



A R M E F L H O R

Association Réunionnaise pour la  
Modernisation de l'Economie Fruitière  
Légumière et **HORTICOLE**

## LUTTE PREVENTIVE CONTRE LE FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL

- Etat des connaissances et conseils -



Pôle de Protection des Plantes, St-Pierre (Réunion)  
Février 2007







A R M E F L H O R

## LUTTE PREVENTIVE CONTRE LE FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL

- Etats des connaissances et conseils -



*Auteur :* A. CARIGLIA (ARMEFLHOR)

*Appui scientifique de :*

P. PRIOR (INRA-CIRAD)  
O. PRUVOST (CIRAD)  
J. LUISETTI (INRA-CIRAD)

*Appui technique de :*

A. CAPY (ARMEFLHOR)  
X. FABREGUES (ARMEFLHOR)  
B. HOSTACHY (SPV)

*Avec le concours de :*

I. ROBENNE-SOUSTRADE (CIRAD)  
P. LAURENT (IUT)

*Techniciens laboratoire Pôle de Protection des Plantes :*

J.J. CHERON (CIRAD)  
V. LEDOUX (CIRAD)  
A. LAURANT (CIRAD)

*Techniciens terrain :*

I. CABEU (ARMEFLHOR)  
B. NARYNSAMY (ARMEFLHOR)  
J.M. BAPTISTE (CIRAD)  
S. LEBON (CIRAD)  
W. GRONDIN (CIRAD)

*Analyse Statistique :*

F. CHIROLEU (CIRAD)

Pôle de Protection des Plantes, St-Pierre (Réunion)  
Février 2007

<p align="center"><b>Lutte préventive contre le flétrissement bactérien en culture de tomate hors sol</b>  <b>- Etat des connaissances et conseils -</b></p>
--

## SOMMAIRE

**LES DIFFERENTES ETAPES DU PROJET :  
MAITRISE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN  
EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL .....**

**1**

**SYNTHESE DES RESULTATS OBTENUS .....**

**3**

**INTRODUCTION .....**

**6**

**I. Le flétrissement bactérien causé par *R. solanacearum*.....**

**7**

I.1 - Importance économique de la maladie..... 7

I.2 - Le flétrissement bactérien à la Réunion ..... 9

I.3 - Généralités sur l'agent pathogène ..... 9

I.4 - Epidémiologie ..... 10

I.4.1 - Symptômes ..... 10

I.4.2 - Mode de conservation ..... 13

I.4.3 - Mode de dissémination ..... 13

I.5 - La détection..... 17

I.6 - Les méthodes de lutte ..... 17

I.6.1 - Lutte génétique..... 18

I.6.2 - Lutte Biologique..... 18

I.6.3 - Lutte chimique..... 19

I.6.4 - La culture hors sol comme moyen de lutte ..... 19

**II. La désinfection de l'eau dans les cultures sous abris ..... 20**

II.1 - Contexte général et législation ..... 20

II.2 - Qualité sanitaire de l'eau d'irrigation ..... 20

II.3 - Méthodes de désinfection de l'eau ..... 23

II.3.1 - Désinfection biologique : la filtration lente et la biofiltration . 23

II.3.2 - Désinfection chimique ..... 24

II.3.2.1 – L'ozonisation..... 24

II.3.2.2 – La Chloration..... 25

II.3.3 - Désinfection physique..... 32

II.3.3.1 – La thermo-désinfection ..... 32

II.3.3.2 – La désinfection par irradiation aux ultraviolets ..... 32

**III. Protocole sanitaire pour prévenir l'introduction de *R. solanacearum* dans une serre..... 40**

III.1 - Qualité sanitaire des plants ..... 40

III.2 - Environnement de la serre ..... 40

III.3 - La désinfection comme moyen de lutte prophylactique  
contre *R. solanacearum* ..... 42

III.3.1 - Prévenir l'introduction de la bactérie dans la serre .....	43
III.3.2 - Prévenir l'introduction de la bactérie dans la serre par l'eau d'irrigation : La désinfection aux U.V.c.....	45
III.4 - Que faire en cas d'introduction ?.....	51
III.4.1 - Détection.....	51
III.4.2 - Déterminer la source de contamination possible.....	51
III.4.3 - Ce qu'il faut faire.....	52
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>53</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>54</b>
<b>ABREVIATIONS ET GLOSSAIRE .....</b>	<b>59</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>61</b>

#### **ANNEXES SCIENTIFIQUES :**

##### **Le projet « MAITRISE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL »**

- ACTION 1 : *La désinfection de l'eau*
- ACTION 2 : *Effet phytotoxique des produits désinfectants*
- ACTION 3 et ACTION 4 : *Analyse du mode de propagation de la bactérie*
  - *Expérimentation 1: la contamination des substrats contaminés par l'eau d'irrigation.*
  - *Expérimentation 2 : contamination par voie aérienne.*
- ACTIVITE BACTERICIDE DES UVc *vis-à-vis* de *R. SOLANACEARUM*
- MISE AU POINT D'UN SYSTEME PREVENTIF DE DESINFECTION DE L'EAU

*Valorisation des résultats : saison fraîche 1<sup>er</sup> cycle*  
*Valorisation des résultats : saison fraîche 2<sup>eme</sup> cycle*  
*Valorisation des résultats : saison chaude 1<sup>er</sup> cycle*  
*Valorisation des résultats : saison chaude 2<sup>eme</sup> cycle*  
*Valorisation des résultats : saison chaude 3<sup>eme</sup> cycle*

## **LES DIFFERENTES ETAPES DU PROJET : « *MAITRISE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL* »**

---

Eu égard aux problèmes rencontrés par les serristes à la Réunion vis-à-vis du flétrissement bactérien, ce projet de recherche appliquée a démarré en juin 2002, grâce au concours financier de l'**ODEADOM**, du **Conseil général**, et de l'**Europe**. Il a regroupé différents partenaires qui, ensemble, ont créé un comité de pilotage « Flétrissement bactérien » pour coordonner efficacement les travaux :

- **ARMEFLHOR** représentée par **Arianna CARIGLIA, Anne CAPY et Xavier FABREGUES**
- **DAF-SPV** représenté par **Gilles WUSTER** dans un premier temps puis par **Bruno HOSTACHY**
- **CIRAD-INRA** représenté par **Jacques LUISETTI** dans un premier temps puis par **Philippe PRIOR**
- **CIRAD** représenté par **Olivier PRUVOST**
- **CIRAD-FLHOR** représenté par **Serge SIMON**
- **FDGDON** représentée par **Olivier GAMBIN, Davy GONTHIER**
- **CHAMBRE D'AGRICULTURE** représentée par **Pierre TILMA**
- **UNIVERSITE DE LA REUNION** représentée par **Hyppolite KODJA**

Une serre de 240 m<sup>2</sup>, de type tunnel plastique, a été mise en place sur le site du Pôle de Protection des Plantes à Saint-Pierre, pour accueillir les essais en culture. Les expérimentations prévues dans ce projet se sont déroulées en deux étapes sur une période de quatre ans.

Dans une première phase, nous avons cherché à décrire la dynamique de population de la bactérie phytopathogène dans le substrat ainsi que sa capacité de dispersion d'une plante à l'autre. Parallèlement, nous avons analysé l'efficacité des méthodes de désinfection de l'eau permettant d'éviter l'introduction de la bactérie dans une unité de culture et ainsi, limiter sa diffusion dans l'unité en cas d'introduction malheureuse.

La deuxième partie a plus une vocation pédagogique, elle présente la synthèse des connaissances acquises en apportant des réponses concrètes et pratiques quant à l'efficacité des méthodes de lutte et à la maîtrise du flétrissement bactérien.

La première approche a consisté à définir **une gamme de produits désinfectants efficaces pour la désinfection de l'eau contaminée par *R. solanacearum* (ACTION 1, 2002).**

Par la suite, afin **d'évaluer la phytotoxicité** de ces produits, ils ont été testés pour la désinfection de l'eau apportée à une culture de tomate en hors sol (ACTION 2, 2003).

L'étude s'est poursuivie avec des expérimentations sur le mode de propagation de la bactérie :



***L'ACTION 3 (2004) a concerné l'évaluation du mode de propagation de la bactérie dans le substrat lorsqu'il y a contamination par l'eau d'irrigation.***

***L'ACTION 4 (2004) a concerné l'évaluation du mode de propagation de la bactérie dans le substrat en cas de contamination par voie aérienne.***

La directive du Journal Officiel du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche publiée le 24 mars 2004 a prévu le retrait du marché de certains produits phytopharmaceutiques, utilisés pour le traitement des serres et abris. (Voir en ANNEXE).

Le retrait a concerné directement trois des quatre produits qui avaient été reconnus comme efficaces contre *R. solanacearum* et potentiellement utilisables pour une désinfection des eaux d'irrigation en culture hors sol de tomate : DESOGERME MICROSERRE (qui a obtenu une dérogation jusqu'en 2007), AVDN5 et TOMAXIL.

Par ailleurs, dans le nouveau catalogue des usages publié en 2004, la catégorie de produit usage « *désinfection des eaux de drainage* » a été créée mais aucun produit n'est homologué pour la désinfection des solutions drainantes. A cette problématique s'est ajoutée une demande de plus en plus forte des serristes auprès de la Chambre d'Agriculture et de l'ARMEFLHOR : tester l'efficacité des UVc pour la désinfection de l'eau d'irrigation.

Compte tenu de la situation, le comité de pilotage a donc décidé en 2004 de réorienter le projet vers l'évaluation de ***l'activité bactéricide des UVc vis-à-vis de R. solanacearum***

L'objectif a été d'évaluer l'efficacité de la désinfection de l'eau d'apport et de drainage contaminée par *R. solanacearum*, à différentes concentrations par des rayons U.V. générés par une lampe germicide.

Les actions du programme se sont poursuivies par des essais de valorisation des résultats : ***«MISE AU POINT D'UN SYSTEME DE DESINFECTION DE L'EAU EN PREVENTIF»*** (2005-2007). Quatre répétitions, 2 en saison chaude et 2 en saison froide, avec les 2 souches réunionnaises ont été réalisées pour valider la stratégie à adopter pour la maîtrise du flétrissement bactérien.

Nous avons évalué l'efficacité de la désinfection de l'eau d'irrigation contaminée en cours de culture par deux types de désinfection : physique, par stérilisation aux rayons UVc (220 mJ/cm<sup>2</sup>) et chimique, par chloration (62 ppm et 30 ppm). En effet, bien qu'aucun produit ne soit autorisé pour la désinfection de l'eau en culture hors sol, nous avons utilisé en voie expérimentale le chlore car il est efficace et d'application aisée. En cas de contamination, le deuxième objectif de cette étude était de mettre au point un dispositif pour proscrire la dissémination de la bactérie, de proche en proche, (d'un plant à l'autre), malgré la procédure de désinfection.

## Synthèse des résultats obtenus

---

Une synthèse des étapes et des résultats obtenus tout au long du projet « *MAITRISE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL* », est présentée ci-après.

### Recherche de produits désinfectants

---

Au laboratoire, la première approche sous l'**ACTION 1** de 2002, a consisté à **tester l'efficacité d'une gamme de produits désinfectants contre *R. solanacearum* en traitement de l'eau**. Parmi une large gamme de produits testés, les résultats ont révélé la possibilité d'une décontamination de l'eau par des produits ayant un effet anti-bactérien satisfaisant : SR JAVEL, AVDN5, TOMAXIL et DESOGERME MICROSERRE.

En serre expérimentale, l'**ACTION 2** « *Evaluation de la phytotoxicité des produits désinfectants* », réalisée en 2003, a permis **d'évaluer la phytotoxicité** des produits testés en désinfection de l'eau d'apport à la culture de tomate en hors sol. Les résultats ont révélé l'absence d'effet phytotoxique évident des quatre produits désinfectants. Contrairement à l'eau de Javel utilisée comme référence, ceux-ci n'ont pas eu d'incidence négative sur la culture, que ce soit sur le développement végétatif ou sur la production.

### Etudes sur le mode de propagation de la bactérie

---

Deux expérimentations ont été mises en œuvre pour comprendre le mode de propagation de la bactérie : « **Quand l'infection intervient au niveau du système racinaire et quand l'infection se situe au niveau aérien (opérations de taille par exemple)** ».

**L'ACTION 3** (2004) a porté sur *l'évaluation du mode de propagation de la bactérie dans le substrat lorsqu'il y a contamination par l'eau d'irrigation*.

**L'ACTION 4** (2004) a concerné *l'évaluation du mode de propagation de la bactérie dans le substrat en cas de contamination par voie aérienne*.

Nous avons apporté les réponses suivantes :

- dans une serre, le développement du flétrissement bactérien d'un plant à l'autre ne semble pas être influencé d'une façon significative par le type de substrat (pain de coco ou pot de scorie) et ce, quel que soit le niveau d'inoculum mais aussi quelle que soit la source de contamination ;
- dans les deux substrats et quel que soit le mode d'inoculation, nous avons observé que les taux d'inoculum autour d'un plant flétri sont très élevés ;
- aucune différence de niveau de contamination entre la zone racinaire et la zone périphérique d'un plant flétri n'a été relevée.



#### Conclusion :

- si un plant se trouve à côté d'un plant flétri, même s'il ne manifeste pas de symptômes évidents, il est susceptible d'être contaminé à très court terme.
- l'augmentation du niveau de bactéries dans le drainage entraîne une augmentation du risque de contamination d'un plant à l'autre.

Une plante malade génère donc une quantité très importante de bactéries dans le substrat et elle contamine les autres plants de la même ligne de culture.

Ces résultats nous sont utiles pour affirmer qu'une séparation entre les racines des plants et l'eau de drainage est essentielle pour éviter toute contamination si la source d'inoculum n'est pas l'eau du réseau d'irrigation.

#### **Réorientation du projet**

Suite à la directive du Journal Officiel du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche publiée le 24 Mars 2004, qui a prévu le retrait du marché de certains produits testés et à la demande de partenaires du projet (voir page 2), les expérimentations prévues ont été modifiées pour évaluer en laboratoire *l'activité bactéricide des UVc vis-à-vis de R. solanacearum*. L'objectif a été de tester l'efficacité de la désinfection par irradiation aux UVc de l'eau d'apport et de drainage contaminées par *R. solanacearum*, et donc, d'identifier le pouvoir germicide d'un stérilisateur à UVc sur différentes concentrations d'une population bactérienne.

L'utilisation de lampes UVc pour la décontamination de l'eau s'est révélée être un moyen prophylactique efficace à doses germicides bien définies : le type d'eau désinfectée et la charge bactérienne présente. En effet, pour l'eau d'apport les lampes UVc ont un pouvoir germicide à partir de 120mJ/cm<sup>2</sup> à la concentration bactérienne de 10<sup>3</sup> ufc/ml. Mais à une concentration bactérienne plus élevée, l'efficacité est réduite. La turbidité et la coloration de l'eau de drainage ont une influence sur le pouvoir germicide des lampes. Nous avons constaté que plus un drainage est «coloré» plus l'efficacité des UVc est compromise, même à doses germicides élevées.

#### **Valorisation des résultats**

Les actions du programme ont été poursuivies par des essais de valorisation des résultats en serre expérimentale : «**MISE AU POINT D'UN SYSTEME DE DESINFECTION DE L'EAU EN PREVENTIF**» (2005-2007).

Quatre répétitions, 2 en saison chaude et 2 en saison froide, avec les 2 souches réunionnaises ont été réalisés afin de confirmer la technique pour maîtriser le flétrissement bactérien. Nous avons évalué l'efficacité de la désinfection de l'eau d'irrigation contaminée, directement en cours de culture, par deux types de désinfection une physique, la stérilisation aux rayons UVc (220mJ/cm<sup>2</sup>) et une chimique, la chloration (dans un premier temps 62 ppm et 30 ppm par la suite). En effet bien qu'aucun produit ne soit autorisé pour la désinfection de l'eau en culture hors sol, en conditions expérimentales nous avons utilisé le chlore car il est efficace et d'application aisée.

Nous avons donc constaté :

- aucun effet phytotoxique du traitement Chlore en saison froide. En saison chaude, un effet phytotoxique a été constaté à la dose 62 ppm, estompé à 30 ppm,
- aucun plant des traitements UVc et Chlore n'a présenté de symptôme de flétrissement bactérien,
- la présence de la bactérie dans les parcelles désinfectées n'a pas été détectée, ni dans les plantes, ni dans les eaux de drainage, ni dans les substrats, mais uniquement dans les parcelles témoins,
- les analyses PCR faites sur les extraits de plantes issus des traitements Chlore et UVc ont indiqué la présence de l'ADN de la bactérie. Ainsi deux hypothèses peuvent être envisagées :
  - soit le passage de quelques bactéries reste une éventualité et donc, à une concentration bactérienne dans l'eau de  $10^3$  ufc/ml, la possibilité d'une infection existe, après un traitement UVc ou Chlore ;
  - soit l'ADN détecté provient de bactéries qui ne sont plus viables.

Le deuxième aspect de cette étude visait à mettre au point un procédé pour empêcher le développement de la bactérie d'un plant à l'autre en cas de contamination, malgré la désinfection. Lorsque les niveaux de flétrissement sont faibles, une intervention immédiate et drastique peut réduire les dégâts. Or, nous n'avons pas eu de développement de flétrissement d'un plant à l'autre dans les modalités avec désinfection, à part quelques plants dans le traitement chlore (essai valorisation octobre 2006 - janvier 2007) à cause d'un dysfonctionnement de la pompe à chlore. Mais le développement est resté très limité par rapport au témoin non traité.

L'étude s'est achevée par la vulgarisation de la technique acquise avec la rédaction d'un manuel et d'une fiche technique destinés aux agriculteurs pour la mise en oeuvre de la désinfection de l'eau d'apport avec les UV.

## INTRODUCTION

A la Réunion, le développement du flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* est un facteur limitant reconnu de la culture de tomate en plein champ. Il s'avère même impossible de mener à bien des cultures de solanacées (pomme de terre et tomate) dans certaines zones de l'île tant le niveau de contamination est important.

Les techniques culturales s'orientent vers la production en culture hors sol, comme alternative à la culture de plein champ. Les surfaces dédiées aux cultures sous abris représentent 70 ha et 280 exploitants en 2006 alors qu'elles n'étaient que de 4 ha pour 4 exploitants en 1993. Toutefois, comme en plein champ, une contamination des serres reste possible, entraînant des conséquences désastreuses pour les producteurs qui ont investi dans ce mode de culture. En effet, la bactérie agent du flétrissement bactérien peut être véhiculée par l'eau ou être introduite dans la serre depuis des zones contaminées à la faveur des opérations culturales.

L'eau est souvent rapportée comme facteur clé pour la dissémination de la bactérie : les cultures sont fréquemment attaquées en cas de modification des sources d'approvisionnement en eau. Ceci se produit notamment suite à des ruptures d'alimentation en raison d'accidents climatiques, fortes pluies ou cyclone. De plus, la dissémination risque d'être plus importante à la suite des travaux de basculement des eaux de l'Est, où la bactérie est présente, vers l'Ouest.

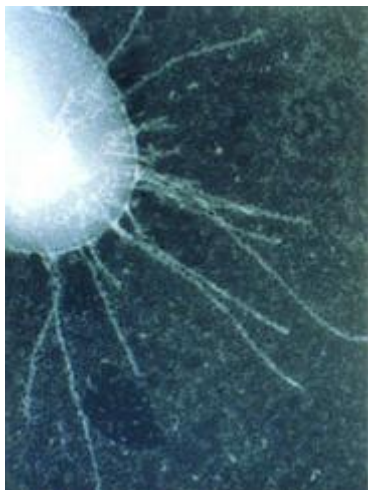
Sur la base des problématiques rencontrées par les serristes à la Réunion ce projet de recherche appliquée a été mis en place avec comme objectif principal **l'identification de la méthode de désinfection de l'eau d'apport la plus appropriée et la mise au point des techniques culturales, qui permettent de maintenir les serres de production exemptes de *R. solanacearum*, mais aussi de maîtriser le problème en cas d'introduction.**

Ce «*guide des bonnes pratiques culturales*» a donc pour principal objectif de contribuer au développement de la **lutte préventive** et de renseigner sur l'efficacité des **mesures prophylactiques** (la désinfection de l'eau d'irrigation, la désinfection de tout matériel et outil de travail, le vide sanitaire, la circulation contrôlée et réglementée dans les serres). Afin d'éclairer le lecteur, les conseils et les choix qui sont proposés pour mettre en place une lutte prophylactique adéquate sont corrélés à des éléments de connaissance générale sur *R. solanacearum*, en particulier dans le contexte réunionnais qui est exposé dans la première partie de ce document.

La deuxième partie présente une description des principales méthodes de désinfection de l'eau en culture hors sol et de leur mode d'action pour permettre un choix adapté aux conditions particulières de chaque agriculteur.

## I - LE FLÉTRISSEMENT BACTÉRIEN CAUSE PAR *R. SOLANACEARUM*

### I.1 - Importance économique de la maladie



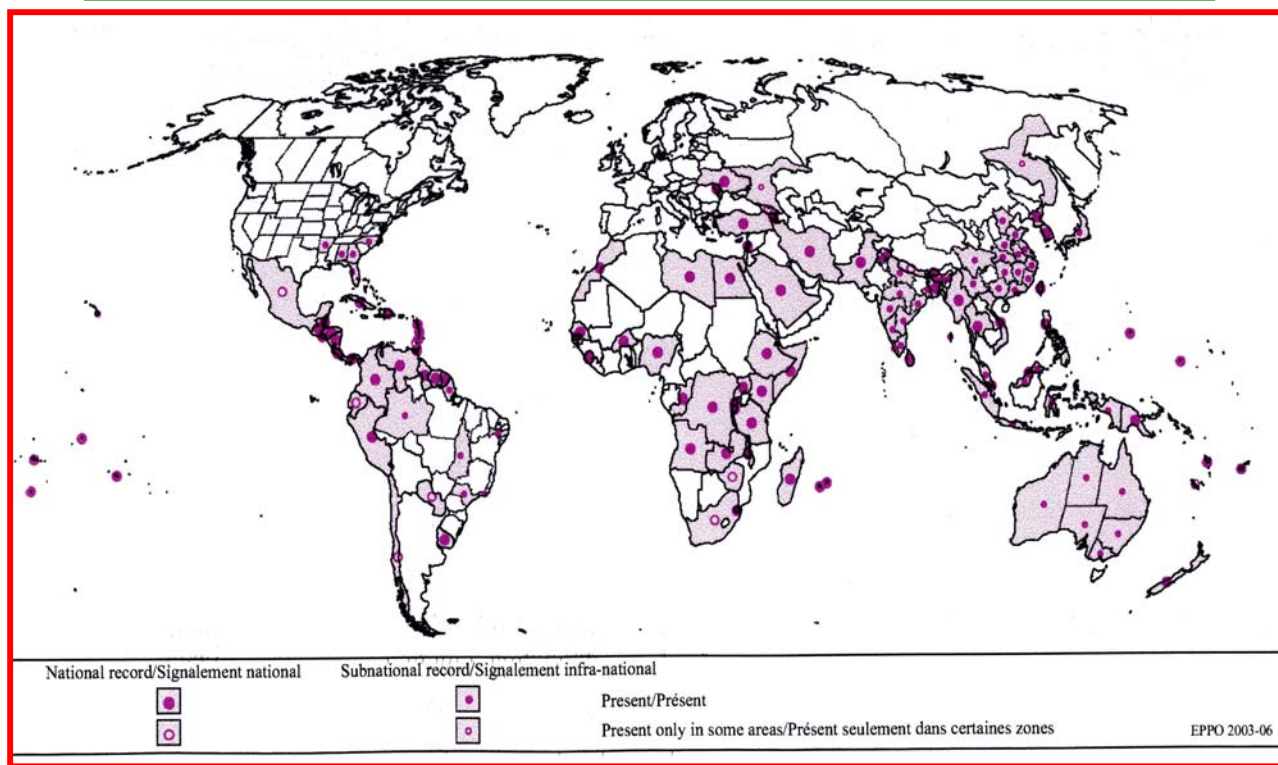
*R. solanacearum* vu en microscopie électronique

Le flétrissement bactérien est une phyto bactériose vasculaire d'origine tellurique provoquée par *Ralstonia solanacearum*. Elle est l'une des maladies bactériennes les plus nuisibles au niveau mondial. Présente sur tous les continents, elle a été observée dans une vaste gamme de climats : tropical, subtropical, méditerranéen et tempéré. Le spectre d'hôtes de *R. solanacearum* est très large, il comprend environ 200 espèces végétales appartenant à plus de 55 familles botaniques (monocotylédones et dicotylédones). A l'heure actuelle, le flétrissement bactérien cause des dégâts importants sur des dizaines de cultures vivrières dont les Solanacées (tomate, pomme de terre, aubergine, poivron), cucurbitacée (melon et concombre en Martinique) et le gingembre à Hawaï, et industrielles (banane, arachide, tabac, etc.) (Tableau 1).

A titre d'exemple, le flétrissement bactérien peut provoquer jusqu'à 90 % de pertes de rendement dans les cultures de pomme de terre et de tomate selon les pays et la saison. Sur la pomme de terre, les pertes économiques annuelles au niveau mondial sont estimées à 950 millions de dollars.

Le Phylotype II dit « souche froide », a été signalé ces dernières années dans certaines régions tempérées de l'Europe, surtout sur des pommes de terre, mais également sur des tomates et quelques espèces de mauvaises herbes. Le Phylotype II est classé organisme de quarantaine en Europe, au Canada et aux États-Unis. Des vérifications menées par certains pays, et notamment les Pays-Bas et les États-Unis, ont montré que les pélargoniums importés de certains pays sont une voie possible d'introduction de la bactérie. Aux États-Unis, *R. solanacearum* a récemment été placé, avec 9 autres agents phytopathogènes, sur la liste des agents pathogènes potentiellement utilisables dans des actions de bioterrorisme.

Répartition géographique de *Ralstonia solanacearum* (Phylotype I « source chaude »)



**Tableau 1 : Quelques hôtes du flétrissement bactérien décrit récemment ( Hayward 1994)**

Famille botanique	Espèce botanique	Nom commun	Lieu d'identification
<b>Liliidae (Monocotiledone)</b>			
Alliaceae	<i>Allium cepa</i> L.	<i>Ail</i>	Réunion, Venezuela
Araceae	<i>Anthurium andraeanum</i> Lind	<i>Anthurium</i>	Réunion, Sri Lanka, Australie
Heliconiaceae	<i>Heliconiacaribea</i> Lam. <i>H.lathispatha</i> Benth. Autres <i>Heliconia</i> spp <i>Strelitzia reginae</i> Banks	<i>Heliconia</i>  <i>Oiseau de paradis</i>	Costa Rica Colombie Australie Etats Unis
Strelitziaceae			
<b>Magnoliidae (Dicotiledoneae)</b>			
Brassicaceae	<i>Raphanus sativus</i> L.	<i>Radis</i>	Taiwan , Inde
Calyceraceae	<i>Acanthospermum hipisum</i> L		Inde
Cleomaceae	<i>Cleome monophylla</i> L.	<i>Spiderplant</i>	Inde
Crassulaceae	<i>Kalancoe blossfeldiana</i> v. Paellnitz	<i>Kalancoe</i>	Réunion
Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i> L.	<i>Concombre</i>	Japon et Martinique
Gerianaceae	<i>Pelargonium hortorum</i> Bailey	<i>Geranium</i>	Etats-Unis
Hydrocotylaceae	<i>Centella asiatica</i> L. Urban		Sri Lanka
Onagraceae	<i>Jussiaea linifolia</i>		Thaïlande
Oxalidaceae	<i>Oxalis</i> L.spp	<i>Oxalis</i>	Ouganda
Rosaceae	<i>Fragaria</i> L. spp	<i>Fraise</i>	Japon
Rubiaceae	<i>Oldenlandia corymbosa</i> .	<i>Flattop mille graines</i>	Inde
Umbrelliferae	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	<i>Fenouil</i>	Inde

## I.2 - Le flétrissement bactérien à la Réunion.

A la Réunion, le flétrissement bactérien causé par *R. solanacearum* a été décrit pour la première fois en 1960. Actuellement, la maladie touche une vingtaine d'espèces différentes et est répartie sur l'ensemble de l'île. Le flétrissement bactérien est un facteur limitant pour les cultures de Solanacées (pomme de terre, tomate, aubergine et poivron), de géranium rosat et d'anthurium, particulièrement durant la saison chaude et humide (Tableau 2).

La Réunion a la particularité d'héberger 3 phylotypes distinctes de *Ralstonia solanacearum*, ce qui est un fait assez rare dans le monde :

- le phylotype I, « souche chaude » atteint en particulier la tomate, l'aubergine, le poivron mais aussi l'anthurium, l'oignon et parfois le géranium rosat,
- le phylotype II « souche froide » dite de la pomme de terre,
- le phylotype III « africain ».

Les phylotypes I et II ont été isolés sur des cultures de tomate et poivron hors sol.

Tableau 2 : Liste des plantes hôtes de <i>R.solanacearum</i> à la Réunion (d'après Nicole, 1995)		
Famille botanique	Espèce botanique	Nom commun
<b>Liliidae (Monocotiledone)</b>		
Araceae	<i>Anthurium andraeanum</i> Lind	Anthurium
Liliaceae	<i>Allium cepa</i> L	Ail
Strelitziaceae	<i>Strelitzia reginae</i> Banks	Oiseau du paradis
<b>Magnoliidae (Dicotiledoneae)</b>		
Solanaceae	<i>Solanum tuberosum</i>	Pomme de terre
	<i>Lycopersicum esculentum</i>	Tomate
	<i>Capsicum anuum</i>	Poivron
	<i>Solanum melongena</i>	Aubergine
	<i>Nicotiana tabacum</i>	Tabac
	<i>Capsicum frutescens</i>	Poivre de Cayenne, piment
	<i>Solanum nigrum</i>	La morelle noire
	<i>Cyphomendra betacea</i>	Tomate en arbre tomate arbuste
Fabaceae	<i>Arachis hypogea</i>	Cacahuète
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Haricot
Gerianaceae	<i>Pelargonium asperum</i>	Géranium
	<i>Pelargonium hortum</i>	
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	Euphorbia
Anacardiaceae	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Poivre de Bourbon – Baies roses
Asteraceae	<i>Ricinus communis</i>	Ricin commun
Crassulaceae	<i>Kalanchoe blossfeliana</i>	Kalanchoé
Potulaceae	<i>Portula spp</i>	Portula
Urticaceae	<i>Angeratum canyzoides</i>	Angeratum

## I.3 - Généralités sur l'agent pathogène

*R. solanacearum* est une bactérie tellurique de forme bacillaire à Gram négatif, de type respiratoire aérobie strict. Elle présente une très grande variabilité phénotypique, génotypique et du pouvoir pathogène. Les analyses phylogénétiques basées sur différentes approches moléculaires ont permis de confirmer la diversité génétique existant au sein de l'espèce et d'établir des corrélations avec l'origine géographique des souches. Un nouveau schéma de classification hiérarchique a été proposé et accepté par la communauté scientifique : les membres du complexe d'espèces *R. solanacearum* sont répartis en 4 phylotypes qui sont corrélés à l'origine géographique des souches (Prior & Fergan 2005).



Chaque phylotype est lui-même composé d'un certain nombre de sequevars, groupes de souches possédant moins de 1 % de polymorphisme dans la région séquencée. Enfin, notons que les souches réunionnaises tombent dans 3 des 4 phylotypes décrits.

#### I.4 - Epidémiologie

##### I.4.1 - Symptômes

*R. solanacearum* pénètre dans la plante par des racines blessures artificielles ou naturelles tels que la zone d'émergence des racines secondaires ou l'apex des racines. Elle peut aussi pénétrer par des lésions de la tige ou les stomates. La bactérie se multiplie dans la plante et les études menées en microscopie optique et électronique montrent que la colonisation a lieu en deux phases. La colonisation se fait tout d'abord par infection des espaces intercellulaires du cortex interne racinaire, puis par envahissement des vaisseaux du xylème par le mécanisme suivant : les petites cellules infectées des tissus adjacents aux vaisseaux du xylème émettent des thylloses (expansions vésiculeuses) à l'intérieur desquels migrent les bactéries ; ces thylloses s'invaginent et se rompent, libérant des bactéries dans le xylème. Une fois dans les vaisseaux du xylème, la bactérie se multiplie activement et se propage dans toute la plante. Les températures chaudes (au-dessus de 25° C) et un excès d'eau favorisent la multiplication et la progression de la maladie. L'infection mène au flétrissement de la plante lorsque la bactérie bloque les vaisseaux du xylème. Le résultat final est la mort de la plante.

Chez la tomate, le flétrissement se manifeste d'abord avec une épínastie foliaire et l'apparition de bourrelets et de racines adventives sur la tige, des exsudats bactériens blanchâtres sortant des vaisseaux et un brunissement des vaisseaux du xylème.



*Evolution des symptômes sur tomate*

Sur pomme de terre, les symptômes se manifestent par un flétrissement progressif des plants. Les tubercules présentent des exsudats bactériens blanchâtres sortant des vaisseaux qui brunissent et peuvent entraîner la pourriture des tubercules.

***Symptômes de *Ralstonia solanacearum* sur tomate et pomme de terre***



*Plants de tomate cultivée en plein champ*  
*Photo courtesy of Jeff Jones, University of Florida*



*Infection sur jeunes plants de pomme de terre*  
*Photo courtesy of the International Potato Center, Lima, Peru*



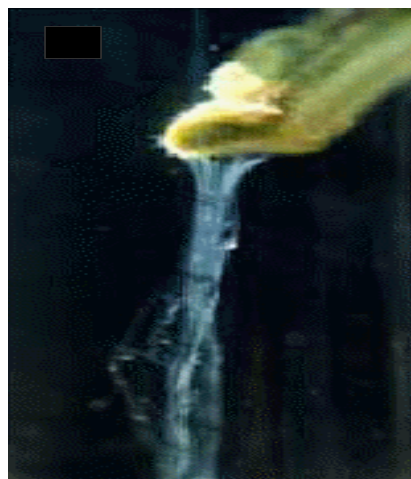
*Section de tubercule de pomme de terre avec début de symptômes*  
*Photo courtesy of the International Potato Center, Lima, Peru*



*Symptômes sur tubercule de pomme de terre*  
*Photo courtesy of the International Potato Center, Lima, Peru*



*Symptômes sur plant de tomate en culture hors sol*  
*Photo A. Cariglia Armefflor - Ile de la Réunion*



*Exsudats bactériens blanchâtres sortant des vaisseaux*  
*Photo courtesy P. Prior*

Le flétrissement bactérien du Géranium causé par *R. solanacearum* a une symptomatologie semblable au dépérissement bactérien causé par une espèce de *Xanthomonas*. Les symptômes de l'infection sont le flétrissement des feuilles inférieures avec enroulement des bords des feuilles, le jaunissement et la nécrose. Les tiges peuvent montrer une décoloration interne et externe de brune au niveau du sol lorsqu'on coupe la plante. Les racines des plantes infectées sont souvent brunes. L'infection est systémique : elle débute par les feuilles et les pétioles inférieurs et se propage. Dans certains cas, seule une partie de la tige montre des symptômes de flétrissement, mais éventuellement la plante entière flétrit, s'affaisse et meurt. A la Réunion, une des causes de l'arrêt de la culture de géranium dans certaines zones de l'île a été justement le flétrissement bactérien.

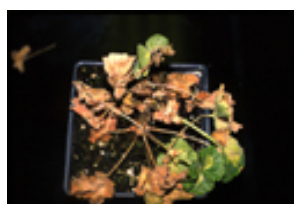


**Fig 1.** Infection de pélargoniums due à *R. solanacearum*.

**Notez** le flétrissement qui commence à la base de la plante et se propage ensuite vers le haut.



**Fig 2.** Pélargonium, stades précoces de l'infection par *R. solanacearum*



**Fig 3.** Étapes avancées d'une infection par *R. solanacearum* chez un pélargonium.

**Notez** l'affaissement de la plante entière



**Fig 4.** Pélargonium, stades précoces de l'infection par *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii*.

**Notez** que la flétrissure a tendance à être répartie dans toute la plante de manière plus aléatoire que l'infection causée par *R. solanacearum*.

Source : Service de l'évaluation des risques phytosanitaires

Références photographiques : Fig 1.- 4, Dr S.G.P. Nameth, Dept. of Plant Pathology, Ohio State University, Ohio, USA. Fig 5. et 6, JoAnn M. Cruse, State Plant Health Director - Wisconsin, USDA, APHIS, Plant Protection & Quarantine

Chez le bananier le flétrissement bactérien (ou encore maladie de Moko), fort heureusement absent à la réunion, se manifeste par un jaunissement et un flétrissement progressif des feuilles qui finissent par se dessécher. Aucun symptôme extérieur n'est visible sur les fruits qui peuvent présenter un brunissement vasculaire intense de la pulpe.



Evolution de la maladie sur bananier infecté par la souche Molk 2. Photo courtesy P. Prior



#### I.4.2 - Mode de conservation

*R. solanacearum* est une bactérie d'origine tellurique, elle se trouve donc dans le sol. Mais il semblerait que la bactérie ne survive pas plus de trois mois dans un sol nu. En revanche, il survivra indéfiniment dans les racines des plantes ou la rhizosphère de plants hôtes ou non hôtes. Il a été montré que la bactérie est capable de survivre pendant des périodes prolongées dans les couches profondes du sol (Okabe, 1971 ; Graham et Lloyd 1979) et des niches écologiques nombreuses comme les racines d'hôtes substitués (par exemple, des mauvaises herbes). Des réservoirs d'inoculum se constituent via les plants flétris en décomposition, les débris organiques ou les tubercules de pommes de terre de repousse provenant d'anciennes cultures et tout matériel végétal qui ne manifestent pas de symptômes, car porteurs d'infection latente. Dans les climats tempérés, la survie de la bactérie dans le sol nu pendant de longues périodes est jugée peu probable. Toutefois, des études menées en Europe tempérée ont montré que la bactérie peut passer l'hiver dans des repousses de pommes de terre ou les racines de certaines mauvaises herbes surtout *Solanum dulcamara* (morelle douce-amère).

La température est également un facteur qui intervient dans la survie de *R. solanacearum* mais aussi dans l'interaction hôte-pathogène (Hayward, 1991). A des températures inférieures à 0° C la bactérie ne se maintient pas (Olsson, 1976). Entre 0° et 10° C, la bactérie peut être présente mais la maladie ne se manifeste pas (Kelman 1954). L'optimum se situe entre 30° et 35° C sauf pour le phylotype II, souche « froide », pour lequel l'optimum se situe autour de 23° 35° C

Plusieurs études ont montré que la bactérie est capable de survivre à des conditions de stress. (B. E. Grey, T. R. Steck, 2001). En effet, *R. solanacearum* peut exister dans la nature dans un état dit viable mais non cultivable (VNC). Il peut être considéré comme un mécanisme de dormance et de survie pour certaines bactéries qui ne produisent pas de spores. Les conditions qui induisent ce type d'état sont de nature différente et dépendent du type de bactérie : stress osmotique, changements de température, présence de métaux lourds etc. Dans certains cas, la bactérie peut restaurer son état normal et redevenir capable de se multiplier et être pathogène. Dans le cadre de nos essais, l'étude sur l'efficacité de la désinfection de l'eau aux UVc a montré que la possibilité de transition de phase chez *R. solanacearum* vers l'état VNC existe (ANNEXE). En effet l'évaluation du VNC (« état viable non cultivable ») confirme que, sur une fraction de la population bactérienne les UV ont une action bactériostatique, qui permet à la cellule de continuer à vivre, mais sans avoir la possibilité de se reproduire. La population bactérienne qui est en état VNC peut restaurer son état normal et redevenir capable de se multiplier et être pathogène. Cet aspect pose la question sur la « durabilité » de la désinfection aux UV. L'influence du rayonnement UVc sur le passage de *R. solanacearum* de pathogène à VNC et inversement est un sujet qui mériterait d'être approfondi.

L'eau est considérée comme un milieu de conservation de choix. D'après Poussier (2000), *R. solanacearum* se conserve dans l'eau et la durée de survie est variable, de deux semaines à plusieurs mois selon la qualité de l'eau, la température et le phylotype concerné. Le phylotype II a une durée de survie plus courte à 20-25°C que le phylotype I.

