	34
Figure 6 : Comparaison des souches collectées au phylotype II (RUN1762).....	35
Figure 7 : Comparaison des souches collectées au phylotype III (RUN1793) .....	35
Figure 8 : AUDPC en fonction de la fréquence d'observation .....	36
Figure 9 : Comportement des 13 variétés de tomate testées vis-à-vis des deux (2) phylotypes de référence de <i>R. solanacearum</i> .....	38
Figure 10 : Courbes de l'AUDPC en fonction des fréquences d'observation. ....	39

## LISTE DES TABLEAUX

## PAGES

Tableau 1: Caractéristiques différentielles des biovars de <i>R. solanacearum</i> (Hayward, 1964)	11
Tableau 2: Correspondance entre phylotypes, clades, séquévars et anciennes classifications de <i>R. solanacearum</i> (Fegan et Prior, 2005 ; Wicker <i>et al.</i> , 2012).	15
Tableau 3: Variétés de tomate utilisées	21
Tableau 4: Souches de référence de <i>R. solanacearum</i> utilisées dans notre étude	21
Tableau 5: Liste des amorces utilisées pour la Pmx-PCR « phylotype »	26
Tableau 6: Caractéristiques physico-chimiques du sol de Farako-Bâ (Bado, 2002).	27
Tableau 7: Echelle de notation des symptômes de la maladie	29

<b>LISTE DES PHOTOS</b>	<b>PAGES</b>
Photo 1 : Colonies de <i>R. Solanacearum</i> sur milieu SMSA .....	10
Photo 2: Electrophorégramme type de diagnostic de <i>R. solanacearum</i> par Pmx-PCR, avec sites d'hybridation des amorces . ....	13
Photo 3 : Test de verre d'eau illustrant une exsudation bactérienne .....	22
Photo 4: Isolement des souches bactériennes .....	24
Photo 5: Colonies de <i>R. solanacearum</i> sur un milieu SMSA .....	24
Photo 6 : Inoculation des suspensions bactériennes .....	28
Photo 7: Progression de la maladie sur la variété Rossol .....	30
Photo 8 : Résultats de la PCR-multiplex .....	33



## RESUME

Au Burkina Faso le maraîchage est pratiqué dans toutes les régions et constitue une source de revenu importante pour les populations locales. Parmi les spéculations produites, la tomate représente plus de 21% de la production maraîchère totale. Sa production est cependant menacée par le flétrissement bactérien causé par la bactérie *R. solanacearum*, qui cause d'énormes pertes sur les sites maraîchers du pays. Ainsi, nous nous sommes fixés pour objectif de trouver une solution à la baisse de la productivité de la tomate causée par le flétrissement bactérien dû à *R. solanacearum* au Burkina Faso. Pour ce faire, nous avons procédé à la collecte d'échantillons de plantes flétries sur trois (3) sites maraîchers de la province du Houet, deux (2) sites de la province du Kénédougou et trois (3) sites de la province du Passoré. Nous avons ensuite procédé à l'isolement des souches à partir des plantes flétries. Les isolats obtenus ont été testés par PCR général pour *R. solanacearum* et les souches ayant donné un résultat positif ont été testées par PCR-multiplex pour la détermination de leurs phylotypes. Après les travaux de caractérisation des souches locales de *R. solanacearum*, nous avons procédé au criblage variétal de 13 variétés de tomate avec un phylotype I et un phylotype III de référence de *R. solanacearum*.

Notre étude a montré la présence du phylotype II et III dans chacune des trois provinces, avec cependant une prédominance du phylotype III. L'évaluation du pouvoir pathogène a révélé que les souches des trois (3) provinces sont toutes virulentes avec plus de 40% d'IF et un déclenchement de la maladie en l'intervalle de cinq (5) jours avec la majeure partie des souches. Les souches les plus virulentes appartiennent au phylotype III et ont été collectées dans les provinces du Kénédougou et du Passoré. Des pathoprofiles regroupant le phylotype II et III ont également été déterminés parmi les souches collectées. Ces pathoprofiles ont montré des agressivités similaires à celles des souches de référence utilisées.

A l'issue du criblage variétal deux (2) variétés (Rose de Berne de Kokopeli et Mongal de Tropicasem) se sont montrées les plus résistantes vis-à-vis du phylotype I et du phylotype III. La variété FBT de l'INERA a montré une résistance proche de celle de ces deux (2) variétés.

**Mots clés :** Flétrissement bactérien, isolats, phylotype, souche, pathoprofile, criblage, Burkina Faso.

## ABSTRACT

In Burkina Faso market gardening is practiced in all regions and is an important source of revenue for local populations. Among the produced crops, tomato represents over 21% of the total vegetable production. Its production is however threatened by bacterial wilt caused by the bacterium *R. solanacearum*, causing huge losses on many market gardening sites of the country. So we set out to find a solution to the decline in the productivity of tomato due to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in Burkina Faso. To do this, samples of wilted plants were collected from three (3) market gardening sites in the province of Houet, two (2) sites in the province of Kénédougou and three (3) sites in the province Passoré. We then proceeded to the isolation of strains from the wilted plants. General PCR amplifications for *R. solanacearum* were carried out on the isolates, and the ones found positive were tested by multiplex PCR «phyloTYPE». After the characterization of local strains of *R. solanacearum*, we proceeded to the screening of 13 tomato cultivars with some reference strains of phyloTYPE I and III.

Our study showed the presence of phyloTYPE II and III in all the three provinces, with a predominance of phyloTYPE III. Assessment of pathogenicity revealed that the strains from the three (3) provinces were all virulent with more than 50% of wilt index and a disease onset in the range of five (5) days, for the majority of the strains. The most virulent strains belong to phyloTYPE III and were collected in the Kénédougou and the Passoré. Pathoprofiles constituted of phyloTYPE II and III were also determined among the collected strains. These pathoprofiles were similar to the reference strains in terms of aggressiveness. The screening of the tomato cultivars revealed that the cultivar Rose de Berne from Kokopeli and the cultivar Mongal from Tropicasem are the most resistant to phyloTYPE I and III of *R. solanacearum*. The cultivar FBT3 from INERA has shown a resistance close to that of the two (2) cultivars.

**Key words:** bacterial wilt, isolates, phyloTYPE, strain, pathoprofile, screening, Burkina Faso.

## INTRODUCTION

Au Burkina Faso, l'agriculture est la principale source de revenu pour les populations. Elle est également le pilier de la sécurité alimentaire. Ce secteur occupe plus de 80% de la population et contribue pour environ 33% au Produit Intérieur Brute (M.A.H, 2011). Les cultures maraîchères occupent une place importante parmi les nombreuses filières agricoles (M.A.H, 2004) avec une production totale évaluée à 747.488 tonnes en 2008 (M.A.H, 2011). Elles sont génératrices d'importantes devises pour l'économie nationale. La tomate occupe la deuxième place après l'oignon bulbe avec une production nationale évaluée à 157.086 tonnes, soit 21 % de la production maraîchère totale (M.A.H., 2011). La tomate demeure la culture maraîchère la plus rentable du pays. En effet, l'évaluation des marges brutes dégagées par cette activité montre que celle de la tomate s'élevait à 5,5 milliards de FCFA environ, suivi de l'oignon avec 4,5 milliards FCFA (M.A.H, 2011)

Malheureusement, la filière tomate fait face à de nombreuses contraintes biotiques dont les parasites qui peuvent réduire les rendements de 90% (CORAF, 2010). En effet, les ravageurs, les champignons, les virus et les bactéries constituent des contraintes biotiques majeures pour la production et l'intensification de la culture. Parmi les phyto bactéries qui affectent la production de la tomate, on rencontre principalement *Ralstonia solanacearum* qui est une bactérie tellurique, responsable du flétrissement bactérien chez les Solanacées. La bactérie peut provoquer des pertes de rendement de 90% dans la culture de la tomate (Cariglia, 2007).

Face à cette contrainte biotique majeure, différentes stratégies de lutte ont été développées : la méthode chimique en majorité basée sur l'utilisation des produits chimiques de synthèse, la lutte génétique par la création de variétés résistantes, la lutte agronomique (rotation des cultures avec les plantes non hôtes telles que riz, maïs, soja; les amendements organiques comme les boues de station d'épuration et la bagasse de canne à sucre) (Okon, 1990). Il y a aussi aussi l'utilisation des huiles essentielles comme des bio-fumigants (Pradhanang *et al.*, 2003). La principale voie pour limiter l'incidence de cette maladie est la création de variétés tolérantes ou résistantes (Sidikou *et al.*, 2005). Selon Hayward (1991), la résistance variétale reste la stratégie de choix pour lutter contre le flétrissement bactérien. Elle consiste à identifier des sources de tolérance ou de résistance adaptées aux conditions climatiques de la zone de production. C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude intitulée «Caractérisation des isolats de *Ralstonia solanacearum*, agent causal du flétrissement bactérien dans les périmètres

maraîchers du Houet, du Kénédougou et du Passoré et recherche de variétés résistantes à la maladie».

Cette étude s'inscrit dans une logique de recherche de solution durable à la baisse de la productivité de la tomate causée par le flétrissement bactérien dû à *R. solanacearum* au Burkina Faso. De façon spécifique il s'agit de:

- Caractériser les souches locales de *R. solanacearum* dans les provinces du Houet, du Kénédougou et du Passoré.
- Identifier des variétés de tomate tolérantes à la maladie.

Ces objectifs nous ont conduits aux hypothèses suivantes:

- il existe une diversité génétique au sein des populations de *Ralstonia solanacearum* dans la province du Houet, du Kénédougou et du Passoré;
- il existe des variétés de tomate résistantes au flétrissement bactérien des Solanacées.

Le présent document qui fait l'économie de nos travaux s'articule autour de trois chapitres: le premier chapitre traite des généralités sur les Solanacées et le flétrissement bactérien dû *Ralstonia solanacearum*, le deuxième présente le matériel et les méthodes utilisés et le troisième est consacré aux résultats obtenus et la discussion.

---

**CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES SOLANACEES ET  
LE FLETRISSEMENT BACTERIEN DÛ A *RALSTONIA*  
*SOLANACEARUM* (E. F. SMITH) YABUUCHI *ET AL.***

---

## **I.1. Généralités sur les solanacées**

La famille des solanacées fait partie de l'ordre des solanales qui comprend 7 familles et environ 7400 espèces. Cette famille est largement répandue sur le globe terrestre, mais surtout diversifiée dans la région tropicale du nouveau monde (Walter *et al.*, 2002). La classification traditionnelle avait reconnu 2 sous-familles aux solanacées à savoir les *Cestroideae* et les *Solanoideae* (D'Arcy, 1991). Une autre sous-famille, les *Nolanoideae* a été isolée par certains taxonomistes comme étant une famille distincte, celle des *Nolanaceae* (Cronquist, (cité par Mahbubur et Moriom, 2016)). Cependant, depuis les années 1990, l'examen des relations phylogéniques au sein des solanacées a abouti à l'inclusion des *Nolanaceae* (*Nolanoideae*) dans la famille des solanacées (Olmstead et Palmer, 1992). Par la suite, avec l'avènement des marqueurs moléculaires révélateurs du polymorphisme de l'ADN, plusieurs autres membres de la famille ont été réorientés dans une logique phylogénique. Cela a conduit par exemple au passage des genres *Lycopersicon* (Spooner *et al.*, 1993) dans le genre *Solanum*.

De nos jours la famille des solanacées compte 100 genres et 2500 espèces reconnus (Olmstead *et al.*, 2008). On dénombre 15 genres qui fournissent des espèces qui sont beaucoup utilisées dans l'alimentation à travers le monde. En effet, le genre *Solanum*, *Capsicum*, *Lycium* et *Physali* fournissent des espèces alimentaires d'une importance économique considérable (John, 2015). Au nombre de ces espèces on peut citer: le poivre de cayenne et les poivres rouges et verts (*Capsicum spp.*), l'aubergine (*Solanum melongena*), la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) et la tomate (*Lycopersicon esculentum*) (Walter *et al.*, 2002). Cette dernière présente un intérêt particulièrement important du fait de son cycle de production court et de son haut rendement. Il serait donc intéressant de faire l'état des lieux de cette espèce afin de mieux la connaître.

### **I.1.1. Cas spécifique de la tomate**

#### **I.1.1.1. Origine et répartition géographique de la tomate**

La tomate est originaire de la région des Andes d'Amérique du Sud. Elle fut cultivée pour la première fois au Mexique, puis introduite en Europe en 1544 par le conquistador allemand. De là, sa culture se propagea en Asie du Sud et du Nord, en Afrique et au Moyen Orient. La tomate est communément appelée "tomate" en France et en Espagne, "tomat" en Indonésie, "faan ke'e" en Chine, "tomati" en Afrique de l'Ouest, "jitomate" au Mexique et "pomodoro" en Italie (Naika *et al.*, 2005).

#### **I.1.1.2. Taxonomie de la tomate**

Linné (1753) avait inclus la tomate dans le genre *Solanum*, en la nommant *Solanum lycopersicum*, mais Miller (1754-1768) la renomma *Lycopersicon esculentum* en créant le genre *Lycopersicon* qui regroupait les différentes variétés de tomate. De nos jours, des études phylogéniques récentes ont montré sans ambiguïté que la tomate est profondément imbriquée dans le genre *solanum* qui comporte 13 espèces (Peralta *et al.*, 2008).

La classification de la tomate retenue et rappelée par Gaussen *et al.* (1982) est la suivante :

Règne:	Végétal
Sous-règne:	<i>Trachenobionta</i>
Division :	<i>Magnoliophyta</i>
Classe:	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre:	Solanales
Famille:	<i>Solanaceae</i>
Genre:	<i>Lycopersicon</i>
Espèce:	<i>Lycopersicon esculentum</i>

#### **I.1.1.3. Exigences écologiques de la tomate**

Pour sa croissance et son développement, la température optimale pour la plupart des variétés se situe entre 21 et 24°C. La tomate peut surmonter des extrêmes de température, mais en-dessous de 10°C et au-dessus de 38°C, les tissus des plantes seront endommagés (Naika *et al.*, 2005). La photopériode quant à elle influence la teneur en matière sèche. En jours relativement longs, on observe une croissance supérieure de même qu'une augmentation de la teneur en matière sèche des fruits (De Lannoy, 2001).

##### **I.1.1.3.1. Température et lumière**

Pour sa croissance et son développement, la température optimale pour la plupart des variétés se situe entre 21 et 24°C. La tomate peut surmonter des extrêmes de température, mais en-dessous de 10°C et au-dessus de 38°C, les tissus des plantes seront endommagés (Naika *et al.*, 2005). La photopériode quant à elle influence la teneur en matière sèche. En jours relativement longs, on observe une croissance supérieure de même qu'une augmentation de la teneur en matière sèche des fruits (De Lannoy, 2001).

#### **I.1.1.3.2. Sol**

La tomate préfère des sols riches en matières organiques, meubles et profonds (15 à 20 cm), à forte capacité de rétention en eau et bien drainés (De Lannoy, 2001). L'intervalle de pH du sol dans lequel la tomate peut survivre est assez large. Cependant, le pH le plus favorable à son développement se situe entre 5,5 et 6,8 (Naika *et al.*, 2005)

#### **I.1.1.3.3. Eau et humidité**

#### **I.1.1.4. Importance économique et alimentaire de la tomate**

La tomate est la troisième espèce végétale cultivée au monde après la pomme de terre et la patate douce, et le deuxième légume le plus consommé (De Broglie et Guérault, 2005). Selon FAO, plus de 170 pays produisent la tomate. La production mondiale de la tomate en 2013 était environ 160 millions de tonnes. Cette production est en augmentation constante avec 40 millions de tonnes supplémentaires en 10 ans (FAOSTAT, 2013).