#### I.4.3 - Mode de dissémination

Etant donné la capacité d'adaptation de la bactérie à des milieux très variés, les réservoirs d'inoculum et les formes de dissémination associées sont multiples. L'homme est le principal responsable de la dissémination au plan local mais aussi au plan international. L'importation de boutures de Géranium et de tubercules de pomme de terre infectés à l'état latent est à l'origine

du développement de flétrissement bactérien en Europe ( Digat et Caffier,1996 ; Janse, 1996; Stead *et al*, 1996). (Tableau 3)

Tableau 3 : Modes de dissémination de *R.solanacearum* (d'après Kelman *et al.*, 1994)

Origine de la contamination	Autres informations	Référence
Matériel végétal planté	Tubercules de pomme de terre contaminés (infections latentes) Rhizomes de gingembre Boutures de bananes (depuis l'Amérique Centrale jusqu'aux Philippines) Rhizomes d' <i>Heliconia</i> (d'Hawaï au Queensland en Australie)	Hayward (1991) Lum (1973) Rillo (1979), Buddenhagen (1986) Hyde <i>et al.</i> (1992)
Semences vraies	Arachide (Chine) Arachide (Indonésie) Graines de tomate (de l'Inde au Népal) Graines de tomate (autres lieux)	Zhang <i>et al.</i> (1993) Machmud et Middleton (1990) Shakya (1993) Devi et Menon (1980), Hayward (1991)
Boutures de tomate	Du Sud-Est des Etats-Unis vers les états du Nord et du Canada	Vaughan (1944), Layne et McKeen (1967), Gitaitis <i>et al.</i> (1992)
Plantules de fraisier	Taïwan	Hsu (1991)
Transmission par un insecte	A partir d'inflorescences de bananiers atteintes de la maladie de Moko vers des inflorescences saines	Buddenhagen et Elsasser (1962)
Transmission mécanique par pincement par élagage par l'équipement de récolte par blessure des racines lors des pratiques culturales	Sur tomate (Géorgie et Floride, Etats-Unis) Sur bananiers (Amérique Centrale) Sur <i>Perilla crispa</i> (Taïwan) Général	McCarter et Jaworski (1969) Sequeira (1958) Hsu (1991) Kelman (1953)
Blessures dues aux nématodes	Divers hôtes	Kelman (1953), Lucas <i>et al.</i> (1955), Pitcher (1963), Johnson et Powell (1969), Napière (1980)
Transmission de racine à racine	Relargage des bactéries dans le sol à partir de racines infestées et contamination des racines voisines	Kelman et Sequeira (1965)
Transmission aérienne par dispersion des populations épiphytes lors de pluies	Sur tabac (Japon)	Hara et Ono (1985), Ono (1983)

## 1. Le sol

De nombreux types de sols peuvent être infestés par *R. solanacearum*. Les résultats portant sur la relation entre le type de sol et le flétrissement bactérien sont souvent contradictoires. Néanmoins il est admis que les sols ferrallitiques (kaolinite, halloysite) très drainant soient réceptifs au développement de l'infection et que les vertisols, suppressifs, ne le soient pas (Béreau et Messiaen, 1975 ; Prior *et al.*, 1993 ; Ramesh et Bandypadhyay, 1993). Par ailleurs l'humidité du sol est un facteur permettant une meilleure diffusion de la bactérie dans le sol et favorisant la survie. Elle survit mieux dans un sol humide et bien drainé que dans un sol sec et (ou) inondé (Kelman 1953 ; Buddenhagen et Kelman, 1964).

Dans le cadre de nos expérimentations, nous avons comparé deux types de substrats en culture de tomate hors sol, la fibre de coco et les scories de charbon. Nous avons conclu que le type de substrat n'influence pas le développement de la bactérie d'une plante à l'autre (ACTION 3, 2004 ) quel que soit le niveau de contamination dans l'eau d'irrigation.

## 2. - Matériel végétal planté

Le transport de matériel végétal (tubercule de pomme de terre, pieds de bananes, rhizomes de gingembre, boutures de géranium, etc) par l'homme est la principale cause de la dissémination de la bactérie d'un pays à l'autre. La dissémination peut s'effectuer par l'utilisation de plants infectés à l'état latent (Hayward, 1991). De cette façon, les plantes participent au maintien de niveaux élevés d'inoculum même dans les lieux où la maladie semble absente. Les conséquences de l'infection latente sont d'autant plus graves que les plants porteurs sains (qui n'expriment pas de symptômes) correspondent souvent à des cultures commerciales. Pour cela des mesures de quarantaine ont été prises en France et dans les autres pays pour empêcher l'introduction de souches différentes et contrôler l'amplification de la maladie

## 3. - Semences

Le rôle des semences vraies (ce qui exclut les tubercules de pomme de terre) dans la conservation et transmission du flétrissement bactérien est encore peu connu. En effet très peu d'études renseignent sur ce sujet. La transmission expérimentale de la maladie par la graine a été montrée mais reste un phénomène naturel assez rare. Les semences de tomate contaminées artificiellement peuvent donc héberger des bactéries et la conservation de l'inoculum serait alors possible (Shakya, 1993 ; Poussier, 2000). La localisation superficielle ou profonde des bactéries au niveau des graines reste à préciser, bien que la survie sur des graines commercialisées, pelliculées, soit probablement difficile, elle peut se faire chez des graines extraite de fruits contaminés (Poussier, 2000). Une telle source d'inoculum, bien que non fréquente, pourrait avoir une importance épidémiologique.

## 4. - Transmission mécanique

L'homme contribue activement à la dispersion de la maladie par les interventions culturales notamment lors de la taille et de la récolte ( Kelman *et al*, 1994). Les dépôts de sève qui se cumulent sur les bords des lames des couteaux et des sécateurs contribuent à la transmission de la bactérie d'un plant à l'autre. Elle peut aussi s'effectuer au niveau des blessures artificielles du système racinaire induites lors des repiquages des plantes.

## 5. - Transmission par insectes et nématodes

Les insectes jouent un rôle relativement mineur dans la dissémination des souches pathogènes des Solanacées. En revanche, les souches responsables de la maladie de Moko sur Musacées sont transmises par insectes (Buddenhagen et Elsasser, 1962). Par ailleurs, une synergie entre l'activité des nématodes (*Meloidogyne spp.*) et *R. solanacearum* est souvent mentionnée. (Hayward, 1991). En effet les blessures causées par les nématodes sont une voie d'entrée pour les bactéries. Il semble aussi que l'activité galligène du nématode modifie le tissu au niveau des racines en le rendant plus favorable à la colonisation bactérienne (Pitcher, 1963 ; Jatala et al., 1975 ; Napière, 1980 ; Martint et Nydegger, 1882 ; Hébert, 1985 ; Cadet et al., 1989 ; Deberdt, 1999).



## 6. - Transmission de racine à racine

Une plante flétrie génère une quantité importante de bactéries dans le substrat et elle contamine les autres plants voisins. Dans le cadre de notre étude (ACTION 3 et 4, 2004) nous avons mis en évidence qu'il n'y a aucune différence de niveau de contamination entre la zone racinaire et la zone périphérique d'un plant flétri. La conséquence importante de ce constat est que si un plant se trouve à côté d'un plant flétri, même s'il ne manifeste pas de symptômes évidents, il

est susceptible d'être contaminé à très court terme car la bactérie se déplace grâce au mouvement de l'eau. En effet, la deuxième conséquence est que l'augmentation du niveau de bactéries dans le drainage entraîne une augmentation du risque de contamination d'un plant à l'autre. C'est pour cette raison que l'eau d'irrigation ne doit pas ruisseler des pieds malades vers des plants sains ou vers les lots et parcelles sains.

## 7. - Transmission par l'eau

L'eau est un véhicule potentiel de la bactérie capable d'assurer efficacement la dissémination de la maladie. Le rôle de l'eau dans la dissémination *R. solanacearum* a été montré par diverses études menées dans différents pays. Certaines ont révélé la capacité de conservation de *R. solanacearum* dans différents types d'eaux (Poussier, 2000), d'autres ont montré que la présence dans les eaux de surface est strictement corrélée à la présence de boue. *R. solanacearum* est donc présent dans des eaux riches en matières organiques au sein desquelles elle est capable de survivre pendant plusieurs semaines (Janse, 1996 ; Janse et al., 1998). Dans la plupart des cas, l'origine de la contamination des rivières semble être liée à des rejets domestiques (station d'épuration) ou industriels (usine de transformation de pomme de terre importée). En Europe du Nord-ouest, certaines plantes adventices présentes au bord des cours d'eaux, sont considérées comme des réservoirs d'inoculum pouvant assurer la survie et la multiplication du pathogène. (Elphinstone, 1996 ; Janse, 1996 ; Hayward et al., 1998 ; Farag et al., 1999 ; Expert, 2000). Des plants flétris peuvent être à l'origine d'une contamination du sol et ce sol contaminé est susceptible de contaminer l'eau. L'accumulation des eaux contaminées dans le sol peut conduire à l'intensification de la maladie.

La transmission de la bactérie se fait majoritairement par l'eau de drainage qui rentre en contact avec les substrats des plants voisins même si la source de contamination est aérienne (ACTION 4, 2004). C'est pour cette raison que la méthode d'irrigation par sub-irrigation ('ebb and flow system' des anglo-saxons) est le système qui favorise le plus facilement la propagation.

Dans le cadre du projet « *Maîtrise du flétrissement bactérien en culture de tomate hors sol* », nous avons montré comment en culture hors sol de tomate, une eau d'irrigation même faiblement chargée en *R. solanacearum*, constitue une source d'inoculum contribuant au développement de la maladie d'une plante à l'autre (ACTION 3, 2004, ANNEXE). De plus, la propagation entre les plantes est favorisée dans les parcelles mal drainées de la serre.

A la Réunion, les cultures, notamment les cultures en hors sol, sont fréquemment attaquées suite à des modifications des sources d'approvisionnement en eaux. Ceci se produit notamment à la faveur des ruptures d'alimentation en raison d'accidents climatiques, sécheresse prolongée, cyclone ou bien encore suite aux travaux de basculement des eaux d'Est en Ouest. L'eau utilisée par les agriculteurs provient alors de réservoirs : cuves utilisées par les horticulteurs, retenues collinaires ou bassins.

## I.5 - La détection

Des tests rapides de dépistage facilitent le diagnostic sur le terrain. La présence de *R. solanacearum* dans des tiges de pommes de terre ou de plants de tomate flétries peut être mise en évidence en procédant au test de présomption. Le diagnostic peut être facilement fait en coupant la tige à 2–3 cm du collet et en l’immergeant dans un verre d’eau en position verticale. Après quelques minutes les bactéries exsudent de la tige (Test d'exsudation des tiges - vascular flow test en figure 1) et sont parfaitement visibles sous l’aspect de volutes ou fils bactériens.



Figure 1 : Test d'exsudation des tiges - vascular flow test.

Pour un diagnostic complet, il est recommandé de faire appel aux services de dépistage des organismes comme la FDGDON ou le SPV. Jusqu’à présent, les outils mis au point pour l’identification et la détection de *R. solanacearum* au sein des principaux réservoirs potentiels d’inoculum, comme l’eau ou le sol ne permettent pas une détection efficace et reproductible. La mise en œuvre des techniques de biologie moléculaire, en particulier le PCR, a permis d’effectuer des progrès surtout pour la détection *in planta*. Par contre, des travaux de recherche sont actuellement en cours pour mettre au point et valider la technique pour une détection efficace et en routine dans l’eau, notamment dans les eaux d’irrigation et dans le sol. Aujourd’hui, il n’existe aucune information officielle et précise concernant la présence et la quantité de *R. solanacearum* dans le réseau d’irrigation à la Réunion, en raison de la difficulté qu’il y a à détecter la bactérie dans l’eau d’irrigation (qualité de l’eau, difficulté d’échantillonnage...),

## I.6 - Les méthodes de lutte

Les méthodes de lutte curative restent inefficaces. Une combinaison de plusieurs techniques culturales peut permettre de limiter le risque de contamination :

- Utilisation de matériel végétal sain,
- Mise en place d’un assolement adéquat,
- Greffage,
- Utilisation d’hybrides résistants ou variétés,
- Rotations.

Les travaux de sélection visant à proposer des variétés résistantes ne sont pas satisfaisants pour le moment bien que la recherche y travaille. L’application de quelques mesures prophylactiques permet de contrôler le développement de la maladie. Celles-ci sont développées dans la troisième partie du document.

### I.6.1 - Lutte génétique

La résistance variétale correspond à la stratégie la plus efficace pour lutter contre le flétrissement bactérien. Le travail de recherche consiste, dans un premier temps, à identifier des sources de résistance ou de tolérance (plantes colonisées mais dépourvues de symptômes) et adaptées aux conditions climatiques. Dans un deuxième temps, des variétés résistantes sont créées en tentant d'introduire les gènes de résistance dans des variétés sensibles tout en s'attachant à conserver la valeur agronomique.

Bien que les variétés résistantes disponibles actuellement soient utilisées dans les programmes de recherche, certaines disponibles en commerce ne sont pas toutes intéressantes car la résistance se révèle instable dans le temps et dans l'espace, en raison de la grande variabilité de virulence et d'agressivité des souches de *R. solanacearum*, ainsi que des différences de conditions agro-pedo-climatiques influençant le développement de la maladie (Prior *et al.*, 1994 ; Hanson *et al.*, 1996 ; Wang *et al.*, 1998). De plus, les variétés résistantes ne répondent pas toujours aux exigences des producteurs et consommateurs locaux.

Le mécanisme de résistance est lié à la capacité de la plante à limiter la colonisation bactérienne au niveau des tissus conducteurs notamment par la production de thylles et donc non au niveau du système racinaire (Grimault et Prior, 1993; Grimault *et al.*, 1994). Les études génétiques sur la résistance au flétrissement bactérien chez la tomate ont montré qu'elle est de nature polygénique (dépendant de plusieurs gènes). Il a été également montré que chez la tomate la résistance est compromise suite à l'infestation de nématodes à galles car la plante n'est plus capable de gérer simultanément les deux mécanismes de résistance.

Il en résulte que la lutte génétique doit généralement être envisagée dans une stratégie globale de lutte raisonnée. Par ailleurs, le greffage de cultivars sensibles sur des porte-greffes résistants (ou tolérants) a aussi été utilisé. Bien qu'efficace, (W.T.H. Peregrine et K. Bin Ahmad, 1982) cette méthode est coûteuse, longue à mettre en oeuvre, et difficilement applicable à grande échelle. Depuis 2002, l'Armeflhor a mené à la Réunion des essais pour évaluer d'abord le comportement en plant franc des variétés AVRDC sélectionnées et ensuite pour évaluer leur comportement comme porte greffe en culture sous abris. Des variétés ont été identifiées comme intéressantes pour le greffage. Les semences sont disponibles à l'Armeflhor.

### I.6.2 - Lutte biologique

Les rotations culturales avec des plantes non hôtes (maïs, riz, soja, etc.) sont aussi des moyens efficaces pour diminuer les populations bactériennes présentes dans un sol (B. Ahikari et R.C. Basnyat, 1998). Les rotations culturales se montrent plus ou moins efficaces selon le phylotype de *R. solanacearum* présent (Wang *et al.*, 1983 ; Melton et Powell, 1991; Elphiston et Aley, 1993) et nécessitent souvent de cultiver les plantes non hôtes sur une période de plusieurs années.

Il a aussi été montré que les amendements organiques comme les boues de station d'épuration, bagasse de canne à sucre, farine de soja, urée mais aussi huile essentielle comme des bio-fumigant (P.M Pradhanang, *et al.*, 2003) permettent dans certains cas de diminuer les populations bactériennes. Ceci peut être dû à la production d'une ou plusieurs substances toxiques. Une des méthodes de la lutte biologique est d'installer en compétition un agent biologique et l'agent pathogène cible ; le but ultime étant d'essayer d'inhiber totalement la croissance de l'agent pathogène. Des souches peu agressives ont aussi un effet protecteur.

L'effet protecteur peut s'expliquer par la compétition pour l'espace et par l'induction d'une résistance locale non spécifique dont témoigne la production de thylles et le brunissement des cellules. Les plantes hôtes sensibles peuvent aussi être protégées par des rhizobactéries antagonistes, des champignons, des actinomycètes qui ont des effets antibiotiques contre *R. solanacearum*. De même, des souches de *Bacillus sp.* et de *Pseudomonas sp.* permettent de réduire efficacement le taux de flétrissement bactérien chez le piment, la pomme de terre et la tomate. Ces organismes colonisent les racines des jeunes plantes et devancent alors l'entrée de *R. solanacearum*. La lutte biologique, encore peu employée, représente un espoir mais elle est difficilement envisageable au champ car elle dépend fortement des conditions environnementales.

### I.6.3 - Lutte chimique

Des travaux de désinfection des couches superficielles du sol par la chaleur ou par l'application de fumigants comme le formol, l'hypochlorite de calcium, le bromure de méthyle, la chloropicrine ou des huiles essentielles comme le thymol ou l'huile de palme ont été conduits ces dernières années. En culture sous serre, ces travaux expérimentaux ont fourni des résultats intéressants, les bactéries ayant été totalement éliminées. En revanche, au champ, l'efficacité s'est avérée être limitée dans le temps, principalement lorsque la quantité d'inoculum était importante. Les traitements par fumigation sont, par ailleurs, très onéreux et surtout polluant comme le bromure de méthyle (en voie d'interdiction et usage limité à quelque culture), ce qui limite l'usage de ces techniques à grande échelle. En revanche la fumigation associée à la solarisation peut réduire l'impact du flétrissement bactérien (Chellemi *et al.*, 1993 ; J Schonfeld *et al.*, 2002).

Dans le cadre de la lutte chimique du projet « *Maîtrise du flétrissement bactérien en culture hors sol de tomate* » menée par l'ARMEFLHOR et le CIRAD, l'activité *in vitro* de différents produits désinfectants vis-à-vis de *R. solanacearum* a été évaluée (ACTION 2002). Plusieurs produits avec différentes matières actives ont été utilisés pour évaluer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et ensuite la Dose Minimale Inhibitrice (DMI).. Quatre produits ont été retenus : **SR JAVEL**, **AVDN5**, **TOMAXIL**, **DESOGERME MICROSERRE**, car ils permettent une réduction à la fois immédiate et/ou progressive de la population bactérienne, à des doses faibles ou conseillées par le fabricant. Ces quatre désinfectants sont préconisés pour diverses utilisations domestiques, agricoles ou industrielles. Une homologation est nécessaire pour la désinfection en cultures sous abris hors sol. En condition expérimentale le produit désinfectant en pastilles de chlore (dichloroisocyanure de sodium dihydrate) a montré des résultats intéressants pour la désinfection de l'eau contaminée par *R. solanacearum* en culture hors sol de tomate (Essais valorisation des résultats 2005, 2006).

### I.6.4 - La culture hors sol comme moyen de lutte par esquivé

A la Réunion, une des raisons du passage du plein champ à la culture hors sol a été la présence du flétrissement bactérien. Toutefois, comme une contamination des serres par *R. solanacearum* reste possible car la bactérie peut être véhiculée par l'eau. C'est la raison pour laquelle différentes techniques de désinfection de l'eau ont été testées entre 2002 et 2006 par l'ARMEFLHOR et le CIRAD. Ces techniques sont présentées ci-après.

## II. - LA DESINFECTION DE L'EAU DANS LES CULTURES SOUS ABRIS

### II.1 - Contexte général et législation

La gestion de l'eau dans les systèmes de culture sous abris et hors sol soulève deux problèmes distincts. D'une part, les ressources en eau doivent être de bonne qualité et ne pas contenir de germes pathogènes. D'autre part, les rejets fortement chargés en nutriments (nitrate et phosphate) sont polluants pour l'environnement et doivent être limités grâce à leur recyclage, ce qui implique nécessairement **la désinfection des effluents**. C'est dans ce cadre que la question du traitement de l'eau de drainage se pose, et par conséquent également **la méthodologie de décontamination de l'eau d'irrigation**.

Dans le cadre de la désinfection des eaux d'irrigation et des eaux de drainage recyclées par **un produit désinfectant**, le produit est mis au contact des plantes. Donc, selon la réglementation ce produit entre dans la catégorie d'un usage agricole et nécessite une homologation. Actuellement l'usage « 11016901 – Désinfection des eaux de recyclage des solutions nutritives » existe dans le catalogue « légume » mais aucun produit n'y est inscrit. (Source DGAL/SDQPV). Pour en savoir plus sur le catalogue des usages : <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>

Ce chapitre propose un examen des technologies et techniques de désinfection de l'eau en culture sous abris. Il est destiné à fournir une source d'information et un outil. Il regroupe les renseignements clés sur la conception et les coûts des installations.

### II.2 - Qualité sanitaire de l'eau d'irrigation

L'avantage de la maîtrise phytosanitaire par rapport aux cultures maraîchères en plein champ, a fortement contribué au développement des cultures hors-sol. Or, les cultures hors sol peuvent être infestées également par des agents pathogènes. Une flore microbienne peut être amenée par l'homme, les végétaux, les particules de terre et l'eau d'irrigation. Puisque la diversité des espèces présentes est plus faible et les équilibres microbiens moins stables, certaines pathologies racinaires peuvent prendre de l'ampleur.

Les solutions nutritives (eau d'irrigation + engrais) peuvent véhiculer les agents pathogènes plus efficacement que dans le sol et généraliser leur dissémination. La majorité des micro-organismes comme les bactéries, champignons, algues, protozoaires, nématodes et virus transportés par leur vecteur, possèdent des formes de développement adaptées à la vie aquatique et sont particulièrement favorisées. Le recyclage du drainage amplifie le risque par enrichissement progressif du milieu racinaire par les micro-organismes, y compris les agents pathogènes. De plus, des systèmes d'irrigation comme la sub-irrigation utilisée pour la production de plants en pot et en pépinière, augmente le risque de dissémination car l'eau est en contact avec tous les pots.



Système de sub-irrigation

**Les risques sanitaires existent donc quel que soit le système choisi (recyclé ou non) et ce malgré une vigilance et une prophylaxie importantes.**

### **1. - Source de contamination**

Les principales sources de contamination possibles sont :

- **l'environnement de la serre** (précédent cultural, plantes adventices, le sol, l'entreposage des déchets...),
- **le personnel et le matériel** (introduction des contaminants par les vêtements,
- les outils et les opérations de taille, palissage, récolte, balayage),
- **les substrats contaminés** ou de récupération,
- **les autres vecteurs** (vent, insectes, nématodes),
- **l'eau.**

Ces facteurs de risque peuvent être réduits par le respect de règles prophylactiques (paillage du sol, utilisation de pédiluves, bonnes pratiques hygiéniques...). En culture hors sol, l'eau est la première source de contamination par des agents pathogènes. Une très grande diversité dans la qualité microbiologique de l'eau est observée en fonction de son origine (eau du réseau, de forage, de pluie, de rivière). En effet l'eau d'irrigation, en particulier l'eau des retenues d'eau de pluie et/ou de rivières et l'eau de forage, peut être polluée. Une des causes de pollution provient des accidents pluviométriques qui entraînent la collecte d'eau éventuellement contaminée.

La solution nutritive en elle-même constitue un lieu privilégié de multiplication des agents pathogènes véhiculés par l'eau ou introduits par l'air, les matériels, les substrats ou l'homme. La désinfection du réseau d'irrigation peut être nécessaire pour éviter l'introduction et la propagation des agents pathogènes dans la serre. De même, les techniques de désinfection du drainage peuvent être appliquées à l'eau d'irrigation.

Les solutions nutritives sont conçues pour subvenir aux besoins des végétaux. D'autres êtres vivants peuvent coloniser ce milieu. Pour se développer, les micro-organismes hétérotrophes ont besoin d'eau, de sels minéraux et d'une source de carbone organique. Au contact de la culture, la solution nutritive s'enrichit en carbone organique provenant d'exsudats et de débris racinaires. La solution nutritive présente dans le substrat, constitue alors un milieu de culture idéal pour les micro-organismes.



## 2. Les agents phytopathogènes concernés

Le tableau dénombre quelques agents pathogènes susceptibles d'être disséminés par l'irrigation fertilisante.

Tableau Agents pathogènes cultures maraîchères		Concombre	Tomate
<b>Bactéries</b>	<i>Clavibacter michiganensis</i>		X
	<i>Ralstonia solanacearum</i>		X
	<i>Pseudomonas syringae</i>	X	X
	<i>Pseudomonas corrugata</i>		X
	<i>Xanthomonas campestris</i>	X	X
	<i>Erwinia chrysanthemi</i>		X
<b>Champignons</b>	<i>Pythium sp</i>	X	X
	<i>Phytophthora spp</i>	X	X
	<i>Fusarium oxysporium</i>	X	X
	<i>Fusarium solani</i>	X	X
	<i>Verticillium dahliae</i>	X	X
	<i>Rhizoctonia solani</i>	X	X
<b>Virus</b>	<i>Mosaïque Tomate (ToMV)</i>		X
	<i>Necrose Nervue Laitue (LRNA)</i>		X
	<i>Marbrure Concombre (MNSV)</i>	X	
	<i>Criblure du melon (MNSV)</i>	X	

(Bonnet 1999, Lemanceau 1995)

Comme nous l'avons dit dans le chapitre précédent, *R. solanacearum*, agent du flétrissement bactérien, peut être présent aussi dans le réseau d'irrigation. Les niveaux moyens de contamination bactérienne des différents éléments dans le recyclage (sans tenir compte de leur pathogénicité) sont présentés dans le tableau suivant (source Ctifl).

Tableau Contamination bactérienne moyenne des différents éléments intervenant dans le recyclage du drainage	
Solution nutritive	1000 à 10 000 bactéries/ml
Solution drainée	10 000 à 100 000 bactéries/ ml
Racines	10 millions à 100 millions de bactéries/ ml de broyat racinaire (dont 1 à 5 de <i>Pseudomonas fluorescens</i> )
Eau de réserve	1000 à 5000 bactéries / ml

Tirilly, 1998

Les conséquences technico-économiques induites par des agents pathogènes peuvent être significatives et amener à la perte de tout ou partie de la production.

## 3. L'évaluation et la gestion du risque sanitaire

Evaluer le risque sanitaire par l'identification de l'agent pathogène responsable et établir un diagnostic complet sont importants pour mettre en oeuvre la protection adaptée (itinéraire de culture, biologique, physique ou chimique). **Les analyses du système racinaire, du substrat et de la solution nutritive peuvent donner une indication de l'état sanitaire d'une culture.** Les techniques d'identification utilisées en laboratoire de phytopathologie (microbiologie et biologie moléculaire) permettent :

- d'apporter des réponses sur le type d'agent pathogène,
- d'étudier la dynamique de population des micro-organismes antagonistes introduits (dans le cas de lutte biologique),
- d'effectuer une détection qualitative du type présence/absence (test ELISA),
- de répondre en terme de caractérisation des agents pathogènes (PCR-RFLP).

A la Réunion, ces tests d'identification sont réalisés par des organismes spécialisés en diagnostic comme la FDGDON et le SPV. La recherche basée sur des techniques moléculaires, en particulier la PCR « multiplex », sont complémentaires des tests biologiques, et donneront plus de réponses sur le pouvoir pathogène des souches. Néanmoins, de nombreuses contraintes influent sur l'ensemble du processus d'évaluation, de la serre jusqu'aux résultats d'analyse. La réussite d'une analyse et la fiabilité des résultats dépendent de différents aspects comme la méthodologie et les conditions d'échantillonnage.

### **La gestion du risque sanitaire se résume en trois modalités d'action :**

**1 Mesures prophylactiques** : elles sont à appliquer pendant toutes les phases de la culture, du semis à l'arrachage des plants et entre deux cultures. Elles incluent aussi les mesures de prévention aux abords (éliminer les déchets et les adventices) et à l'intérieur de la serre (paillage, pédiluve, accès limité), et au matériel utilisé en serre.

**2 Lutte chimique** : les traitements phytosanitaires par l'eau d'irrigation sont interdits par la législation actuellement en vigueur. Dans le cas de certaines maladies racinaires comme *Pythium spp.* il est possible d'utiliser des produits qui favorisent le développement racinaire.

**3 Désinfection de l'eau** : biologique (biofiltration), chimique (ozonisation et chloration), physique (traitement thermique et UVc).

## **II.3 - Méthodes de désinfection de l'eau**

Le choix de la méthode de désinfection est fonction de différents critères :

- La qualité sanitaire de l'eau d'irrigation,
- Le type de désinfection souhaité (totale, partielle ou sélective),
- Les caractéristiques techniques de l'exploitation (taille, espace disponible),
- Le type de culture (spécialisation dans un seul produit ou production diversifiée),
- Les coûts d'investissement,
- La maintenance du matériel et la possibilité d'intervention en cas de panne.

### **II.3.1 - La désinfection biologique : la filtration lente et la biofiltration**

Le principe de base de la désinfection par **biofiltration** est la combinaison de deux processus : **La filtration lente et l'introduction de bactéries antagonistes.**

**La filtration lente** (processus biologique et mécanique) consiste au passage de la solution à désinfecter au travers une couche de sable de quartz ou de matériau similaire (céramique, pouzzolane, flocons de laine de roche). Le système laisse passer le liquide (filtrat) et retient les particules solides. Dans la partie supérieure il se forme progressivement et naturellement une peau filtrante (biofilms), biologiquement très active, constituée de bactéries antagonistes. Dans ce cas, l'activité biologique n'est pas immédiate, il faut 2 à 6 mois pour que le biofiltre devienne totalement fonctionnel. La solution filtrée est récupérée en partie basse après passage sur des lits de cailloux de différents diamètres. Il existe deux types de désinfection par filtration lente, la filtration *passive*, décrite ci-dessus, et la filtration *active*.

Dans le cas de la **filtration active**, un système d'air permet de brasser les bactéries. Ce système augmente la surface de contact entre l'eau contaminée et les micro-organismes. La croissance des bactéries antagonistes est donc stimulée. Le débit de la filtration est 400 l/h/m<sup>2</sup>. Le filtre actif est donc efficace plus rapidement que le filtre passif. Dans ce dernier un débitmètre et une pompe sont installés à la sortie du filtre. L'efficacité est garantie avec un débit de 100 à 300 l/h/m<sup>2</sup>. Ces deux types de filtrations lentes (passive et active) sont peu utilisées dans la pratique par les producteurs au profit de la biofiltration qui est efficace plus rapidement.

La **biofiltration** est une variante de la filtration lente active. Elle consiste en l'introduction de souches antagonistes (bactéries : *Pseudomonas* ; champignons : *Trichoderma*, *Pythium oligandrum*,...). Des essais sont actuellement en cours pour développer un système de filtration biologique basé sur l'enrichissement du milieu et l'introduction d'activateurs pour stimuler l'activité des micro-organismes, (INRA). Les producteurs utilisent maintenant cette technique uniquement en filtration active. Plusieurs points restent à élucider comme le comportement des biofiltres avec des températures de solution de drainage élevées. Il est également nécessaire d'acquérir des références en matière d'efficacité vis-à-vis des virus et de certaines bactéries, comme c'est le cas pour la flore antagoniste de *R. solanacearum*. En effet, des études sont encore nécessaires pour déterminer la flore antagoniste et sélectionner les souches bactériennes « utiles » pour les enrichissements des biofiltres. **C'est pourquoi, un tel type d'application est difficilement envisageable pour la désinfection de l'eau d'apport ou de drainage dans les conditions de contamination rencontrées sur l'île.**

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Efficacité sur champignons</li> <li>• Pas d'influence sur la solution</li> <li>• Utilisable avec tous les substrats</li> <li>• Procédé simple sans risque pour la culture et l'environnement</li> <li>• Faible coût de fonctionnement pour petites et moyennes entreprises</li> <li>• Coût d'investissement : 7000 - 15000</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peu d'efficacité sur virus et bactéries</li> <li>• Procédé long à monter en efficacité</li> <li>• Temps d'ensemencement long</li> <li>• Entretien de la filtration</li> <li>• Débit traitement faible (100 à 300 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/h)</li> <li>• Appareil volumineux</li> </ul>

## II.3.2 - La désinfection chimique

### II.3.2 1 - L'ozonisation

Dans la nature, l'ozone (O<sub>3</sub>) se forme à partir de l'oxygène sous l'action des rayons ultraviolets (à 185 nm). L'ozone a un fort pouvoir oxydant. Il peut être utilisé directement sur une solution de drainage à doses de 15 à 20 g d'O<sub>3</sub>/m<sup>3</sup> et avec une durée d'exposition de 3-4 secondes. Après traitement, l'eau doit être filtrée (filtre à charbon actif) pour que l'ozone en excès soit éliminé et éviter une dispersion dans

#### QU'EST-CE QUE L'OZONE ?

L'ozone est parfois appelé "**oxygène activé**". Contrairement au dioxygène que nous respirons (O<sub>2</sub>), l'ozone contient 3 atomes d'oxygène, ce qui lui confère un pouvoir désinfectant. Il se forme de façon naturelle à la surface de la planète, le plus souvent après les éclairs durant les orages. Il s'agit de cette odeur caractéristique de frais, de propre, que nous sentons après un orage. L'ozone est également produit lors des chutes de pluie.

l'atmosphère mais aussi les risques de phytotoxicité des plants. L'ozone peut être couplé au peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Ceci permet d'activer l'oxydation de l'ozone et donc la désinfection. Le peroxyde d'hydrogène permet une réduction de la dose d'ozone en excès. Dans ce cas il n'est pas nécessaire d'installer un filtre à charbon actif, raison pour laquelle cette solution est donc utilisée pour la désinfection de solutions de drainage. Compte tenu de l'instabilité de l'ozone, un ozoneur est nécessaire pour le produire sur place. L'ozone gazeux est ensuite injecté soit directement dans la solution de drainage à l'aide de mélangeur soit le drainage est mis en contact avec l'ozone ( $10g/h/m^3$ ) et le peroxyde d'hydrogène ( $0.15g/g O_3$ ) grâce à un système de deux mélangeur statiques. Ce système présente une bonne efficacité bactéricide et virucide, il est d'entretien facile mais il nécessite une bonne connaissance technique surtout pour les aspects liés à la sécurité. Une assistance est indispensable. L'ozonisation n'est pas une méthode préconisée pour la désinfection de l'eau à la Réunion principalement en raison de son coût d'investissement par rapport à la surface moyenne des exploitations agricoles sous abris, mais aussi à cause des contraintes liées à la sécurité.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Efficacité sur les principaux pathogènes (bactéries, champignons)</li> <li>• Augmentation de la teneur en <math>O_2</math> dans la solution (non quantifié)</li> <li>• Pas d'abaissement du pH avec couplage <math>O_3/H_2O_2</math></li> <li>• Aucun effet sur l'environnement</li> <li>• Absence de toxicité pour les plants</li> <li>• Débit élevé disponible</li> <li>• Adapté à tous les types de substrats</li> <li>• Faible encombrement de l'équipement</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elimination indifférenciée de la flore antagoniste et pathogène</li> <li>• Efficacité moyenne sur les virus</li> <li>• Diminution des teneurs de fer (de 5 à 30 %) soluble et de manganèse (10 à 15%) liée à la déstabilisation des chélates</li> <li>• Absence de contrôle de l'efficacité du système</li> <li>• Aspects liés à la sécurité du système : exige une parfaite étanchéité pour éviter les fuites d'ozone dans l'atmosphère</li> <li>• Assistance rapide en cas de panne</li> <li>• Coût d'investissement : 20 000€ – 38 000 €</li> </ul>

### II.3.2 2. La chloration

Le chlore est l'un des désinfectants le plus utilisés pour la désinfection de l'eau. Il a été utilisé pour des applications comme la désactivation des organismes pathogènes dans l'eau destinée à la consommation (dans le réseau de distribution, il est ajouté en moyenne 0,1 - 0,2 milligramme de chlore par litre d'eau), dans les piscines, et dans les eaux usées. **La chloration est efficace contre la plupart des bactéries, et dans une moindre mesure contre les virus et contre les parasites.** Les principaux produits chlorés utilisés en désinfection des eaux sont le **chlore gazeux** et le **chlore liquide** : hypochlorite de sodium (ou eau de Javel).

**Compte tenu de la législation, seule l'utilisation du chlore gazeux est permise pour la désinfection de la solution de drainage en culture hors sol. Toutes les informations qui concernent le chlore liquide sont à interpréter comme des notions de connaissance générale.**

Dans le cadre du projet « *Maîtrise du flétrissement bactérien en culture hors sol de tomate* », nous avons effectué une étude pour évaluer l'efficacité bactéricide vis-à-vis de *R. solanacearum* du **chlore en pastilles solubles** à base dichloroisocyanure de Sodium dihydraté. En effet, *in-vitro*, ce produit a montré une réduction immédiate de la population bactérienne dans l'eau à partir d'une DMI de 30 ppm, par rapport à l'eau de Javel qui n'a exprimé son pouvoir désinfectant qu'après seulement 1 heure de contact à la même dose de 30 ppm, quel que soit le degré chlorimétrique ( $9^\circ$  ou  $18^\circ$  chl). (ACTION 1, 2002).

Les propos qui suivent visent à apporter des éléments aux serristes sur les travaux conduits sur le pouvoir désinfectant du chlore et ses inconvénients. Les solutions désinfectantes à base d'eau de Javel ou de dichloroisocyanure de Sodium dihydraté peuvent être utilisées pour le nettoyage de cuves, des surfaces, des matériaux et de la tuyauterie, des opérations conduites en absence de plants. (Tableau dose et usage en ANNEXE).

## 1. Le principe de base et le mode d'action sur les agents pathogènes

**Le chlore** est un oxydant de la matière organique. Le chlore tue les organismes pathogènes tels que les bactéries et les virus en cassant les liaisons chimiques de leurs molécules. Le Chlore ( $\text{Cl}_2$ ) en milieu aqueux forme l'acide hypochloreux ( $\text{HClO}$ ), et du chlorure ( $\text{Cl}^-$ ).



**L'acide hypochloreux est la forme la plus efficace en terme de désinfection.** Cette réaction est fonction du pH et de la température. Le pouvoir désinfectant peut donc varier en fonction de l'acidité de la solution, de la température mais aussi de la teneur en matière organique en suspension. En effet, des molécules complexes comme les acides humiques sont oxydés très lentement, ce qui entraîne une demande en chlore actif libre pendant plusieurs heures.

## 2. Efficacité germicide

**Les facteurs qui déterminent l'efficacité de la désinfection au chlore sont : les concentrations en chlore, le temps de contact, la température, le pH, le nombre et le type de micro-organismes, et la concentration en matière organique dans l'eau.**

La réaction obtenue avec l'eau de Javel (hypochlorite de sodium) conduit aussi à la formation d'acide hypochloreux :



**L'acide hypochloreux ( $\text{HClO}$ ) et le chlore gazeux constituent le chlore libre actif.**

Toutes les formes de chlore libre ont un pouvoir oxydant. L'acide hypochloreux est la forme la plus désinfectante, avec une action germicide 100 fois plus importante que l'ion hypochlorite et 500 fois plus importante que les chloramines.

La dénomination adoptée est la suivante :

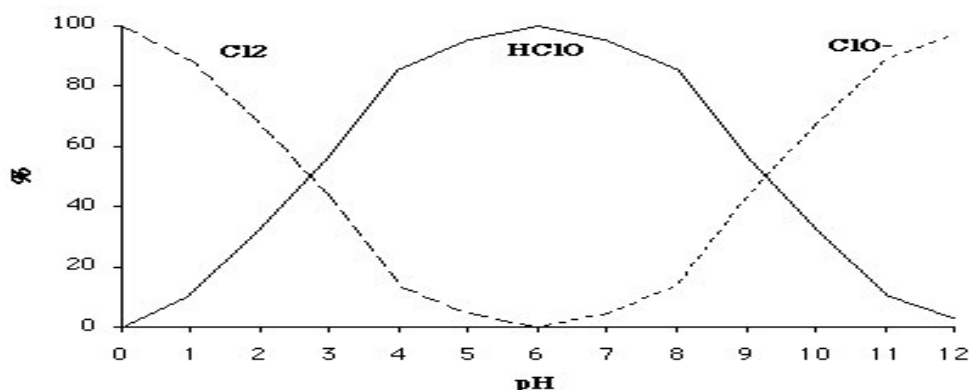
- **chlore libre** :  $\text{Cl}_2$  (Chlore),  $\text{HClO}$  (l'acide hypochloreux),  $\text{ClO}^-$  (ion hypochlorique) ;
- **chlore libre actif** :  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{HClO}$  ;
- **chlore combiné ou lié** : chloramine minérale ( $\text{NH}_2\text{Cl}$ ,  $\text{NHCl}_2$ ,  $\text{NCl}_3$ ) ou organique ( $\text{R-NCl}_2$ ).

**La dose et l'état du chlore en solution déterminent son pouvoir désinfectant.**

a) *Hypochlorite de Sodium (eau de Javel)*

**Les solutions d'hypochlorite ont une composition dépendante du pH.**

Les équilibres chimiques sont représentés dans le graphe suivant :



Evolution du chlore en fonction du pH

Source : J.N. Joffin B. Chevalie ; 2004

La stabilité des solutions n'est donc pas parfaite.

Les extraits de Javel sont très instables et évoluent rapidement avec une perte importante de degré chlorométrique et une formation de chlorate de sodium. La concentration industrielle de l'eau de Javel est exprimée en **degrés chlorométriques**.

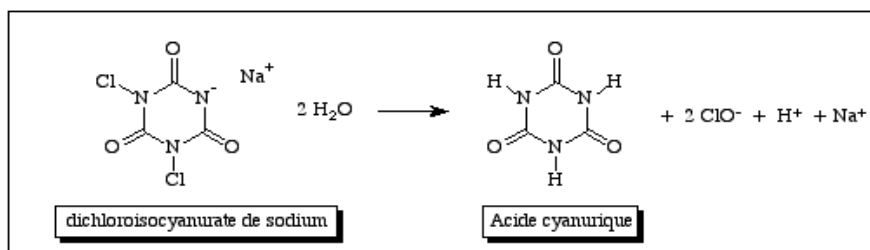
**1 degré chlorométrique correspond à 3.17 g par litre de chlore actif disponible.**

Sur les emballages on trouvera l'expression suivante :  
36 °chl correspondent à 9,82 % de chlore actif mais on ne pourra pas en déduire qu'1° chl correspond à 0,27 % de chlore actif car il n'y a pas proportionnalité  
Il faut donc connaître la relation entre masse volumique et concentration pour convertir °chl en % qui de plus, peut varier selon les matières premières utilisées

12,5 % = 48°chl. : masse volumique = 1,216 kg.dm-3  
9,82 % = 36°chl. : masse volumique = 1,162 kg.dm-3  
3,61 % = 12°chl. : masse volumique = 1,054 kg.dm-3  
2,74 % = 9°chl. : masse volumique = 1,040 kg.dm-3

#### b) Pastilles de dichloroisocyanurate de sodium

Les comprimés de chlore, utilisés dans les essais de l'ARMEFLHOR, sont des **pastilles de dichloroisocyanurate de sodium** réagissant avec l'eau pour donner de l'hypochlorite et de l'acide cyanurique selon la réaction suivante (que l'on peut évidemment écrire sous d'autres formes en fonction du pH) :



(formule : catalogue Aldrich-Sigma)

**Ces pastilles présentent l'avantage d'une meilleure stabilité au stockage.**



### c) Le chlore gazeux

**Le chlore gazeux** injecté dans l'eau est transformé en chlore libre. La diminution du pH de cette réaction est favorable à l'action germicide. **Le chlore a ainsi une action directe.**

### 3. Aspects liés à la sécurité

Puisque les extraits de Javel sont très instables, il sera nécessaire :

- **de vérifier la date de fabrication auprès du fabricant,**
- **d'éviter d'avoir des stocks d'eau de Javel diluée dépassant 3 mois de consommation,**

#### L'hypochlorite de sodium (eau de Javel) est instable.

Le chlore s'évapore à un taux de 0.75 g de chlore actif par jour depuis la solution. Alors l'hypochlorite de sodium chaud se désintègre

l'eau de Javel se détruit de quatre façons :

- par carbonatation par le dioxyde de carbone de l'air qui provoque une diminution du pH.
- par effet de la lumière.
- par action de l'hypochlorite sur les impuretés provenant de l'emballage ou de l'eau de dilution.
- par décomposition naturelle dépendant de la température et de la concentration. Une augmentation de 5° C accélère la vitesse de la réaction de décomposition par 2.

- **de stocker l'eau de Javel dans un local frais, à l'abri de la lumière** (utiliser des cuves noires opaques) **différent de celui des engrais.** En effet, des **mélanges très explosifs** avec des produits comme **l'ammonitrate ou l'acide nitrique** pourraient se produire.

**Des précautions doivent être prise selon la forme du chlore.** En effet le chlore est un **gaz très réactif**, très corrosif et toxique, il peut même être mortel. Quand le gaz chlore est respiré, les poumons se remplissent de fluide, provoquant l'asphyxie des personnes. Lorsqu'il est transporté, stocké ou utilisé, des mesures de précaution doivent être prises : l'utilisation d'un masque à gaz avec une cartouche adaptée est indispensable. Il est nécessaire de stocker la bouteille de chlore dans un caisson adapté à l'extérieur des bâtiments.

### 4. Chloration et phytotoxicité

La différence entre la concentration nécessaire pour obtenir un effet désinfectant sur les pathogènes et celle nuisible à l'appareil racinaire et au développement des plants est minime. Plusieurs expérimentations ont montré **un effet phytotoxique** suite à chloration avec du **chlore liquide dosé à 30 ppm**. Dans le cadre de nos expérimentations (ACTION 2 : Essai phytotoxicité, 2003; compte rendu en ANNEXE), nous avons constaté un effet phytotoxique de l'eau de Javel injectée dans l'eau d'apport à 1 % , à une dose de 60 ppm, soit le double de la DMI.

Les symptômes se caractérisent par une réduction de la surface foliaire associée à une couleur vert/jaune des feuilles et à une décoloration blanchâtre des nervures (cf. photo). Par la suite, une crispation importante des feuilles apparaît entraînant une diminution du rendement et un blocage de la croissance. Ces symptômes apparaissent notamment après des fortes chaleurs et donc suite à de fortes consommations en eau par les plantes.



*Effet phytotoxique du Chlore sur feuilles  
(eau de Javel 30 ppm )*

**Le chlorate de sodium présent dans l'eau de javel semble être responsable de l'effet phytotoxique.** En effet, il a été montré que dans des conditions climatiques particulièrement chaudes, un stockage prolongé entraîne une diminution du degré chlorométrique et une augmentation du chlorate de sodium (CTIFL, 2002). De plus, il semble que le chlorate de sodium soit retenu par les substrats et absorbé par les plants.

Pour limiter les risques de phytotoxicité liés à la présence en excès de chlore résiduel, **il est nécessaire de privilégier, dans ce cas, des temps de contact entre le chlore et les eaux à traiter de plusieurs heures.**

Concernant les pastilles de **dichloroisocyanurate de sodium**, dans les essais valorisation saison froide (60 ppm et 30 ppm) et les essais de phytotoxicité, les plants n'ont pas subi d'effet phytotoxique. Par contre, en période chaude et à la dose de 60 ppm, nous avons observé des symptômes de phytotoxicité évidents (Essai valorisation saison chaude I, 2005, compte rendu en ANNEXE).



*Effet phytotoxique du chlore dosé à 60 ppm (pastilles de dichloroisocyanurate de sodium) en saison chaude (2005)*

A la dose de 30 ppm, l'effet phytotoxique observable sur le plant s'est estompé au fur et à mesure que la température a diminué. Cependant aucun effet sur le développement physiologique des plants et sur le rendement n'a été relevé (Essai valorisation saison chaude II, 2006). (Comptes rendus en ANNEXE).

## **5. Mise en oeuvre de la désinfection**

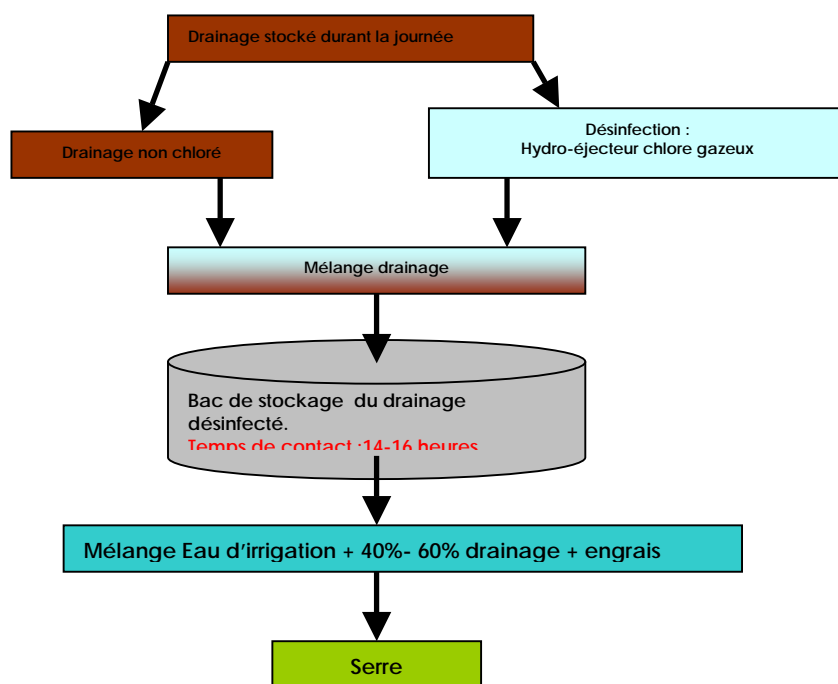
La mise en œuvre de la chloration est variable en fonction des produits utilisés. Comme nous l'avons déjà dit, puisque seul le chlore gazeux peut être utilisé pour la désinfection de l'eau d'irrigation ou de drainage, nous ne sommes pas en mesure de pouvoir faire des préconisations avec le chlore liquide pour cet usage.

a) **Le chlore gazeux** est conditionné en bouteille. La mise en œuvre de la désinfection est montrée dans le schéma suivant :

(Gestion des effluents Ctifl 2002)

Il est nécessaire de:

- mesurer la demande en Cl pour fixer la dose d'apport,
- favoriser le contact long,
- contrôler avant et après les différentes formes de chlore (libre, totale...) avec alarmes
- effectuer une injection finale systématique d'ammonium dans la solution nutritive (0.2meq/l  $\text{NH}_4$ ) pour neutraliser le chlore actif résiduel,
- Effectuer un entretien et un contrôle régulier du matériel.



*Schéma de mise en œuvre de la chloration ( chlore gazeux)*

## b) Le chlore liquide

Il existe dans le commerce sous deux formes : eau de Javel et pastilles solubles. Dans le cadre de nos essais vis-à-vis de *R. solanacearum*, nous avons choisi les pastilles de dichloroisocyanurate de sodium **utilisées** pour la désinfection des piscines, des locaux et comme produit ménager. La mise en œuvre de la chloration de la solution d'apport a été effectuée avec une pompe doseuse volumétrique permettant d'injecter le produit chloré proportionnellement au débit de l'eau à traiter. Selon le protocole expérimental, la dose de chlore, injecté à 1 %, a été évaluée pour obtenir 30 ppm au niveau des plants à chaque irrigation, et tenait compte de 30 % de perte de chlore injecté due au drainage. Par contre, dans le cadre des essais sur le recyclage de solution nutritive conduits par l'ARMEFLHOR depuis 2002, le drainage a été désinfecté à une dose de 30 ppm de chlore injecté avec une pompe à chlore avec un compteur à impulsion. Dans ce cas, le drainage avait été stocké durant la journée pour favoriser une décantation. Ensuite la chloration a été réalisée en fin de journée pour être ensuite mélangée avec la solution neuve. Les réactions de chloration sont réalisées dans le bac de stockage du drainage chloré à l'abri de la lumière. (Nombre pastilles nécessaire pour la désinfection d'un réservoir d'eau, voir tableau en ANNEXE).



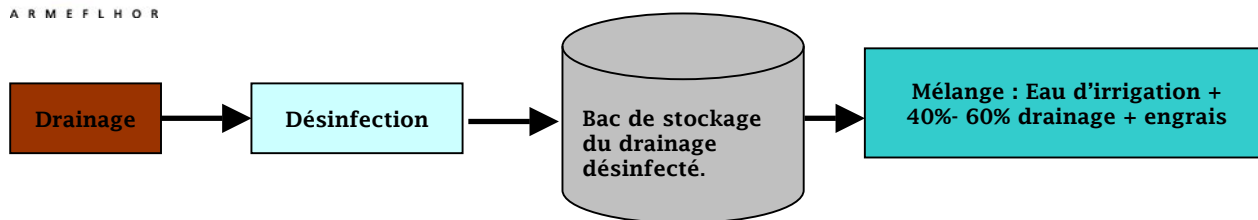


Schéma d'une installation avec recyclage

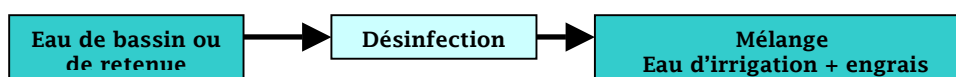


Schéma d'une installation sans recyclage

Nous rappelons qu'il s'agit de résultats expérimentaux et non des préconisations car le chlore liquide n'est pas homologué pour la désinfection des eaux en culture sous abris. Cependant, comme nous l'avons démontré dans nos expérimentations, cette solution reste potentiellement valable comme méthode de prévention contre le flétrissement bactérien. Toutefois, ce procédé nécessiterait des études additionnelles pour évaluer le niveau de chlore libre résiduel dans l'eau et dans le substrat afin d'éviter les excès, et un approfondissement de la conduite de la fertilisation.

## 6. Coûts

Coûts (donnés à titre indicatif)				
Investissement pour une installation traitant 2 à 6 m <sup>3</sup> /h			Fonctionnement pour une installation traitant 2 à 6 m <sup>3</sup> /h	
Chlore gazeux Cl <sub>2</sub>	Pastilles de chlore		Chlore gazeux Cl <sub>2</sub>	Pastille chlore (injection 1% de chlore)
	Pompe doseuse hydraulique ou électrique			
5000 à 6100 €	300 ou 600€		10.6 €/m <sup>3</sup>	50 € /kg soit 15€ /m <sup>3</sup>

## 7. Avantage et inconvénients

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>Coûts d'investissement et de fonctionnement peu élevés</li> <li>Large spectre germicide</li> <li>installation facile</li> <li>Action rapide (chlore gazeux)</li> <li>Aucun effet sur les chélates de fer</li> <li>Faible impact sur l'environnement (chlore gazeux)</li> <li>Utilisation de l'eau de Javel pour nettoyage et désinfection du système de tuyauterie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Le chlore liquide nécessite une autorisation dans le cadre de la procédure normale d'homologation.</b></li> <li>Réaction avec la matière organique en suspension</li> <li>Pouvoir germicide inférieur à celui de l'ozone</li> <li>Risque de phytotoxicité pas encore complètement élucidé par les études</li> <li>Faisabilité technique sur d'autres cultures pas encore prouvée</li> <li>Influence du pH sur l'efficacité désinfectant</li> <li><b>Accumulation de sodium apportée par l'eau de Javel</b></li> <li>Contrôles stricts obligatoires (chlore gazeux)</li> <li>Stockage du drainage avant et après chloration pour permettre un temps de contact et stabiliser la réaction</li> <li>Toxique (chlore gazeux)</li> <li>Risque de corrosion des équipements en métal (chlore liquide)</li> </ul>

## II.3.3 - La désinfection physique

### II.3.3.1. - La thermo-désinfection

Cette méthode était la plus utilisée dans le nord de l'Europe avant le développement de l'utilisation des rayons ultraviolets. La solution nutritive est pasteurisée (augmentation de la température à 95° C pendant 30 secondes) lors de son passage dans un échangeur thermique. A cette température, tous les agents pathogènes sont éliminés. L'efficacité sur les différents organismes (virus, bactéries, champignons) dépend de la température et de la durée du traitement. Le traitement thermique de la solution est précédé d'une acidification à pH = 4.5 pour éviter les dépôts de calcaires et d'une filtration (75 µm) des débris organiques. Le pH est réajusté au niveau de la station de fertilisation. La solution de drainage est préchauffée à 90° C dans l'échangeur thermique puis passe dans le circuit de chauffage pour un traitement régulé à 95° C minimum pendant 30 secondes. L'eau est ensuite refroidie (25-30° C) à partir du premier échangeur par un transfert d'énergie entre la solution désinfectée et la solution à désinfecter. Cette méthode permet de traiter de 2 à 15m<sup>3</sup>/h. Son efficacité varie en fonction du substrat utilisé. En effet, la désinfection est moins efficace avec des substrats riches en matière organique (tourbe). Les inconvénients de ce traitement sont d'une part la consommation d'énergie et d'autre part la réduction de la quantité d'oxygène dans l'eau d'écoulement. Le coût d'investissement est compris entre 18.000 et 24.800 € pour des serres de 15.000 m<sup>2</sup> avec un débit de traitement de 2-3m<sup>3</sup>/h (CTIFL, 2002).

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Efficacité sur la microflore totale</li> <li>• Aucun effet sur l'environnement</li> <li>• Absence de toxicité pour les plants</li> <li>• Débit élevé disponible</li> <li>• Contrôle automatisé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Augmentation de la température d'arrosage (5°C)</li> <li>• Vide sanitaire propice à une recontamination</li> <li>• Appareil volumineux nécessitant une montée en pression du réseau</li> <li>• Entretien de la filtration</li> <li>• Coût de fonctionnement et d'entretien élevé : Coût énergétique (chaudières au gaz naturel),</li> <li>• Adapté à des grandes exploitations</li> </ul>

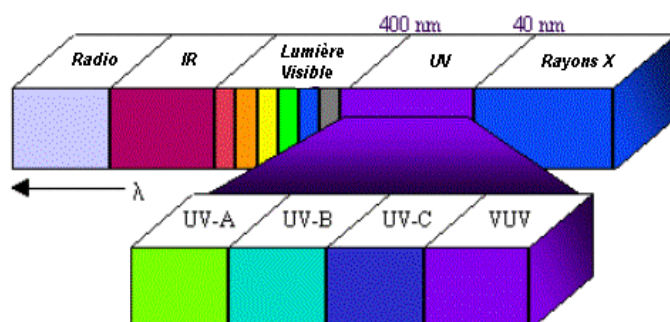
### II.3.3. 2. - La désinfection par irradiation aux ultraviolets

Le rayonnement UV est utilisé pour désinfecter l'eau, l'air, ainsi que les surfaces solides contaminées par des micro-organismes. La stérilisation de l'eau par UV a été abordée dès 1910. Ce n'est qu'à partir des années 70 qu'elle s'est effectivement développée. Le CTIFL a mené un travail important sur le fonctionnement et la mise en œuvre de la désinfection aux UV dans le cadre du recyclage en culture hors sol.

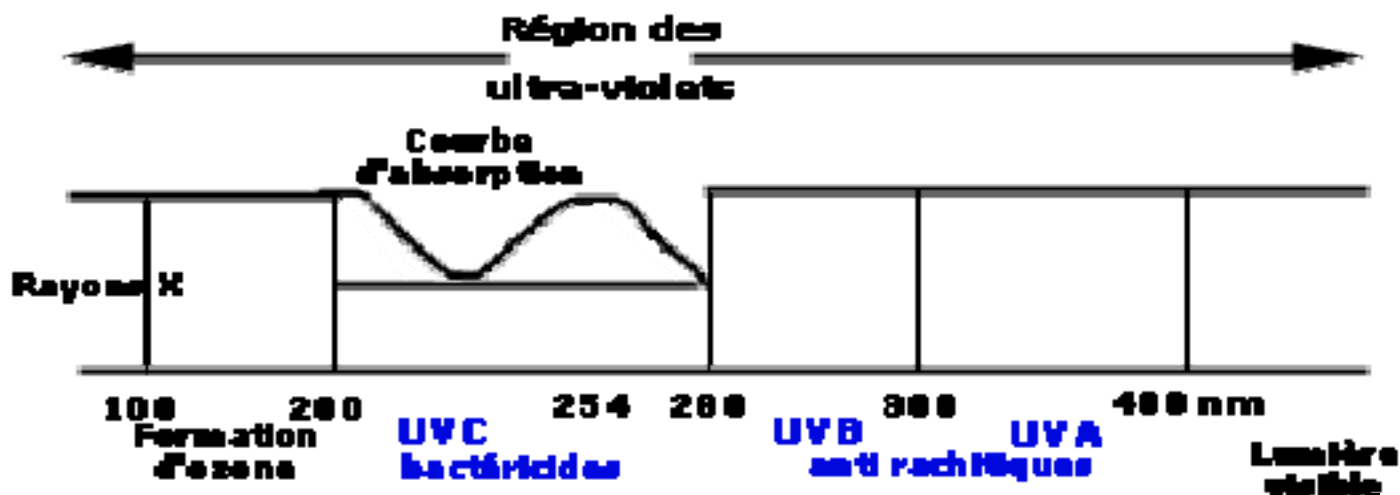
#### 1. Principe de base et le mode d'action sur les pathogènes

Les rayons UV sont des ondes électromagnétiques. Le spectre de la lumière UV se divise en 3 parties :

- spectre **UVa** : de 315 à 400 nm  
(Effet de pigmentation sur l'homme)
- spectre **UVb** : de 280 à 315 nm  
(Effet antirachitique sur l'homme)
- spectre **UVc** : de 180 à 280 nm  
(Effet germicide formation d'ozone à 185 nm)



## Spectre des UV et leurs différents effets



L'action stérilisante est due à la perturbation apportée par le rayonnement ultraviolet dans la structure chimique des constituants de la cellule vivante, et par la suite, de leur fonctionnement. La courbe d'absorption de l'ADN (acide désoxyribonucléique), support de l'information génétique dans le noyau des cellules, pour des longueurs d'onde comprises entre 200 et 285 nm met en évidence un pic à la longueur d'onde de 253.7 nm.

**Le meilleur effet bactéricide est obtenu pour des longueurs d'onde entre 250 et 260 nm.**

Suivant la quantité d'énergie UV reçue, la cellule vivante sera soit stérilisée (effet bactériostatique) soit détruite (effet bactéricide). L'effet bactériostatique dans le cas d'une absorption modérée d'énergie UV, permet à la cellule de continuer à vivre, mais sans avoir la possibilité de se reproduire. Cette cellule est donc condamnée à disparaître. L'effet bactéricide, dans le cas d'une absorption d'énergie supérieure à une certaine dose, permet la destruction de la cellule.

L'action antibiotique des rayons UV est d'autant plus importante que la structure des organismes visés se rapproche d'une structure monocellulaire. Les champignons, bactéries et virus, et dans une moindre mesure les algues, sont particulièrement sensibles.

Deux types de lampes existent : lampes basse pression et haute pression. :

- le système UV basse pression : 254 nm fixe,
- le système UV haute pression : 200 à 300 nm.

## 2. Efficacité germicide

### a) Principe

Le principe de base, connu depuis le début du siècle, bénéficie aujourd'hui de matériaux nouveaux (lampes à haut pouvoir germicide et chambre d'irradiation à haut coefficient de réflexion), et d'une maîtrise totale des paramètres annexes de fonctionnement (environnement, débit, application).

Le stérilisateur UV a pour principe de générer des rayons ultraviolets au sein d'une chambre de traitement. Ces rayons inactivent les cellules vivantes contenues dans le liquide traversant l'appareil. **Les rayons UVC sont produits par des lampes à vapeur de mercure qui émettent à la longueur d'onde de 254 nm**, très proche de la longueur d'onde de 253.7 nm à haut pouvoir germicide.



La dose d'exposition **D** nécessaire à la désinfection dépend de la puissance germicide des lampes, de la densité optique (ou de la transmission) de la solution et du temps d'exposition. Elle est calculée par :

○ *Loi de Lambert Beer :*

$$D = P/S * 10^{(-DO*lm) * t}$$

**D** = dose d'exposition en  $\mu\text{Watt.s/cm}^2$  avec D/1000 : dose d'exposition en  $\text{mJ/cm}^2$  ;

**P** : Puissance germicide de la source UV, donc de la (les) lampe (s) en  $\mu\text{Watt}$  ;

**S** : surface de réception en  $\text{cm}^2$  ;

**DO** : densité optique d'une lame de solution de 1 cm pour un rayonnement de 254 nm ;

**Lm** : épaisseur de la lame d'eau en cm ;

**t** : temps d'exposition d'un élément de volume en seconde .

○ *A partir de la transmission T en % :*

$$D = P/S * (T/100)^{lm*t}$$

Il est possible de déterminer la **quantité d'UV nécessaire (Q)** afin de détruire les différents micro-organismes : cette quantité déterminant le dosage à effectuer **est fonction de l'intensité du rayonnement (exprimée en microwatts), du temps d'exposition (en seconde) et de la surface d'échange ( $\text{cm}^2$ )** :

$$Q = \text{Intensité} \times \text{Temps d'exposition} \times \text{surface de contact millijoules/cm}^2 (\text{mJ/cm}^2)$$

Source : Le recyclage de l'eau dans l'horticulture sous serres, Lenntech

Une exposition courte avec une forte intensité est donc équivalente à une exposition plus longue avec un rayonnement moins intense. La dose minimale légale selon la circulaire du 19/01/87 de la Direction Générale de la Santé est de  $25 \text{ mJ/cm}^2$  pour une eau de consommation (eau potable).

b) Dose germicide

### Résultats du CTIFL

Pour l'usage agricole sur la solution de drainage, en UV basse pression, les doses d'exposition appliquées varient de  $120$  à  $150 \text{ mJ/cm}^2$  d'après les préconisations du Ctifl vis-à-vis des pathogènes les plus fréquemment détectés dans les eaux d'irrigation.

Doses UV à appliquer en désinfection en fonction des agents pathogènes ( UV basse pression- Transmission =20%) (Ctifl, 2002)	
Dose d'exposition ( $\text{mJ/cm}^2$ )	Actions sur les micro-organismes
90	Efficacité pour la majorité des pathogènes dont <i>Pythium aphanidermatum</i>
100	Elimination des <i>Fusariumspp</i>
600	Elimination du <i>Verticillium spp</i>
250	Elimination optimale des micro-organismes y compris les virus (dont TMV)
150	Désinfection assurée de la solution nutritive

### Résultats de l'ARMEFLHOR

Les travaux du Ctifl ont été réalisés dans les conditions où *R. solanacearum* était absent. Les travaux réalisés à la Réunion ont permis de montrer que la décontamination par rayonnement aux UVc est un moyen efficace à certaines puissances germicides et pour des niveaux de contamination déterminés (mise en œuvre développé dans le chapitre III). Les résultats montrent que le pouvoir germicide des UVc est fonction de la charge bactérienne et de la souche présente dans l'eau d'irrigation :

- à concentration bactérienne considérée comme faible (103 ufc/ml), les lampes UVc sont efficaces à partir de 60 mJ/cm<sup>2</sup> ;
- à la concentration bactérienne de 10<sup>5</sup> ufc/ml, l'efficacité des lampes UVc est quasi-totale, même si le passage de quelques bactéries dans l'eau reste un événement possible même après une dose germicide élevée (240-360 mJ/cm<sup>2</sup>) ;
- à concentration bactérienne plus élevée (10<sup>7</sup> ufc/ml) l'efficacité est réduite. (ACTIVITE BACTERICIDE DES U.V.c VIS à VIS de *R. solanacearum*, 2005, compte rendu en ANNEXE).

Pour ce qui concerne la désinfection de **l'eau de drainage**, l'efficacité des lampes est fonction de la turbidité et de la coloration du drainage. En effet nous avons constaté que, quand un drainage est «coloré» ou trouble, même après passage à travers les filtres, l'efficacité est fortement compromise. Il est donc recommandé de ne pas réutiliser l'eau de drainage en début de culture dans un substrat comme la fibre de coco et en dans tous les cas de mélanger l'eau de drainage avec de l'eau claire avant passage aux UV.

### 3. Influence sur la solution nutritive

La désinfection par UVc détruit les chélates de fer et conduit à une diminution du fer assimilable et à un dépôt d'oxyde de fer sur le quartz des lampes. Cet aspect est particulièrement important dans un système impliquant la réutilisation des eaux de drainage (circuit fermé). L'étude menée par le Ctifl de Carquefou (1997) a montré que la consommation en fer par un système recyclé avec désinfection UVc est estimée à 10 kg/ha par rapport à 6.5 kg/ha dans une conduite témoin. La teneur en manganèse diminue également. Le cuivre et le zinc se lient aux chélates libres, ce qui conduit à une augmentation de leur concentration en solution à l'état de chélates et ils deviennent alors indisponibles pour les plantes. **L'apport complémentaire en fer peut être effectué après désinfection indépendamment des autres oligo-éléments.**

### 4. Mise en oeuvre de la désinfection

Les informations données ici concernent les caractéristiques générales des stérilisateur UV pour la mise en œuvre du traitement du drainage dans le cadre de recyclage du drainage en culture en hors sol. La problématique de la désinfection de l'eau d'apports et les solutions recommandées sont traités en détail par la suite. Un appareil de traitement UV se compose d'une ou plusieurs lampes placées dans des gaines de quartz pour être isolées thermiquement de l'eau. Ces lampes peuvent être assemblées dans un tube cylindrique (appareil de type fermé) ou dans un canal (appareil de type ouvert). Dans les deux cas l'eau circule, au voisinage des lampes, en couches fines car les rayons UV sont rapidement absorbés par l'eau.

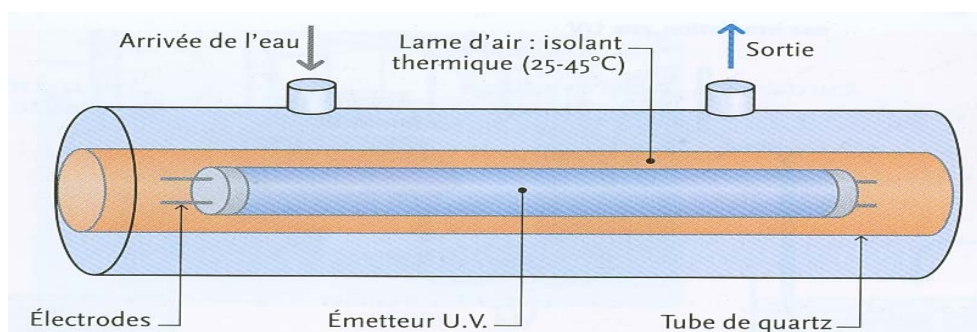


Schéma d'un stérilisateur UV (Source : Ctifl,2002)

L'énergie consommée par la désinfection varie en fonction de l'absorption du rayonnement par l'eau à traiter (turbidité, présence de métaux, matières organiques...). L'efficacité obtenue varie entre 90 et 99,99 % suivant la durée d'exposition de l'eau à traiter au rayonnement (cf. schéma installation).

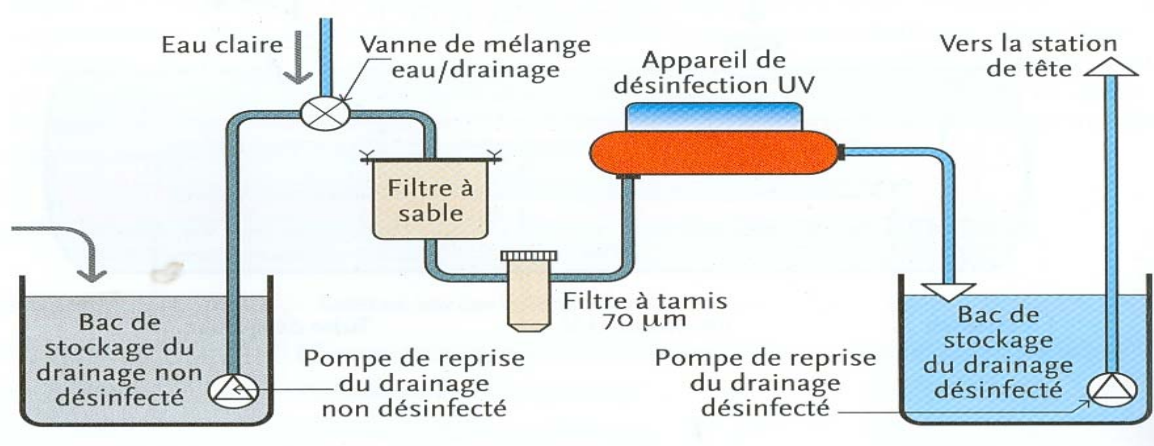


Schéma d'une installation de désinfection UV des eaux de drainage en circuit fermé (Source Ctifl, 1997)

Les performances du traitement dépendent des caractéristiques de l'eau à traiter (opacité de l'eau, ions minéraux dissous (Fe, Mn...), alcalinité...). Il est recommandé **de filtrer l'eau ou le mélange sur filtre à sable et ensuite sur un filtre à tamis à 70 µm**, en amont du stérilisateur afin d'éliminer les débris de matières qui peuvent absorber les rayons UV ou les réfléchir mais aussi protéger les micro-organismes. **La filtration est d'autant plus importante** lors de la désinfection du drainage des cultures en hors sol afin d'assurer la destruction complète des agents pathogènes en maintenant **un taux de transmission T supérieur à 20 %**. Dans un circuit fermé **le drainage peut être mélangé à de l'eau claire avant le traitement désinfectant** pour passer ensuite à la fertilisation. (cf. schéma installation)

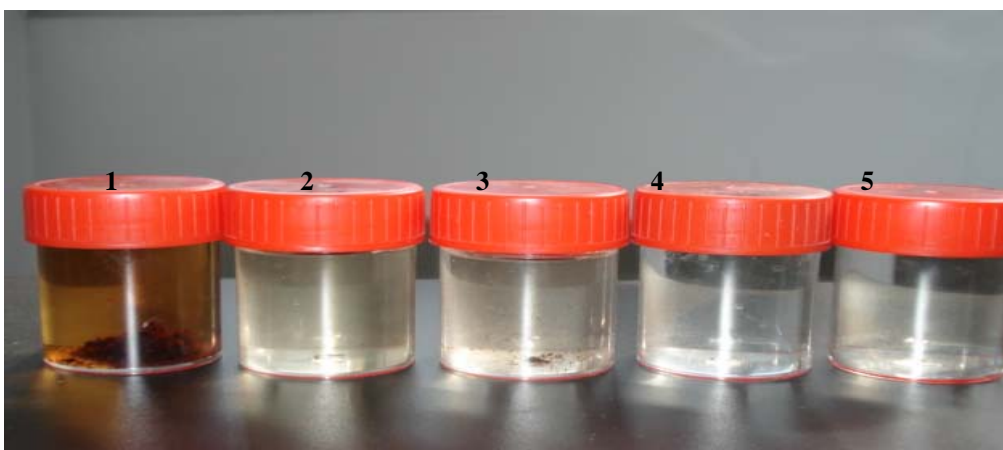
Dans le cas de la désinfection de la solution de drainage, la connaissance de la valeur de transmission T est très importante pour déterminer la dose germicide réellement appliquée. **Plus la valeur de transmission est basse, plus la dose germicide diminue**. Cette valeur est fonction de :

- *La nature du substrat* : laine minérale T = 30-40 % ; substrat organique T = 15-60 % ; **Fibre de coco après lessivage, T = 5 %**
- *La teneur en chélates de fer* : il est préférable de ne pas dépasser un niveau en fer de 1.3mg/l dans la solution de drainage
- *L'état de salissure des tubes*, par dépôt d'oxyde de fer (**nettoyage**: rinçage à l'acide nitrique (58 %) dilué dans l'eau à 50 % ou à l'acide citrique pour obtenir un pH de la solution de 3, pendant 15 à 30 minutes, puis rinçage à l'eau claire).

**Si l'on cherche à maintenir une dose d'exposition efficace, en dessous d'une transmission de 20 % la consommation d'énergie nécessaire peut être importante.**

Il est conseillé :

- *De diminuer le débit de traitement et donc d'augmenter le temps d'exposition*
- *D'ajouter de l'eau claire (60 % d'eau d'apport pour 40 % d'eau de drainage) afin d'amener le taux de transmission à 20 % , mais les volumes à traiter seront plus importants*
- *D'éviter de désinfecter le drainage issu des premières semaines de culture sur le substrat en fibre de coco trop chargé*
- *D'augmenter la puissance des lampes ou le nombre de lampes*



*Evolution de la turbidité de l'eau de drainage issue d'un substrat en fibre de coco après plantation (1 : 1<sup>re</sup> semaine ; 2 : 3<sup>ème</sup> semaine ; 3 : 5<sup>ème</sup> semaine ; 4 : 7<sup>ème</sup> semaine ; 5 : 9<sup>ème</sup> semaine) (photo : A. Cariglia)*

La conception du réacteur est fondamentale pour obtenir de bons résultats. L'eau pénétrant dans la chambre d'irradiation ne doit pas contenir une quantité élevée de matière en suspension, de façon à ce que les micro-organismes ne puissent pas être protégés du rayonnement. **Le débit d'eau doit être en adéquation avec la puissance de la lampe.** Un design optimum de la chambre d'irradiation garantit un traitement uniforme de l'eau, grâce à une exposition maximale et homogène.

## 5. Choix des lampes à haute pression (HP) et à basse pression (BP) : les caractéristiques techniques

Critères permettant de choisir entre les systèmes à lampes haute pression (HP) et à basse pression (BP)	
Avantages	Inconvénients
UV BP	
Adapté aux petites unités car pas de débit minimum nécessaire	Faible puissance de lampes (115 à160 W)
Bon rendement des lampes : 25 à 30 % de l'énergie électrique est convertie en rayonnement voisin de 254 nm	Nécessité de monter plusieurs lampes BP pour avoir la même dose d'UV qu'en HP
Pour un niveau de désinfection de 99,9 % le système BP consomme 40 % d'énergie en moins que le HP	
Destruction moins important des chélates de fer : 0 à 3 % à 100 mJ/cm2, 20 à 40 % à 250 mJ/cm2	
UV HP	
Puissance des lampes élevée	Faible rendement des lampes : 10% de l'énergie électrique est convertie en rayonnement voisin de 254 nm
Possibilité de faire varier la puissance en fonction de la transmission	Durée de vie des lampes faible (2500 heures) et coût unitaire plus élevé
	Destruction importante des chélates de fer (70 % à 100 mJ/cm <sup>2</sup> ; 90 % à 250 mJ/cm <sup>2</sup> )

Source : Ctifl 2002

POINT CLEFS DE LA MISE EN ŒUVRE
Si le taux de <b>transmission T est inférieur à 20 %</b> , une adaptation du débit, de la puissance fournie, ou la mise en œuvre du mélange solution de drainage-eau claire avant le début du traitement devra être réalisée
<b>Filtration sur sable et sur tamis à 70 µm</b> pour éliminer les impuretés et améliorer la transmission (T)
Un maintien de la turbulence dans le tube UV est nécessaire pour que toute l'eau soit exposée au rayonnement
Un <b>contrôle régulier des doses appliquées</b> et de la <b>consommation des lampes (nombre d'heures d'utilisation : 8000 h soit 1 an)</b> , afin de déterminer l'usure du système
Le choix d'un procédé équipé d'un <b>contrôleur avec alarme</b> permettant de détecter si la dose d'exposition D à appliquer pour la désinfection est bien atteinte
<b>Un changement régulier des lampes</b>
<b>Un nettoyage régulier</b> des filtres et des tubes de quartz entourant les lampes UV, tous les 15 jours environ à l'aide de l'acide et entre deux cultures

Source : Ctifl, 2002

## 6. Avantages et inconvénients

<b>Désinfection UV</b>	
<b>AVANTAGES</b>	<b>INCONVENIENTS</b>
Facilité de mise en oeuvre du procédé et peu d'encombrement	Doses d'exposition réelles difficiles à déterminer car il faut une <b>bonne connaissance de la transmission</b>
Pas de nécessité de montée en pression du procédé	Elimination indifférenciée de la flore antagoniste et pathogène
Bonne efficacité germicide	<b>Filtration sur sable et tamis à 70 µm</b>
Procédé adapté à la désinfection de volumes importants : capacité de traitement de 3 à 10 m <sup>3</sup> /h	<b>Entretien obligatoire</b> du filtre à sable et des tubes de quartz à l'aide d'acide
Possibilité de réutiliser directement sans stockage la solution désinfectée	Consommation électrique
Contrôle automatisé du débit, de la puissance des lampes et de la transmission.	Consommation en fer plus importante car nécessité d'un complément au niveau de la solution nutritive
Pas d'influence sur le pH	<b>Procédé moins adapté</b> au traitement de drainage issu de substrats organiques présentant des <b>jus colorés par les matières organiques</b>
Compatibilité avec d'autres traitements (filtration, adoucissement, osmose inverse, chloration partielle)	

Source : Cifl 2002

NB : le coût de l'installation est présenté dans le chapitre suivant.



### III. - PROTOCOLE SANITAIRE POUR PREVENIR L'INTRODUCTION DE *R. SOLANACEARUM* DANS UNE SERRE.

Un des avantages de la culture sous abris est qu'elle permet de contrôler la majorité des facteurs de production plus facilement que pour les cultures en plein champ et donc d'envisager d'autres axes et techniques pour le contrôle des maladies. Si une stratégie de lutte curative contre *R. solanacearum* n'est pas envisageable, une prévention correctement menée permet de réduire le risque de contamination d'une culture. L'objectif est donc de définir, dans le cadre d'un protocole sanitaire adapté, des procédures pour prévenir l'introduction de *R. solanacearum* (Phylotypes I et II) dans une serre. L'application stricte de procédures sanitaires rigoureuses dans une entreprise agricole permet non seulement de prévenir, d'identifier, de localiser, d'isoler la maladie mais également d'éviter qu'elle se propage dans toutes les unités de culture. La majorité des consignes indiquées ci-dessous est aussi valable pour d'autres maladies et également applicable dans une serre de multiplication.

#### III.1. - Qualité sanitaire des plants

Il n'existe pas aujourd'hui de variétés commerciales de tomate résistantes à *R. solanacearum* de souches réunionnaises. Aussi il est important que les serristes s'approvisionnent en plants de qualité certifiée chez des pépiniéristes agréés par le SOC et respectant un cahier des charges permettant d'assurer que les plants sont indemnes de *R. solanacearum*.

#### III.2. - Environnement de la serre

##### 1. Les abords de la serre

- Le périmètre extérieur de la serre doit être composé de gravier ou d'une surface « en dur » faisant office de zone sanitaire tampon. Cela permet un entretien facile, évite que des adventices et/ou des plantes hôtes de *R. solanacearum* puissent se développer trop près de la serre et évite aussi la contamination par éclaboussures.
- L'espace extérieur doit être désherbé correctement, les plantes adventices peuvent être des plantes hôtes de la bactérie et donc source de contamination.
- La pente du sol doit être calculée de façon à ce que l'eau de drainage des autres serres et l'eau de pluie, qui descend des parcelles voisines, ne rentrent pas dans la serre. En effet, si un champ limitrophe est contaminé, la bactérie peut être véhiculée dans la serre par les eaux de ruissellements.



*Les abords de la serre : pose de béton*

## 2. Sas

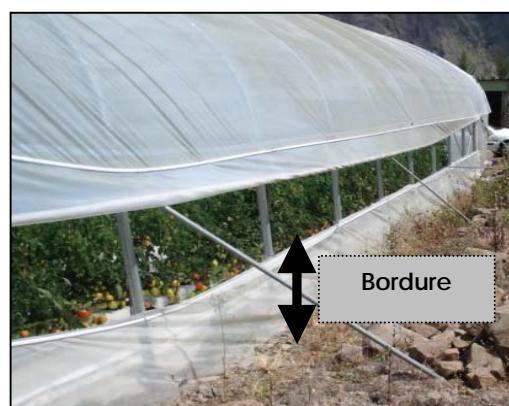
L'entrée de la serre doit prévoir un sas isolé. Ceci permet d'avoir un espace interposé entre l'extérieur et l'intérieur de la serre. Il peut être aménagé pour permettre le lavage des mains et des bras (avec un savon antibactérien), des chaussures (pédiluve) et un emplacement pour les vêtements de protection (bottes, survêtement etc..).