Sur le plan alimentaire, la tomate garantit un régime sain et équilibré. Elle est riche en minéraux, en vitamines (surtout B et C), en acides aminés essentiels, en sucres ainsi qu'en fibres alimentaires (Naika *et al.*, 2005). Cette importance économique et alimentaire de la tomate est cependant menacée par beaucoup de facteurs biotiques et abiotiques qui mettent en péril plusieurs exploitations de tomate.

#### **I.1.1.5. Contraintes abiotiques et biotiques de la tomate**

##### **I.1.1.5.1. Contraintes abiotiques de la tomate**

Les contraintes abiotiques de la tomate sont pour la plupart liées aux conditions climatiques défavorables et à la pauvreté des sols. Elles peuvent se manifester par des Brûlures solaires des fruits, l'Eclatement des fruits et les fentes de croissance.

##### **-Les Brûlures solaires des fruits**

C'est un stress abiotique causé par un ensoleillement excessif. Les brûlures solaires se traduisent par des taches apparaissant parfois sur la face la plus exposée au rayonnement direct du soleil, ceci durant les périodes très chaudes. Les fruits non mûrs sont particulièrement vulnérables (Blancard, 2015).

##### **-L'Eclatement des fruits de la tomate**

Il est causé par un arrosage excessif pendant les périodes sèches. Cette maladie entraîne l'éclatement des fruits (Chaux et Fourry, 1994).

##### **-Les Fentes de croissance**



Ces fentes apparaissent sur la moitié supérieure du fruit près du calice (Chaux et Fourry, 1994).

#### **I.1.1.5.2. Contraintes biotiques**

##### **I.1.1.5.2.1. Ravageurs de la tomate**

###### **- Les insectes**

Les insectes ravageurs causent d'énormes dégâts aux cultures maraîchères notamment la tomate dans presque toutes les zones de culture. Au nombre de ces insectes ravageurs de la tomate on peut citer les pucerons qui provoquent une déformation des jeunes folioles et des retards de croissance, les papillons de nuit (noctuelles) qui détruisent les feuilles et les fruits ; les aleurodes et les pucerons qui entraînent des retards de croissance (Blancard, 2015).

###### **- Les nématodes**

Ce sont des vers de très petite taille qui vivent dans le sol et se nourrissant à partie des racines. Ils sont munis d'un organe perforateur au niveau de la bouche appelé stylet, qui leur permet de sucer la sève des plantes. Dans un champ attaqué par les nématodes, les cultures souffrent le plus souvent d'un retard de croissance, d'une décoloration et une déformation des feuilles (Naika *et al.*, 2005). Les principaux nématodes inféodés à la tomate sont les nématodes à galles et les nématodes à lésions racinaires (Blancard, 2015).

###### **- Les acariens**

Les acariens sont des sortes d'araignée presque invisibles à l'œil nu. Ils dépouillent les feuilles, les tiges et les fruits de leur contenu cellulaire. Ils causent surtout des dégâts aux feuilles entraînant leur décoloration. Les feuilles se dessèchent et la plante finit par mourir. (Ruocco, 2010).

##### **I.1.1.5.2.2. Maladies de la tomate**

###### **- Les maladies fongiques**

Les champignons responsables de ces maladies sont inféodés aux racines, au collet et aux organes aériens de la tomate. Au nombre de ces maladies on a la fonte de semis qui détruit les semis avant ou après la levée, la pourriture du collet qui se manifeste par un chancre ou une pourriture de la tige au ras du sol ou juste au-dessus (Berkeley et Richardson, 1960).

###### **- Les viroses**

L'infection virale provoque un large éventail de symptômes, à savoir des taches de couleur sur les feuilles et les fruits, une mauvaise croissance, un retard de croissance des plantes, des rendements réduits et la mort de la plante (Naika *et al.*, 2005).

Au nombre des virus qui attaquent les plantes de tomates nous pouvons citer le virus de la chlorose de la tomate (Tomato chlorosis virus (ToCV)), le virus de la mosaïque de la tomate (Tomato mosaic virus (ToMV)), le Virus de la maladie bronzée de la tomate (Tomato spotted wilt virus (TSWV)) (Naika *et al.*, 2005).

#### **- Les maladies bactériennes**

Parmi ces maladies bactériennes, on peut citer *Xanthomonas axonopodis* responsable de la gale bactérienne, *Clavibacter michiganensis* responsable de la maladie du chancre bactérien et *Ralstonia solanacearum* responsable du flétrissement bactérien. Ce dernier est reconnu comme un des agents pathogènes les plus nuisibles sur les Solanacées en général et la tomate en particulier (Niaka *et al.*, 2005).

### **I.2. Généralités sur le flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum***

#### **I.2.1. Flétrissement bactérien en Afrique**

En Afrique, le flétrissement bactérien constitue une sérieuse menace pour les cultures maraîchères. L'Afrique Centrale et l'Afrique de l'Est furent les premières régions du continent à être sévèrement touchées par la maladie (Deberdt *et al.*, 1999). La maladie est maintenant présente en Angola, au Burundi, au Cameroun, au Congo, en Ethiopie, au Gabon, en Gambie, au Kenya, au Madagascar, au Malawi, en Maurice, au Mozambique, au Nigeria, et au Burkina Faso (EPPO, 2004). Dans le sud-ouest du Nigéria par exemple, 80% des champs de tomate ont été touchés par le flétrissement bactérien (Adebayo et Ekpo, 2005). Malgré la forte présence de la maladie sur le continent, peu d'informations restent disponible sur la diversité de l'agent causal. En 2010, Poussier dans ses travaux avait découvert au sein du complexe d'espèces de *R. solanacearum* l'existence d'un groupe de souches originaires d'Afrique et de l'Océan Indien (Poussier, 2010). C'est seulement au Cameroun (Mahbou *et al.*, 2009) et en Côte d'Ivoire que des études approfondies ont été menées pour déterminer la diversité génétique de l'agent pathogène (N'guéssan, 2012).

#### **I.2.2. Flétrissement bactérien au Burkina Faso**

Au Burkina Faso les incidences de flétrissement bactérien furent signalées pour la première fois dans la station de Farako-bâ par d'Arondel de Hayes en 1964 (d'Arondel, 1964). Les souches isolées appartenaient à la race 1, biovar 1, phylotype I. Par la suite, l'existence des biovars III et IV de la race 1 furent découverts par Ouédraogo (1998). Ses travaux permirent

d'établir que 33% des souches isolées au Burkina sont du Biovar I, 63,3% du biovar III et 3,3% du biovar IV.

Par ailleurs, les travaux de Somé (2001) ont permis de montrer une très forte présence de la race I dans la vallée du Kou. Les travaux de cet auteur ont également permis de montrer que des doses de matière organique de 24 à 32 tonnes entraînent une baisse de l'incidence de la maladie de l'ordre de 23 à 30% respectivement par rapport au témoin.

### **I.2.3. Gamme d'hôtes de l'agent pathogène**

Le flétrissement bactérien a une répartition mondiale (Elphinstone, 2005). Il s'agit d'une maladie causée par une bactérie tellurique (*Ralstonia solanacearum*) qui affecte une gamme d'hôtes de plus de 200 espèces végétales réparties dans 53 familles botaniques (Hayward, 1994). Cette gamme d'hôtes exceptionnellement large est en expansion continue et des descriptions de nouveaux hôtes ne sont donc pas rares. Les hôtes les plus importants sont la banane et le plantain (*Musa* spp.), l'aubergine (*S. melongena*), l'arachide (*Arachis hypogaea*), *Heliconia* spp., la pomme de terre (*S. tuberosum*), le tabac (*Nicotiana tabacum*) et la tomate (*Lycopersicon esculentum*) (Elphinstone, 2005).

### **I.2.4. Symptomatologie de la maladie**

Beaucoup de symptômes externes et internes caractérisent le flétrissement bactérien chez les solanacées. En ce qui concerne les symptômes internes, les plus fréquents sont la décoloration progressive du xylème aux premiers stades de l'infection. La décoloration gagne par la suite les parties de la moelle et du cortex, jusqu'à la nécrose complète (Kelman, 1953). Pour ce qui en est des symptômes externes, on observe après infection de l'hôte le flétrissement soudain et irréversible de l'appareil végétatif aérien (Buddenhagen et Kelman, 1964), suivi de chloroses et de la mort de la plante (Champoiseau *et al.*, 2010).

Dans le cas particulier de la tomate, en conditions moins favorables à la maladie, on peut observer un arrêt de croissance et de nombreuses racines adventives sur la tige (Buddenhagen et Kelman, 1964). En outre, après l'effondrement des jeunes plantes infectées, on observe souvent l'émission d'un exsudat blanchâtre et visqueux au niveau de la tige (Digat et Caffier, 1996).

Pour la race 3, comme plantes hôtes on a l'aubergine (*Capsicum* spp.), le géranium (*Geranium* spp.), la pomme de terre, la tomate et les mauvaises herbes comme *Solanum dulcamara* et *Solanum nigrum*. Cette race est répandue sur tous les 5 continents (Elphinstone, 2005).

La race 4 de *R. solanacearum* cause de sévères flétrissements chez bon nombre d'espèces de plantes de la famille des *Zingiberaceae* incluant le gingembre comestible (*Zingiber officinale*), le mioga (*Z. mioga*), le curcuma (*Curcuma longa*), *Curcuma alismatifolia*, l'alpinia (*Alpinia* spp.), le galanga (*Kaempheria galanga*) (Paret *et al.*, 2008). Cette race se rencontre en Asie (Elphinstone, 2005).

En ce qui concerne la race 5, elle a pour hôte les mûriers (*Morus* spp.) et se rencontre en Chine (Elphinstone, 2005).

#### I.2.5.3. Classification en Biovars

Contrairement à la classification basée sur la gamme d'hôtes, celle-ci se base sur les propriétés biochimiques des souches de *R. solanacearum* à utiliser trois disaccharides (la cellobiose, le lactose et le maltose) et trois hexoses alcools (le mannitol, le dulcitol et le sorbitol) (**Tableau 1**). Elle a historiquement abouti à la définition de 4 Biovars (codés 1 à 4) (Hayward, 1991). Plus tard, deux (2) autres biovars ont été mis en évidence : le biovar 5 et le biovar N2 ou 2T. Ce dernier possède une activité métabolique différente du biovar 2 de par sa capacité à hydrolyser un quatrième disaccharide, le D-tréhalose (Hayward, 1994).

**Tableau 1: Caractéristiques différentielles des biovars de *R. solanacearum* (Hayward, 1964)**

	Biovars					
	1	2	2T ou N2	3	4	5
Cellobiose	-	+		+	-	+
Lactose	-	+		+	-	+
Maltose	-	+		+	-	+
Manitol	-	-		+	+	+
Dulcitol	-	-		+	+	-
Sorbitol	-	-		+	+	-
D-tréhalose	+	-		+	+	+

+ : utilisation du sucre ou du sucre alcool; - : pas d'utilisation.

#### **I.2.5.4. Approches moléculaires dans la description de la diversité génétique de *R. solanacearum***

En se basant sur des analyses du polymorphisme de longueur des fragments de restriction, Cook *et al.* (1994) ont pu mettre en évidence 2 divisions de *R. solanacearum* : la division 1 qui comprend des souches appartenant aux biovars 3, 4 et 5, principalement isolées en Asie; la division 2 qui comprend des souches appartenant aux biovars 1, 2 et N2 principalement isolées dans les Amériques.

Plus récemment, l'analyse des données de séquençage de la région ITS (Internal Transcribed Spacer) du gène 16S-23S ARNr, du gène codant l'endoglucanase et du gène *hrpB* a soutenu l'existence de ces deux divisions. Cette analyse est allée plus loin en mettant en évidence l'existence de deux autres groupes de souches (Fegan et Prior, 2006).

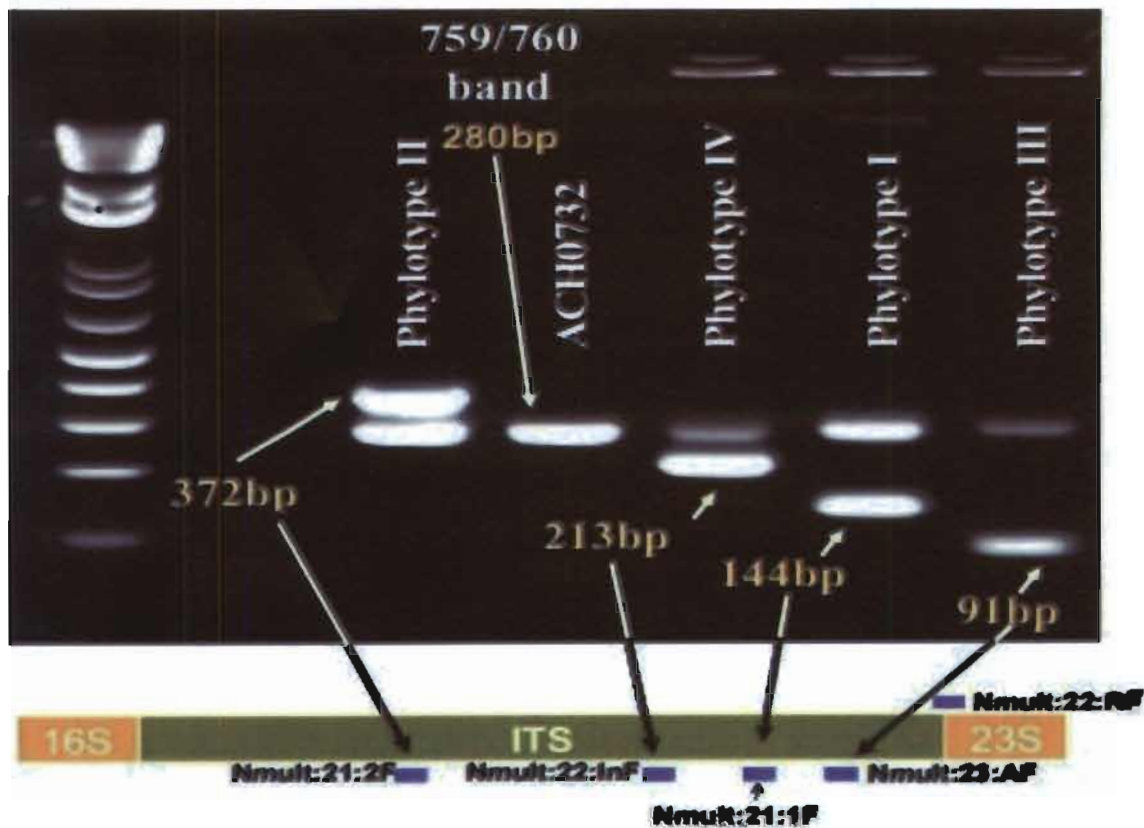
#### **I.2.5.5. Classification des souches par phylotype et séquévar**

Avec cette classification, le complexe d'espèces *R. solanacearum* est divisé en 4 phylotypes corrélés avec l'origine géographique (Fegan et Prior, 2006) (**figure 1**).