*Exemple d'un sas*

## 3. Le périmètre de la serre

La serre doit être isolée du sol : une bordure en plastique doit être aménagée pour isoler l'intérieur de la serre de l'extérieur. Le sol à l'intérieur doit être bien nivelé et avoir une légère pente pour faciliter le drainage et éviter que des poches d'eau puissent se former. Il doit être maintenu propre et sans mauvaises herbes. Il doit être recouvert d'un tapis de sol et d'un paillage en plastique pour éviter tout contact avec la terre qui pourrait être contaminée mais aussi pour un entretien facile (nettoyage et désinfection). Il ne faut pas introduire dans la serre de plants susceptibles de contaminer la culture.

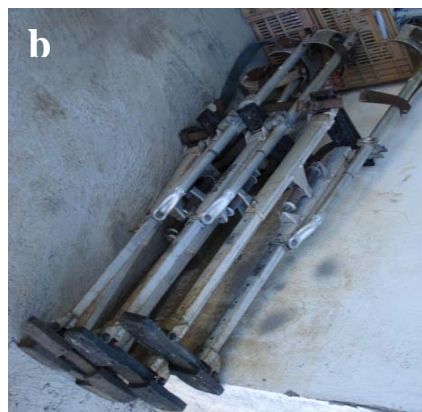


*Le périmètre de la serre :  
bordure en plastique*

## 4. Les matériels utilisés dans la serre

Les matériels utilisés pour travailler dans la serre pourraient introduire à l'intérieur des résidus de végétaux, de boue, des dépôts de terre et par conséquent contribuer à devenir une source de contamination pour des plants et/ou des substrats.

Le matériel utilisé dans une serre ne doit entrer ou sortir sans une désinfection préalable.



*Exemple de matériels utilisés dans la serre : (a) chariots de récolte (b) échasses*

## 5. Retenues d'eau agricole

Dans le cas où une retenue d'eau de pluie est utilisée, celle-ci doit être positionnée de façon à ce que l'eau des parcelles voisines ne rentre pas. En effet, une pente trop marquée peut favoriser la contamination de l'eau de la retenue et disséminer la bactérie dans la serre par les apports d'eau. Un paillage plastique doit recouvrir le fond mais aussi toute la bordure autour du bassin pour éviter d'une part que le sol contaminé se déverse dans le bassin et d'autre part que des adventices, hôte de *R. solanacearum*, se développent tout autour. La possibilité de stocker l'eau dans un réservoir **bâché** ou une citerne est une mesure prophylactique pour diminuer le risque de contamination par le pathogène.



*Exemple de réservoir fermé*

## 6. Zone de désinfection et séparation des unités

Prévoir dans l'exploitation une zone où effectuer la désinfection du matériel de culture. Cela permet de mieux organiser les espaces de travail dans l'exploitation, de stocker et ranger le matériel propre. Une séparation physique et contrôlée entre la pépinière et l'unité de production est impérative.

## III.3 - La désinfection comme moyen de lutte prophylactique contre *R. solanacearum*

Pour déterminer les procédures sanitaires régulières à mettre en place il est nécessaire de rappeler les deux sources de contamination et de transmission les plus fréquemment rencontrées en culture hors sol :

- (I) **Mécanique** - par les opérations de taille (contact avec la sève), par les intrants les outils de travail, les contenants, les caisses (survie de la bactéries dans le terreau et dans les vieux tissus végétaux et les débris de plants infectés).
- (II) **Eau d'irrigation** - (1) par le réseau d'approvisionnements de l'eau d'irrigation contaminé ou l'eau d'un bassin, (2) par le recyclage des solutions nutritives, (3) par le film d'eau dans les gouttières de drainage (véhiculé de racine en racine), la pulvérisation de produits phytosanitaires.

A travers l'étude « *Maîtrise du flétrissement bactérien en culture hors de tomate, ACTION 3 et ACTION 4* » (voir annexe), nous avons pu conclure que la transmission de la bactérie se fait majoritairement par l'eau de drainage qui rentre en contact avec les substrats des plants voisins même si la source de contamination est aérienne. En effet, une plante malade apporte une quantité importante de bactéries dans le substrat et elle contamine les autres plants de la même ligne de culture.



### **III.3.1. - Prévenir l'introduction de la bactérie dans une serre**

#### **1. Le pédiluve**

Pour éviter la transmission par les particules de sol et débris végétaux qui adhèrent aux chaussures, il suffit de placer à l'entrée de la serre, un bac en plastique contenant une éponge qui baigne dans une solution désinfectante (sels d'ammonium quaternaires). Il convient de renouveler la solution chaque jour en s'assurant de vider complètement la solution souillée et changer l'éponge régulièrement. Il convient de rappeler que la terre et la saleté rendent les produits désinfectants inefficaces.



*Exemple de pédiluve*

#### **2. La désinfection de la structure**

En fin de culture lors du vide sanitaire, un nettoyage méticuleux de la serre s'impose. Après avoir sorti les plants et substrats de la serre, il faut bien nettoyer le sol avec un produit désinfectant puis procéder à un traitement désinfectant de la structure intérieure de la serre à l'aide d'un pulvérisateur (selon les consignes de sécurité pour les traitements phytosanitaires, toujours porter l'équipement de protection approprié), en prenant soin de bien mouiller les surfaces. Il est important de faire une désinfection complète du paillage au sol, des canaux d'évacuation de drainage, des supports de culture, des tubulures d'irrigation. Les produits désinfectants utilisables et leurs doses sont exposés en annexe.

#### **3. Le tapis de sol.**

Le paillage du sol doit être maintenu propre. Un entretien et des nettoyages réguliers sont nécessaires. Une désinfection entre les rangs avec un pulvérisateur manuel doit être envisagée en faisant attention à ne pas toucher les racines et les plants.



*A proscrire :  
paillage du sol non nettoyé*

#### **4. La désinfection du système d'irrigation**

Le système d'irrigation peut contenir de la matière organique (extrémités des tuyaux) qui peut abriter la bactérie et d'autres organismes pathogènes. La désinfection commence d'abord par l'enlèvement des dépôts calcaires et d'engrais à l'aide d'acide nitrique. Il peut être injecté dans le système d'irrigation pour abaisser le pH à 2.0 au goutteur, à une concentration de 1,8-2,0 %. Apporter environ 1 litre par goutteur puis laisser agir pendant au moins 2 à 4 heures minimum, (toujours mettre l'acide dans l'eau et non pas l'eau dans l'acide). Ensuite, ouvrir l'extrémité des lignes d'irrigation pour bien évacuer les dépôts d'engrais et **rincer abondamment à l'eau claire**, puis injecter un désinfectant chloré :

- **EAU DE JAVEL 18°CL** : 60 ppm / 6 heures de contact minimum
- **PASTILLE DE CHLORE (chlore et dichloroisocyanure de sodium dihydrate)** : 60 ppm / 1 -2 heures de contact minimum

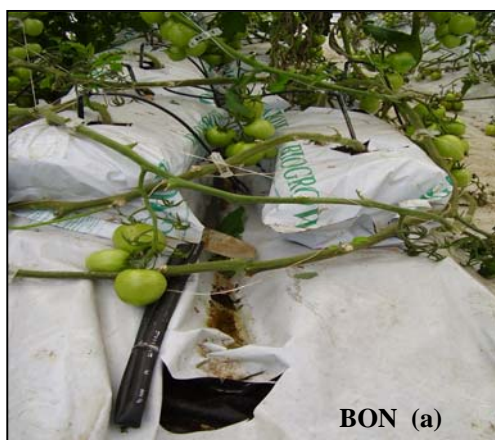
Laissez agir cette solution dans le système, idéalement pendant 24 heures en trempage continu. Enfin, vidanger en ouvrant l'extrémité des lignes et en rinçant abondamment à l'eau jusqu'à ce qu'elle soit bien claire. Il ne faut pas que le produit coule dans le substrat. Cette procédure est valable comme moyen de prévention. Si il y a eu dans la serre une contamination des plants, il est préférable d'inverser les deux étapes soit : d'abord la solution chlorée et ensuite l'acide en faisant attention à **bien rincer à l'eau claire entre les deux opérations car le mélange acide + eau de Javel est explosif !**

### 5. La désinfection du matériel.

Tous les équipements utilisés en serre pour la récolte (échasses, chariots de culture, contenants des cultures, caissettes), les surfaces (les tables), devront être désinfectés régulièrement surtout lorsqu'il y a eu des cas avérés de flétrissement. Il faut d'abord déloger (jet d'eau sous pression, savon doux) la terre, la saleté et les restes de matières organiques avant de procéder à la désinfection. Ensuite, mouiller avec un désinfectant (sels quaternaires d'ammonium, dose voir en ANNEXE). Il est important de laisser le produit agir le plus longtemps possible. Avec l'eau de Javel, il faut faire attention de bien rincer à l'eau claire les contenants traités avant de les empiler car les résidus peuvent affecter les productions futures. Tous les matériels doivent être bien secs avant de les utiliser. Eviter le trempage prolongé des pièces métalliques dans l'eau de Javel, car elle est corrosive.

### 6. Le système de récupération du drainage.

Une séparation entre les racines des plants et les eaux du drainage est essentielle. En effet, la transmission des maladies peut se faire en suivant le sens de passage de la solution, mais aussi à contre courant. Un drainage isolé permet d'éviter le passage de la bactérie d'un plant à l'autre. Cette technique permet de limiter les contaminations. Pour cela, des supports de substrat permettent de maintenir bien séparés le sac de culture du drainage. Les canaux de récupération doivent permettre un bon écoulement des eaux de drainage en dehors de la serre.



BON (a)



MAUVAIS (b)

Exemple d'installation de sac de culture : photo (a) : récupération de drainage et séparation entre les racines des plants et les eaux du drainage

Photo (b) : sacs posés sur le sol sans séparation



## **7. Vêtements de protection.**

L'utilisation de gants, chaussons, blouses pour le travail en serre et pour les visiteurs est une précaution à prendre pour réduire le risque de contamination, surtout quand on passe d'une pépinière à une serre de production et vice-versa. L'emploi de vêtements propres est indispensable. Dans la mesure du possible utiliser de chaussures affectées à la serre les vêtements doivent être rangés dans l'entrée de la serre (sas) et être enlevés avant de sortir de la serre.

## **8. Entretien de la culture.**

Les opérations de taille, de palissage, d'effeuillage, de récolte et de balayage, peuvent favoriser la dissémination de la maladie en serre d'un plant à l'autre mais aussi d'une serre à l'autre. Il est important de respecter quelques consignes :

- éliminer tous les déchets végétaux après ces interventions et les éloigner le plus loin possible de la serre,
- travailler en dernier les lignes de culture qui ont présenté des symptômes.
- utiliser des gants jetables. L'utilisation directe des mains pour le palissage et l'effeuillage ne réduit pas forcément les risques de contamination et dissémination.
- Tous ceux qui manipulent les plants doivent se laver les mains régulièrement et désinfecter souvent les outils de taille.
- Le personnel affecté au travail en serre ne doit pas travailler en plein champ.
- Chaque serre doit être de préférence affectée aux mêmes personnes.

## **9. Les outils pour la taille.**

Sécateurs et couteaux utilisés pour la taille doivent être impérativement désinfectés et nettoyés régulièrement à l'alcool. Le mode de désinfection approprié pour les outils est le trempage. Un trempage de plus de 1 minute est recommandé car plus efficace qu'un trempage rapide de quelques secondes. Il faut prévoir plusieurs outils de taille par ouvrier et/ou pour chaque section de serre. Attention, pour cette utilisation l'eau de Javel est hautement corrosive et abîme facilement le matériel. D'autres produits désinfectants peuvent être utilisés (voir liste en ANNEXE)

## **10. Personnel formé et spécialisé.**

L'intérêt d'avoir du personnel formé aux travaux en serre rentre dans le cadre d'une bonne gestion de l'entreprise. La formation ne concerne pas seulement les pratiques culturales et les méthodes sanitaires recommandées pour la prévention du flétrissement bactérien en serre, mais aussi la connaissance des sources de contamination et les modalités de dissémination de *R. solanacearum*.

### ***III.3.2 - Prévenir l'introduction de la bactérie dans une serre par l'eau d'irrigation : la désinfection aux UVc***

A la Réunion, la contamination de l'eau d'irrigation par *R. solanacearum* se produit souvent à la suite d'accidents climatiques (fortes pluies ou cyclone) qui entraînent l'arrivée d'eau boueuse dans le réseau d'irrigation. Bien que le flétrissement soit présent dans l'Ouest de l'île, la dissémination par l'eau, suite aux travaux de basculement des eaux de l'Est vers l'Ouest, pourrait jouer un rôle sur le développement de la maladie dans cette zone de l'île. Puisqu'à l'heure actuelle il n'existe aucune information officielle et précise concernant la présence et la quantité de *R. solanacearum* dans l'eau d'irrigation à la Réunion, une décontamination efficace

de l'eau comme moyen prophylactique est indispensable pour éviter toute introduction dans une serre par les eaux d'apport. Les expérimentations menées par l'ARMEFLHOR et le CIRAD au Pôle de Protection des Plantes à St-Pierre, ont montré des résultats significatifs de désinfection par rayons ultraviolets de l'eau d'irrigation contaminée par *R. solanacearum*. Nous sommes donc en mesure de préconiser un tel dispositif de désinfection comme moyen de lutte préventif et pour une prophylaxie efficace.

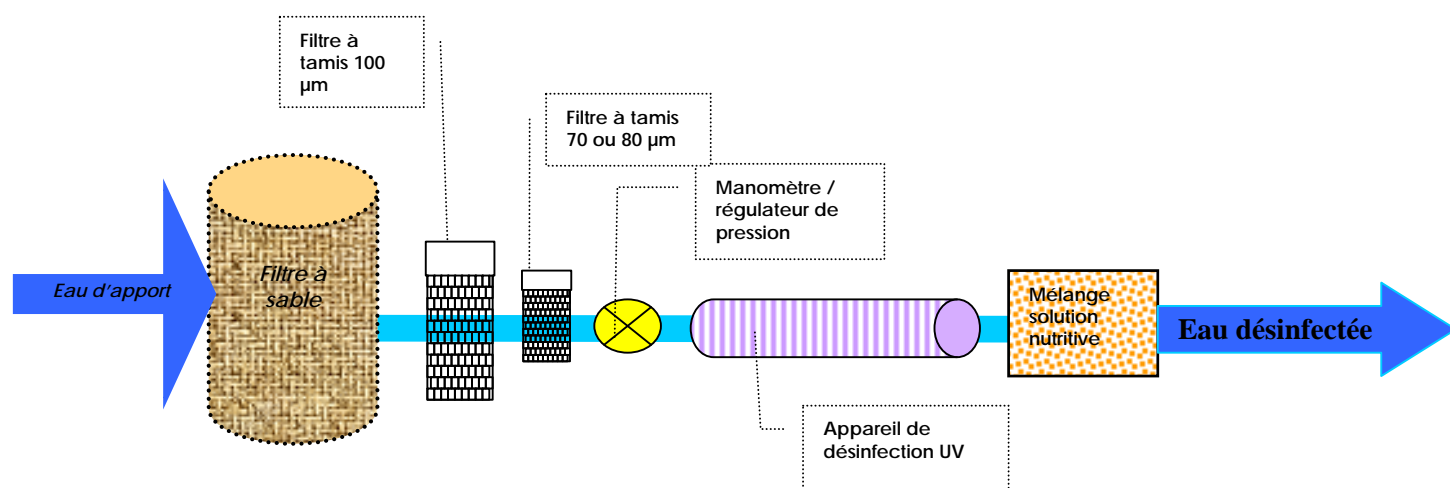
### *1. Mise en œuvre de la désinfection*

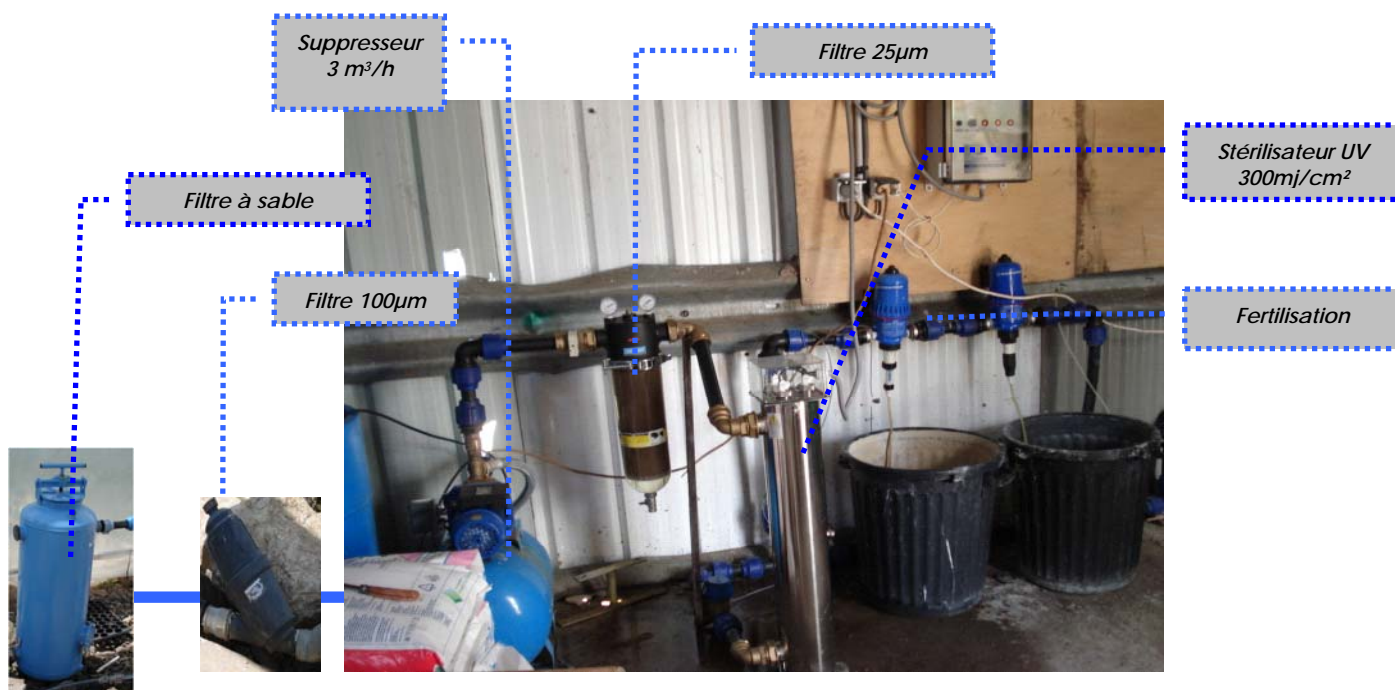
Les éléments suivants sont les bases de la mise en place des Uvc. Par la suite, il est nécessaire de faire appel à des techniciens pour adapter le matériel à chaque type de structure de production.

Matériels nécessaires et caractéristiques :

- Filtre à sable
- 2 Filtres à tamis (100 µm + 80 µm)
- Manomètre
- Contrôle automatisé du débit 3-10 m<sup>3</sup>/h en fonction du réseau d'irrigation
- Lampe UVC basse pression, longueur d'onde à 254 nm, pouvoir germicide de 300 - 400 mJ/cm<sup>2</sup>
- Capteur de niveau de UV
- Cuve de stockage et compresseur en fonction du type d'installation

### Schéma d'installation :





*Exemple d'une installation chez un serriste à Salazie*

## *2. Les points importants de la mise en œuvre*

- **Le débit**, compris en général entre 3 et 10 m³/h doit être en adéquation avec la puissance de la lampe et adapté en fonction de la turbidité (opacité) de l'eau pour que la transmission (T) ne soit pas compromise.
- **Le taux de transmission** doit être supérieur à 20 %. Plus l'eau est chargée et sale plus la turbidité augmente. En conséquence le taux de transmission des lampes UV diminue et la désinfection est moins efficace.
- **La filtration** sur filtre à sable puis sur filtre à tamis à 70-80 µm au minimum ou plus fin jusqu'à 25 µm avec d'autres types de filtres (filtre à chaussettes, filtre à charbon actif) en fonction de la qualité de l'eau et du type d'installation. La filtration doit être la plus efficace possible pour que les impuretés et les débris de matières soient éliminés et que la transmission soit améliorée. L'eau pénétrant dans le stérilisateur ne doit pas contenir une quantité élevée de matière en suspension, de telle façon que les micro-organismes ne puissent pas être protégés des UV.
- Un maintien de **la turbulence** dans le tube UV pour que toute l'eau soit exposée au rayonnement.
- Un contrôle des **doses germicides** appliquées (capteur de niveau de rayons ultraviolets) et de la **consommation en heures** (compteur d'heures) des lampes afin de respecter la durée de vie maximale des lampes.
- **Le choix** d'un système équipé d'un contrôleur avec une **alarme** qui permet d'indiquer que la dose d'exposition à appliquer est bien atteinte.

- Le changement et le nettoyage régulier des lampes selon les indications du fabricant assurent le bon fonctionnement.
- Le nettoyage régulier des filtres permet d'assurer une filtration optimale et évite de charger l'eau d'impuretés.
- Un nettoyage régulier du tube à l'acide permet d'éviter les dépôts d'oxyde de fer : rinçage à l'acide nitrique (58 %) dilué dans l'eau à 50 % ou à l'acide citrique (pH de la solution 3) pendant 15 à 30 minutes puis, rinçage à l'eau claire. Pour l'entretien suivre les conseils du fournisseur. Effectuer cette opération au minimum une fois par cycle de culture.

3. *L'efficacité germicide du système de désinfection UV vis-à-vis de R. solanacearum*

**Les essais relatifs à l'efficacité germicide des rayons UVC en laboratoire et en cours de culture ont montré qu'ils sont efficaces pour contrôler la bactérie dans certaines conditions liées :**

- au pouvoir germicide des lampes utilisées,
- au système de culture (la puissance des lampes est limitée par le débit),
- au type d'eau (drainage ou apport),
- au Phylotype de la bactérie présent,
- à l'état VNC (« état Viable Non Cultivable ») des bactéries
- et bien sûr à la charge bactérienne dans l'eau d'apport.

(Voir résultats dans le compte rendu en ANNEXE).

**Un système de lampes UVC à 300 – 400 mJ/cm<sup>2</sup>se révèle efficace pour détruire une telle charge bactérienne dans l'eau d'apport pour les deux Phylotypes présents à la Réunion.**

Il faut rappeler qu'à l'heure actuelle nous ne disposons pas d'informations précises concernant la présence et la quantité de *R. solanacearum* dans l'eau d'irrigation à la Réunion, et que 10<sup>3</sup> ufc/ml dose à laquelle nous avons testé le système, est considérée comme une dose possible et tout à fait contaminante.

4. *Choix du système de désinfection de l'eau d'irrigation*

Le choix d'un système de désinfection de l'eau d'apport et/ou de drainage dans le cadre d'une lutte prophylactique est lié au départ aux exigences et aux problématiques en terme de désinfection de l'exploitation. Par contre, du point de vue technique, le choix d'un système de désinfection aux UVC est principalement corrélé au débit du réseau d'irrigation.

En terme d'efficacité bactéricide, pour le flétrissement bactérien de la tomate, un pouvoir germicide des UVC minimum de 300 mJ/cm<sup>2</sup> est nécessaire. Ces valeurs sont tout à fait compatibles avec un débit de 3 m<sup>3</sup>/h qui permettrait d'irriguer près de 10 000 m<sup>2</sup> de serre en culture hors sol. La mise en place d'un régulateur de pression et d'un manomètre selon les conseils de l'installateur permet de régler et contrôler le débit souhaité.

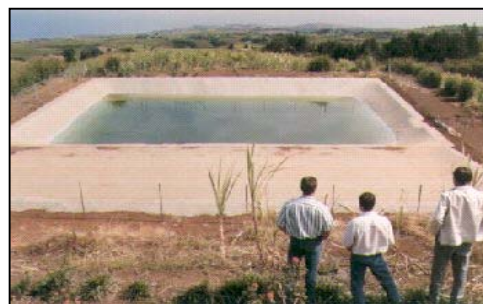
**En fonction de la source de contamination supposée et des caractéristiques de l'entreprise, les cas de figure qui peuvent se présenter sont :**

**1. Désinfection de l'eau de retenue collinaire**

Désinfecter avec efficacité une eau qui est souvent très chargée en dépôts et matières organiques, est assez difficile, car la charge bactérienne peut être élevée. C'est pour cette raison que l'utilisation d'eau d'une retenue collinaire est déconseillée, car la désinfection pourrait ne pas être efficace. Son usage peut être cependant envisagé dans des cas d'urgence. Une décantation et une filtration adéquate avant récupération dans un bassin/cuve fermé sont alors fortement souhaitables. Ensuite l'eau pourrait être désinfectée selon le schéma détaillé précédemment, mais en prenant soin que la filtration soit efficace.

**2. Désinfection de l'eau de retenue d'eau de pluie**

Comme il a été indiqué précédemment, le bassin doit respecter certaines mesures prophylactiques avant la désinfection et l'utilisation en serre, une filtration adéquate est indispensable.



*Exemple de retenue d'eau de pluie*

**3. Désinfection de l'eau d'apport provenant d'un réseau de distribution collectif**

Si le système de désinfection UV est directement branché sur le réseau de distribution d'eau agricole et si les lampes fonctionnent en permanence, les stérilisateurs peuvent s'échauffer et altérer leur bon fonctionnement. Ce problème peut être évité avec l'installation d'un programmateur électrique qui règle la mise en marche des lampes en fonction des irrigations. Dans ce cas, il faut programmer le démarrage au moins 30 min avant la première irrigation pour que les lampes UVc soient opérationnelles. Le risque reste les coupures d'électricité. En effet, au redémarrage du système, une quantité d'eau non désinfectée peut arriver dans les serres car les lampes UV pendant les premières minutes ne sont pas efficaces.

La pose d'un réducteur de pression est indispensable afin d'assurer une pression et un débit réguliers pour l'efficacité de la désinfection.

**4. Désinfection de l'eau à partir de réservoir étanche**

Cette alternative comporte une cuve de stockage étanche qui est remplie régulièrement d'eau en provenance du réseau de distribution. Elle permet de s'affranchir des coupures éventuelles du réseau de distribution. En outre, le réservoir permet une décantation de l'eau qui pourrait être chargée de particules. Le dispositif doit être complété par un surpresseur pour garantir un débit suffisant de 3 m<sup>3</sup>/h.



*Exemple de cuve de stockage étanche*

**5. Un système de désinfection by-pass (mixte).**

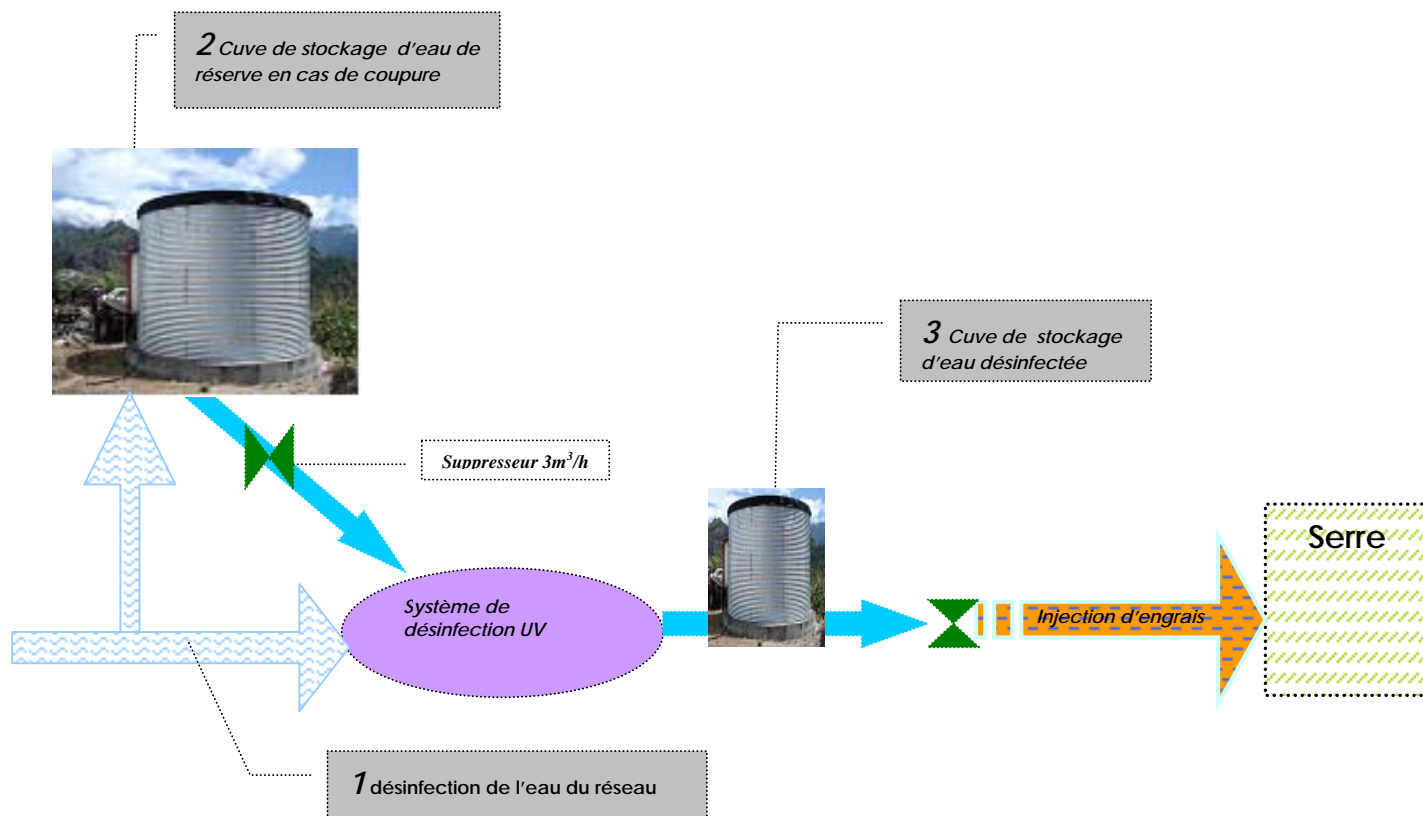
Il s'agit d'un système qui associe les sources d'eau précédentes : eau provenant d'une retenue d'eau de pluie ou d'une cuve de stockage d'eau d'irrigation et l'eau en provenance directe du réseau de distribution collectif. L'intérêt de ce système mixte est d'éviter toute rupture dans l'alimentation en eau des plantes.



## 6. Stockage de l'eau après désinfection

Dans ce cas, l'eau en provenance du réseau de distribution est stockée après désinfection est utilisée ensuite en serre. Afin d'assurer la qualité de l'eau, le stockage ne dépasse pas les 2/3 jours. Ce type d'installation permet d'économiser des heures d'utilisation des UVc.

*Schéma d'installation de désinfection de l'eau d'apport aux UV la plus complète et apportant le plus de sécurité*



## 5. Coût de mise en œuvre de la désinfection

Compte tenu des dimensions moyennes des entreprises agricoles sous abris à la Réunion, en général un débit de 3 m<sup>3</sup>/h est la valeur la plus rencontrée. Le coût des lampes est fonction de leur puissance qui est fonction du débit (m<sup>3</sup>/h).

<b>Investissement : Mise en oeuvre d'un système de désinfection</b>	
Serre de 1.000 à 10.000 m <sup>2</sup> (cas d'une eau d'apport peu chargée)	
Débit traitement de 3 m <sup>3</sup> /h (donné à titre indicatif)	
Matériels	Coût
Suppresseur 3 m <sup>3</sup> /h	500 €
Stérilisateurs UV 300 mJ/cm <sup>2</sup>	5000 €
Filtration	
Filtre à sable 50-20 m/sec (en fonction de caractéristiques du réseau)	3000 €
Filtre à tamis 100 µm - 80 µm	10 €
Programmateurs électrique	25 €
<b>Total</b>	<b>8535 €</b>

<b>Changement des lampes toutes les 8.000 heures</b>	
Coût de 3 lampes de 75 W ( 300mJ/cm <sup>2</sup> /an)	1500 €

<b>Coûts pour 10 m<sup>3</sup> d'eau (hors amortissement)</b>	
Pouvoir germicide des lampes 300 mJ/cm <sup>2</sup> ; 3 x 75 W ; Serre de 1.000 à 10.000 m <sup>2</sup> Débit traitement de 3 m <sup>3</sup> /h ; Prix KW/heure de 0.0789 € (donné à titre indicatif)	
Coûts des lampes (€)	60 cts
Consommation électrique (€)	6 cts
<b>TOTAL POUR 10 m<sup>3</sup> (€)</b>	<b>66 CTS</b>

### III.4 - Que faire en cas d'introduction

**Quand un plant est contaminé on doit envisager que la culture est contaminée.** Une fois que la bactérie est présente dans la serre aucune méthode de contrôle n'est efficace et garantie ! L'objectif est de sauver une partie de la culture, mais dès que les symptômes se manifestent, aucune mesure ne permet l'éradication complète et sûre de la bactérie dans une serre et son développement d'une plante à l'autre.

#### III.4.1 - Détection.

S'assurer qu'il s'agit de *R. solanacearum* en testant le signe du verre d'eau (voir paragraphe détection chapitre I) et apporter un échantillon du plant (avec tige) auprès des services de diagnostic (FDGDON, Pôle de Protection des Plantes, St-Pierre).

#### III.4.2 - Détermination de la source de contamination possible

Avant d'intervenir, il est important de réfléchir à l'origine de la contamination :

- Utilisation occasionnelle d'une retenue d'eau de pluie
- Eau du réseau d'irrigation très chargée en terre suite à de fortes pluies
- Drainage en contact avec le sol
- Introduction de sol de l'extérieur à l'intérieur de la serre par les chaussures, par les abords de la serre ou par l'absence de paillage dans certains endroits de la serre
- Méthode de travail : introduction depuis le plein champ ou d'autres serres contaminées avec des outils non désinfectés, des vêtements de travail souillés
- Méthode d'irrigation par sub-irrigation (production de plants en pot) qui facilite la dissémination de la maladie
- Plants déjà contaminés en pépinière

### **III.4.3 - Ce qu'il faut faire**

a) En cas de contamination d'un nombre limité de plants (<10) ou d'une zone localisée dans une seule partie de la serre

- Elimination des plants contaminés et des plants voisins à risque en contact avec les plants flétris : plants dans un même sac de culture, plants irrigués à partir du même réseau d'irrigation
- Elimination des sacs de substrats des plants contaminés et ceux à risque
- Tout matériel végétal contaminé sortant de la serre doit être éloigné et brûlé
- Renforcer toutes les mesures prophylactiques : désinfection des mains, des outils de taille et de tout matériel en contact avec les plants (pots, supports de substrat, échasse, chariot, seaux, caisses .....)
- Intervenir sur la méthode de travail dans la serre, travailler la zone contaminée en dernier
- Informer le personnel sur les méthodes de désinfection prophylactiques
- Vide sanitaire en fin culture

b) En cas de contamination de la majorité des plants dans une serre

- Elimination de tous les plants et substrat,
- Désinfection de la serre (structure et paillage),
- Désinfection du système d'irrigation
- Désinfection de tout le matériel de culture
- Vide sanitaire

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

---

A la Réunion, le flétrissement bactérien est une maladie très destructrice pour les cultures d'intérêt économique majeur comme les solanacées maraîchères. De plus, l'île a la particularité d'héberger différentes populations de *R. solanacearum* couvrant ainsi une large diversité génétique. Les méthodes de lutte contre le flétrissement bactérien sont insuffisantes voire inefficaces. Dans le cadre des cultures sous abri et en hors sol, seule une lutte prophylactique adaptée et rigoureuse est susceptible de réduire significativement l'incidence de la maladie. Afin de donner des informations d'ordre général, la première partie de cet opuscule a été consacrée aux notions concernant le flétrissement bactérien et les méthodologies existantes en matière de désinfection de l'eau dans les cultures hors sol.

L'ensemble des résultats générés par ces expérimentations nous a permis de rapporter des notions fondamentales concernant la dispersion de la bactérie d'une plante à l'autre en fonction de sources de contamination et de définir une stratégie de lutte préventive adéquate pour empêcher toute introduction de la bactérie dans la serre. **La mise en place de mesures prophylactiques liées à l'environnement de l'unité de production, à la structure de la serre mais aussi aux méthodes de travail sont indispensables pour diminuer le plus possible les sources de contamination.**

**Le seul moyen préventif pour empêcher la contamination des plants par l'eau d'irrigation reste la désinfection. Compte tenu de la réglementation en vigueur, la seule méthode de désinfection des eaux d'irrigation et de drainage en culture hors sol que nous pouvons préconiser est la désinfection par UVc. La dose de 300 mJ/cm<sup>2</sup> est efficace pour une concentration bactérienne dans l'eau de 10<sup>3</sup> ufc/ml.**

A l'heure actuelle nous ne disposons pas d'informations précises concernant la présence et la quantité de *R. solanacearum* dans l'eau d'irrigation à la Réunion. Nous avons apporté la preuve que 10<sup>3</sup> ufc/ml est une pression d'inoculum suffisante pour déclencher une contamination dans une serre. L'éventualité qu'une pression d'inoculum plus élevée soit présente naturellement dans les eaux est à envisager. Une étude approfondie sur ce sujet pourrait apporter des informations utiles sur la présence de *R. solanacearum* dans le réseau d'irrigation de la Réunion, en terme de type de souche et de concentration bactérienne, dans les différentes zones de l'île et pendant les saisons climatiques qui caractérisent l'année australe. Détecter et quantifier la bactérie permettraient de mieux déterminer les doses UVc adaptées à chaque cas.

Nous avons démontré que la chloration (62 et 30 ppm) est une méthode efficace pour désinfecter l'eau contaminée par *R. solanacearum*. En espérant que des produits à base de chlore puissent être prochainement homologués pour cette usage, des questions portant sur la phytotoxicité, l'influence et la gestion de l'irrigation fertilisante restent encore à élucider.