Le phylotype I, comprenant des souches originaires d'Asie, est équivalent à la division 1 définie par Cook *et al.* (1994). Ce phylotype inclut toutes les souches appartenant aux biovars 3, 4 et 5. Le phylotype II, comprenant principalement des souches isolées de l'Amérique, est équivalent à la division 2 et comprend les souches appartenant aux biovars 1 et 2. Ce phylotype inclut également la race 3 de *R. solanacearum* pathogène sur la pomme de terre et la race 2 qui est pathogène sur la banane (Fegan et Prior, 2006). Le phylotype III contient des souches isolées principalement de l'Afrique et des îles environnantes. Ces souches appartiennent aux biovars 1 et 2T (Fegan et Prior, 2006). Le phylotype IV contient les souches principalement originaires de l'Indonésie et appartenant aux biovars 1, 2 et 2T. Ces souches ont également été trouvées en Australie et au Japon. Ce phylotype contient les deux parents proches de *R. solanacearum* qui sont *P. syzygii* et *Pseudomonas* spp. Ces derniers sont responsables de la maladie du sang de la banane (BDB) (Fegan et Prior, 2006).

Ces différents phylotypes peuvent être différenciés à l'aide d'une réaction en chaîne par polymérase appelée PCR-multiplexe («Phylotype - mx- PCR » ou Pmx-PCR). Elle utilise les amorces 759/760 qui ciblent le gène *lpxC* pour l'identification moléculaire de *R. solanacearum* et 5 amorces (spécifiques à chaque phylotype) ciblées sur la zone ADNr 16S, qui permettent de déterminer le phylotype des souches (**photo 2**) (Fegan et Prior, 2006).

Chaque phylotype se compose d'un certain nombre de sequevars. Un sequevar ou une variante de séquence est défini comme un groupe de souches avec une séquence hautement conservée dans la zone séquencée.



**Photo 2:** Electrophorégramme type de diagnostic de *R. solanacearum* par Pmx-PCR, avec sites d'hybridation des amorces (Fegan et Prior, 2005).

**Tableau 2: Correspondance entre phylotypes, clades, séquévars et anciennes classifications de *R. solanacearum* (Fegan et Prior, 2005 ; Wicker *et al.*, 2012).**

<i>Ralstonia solanacearum</i>															
Phylotype	I				III			IIA		IIB				IV	
Clade	1				6			2	3	4	5	N D		7	8 N D
Sequevar <i>egl</i>	13	18	45		19	42		6	35	41		4A	4NP	1	25
	14	31	46		20	43			36	50			8		26
	15	34	47	16	12		49	29	7					3	28
	17	44	48		22	48		24	38	52		45FR	51	2	27
Biovar	3		4	5	3		27	3		3	3	3	3	27	27
Race	1	4	5					2	1	2		3	2		
<div>Espèce génomique ? (Remenant 2010, 2011)</div>															

#### I.2.5.7. Cycle infectieux

Le cycle infectieux commence par la pénétration de la bactérie dans les racines grâce aux ouvertures naturelles ou aux blessures (Kelman et Sequeira, 1965). Cette pénétration nécessite la mise en contact par chimiotactisme de la bactérie avec l'hôte (Tans-Kersten *et al.*, 2001). La bactérie colonise ensuite les espaces intercellulaires, puis les vaisseaux du xylème (Vasse *et al.*, 1995) où elle se multiplie et synthétise des exopolysaccharides (EPS) et des enzymes de dégradation des parois. Ceci empêche la circulation de l'eau dans la plante et provoque donc un flétrissement des feuilles puis l'effondrement de la plante. Après l'effondrement de la plante, *R. solanacearum* est libéré dans le sol ou autres milieux, où elle doit survivre jusqu'à la mise en contact avec un nouvel hôte (**Figure 2**) (Alvarez *et al.*, 2008).



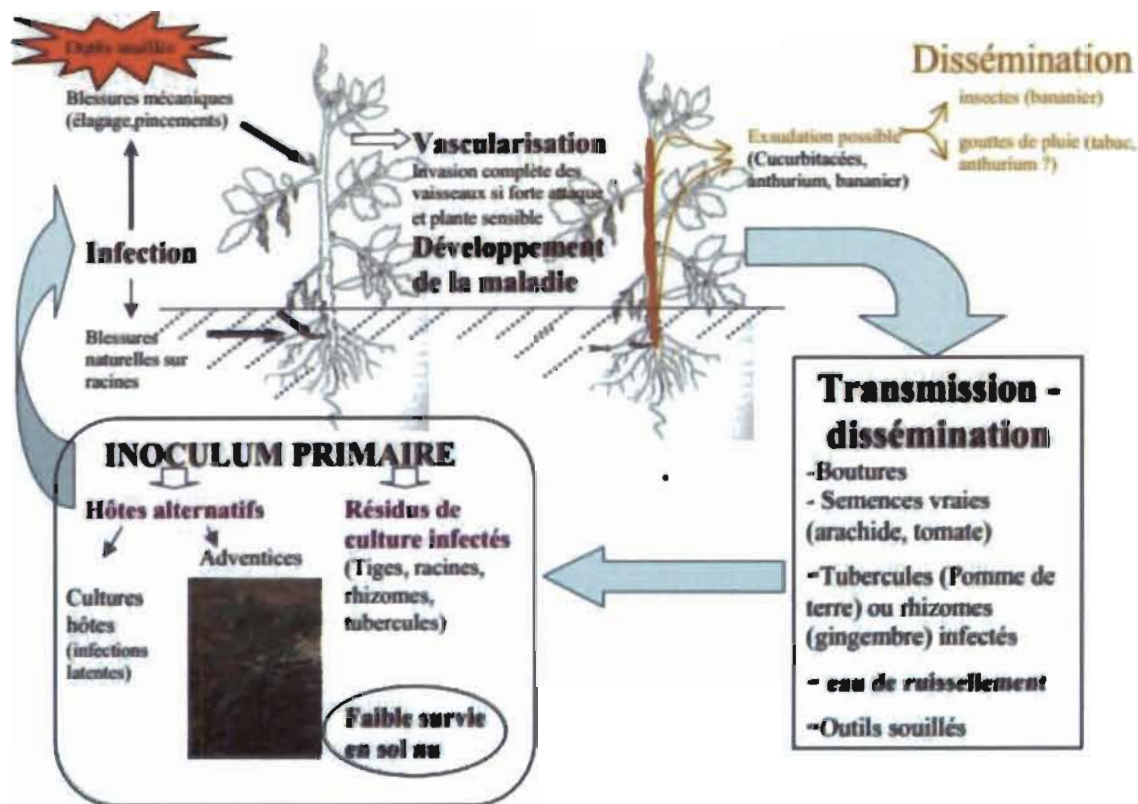


Figure 2 : Cycle infectieux de *R. solanacearum* (Wicker, 2004)

#### I.2.5.8. Epidémiologie

##### I.2.5.8.1. Dissémination

La dissémination de *R. solanacearum* peut s'effectuer à travers plusieurs voies. Au nombre de celles-ci, on peut citer la transmission par les semences comme celles de l'arachide et de la tomate (Hayward, 1991). Il y'a ensuite la transmission mécanique par blessure des racines lors des pratiques culturales ou par les blessures dues aux nématodes sur divers hôtes (Kelman, 1953). Nous avons enfin la transmission par les insectes dans le cas de la maladie de Moko (Buddenhagen et Elsasser, 1962).

##### I.2.5.8.2. Conservation

Dans la nature *R. solanacearum* se conserve dans le sol, l'eau et la plante. Dans le sol, son temps de survie dépend du type de sol, du biovar et des conditions environnementales (Nicole, 1995). La bactérie peut survivre longtemps (24 semaines au plus) dans un mélange sol-sable (Granada et Sequeira, 1983). Sa conservation sur les sols nus est cependant très discutée. Au nombre des facteurs environnementaux qui influencent l'expression du flétrissement bactérien, on a l'humidité et la température du sol. Un sol humide et bien drainé favorise plus la survie de *R. solanacearum* qu'un sol sec ou inondé (Buddenhagen et Kelman, 1964). La température optimale d'infestation de la bactérie se situe entre 30 et 35°C,



exception faite pour les souches « froides » de phylotype II (IIB sequevar 1, historiquement race 3 biovar 2) (Buddenhagen et Kelman, 1964).

Dans l'eau, *R. solanacearum* a une durée de survie planctonique variable en fonction de la qualité de l'eau et de la température selon la souche concernée (Poussier, 2000). Dans une eau purifiée comme l'eau osmosée et l'eau des villes, la survie peut aller jusqu'à plusieurs mois contre 2 semaines au plus dans une eau d'irrigation (Poussier, 2000). *R. solanacearum* survie également dans des eaux riches en matières organiques comme les eaux de surface (17 à 33 jours), ou un mélange eau/boue (6 à 24 jours) (Janse *et al.*, 1998).

Les plantes présentant des symptômes de flétrissement ou non, sont des réservoirs d'inoculum car porteuses d'infections latentes. Par ailleurs, tout autre matériel végétal (tubercule de pomme de terre, pieds de banane, rhizomes de gingembre ou d'héliconia, boutures, etc.) porteur d'infections latentes est également un réservoir d'inoculum (Hayward, 1991).

#### **I.2.5.9. Méthodes de lutte**

##### **I.2.5.9.1. Lutte prophylactique**

Cette lutte permet une réduction du potentiel de l'inoculum et des voies de pénétration. Elle passe par le contrôle et l'élimination autant que possible des hôtes alternatifs sensibles comme les adventices qui peuvent assurer la survie et la multiplication de la bactérie en l'absence de la culture-hôte. Elle consiste aussi en un drainage efficace, une désinfection des outils et des bottes. Dans les parcelles contaminées, outre les mesures réglementaires prévues, il est recommandé d'arracher les plantes malades et de procéder à leurs assèchements. L'utilisation de plantes certifiées ayant fait l'objet de contrôle au champ et au laboratoire reste la meilleure garantie (Wicker, 2004)

##### **I.2.5.9.2. Lutte biologique**

Cette lutte consiste en général en l'utilisation de bactéries antagonistes ou de souches avirulentes de *R. solanacearum*. Ces bactéries antagonistes peuvent avoir un effet inhibiteur sur la croissance de *R. solanacearum*, comme c'est le cas avec *Bacillus sp.* Pour ce qui est des mutants avirulents de *R. solanacearum*, ils peuvent induire des phénomènes de résistance chez la plante. Cependant ils sont en général moins compétitifs que les souches virulentes (Poussier, 2000).

##### **I.2.5.9.3. Lutte culturale**

La stratégie de choix est la rotation culturale tout en évitant les successions d'espèces hôtes (Wicker *et al.*, 2009). Parmi les espèces non hôtes on peut citer, le maïs (*Zea mays*), le riz

(*Oryza sativa*), le soja (*Glycine max*), le gombo (*Abelmoschus esculentum*), le niébé (*Vigna unguiculata*). Suivant la souche de *R. solanacearum* présente, les rotations culturales sont plus ou moins efficaces et nécessitent une période de culture de plantes non hôtes qui peut durer longtemps (Michel *et al.*, 1997)

#### **I.2.5.9.4. Lutte chimique et physique**

La lutte chimique passe par l'utilisation des amendements chimiques comme le KCl, KNO et NaNO<sub>3</sub> (Hartman *et al.*, 1993) et par l'application de fumigants tels que le bromure de méthyle et l'hypochlorite de sodium (Fortnum et Martin, 1998). Elle passe également par l'application d'herbicides pour éliminer les plantes adventices colonisées par *R. solanacearum* (Machmud, 1993). Il y'a enfin l'application d'antibiotiques comme la streptomycine, l'ampicilline, la tétracycline et la pénicilline (Hartman et Elphinstone, 1994). Ces luttes sont rarement utilisées à cause du coût élevé des méthodes et de la dangerosité pour l'utilisateur et l'environnement.

Comme moyen de lutte physique, il y'a la solarisation qui consiste en une désinfection thermique du sol par recouvrement avec un film plastique transparent (Wicker, 2004).

#### **I.2.5.9.5. Lutte génétique**

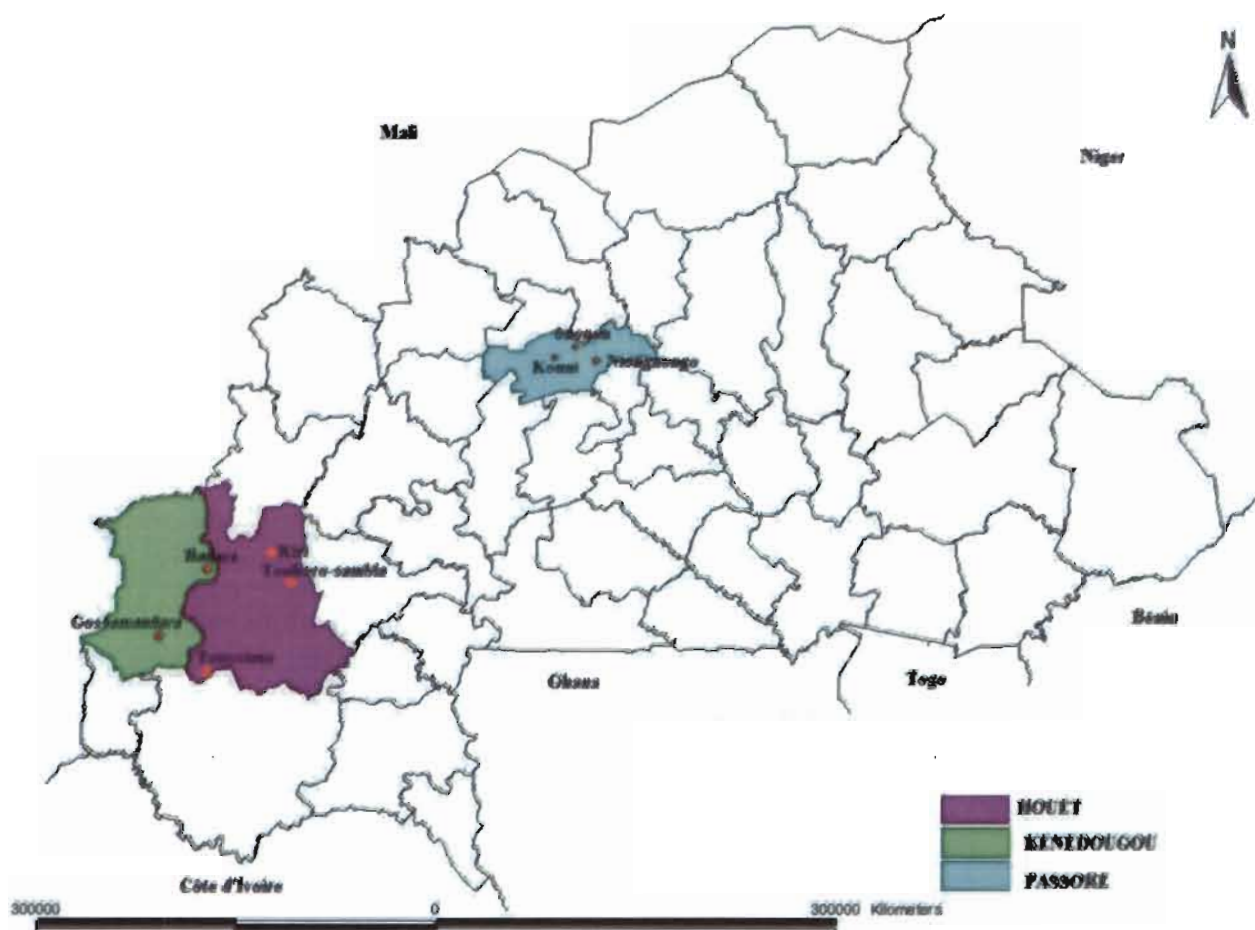
Dans cette lutte, la résistance variétale reste une stratégie de choix car elle reste la plus efficace pour lutter contre le flétrissement bactérien (Hayward, 1991). Elle a permis l'amélioration du tabac, de la tomate, de la pomme de terre, de l'arachide et de l'aubergine (Prior *et al.*, 1998).

## **CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES**

## II.1. Matériel

### II.1.1. Présentation des sites

La collecte des échantillons s'est faite sur huit (8) sites maraîchers du Burkina-Faso, dont trois (3) dans la province du Houet (Kiri, Toukoro-Sambla, Toussiana), trois (3) dans la province du Passoré (Kouni, Ougnon, Niongnongo) et deux (2) dans la province du Kénédougou (Badara, Gouchamadara) (**Figure 3**). L'isolement et la caractérisation des isolats se sont déroulés au laboratoire, et le criblage variétal sur le site expérimental du département de Production Végétale de l'INERA à Bobo-Dioulasso.



**Figure 3 :** Carte de la zone d'étude

### II.1.2. Matériel biologique

Le matériel biologique ayant servi à l'étude est constitué de :

- 13 variétés de tomate produites au Burkina Faso (**tableau 3**),
- 3 souches de référence représentant les phylotypes I, II et III de *R. solanacearum* (**Tableau 4**).

**Tableau 3: Variétés de tomate utilisées**

Variétés	Provenance
Rio de grenier	Tropicasem
Rossol	Tropicasem
FBT3	INERA
Roma	Tropicasem
Bella rosa	Sakata
Hog Heart	Kokopelli
Rose de berne	Kokopelli
Amapola	Sakata
Marina	Sakata
Accession	AVAPAS
Thorgal	Tropicasem
Cœur de Bœuf de Nice	Kokopelli
Mongal	Tropicasem

**Tableau 4: Souches de référence de *R. solanacearum* utilisées dans notre étude.**

N°	Hote						
d'enregistrement	Code	Phylotype	Sequevar	Pays	d'isolement	Loclité	Continent
RUN 1743	CIV			Cote			
	22	I	31	d'Ivoire	Aubergine	Daloa (II)	Afrique
RUN 1793	CIV			Cote		Kondoukro	
	56	III	48	d'Ivoire	Aubergine	(IV)	Afrique
RUN1762	CIV	II	35	Côte	Tomate	Datta (I)	Afrique.
	41			d'Ivoire			

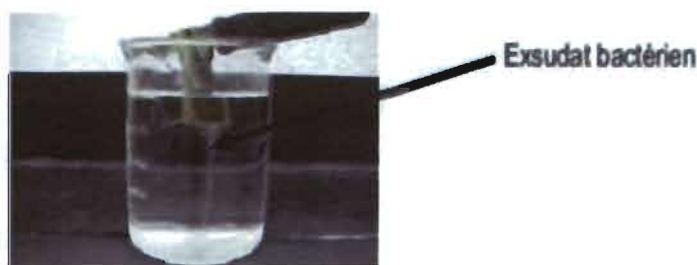
Source : (N'Guessan, 2012)

## II.2.Méthodes

### II.2.1. Prospection et échantillonnage

La prospection a porté sur les grands sites de production où de sévères incidences de flétrissement bactérien ont été rapportées par les maraîchers. La collecte s'est déroulée pendant la campagne sèche entre le mois de Février et Avril 2016. Des plantes flétries de tomates, d'aubergines et de poivrons ont été collectées par parcelle et soumises au test de verre d'eau. Ce test a consisté à plonger les tiges des plantes flétries (taillées obliquement) dans des béchers ou des verres transparents contenant de l'eau propre. La diffusion d'un filament blanc laiteux dans l'eau confirme l'hypothèse d'une infection due à *R. solanacearum* (**Photo 3**).

Les plantes qui ont présenté un résultat positif ont été mises dans des sachets transparents et conservées au réfrigérateur pour l'isolement de l'agent pathogène.



**Photo 3 :** Test de verre d'eau illustrant une exsudation bactérienne (Williamson, 2002)

### II.2.2. Isolément et identification des souches

#### II.2.2.1. Isolement des souches

Les tiges collectées ont d'abord été lavées à l'eau de robinet et découpées en de petits fragments d'environ 2 cm. Sous la hotte à flux laminaire, ces fragments de tiges ont été désinfectés dans des solutions d'alcool 75%, puis d'eau de Javel 1% et rincés à l'eau distillée stérile. Ils ont ensuite été écrasés dans des sachets Bioreba. Un volume de 3mL d'une solution de NaCl à 0,85% a ensuite été ajouté aux tiges broyées. Les suspensions obtenues ont été laissées au repos pendant 15 à 30 mn pour permettre la libération des bactéries des tissus végétaux (**Photo 4**).

Après libération des suspensions bactériennes, 50  $\mu$ L de la suspension ont été prélevés à l'aide d'une anse et étalés sur du milieu SMSA selon la technique des trois secteurs (N'guessan *et al.*, 2012). Les boîtes de Pétri ont été mises en incubation en position inversée à l'étuve à une température de 25 à 30°C durant 48 à 72 heures.

La purification des souches isolées s'est réalisée sur le milieu SMSA (**Photo 5**). Les souches pures ont été conservées dans un milieu stérile composé de NB et de glycérol à 50% dans les

proportions respectives de 2/3 et 1/3 à l'intérieur des cryotubes de 1,5 µL à -20°C et caractérisées par la suite.



A



B



C



D

**Photo 4:** Isolement des souches bactériennes : **A** : Tiges de plantes flétries utilisées pour l'isolement ; **B** : Fragments de tige ; **C** : broyage ; **D** : Ajout de NaCl



**Photo 5:** Colonies de *R. solanacearum* sur un milieu SMSA

## II.2.2.2. Identification des souches

### II.2.2.2.1. Préparations des suspensions

Pour les différents tests, les bactéries conservées à  $-20^{\circ}\text{C}$  ont été récultivées à cet effet et les colonies âgées de 48 h ont été utilisées. Nous avons préparé ensuite une suspension bactérienne à  $10^8 \text{ CFU.mL}^{-1}$  pour l'évaluation du pouvoir pathogène des souches, la PCR, et le criblage variétal. Pour la préparation de la suspension, une prise d'anse a été prélevée et



mélangée à 5 ml d'eau stérile sous une hotte à flux laminaire. Le contenu est agité au vortex de manière à bien dissoudre la souche. La densité optique (DO) à 600 nm a été mesurée en mettant 1 mL de la suspension bactérienne dans une cuve de spectrophotomètre puis ajustée à 0,2 à une incertitude 10% selon la formule:

$$\text{Volume d'eau distillée à ajouter} = \frac{\text{DO obtenue} - \text{DO voulue}}{\text{DO voulue}} \times 100$$

#### **II.2.2.2.2. Amplification par PCR générale pour *R. solanacearum***

Des amplifications par PCR pour *R. solanacearum* ont été réalisées sur les souches isolées, afin de vérifier la présence ou non d'ADN.

#### **II.2.2.2.3. Caractérisation moléculaire des souches de *R. solanacearum***

Elle a été réalisée à l'aide d'une multiplex PCR (Pmx-PCR) ciblant la région 16S-23S ITS pour déterminer le phylotype de chaque souche selon la méthode décrite par Fegan et Prior (2005). La PCR inclut 4 amorces sens (forward) phylotype spécifiques et une amorce reverse commune (sigle de l'amorce) à tous les phylotypes (**Tableau 6**).

La PCR a été effectuée avec un volume réactionnel de 25 µL. Ce volume comprend 11,95 µL d'eau distillée stérile, 5 µL de tampon PCR, 0,5 µL de dNTP, 0,5 µL à 10X de chaque amorces, 0,05 µL de Red Goldstar Taq DNA polymérase et 5 µL de suspension bactérienne à 10<sup>8</sup> CFU.mL<sup>-1</sup>. Les échantillons subissent une phase de dénaturation initiale de 5 min à 96°C, puis 30 cycles réactionnels : (i) dénaturation de 1 mn à 94°C, (ii) hybridation de 90 secondes à 59°C, (iii) élongation de 90 secondes à 72°C, suivi d'une phase d'élongation finale de 20 mn à 72°C. Les amplifiats PCR sont ensuite maintenus à 12°C jusqu'à leur transfert au congélateur.

Les amplifications PCR ont été réalisées dans un thermocycleur. Les produits PCR ont été ensuite séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1%. La révélation est faite grâce au gel red qui est apporté au gel d'agarose avant que celui-ci ne soit coulé sur une plaque en « U ». La visualisation est réalisée sur une table à UV.

**Tableau 5: Liste des amorces utilisées pour la Pmx-PCR « phylotype »**

Amorces	Séquences nucléotidiques des amorces (5' à 3')	Spécificité	Taille d'amplifiat attendue (pb)
759f	GTCGCCGTCAACTCACTTTCC	Bande spécifique	280
760r	GTCGCCGTGAGCAATGCGGAATCG	Bande spécifique	280
Nmult21 : 1F	CGTTGATGAGGCGCGCAATTT	Phylotype I	144
Nmult21 : 2	AAGTTATGGACGGTGGGAAGTC	Phylotype II	372
Nmult23 : AF	ATTACSAGAGCAATCGAAAGATT	Phylotype III	91
Nmult22 : InF	ATTGCCAAGACGAGAGAAGTA	Phylotype IV	213
Nmult22 : RR	TCGCTTGACCCTATAACGAGTA	Tous les phylotypes	NA

### II.2.3. Evaluation du pouvoir pathogène des souches

Le but de ce test est d'apprécier la virulence et l'agressivité des souches collectées dans les 3 provinces. A cet effet, 5 souches de bactéries ont été prises par province et comparées aux 3 phylotypes de référence (RUN 1793, RUN1762 et RUN1743). La variété de tomate Rossol a été utilisée.

#### - Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est un Bloc randomisé avec 17 traitements et 4 répétitions appliquées pour chacune des souches.

#### - Préparation de substrat de culture

Le terreau utilisé pour le mélange a été d'abord traité en le débarrassant des débris. Ce terreau a été prélevé sur un sol à texture limono-sableuse de Farako-Bâ dans l'horizon 0 à 15 cm. En effet, les sols de Farako-Bâ sont de type ferralitique et de texture sableuse. Leur teneur en azote est faible et leur pH légèrement acide. La capacité d'échange cationique est faible et le taux de saturation en bases échangeables est supérieur à la moyenne (**Tableau 5**). La partie meuble obtenue après tamisage et retrait des impuretés a été mélangée avec de la fumure organique bien décomposée (2 brouettée de terreau pour une brouettée de fumure organique). Le mélange bien humidifié a été par la suite stérilisé au feu vif pendant 1 h 30 mn. La terre stérilisée est laissée dans un bac jusqu'à refroidissement pour ensuite être répartie dans des

pots de 5L. Les pots sont disposés selon le dispositif expérimental sur deux bacs (4 m x 1 m x 0,2 m ) surélevés à 0,8 m du sol pendant 10 jours pour attendre la reprise de l'activité biologique dans le substrat et procéder au semis.

**Tableau 6: Caractéristiques physico-chimiques du sol de Farako-Bâ (Bado, 2002).**

Caractéristiques	Teneurs	Caractéristiques	Teneurs
Argile (%)	7	N total (mg kg <sup>-1</sup> )	409
Sable (%)	74	P Bray I (mg kg <sup>-1</sup> )	5,6
Limon (%)	19	P total (mg kg <sup>-1</sup> )	69,8
pH eau	6,5	K total (mg kg <sup>-1</sup> )	531
pH KCl	5,6	Ca échangeable (Cmol/Kg Sol)	1,08
Carbone total (%)	0,61	K échangeable (Cmol/Kg Sol)	0,02
		Mg échangeable (Cmol/Kg Sol)	0,46
Matière organique totale (%)	1,1	ECEC (Cmol/Kg Sol)	1,82
C/N	13,7	Acidité d'échange (Cmol/Kg Sol)	0,08
		Saturation en bases(%)	96

**Semis** : les semis ont été directs, en déposant 4 à 6 graines de tomate Rossol dans chaque pot à une profondeur de 1 à 2 cm et en les recouvrant légèrement de terre. Après le repiquage les travaux d'entretien des plants en phase de végétation ont consisté au besoin à des arrosages avec de l'eau de robinet et au traitement avec le delthamethrine des jeunes plantes pour réduire la pression de la mouche blanche, vectrice de virus et autre insecte susceptible de véhiculer des germes dans l'essai.

**Inoculation** : avant l'inoculation, au stade 3-4 feuilles vraies un démariage a été réalisé pour retenir la plante la plus vigoureuse par pot. Avant l'inoculation, les racines des plantes ont été scarifiées au scalpel. Un volume de 5 mL de suspension bactérienne à 10<sup>8</sup> CFU.mL<sup>-1</sup> préparée à partir de colonies bactériennes âgées de 48h a été ensuite déposé au pied des plantes selon la méthode de Winstead et Kelman (1952) (**photo 6**).



**A**



**B**

**Photo 6 :** Inoculation des suspensions bactériennes : A : Scarification de quelques racines, B : Dépôt de l'inoculum

#### II.2.4. Criblage de 13 variétés de tomate avec les phylotypes de référence I et III de *R. solanacearum*

Il a porté sur 13 variétés de tomate cultivées au Burkina Faso. Leurs résistances à la bactérie *R. solanacearum* ont été étudiées dans les conditions climatiques de la zone d'étude. Pour ce faire, les phylotypes de référence de *R. solanacearum* RUN1793(Phylotype III) et RUN1743 (Phylotype I) ont été évalués pour leurs virulences et leurs agressivités sur l'ensemble de ces variétés. La méthode d'inoculation utilisée ici est identique à la précédente (**Photo 6**).

##### - Suivre du développement de la maladie

La collecte des données a porté sur le suivi du développement de la maladie en ce qui concerne l'évaluation du pouvoir pathogène des souches collectées et le criblage variétal. En effet, la sévérité des symptômes a été notée sur chaque plante avec l'échelle utilisée par Coupat-Goutaland *et al.* (2011) (**Tableau 7**).

**Tableau 7: Echelle de notation des symptômes de la maladie**

Notes de la maladie	Types de symptôme
0	Aucun symptôme
1	1 seule feuille flétrie
2	3 feuilles flétries
3	Toutes les feuilles flétries
4	Tige totalement repliée/plante morte

Le suivi des symptômes a débuté à partir du troisième jour après inoculation et s'est poursuivi durant 28 jours. La notation des symptômes a été effectuée de façon quotidienne durant les 28 jours. Seules les notes 3 et 4 (**Photo 7**) ont été prises en compte pour le calcul des Indices de Flétrissement (IF) et l'AUDPC. L'IF traduit l'incidence de la maladie et l'AUDPC rend compte de la cinétique de progression de la maladie.



Note 0

Note 3

Note 4

**Photo 7:** Progression de la maladie sur la variété Rossol

Par ailleurs, en fin d'essai du criblage variétal, les infections latentes ont été estimées sur les plantes sans symptôme. Pour ce faire, l'isolement a été effectué à partir des tiges pour vérifier la présence ou non de *R. solanacearum*. Les plantes asymptomatiques ont été notées positives à une infection latente lorsque des colonies caractéristiques de *R. solanacearum* sont observées. Une échelle de sensibilité est définie comme suit :

**Résistant** (note 0); **Moyennement Résistant** (note 1 et 2); **Sensible** (note 3 et 4).

$$- IF = \frac{N3 + N4}{N_{total}}$$

Avec : IF=Indice de Flétrissement, N3 : Nombre de plantes notées 3, N4 : Nombre de plantes notées 4

$$- AUDPC = \sum_{i=1}^n [(IF_i + IF_{i-1})/2] (T_i - T_{i-1})$$

Avec : IF<sub>i</sub> : Indice de Flétrissement à la date i, IF<sub>i-1</sub>: Indice de Flétrissement précédant la date i, soit 1 jour avant i, T<sub>i</sub>: correspond à la date de notation i, T<sub>i-1</sub>: correspond à la date de notation précédant la date i.