Une autre perspective pour améliorer le contrôle de cette bactériose est la recherche (ou l'introduction) de matériel végétal résistant aux souches présentes à la Réunion. En effet, la lutte prophylactique et l'utilisation de variétés résistantes optimiseront l'efficacité de la méthode de contrôle de la maladie en culture sous abris.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Hypochlorites et eaux de Javel : unités de concentration, préparation des solutions désinfectantes version 2002.** Techmicrobio.net: [http://www.techmicrobio.net/laboratoire/Javel/javel\\_corps.html](http://www.techmicrobio.net/laboratoire/Javel/javel_corps.html)

**TRAITEMENTS GENERAUX \* TRAIT. DES LOCAUX ET MATERIEL DE CULTURE (SERRES ET ABRIS) \* BACTERICIDE : CATALOGUE DES USAGES ACTUEL > TRAITEMENTS GENERAUX** <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>

**Le recyclage de l'eau dans l'horticulture sous serres,** Lenntech: [www.lenntech.com/français/recyclage-eau-industrie-horticulture.htm](http://www.lenntech.com/français/recyclage-eau-industrie-horticulture.htm)

**Floodfloors. Subirrigation has a track record as a relatively safe method of irrigation, but the USDA's Action Plan has muddied the water. :** [www.floodfloors.com/html-tech/articles-subirrigation.html](http://www.floodfloors.com/html-tech/articles-subirrigation.html)

**Water Quality Protection by Nurseries:** *Water Quality Handbook for Nurseries* . 1998. Oklahoma Cooperative Extension Service, Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University. 38 pp

**Chlorination Okstate :** [www.ento.okstate.edu/zoospore/managing/treat/chlorination.html](http://www.ento.okstate.edu/zoospore/managing/treat/chlorination.html)

**Srpv-midi-pyrenees :** [www.srpv-midi-pyrenees.com/\\_publique/sante\\_vgtx/organismes\\_nuisibles\\_et\\_lutte\\_obligatoire/fiches/ralstonia\\_solanacearum.htm](http://www.srpv-midi-pyrenees.com/_publique/sante_vgtx/organismes_nuisibles_et_lutte_obligatoire/fiches/ralstonia_solanacearum.htm)

**l'Agence canadienne d'inspection des aliments :**  
<http://www.omafr.gov.on.ca/french/crops/hort/news/hortmatt/2003/12hrt03a3.htm>  
<http://www.inspection.gc.ca/francais/sci/surv/data/ralsolf.shtml>

**Action plan for *Ralstonia solanacearum* race 3, biovar 2 found in nursery facilities,** January 14, 2004 version 4. USDA, APHIS, PPQ. 2004 : <http://pestalet.ifas.ufl.edu/usda-rs3-actionplan-v4.pdf>

**INTÉRÊT ET LIMITES DE LA CHLORATION POUR MAÎTRISER LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DE L'EAU DISTRIBUÉE.** Jean-Claude Block, Professeur des Universités, CNRS Université Henri Poincaré Nancy : <http://www.senat.fr/rap/102-215-2/102-215-267.html>

**Modèle de manuel d'exploitation des installations de production d'eau potable MAMSL/MENV,** Octobre 2003 : [http://www.mamr.gouv.qc.ca/publications/infrastructures/5\\_chap\\_5-2.doc](http://www.mamr.gouv.qc.ca/publications/infrastructures/5_chap_5-2.doc)

**Le risque et la gestion sanitaire en hors sol,** S. Martinez : <http://s.martinez.free.fr/V2/agro/0410-phyto.html>

**L'intérêt de l'ozone et des UV Rubrique : Eau potable - Sous-rubrique : Traitement** Article publié le 27 octobre 2005 par David Chaisemartin , Klegbaza Valentin **Auteur :** Klegbaza Valentin, étudiant en DESS MEQUE (Management Environnemental et Qualité des Eaux) à COTONOU au Bénin : [http://www.aquadoc.fr/article.php3?id\\_article=335](http://www.aquadoc.fr/article.php3?id_article=335)

**Plan d'action contre le *Ralstonia solanacearum*, race 3 (biovar 2) ; le 18 décembre 2003**  
**Protocole visant le matériel végétal potentiellement infecté par *Ralstonia solanacearum*, race 3 (biovar 2)** Agence canadienne d'inspection des aliments. Direction des produits végétaux. Division de la protection des végétaux. Section de l'horticulture : <http://www.inspection.gc.ca/francais/plaveg/hort/ralstoniaf.shtml>



**Arrêté du 11 février 1999 relatif à la lutte contre *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al .**  
 NOR : AGRG9900326A :  
<http://www.admi.net/jo/19990411/AGRG9900326A.html>

**BW symptom and control:** <http://www.krishiworl.com/html/tomato.html>

**Bacterial wilt: Symptoms, control & recommendations, S.Priou International Potato Center:**  
[http://www.cipotato.org/Potato/Pests\\_Disease/BacterialWilt/symptcontrol.htm](http://www.cipotato.org/Potato/Pests_Disease/BacterialWilt/symptcontrol.htm)

#### **INTEGRATED MANAGEMENT OF POTATO bacterial wilt**

Dr. Sylvie Priou and MSc. Pedro Aley  
 International Potato Center (CIP), Apartado 1558, Lima 12, Peru.  
[http://www.cipotato.org/Potato/Pests\\_Disease/BacterialWilt/symptcontrol.htm](http://www.cipotato.org/Potato/Pests_Disease/BacterialWilt/symptcontrol.htm)

***Ralstonia solanacearum*\*, race 3-biovar 2 - Flétrissure bactérienne des pélargoniums :**  
<http://www.inspection.gc.ca/francais/sci/surv/data/ralsolf.shtml>

**New outbreak of *Ralstonia solanacearum* (race 3, biovar 2) in geraniums in U.S. and effects of biofumigants on *Ralstonia solanacearum* (race 1, biovar 1)** Tim Momol, Jeff Jones, and Steve Olson, University of Florida, IFAS, NFREC, Quincy, and Plant Pathology Department, Gainesville, Florida 06/13/03:  
[http://pubs.nrc-cnrc.gc.ca/cgi-bin/rp/rp2\\_abst\\_e?cjm\\_w04-042\\_50\\_ns\\_nf\\_cjm](http://pubs.nrc-cnrc.gc.ca/cgi-bin/rp/rp2_abst_e?cjm_w04-042_50_ns_nf_cjm)

**Symptoms of *Ralstonia solanacearum* on other solanaceous hosts**  
[http://www.aphis.usda.gov/ppq/ep/ralstonia/gallery/cultivated\\_hosts.html](http://www.aphis.usda.gov/ppq/ep/ralstonia/gallery/cultivated_hosts.html)

**USING ANTAGONISTIC BACTERIA FOR CONTROL OF BACTERIAL WILT OF TOMATO.** Kanjana Vichitrangoontavorn, Nuchanart Jonglaedha. Highland Plant Protection Section, Royal Project Foundation, Chiang Mai, Thailand  
<http://www.fftc.agnet.org/library/article/rh2003014a.html#1>

#### **Articles**

AVRDC 2003. Grafting tomatoes for production in the hot-wet season International Guide AVRDC pub. 03-551

Araujo, João Sebastião de P., GONCALVES, Karin da S., OLIVEIRA, Bruno C. de et al. Effect of acibenzolar-S-methyl on tomato bacterial wilt. Hort. Bras., Jan./Mar. 2005, vol.23, no.1, p.5-8. ISSN 0102-0536.

Bertolla, F., Frostegard, A., Brito, B., Nesme, X., and Simonet, P. 1999. During infection of its host, the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* naturally develops a state of competence and exchanges genetic material. Mol.Plant-Microbe Interact.12:467-472.

Brian E. Grey and Todd R. Steck The Viable But Nonculturable State of *Ralstonia solanacearum* May Be Involved in Long-Term Survival and Plant Infection 2001. Department of Biology, The University of North Carolina at Charlotte

Digat, B., and Escudie, A. 1967. Reconnaissance du flétrissement bactérien des Solanées aux Antilles Françaises. Phyt. Phytopharm.16:187-197.

Dittapongpith V. et Surat S. 2003. Detection of *R. solanacearum* in soil and weeds from commercial tomato fields using immunocapture and polymerase chain reaction 2003 J. Phytopathology 151, 239-246

- Dookun, A., Saumtally, S., and Seal, S. 2001. Genetic diversity in *Ralstonia solanacearum* strains from Mauritius using restriction fragment length polymorphisms. J. Phytopath. 149:51-55.
- Elfistone J.G. et Aley P. integrated Control of bacterial Wilt of potato in warm tropics of Peru Disease management: Biological and cultural methods
- Fegan, M., and Prior, P. 2004. How complex is the "*Ralstonia solanacearum* species complex", *In Press*
- Gorissen, A van Overbeek, L.S. et. van Elsas Can J.D. J. Pig slurry reduces the survival of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 in soil 2004. Microbiol./Rev. can. microbiol. 50(8): 587-593
- Hayward, A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annu. Rev. Phytopathol. 29:65-87
- Hayward, A.C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. J. Appl.Bact. 27:265-277.
- Hayward, A.C., Moffett, M.L. and Pegg, K.G. Bacterial wilt of ginger in Queensland. 1967. Queensland Journal of Agricultural and Animal Science 24; 1-5.
- Kishun R. Loss in yield of tomato due to Bacterial Wilt caused by *p.solanacearum* 1987. Indian Phytopathology Journal, 40, 152-155
- Hepperly P. *et al.* 2004. Producing Bacterial Wilt –Free Ginger in greenhouse culture . Cooperative extension service College of tropical agriculture and human resources . Soil and crop management 2004 SCM 8
- Kenshwal , R. ; Khare, U.K.Effect of fallowing on incidence of bacterial wilt of tomato in different soil types. Bhartiya Krishi A nusandhan Patrika, 2000, Vol. 15; No. 1,2 , pp. 60-64
- Jacques Vasse, Pascal Frey and André Trigalet. Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. (1995) MPMI, 8, 241-251.
- Le Quillec S., Fabre R., Lesourd D., 2004 Désinfecter à l'eau de Javel les eaux d'irrigation et de drainage en tomate sans risque de phytotoxicité. *PHM Revue Horticole*. 456, 48-52
- Li Hai Tao; Zou QingDao; LuShuWen; Mu Xin; Xu WenKui. The progress of research on bacterial wilt of tomato, Acta Hrticulturae Sinica 2001 , Vol 28, No Supplement., pp. 649-654
- Le Quillec S., Brajeul E., Sédilot C., Raynal C., Letard M., Grasselly D., 2002. Gestion des effluents des cultures légumières sur substrat. *Ed. Ctifl Paris*. 197 p.
- Le Quillec S., Fabre R., Lesourd D., 2003. La désinfection par chloration à l'eau de Javel – Phytotoxicité sur tomate et chlorate de sodium. *Infos-Ctifl*. 197, 40-43.
- Lhoste A., 1998. Désinfection à l'eau de javel des solutions nutritives recyclées d'une culture de gerbera pour la fleur coupée. *PHM Revue horticole*. 396, 28-29.
- Moffet M.L. *et al* Survival of *Pseudomonas solanacearum* Biovar 2 and 3 in soil: effect of moisture and soil type; 1983. Soil Biol Biochem. Vol 15 No 5 pp 587-591
- Maglione P., 1998. Un exemple de désinfection au chlore gazeux dans une exploitation de roses pour la fleur coupée. *PHM Revue horticole*. 396, 26-27.
- NicoleJ.F. et al A tentative explanation of the distribution on Reunion Island, of bacterial Wilt caused by either Biovar 2 or Biovar 3 of *Ralstonia solanacearum* 342-350

Nsika E. Mikoko: Tolérance au flétrissement bactérien chez la tomate induite après vitroculture  
Laboratoire de phytopathologie, Département de Biologie et Physiologie végétales, Faculté des Sciences, BP 69, Brazzaville, Congo.

Norman, D.J.Y., J.M.F. 1998. A distinct pathotype of *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* race 1, biovar1 entering Florida in pothos (*Epipremnum aureum*) cuttings. Can. J. Plant Pathol. 20:171-175.

Oliveira, J.R.d., and Moura, A.B. 1994. Doenças causadas por bactérias em cucurbitaceas [Diseases caused by bacteria on Cucurbitaceae]. Inform. Agropec. (Belo Horizonte) 17:54-57.

Peregrine W.T.H. et Ahmad K. 1982 Grafting , a simple technique for overcoming bacterial wilt in tomato. Tropical Pest management 28 71-76

Poncet C., Antonini C., Bettachini A., Bonnet G., Drapier J.M., Hericher D., Julien P., 1998. Recyclage des eaux de drainage en culture hors-sol : prise en compte du risque pathologique. *PHM Revue Horticole*. 396, 21-25.

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. PhD thesis, Rennes I, Rennes.

Pradhanang P.M.; Elphinstone J.G.; Foxy R.T.V Sensitive detection of *Ralstonia Solanacearum* in soil : comparision of different tehniques. Plant Pathology 2000 49 (4) ; 414-422

Pradhanang, P.M., Momol, M.T., Olson, S.M., and Jones, J.B. 2003. Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. Plant Disease 87: (In press).

Prior, P., and Fegan, M. 2002. Diversity and molecular detection of *Ralstonia solanacearum* race 2 strains, *In* Prior, P., et al., (eds.) APS Press, *in press*

Prior, P., Allen, C and Elphinstone, J.G. (eds.) 1998. Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects. Springer-Verlag Berlin/Heidelberg. ISBN 3-540-63887-3. 490 pp.

Pradeep Kumar ; Sood A.K. Integration of antagonistic rhizobacteria and soil solarization for the management of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* . Indian Phytopathology, 2001, Vol. 54, No. 1, pp. 12-15, 13 ref

Runia W.Th., Disinfection of recirculation water from closed production systems. Proceedings of the seminar on closed production systems, 1996 (ed. E.A. Van Os), IMAG-DLO report 96-01, 20-24

Runia, W.Th., Michielsen, J.M.G.P., Van Kuik, A.J. and Van Os, E.A., Elimination of root infecting pathogens in recirculation water by slow sand filtration. 1997. Proceedings 9th of international congress on Soilless culture, Jersey 395 – 408

Runia, W.Th, Van Os, E.A. and Bollen, G.J. Disinfection of drainwater from soilless cultures by heat treatment. 1988. Neth. J. Agri. Sci. 36, 231-238.

Seal S.E., *et al* Determination of *R. solanacearum* rDNA subgroups by PCR tests 1999. Plant Pathology 1999 , 48 115- 120

Schonfeld J. *et al*. 2003. Effect of compost addition and simulated solarisation on the fate of *R. solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. FEMS Microbiology ecology 43, 63-74

- Sinigaglia, C., Lopes, M.E.B.M., Almeida, I.M.G., and Neto, J.R. 2001. Bacterial wilt of summer squash (*Cucurbita pepo*) caused by *Ralstonia solanacearum* in the State of Sao Paulo, Brazil. Sum. Phytopath. 27:251-253.
- Schonfeld, J.Gelsomino A., Van Overbeek L.S., Gorissen A., Smalla K. Van Elsas J.D. Effects of compost addition and simulated on the fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil ; 2003.FEMS Microbiology Ecology 43 , 63-74
- Su, C.C., and Leu, L.S. 1995. Bacterial wilt of anthurium caused by *Pseudomonas solanacearum*. Plant Pathol. Bull. 4:34-38.
- Tika B.A. et Basnyat R.C. 1998. Effect of crop rotation and cultivar resistance on Bacterial Wilt of tomato in Nepal . Canadian Journal of plant pathology 30; 283-287
- Van Os, E.A., Bruins, M.A., Van Buuren, J., Van der Veer, D.J. and Willers, H. Physical and chemical measurements in slow sand filters to disinfect recirculating nutrient solutions. 1997. Proceedings 9th of international congress on Soilless culture, Jersey, 313-328
- Van Os, E.A., Stanghellini C. Water reuse in greenhouse horticulture, Water recycling and resource recovery 2002 ISBN: 1 84339 005 1, IWA publishing
- Van Os, E.A. Closed soilless systems for more efficient and environmental friendly production. 1994. Acta horticulturae, Wageningen, The Netherlands
- Wang J.F. *et al*, Worldwide evaluation of an international set of resistance sources to bacterial wilt in tomato. 270-275
- Wang J.F. *et* Hanson P.M. 2005. Breeding tomatoes for resistance to Bacterail Wilt, a global view. Proc; Ist IS Tomato Diseases Acta Horticulture 695, ISHS 2005
- Wohanka, W. Disinfection of recirculation nutrient solutions by slow sand filtration. 1995 Acta Horticulturae 382, 246-255
- Wicker, E., Grassart, L., Mian, D., Coranson Beaudu, R., Dufeal, D., Guilbaud, C., and Prior, P. 2002. *Cucumis melo*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita moschata*, and *Anthurium* spp, new hosts of *Ralstonia solanacearum* in Martinique ( French West Indies). Bact. Wilt Newsl. 17:20-21.
- Yamazaki H.; Kikuchi S.; Hoshina T. ; Kimura T Microbiological factors affecting the colonization of tomato roots by *Ralstonia Solanacearum*. Soil Science and Plant Nutrition Tokyo. 2000 ; 46 (3) : 643-653
- Yu, Q., Alvarez, A.M., Moore, P.H., Zee, F., Kim, M.S., de Silva, A., Hepperly, P.R., and Ming, R. 2003. Molecular diversity of *Ralstonia solanacearum* isolate from ginger in Hawaii. Phytopath. 93:1124-1130.

## ABREVIATION ET GLOSSAIRE

---

**Agent pathogène** : organisme (bactérie, virus, parasite...) ou substance pouvant causer une maladie

**Bactérie** : micro-organisme unicellulaire sans noyau (procaryote) dont le génome est constitué d'ADN circulaire. La bactérie contient un seul chromosome et éventuellement des plasmides. Les bactéries sont capables de se développer dans un environnement adapté : elles effectuent pour leur compte les synthèses cellulaires nécessaires à leur croissance et à leur multiplication, à la différence des parasites obligatoires et des virus.

**Biologie moléculaire** Champ de la biologie qui concerne les phénomènes biologiques en termes de d'interactions moléculaires (ou chimiques) ; elle diffère de la biochimie parce que cette dernière concerne principalement le comportement chimique des substances biologiquement importantes et de leurs analogues, et diffère des autres champs de biologie par son emphase sur les interactions chimiques, particulièrement celles impliquées dans la réplication de l'ADN, sa transcription en ARN, et sa traduction ou expression en protéine, c.-à-d., dans les réactions chimiques reliant le génotype et le phénotype. (D'après Stedman, 26ème ED)"

**Biofilms** : Les biofilms sont le résultat de la fixation et du développement de micro-organismes sur les surfaces, ou interfaces, exposées à des environnements humides non stériles. Les micro-organismes fixés synthétisent des polymères et forment ainsi des films de quelques micromètres à quelques millimètres d'épaisseur, totalement différents du milieu environnant et régis par une organisation interne complexe. Au sein des biofilms, les micro-organismes développent des caractéristiques propres qui échappent en grande partie aux méthodes d'investigation de la microbiologie traditionnelle en solution : modifications structurales, production d'exopolymères, communication chimique...

**Chélates** : molécule complexe instable

**CIRAD** : centre de coopération Internationale en recherche Agronomique pour le Développement

**DAF** : Direction de l'Agriculture et de la Forêt

**Dose D.M.I.** Dose Minimale d'Inhibition

**Dose C.M.I.** : Concentration Minimale d'Inhibition Concentration minimale inhibitrice : la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible de la souche bactérienne étudiée, les conditions de culture étant standardisées.

**ELISA** : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay. Test de pathogénicité

**Filtre à charbon actif** Le charbon actif en grain permet de capter certaines particules, mais ce type de filtre fonctionne principalement par adsorption; procédé par lequel les organismes vivants en présence dans l'eau se fixent aux grains de charbon.

**FDGDON** : Fédération Départementale des Groupements de Défense contre les Organismes Nuisibles

**Epinastie** : Courbure des feuilles d'une plante vers le bas du à une croissance partielle des cellules entre la face supérieur et la face inférieur des pétioles, en réponse à une immersion

**Hétérotrophes** qui se nourrit d'aliments organiques (pour les animaux et les végétaux non chlorophylliens)

**INRA** : Institut National de la Recherche Agronomique



**Souche :** Une souche est constituée par une succession de cultures dérivées d'une culture pure (le plus souvent une colonie parfaitement isolée). Une souche est généralement conservée dans une collection qui lui attribue un code d'identification.

**Microbiologie :** science qui traite des organismes microscopiques. Bactériologie, virologie, etc.

**UV :** rayons Ultra violet

**Pathogène :** qui peut provoquer une maladie

**PCR :** Polymerase Chain Reaction est une technique de réplication ciblée in vitro. Elle permet d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie.

**PCR- RFLP :** Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism

**Plante hôte :** plant capable de accueillir la bactérie sans exprimer des symptômes

**Phytobactériose :** bactériose des plants

**ppm :** cette expression anglo-saxonne donne la quantité de produit en masse par unité de masse multiplié par un million. 1 ppm représente donc 1 mg par kg. ou 1 mg/l

**Symptomatologie :** étude des symptômes d'une maladie

**Tellurique :** terricole qui vive dans le sol

**Thylles** excroissances cellulaires produites par les cellules vivantes du parenchyme bordant les vaisseaux. Elles obturent les vaisseaux devenus non fonctionnels.

**Turbidité :** propriété d'un liquide trouble ; opacité

**Ufc/ml :** Unité formant une colonie par millilitre

**Virus :** particule microscopique infectieuse possédant un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN) qui ne peut se répliquer qu'en pénétrant dans une cellule et en utilisant sa machinerie cellulaire. Les virus sont en général des micro-organismes pathogènes.

**VNC** état Viable Non Cultivable

# ANNEXES

## Liste des annexes :

**Tableau 1 : Tableau de correspondance des solutions selon les matières premières utilisées**

**Graphique 1 : Evolution des degrés chlorométrique en fonction de la température de stockage et du degré chlorométrique de l'eau de Javel**

**Tableau 2 : Efficacité de la désinfection des surfaces (sur une surface PROPRE)**

**La législation relative au chlore**

**Tableau 3 : Coût des différents systèmes de désinfection**

**Tableau 4 : Avantages et inconvénients des différents systèmes de désinfection**

**Tableau 5 : Nombre de pastilles dichloroisocyanure de sodium dihydrate nécessaire pour la désinfection d'un réservoir d'eau (1.5g chlore /pastille)**

**Tableau 6 : Les principaux problèmes qui peuvent être rencontrés dans l'utilisation des UV et les solutions possibles.**

---

**Tableau 7 : Utilisation de lampes UV :** Les vérifications énumérées dans le tableau doivent être effectuées à la fréquence indiquée

**Tableau 8 : TRAITEMENTS GENERAUX \* TRAIT. DES LOCAUX ET MATERIEL DE CULTURE (SERRES ET ABRIS)**

## ANNEXES SCIENTIFIQUES

**Le projet « MAITRISE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL »**

- ACTION 1 : « La désinfection de l'eau »
- ACTION 2 : « Effet phytotoxique des produits désinfectants »
- ACTION 3 et ACTION 4 : « Analyse du mode de propagation de la bactérie »
  - Expérimentation 1: « la contamination des substrats contaminés par l'eau d'irrigation »
  - Expérimentation 2 : « contamination par voie aérienne »
- ACTIVITE BACTERICIDE DES U.V.c VIS à VIS de *R. solanacearum*
- MISE AU POINT D'UN SYSTEME PREVENTIF DE DESINFECTION DE L'EAU

*Valorisation des résultats : saison fraîche 1<sup>er</sup> cycle*

*Valorisation des résultats : saison fraîche 2<sup>eme</sup> cycle*

*Valorisation des résultats : saison chaude 1<sup>er</sup> cycle*

*Valorisation des résultats : saison chaude 2<sup>eme</sup> cycle*

*Valorisation des résultats : saison chaude 3<sup>eme</sup> cycle*

**Tableau 1 : Tableau de correspondance des solutions selon les matières premières utilisées**

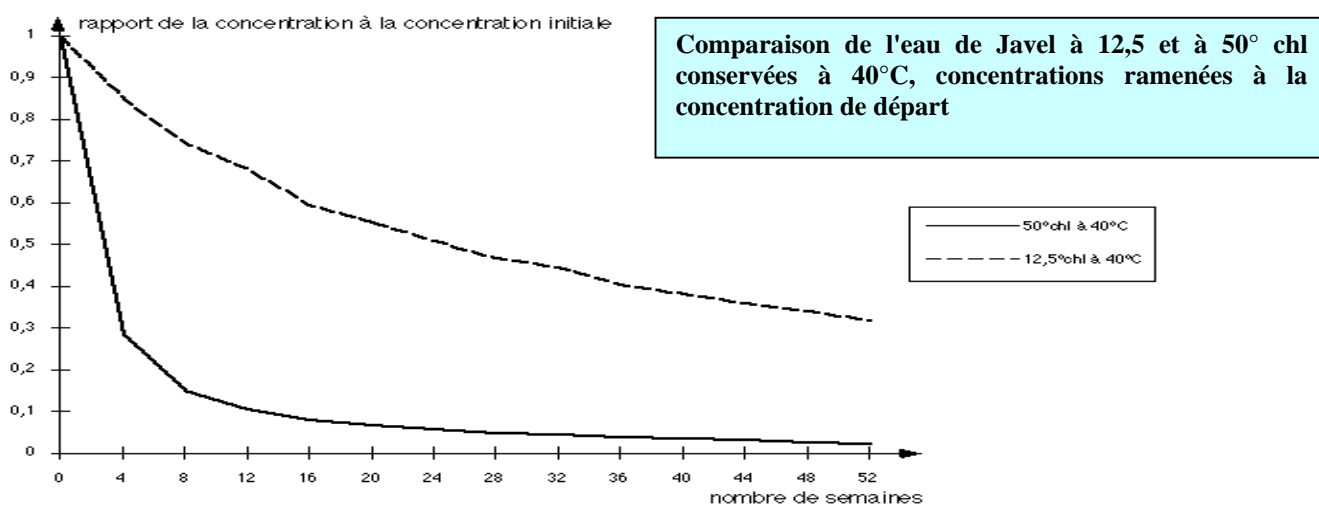
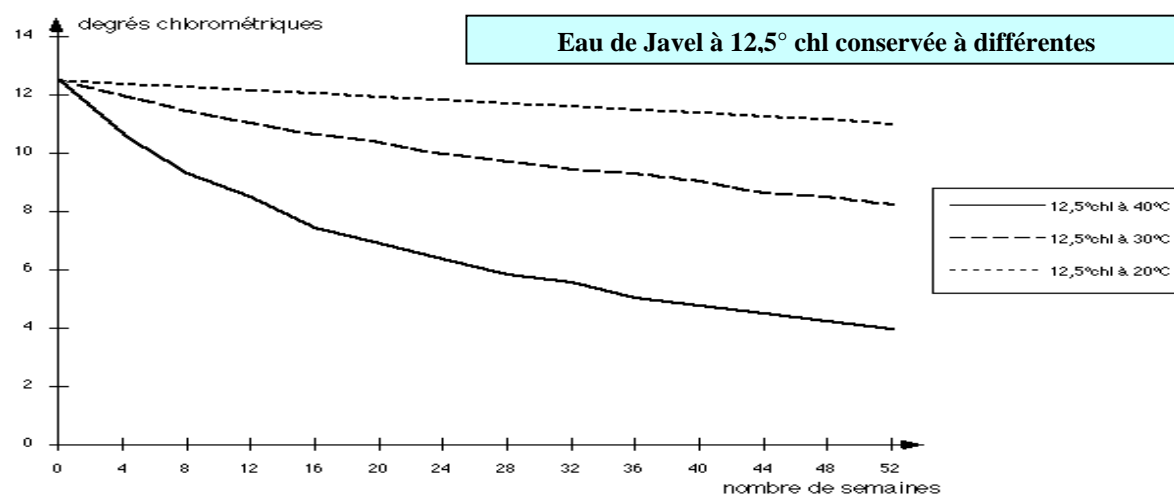
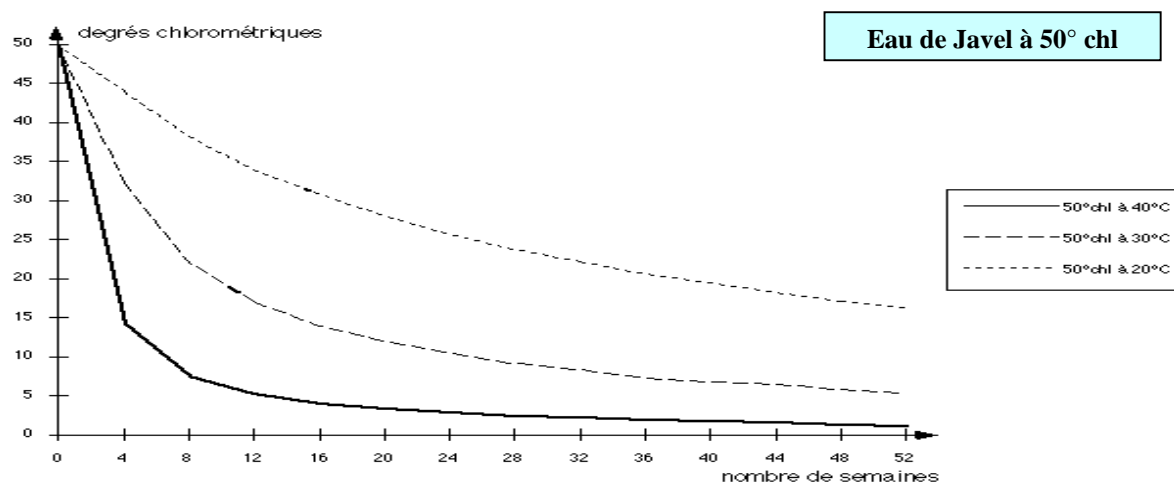
Source : J.N. Joffin ; B. Chevalier 2004 Hypochlorites et eaux de Javel : unités de concentration, préparation des solutions désinfectantes version 2002

		Hypochlorite classique	Hypochlorite classique	Hypochlorite 100°chl	Hypochlorite 100°chl
degré chl (litre de chlore par litre)	chlore actif en g par L	densité moyenne	% chlore actif	densité moyenne	% chlore actif
1	3,17	1,004	0,32	1,004	0,32
2	6,34	1,009	0,63	1,007	0,63
3	9,51	1,013	0,94	1,011	0,94
4	12,68	1,018	1,25	1,014	1,25
5	15,85	1,022	1,55	1,018	1,56
6	19,02	1,027	1,85	1,022	1,86
7	22,19	1,031	2,15	1,025	2,17
8	25,36	1,036	2,45	1,029	2,47
9	28,53	1,040	2,74	1,032	2,77
10	31,70	1,045	3,03	1,036	3,06
11	34,87	1,049	3,32	1,040	3,35
12	38,04	1,054	3,61	1,043	3,65
13	41,21	1,058	3,90	1,047	3,94
14	44,38	1,063	4,18	1,051	4,22
15	47,55	1,067	4,46	1,054	4,51
16	50,72	1,072	4,73	1,058	4,79
17	53,89	1,076	5,01	1,061	5,08
18	57,06	1,081	5,28	1,065	5,36
19	60,23	1,085	5,55	1,069	5,63
20	63,40	1,090	5,82	1,072	5,91
21	66,57	1,094	6,09	1,076	6,19
22	69,74	1,099	6,35	1,079	6,46
23	72,91	1,103	6,61	1,083	6,73
24	76,08	1,108	6,87	1,087	7,00
25	79,25	1,112	7,13	1,090	7,27
26	82,42	1,117	7,38	1,094	7,53
27	85,59	1,121	7,64	1,098	7,80
28	88,76	1,126	7,88	1,101	8,06
29	91,93	1,130	8,14	1,105	8,32
30	95,10	1,135	8,38	1,108	8,58
31	98,27	1,139	8,63	1,112	8,84
32	101,44	1,144	8,87	1,116	9,09
33	104,61	1,148	9,11	1,119	9,35
34	107,78	1,153	9,35	1,123	9,60
35	110,95	1,157	9,59	1,126	9,85
36	114,12	1,162	9,82	1,130	10,10
37	117,29	1,166	10,06	1,134	10,34
38	120,46	1,171	10,29	1,137	10,60
39	123,63	1,175	10,52	1,141	10,84
40	126,80	1,180	10,75	1,144	11,08
41	129,97	1,184	10,98	1,148	11,32

		Hypochlorite classique	Hypochlorite classique	Hypochlorite 100°chl	Hypochlorite 100°chl
degré chl (litre de chlore par litre)	chlore actif en g par L	densité moyenne	% chlore actif	densité moyenne	% chlore actif
42	133,14	1,189	11,20	1,152	11,56
43	136,31	1,193	11,43	1,155	11,80
44	139,48	1,198	11,64	1,159	12,04
45	142,65	1,202	11,87	1,163	12,27
46	145,82	1,207	12,08	1,166	12,51
47	148,99	1,211	12,30	1,170	12,73
48	152,16	1,216	12,51	1,173	12,97
49	155,33	1,220	12,73	1,177	13,20
50	158,50	1,225	12,94	1,181	13,42
51	161,67	1,229	13,16	1,184	13,66
52	164,84	1,234	13,36	1,188	13,88
53	168,01	1,238	13,57	1,192	14,10
54	171,18	1,243	13,77	1,195	14,33
60	190,20	-	-	1,217	15,63
93	294,81	-	-	1,309	22,52
100	317,00	-	-	1,320	24,02



**Graphique 1 : Evolution du degrés chlorométrique en fonction de la température de stockage et du degrés chlorométrique de l'eau de Javel**



**Tableau 2 : Efficacité de la désinfection des surfaces (sur une surface PROPRE)**

	Dilution d'eau de Javel à 2,7 % ou 9°chl	Durée de contact
Désinfection courante des sols dans le cadre d'un usage domestique	1/70 (0,12 °chl- 0,40 g.L-1 - 0,04 %)	5 à 10 min
Désinfection des sols, surfaces de travail et du matériel en structures de soin ou laboratoires	1/35 (0,24 °chl- 0,80 g.L-1 - 0,08 %)	5 à 10 min
Lavabos, bacs, éviers	1/15 (0,60 °chl- 2,0 g.L-1 - 0,2 %)	10 min
Désinfection virale (HIV, HBV)	1/15 à 1/6 (0,60 à 1,5 °chl- 2,0-5 g.L-1 - 0,2-0,5 %)	20 min au moins
Maladie de Creutz Feldt-Jakob	1/6 à pur (1,5 à 8 °chl- 5-25 g.L-1 - 0,5-2,5 %)	plusieurs heures (24 h)
Source : I. Muranyi-Kovacs (INSERM) et P. de Micco (Hôpital Salvador Marseille).		

## La législation relative au chlore

**UE** : La norme européenne 98/83/EC concernant l'eau potable ne contient pas de limites en ce qui concerne le chlore.

**OMS (Organisation Mondiale de la Santé)** : La norme de l'OMS en ce qui concerne l'eau potable stipule que 2 à 3mg/L de chlore devrait être ajouté à l'eau afin d'avoir une désinfection satisfaisante et une concentration résiduelle. La quantité maximum de chlore que l'on peut employer est de 5 mg/l. Pour une désinfection plus efficace, la quantité résiduelle de chlore libre devrait excéder 0.5 mg/l après au moins 30 minutes de temps de contact pour une valeur de pH inférieure ou égale à 8. (*WHO, Guidelines for drinking water quality. 3e editie*)

**USA** : Les normes nationales d'eau potable déclarent que la quantité résiduelle maximum de chlore est 4 mg/l. Jusqu'à récemment les Etats-Unis ont intensivement employé le gaz de chlore pour le traitement des eaux résiduelles. Aujourd'hui, l'utilisation du chlore a été dépassée. Ceci a été fait la plupart du temps en raison des sous-produits dangereux de désinfection, tels que les trihalométhanes (THM).

Cependant, le chlore est toujours le désinfectant principal aux Etats-Unis, parce qu'il est relativement bon marché. L'application du plan propre de gestion des risques de l'acte d'air pour le stockage des produits chimiques toxiques dicté par l'EPA (juin, 1999) et le pré-enregistrement du gaz de chlore comme pesticide (EPA, 2001) ont provoqué une augmentation de passages du chlore gazeux à l'hypochlorite de sodium dans les usines de traitement des eaux résiduaires. Aussi beaucoup de compagnies sont réticentes quand à faire un plan de gestion de risques pour le chlore gazeux car ceci prend beaucoup de temps et d'argent.

Tableau 4 : Avantages et inconvénients des différents systèmes de désinfection **Le risque et la gestion sanitaire en hors sol**, S. Martinez : <http://s.martinez.free.fr/V2/agro/0410-phyto.html>

Type de désinfection	UV	Ozone	Thermo-désinfection	Filtration lente	Chlore
	Totale, par destruction de l'ADN	Totale par oxydation des membranes cellulaires	Totale, par la chaleur	Partielle, par antagonisme microbien	Totale, par oxydation des membranes cellulaires
<b>Avantages</b>	Adapté à des débits élevés  Efficace si bien entretenu	Aucune filtration, ni abaissement du pH ne sont nécessaires  Utilisation du couple O <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> pour la destruction des pesticides présents	Le débit peut être important tout en conservant une bonne fiabilité	Pas de modification du pH et de la T° de sortie  Maintient un équilibre dans la solution nutritive Procédé biologique	Adapté à des débits élevés  Coûts d'investissement et de fonctionnement relativement faibles
<b>Inconvénients</b>	Efficacité liée à la transmission optique de la solution à traiter : mieux adapté aux eaux non turbides L'eau désinfectée doit être filtrée au préalable  Nécessité des automatismes pour le nettoyage des lampes et la variation de puissance en fonction de la densité optique de la solution à désinfecter Destruction possible des chélates de fer	Nécessite une bonne étanchéité du générateur d'O <sub>3</sub> , l'O <sub>3</sub> étant toxique.  Consomme de l'énergie	Consomme de l'énergie  Exige une modification du pH  Augmente la T° de la solution en sortie	Désinfection partielle  Faible débit : 100-250 L/h/m <sup>2</sup> de filtre  Pour exploitation de faible dimension	Installation selon des normes précises de sécurité pour le chlore gazeux qui est un gaz très toxique Risque de phytotoxicité en cas de surdosage  Nécessité de contrôler le chlore actif résiduel  Concentration d'utilisation fonction de la qualité de l'eau (charges en matière organique)
<b>Remarques</b>	2 procédés : haute pression / basse pression  Désinfection totale quand le procédé est bien entretenu et bien dimensionné  Dose : 100-200 mJ/cm	Dose : 8-10 g d'O <sub>3</sub> /m <sup>3</sup> d'eau + 0.15 g d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /g d'O <sub>3</sub>	Dose : 95°C pendant 30 secondes	Un nouveau procédé à débit élevé commence à être testé	Le bioxyde de chlore serait à étudier (pouvoir oxydant très élevé)  Utilisé à la dose de 4-5 ppm de chlore en culture de roses. Non utilisé en légumes sous serre. En cours d'étude en pépinière (aspersion)
<b>Coût d'installation</b>	20-27 000 € HT	23-38 000 € HT	23-38 000 € HT	6 800 € HT	3-5 300 € HT
<b>Débit désinfecté</b>	3-7 m <sup>3</sup> /h	3-6 m <sup>3</sup> /h	3-10 m <sup>3</sup> /h	100-250 L/h/m <sup>2</sup> de filtre	
<b>Coût d'utilisation</b>	0.08 €/m <sup>3</sup>	0.02 €/m <sup>3</sup>	0.12-0.15 €/m <sup>3</sup>	0 €/m <sup>3</sup>	0.01 €/m <sup>3</sup>

<b>Tableau 5 : Nombre de pastilles dichloroisocyanure de sodium dihydrate nécessaire pour la désinfection d'un réservoir d'eau (1.5g chlore /pastille)</b>				
<b>volume réservoir (L)</b>	<b>dose chlore (ppm)</b>	<b>dose chlore g/L</b>	<b>g chlore/ réservoir</b>	<b>Nbre de pastilles</b>
10	30	0.03	0.3	0.45
20	30	0.03	0.6	0.9
30	30	0.03	0.9	1.35
50	30	0.03	1.5	2.25
70	30	0.03	2.1	3.15
100	30	0.03	3	4.5
1000	30	0.03	30	45
2000	30	0.03	60	90
3000	30	0.03	90	135
5000	30	0.03	150	225
6000	30	0.03	180	270
1000	30	0.03	30	45
10	60	0.06	0.6	0.9
20	60	0.06	1.2	1.8
30	60	0.06	1.8	2.7
50	60	0.06	3	4.5
70	60	0.06	4.2	6.3
100	60	0.06	6	9
1000	60	0.06	60	90
2000	60	0.06	120	180
3000	60	0.06	180	270
5000	60	0.06	300	450
6000	60	0.06	360	540

**Tableau 6 : Les principaux problèmes qui peuvent être rencontrés dans l'utilisation des UV et les solutions possibles.**

Problèmes	Causes possibles
Aucune fonction	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de voltage à l'alimentation</li> <li>• Disjonction en position <i>arrêt</i></li> </ul>
Lumière pilote jaune ou rouge allumée	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Câble (fiche) de la sonde d'intensité coupé ou défectueux</li> <li>• Sonde d'intensité défectueuse</li> <li>• Lampe (s) UV mal insérée ou non alimentée</li> </ul>
Lampes UV ne s'allument pas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lampe UV défectueuse (manchon de quartz brisé, électrodes défectueuses, etc.), vie de lampe dépassée ou départ/arrêt trop fréquent.</li> <li>• Mauvais contact (fiche de raccordement, douille, etc.)</li> <li>• Dispositifs d'alimentation de lampe (ballaste, transformateur, etc.) défectueux</li> <li>• Voltage d'alimentation à moins de 200 volts</li> <li>• Température de l'eau trop basse</li> </ul>
Intensité UV trop faible	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Absorption UV trop haute (mauvaise qualité de l'eau)</li> <li>• Lampes UV ont atteint la fin de la vie utile</li> <li>• Nettoyage chimique nécessaire</li> <li>• Humidité ou poussière à l'intérieur du manchon de quart</li> <li>• Sonde d'intensité ou tube de la sonde défectueux</li> </ul>
Réactions « confuses » du lecteur UV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bulles d'air dans l'eau</li> <li>• Signal analogique de sortie surchargé</li> <li>• Voltage d'alimentation ou qualité de l'eau (absorption UV) en variation permanente</li> <li>• Signal de la sonde ou l'électronique influencé par une forte source externe d'interférence (fréquence variable ou courant pulsé)</li> </ul>
« HAUTE TEMPÉRATURE » affichée	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Température de la pièce à plus de 30°C</li> <li>• Filtre du système de refroidissement du panneau de contrôle à nettoyer</li> <li>• Ventilateur ou interrupteur de température défectueux</li> </ul>
Source : Modèle de manuel d'exploitation des installations de production d'eau potable MAMSL/MENV – Octobre 2003	

**Tableau 7 : Utilisation de lampes UV : Les vérifications énumérées dans le tableau doivent être effectuées à la fréquence indiquée**

Vérification ou intervention	Fréquence			Remarques
	Jour	Sem.	Mois	
Débits <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ moyen journalier</li> <li>➤ moyen de nuit</li> <li>➤ Pointe horaire sur chaque plage de 4 heures</li> </ul>	X X X			
Réacteurs UV <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ vérification visuelle et auditive</li> <li>➤ lecture et compilation des temps de marche</li> <li>➤ vérification ampérage et voltage</li> <li>➤ consommation électrique</li> </ul>	X X		X X	La lecture des temps de marche permet de planifier les cycles de lavage chimique, l'alternance de marche de chacun des réacteurs et le changement des lampes
Panneau de contrôle <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ vérification de l'opération de l'interface opérateur</li> <li>➤ vérification intérieure</li> </ul>		X	X	Surveiller la présence de traces de condensation, de câble débranché ou de surchauffe.
Source : Modèle de manuel d'exploitation des installations de production d'eau potable MAMSL/MENV – Octobre 2003				



**Tableau 8 : TRAITEMENTS GENERAUX \* TRAIT. DES LOCAUX ET MATERIEL DE CULTURE (SERRES ET ABRIS) \* BACTERICIDE**

Source = <http://e-phy.agriculture.gouv.fr> MAAPR/e-phy 31/01/2007 Code usage: 11016301