### II.2.5. Analyses statistiques

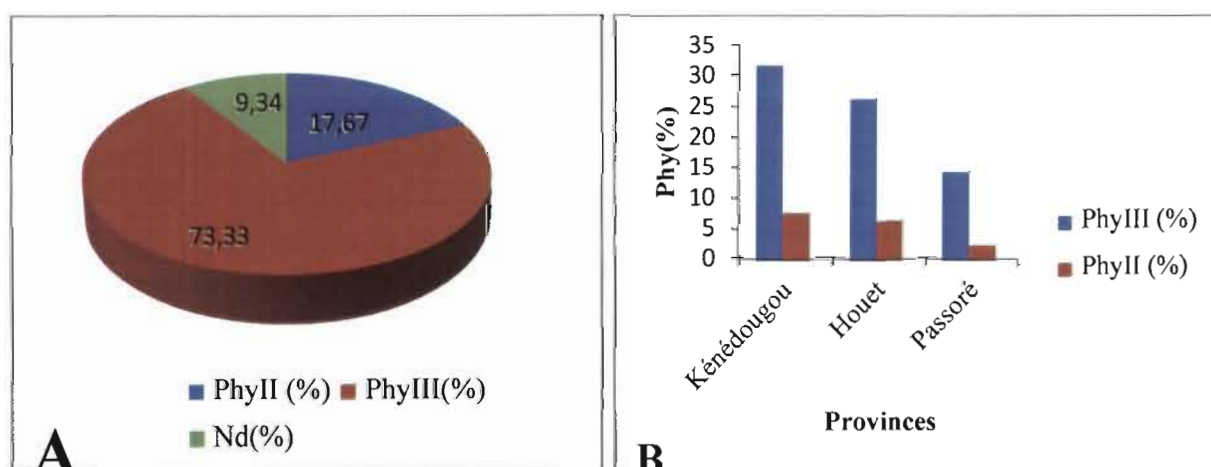
Le logiciel Excel 2013 a servi pour la saisie, l'organisation des données et la réalisation des graphiques. Les totaux des données corrigées et mises en forme ont été analysés à l'aide du logiciel Minitab 10. Pour l'Analyse des Variances (ANOVA), la séparation des moyennes a été faite à l'aide du test de Fisher au seuil de 5% avec le logiciel Minitab 10.

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

### III.1. Résultats

#### III.1.1. Caractérisation moléculaire des souches de *R. solanacearum* collectées

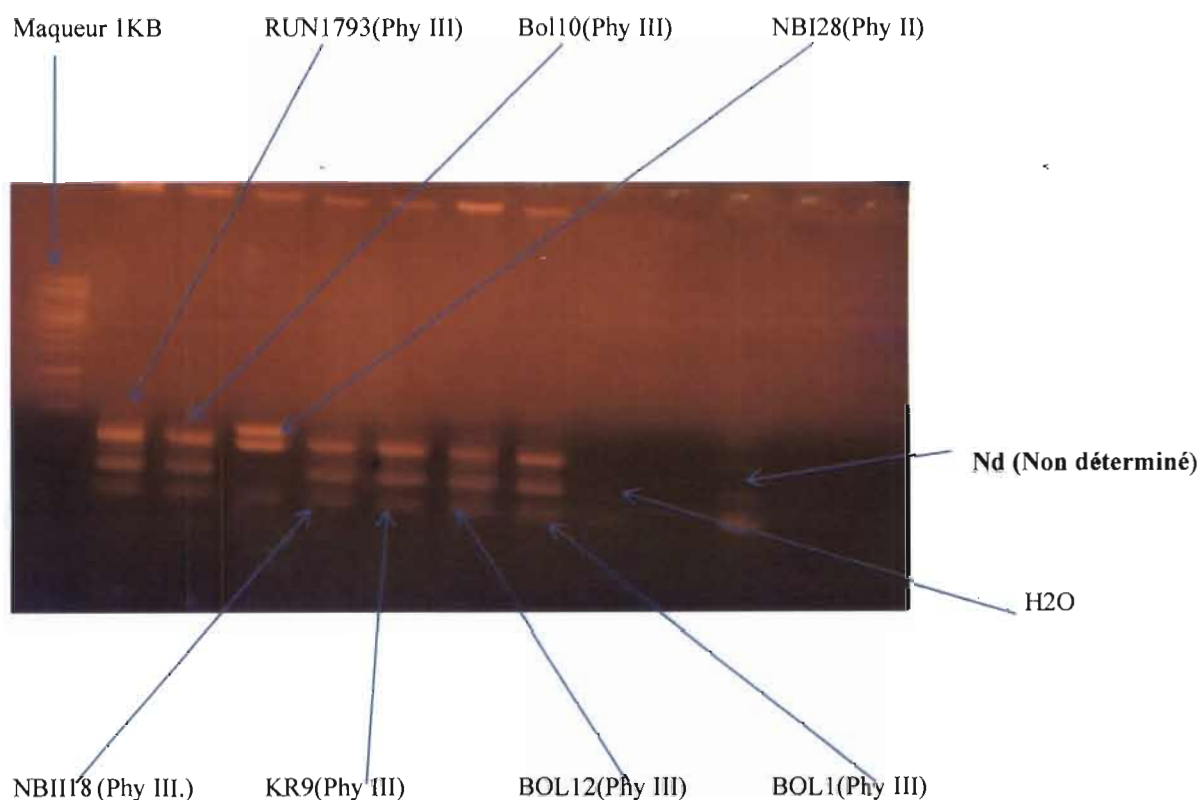
Cent douze (112) isolats bactériens obtenus à partir de plants flétris de tomates et d'aubergines collectés dans 8 sites maraîchers des provinces du Houet, du Passoré et du Kénédougou ont été amplifiés par PCR général pour *R. solanacearum*. Sur ces 112 isolats, 75 ont donné un résultat positif. Ces 75 isolats ont ensuite été testés par Pmx-PCR « Phylotype ». Après cette PCR, il s'est avéré que les isolats appartiennent essentiellement aux phylotypes II et III, avec une prédominance du phylotype III dans l'ensemble des isolats et dans chacune des provinces (Figure 4).



**Figure 4 :** Caractérisation moléculaire des isolats : (A) Résultats de la Pmx-PCR « phylotype », (B) Répartitions des phylotypes par province

La photo 8 montre les résultats de la migration sur gel de certains échantillons positifs, d'un échantillon négatif et de l'eau distillée stérile. Le puits situé entre H<sub>2</sub>O et l'échantillon non déterminé (Nd) n'a pas été exploité.





**Photo 8** : Résultats de la PCR-multiplex

### III.1.2. Evaluation du pouvoir pathogène des souches collectées

Cinq (5) souches de chaque province et des souches de références (RUN1743 (phylotype I), RUN1762 (phylotype II), et RUN1793 (phylotype III)) ont été testées pour leurs virulences et leurs agressivités sur la variété de tomate Rossol. Le pouvoir pathogène des souches des différentes provinces a ensuite été comparé à celui des souches de référence.

#### III.1.2.1. Indices de flétrissement (IF)

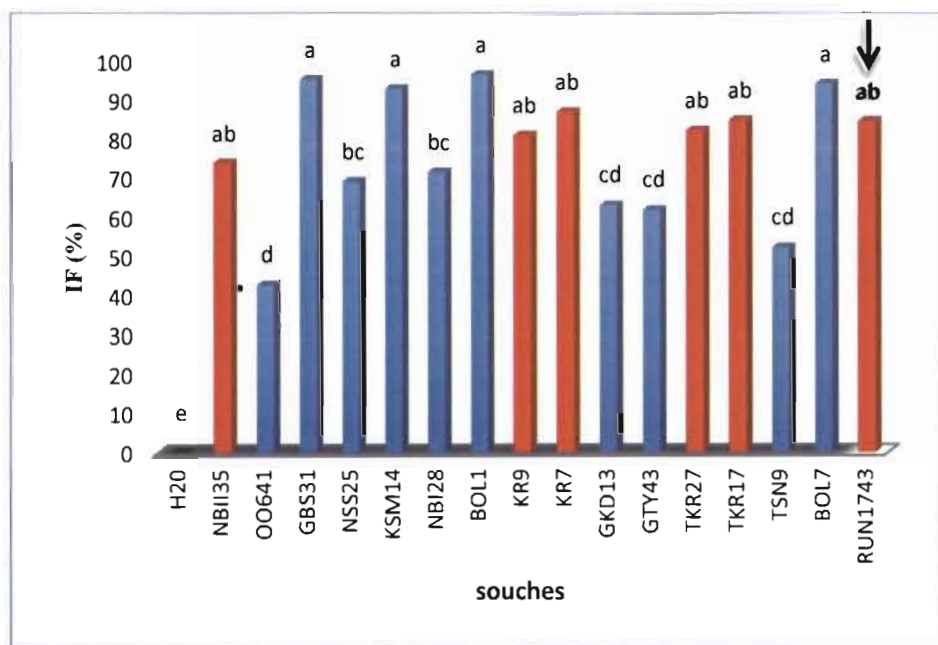
Les résultats de l'analyse de variance des IF calculés sur différentes souches ont montré qu'il existe une différence très hautement significative ( $P < 0,001$ ) entre elles comparativement au témoin négatif (souches de références) et au témoin positif (eau distillée).

Les 15 souches provenant des 3 provinces ont induit en moyenne des IF variant entre 42,8% et 96,43%; comparativement au témoin négatif (H<sub>2</sub>O) qui n'a induit aucun flétrissement (0%). Quatre (4) souches dont trois (3) du Kénédougou et une (1) du Passoré ont occasionné les IF les plus élevés (90-97%).

##### III.1.2.1.1. Indices de Flétrissements des souches collectées par rapport à IF du phylotype I (RUN1743)

La figure 5 indique que cinq (5) souches dont quatre (4) de la province du Houet et une (1)

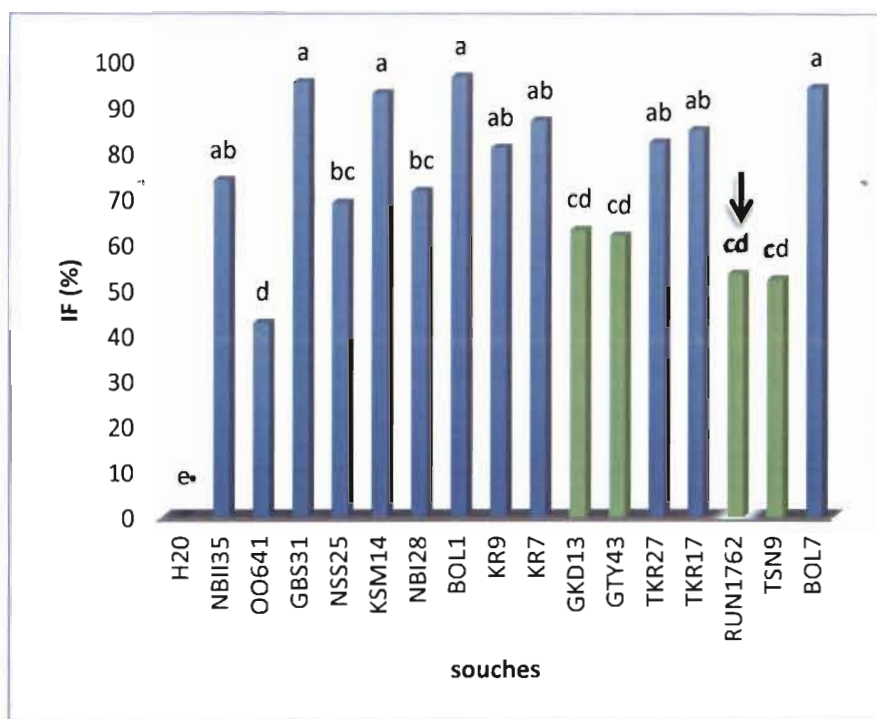
de la province du Passoré sont statistiquement identiques au phylotype I (RUN1743) de par leurs agressivités. Leurs indices de flétrissement varient entre 73% et 87%, comparativement à celui du phylotype I qui est de 84,52%.



**Figure 5 :** Comparaison des souches collectées au phylotype I (RUN1743)

#### III.1.2.1.2. Indice de flétrissement des souches collectées par rapport à IF du phylotype II (RUN1762)

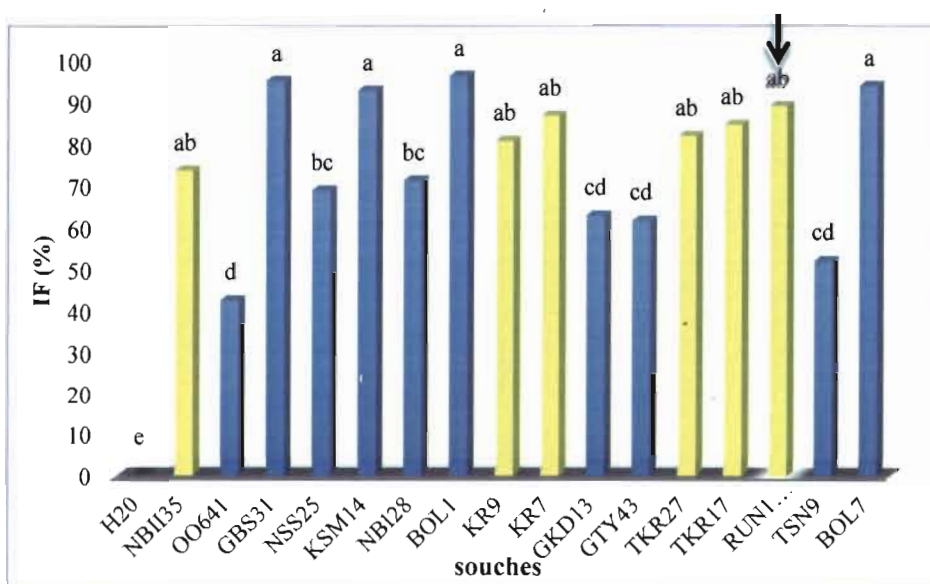
La figure 6 indique que trois (3) souches collectées dont deux (2) du Kénédougou (GKD13 et GTY43) et une (1) du Houet (TSN9) ont une agressivité similaire à celle du phylotype II (RUN1762). Ces trois (3) souches ont occasionné des IF variant entre 50% et 64%. La souche RUN1762 a occasionné un IF de 53,57%.



**Figure 6 :** Comparaison des souches collectées au phylotype II (RUN1762).

#### III.1.2.1.3. IF des souches collectées par rapport à IF du phylotype III (RUN1793)

Comme indiqué dans la Figure 7, cinq (5) souches collectées dont quatre (4) de la province du Houet et une (1) souche de la province Passoré sont statistiquement identiques au phylotype III (RUN1793) qui a induit un IF de 89,29%. Les quatre souches de la province du Houet ont induit des IF variant entre 80,95% et 84,2%. Elles ont été collectées sur les sites maraîchers TKR17, TKR27, KR7et KR9. La souche de la province du Passoré a été collectée sur le site maraîcher NBII35 et a occasionnée un IF de 73;81%

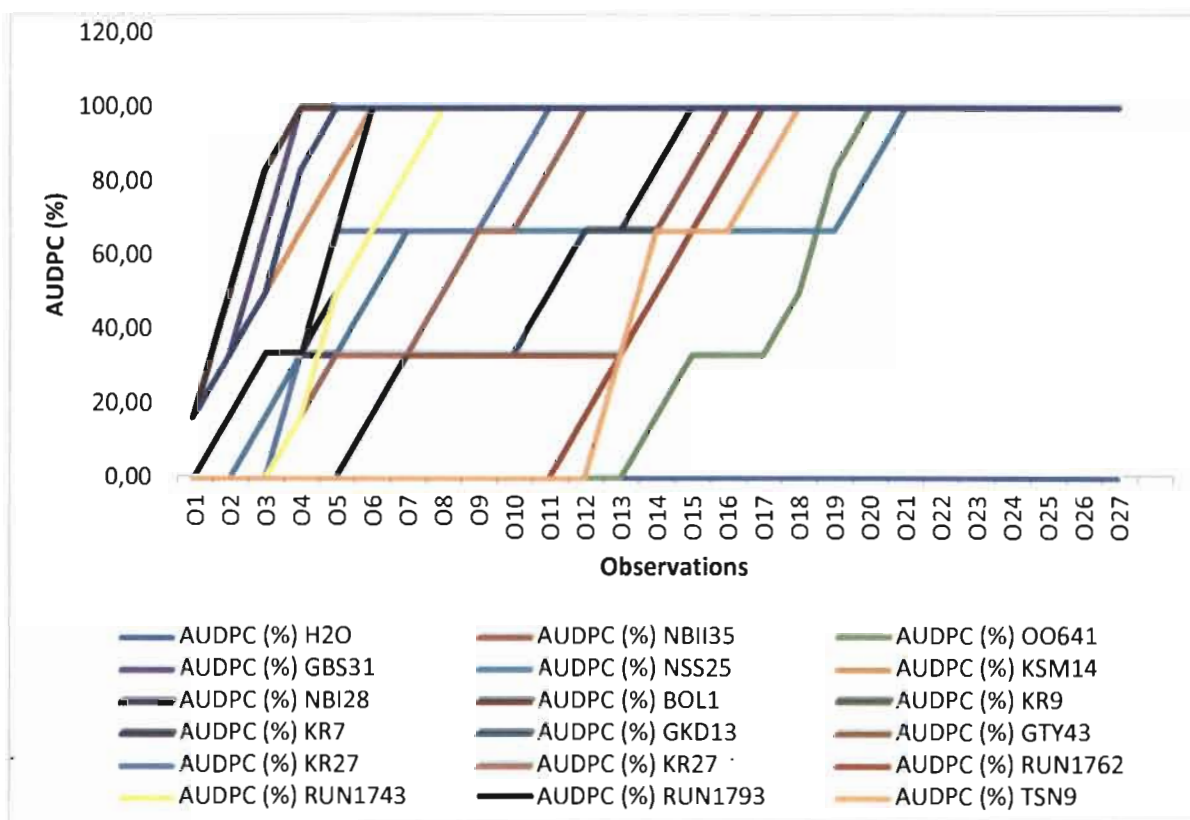


**Figure 7 :** Comparaison des souches collectées au phylotype III. (RUN1793)

En conclusion nous pouvons dire que sur l'ensemble des souches évaluées, quatre (4) souches dont trois (3) du Kénédougou et une (1) du Passoré ont été les plus agressives. Cinq (5) souches collectées dans la province du Houet et du Passoré ont la même agressivité et sont identiques aux phylotypes de référence I et III. Seulement 3 souches issues des provinces du Houet et du Kénédougou ont une agressivité similaire à celle du phylotype de référence II.

### III.1.2.2. Cinétique de progression de la maladie

La figure 8 montre clairement que les isolats (à l'exception de deux isolats de la province du Passoré (OO641 et KSM14)) ont entraîné un déclenchement de la sévérité de la maladie entre la 1<sup>ère</sup> et la 5<sup>ème</sup> observation. Cette sévérité est plus intense au niveau de 4 souches bactériennes qui au bout de 5 jours atteignent leurs optimums d'AUDPC. Ces 4 souches sont issues des sites de la province du Kénédougou et du Passoré. Les souches de références RUN1793 (phylotype I) et RUN1793 (phylotype III) ont induit des symptômes de flétrissement dès le 4<sup>ème</sup> jour, tandis qu'avec la souche RUN1762 (phylotype II), la sévérité de la maladie s'est déclenchée à partir du 10<sup>ème</sup> jour.



**Figure 8 :** AUDPC en fonction de la fréquence d'observation.

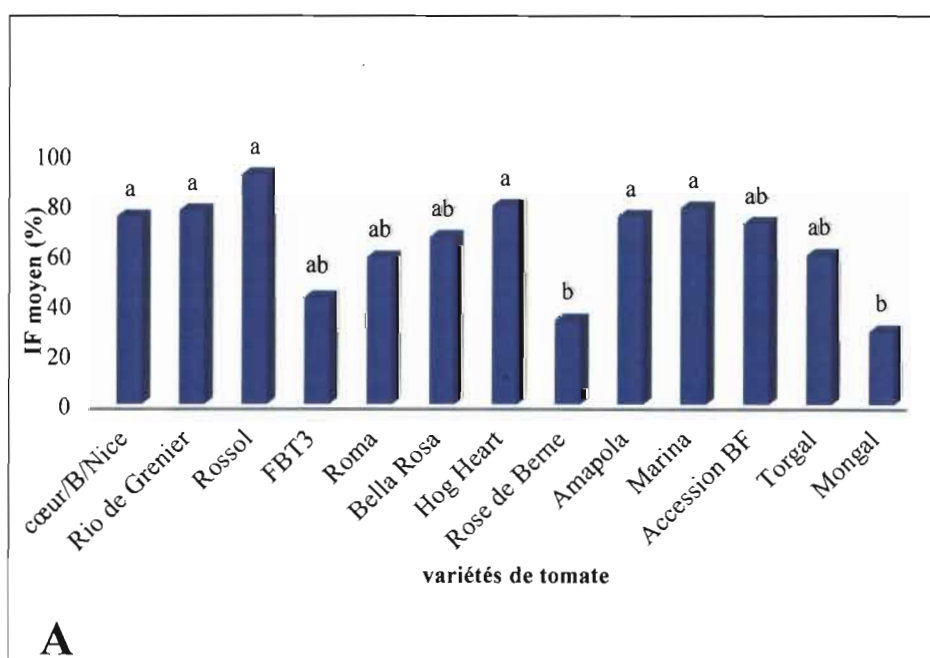
### III.1.3. Interactions entre les souches collectées et les variétés de tomate

#### III.1.3.1. Indices de flétrissement induits par le phylotype I (RUN1743) et le phylotype III (RUN1793)

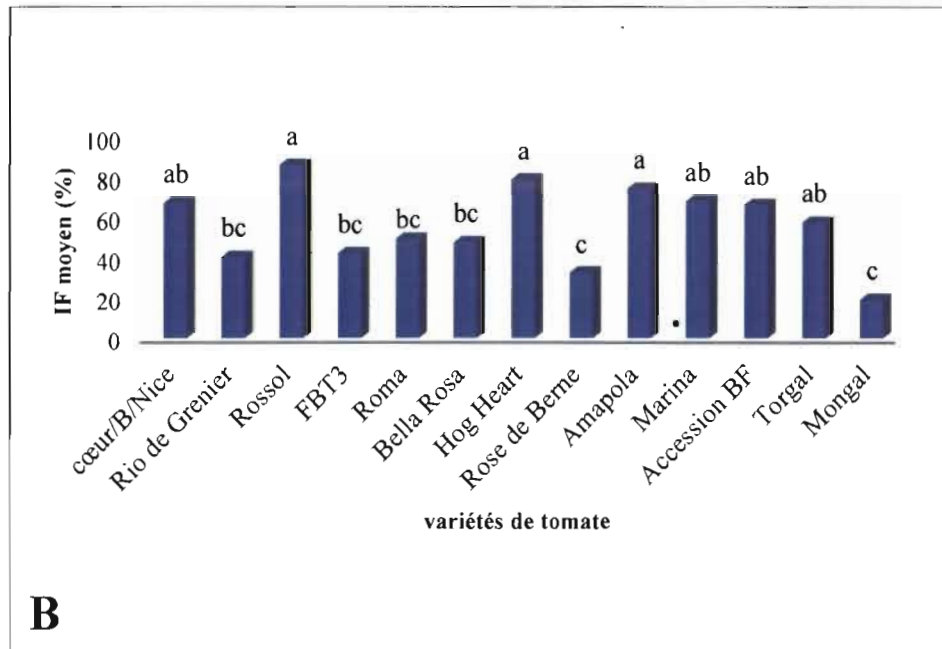
Treize (13) variétés de tomate ont été testées pour leur résistance vis-à-vis des souches des phylotypes de référence I (RUN1743) et III (RUN1793). L'analyse de variance indique qu'il existe une variabilité des indices de flétrissement entre les différentes variétés inoculées par la même souche.

La figure 9A nous donne un aperçu de la réaction des 13 variétés inoculées avec la souche du phylotype III. Les indices de flétrissement occasionnés par ce phylotype varient entre 29% et 93%. La variété Mongal et Rose de Berne sont les plus résistantes avec des IF variant entre 29% et 35%. Cinq (5) autres variétés à savoir FBT3, Roma, Bella Rosa, l'accession BF et Thorgal ont une résistance intermédiaire. La FBT3 a cependant une résistance plus proche du témoin résistant (Mongal). Cinq (5) variétés dont l'amapola, le Cœur/B/Nice, le Rio de Grenier, la Marina et la Hog Heart ont une sensibilité identique à celle du témoin sensible Rossol qui a enregistré plus de 91% d'IF.

La figure 9B indique les IF occasionnés par la souche du phylotype I. Les variétés Mongal et Rose de berne ont été les plus tolérantes à ce phylotype avec des IF variant entre 19% et 34%. Les variétés Rio de Grenier, FBT3, Roma, et Bella rosa ont une résistance proche du la Mongal qui est une variété reconnue résistante. Les variétés, Amapola et Hog heart ont enregistré une sensibilité identique à celle de la Rossol qui a enregistré 86% d'IF.







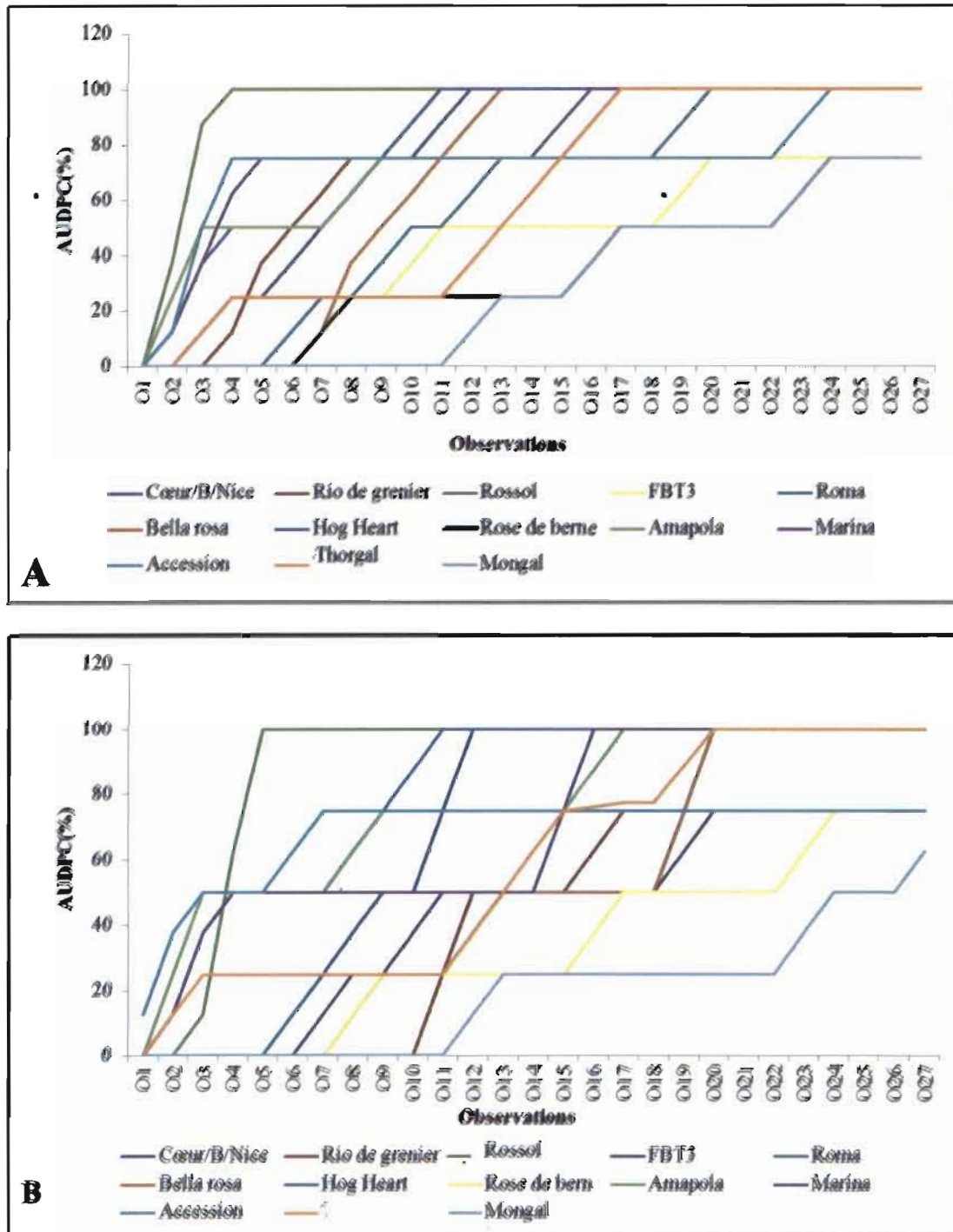
**Figure 9:** Comportement des 13 variétés de tomate testées vis-à-vis des deux (2) phylotypes de référence de *R. solanacearum* : (A): Phylotype III ; (B) : Phylotype I

### III.1.3.2. Evaluation de la progression de la maladie

La Figure 10A rend compte des valeurs de l'AUDPC chez les différentes variétés de tomate inoculées avec le phylotype III. Cette figure indique une manifestation des symptômes chez la plupart des variétés entre la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> observation. La variété Rossol (témoin négatif) a enregistré la plus grande AUDPC (100%) en seulement l'intervalle de 4 jours d'observation (de la 1<sup>ère</sup> à la 4<sup>ème</sup> observation). Cinq (5) autre variétés à savoir Amapola, Accession, Marina et Hog Heart se rapprochent de Rossol, avec un déclenchement de la sévérité de la maladie dès le 1<sup>er</sup> jour d'observation également. La variété Mongal (témoin positif) a enregistré une faible AUDPC (76%). Elle s'est distinguée de toutes les autres variétés, avec un déclenchement tardif de la sévérité de la maladie (11<sup>ème</sup> observation). Les variétés Rose de Berne et Thorgal sont les plus proches de la Mongal, avec un déclenchement de la sévérité de la maladie au 6<sup>ème</sup> jour d'observation.