Spécialité	Société	Substance	Dose d'emploi	Unité	Date référence
<a href="#"><u>AGRI'GERM 1000</u></a>	LABORATOIRES CEETAL	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 32,1 G/L+Formaldehyde 131,6 G/L+Glutaraldehyde 133,7 G/L	0.500	%	<a href="#"><u>06/06/2003</u></a>
<a href="#"><u>AGRIGERM 2000</u></a>	LABORATOIRES CEETAL	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 100 G/L+Formaldehyde 31,5 G/L+Glutaraldehyde 40 G/L+Glyoxal 32 G/L	0.750	%	<a href="#"><u>29/06/2006</u></a>
<a href="#"><u>AGROXYDE II</u></a>	LABORATOIRES CEETAL	Acide acetique 194,4 G/L+Peroxyde d'hydrogene 157,5 G/L+Acide peracetique 58,6 G/L	0.250	%	<a href="#"><u>03/12/2002</u></a>
<a href="#"><u>ALCA CHLORE 0147</u></a>	FABRINOR	Hypochlorite de sodium 348 G/L	1.000	%	<a href="#"><u>01/12/2000</u></a>
<a href="#"><u>ARVO BVE</u></a>	QUARON	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 5 %+Glutaraldehyde 17,5 %+Chlorure de n-alkyl dimethyl benzyl ammonium 4 %	0.250	%	<a href="#"><u>03/02/2006</u></a>

*Octroi d'une dérogation de 120 jours sur la base du Règlement 1335/2005 de la Commission du 12 Août 2005 et de l'article R253-50 du Code Rural*

<a href="#"><u>ARVO HDL</u></a>	QUARON	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 9 % + Glutaraldehyde 20 %	0.200	%	<a href="#"><u>01/02/2001</u></a>	
<a href="#"><u>AVDN 5</u></a>	FABRINOR	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 45 G/L	1.000	%	<a href="#"><u>01/10/1997</u></a>	
<a href="#"><u>BACTESAM</u></a>	MAROSAM	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 45 G/L	1.000	%	<a href="#"><u>01/10/1997</u></a>	
<a href="#"><u>BACTIPAL ELV</u></a>	BIOXAL	Acide acétique 19,44 % + Acide peracétique 5,86 % + Peroxyde d'hydrogene 15,75 %	0.250	%	<a href="#"><u>04/06/2004</u></a>	
<a href="#"><u>BAKCIL</u></a>	KICHIM	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 45 G/L	1.000	L/HL	<a href="#"><u>08/06/2001</u></a>	
<a href="#"><u>BEST-TOP</u></a>	CENTRE TECHNIQUE D'HYGIENE	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 32,1 G/L + Formaldehyde 131,6 G/L + Glutaraldehyde 133,7 G/L	0.500	%	<a href="#"><u>08/06/2001</u></a>	
<a href="#"><u>CARSANIT</u></a>	CENTRE TECHNIQUE D'HYGIENE	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 3 % + Formaldehyde 12,5 % + Glutaraldehyde 12,5 %	0.500	%	<a href="#"><u>06/12/2002</u></a>	
<a href="#"><u>CINE 102</u></a>	CINE S.A.	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 4,5 %	1.000	%	<a href="#"><u>01/12/2000</u></a>	

<a href="#"><u>D.S.AL.</u></a>	ZEP INDUSTRIES	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 45 G/L	1.000	%	<a href="#"><u>06/10/2003</u></a>	
<a href="#"><u>DESOGERME 3A VEGETAUX</u></a>	LABORATOIRES A.C.I.	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 4,55 %+Formaldehyde 12,8 %+Glutaraldehyde 2,13 %+Glyoxal 1,82 %	0.500	%	<a href="#"><u>06/06/2003</u></a>	
<a href="#"><u>DESOGERME MICROSERRE</u></a>	LABORATOIRES A.C.I.	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 28 G/L+Chlorure d'alkyl dimethyl benzyl ammonium 100 G/L+Glutaraldehyde 100 G/L	0.500	%	<a href="#"><u>07/10/2005</u></a>	
<i>Octroi d'une dérogation de 120 jours sur la base du Règlement 1335/2005 de la Commission du 12 Août 2005 et de l'article R253-50 du Code Rural</i>						
<a href="#"><u>DESOGERME SANI SERRE</u></a>	LABORATOIRES A.C.I.	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 35 G/L+Chlorure d'alkyl dimethyl benzyl ammonium 10 G/L+Formaldehyde 120 G/L+Glutaraldehyde 30 G/L	0.125	%	<a href="#"><u>07/10/2005</u></a>	
<i>Octroi d'une dérogation de 120 jours sur la base du Règlement 1335/2005 de la Commission du 12 Août 2005 et de l'article R253-50 du Code Rural</i>						
<a href="#"><u>FOUR-SANN</u></a>	FARM'APRO	Acide acetique 19,44 %+Acide peracetique 5,86 %+Peroxyde d'hydrogene 15,75 %	0.250	%	<a href="#"><u>02/10/2003</u></a>	

<a href="#"><u>JAPUR</u></a>	JAGRI	Acide acétique 10 % + Acide peracétique 5 % + Peroxyde d'hydrogène 20 %	1.000	%	<a href="#"><u>04/02/2000</u></a>	
<a href="#"><u>MENNO FLORADES</u></a>	MENNO CHEMIE VERTRIEBSGES M.B.H.	Acide benzoïque 9 %	1.000	%	<a href="#"><u>03/12/1999</u></a>	
<i>Temps minimum de contact : 16 heures</i>						
<a href="#"><u>OKCITAR</u></a>	KICHIM	Hypochlorite de sodium 348 G/L	1.000	%	<a href="#"><u>05/10/2001</u></a>	
<a href="#"><u>OUT GERMES</u></a>	LABORATOIRES CEETAL	Chlorure de didecyl diméthyl ammonium 50 G/L + Formaldéhyde 16 G/L + Glutaraldéhyde 20 G/L + Glyoxal 16 G/L	0.500	%	<a href="#"><u>06/06/2003</u></a>	
<a href="#"><u>OXYCIDE 0110</u></a>	FABRINOR	Acide acétique 8 % + Acide peracétique 5 % + Peroxyde d'hydrogène 28 %	2.000	L/HL	<a href="#"><u>07/06/2002</u></a>	
<a href="#"><u>PHENOSEPTYL POV</u></a>	JOHNSON DIVERSEY	Orthophénylphénol 250 G/L	0.500	%	<a href="#"><u>06/06/2003</u></a>	
<a href="#"><u>PROXITANE AHC SERRES ET ABRIS</u></a>	SOLVAY ELECTROLYSE FRANCE	Acide acétique 110 G/L + Acide peracétique 55 G/L + Peroxyde d'hydrogène 220 G/L	0.050	%	<a href="#"><u>01/02/1997</u></a>	
<a href="#"><u>VIRAGRI PLUS</u></a>	JOHNSON DIVERSEY	Glutaraldéhyde 15 % + Chlorure d'alkyl diméthyl benzyl ammonium 8 % + Chlorure de didecyl	0.250	%	<a href="#"><u>07/10/2005</u></a>	

dimethyl ammonium 1,5 %						
<i>Autorisation pour une période de 120 jours sur la base de l'article R253-50 du Code Rural</i>						
<a href="#"><u>VIRKON</u></a>	ANTEC INTERNATIONAL LTD	Acide sulfamique 5 %+ Monopersulfate de potassium 22,5 %+Acide malique 10 %	1.000	L/HL	<a href="#"><u>01/12/2000</u></a>	
<a href="#"><u>VIRUTEC</u></a>	TEC SAN EURO	Chlorure de didecyl dimethyl ammonium 32,1 G/L+Formaldehyde 131,6 G/L+Glutaraldehyde 133,7 G/L	1.000	%	<a href="#"><u>06/06/2003</u></a>	
<a href="#"><u>ZAL PERAX SU 380</u></a>	JOHNSON DIVERSEY	Acide peracetique 55 G/L+Peroxyde d'hydrogene 220 G/L	0.050	%	<a href="#"><u>05/02/1998</u></a>	



## **ANNEXES SCIENTIFIQUES**

## Maitrise du fletrissement bacterien en culture hors sol de tomate

### ACTION 1 : LA DESINFECTION DE L'EAU

//////////  
Durée : Octobre –décembre 2002

Auteurs :, A. CARIGLIA, J. LUISETTI (INRA-CIRAD),

Partenaires : CIRAD-FLHOR , UNIVERSITE DE LA REUNION, CHAMBRE D'AGRICULTURE, SPV, FDGDEC  
//////////

### A - CADRE GENERAL DE L'ETUDE ET OBJECTIFS

A la Réunion, le développement du flétrissement bactérien tellurique est un facteur limitant reconnu de la culture de tomate en plein champ. Les techniques culturales s'orientent vers la culture hors-sol comme alternative à la culture en plein champ et ce particulièrement pour la tomate. Toutefois, comme en plein champ, une contamination des serres reste possible car la bactérie peut être véhiculée par l'eau ou être présente dans le substrat.

Ce projet a comme objectif la mise au point des techniques culturales qui permettent de maintenir les serres de production exemptes de *R. solanacearum*, agent du flétrissement bactérien, mais aussi de maîtriser le problème en cas d'introduction.

Il prévoit plusieurs actions sur une période de trois années.

Puisque l'eau d'irrigation est une source potentielle de contamination, la désinfection se pose comme méthode préventive de lutte. La première action donc, concerne la **désinfection de l'eau d'irrigation contaminée par *R. solanacearum***. A travers l'étude de l'activité *in vitro* de différents produits désinfectants vis-à-vis de *R. solanacearum*, l'objectif de cette action a été d'identifier une gamme de produits efficaces et disponibles dans le commerce mais aussi de préciser les doses devant être utilisés.

Le facteur étudié est l'**activité antibactérienne** de différents produits désinfectants disponibles dans le commerce face à la bactérie, soit au total 12 produits.

Cette action a eu lieu au laboratoire du CIRAD, dans le cadre du Pole de Protection de Plantes, St Pierre.

### B - MATERIEL ET METHODE

#### 1. Les produits désinfectants

Les produits désinfectants ont été retenus en fonction de leur efficacité bactérienne supposée ou avérée ; le choix dépend de la nature des matières actives, et de leur disponibilité dans le commerce.

**Tableau 1 : Caractéristiques des produits retenus pour les expérimentations**

NOM COMMERCIAL	MATIERE ACTIVE	FOURNISSEUR	DOSE CONSEILLÉE PAR LE FABRICANT
EAU DE JAVEL	Chloré	Eau de Javel (18°)	30 ppm
H.T.H ( High Test Hypochlorite)	Chloré	Hypochlorite de Calcium (HTH),	3 ppm Cl <sub>2</sub>
ALCACHLORE	Dérivé chloré (Préparation en eau ionisée à base d'hydroxyde de potassium de sels alcalins stabilisants d'hypochlorite de sodium)	SRPI	2% 20000 ppm
SR Javel	chlore et dichloroisocyanure de sodium dihydrate	SRPI	( 2 pastilles ) 3,3gCl /10l d'eau (300 ppm)
HIBITANE	mélange de chlorures d'alcolyl-dimethylammonium	produit pharmaceutique, SSL Helthcare	0,5% en solution aqueuse (5000ppm)
MERCRYL	solution aqueuse de chlorhexidine + sels ammonium quaternaire	produit pharmaceutique MENARINI	Pure – diluée au 1/10ème
Liqueur de DAKIN	Solution d'hypochlorite de sodium, quantité correspondant à chlore actif: 0,5 g /100ml	produit pharmaceutique, Cooper	0,5gCL /100g (5000ppm)
TOMAXIL	peroxyde d'hydrogene	Elf Actochem	3,21l/ha dans 200l d'eau (16000 ppm)
DOM'EAU BIO PURE	peroxyde d'hydrogene	Dom Eau	100 ppm
Desogerm MICROSERRE	sels d'ammonium quaternaire	LAORATOIRES A.C.I.	2500 ppm
ADV N 5	sels d'ammonium quaternaire	SRPI	5000 ppm
SRD Mousse	sels d'ammonium quaternaire	SRPI	5000 ppm

## **2. Choix de la gamme des concentrations des produits désinfectants**

Elle est fonction de ce que l'on sait ou suppose de l'activité antibactérienne de matière active (Tableau 1).  
Neuf concentrations ont été retenues pour chaque produit. (Tableau 2 )

**Tableau 2 : Gamme des concentrations retenus selon le produit désinfectants .**

PRODUITS	CONCENTRATION FINALE (ppm)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
EAU DE JAVEL	0,9	1,9	3,9	7,8	15	31	62	125	250
H.T.H	0,9	1,9	3,9	7,8	15	31	62	125	250
HIBITANE	9,7	19	39	78	156	312	625	1250	2500
MERCRYL	1,9	3,9	7,8	15	31	62	125	250	500
Liquueur de DAKIN	1,9	3,9	7,8	15	31	62	125	250	500
TOMAXSIL	390	781	1562	3125	6250	12500	25000	50000	100000
DOM'EAU Pure	3,15	6,25	12,5	25	50	100	200	400	800
Desogerm MICROSERRE	7,8	15	31	61	125	250	500	1000	2000
SR Javel	0,9	1,9	3,9	7,8	15	31	62	125	250
AVDN 5	17	35	70	140	281,25	562,5	1125	2250	4500
SRD Mousse	17	35	70	140	281,25	562,5	1125	2250	4500
ALCACHLORE	0,9	1,9	3,9	7,8	15	31	62	125	250

## **3. Les deux types d'expérimentation**

L'évaluation de l'efficacité des produits désinfectants a été faite sous deux angles :

1. Activité bactéricide évaluée en milieu gélose selon la méthode de référence pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (C.M.I.) de bactéries.
2. Activité bactéricide et/ou bactériostatique évaluée en milieu liquide pour une durée de contact variable.

## **C - EXPERIMENTATION 1 : DETERMINATION DE LA C.M.I.**

### **1. Méthodologie**

- Les différentes dilutions des désinfectants, sont incorporées à un milieu de culture (LPGA) dans des boîtes de Pétri.
- L'activité antibactérienne est évaluée vis-à-vis des 3 populations réunionnaises de *R.solanacearum* (Race 1, biovar 1, race 1 biovar 3 et race 3 biovar 2) dosées à 6 concentrations différentes ( de  $10^3$  à  $10^9$  ufc/ml).
- L'utilisation d'un enseigneur multipoint permet d'inoculer une même boîte de Pétri avec les six concentrations des trois souches bactériennes ( $10\mu\text{l}$ ), plus les trois témoins. Deux répétitions sont ensemencées pour chaque concentration de chaque produit.
- Après trois jours d'incubation, notons la croissance des cultures en comparaison avec celle des témoins.
- La C.M.I. est la plus faible concentration qui inhibe totalement la croissance bactérienne .

### **2. Résultats et discussions**

Nous avons évalué l'efficacité bactéricide de chaque produit face aux différentes concentrations bactériennes et nous avons déterminé une *minimale inhibitrice* (C.M.I.) à partir de laquelle la croissance des bactéries est inhibée. (Tableau 3).

Pour les produits à base de chlore comme l'eau de javel et Alcaclore, ces valeurs sont relativement faibles mais on doit se poser la question de leur validité car les produits ont été incorporés dans un milieu à 42-45° C. En effet, le chlore volatil a pu être en partie ou totalement éliminé lors de l'opération. Les résultats des autres produits sont conformes à ce que l'on attendait.

**Tableau 3 : La Concentration Minimale Inhibitrice**

<b>PRODUITS DESINFECTANTS</b>	<b>C.M.I.</b>
EAU DE JAVEL	31
H.T.H	31
SR Javel	31
ALCACHLORE	31
DOM'EAU Pure	100
Mercryl	125
Liqueur de Dakin	250
Desogerm MICROSERRE	250
HIBITANE	312
AVDN 5	562,5
SRD Mousse	562,5
Tomaxil	12500



## **D - EXPERIMENTATION 2 : EVALUATION DE L'EFFICIENCE ANTI-BACTERIENNE EN FONCTION DE LA DUREE DE CONTACT**

### **1. Méthodologie**

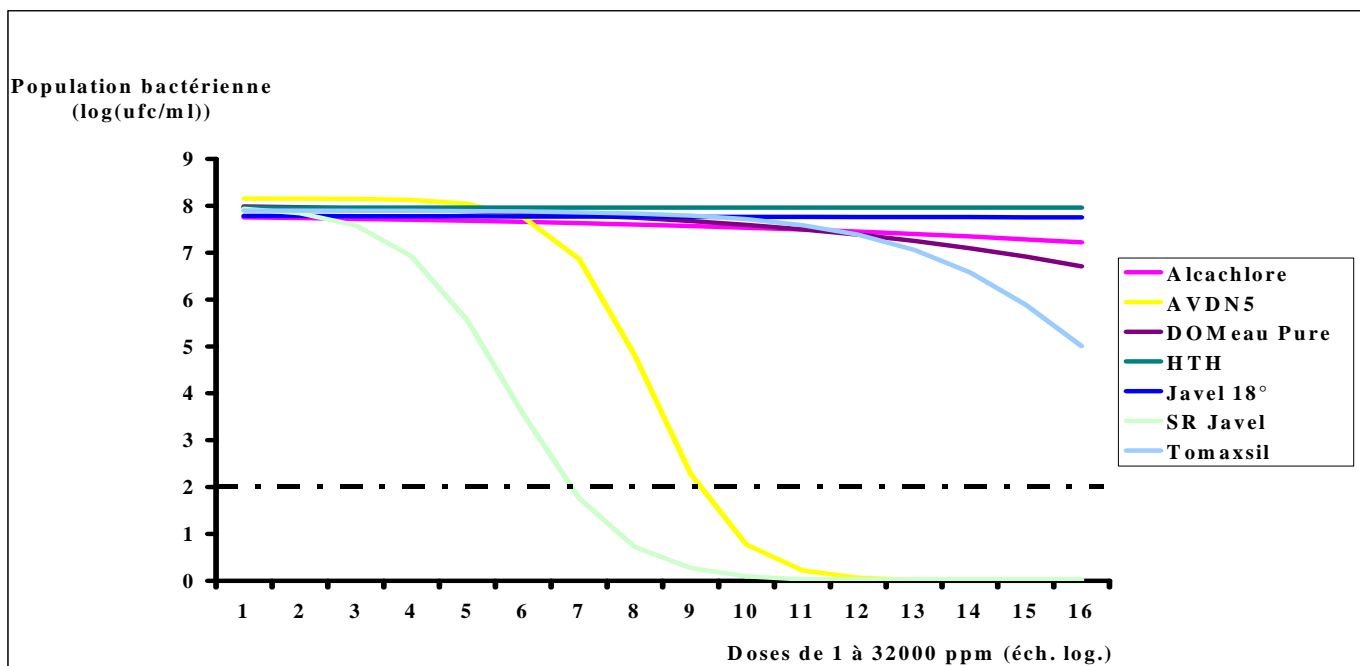
- sur la base des résultats obtenus lors de la première expérimentation, les 6 concentrations les plus efficaces sont retenues pour chaque produit.
- seule la souche bactérienne de race 1 biovar 3 est utilisée à la concentration finale de  $10^9$  ufc/ml.
- la suspension bactérienne est introduite avec les désinfectants dans un milieu liquide (TRIS).
- après un contact d'une durée échelonnant de < 1mn à 5mn, 15mn, 1h, 6h, un échantillon est prélevé dilué puis étalé sur milieu SEQUERA .

### **2. Résultats et discussion**

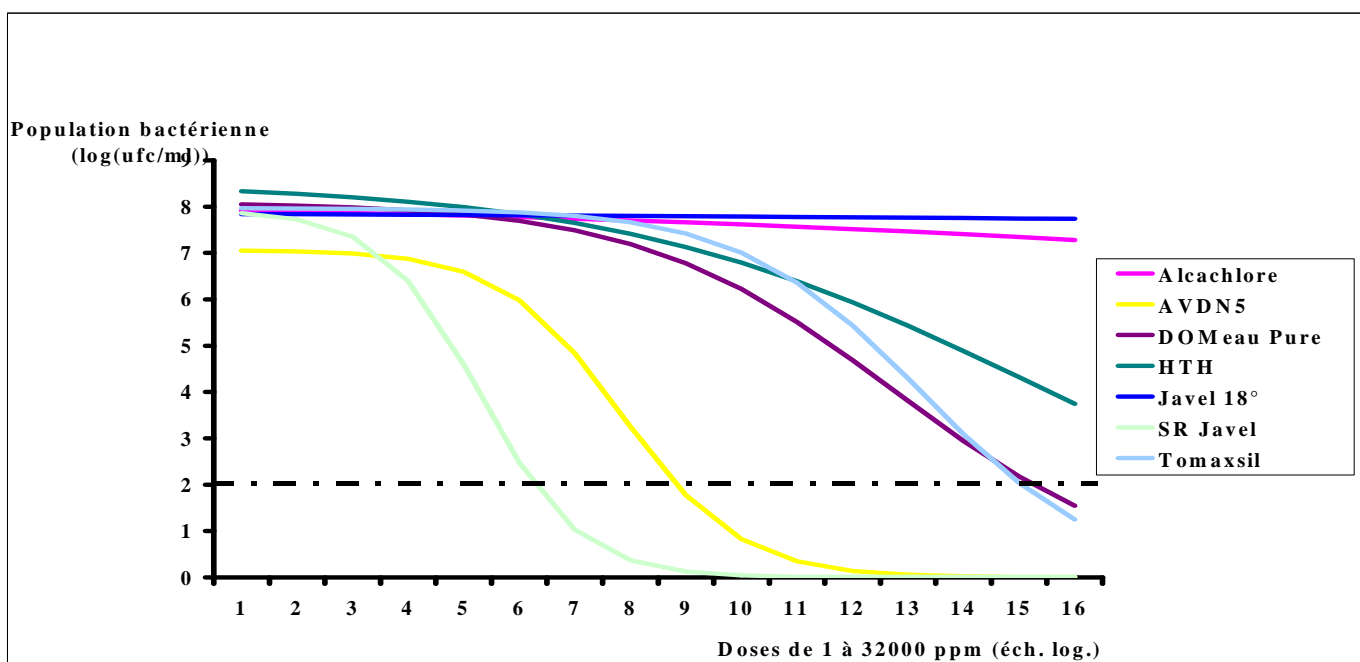
- ***l'efficacité des doses des produits et de la durée de contact face la population bactérienne :***
  - Les résultats sont utilisés pour modéliser l'évolution des populations en fonction de la dose et de la durée de contact.
  - La comparaison des graphiques illustrant cette évolution permet d'évaluer l'activité bactéricide des désinfectants.
  - Le SR Javel et l'AVND5 ont une activité antibactérienne significative dès la première minute de contact puisque des concentrations de 64 ou 256 ppm entraînent une destruction de la bactérie, (fig.1).
  - le TOMAXIL et DOM EAU BIOPURE montrent une action plus limitée qui n'est significative qu'après 5 ou 15 minutes de contact, (Fig. 2-3).
  - pour l'HTH, la dose requise est élevée ( $> 2000$  ppm) pour qu'un effet significatif soit observé après 15 min de contact, (Fig.3).
  - enfin si l'eau de Javel commence à être efficace à forte concentration après 1 heure de contact, l'ALCACLHORE reste peu actif même après 6 heures de contact, (Fig.4-5).

**Figures de 1 à 5 : Influence de la nature et de la dose du désinfectant et de la durée de contact sur la concentration bactérienne**

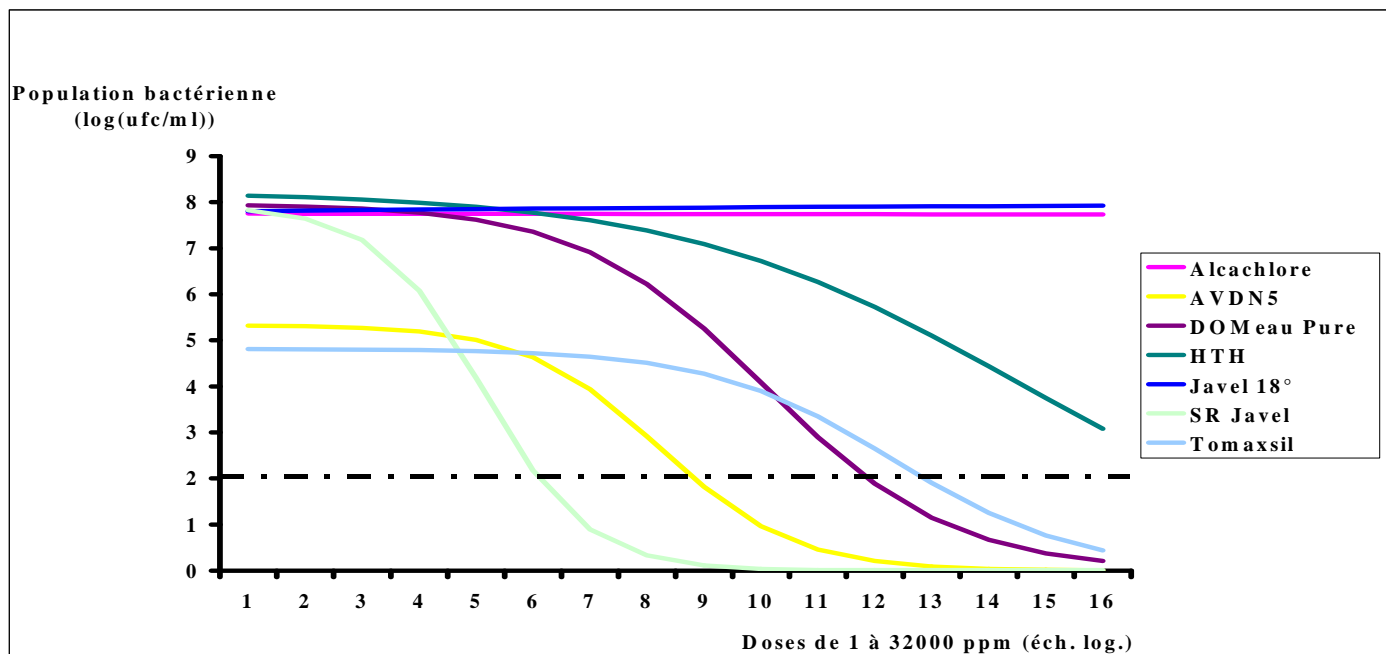
**Figure 1 : Durée de contact inférieure à 1 minute**



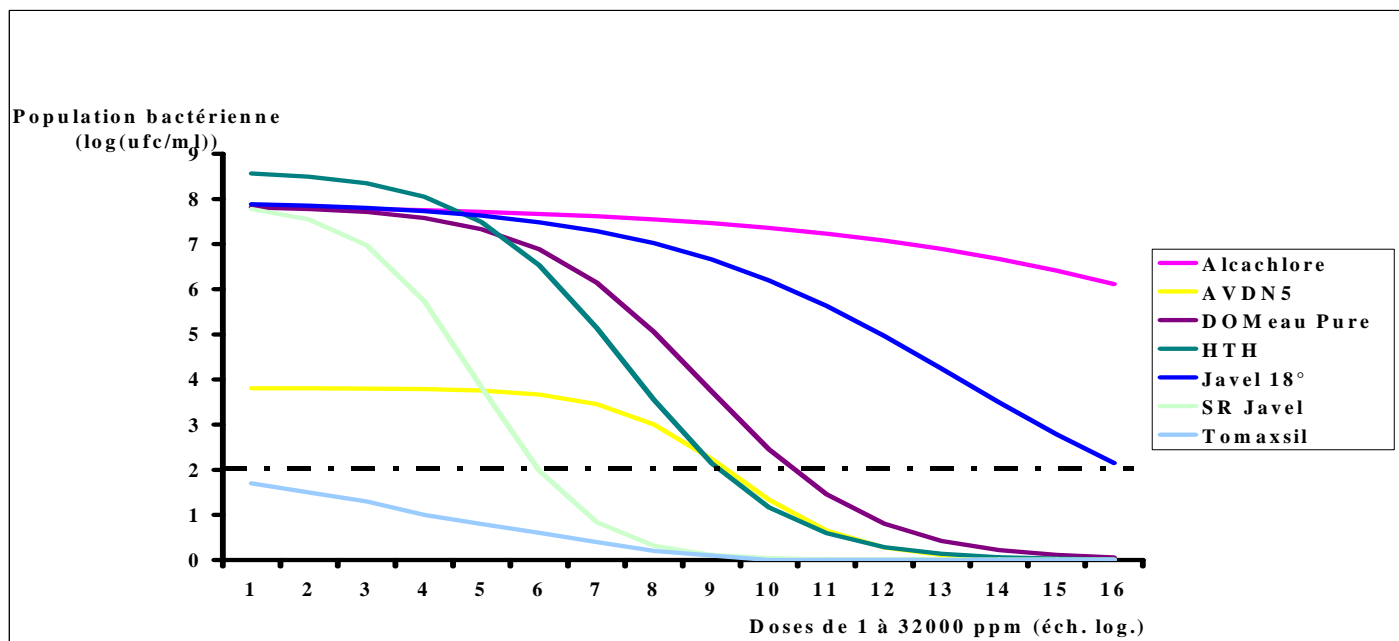
**Figure 2 : Durée de contact de 5 minutes**



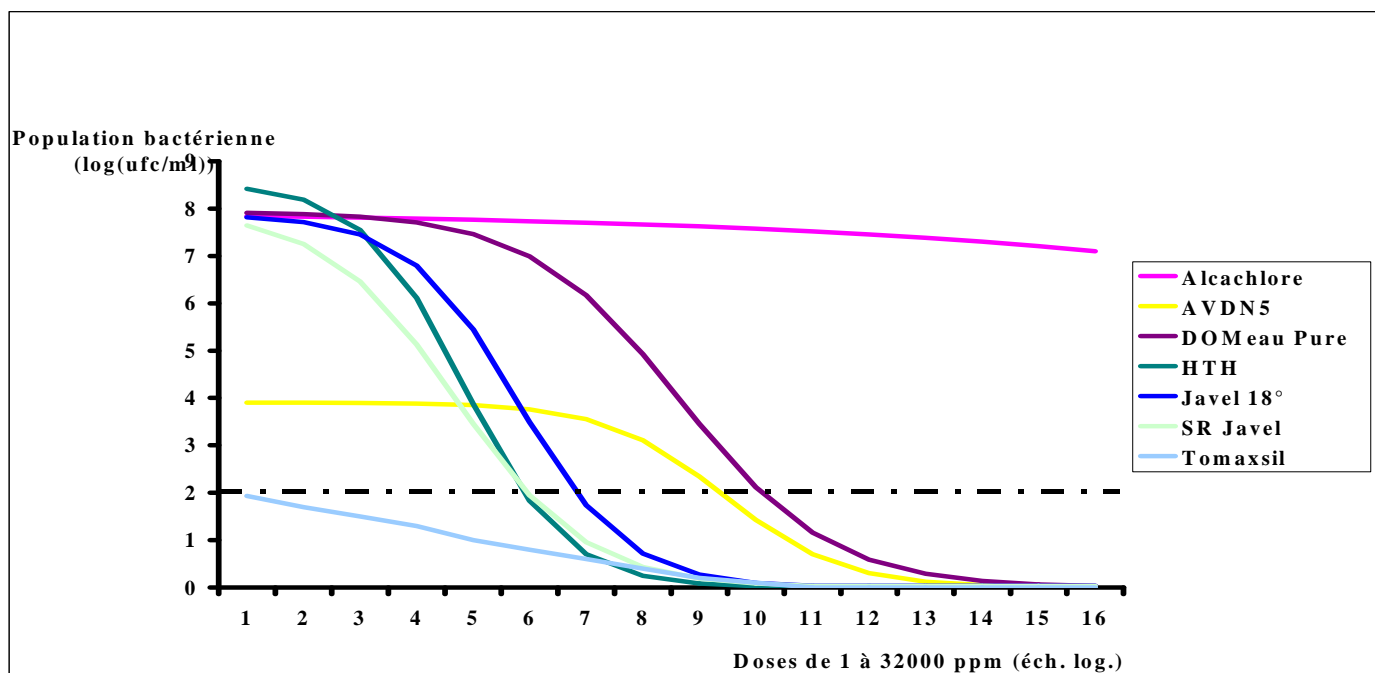
**Figure 3 : Durée de contact de 15 minutes**



**Figure 4 : Durée de contact de 1 heure**



**Figure 5 : Durée de contact de 6 heures**

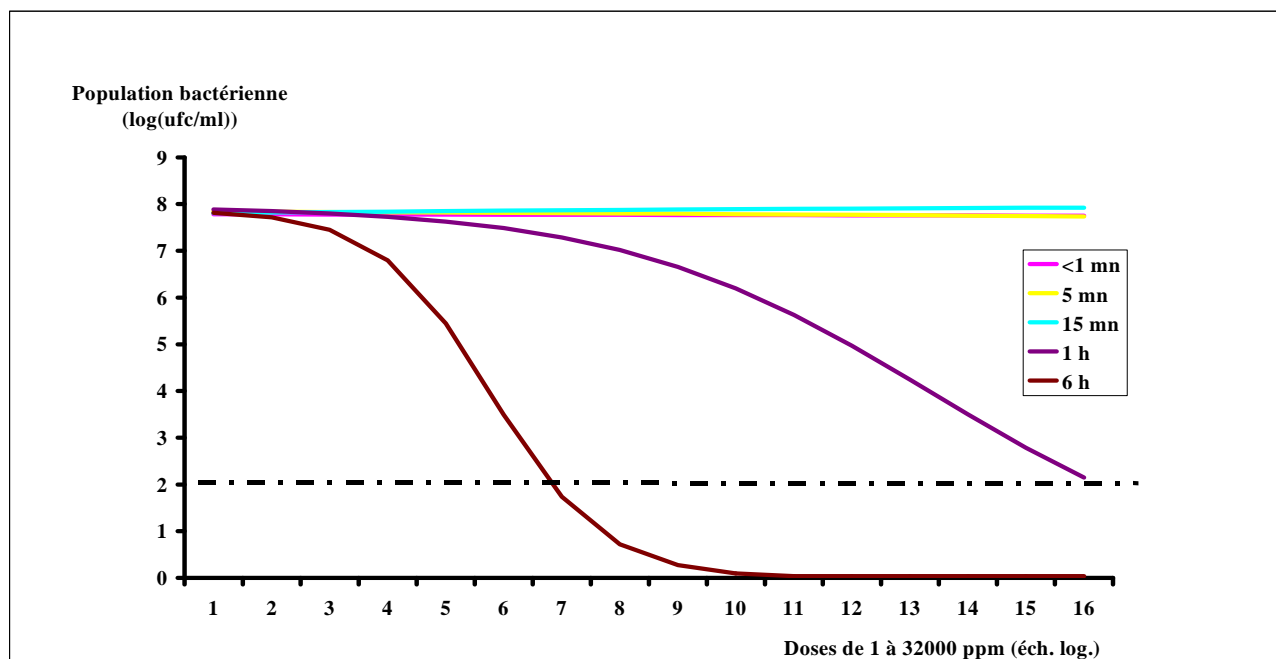


L'analyse plus en détail de l'évolution de populations bactériennes en présence des cinq produits, a priori intéressants, montre que :

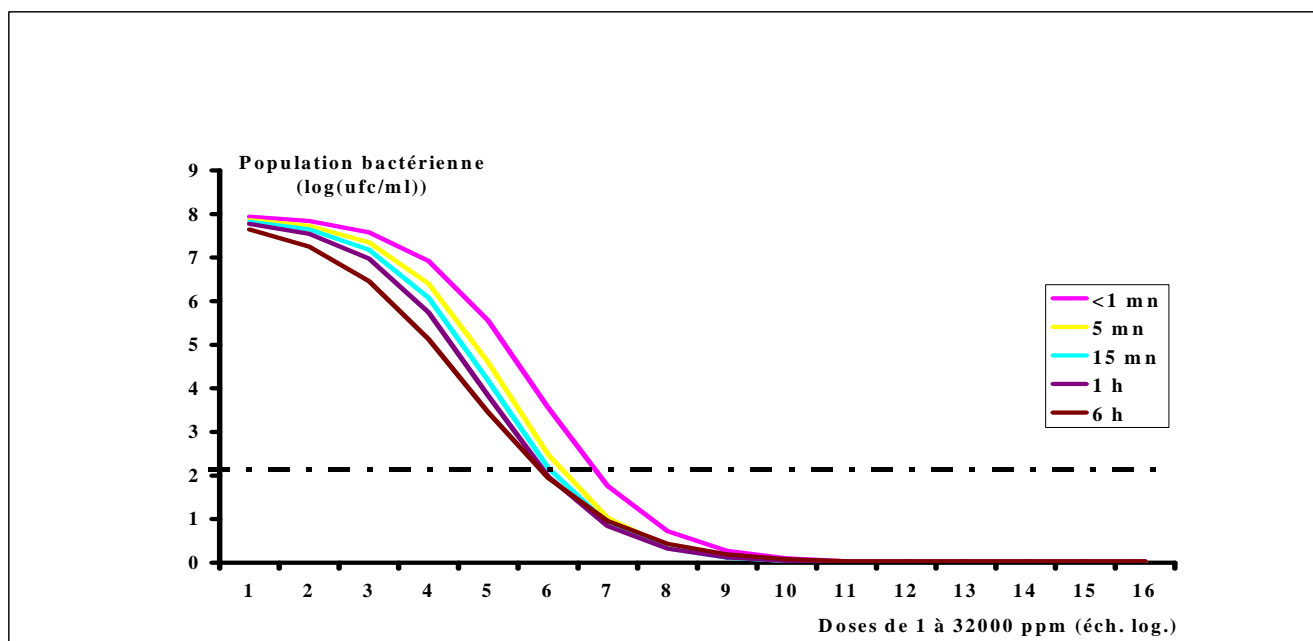
- L'eau de Javel 18° C n'est effectivement efficace (réduction des populations à  $< 10^2$  ufc/ml) qu'au bout d'une heure et requiert alors des concentrations élevées ( $> 32000$  ppm) (Fig. 6). Ce résultat, surprenant compte tenu de l'auréole de bactéricide qui orne l'eau de Javel, mérite d'être confirmé sur des produits n'ayant pas subi une altération ou dégradation (non soupçonnable à l'ouverture du récipient).
- En revanche le SR JAVEL, autre produit chloré, est efficace à la dose de 64 ppm de les premières secondes de contact et la réduction de la dose requise est faible (divisé par 2) pour 6 heures de contact. (Fig.7)
- Pour l'AVND 5, la situation est un peu différente dans la mesure où des faibles doses (de l'ordre de quelques ppm) réduisent la population et cet effet augmente avec la durée de contact ( Fig.8). Une élimination des populations intervient quelle que soit la durée de contact pour une dose supérieure à 256 ppm.
- On retrouve des évolutions un peu similaires avec le TOMAXIL. Peu ou pas efficace lors d'un contact de courte durée ( $< 1$ min), il requiert des doses fortes (4000 ou 16000 ppm) pour l'être si la durée est de 5 ou 15 min. En revanche lorsque le contact est supérieure à 1 heure, même des concentrations de l'ordre de quelque ppm suffisent (Fig.9).
- Pour ce qui concerne le MICROSERRE, l'évolution des populations est très semblable à celle observée avec le SR JAVEL, les doses requises étant plus élevées et varient avec la durée de contact (Fig.10).