La figure 10B rend compte de la réaction des 13 variétés de tomate suite à l'inoculation avec le phylotype I. La variété Rossol a connu un déclenchement de la sévérité de la maladie à partir de la 2<sup>ème</sup> observation. Elle a enregistré la plus grande AUDPC (100%) en seulement l'intervalle de 4 jours d'observation. Quatre variétés Bella Rosa, Accession, Amapola, et Marina se rapprochent de la Rossol, avec une manifestation de la sévérité de la maladie dès la

1<sup>ère</sup> observation. La variété Mongal s'est également distinguée avec un déclenchement de la sévérité de la maladie à partir de la 11<sup>ème</sup> observation. Rose de Berne et Rio de Grenier lui sont proches avec une manifestation des symptômes à la 7<sup>ème</sup> et la 10<sup>ème</sup> observation respectivement.



**Figure 10 :** Courbes de l'AUDPC en fonction des fréquences d'observation: (A) Phylotype III ; (B) : Phylotype I

## **III.2. Discussion**

### **III.2.1. Prévalences du flétrissement bactérien dans les provinces du Houet, du Passoré et du Kénédougou**

Du fait de son climat tropical soudano-sahélien, le Burkina Faso représente un pays favorable au développement de *R. solanacearum*, agent responsable du flétrissement bactérien. Cela rend ses sites maraîchers vulnérables à des infestations. En effet Hayward (1991) rapporte que les climats tropicaux et subtropicaux sont les zones de forte prévalence de la maladie. Par ailleurs, des échanges d'outils aratoires entre des producteurs de différents sites maraîchers auraient pu contribuer à la propagation de la maladie. Ce mode de transmission a été décrit par Kelman (1953). Des échanges de semences entre les producteurs auraient également pu contribuer à la dissémination de la maladie. Cela est soutenu par Hayward (1990) qui rapporte que la dissémination de *R. solanacearum* peut se faire à travers des semences de tomate. Un autre facteur qui pourrait être à l'origine de la prévalence de la maladie serait la contamination des champs à travers l'eau d'irrigation utilisée sur les sites maraîcher. En effet, les eaux de ruissellement peuvent transporter la bactérie *R. solanacearum* des champs vers les cours d'eau, desquelles les producteurs maraîchers prélèvent l'eau d'irrigation.

### **III.2.2. Prédominance du phylotype III dans les 3 provinces**

Comme indiqué dans la figure 4, plus de 70 % des échantillons appartiennent au phylotype III. Cette grande proportion du phylotype III est en concordance avec les travaux de Ouédraogo (1989) et de Boro (2014) qui ont mis en évidence la prédominance de ce phylotype au Burkina. Des travaux de Ouédraogo (1989), il est ressorti que ce phylotype est de la race 1, biovars III et IV. Le phylotype III est également présent dans certains pays proches du Burkina comme la Côte d'Ivoire et le Cameroun. Des études ont permis de montrer qu'une souche du phylotype III du Burkina était génétiquement très proche des souches de phylotype III de la côte d'Ivoire (N'guessan, 2012).

La figure 4 indique une faible proportion du phylotype II dans les 3 provinces. En effet le phylotype II a été découvert par Fegan et Prior en 2008 au Burkina Faso. Ils ont isolé la souche bactérienne d'un pied de tomate et l'ont codée CFBP3057. Elle est du biovar 1, sequevar 5.

### **III.2.3. Pouvoir pathogène des souches**

L'évaluation du pouvoir pathogène a permis d'avoir un aperçu de la virulence et de l'agressivité des souches bactériennes issues des provinces du Houet, du Kénédougou et du



Passoré au Burkina Faso. Il ressort que toutes les souches bactériennes testées sont capables de déclencher le flétrissement bactérien, mais présentent des différences dans leurs virulences et leurs agressivités. Quatre (4) souches de phylotype III dont 3 collectées au Kénédougou et 1 au Passoré se sont distinguées par leur forte agressivité et virulence. Ces souches sont plus virulentes et agressives que les souches de référence. En effet, le phylotype III est décrit par Fegan et Prior (2005) comme un phylotype africain, ce qui justifie sa forte virulence et agressivité dans les pays appartenant à ce continent.

Cinq (5) souches collectées dans le Houet et le Passoré se sont montrées identiques dans leurs agressivités et leurs virulences. Ces souches appartiennent aux phylotypes II et III. La similitude de pouvoir pathogène entre ces souches de phylotypes différents pourrait s'expliquer par leur appartenance au même pathoprofile. Ces résultats sont similaires à ceux de Aurore (2010) qui a mis en évidence l'existence de souches de *R. solanacearum* ayant des pouvoirs pathogènes similaires. Il a identifié un pathoprofile qu'il a nommé "pathoprofile c" qui rassemblait des souches de phylotypes II et III.

La différence de pouvoir pathogène entre les souches collectées de phylotypes II et III et les souches de référence de phylotypes II (RUN1762) et III (RUN1793) respectivement, pourrait être dû à une perte de la virulence ou une acquisition de plus forte virulence des souches locales au fil du temps. En effet, Remenant *et al.* (2010) ont montré que les gènes de virulence de *R. solanacearum* peuvent évoluer par ajout, modification ou suppression au fil du temps.

#### **III.2.4. Variétés résistantes**

Les 13 variétés de tomate inoculées avec le phylotype I et le phylotype III ont donné des IF variables. Cela témoigne de l'existence de différents niveaux de résistance chez la tomate en fonction de la variété, comme l'ont démontré N'guessan *et al.* (2012) en Côte d'Ivoire. Les variétés les plus résistantes aux deux (2) phylotypes sont surtout Mongal et la Rose de berne. Ces variétés ont enregistré les plus faibles indices de flétrissement et les plus faibles AUDPC, avec un début tardif des symptômes. La résistance de la variété Mongal dans nos conditions locales a été mise en évidence par Van Der Vossen *et al.* (2004) qui ont montré que cette variété est résistante dans les climats chauds et les climats humides. La résistance de la Rose de berne est également affirmée par Catherine *et al.* (2015).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude nous a permis de mettre en évidence la présence du phylotype II et du phylotype III dans les provinces du Houet, du Kénédougou et du Passoré au Burkina Faso, avec cependant une nette prédominance du phylotype III.

A l'issue de l'étude du pouvoir pathogène des souches, il ressort que les souches des trois (3) provinces sont toutes agressives et virulentes avec plus de 50% d'IF pour la plupart des souches, et un déclenchement de la maladie chez l'hôte en l'intervalle de six (6) jours. Les souches les plus virulentes proviennent en majorité de la province du Kénédougou. La comparaison entre les souches des trois (3) provinces et les souches de référence indique que 5 souches de même pathoprofile sont identiques à la souche RUN1793 (Phylotype III) et à la souche RUN1743 (phylotype I) de par leurs virulences et leurs agressivités. Parmi ces 5 souches, 4 souches proviennent de la province du Houet et 1 souche de la province du Passoré. Deux (2) autres souches de la province du Houet et une 1 souche de la province du Kénédougou ont une agressivité identique à celle du phylotype II de référence (RUN1762).

A l'issue du criblage variétal avec ces deux (2) phylotypes, il apparaît clairement que l'utilisation de variétés résistantes telles que Mongal et Rose de berne est efficace pour un meilleur contrôle du flétrissement bactérien dans les sites maraîchers du Kénédougou, du Houet et du Passoré.

À partir de nos résultats, il est possible de dégager des perspectives pouvant permettre d'approfondir les travaux. En perspectives nous préconisons donc :

- de mener des prospections plus étendues sur tout le territoire afin de connaître la diversité pathologique et génétique des souches de *R. solanacearum* au Burkina Faso en fonctions des différentes zones agroclimatiques.
- de procéder à un criblage des treize (13) variétés de tomate en milieu réel afin de vérifier les résultats obtenus en milieu semi contrôlé.
- d'étendre le criblage à un plus grand nombre de variétés de tomates afin de déterminer d'autres sources de résistance dans nos conditions locales.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

**Adebayo O.S., Ekpo E.J.A., 2005.** Biovar of *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt of tomato in Nigeria. Plant disease. 89, 10

**Bado B.V., 2002.** Rôle des légumineuses sur la fertilité des sols ferrugineux tropicaux des zones guinéenne et soudanienne du Burkina Faso. Thèse de doctorat : Université de Laval, Québec (Canada), 176p.

**Barbara E.L., Joanne A.L., John R.S., Ann S. et Chittaranjan K., 2013.** Genetics, Genomics, and Breeding of Tomato: Genetics, genomics and breeding of crop plants. U.S. : RC Press. En ligne <http://books.google.com>, consulté le 03 Février 2016 .

**Berkeley G.H. et Richardson J.K., 1960.** Les maladies de la tomate. Laboratoire de phytopathologie, St. Catharines, Ontario (Canada). 759 : 5-60.

**Blancard D., 2015.** Identifier, connaître et maîtriser : Liste des maladies et des bioagresseurs. En ligne <http://ephytia.inra.fr/fr/C/4941/Tomate-Liste-des-maladies-et-ravageurs>, consulté le 16 Mars 2016.

**Bohs L., 2005.** Major clade in solanum based ndhF sequences. In Keating: RC, Hollowell VC, Croat TB(eds) a Festschrift for William G. D'Arcy. The legacy of a taxonomist. MBG Press, St. Louis , Missouri pp. 27-94.

**Boro F., 2014.** Gestion du flétrissement bactérien des solanacées dû à *Ralstonia solanacearum* par l'utilisation de variétés résistantes adaptées aux populations pathogènes du Burkina Faso, Mémoire d'ingénieur agronome, Centre Agricole Polyvalent de Matourkou, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. 75p.

**Buddenhagen I.W. et Kelman A. 1964.** Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Ann. Rev. -thol., 2 : 203-230.

**Catherine D., Serge S. et Emmanuelle S., 2015.** La tomate 'Rose de Berne'. En ligne sur : <http://www.detentejardin.com/plantes/legumes-et-potager/la-tomate-rose-de-berne-3862>, consulté le 08 Mai 2016.

**Cellier G. et Prior P., 2010.** Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato. Phytopathology, 100:1250-1261.

**Champoiseau P.G., Jones J.B., Momol T.M., Ji P., Allen C., Norman D.J., Harmon C., Miller S.A., Schubert T., Bell D., Floyd J.P., Kaplan D., Bulluck R., Smith K. et**

- Cardwell K., 2010.** Recovery Plan for *Ralstonia solanacearum* Race 3 Biovar 2: Causing Brown Rot of Potato, Bacterial Wilt of Tomato, and Southern Wilt of Geranium. <http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/00000000/opmp/RalstoniaR3b2May2010.pdf>; téléchargé le 11 Mai 2016.
- Chaux C.L. et Foury C.L., 1994.** Cultures légumières et maraichères. Tome III : légumineuses potagères, légumes fruits. Tec et Doc Lavoisier, Paris, France. 563p.
- CORAF, 2010.** Renforcer les capacités des acteurs et partenaires pour une agriculture durable en Afrique de l'Ouest et du Centre. Rapport Annuel 2010.
- D'Arcy W.G., 1991.** The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. In, Hawkes, J.G., Lester, R.N., Nee, M. & Estrada, N. (eds.), Solanaceae III: Taxonomy, Chemistry, Evolution. Royal Botanic Gardens, Kew. pp. 75–138.
- D'arondel de Hayes J. et Traoré G., 1990.** Cultures maraichères en zones soudano-sahélienne, Recueil de fiches techniques. Edit. C.I.R.A.D., I.R.A.T., IN.E.R.A., Burkina Faso, 79p.
- Danesh D., Aarons S., McGill G.E. et Young N.D., 1994.** Genetic dissection of oligogenic resistance to bacterial wilt in tomato. *Molecular Plant-Microbe Interact.* 7: 464-47.
- De Broglie L. et Guérault A.D., 2005.** Tomates d'hier et d'aujourd'hui. Lavoisier 15- !20.
- De Lannoy G., 2001.** Légumes fruits. In : agriculture en Afrique tropicale. Direction générale de la coopération internationale, Ministère des Affaires Etrangères, du Commerce Extérieur et de la Coopération Internationale, Bruxelles, Belgique, pp. 503-513.
- Digat B. et Derieux M., 1968.** A study of the varietal resistance to bacterial wilt. Pp 95-101 In: Proc. Caribbean Food Crops Soc. 6th Annu. Meet. St. Augustine, Trinidad.
- Elphinstone J.G., 2005.** The current bacterial wilt situation: a global overview. In: Allen C, Prior P. and Hayward A.C. (eds). Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. APS press, Minnesota USA, pp 9-28.
- EPPO., 2004.** *Ralstonia solanacearum*. European and Mediterranean Plant Protection Organization Bulletin, 34,173-178.
- FAOSTAT 2013.** Statistical Databases on Global Food Production and Trade. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.

- Fegan M. et Prior P., 2005.** How complex is the "*Ralstonia solanacearum* species complex" In: Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. APS Press, St. Paul, USA, pp 449-461.
- Gaussen H., Lefoy J. et Ozenda P., 1982.** Précis de botanique deuxième Ed. Masson, Paris, France 172 p.
- Granada G.A. et Sequeira L., 1983.** Survival of *Pseudomonas solanacearum* in soil, rhizosphere, and plant roots. Can. J. Microbiol 29:433-440.
- Hawkes J.G., 1999.** The economic importance of the family Solanaceae. In Solanaceae IV: Advances in Biology and Utilization; Nee, M., Symon, D.E., Lester, R.N., Jessop, J.P., Eds.; Royal Botanic Gardens: Kew, UK. pp. 1–8.
- Hayward A.C., 1991.** Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annual Review Phytopathology, 29:65-87.
- Hayward A.C., 1994.** Systematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. In: Hayward AC, Hartman GL, Eds. Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford UK: CAB International, 123-135.
- Hunziker A.T., 1979.** South American Solanaceae: A synoptic survey. In The Biology and Taxonomy of the Solanaceae; Hawkes, J.G., Lester, R.N., Skelding, A.D. (Eds). Academic Press: London, UK. pp. 49–85.
- John S., 2015.** Biodiversity of Food Species of the Solanaceae Family: A Preliminary Taxonomic Inventory of Subfamily Solanoideae. Novel Solanaceae Crops Projet, Penzance TR208XD, UK. 4(2), 277-322.
- Kelman A., 1953.** The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. A literary review and bibliography. Technical Bulletin of North Carolina Agricultural Experiment Station, No. 99.
- Lebeau A., 2010.** Résistance de la tomate, l'aubergine et le piment à *Ralstonia solanacearum*: interactions entre les géniteurs de résistance et la diversité bactérienne, caractérisation et cartographie des facteurs génétiques impliqués chez l'aubergine. PhD. Faculté des Sciences et Technologie, Université de la Réunion, Saint Denis de la Réunion, France. 178p.
- Mahbou S.T.G., 2009.** Diversité de *Ralstonia solanacearum* au Cameroun et bases génétiques de la résistance chez le piment (*Capsicum annuum*) et les Solanacées. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech), Paris, France 177p.

**Mahbubur Rahman A.H.M., Moriom J., 2016.** Angiosperm Diversity at Jamtala Village of Chapai Nawabganj District, Bangladesh with Emphasis on Medicinal Plants. Plant Sciences. 4(1):1-9. doi: 10.12691/plant-4-1-1..

**N'guessan, A.C., 2012.** Phylogénie, structure génétique et diversité de virulence de *Ralstonia solanacearum* Yabuuchi et al. (1995) [Burkholderiaceae], agent du flétrissement bactérien en Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan. C.I. 251 pp.

**Naika S., DE Jeud J.V.L., DE Jeffau M., Hilmi M. et Vadam B., 2005.** La culture de la tomate, production, transformation et commercialisation. Ed. Wageningen, Pays-Bas. 105p

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

**Olmstead R.G., Bohs L., Migid H.A., Santiago-Valentin E., Garcia V.F. et Collier S.M., 2008.** A molecular phylogeny of the Solanaceae. Taxon 57:1159-1181.

**Ouédraogo L., 1998:** Detection of phytopathogenic bacteria in seeds and stems of tomato, eggplant and pepper from Burkina Faso and Indonesia. Training report, Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries, (DGISP) Ryvangs Alle 78, Denmark, 41p.

**Paret M.L., De Silva A.S., Criley R.A. et Alvarez A.M., 2008.** *Ralstonia solanacearum* race 4: risk assessment for edible ginger and floricultural ginger industries in Hawaii. HortTechnology 18(1): 90-96.

**Poussier S., 2000.** Exploration de la diversité génétique de *Ralstonia solanacearum*, agent du flétrissement bactérien. Détection et dynamique des populations dans les réservoirs d'inoculum. Thèse de doctorat, Université de Rennes, France. 130p.

**Pradhanang P.M., Monol M.T., Olson S.M. et Jones J.B., 2003.** Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. Plant disease 87:423-427

**Prior S.A., Rogers H.H., Runion G.B. et Hendrey G.R., 1994.** Free-air CO<sub>2</sub> enrichment of cotton: Vertical and lateral root distribution patterns. Plant Soil 165:33–44.

**Priou S., Aley P., Chujoy E., Lemaga B. et French E.R., 1999.** Integrated management of bacterial wilt of potato. CIP slide training series. International Potato Center, Lima, Peru.

**Remenant B., Coupat-Goutaland B., Guidot A., Cellier G., Wicker E., Allen C., Fegan M., Pruvost O., Elbaz M., Calteau A., Salvignol G., Mornico D., Mangenot S., Barbe V., Medigue C. et Prior P., 2010.** Genomes of three tomato pathogens within the *Ralstonia solanacearum* species complex reveal significant evolutionary divergence. Réunion, St-Pierre BMC Genomics 11:379..

**Ruocco M., Massimo G., Oscar A., Bernard B. et Jurgen K., 2010.** Food quality safety. Lutte n°2. Tomate. CNR, Italie. 104p.

**Sidikou R.D.S., Sihachakr D., LE Roux A.C., Servaes A., Ambroise A., Jouan B., Elisseche D. et Ducreux G., 2005.** Etude de la résistance in vitro à *Ralstonia solanacearum* chez six hybrides somatiques de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) et leurs parents. CAMES, série A, sciences et médecine, Vol 3. pp. 75-80.

**Smith E.F., 1896.** Bacterial disease of the tomato, eggplant and Irish potato (*Bacillus solanacearum* nov. sp.). U. S. Department of Agriculture, Division of Vegetable Physiology and Pathology. Bulletin, 12:1-28.

**Somé S.P., 2001.** Influence de la fertilisation organique de la tomate sur le développement du flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum*. Mémoire d'ingénieur.de développement Rural, Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. 62p.

**Spooner DM, Anderson GJ, Jansen RK (1993).** Chloroplast DNA evidence for the interrelationships of tomatoes, potatoes and pepinos (Solanaceae). American Journal of Botany 80:676-688.

**Swanson J.K., Yao J., Tans-Kersten J. et Allen C., 2005.** Behaviour of *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 during latent and active infection of geranium. Phytopathology, 95:136-143.

**Van der Hoeven R.S., Ronning C., Giovannoni J.J., Martin G. et Tanksley S.D., 2004.** Deduction about the number, organization, and evolution of genes in the tomato genome based on analysis of a large expressed sequence tag collection and selective genomic sequencing. The Plant Cell 14:1441-1456.

**Walter S.J., Christopher S.C., Elizabeth A.K. et Peter S., 2002.** Botanique systématique: Une perspective phyl.

**Wang J.F., Hanson P. et Barnes J.A., 1998.** Worldwide evaluation of an international set of resistant sources to bacterial wilt in tomato. In: Bacterial Wilt Disease—Molecular and

Ecological Aspects. P. Prior, C. Allen, and J. G. Elphinstone, eds. Springer-Verlag, Berlin. pp. 269-275.

**Wicker E., Lefeuvre P., Cambiaire J.C.D., Lemaire C., Poussier S. et Prior P., 2012.** Contrasting recombination patterns and demographic histories of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from MLSA. ISME Journal, 6:961-974.

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



## ANNEXES

## ANNEXE I : Milieu de culture pour *R. solanacearum*

### Milieu SMSA modifié

Ingrédients	Quantités
Casamino acids	1 g
Peptone	10 g
Glycérol	5 mL
Agar	18 g
Eau distillée	1 L

Après autoclavage (120°C / 20 mn), refroidir le milieu à 50°C puis ajouter les antibiotiques suivants :

Antibiotiques	Quantités
TTC (25 mg/l)	1000 µl
Crystal violet (5 mg/l)	100 µl
Bacitracine (25 mg/l)	1000 µl
Chloramphénicol (5 mg/l)	100 µl
Pénicilline G (0,5 mg/l)	50 µl

**ANNEXE II :** Comparaison de la virulence des souches collectées aux souches de référence utilisées

**Tableau 1 :** Comparaison de la virulence des souches collectées au phylotype III (RUN1793)

Souches	Moyennes	Groupes
BOL1	96,43	a
GBS31	95,24	a
BOL7	94,05	a
KSM14	92,86	a
RUN1793	89,29	ab
KR7	86,90	ab
TKR27	82,14	ab
KR9	80,95	ab
TKR17	76,19	ab
NBII35	73,81	ab
NBI28	71,43	bc
NSS25	69,05	bc
GKD13	63,10	cd
GTY43	61,90	cd
TSN9	52,38	cd
OO641	42,86	d
H20	0,00	e

**Tableau 2 :** Comparaison de la virulence des souches collectées au phylotype II (RUN1762).

Souches	Moyennes	Groupes
BOL1	96,43	a
GBS31	95,24	a
BOL7	94,05	a
KSM14	92,86	a
KR7	86,90	ab
TKR27	82,14	ab
KR9	80,95	ab
TKR17	76,19	ab
NBII35	73,81	ab
NBI28	71,43	bc
NSS25	69,05	bc
GKD13	63,10	cd
GTY43	61,90	cd
RUN1762	53,57	cd
TSN9	52,38	cd
OO641	42,86	d
H20	0,00	e

**Tableau 3 :** Comparaison de la virulence des souches collectées au phylotype I (RUN1743)

Souches	Moyennes	Groupes
BOL1	96,43	a
GBS31	95,24	a
BOL7	94,05	a
KSM14	92,86	a
KR7	86,90	ab
RUN1743	84,52	ab
TKR27	82,14	ab
KR9	80,95	ab
TKR17	76,19	ab
NBII35	73,81	ab
NBI28	71,43	bc
NSS25	69,05	bc
GKD13	63,10	cd
GTY43	61,90	cd
TSN9	52,38	cd
OO641	42,86	d
H20	0,00	e

Les moyennes suivies de la même lettre dans chaque classe ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % d'après le test de Fisher.

#### **ANNEXE III :** Comportement des 13 variétés de tomate vis à vis des phylotypes de référence

**Tableau 4 :** Indices de flétrissement des 13 variétés de tomate vis-à-vis du phylotype III (RUN1793)

Souches	Moyennes	Groupes
Rossol	91,96	a
Hog Heart	79,46	a
Marina	78,57	a
Rio de Grenier	77,58	a
cœur/B/Nice	75,00	a
Amapola	75,00	a
Accession BF	72,32	ab
Bella Rosa	66,96	ab
Thorgal	59,82	ab
Roma	58,93	ab
FBT3	42,86	ab
Rose de Berne	33,93	b
Mongal	29,46	b

**Tableau 5 :** Indices de flétrissement des 13 variétés de tomate vis-à-vis du phylotype I (RUN1743)

Souches	Moyennes	Groupes
Rossol	86,61	a
Hog Heart	79,46	a
Amapola	75,00	a
Marina	68,75	ab
cœur/B/Nice	67,86	ab
Accession	66,96	ab
Thorgal	58,30	ab
Roma	50,00	bc
Bella Rosa	48,21	bc
FBT3	42,86	bc
Rio de Grenier	41,07	bc
Rose de Berne	33,04	c
Mongal	19,64	c

Les moyennes suivies de la même lettre dans chaque classe ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % d'après le test de Fisher.

**ANNEXE IV:** Listes des plantes flétries collectées

				variétés	Coordonnées géographiques	
numéros	souches	Localités	spécifications		Longitude Nord	Latitude Ouest
1	BOL1	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
2	BOL2	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
3	BOL3	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
4	BOL4	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
5	BOL5	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
6	BOL6	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
7	BOL7	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
8	BOL8	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
9	BOL9	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
10	BOL10	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
11	BOL11	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
12	BOL12	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
13	BOL15	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
14	BOL16	Badara/Kéné Dougou	tomate	UC80	11°05'03.0"	004°40'46.2"
15	GBA28	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'44.4"	004°53'32.9"
16	GBA34	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'44.4"	004°53'32.9"

17	GBA35	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'44.4"	004°53'32.9"
18	GBA36	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'44.4"	004°53'32.9"
19	GBA37	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'44.4"	004°53'32.9"
20	GBA51	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'44.4"	004°53'32.9"
21	GBA52	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'44.4"	004°53'32.9"
22	GBA53	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'44.4"	004°53'32.9"
23	GBS30	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'45.5"	004°53'32.2"
24	GBS31	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'45.5"	004°53'32.2"
25	GBS33	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'45.5"	004°53'32.2"
26	GBS50	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'45.5"	004°53'32.2"
27	GKD13	Gouchamadara/Kéné Dougou	aubergine	Black Beauty	11°06'02.4"	004°53'21.8"
28	GKD14	Gouchamadara/Kéné Dougou	aubergine	Black Beauty	11°06'02.4"	004°53'21.8"
29	GKD22	Gouchamadara/Kéné Dougou	aubergine	Black Beauty	11°06'02.4"	004°53'21.8"
30	GKM41	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Black Beauty	11°06'06.5"	004°53'29.9"
31	GKM44	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°06'06.5"	004°53'29.9"
32	GKM45	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°06'06.5"	004°53'29.9"
33	GKM46	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°06'06.5"	004°53'29.9"
34	GKM49	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°06'06.5"	004°53'29.9"
35	GTY38	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'43.0"	004°53'29.6"
36	GTY39	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'43.0"	004°53'29.6"
37	GTY40	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'43.0"	004°53'29.6"
38	GTY42	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'43.0"	004°53'29.6"
39	GTY43	Gouchamadara/Kéné Dougou	tomate	Rio Grande	11°05'43.0"	004°53'29.6"
40	KR1	Kiri/Houet	tomate	Rossol	11°14'46.8"	004°16'35.1"
41	KR2	Kiri/Houet	tomate	Petomech	11°15'02.6"	004°16'42.3"
42	KR3	Kiri/Houet	aubergine	Black	11°14'09.7"	004°16'41.2"

				Beauty		
43	KR4	Kiri/Houet	aubergine	Black Beauty	11°14'09.7"	004°16'41.2"
44	KR5	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
45	KR6	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
46	KR7	Kiri/Houet	aubergine	Black Beauty	11°14'09.7"	004°16'41.2"
47	KR8	Kiri/Houet	aubergine	Black Beauty	11°14'09.7"	004°16'41.2"
48	KR9	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
49	KR10	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
50	KR11	Kiri/Houet	aubergine	Black Beauty	11°14'09.7"	004°16'41.2"
51	KR12	Kiri/Houet	aubergine	Black Beauty	11°14'09.7"	004°16'41.2"
52	KR13	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
53	KR14	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
54	KR15	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
55	KR16	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
56	KR17	Kiri/Houet	aubergine	Black Beauty	11°14'09.7"	004°16'41.2"
57	KR18	Kiri/Houet	aubergine	Black Beauty	11°14'09.7"	004°16'41.2"
58	KR19	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
59	KR20	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
60	KR21	Kiri/Houet	tomate	Mongal	11°14'57.2"	004°16'37.8"
61	NBI1	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
62	NBI10	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
63	NBI11	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
64	NBI12	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
65	NBI13	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
66	NBI14	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
67	NBI15	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
68	NBI7	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
69	NBI8	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
70	NBI9	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
71	NBI20	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
72	NBI22	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
73	NBI23	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
74	NBI26	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
75	NBI27	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
76	NBI28	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
77	NBI29	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
78	NBI30	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
79	NBI31	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
80	NBI40	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"

81	NBII16	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
82	NBII18	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
83	NBII3	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
84	NBII32	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
85	NBII35	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
86	NBII36	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
87	NBII37	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
88	NBII38	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
89	NBII39	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
90	NBII42	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
91	OO324	Ounon/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
92	OO325	Ounon/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
93	OO641	Ounon/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
94	KSM14	Koumi/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.4"	002°16'59.6"
95	KSM211	Koumi/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.4"	002°16'59.6"
96	KSM221	Koumi/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.4"	002°16'59.6"
97	NSS16	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
98	NSS25	Niongnongo/Passoré	tomate	Tropimech	13°08'52.8"	002°16'59.6"
99	TKR17	Toukoro-Sambla/Houet	aubergine	Black Beauty	11°11'15.8"	004°31'14.6"
100	TKR18	Toukoro-Sambla/Houet	aubergine	Black Beauty	11°11'15.8"	004°31'14.6"
101	TKR19	Toukoro-Sambla/Houet	tomate	petomech	11°11'15.8"	004°31'14.6"
102	TKR20	Toukoro-Sambla/Houet	tomate	petomech	11°11'15.8"	004°31'14.6"
103	TKR21	Toukoro-Sambla/Houet	aubergine	Black Beauty	11°11'15.8"	004°31'14.6"
104	TKR24	Toukoro-Sambla/Houet	aubergine	Black Beauty	11°11'15.8"	004°31'14.6"
105	TKR25	Toukoro-Sambla/Houet	aubergine	Black Beauty	11°11'15.8"	004°31'14.6"
106	TKR26	Toukoro-Sambla/Houet	aubergine	Black Beauty	11°11'15.8"	004°31'14.6"
107	TKR27	Toukoro-Sambla/Houet	aubergine	Black Beauty	11°11'10.6"	004°31'23.1"
108	TKR29	Toukoro-Sambla/Houet	aubergine	Black Beauty	11°11'10.6"	004°31'23.1"
109	TKR32	Toukoro-Sambla/Houet	aubergine	Black Beauty	11°11'10.6"	004°31'23.1"
110	TSN20	Toussiana/Houet	tomate	Roma	10°85'71.1"	004°64'14.7°
111	TSN38	Toussiana/Houet	tomate	Roma	10°85'71.1"	004°64'14.7°
112	TSN9	Toussiana/Houet	tomate	Roma	10°85'71.1"	004°64'14.7°



**ANNEXE V : Souches testées par Pmx-PCR « phylotype »**

		Phylotypes	
Sites	Nb d'échantillons	Nb (PhyII)	Nb (PhyIII)
Kiri	19	4	15
Toussiana	2	0	2
Toukoro Sambla	6	1	3
Badara	16	1	15
Gouchamadara	16	5	9
Niongnongo	15	2	9
Ounon	1	0	1
Kouni	1	0	1