***Figures 6 à 10 : Influence de la dose de chaque produit et de la durée de contact sur la concentration bactérienne***

***Figure 6 : Eau de Javel 18° C***

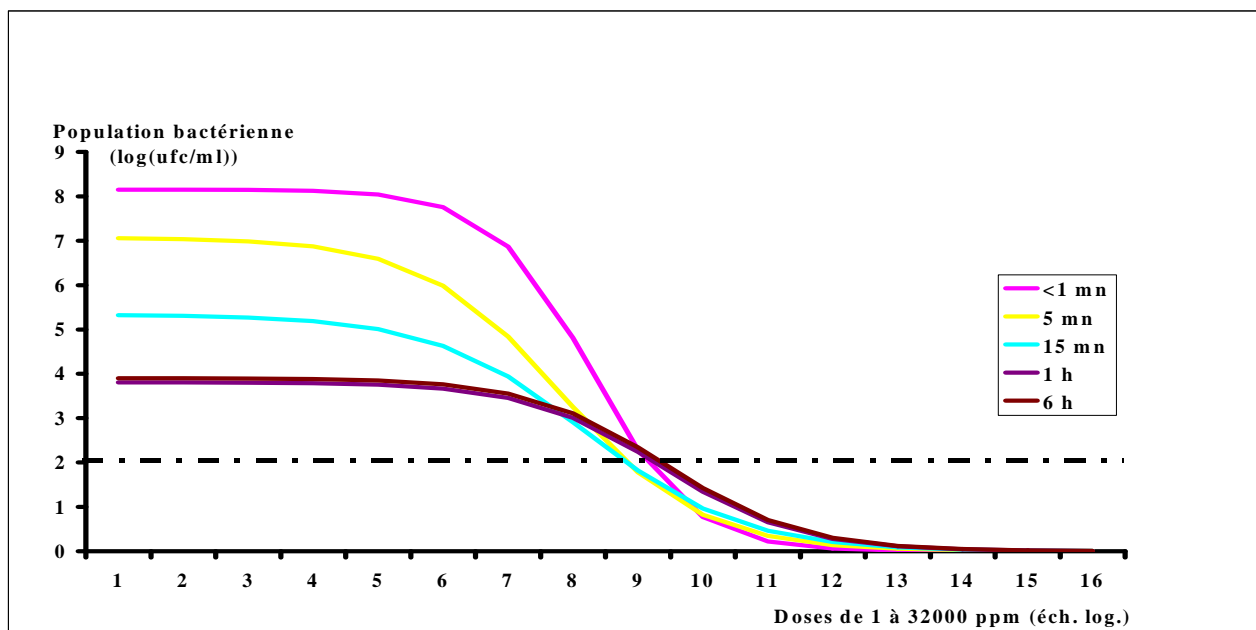


***Figure 7 : SR JAVEL***

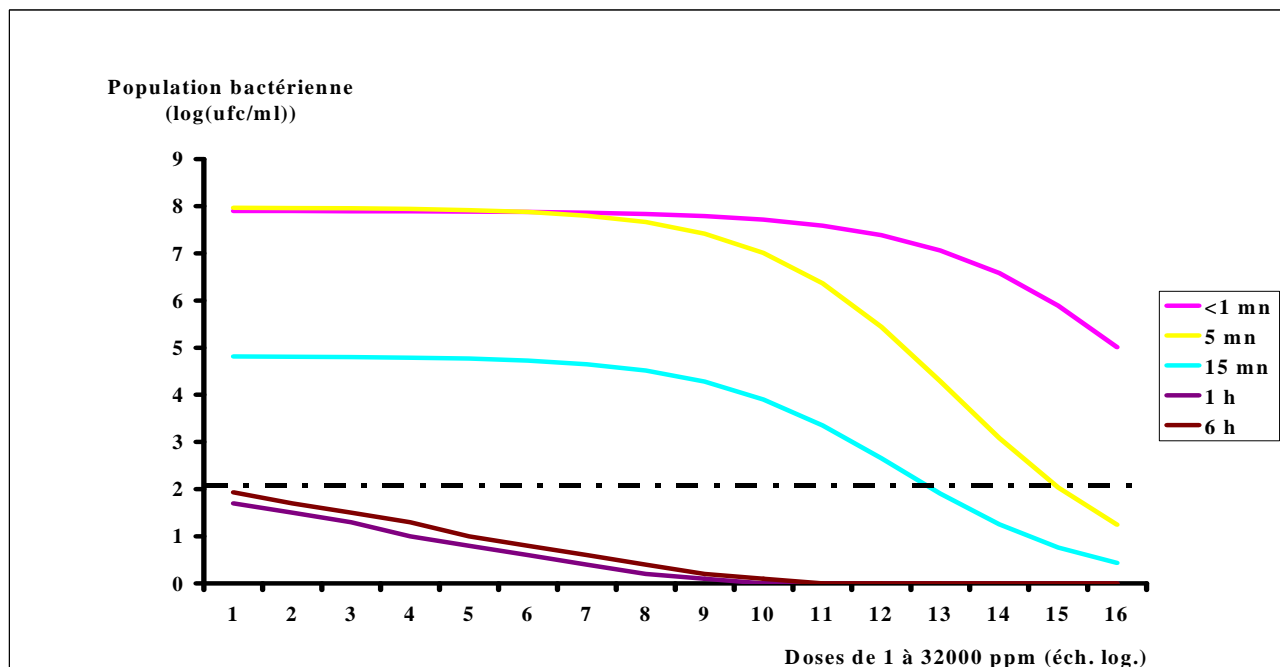




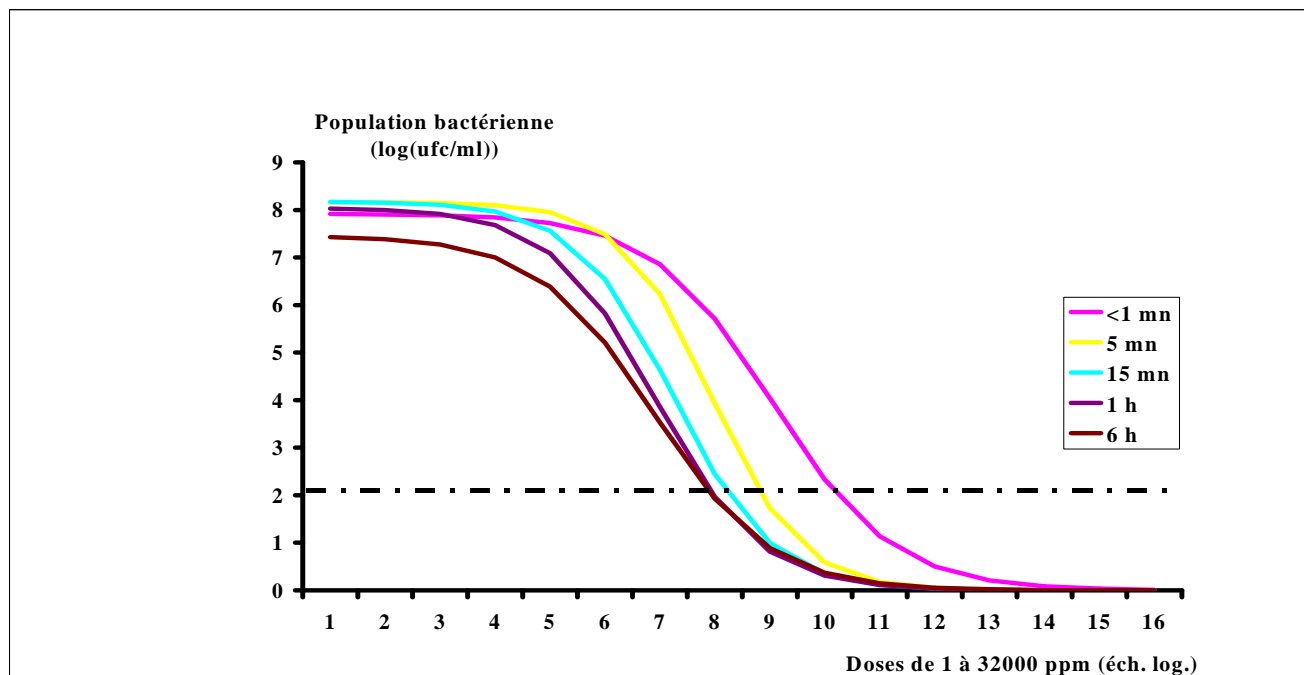
**Figure 8 : AVDN5**



**Figure 9 : TOMAXIL**



**Figure 10 : MICROSERRE**



L'analyse de l'ensemble des résultats a permis de déterminer pour chaque produit la Dose Minimale d'Inhibition (D.M.I.) en fonction du temps de contact (Tableau 4 et Fig. 11).

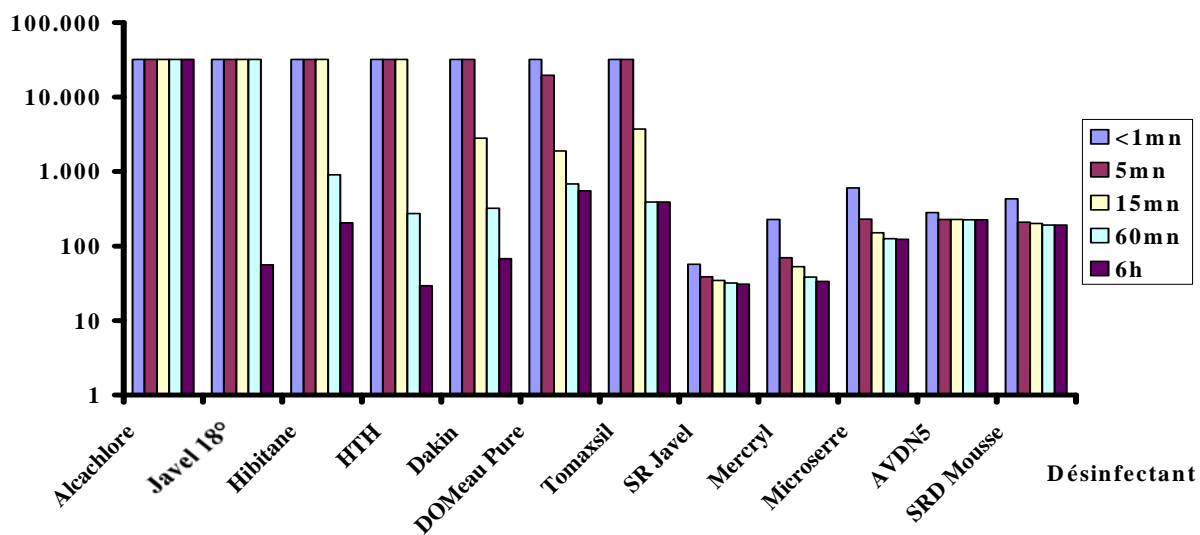
**Tableau 4 : D.M.I. des produits désinfectants dans les différents temps de contact.**

Contact	<1 mn	5 mn	15 mn	60 mn	6 h
Produit					
Alcachlore	32 000	32 000	32 000	32 000	32 000
Javel 18°	32 000	32 000	32 000	32 000	56
Hibitane	32 000	32 000	32 000	909	206
HTH	32 000	32 000	32 000	274	29
Dakin	32 000	32 000	2811	322	67
DOMeau Pure	32 000	19614	1878	683	548
Tomaxsil	32 000	32 000	3749	389	389
SR Javel	57	38	34	32	31
Mercryl	227	70	53	38	34
Microserre	602	230	152	126	123
AVDN5	281	227	226	225	225
SRD Mousse	432	210	200	192	191

\*102 ufc/ml correspond à la concentration bactérienne non significative .

**Figure 11 : Variation de la dose minimale inhibitrice en fonction de la nature du désinfectants de la durée de contact**

Dose minimale  
inhibitrice en ppm  
(éch. log.)



## **E - CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Ces résultats révèlent la possibilité d'une décontamination de l'eau par des produits qui ont un effet anti-bactérien ; il s'agit de: **SR JAVEL, AVDN5, TOMAXIL, DESOGERME MICROSERRE.**

Ils permettent une réduction à la fois immédiate et/ou progressive de la population bactérienne à des doses faibles ou conseillées par le fabricant. En ce sens, l'objectif de cette action a été atteint mais une étude doit être faite pour évaluer l'effet phytotoxique.

Il est intéressant de noter que le résultat relatif à l'efficacité de l'eau de javel est surprenant car quel que soit le degré du chlore (9° utilisée dans la première partie ou 18° dans la deuxième), son pouvoir désinfectant n'est assuré qu'après 1 heure de contact à 30 ppm, alors que la désinfection par l'eau de javel est théoriquement efficace à une dose de 20 ppm pendant 20 min. Les conditions de stockage, entraînant une altération du produit ou les différentes manipulations préliminaires pourraient expliquer ces résultats.

Afin de compléter les résultats sur l'efficacité *in-vitro*, des produits une analyse complémentaire vis-à-vis des deux autres races de *R. solanacearum* existantes à la Réunion, race 3 biovar 2 et race 2 biovar 2, est nécessaire.

Préconiser l'utilisation pratique de ces désinfectants comme méthode de lutte préventive afin d'éviter une contamination d'une culture sous serre par l'eau d'irrigation, est maintenant possible et il est nécessaire d'évaluer leur effet phytotoxique et l'éventuelle accumulation des résidus de la culture et du sol.

Pour cela, sur la base des résultats obtenus dans cette première action, nous avons déterminé une gamme de produits et des doses qui seront utilisés pour l'étude suivante, celle-ci a l'objectif l'estimation de l'impact environnemental et sur la culture.

<b>Produits désinfectants</b>	<b>Dose DMI (ppm)</b>
<b>SR JAVEL</b>	<b>31</b>
<b>TOMAXIL</b>	<b>389</b>
<b>DESOGERME MICROSERRE</b>	<b>125</b>
<b>AVDN 5</b>	<b>225</b>

## MAITRISE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL

### *Résultats de l'action n°2 : Effet phytotoxique des produits désinfectants*

Durée : Avril – Septembre 2003

Code essai : 12 E 06

Auteurs : Arianna CARIGLIA – Jacques LUISETTI (INRA-CIRAD)

Partenaires : CIRAD-FLHOR - SPV - FDGDON - Université de la Réunion - Chambre d'Agriculture -

## A - CADRE GENERAL DE L'ETUDE

A la Réunion, le développement du flétrissement bactérien est un facteur limitant reconnu de la culture de tomate en plein champ. Les techniques culturales s'orientent vers la culture hors-sol, comme alternative à la culture de plein champ. Toutefois, comme en plein champ, une contamination des serres reste possible, car la bactérie peut être véhiculée par l'eau ou être présente dans le substrat.

## B – OBJECTIFS

Ce projet a comme objectif la mise au point de techniques culturales, qui permettent de maintenir les serres de production exemptes de *R. solanacearum*, agent du flétrissement bactérien, mais aussi de maîtriser le problème en cas d'introduction. Il prévoit plusieurs actions sur une période de trois ans.

L'eau d'irrigation est une source potentielle de contamination. Les risques existent notamment suite à des modifications des sources d'approvisionnement en eau en raison d'accidents climatiques, de sécheresse prolongée, de cyclone ou encore suite aux travaux de basculement des eaux de l'Est à Ouest. La désinfection se pose comme moyen préventif afin d'empêcher l'introduction de la bactérie dans une unité de culture.

Les résultats en laboratoire relatifs à la première action, « *La désinfection de l'eau d'irrigation contaminée par Ralstonia solanacearum* », ont révélé la possibilité d'une décontamination de l'eau par des produits ayant un effet anti-bactérien satisfaisant. En effet : SR JAVEL, AVDN5, TOMAXIL et DESOGERME MICROSERRE permettent une réduction immédiate et/ou progressive de la population bactérienne, à des doses faibles ou conseillées par le fabricant.

L'objectif de cette action consiste donc à évaluer l'effet phytotoxique de ces produits en culture et à identifier quels traitements seraient compatibles avec la culture.

NOM COMMERCIAL	MATIERE ACTIVE	FOURNISSEUR	DOSE CONSEILLEE PAR LE FABRICANT	USAGE COURANT
EAU DE JAVEL	Chlore	Commerce	30ppm	domestique
SR Javel	chlore et dichloroisocyanure de sodium dihydrate	SRPI	(2 pastilles) 3,3gCl /10l d'eau (300ppm)	Locaux domestique et industriel
TOMAXIL	peroxyde d'hydrogène	ELF ACTOCHEM	3,21l/ha dans 200l d'eau (16000ppm)	Agricole
DESOGERME MICROSERRE	sels d'ammonium quaternaire	LAORATOIRES A.C.I.	2500ppm	Locaux domestique et industriel
ADVN 5	sels d'ammonium quaternaire	SRPI	5000ppm	Locaux domestique et industriel



## **C - MATERIEL ET METHODE**

### **1. Facteur étudié**

Le facteur étudié est « *l'effet phytotoxique* » des produits désinfectants sur une culture hors sol de tomate.

### **2. Protocole experimental**

Cette action s'est déroulée dans la serre d'expérimentation mise en place au Pôle de Protection de Plantes, à St-Pierre spécialement prévue pour accueillir les essais dans le cadre du projet. La culture a été conduite en hors sol sur des sacs de fibre de coco. La variété utilisée a été CENCARA.

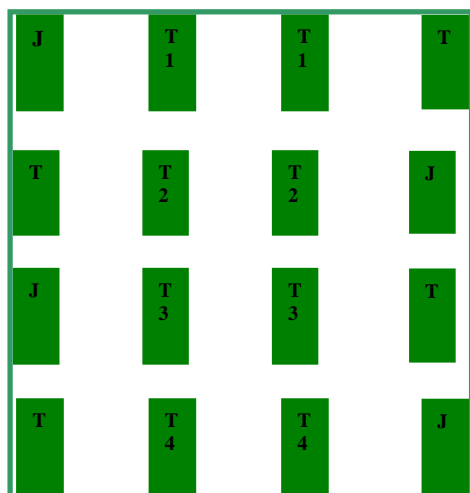
- *Choix des doses des produits désinfectants*

Les produits testés sont ceux que les résultats précédents ont désignés comme étant les plus efficaces contre la bactérie. Pour chaque produit la Dose Minimale d'Inhibition (D.M.I.) en fonction du temps de contact a été déterminé. Pour obtenir un éventuel effet phytotoxique chaque valeur de D.M.I. a été doublée. L'eau de Javel a été introduite comme produit de désinfection de référence. Les produits ont été injectés à un taux d'injection de 1 % en continu à partir de trois semaines après la plantation à l'aide de pompes doseuses ( Dosatron) placées en amont de chaque ligne de culture (photo1).

Chaque semaine les solutions des bacs des traitements sont renouvelées. Le schéma expérimental adopté a prévu un témoin non traité. Le réseau d'irrigation a été adapté pour permettre des irrigations individualisées par modalité. Chaque parcelle élémentaire était composée de 30 plants.

Produit	Dosage (ppm)	
	<i>D.M.I.</i>	<i>valeurs pour injection</i>
<i>Javel</i>	31	62
<i>SR Javel</i>	31	62
<i>Tomaxil</i>	389	778
<i>Desogerme microserre</i>	125	250
<i>ADVNS</i>	225	450

### **Schéma expérimental**



T	<i>Témoin</i>
J	<i>Javel</i>
T1	<i>DESOGERME MICROSERRE</i>
T2	<i>TOMAXIL</i>
T3	<i>ADVNS</i>
T4	<i>SR JAVEL</i>



**PHOTO 1** : pompe doseuse ( Dosatron) utilisée pour l'injection des produits désinfectants

- *Variables estimées*

### **Aspect de la plante**

#### **Evaluation de l'impact sur la culture :**

- *Développement végétatif* : le nombre de feuilles ; le diamètre de la tige ; le stade de floraison et le stade de nouaison ont été observés sur 10 plants échantillons ; la largeur et longueur des feuilles et la longueur finale des plants ont été évalués sur cinq des 10 plants échantillons.
- *Rendement* : nombre et poids de fruits commercialisables et fruits non commercialisables, la nature des déchets) ont été évalués pour chaque parcelle élémentaire.

#### **Evaluation de la composition minérale des plantes**

- Analyse des principaux éléments minéraux des feuilles et fruits (N, P, K, Ca, Mg, Bo, Mn...) qui entrent dans la physiologie des plants.
- Analyses des principaux éléments minéraux dans la sève.

#### **Evaluation de l'aspect qualitatif des fruits**

Taux en sucre (Index Brix)

Acidité

Fermeté (Durofel)

#### **Analyse de la solution injectée (Solution nutritive + produits désinfectants)**

Analyse hebdomadaire de la solution à l'apport et au drainage : (pH, EC; Ca, PO<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>, Chlore combiné et chlore libre) (appareil RQ-Flex)

Des analyses appropriées ont été réalisées sur les différentes données récoltées permettant une interprétation statistique des résultats.

## **D - RESULTATS ET DISCUSSION**

### **1. Développement végétatif des plants**

#### **▪ *Symptômes visibles***

15 jours après le début des traitements, nous avons commencé à noter un effet phytotoxique visible de l'eau de Javel. Les symptômes ont concerné principalement les feuilles qui ont manifesté un aspect crispé caractérisé par un jaunissement des nervures principales des feuilles (photos 2 ; 3). Par contre aucun symptôme évident n'a été remarqué sur les plants ayant subi les autres traitements.



*PHOTO 2 : effet phytotoxique de l'eau de Javel*

- Feuilles et tige



*PHOTO 3 : feuille présentant effet phytotoxique de l'eau de Javel (gauche) et feuilles avec développement normal (droite)*

#### Nombre de feuilles :

Notre analyse <sup>(1)</sup> n'a pas relevé de différence significative entre le nombre de feuilles des plants traités et le nombre de feuilles du témoin.

Par contre il faut préciser que les plants traités à l'eau de Javel ont un nombre de feuilles plus élevé, car compte tenu d'un développement végétatif plus faible, l'effeuillage appliqué aux autres plants ne s'est pas révélé nécessaire.

#### Longueur des plants :

Les plants traités à l'eau de Javel ont une tige significativement moins longue que celle du témoin non traité. En revanche Desogerme Microserre, Tomaxil, Avdn5 et SR Javel n'ont eu aucun effet sur la longueur des plants.

#### Diamètre de la tige :

Les plants traités à l'eau de Javel ou SR Javel ont un diamètre de la tige significativement supérieur à celui des plants traités par les trois autres désinfectants. Cependant, ils ne sont pas différents du témoin.

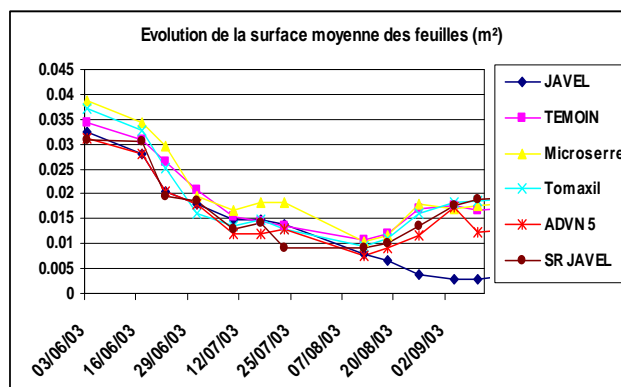
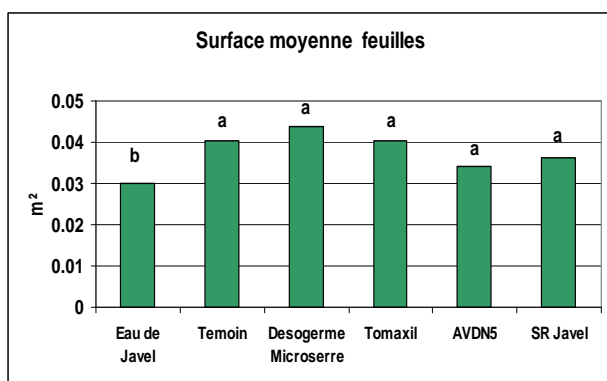
TRAITEMENT	Nombre moyenne de feuilles	Longueur finale de la tige (m)	Diamètre moyenne de la tige (mm)	Nombre moyen de bouquets	
				Fleuris	Noués
EAU de JAVEL	15.8b	3.1b	8.5a	12.0a	6.6b
TEMOIN	13.8a	4.2a	7.9ab	12.3a	7.2a
DESOGERME MICROSERRE	13.7a	4.5a	7.6b	12.9a	7.7a
TOMAXIL	13.5a	4.3a	7.8b	12.3a	7.3a
AVDN5	13.9a	3.9a	7.3b	10.6a	7.4a
SR JAVEL	14.6a	4.3a	8.3ab	13.9a	7.5a

La valeur suivie de la même lettre n'est pas significative ou seuil de 5 %

### Surface foliaire :

Le traitement à l'eau de Javel entraîne une réduction significative de la surface foliaire. En revanche, aucun autre traitement n'a d'impact sur cette variable.

La diminution de surface foliaire que l'on peut observer en juillet est due à de fortes variations de l'irrigation. Lorsque les problèmes d'irrigation sont résolus, les feuilles reprennent une taille normale (non différente du témoin) sauf pour les plants traités à l'eau de Javel dont leur surface continue à diminuer.



La valeur suivie de la même lettre n'est pas significative au seuil de 5 %

(1) : Analyses de variance suivie d'une comparaison de moyennes multiples par la méthode des ranges de Duncan.

#### ▪ *Floraison et nouaison*

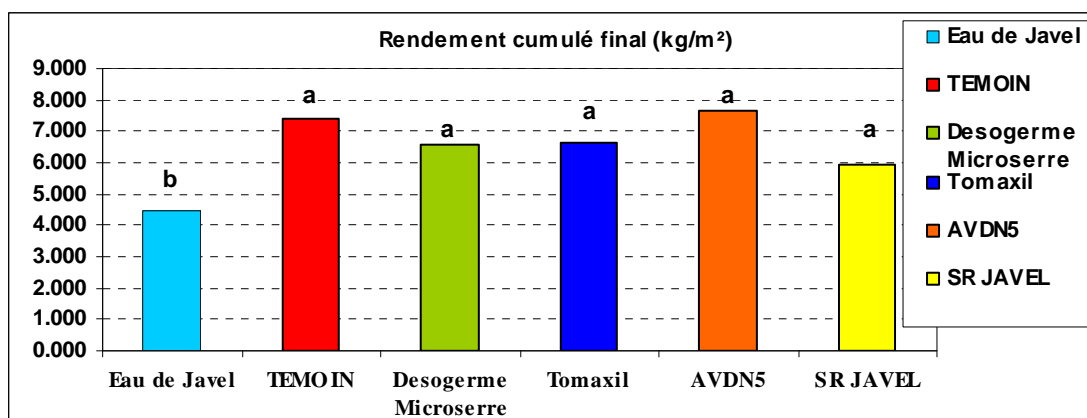
Au stade «fleur ouverte» le nombre de bouquets produits et le nombre total de fleurs ne varient pas en fonction du traitement appliqué. En revanche, le nombre de fruits noués est significativement plus faible pour les plants traités à l'eau de Javel.

## **2. Rendement**

#### ▪ *Rendement*

Les traitements DESOGERME MICROSERRE, TOMAXIL, AVDN 5 et SR JAVEL n'ont pas eu d'effet notable sur le rendement.

Par contre les plants traités à l'eau de Javel ont montré une baisse significative de rendement comprise entre 1.3 kg/m² et 4.2kg/m² selon les parcelles par rapport au témoin. Cette différence peut s'expliquer par le mauvais fonctionnement des pompes d'injection en fin d'essai. En effet, le fonctionnement des pompes doseuses injectant l'eau de Javel a été altéré par l'importante corrosion induite par le chlore sur le mécanisme interne de la pompe ce qui a entraîné une hétérogénéité de l'apport d'eau de Javel entre les parcelles. Ce point est à prendre en compte dans une éventuelle utilisation postérieure de l'eau de Javel dans les traitements.

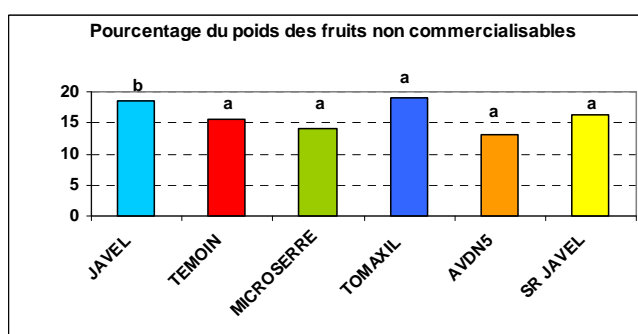
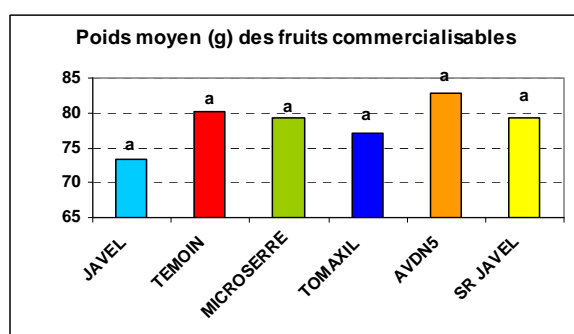


La valeur suivie de la même lettre n'est pas significatives ou seuil de 5%

#### ▪ *Poids moyen*

En terme de poids moyen des fruits commercialisables il n'y a pas de différence ni pour l'eau de Javel ni pour les autres produits désinfectants par rapport au témoin.

Par contre le pourcentage en poids des fruits non commercialisables est significativement plus important dans le cas des traitements à l'eau de Javel.



La valeur suivie de la même lettre n'est pas significatives ou seuil de 5%

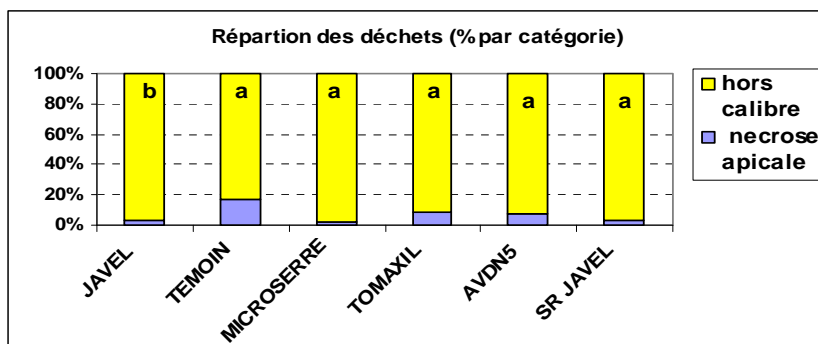
#### ▪ *Calibre des fruits*

Le nombre de fruits écartés dû à un calibre réduit a été significativement plus élevé pour le traitement à l'eau de Javel que chez le témoin ; par contre aucune différence n'a été enregistrée avec les quatre autres désinfectants.

Ce résultat pourrait être dû à la présence de l'eau de Javel dans la solution nutritive qui entraîne la formation de sels, ce qui augmente la concentration de sels dans la zone racinaire (stress osmotique) et donc favorise une diminution du diamètre des fruits.

#### ▪ *Nécrose apicale*

En ce qui concerne la perte de fruits due à une nécrose apicale aucune différence n'a été observée entre les traitements et l'eau de Javel. On constate, toutefois, un pourcentage de fruits nécrosés plus important chez les fruits du témoin. Cette tendance peut s'expliquer par le fait que certains témoins étaient dans des zones de la serre plus exposées au soleil et donc sujets à transpiration excessive.

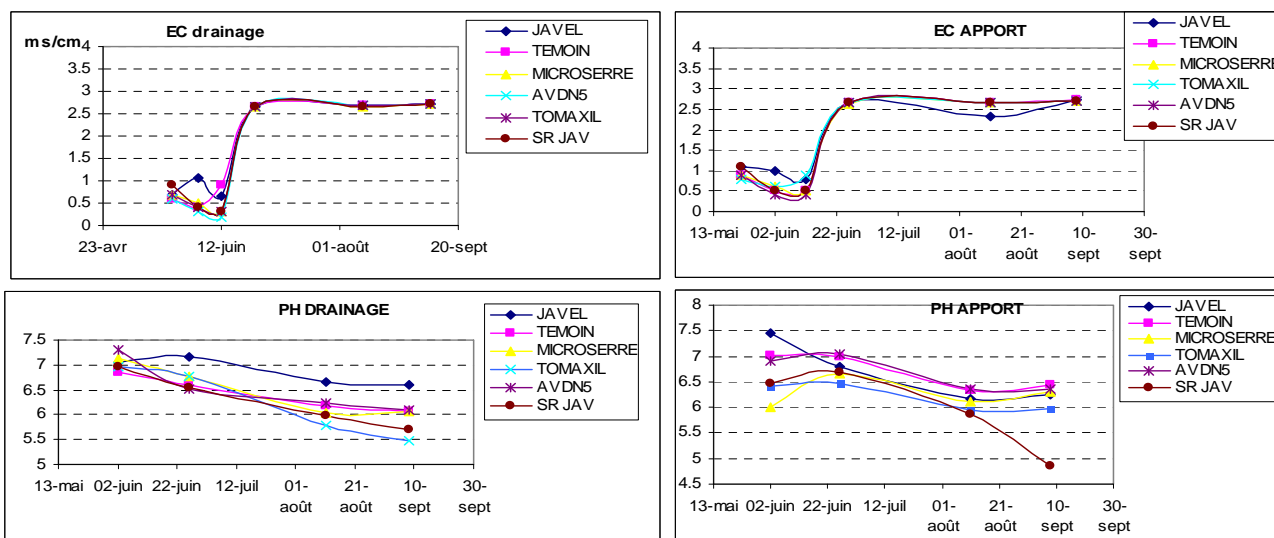


La valeur suivie de la même lettre n'est pas significative au seuil de 5%

### 3. Valeur de pH et de l'EC dans la solution d'apport e de drainage

Les valeurs de la salinité (EC/CE= Conductivité Electrique) mesurées à l'apport et au drainage n'étaient pas différentes entre les traitements et le témoin pendant la période d'essai.

Les valeurs du pH ont été le plus souvent inférieures dans le cas du Tomaxil et de SR Javel par rapport au témoin. En effet, le TOMAXIL composé de peroxyde d'hydrogène, d'acide phosphorique et d'acide acétique a un pH de 2.4. Son injection dans la solution entraîne la baisse du pH de la solution nutritive.



Il est prévu d'évaluer la composition minérale des feuilles et des fruits ayant subi un cycle complet de désinfection. Ces analyses prévues sur 40 échantillons de feuilles et 40 échantillons de fruits devraient être effectuées en collaboration avec le laboratoire d'analyses de l'Université de la Réunion.

## **E - CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Ces résultats révèlent et confirment que globalement le développement végétatif des plants est réduit dans le cas d'injection de l'eau de Javel dans les substrats. L'eau de Javel entraîne d'une part une diminution de la surface foliaire, de la longueur de la tige, mais augmente également le diamètre de la tige. L'eau de Javel entraîne aussi une réduction de la nouaison des fruits des plants de tomate et donc une diminution de la production. De plus, le nombre de fruits écartés est supérieur à la moyenne à cause du calibre plus réduit. Les résultats rapportés ici sur l'effet négatif de l'eau de Javel sur les plants de tomate confirment ceux obtenus récemment par le CTIFL (PHYTOMA, mars 2004).



Les autres traitements désinfectants n'ont pas montré dans cet essai d'effet négatif sur la culture que ce soit sur le développement végétatif ou sur la production.

Nous avons donc vérifié l'absence d'effet phytotoxique évident des quatre produits identifiés dans l'action précédente.

Il nous reste à vérifier, à travers l'analyse physiologique des feuilles et des fruits qu'aucun des produits testés SR JAVEL, AVDN5, TOMAXIL et DESOGERME MICROSERRE n'induit d'altération dans la composition en éléments minéraux au niveau interne des plants qui pourrait entraîner des variations des principales activités métaboliques et avoir des conséquences qui peuvent se manifester à long terme.

La prochaine étape est d'évaluer si une désinfection après contamination par *R. solanacearum* est possible en cours de culture et/ou après culture.

Il est nécessaire de souligner que dans le catalogue des usages publié par le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, il existe un usage intitulé << produits pour la désinfection des eaux de drainage de culture hors sol en circuit fermé >>. Mais à l'heure actuelle aucun produit désinfectant n'est actuellement homologué pour cet usage. Certains de ces produits pourraient faire l'objet d'une démarche pour présenter une demande d'homologation conduite à l'initiative du fabricant avec le soutien de la profession.

## MAITRISE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL

### **Actions n° 3 et 4 : Analyse du mode de propagation de la bactérie**

**Expérimentation 1: « la contamination des substrats contaminés par l'eau d'irrigation »**

**Expérimentation 2 : « contamination par voie aérienne »**

//////  
Durée : Octobre 03-Juillet 04

Code essai : 12 E 06

Auteurs : Arianna CARIGLIA – Olivier PRUVOST (CIRAD) – Jacques LUISETTI (INRA-CIRAD) - Jean Jacques CHERON- Anne CAPY- Isabelle CABEU – Gilda NOURRY – Serge MASSE

Partenaires : CIRAD - SPV - FDGDON - Université de la Réunion - Chambre d'Agriculture -  
//////

### **A - CADRE GENERAL DE L'ETUDE**

A la Réunion, le développement du flétrissement bactérien est un facteur limitant reconnu de la culture de tomate en plein champ. Les techniques culturales s'orientent vers la culture hors sol, comme alternative à la culture de plein champ. Toutefois, comme en plein champ, une contamination des serres reste possible, car la bactérie peut être véhiculée par l'eau ou être présente dans le substrat.

L'eau est souvent rapportée comme facteur clé pour la dissémination de la bactérie : les cultures sont fréquemment attaquées en cas de modification des sources d'approvisionnement en eau. Ceci se produit notamment suite à des ruptures d'alimentation en raison d'accidents climatiques, (fortes pluies ou cyclone). De plus la dissémination risque d'être plus importante à la suite des travaux de basculement des eaux de l'Est, où la bactérie est présente, vers l'Ouest.

Il existe peu d'informations sur la phase tellurique de *R. solanacearum* en raison de la difficulté à détecter la bactérie mais aussi à suivre son évolution dans le sol. Il semble pourtant que le sol joue un rôle des plus importants dans la phase de conservation de la bactérie et sur sa capacité à infecter les plants. Certains sols sont considérés comme plus réceptifs que d'autres ; c'est à dire qu'ils permettent à l'agent pathogène de s'installer, se conserver et exprimer ses propriétés infectieuses (Rouxel et al, 1991 ; S Poussier, 2000).

### **B - OBJECTIFS**

Le projet, étalé sur 3 ans, a pour objectif final la mise au point de techniques culturales permettant :

- de maintenir les serres exemptes de *Ralstonia solanacearum*,
- de maîtriser le problème en cas d'introduction de la bactérie.

En 2004, il s'agit d'étudier le mode de propagation de la bactérie dans une serre : développement dans le substrat et propagation d'un plant à l'autre dans le cas d'une contamination par l'eau et dans le cas d'une contamination aérienne (taille), les deux voies de transmission potentiellement les plus fréquemment rencontrées en culture hors sol :

Deux essais ont été mis en place pour réaliser cette étude :

- **Action 3 Evaluation du mode de propagation de la bactérie dans le substrat lorsqu'il y a contamination par l'eau d'irrigation** : Quels sont les taux d'inoculum observés en culture hors sol, quelle est la répartition de la bactérie dans un substrat contaminé par l'eau d'irrigation et enfin quelle est la relation entre présence dans le substrat et le large au niveau du drainage.

- **Action 4 : Evaluation du mode de propagation de la bactérie dans le substrat en cas de contamination par voie aérienne : lorsque l'infection débute au niveau des parties aériennes :** quand et à quelle vitesse sont relarguées les bactéries dans le substrat et le système de drainage ? Y a t'il alors possibilité de contamination des plants voisins ?

## **C - MATERIEL ET METHODE**

Les deux expérimentations se sont déroulées dans la serre d'expérimentation mise en place au Pôle de Protection des Plantes, à St-Pierre spécialement prévue pour accueillir les essais dans le cadre du projet. Les analyses microbiologiques ont été réalisées dans le laboratoire de microbiologie du Pôle de Protection des Plantes.

### **1. Facteur étudié**

Le facteur étudié dans les deux expérimentations est «*le mode de propagation*» de la bactérie dans une culture hors sol de tomate quand la source de l'inoculum est :

- I. Expérimentation n° 1 : **l'eau d'irrigation (ACTION 3)**
- II. Expérimentation n° 2 : **un ou plusieurs plants par les opérations de taille (ACTION 4)**

### **2. Protocole expérimental**

Les deux expériences ont été menées sur une culture de tomate en hors sol conduite selon la pratique commune, sur deux types de substrats les plus utilisés à la Réunion : la fibre de coco en sac et les scories de charbon. Afin d'éviter toute contamination entre les modalités, chaque parcelle élémentaire a été séparée des autres, mais a reçu la même solution nutritive. Un système de récupération des eaux drainage a été mis en place pour que le drainage soit collecté et désinfecté chimiquement à la sortie de la serre. La variété de tomate utilisée est CENCARA.

#### **2.1 - Expérimentation 1 «Analyse du mode de propagation de la bactérie : contamination des substrats par l'eau d'irrigation»**

Dans la première expérimentation nous avons utilisé des sacs de fibre de coco de 1,20m (3 plants par sac) et des pots de 5L de scorie de charbon (1 plant/pot).

Chaque parcelle élémentaire est composée d'une double ligne, la première est plantée (15 plants) la deuxième n'a pas été plantée. (Figure 1). L'essai a débuté en octobre 2003 et a pris fin en février 2004.

##### **2.1.1 - Dispositif**

###### **• Modalités :**

- dose d'inoculation :  $10^3$  ;  $10^5$  ;  $10^7$  ufc/ml et témoin non traité
- Substrats : fibre de coco ; scorie de charbon
- $\frac{1}{2}$  ligne planté ;  $\frac{1}{2}$  ligne pas planté

###### **• 2 répétitions**

### 2.1.2 - Inoculation

La souche bactérienne utilisée pour l'inoculation est le biovar 2 de la race 3. Les suspensions ont été injectées à un taux d'injection de 1 % en continu pendant 15 jours à partir de trois semaines après la plantation à l'aide de pompes doseuses (Dosatron) placées en amont des lignes de culture. Toutes les parcelles recevaient la même solution nutritive. Afin d'assurer l'activité bactérienne, l'inoculum dans la solution nutritive a été renouvelé tous les 3 jours.

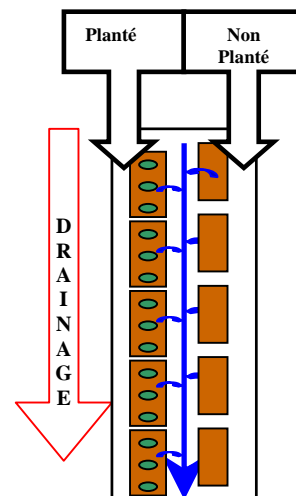


Figure 1 : Détail d'une parcelle élémentaire : à gauche les substrats avec plants, à droite les substrats sans plants

### 2.1.3 - Variables mesurées

Témoin coco	$10^3$ coco	$10^7$ coco	$10^5$ coco
$10^7$ scorie	$10^5$ scorie	Témoin scorie	$10^3$ scorie
$10^3$ coco	Témoin coco	$10^5$ coco	$10^7$ coco
$10^5$ scorie	$10^7$ scorie	$10^3$ scorie	Témoin scorie

Figure 2 : Dispositif expérimental ACTION 3  
3 concentrations bactériennes  
( $10^3$ ;  $10^5$ ;  $10^7$  ufc/ml). Deux types de substrat  
scorie de charbon et sac de fibre de coco

#### a) Suivi de la présence de *R. solanacearum* dans les eaux de drainage

Afin d'évaluer et quantifier la présence de la bactérie dans la solution de drainage, des prélèvements réguliers ont été réalisés dès le début de l'inoculation dans chaque modalité.

#### b) Taux de flétrissement des plants

Une notation quotidienne des plants flétris a permis d'estimer le taux de flétrissement. Les plants qui présentaient des symptômes déclarés, ont été prélevés et analysés au laboratoire pour établir ou confirmer la présence de la bactérie.

#### c) Recherche de *R. solanacearum* dans les substrats

Les substrats associés aux plants flétris ont été analysés, pour quantifier et vérifier l'absence et/ou présence de la bactérie et localiser la bactérie autour du plant flétri. Deux zones de prélèvement ont été définies, la première autour des racines, la deuxième éloignée des racines du plant (zone périphérique).

Régulièrement les substrats sans plant ont aussi été prélevés et analysés.

A la fin de l'essai, les plants ne présentant aucun symptôme de flétrissement et les substrats associés sont prélevés et analysés pour vérifier l'absence ou la présence de la bactérie.

## 2.2 - Expérimentation 2 «Analyse du mode de propagation de la bactérie : contamination aérienne»

La deuxième expérimentation s'est déroulée du 13/04/2004 au 29/07/04. Les substrats utilisés sont des sacs de fibre de coco de 60 cm (2 plants par sac), et des pots de 5l de scorie de charbon (1 plant/pot). Chaque parcelle élémentaire est composée de 30 plants et reçoit la même solution nutritive. (Figure3)

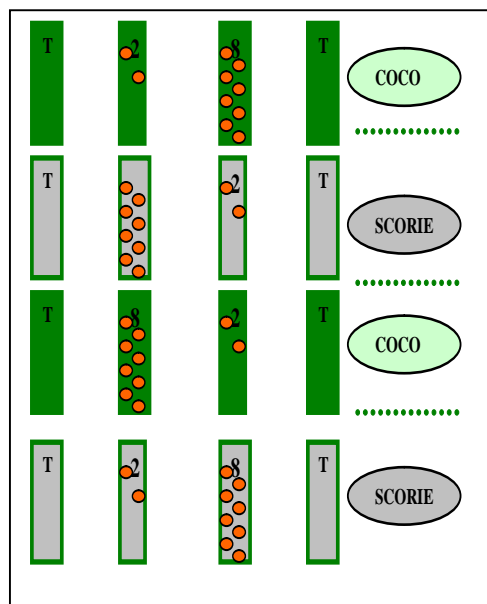


Figure 3 : Schéma expérimental ACTION 4

T : TEMOINS

2 : Deux plants inoculés

8 : Huit plants inoculés

Points rouges : Plants inoculés

### 2.2.1 - Dispositif

#### • Modalités :

Facteur dose d'inoculum :

- 2 plants inoculés /parcelle élémentaire
- 8 plants inoculés /parcelle élémentaire
- témoin non inoculé)

Facteur substrat :

- fibre de coco
- scorie de charbon

#### • 2 répétitions

### 2.2.2 - Inoculation

Dans une parcelle élémentaire les plants ont été choisis et inoculés au hasard.

La souche biovar 2 race 3, dite des 'hauts', a été utilisée pour l'inoculum avec une concentration bactérienne de  $10^7$  ufc/ml. L'inoculation par voie aérienne a été effectuée 3 semaines après la plantation (3/05/2004) à 10 cm au-dessus du collet par une piqûre (injection) à l'aisselle de la feuille.

### 2.2.3 - Variables mesurées

Le travail de diagnostic a débuté après l'apparition des premiers symptômes déclarés sur les plants. Comme pour l'expérimentation précédente, il a consisté à localiser les zones contaminées et à évaluer le taux d'infection :

- a) au niveau des plants flétris pour confirmer la présence de la bactérie,
- b) des substrats associés aux plants flétris pour localiser et estimer la quantité de bactéries autour du plant flétri,
- c) dans l'eau de drainage.

En fin d'expérimentation des analyses des plants sans symptômes ont été effectuées : par traitement, 10 plants sont prélevés. L'analyse au laboratoire de chaque plant et du substrat associé a permis de vérifier l'absence ou la présence de la bactérie.

## **D - RESULTATS ET DISCUSSION**

### **1. EXPERIMENTATION 1 : la contamination des substrats par l'eau d'irrigation**

#### **1.1 - Développement de la bactérie dans la serre**

Les premiers symptômes de flétrissement des plants ont débuté un mois après l'inoculation et se sont manifestés dans tous les traitements exception faite des plants du bloc 2 en fibre de coco et inoculés avec une concentration bactérienne de  $10^5$  ufc/ml qui sont les seuls qui n'ont pas présenté de symptôme ; les analyses en laboratoire n'ont pas non plus révélé la présence de la bactérie.

Deuxièmement, les analyses des substrats de la modalité « sans plants » n'ont jamais détecté la présence de la bactérie. Cela nous confirme que les plants sont nécessaires au développement des bactéries qui ne semblent donc pas s'installer dans le substrat malgré l'inoculation.

### 1.2 - Pourcentage de plants flétris

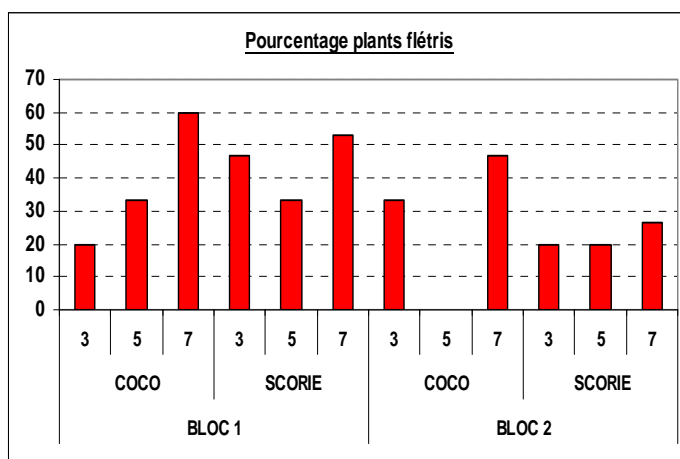


Figure 4: Pourcentage de plants flétris pour les doses d'inoculum ufc/ml 3=  $10^3$  ; 5=  $10^5$  ; 7=  $10^7$  et les substrat fibre de coco et scorie de charbon.

Pour l'analyse statistique, nous avons considéré comme malades :

- ✓ les plants sains dans le même pain de coco à côté d'un plant flétri qui se sont révélés positifs à l'analyse,
- ✓ les plants qui ont présenté une quantité importante de bactéries dans le substrat (concentration bactérienne  $>10^5$  ufc/ml) car ces plants allaient manifester les symptômes au cours du mois suivant.

Le résultat que nous pouvons avancer est que ni le niveau de concentration bactérienne avec laquelle les plants ont été inoculés, ni le type de substrat n'influencent le développement de la bactérie d'une plante à l'autre. La comparaison des traitements en terme de pourcentage de plants flétris n'a pas donné des résultats statistiquement différents, excepté le traitement inoculé à  $10^5$  ufc/ml en fibre de coco du bloc 2 qui n'a pas tout flétri ( Graphique en figure 4)

### 1.3 - Distribution et quantification de la bactérie dans les substrats

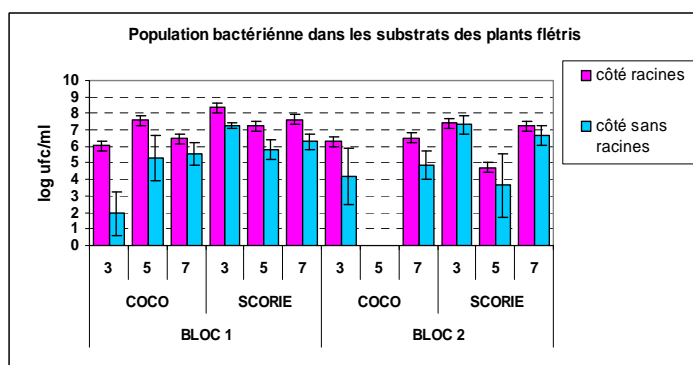


Figure 5 : Niveau moyen de population bactérienne au tour du système racinaire zone racinaire et la zone périphérique d'un plant flétri pour les doses d'inoculum ufc/ml 3=  $10^3$  ; 5=  $10^5$  ; 7=  $10^7$  et les substrat fibre de coco et scorie de charbon. (Barres: erreur type)

Une analyse statistique appropriée, pour évaluer le niveau de population bactérienne retrouvé autour des plants flétris, n'a pas pu être réalisée. En effet, les variances des traitements n'étaient pas homogènes.

Autour d'une plante flétrie la quantité de bactéries retrouvée ne semble être influencée ni par le type de substrat ni par la concentration bactérienne. Une fois que la bactérie a atteint un plant, le niveau de population entre la zone racinaire et la zone périphérique du substrat de culture est sensiblement le même. (Graphique en fig. 5)



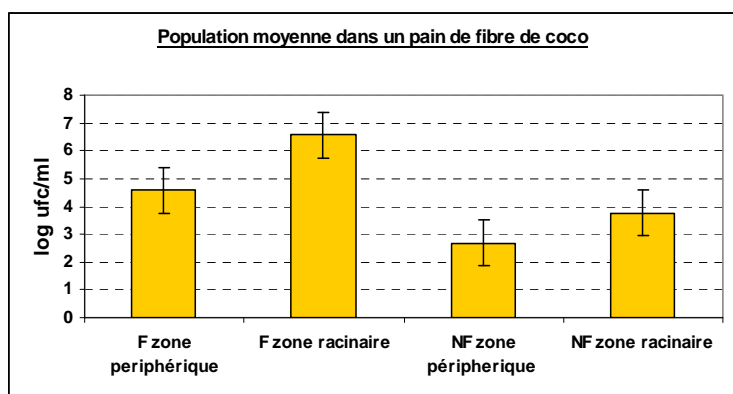


Figure 6: Niveau moyen de population bactérienne au tour du système racinaire d'un plant flétri (F) et un plant non flétri (NF) dans un pain de fibre de coco pour les doses d'inoculum ufc/ml  $3 = 10^3$  ;  $5 = 10^5$  ;  $7 = 10^7$  (barres : erreur type)

La localisation de la bactérie dans un sac de fibre de coco et sa quantification sont représentées graphiquement en figure 6. Globalement, dans la zone racinaire, le niveau moyen de population bactérienne est significativement plus important autour du plant qui a flétri qu'autour d'un plant voisin non flétri.

#### 1.4 - Développement de *R.solanacearum* dans les eaux de drainage

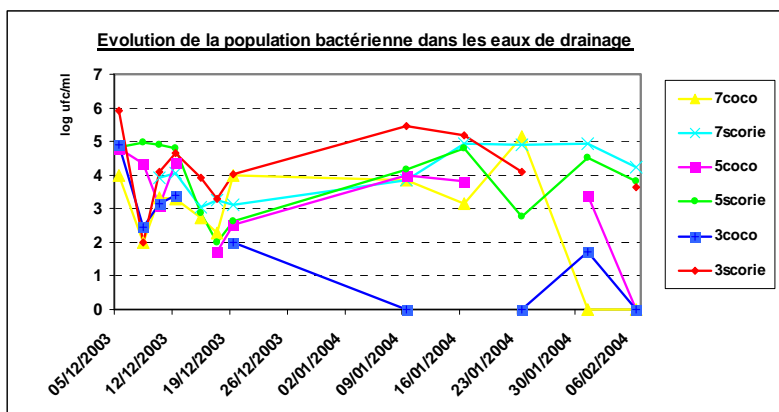


Figure 7 : Evolution de la population bactérienne dans l'eau de drainage pour les doses d'inoculum ufc/ml  $3 = 10^3$  ;  $5 = 10^5$  ;  $7 = 10^7$  et les substrat fibre de coco et scorie de charbon

Les concentrations bactériennes retrouvées dans les eaux de drainage, (graphique en figure 7), après la phase de l'inoculation se maintiennent à des valeurs entre de  $10^5$  et  $10^7$  ufc/ml. Seul, le traitement inoculé à  $10^3$  ufc/ml en fibre de coco reste à des valeurs non détectables. Pour les autres modalités, la valeur des taux d'inoculum tend à diminuer en fin d'essai. Cela est probablement dû au fait qu'en fin d'essai la majorité des pains ont été prélevés.

## 2. EXPERIMENTATION 2 : contamination par voie aérienne

### 2.1 - Distribution de la maladie d'une plante à l'autre.

#### a. Développement du flétrissement dans la serre

Les premiers symptômes déclarés ont débuté près de 10 jours après l'inoculation et d'abord les plants inoculés. Ensuite dans chaque parcelle, les symptômes de flétrissement se sont manifestés au fur à mesure.

#### b. Pourcentage de plants flétris

Pour l'évaluation du pourcentage de plants flétris, nous avons exclu le nombre des plants inoculé et flétris. Comme pour l'expérimentation précédente, afin de réaliser une analyse statistique appropriée, nous avons considéré comme malades :

- ✓ les plants sains dans le même pain de coco à côté d'un plant flétri qui se sont révélés positifs à l'analyse,

- ✓ les plants qui ont présenté une quantité de bactérie dans le substrat importante (concentration bactérienne  $>10^5$  ufc/ml) car ils allaient manifester les symptômes au cours du mois suivant.

Cette estimation n'a été faite que pour le substrat fibre de coco.

- A travers la comparaison du pourcentage des plants flétris aucune différence dans le développement de la bactérie n'a pu être mise en évidence entre les deux substrats avec 8 plants inoculés. (figure 8).
- Par contre une différence significative a été enregistrée entre les deux types de substrats quand 2 plants sont inoculés. En ce qui concerne le traitement avec deux plants inoculés en scorie, la comparaison a été faite en ne prenant en considération que le traitement 2 dans bloc 2 car le même traitement dans le bloc 1 a eu seulement deux plants flétris. En effet, une irrigation irrégulière a empêché d'obtenir un nombre de plants flétris plus important.

Les deux substrats n'ont induit de différence dans le développement de la bactérie que lorsque le nombre de plants inoculés au départ était faible (2 plants inoculés) : quand moins de plants sont contaminés, la maladie s'exprime de façon plus importante dans les scories que dans la fibre de coco et ce même si la bactérie se développe dans les deux substrats.

- Pour chaque substrat nous avons donc constaté une influence due au niveau d'inoculum de départ. En effet, le traitement avec huit plants inoculés a un pourcentage de plants flétris significativement supérieur à celui avec deux plants inoculés. Cela suggère et confirme que le développement de la bactérie d'une plante à l'autre est plus important quand plusieurs plants sont atteints au départ. Le fait que nous avons eu peu de plants flétris dans scorie bloc 1 pour le traitement 2, où il y a eu une irrigation irrégulière, nous démontre que la bactérie est véhiculée par l'eau et que la transmission d'un plant à l'autre est ralentie dans ce cas.

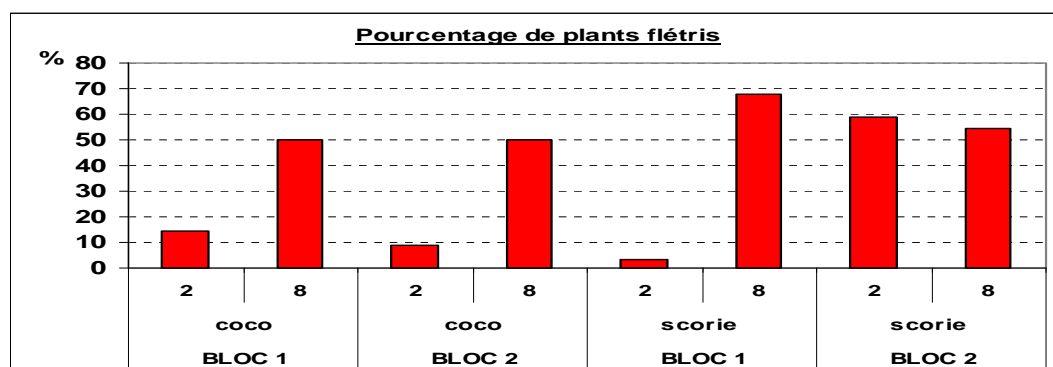


Figure 8 : Pourcentage de plants flétris dans les différents traitements (8,2 : nombre de plants inoculés)

## 2.2 - Distribution et quantification de la bactérie dans les substrats

### *Distribution de la bactérie autour d'un plant*

Les plants qui n'ont pas flétri, ont été prélevés et analysés à la fin de l'essai. Les analyses ont révélé que d'une part les plants ne contenaient pas de bactéries et que d'autre part le niveau de bactéries est resté à des niveaux non détectables dans le substrat.

Une analyse statistique appropriée, pour évaluer le niveau de population bactérienne retrouvé autour des plants flétris, n'a pas pu être réalisée. En effet, les variances des quatre traitements n'étaient pas homogènes.

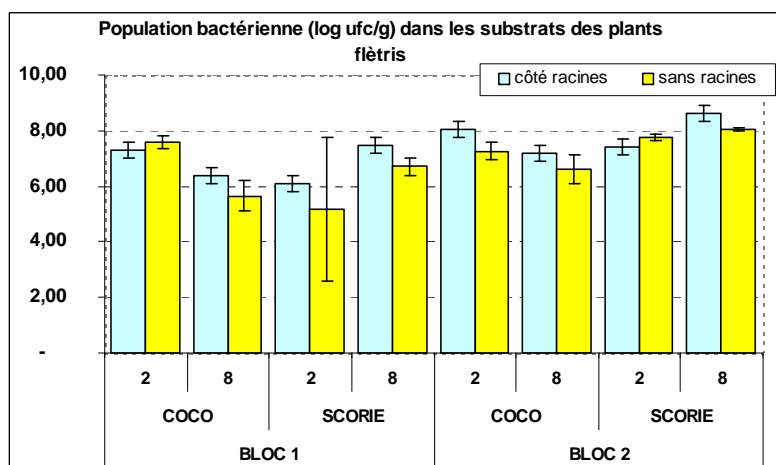
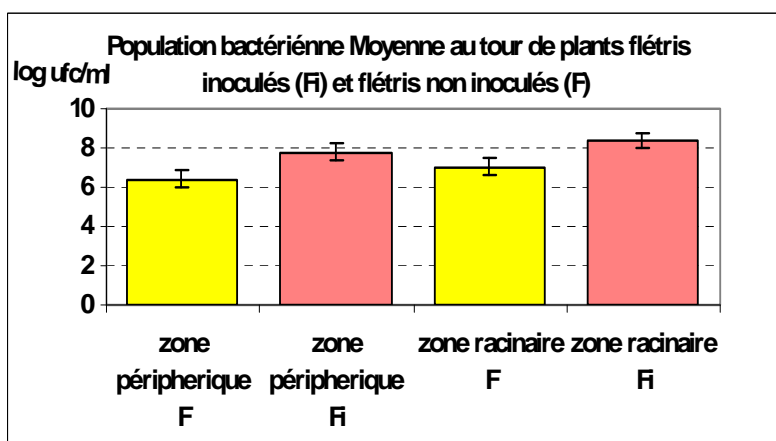


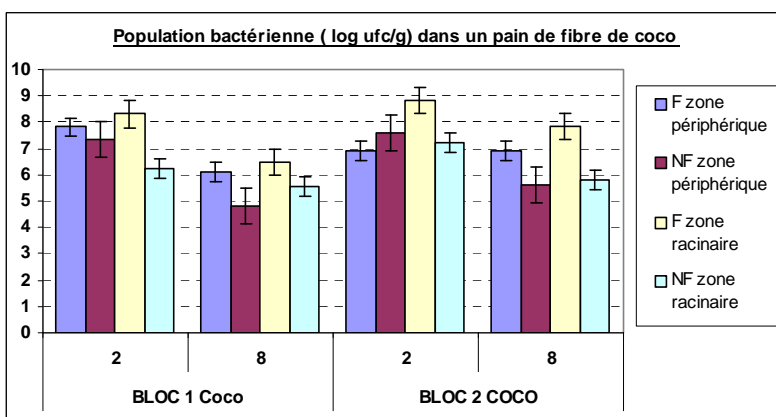
Figure 9: Niveau moyen de population bactérienne autour du système racinaire d'un plant flétri (Zone périphérique et zone racinaire) dans les substrat fibre de coco et scorie de charbon quand 8 et 2 plants sont inoculés) (barres : erreur type)



Globalement, ni le type de substrat ni le nombre de plants inoculés ne semblent influencer la quantité et la distribution de la population bactérienne autour du système racinaire des plants qui ont montré des signes de flétrissement. Aucune différence quantitative n'est enregistrée entre la zone racinaire et zone périphérique (Figure 9).

La concentration bactérienne dans le substrat autour des plants (zone racinaire et zone périphérique) est statistiquement plus élevée dans les plants. Mais le niveau retrouvé autour d'un plant flétri « naturellement » est tout de même très élevé ( $10^6$  ufc/ml dans la zone périphérique et  $10^7$  ufc/ml dans la zone racinaire). figure 11

Figure 11: Niveau moyen de population bactérienne au tour du système racinaire (Zone périphérique et zone racinaire) d'un plant flétri par inoculation et d'un plant flétri par contamination naturelle) (barres : erreur type)



est quand même élevé.

Figure 12: Niveau moyen de population bactérienne au tour du système racinaire (Zone périphérique et zone racinaire) d'un plant flétri (F) et un plant non flétri (NF) dans un pain de fibre de coco. (8, 2: nombre de plants inoculés)(Barres : erreur type)

De manière globale le niveau de population bactérienne mesuré dans le substrat autour :

- d'un plant inoculé flétri et,
- d'un plant flétri par contamination naturelle.

De même, dans un même pain de culture (fibre de coco) le niveau de population bactérienne est significativement plus important autour du plant qui a flétri qu'autour d'un plant voisin sain (figure 12). Le niveau retrouvé autour d'un plant voisin sain

Les échantillons de substrat scorie de charbon prélevés autour des plants qui n'ont pas flétri à la fin de l'essai n'ont pas révélé la présence de la bactérie. Cela nous suggère et confirme que le développement de la bactérie dans le substrat de culture est lié à un plant qui a été atteint.

### 2.3 - Développement de *R.solanacearum* dans les eaux de drainage

L'évolution de la présence bactérienne dans les eaux de drainage tout au long de la période d'essai est représentée dans le graphique en figure 13. Globalement, après l'inoculation, la population bactérienne augmente pour se maintenir ensuite sur des valeurs entre  $10^4$  et  $10^7$  ufc/ml ; cela suggère que les niveaux d'inoculum observés restent importants jusqu'à la fin de l'expérimentation.

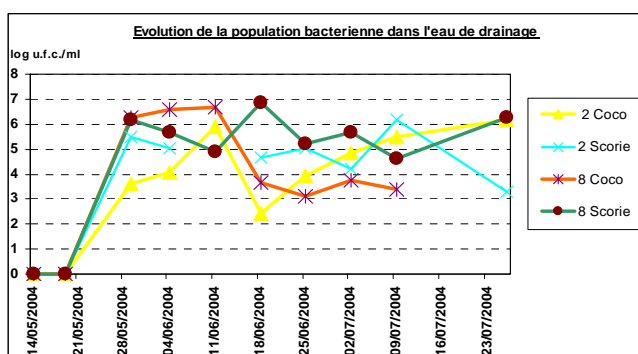
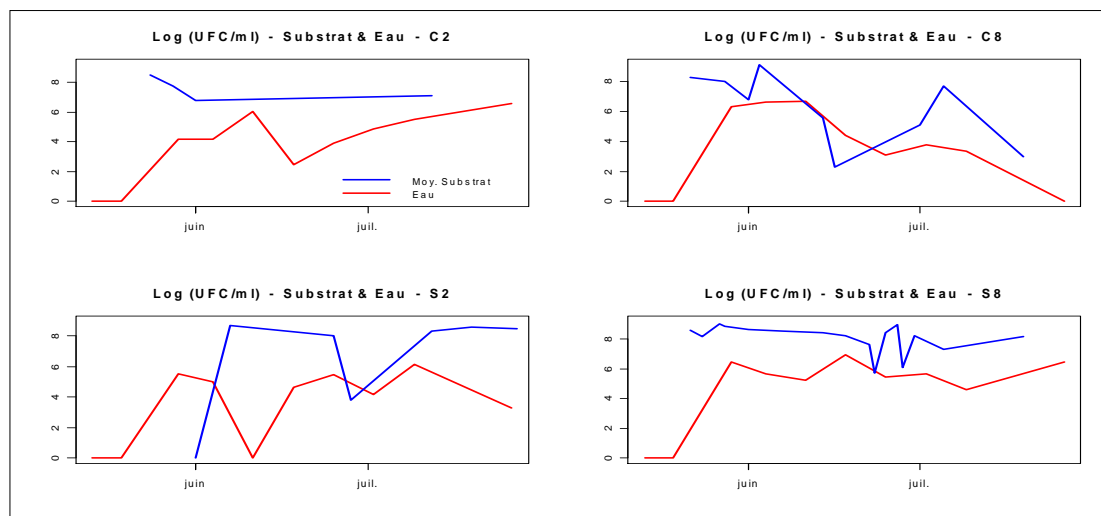


Figure13: Evolution de la population bactérienne dans l'eau de drainage. (8,2): nombre de plants inoculés)

Plus en détail, nous pouvons remarquer que la valeur des taux d'inoculum tend à diminuer en fin d'essai avec le traitement dans lequel 8 plants ont été inoculés dans le substrat fibre de coco. Cela est probablement dû au fait que la majorité des plants ont été prélevés. Au contraire, dans le traitement avec 2 plants inoculés dans le même substrat les valeurs élevées de bactéries se maintiennent et sont comparables à celles constatées dans la modalité 8 plants en scorie.

De l'étude des taux d'inoculum observés dans les substrats et de ceux retrouvés dans l'eau de drainage nous avons mis évidence la dynamique de la population de *R. solanacearum* dans l'eau de drainage en fonction de deux types de substrat et du nombre de plants inoculés (figure 14). Nous constatons que le niveau de la population bactérienne dans l'eau se maintient toujours au-dessous de celui du substrat. Dans tous les cas, les niveaux dans le substrat restent autour des mêmes valeurs ( $10^6$  et  $10^8$  ufc/) jusqu'à la fin de la période de l'essai (exception faite du traitement avec le substrat fibre de coco et 8 plants inoculés ce qui confirme ce que nous avons déjà constaté précédemment pour l'eau de drainage).



Figures 14: Evolution de la population de *R. solanacearum* dans l'eau de drainage et dans les deux types de substrats fibre de coco et scorie de charbon dans les deux modalités (8,2: nombre de plants inoculés))

## **E - CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Cette étude a pour objectif la description du développement de la bactérie dans une serre en fonction de deux modalités d'inoculation de la bactérie. Dans une première partie, l'inoculation se fait par l'eau d'irrigation et dans une deuxième, celle-ci s'est faite par voie aérienne. Au cours de ce projet, notre but est également d'avoir une approche globale de la quantité de bactérie retrouvée dans différents types de substrats de culture et dans les eaux de drainage quand la maladie s'installe dans une unité de culture en fonction des deux sources de contamination possibles.

La première conclusion que nous pouvons avancer est que dans une serre **le développement du flétrissement bactérien d'un plant à l'autre ne semble pas être influencé d'une façon significative par le type de substrat et ce quel que soit le niveau d'inoculum mais aussi quelle que soit la source de contamination**. Cependant nous avons remarqué que le nombre de plants infectés de façon aérienne au départ influence positivement le développement de la contamination avec un substrat de fibre de coco. Ainsi, lorsque le nombre de plants contaminés au départ est élevé le type de substrat n'influence plus la dynamique de développement de la bactérie.

Dans les deux substrats (pain de coco ou pot de scorie) et quel que soit le mode d'inoculation, les taux d'inoculum autour d'un plant flétri sont très élevés. De plus, nous n'avons mis en évidence aucune différence de niveau de contamination entre la zone racinaire et la zone périphérique d'un plant flétri. La conséquence importante de ce constat est que **si un plant se trouve à côté d'un plant flétri, même s'il ne manifeste pas de symptômes évidents, il est susceptible d'être contaminé à très court terme**. La deuxième conséquence est que **la présence bactéries dans le drainage entraîne une augmentation du risque de contamination d'un plant à l'autre**.

Ce résultat suggère donc que lorsqu'on observe un plant flétri sur une ligne de culture, il est fort possible que le développement de la bactérie soit tel qu'elle peut être présente déjà sur toute une ligne. En effet comme le confirment les analyses, elle est toujours présente dans l'eau : **les taux d'inoculum observés dans les eaux de drainage sont restés élevés pendant toute la période de l'expérience**.

Même si une étude quantitative plus approfondie pourrait donner des informations plus précises, les résultats obtenus non seulement nous permettent de confirmer les postulats de départ mais nous ouvrent aussi des perspectives intéressantes sur le travail futur.

En effet, ces essais renforcent donc l'hypothèse selon **laquelle la transmission de la bactérie se fait majoritairement par l'eau de drainage** qui rentre en contact avec les substrats des plants voisins même si la source de contamination est aérienne.

Les résultats de ces essais nous sont utiles pour envisager les interventions en cours de culture qui vont viser à limiter la diffusion de la bactérie sur une ligne. Nous pouvons affirmer qu'une séparation entre les racines des plants et les eaux drainage est essentielle pour éviter toute contamination si la source d'inoculum n'est pas l'eau du réseau d'irrigation.

Deuxième point: une plante malade apporte une quantité importante de bactérie dans le substrat et elle contamine les autres plants de la même ligne de culture. C'est pourquoi, une intervention immédiate et drastique peut réduire les « dégâts » lorsque les niveaux de flétrissement restent faibles. Il est donc important de définir un guide des « bonnes pratiques culturales » pour garantir une lutte préventive et une prophylaxie efficace : vide sanitaire, désinfection de tous matériels et outils de travail, entrée réglementée dans les serres.

La prochaine étape qui dépend également des résultats de l'essai « efficacité de la désinfection aux U.V.c de l'eau d'irrigation », consistera à vérifier si une désinfection de l'eau d'apport en préventif peut être efficace pour prévenir ou réduire le développement du flétrissement bactérien en cas de contamination accidentelle.

## **MAITRISE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL**

### ***ACTIVITE BACTERICIDE DES U.V.c VIS-A-VIS de R. solanacearum***

Durée : décembre 2004 - juillet 2005

Code essai : 12 E 06

Auteurs : Arianna CARIGLIA (ARMEFLHOR) – Philippe PRIOR (INRA-CIRAD) - Olivier PRUVOST (CIRAD) – Jean - Jacques CHERON (CIRAD) - Anne CAPY (ARMEFLHOR) - Isabelle CABEU (ARMEFLHOR) - Bernard Narinsamy (ARMEFLHOR) - Frédéric CHIROLEU ( CIRAD) - Jaques VESLOT ( CIRAD)

Partenaires : CIRAD - SPV - FDGDON - Université de la Réunion - Chambre d'Agriculture

### **A - CADRE GENERAL DE L'ETUDE**

A la Réunion, le développement du flétrissement bactérien est un facteur limitant reconnu de la culture de tomate en plein champ. Toutefois, comme en plein champ, une contamination des plants cultivés sous serres en hors sol reste possible, car la bactérie peut être transmise par l'eau.

L'eau est un facteur clé pour la dissémination de la bactérie : les cultures sont fréquemment attaquées suite à la modification des sources d'approvisionnement en eau. A la Réunion, ceci se produit notamment après des ruptures d'alimentation en raison d'accidents climatiques, (fortes pluies ou cyclone). De plus la dissémination risque d'être plus importante à la suite des travaux de basculement des eaux de l'Est, ou la bactérie est présente, vers l'Ouest.

Le rôle de l'eau dans la dissémination *R.solanacearum* a été montré par différentes études menées en différents pays. Certaines ont révélé la capacité de conservation de *R. solanacearum* dans différents types d'eaux (Poussier, 2000) d'autres ont montré que la présence dans les eaux de surface est strictement corrélées à la présence de boue. *R. solanacearum* est donc présent dans des eaux riches en matières organiques au sein desquelles elle est capable de survivre pendant plusieurs semaines (Janse, 1996 ; Janse et al., 1998). En Europe du Nord-ouest, certains plants adventices présents au bord des cours d'eaux, sont considérés comme des réservoirs d'inoculum pouvant assurer la survie et la multiplication du pathogène. (Elphistone, 1996 ; Janse, 1996 ; Hayward et al., 1998 ; Farag et al., 1999 ; Expert, 2000). Des plants flétris peuvent être à l'origine d'une contamination du sol et ce sol contaminé est susceptible de contaminer l'eau. L'accumulation des eaux contaminées dans le sol peut conduire à l'intensification de la maladie.

En raison de la difficulté qu'il y a à détecter la bactérie dans l'eau d'irrigation, qui provient de source d'approvisionnement communes ou de retenues collinaires ou bassins, à l'heure actuelle il n'existe aucune information officielle et précise concernant la présence et la quantité de *R. solanacearum* dans l'eau d'irrigation à la Réunion. Une décontamination efficace de l'eau comme moyen prophylactique est donc nécessaire pour éviter toute introduction dans une serre par les apports d'irrigation. Les techniques de désinfections utilisées pour la désinfection du drainage dans les cultures en hors sol en circuit fermé peuvent être appliquées à l'eau d'irrigation. Parmi elles une des méthodes physiques le plus employée est la désinfection par rayons ultraviolets.

### **B – OBJECTIF**

Ce projet a comme objectif la mise au point de techniques culturales qui permettent de maintenir les serres de production exemptes de *R. solanacearum*, mais aussi de maîtriser le problème en cas d'introduction. Il prévoit plusieurs actions sur une période de trois ans.

Dans cette étude l'objectif est d'évaluer l'efficacité de la désinfection de l'eau d'irrigation et de drainage contaminée par *R. solanacearum* par des rayons UVc d'une lampe germicide. Il s'agit donc d'identifier le pouvoir germicide d'un stérilisateur à ultra-violet sur une population bactérienne à différentes concentrations dans l'eau d'irrigation et de drainage.



## **C - MATERIEL ET METHODES**

L'expérimentation s'est déroulée au laboratoire de microbiologie du Pôle de Protection des Plantes et dans la serre expérimentale.

### **1. Facteur étudié**

Le facteur étudié est le « **pouvoir germicide** » d'un stérilisateur à Ultra-Violet sur une population bactérienne de *R. solanacearum*.

### **2. Protocole expérimental**

#### **2.1 - Dispositif**

- *Modalités :*

- Deux souches bactériennes : biovar 2 race 3 (phylotype II) ; biovar 3 race 1 (phylotype I)
- 3 doses d'inoculation :  $10^3$  ;  $10^5$  ;  $10^7$  ufc/ml ; témoin (eau)
- 2 types d'eau: eau d'apport ; eau de drainage
- 4 doses germicides : 60 mJ/cm<sup>2</sup> ; 120 mJ/cm<sup>2</sup> ; 240 mJ/cm<sup>2</sup> ; 360 mJ/cm<sup>2</sup>

- *répétitions : 3*

#### **2.2 - Contamination de l'eau**

##### **2.2.1 - Type d'eau**

Deux types d'eau sont utilisés.

- L'eau d'irrigation qui est filtrée à travers un filtre à sable puis un filtre à tamis (100 $\mu$ ) ; ensuite stockée dans une citerne de 6 m<sup>3</sup> et filtrée à nouveau à la sortie par deux filtres à tamis (130 $\mu$  et 80  $\mu$ ).
- L'eau de drainage qui est un mélange de 50 % drainage issue d'une culture hors sol de tomate sur la fibre de coco (eau + solution nutritive + résidus de substrat) et de 50 % d'eau d'apport.

##### **2.2.2 - Souches bactériennes de *R. solanacearum***

Les souches bactériennes utilisées pour la contamination sont la JT 516 appartenant au Phylotype II (biovar 2 race 3) et la JT 519 appartenant au Phylotype I (biovar 3 race 1), souches présents naturellement à la Réunion.

##### **2.2.3 - La suspension bactérienne**

Pour chaque inoculation une suspension bactérienne de 70 L est préparée. Pour l'eau d'irrigation la suspension est réalisée à 3 concentrations bactériennes différentes : faible ( $10^3$  ufc/ml), moyenne ( $10^5$  ufc/ml) et forte ( $10^7$  ufc/ml). Par contre, pour l'eau de drainage seule la concentration bactérienne la plus forte de  $10^7$  ufc/ml est testée.

#### **2.3- La désinfection par irradiation aux rayons ultra violets (UV)**

##### **2.3.1 - Le fonctionnement des lampes UVc**

Le principe base de la désinfection par irradiation aux rayons ultraviolets (UV), consiste à générer des rayons UVc au sein d'une chambre d'irradiation (longueur d'onde comprise entre 250-270 nm), possédant un fort pouvoir désinfectant. Les rayons irradient les cellules des organismes vivants contenus dans l'eau traversant

l'appareil. Les organismes pathogènes sont donc inactivés ou détruits. La dose d'exposition ( $\text{mJ}/\text{cm}^2$ ) à appliquer est en fonction des agents pathogènes présents dans l'eau ou dans la solution de drainage. Suivant la quantité d'énergie UV reçue, la cellule vivante sera soit stérilisée (effet bactériostatique) soit détruite (effet bactéricide).

### 2.3.2 - Passage de l'eau contaminée à travers le système UV

Un local a été équipé de deux stérilisateur, chacun ayant un pouvoir germicide de  $60 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ . Leurs caractéristiques techniques sont décrites dans le tableau 1. Ils sont montés en série pour obtenir une dose totale de  $120 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ . Afin d'évaluer le pouvoir germicide à doses plus élevées ( $240 \text{ mJ}/\text{cm}^2$  et  $360 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) l'eau est récupérée après le passage à  $120 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ , collectée et réinjectée à travers les lampes comme le montre le schéma figure 1. Nous avons donc effectué différents passages de l'eau contaminée à travers le système de désinfection aux U.V pour obtenir quatre valeurs de pouvoir germicide et évaluer leur efficacité respective :

- 1) à  $60 \text{ mJ}/\text{cm}^2$  (passage à travers la 1<sup>ère</sup> lampe)
- 2) à  $120 \text{ mJ}/\text{cm}^2$  (passage à travers la 2<sup>ème</sup> lampe)
- 3) à  $240 \text{ mJ}/\text{cm}^2$  (3<sup>ème</sup> passage à travers les deux lampes)
- 4) à  $360 \text{ mJ}/\text{cm}^2$  (4<sup>ème</sup> passage à travers les deux lampes)

Un surpresseur ( $3 \text{ m}^3/\text{h}$ ) permet d'envoyer l'eau contaminée depuis le réservoir de 70 L vers le système désinfectant après passage par deux filtres à tamis ( $130 \mu$  et  $80 \mu$ ). Pour vérifier l'absence de contamination le dispositif expérimental a comporté deux témoins négatifs : eau non inoculée avant et après passage à travers les lampes et un témoin positif, eau inoculée non désinfectée. Afin d'éviter toute interaction entre les modalités, le système est désinfecté au chlore et rincé à l'eau claire avant toute nouvelle opération. Le système est équipé d'un manomètre pour pouvoir maintenir une pression d'eau constante de 2 bars.

Tableau 1 : Caractéristiques des stérilisateur UV

Série UVPS IBP 10HO (Fournisseur : ECR Réunion)
Réacteurs inox
Longueur d'onde de 254 nm
Dose germicide UV= $60 \text{ mJ}/\text{cm}^2$
Transmission 98% sur 10 mm, débit de pointe horaire $4.8 \text{ m}^3/\text{h}$
Lampe basse pression puissance : 75W



Figure 1 : Système de lampes UVc

## 2.4 - Variables mesurées

### a) Croissance bactérienne : comptage des colonies

Dans le but d'estimer l'évolution du développement de la population bactérienne suite au rayonnement, des échantillons de 1 l sont prélevés après chaque passage afin d'évaluer l'efficacité désinfectante des stérilisateur et de quantifier la présence de la bactérie. Chaque échantillon est analysé immédiatement ( $J_0$ ) puis après trois ( $J+3$ ) et sept jours ( $J+7$ ) en laboratoire.

## b) Pouvoir pathogène

Ce test consiste à inoculer une culture bactérienne à la plante-hôte dans le but de reproduire les symptômes typiques de la maladie. Les échantillons d'eau contaminée à  $10^7$  ufc/ml et désinfectés aux UVc sont utilisés pour vérifier son pouvoir pathogène. Après sept jours (J+7), une autre vérification du pouvoir pathogène est réalisée. Les plants de tomate (variété ROMA VF) sont trempés dans les différents échantillons d'eau d'irrigation et/ou d'eau de drainage correspondant à la dose UVc appliquée (à 60 mJ/cm<sup>2</sup>, 120 mJ/cm<sup>2</sup>, 240 mJ/cm<sup>2</sup> et à 360 mJ/cm<sup>2</sup>). Le pouvoir pathogène a aussi été réalisé pour les trois échantillons témoins : les deux positifs (eau non inoculée avant et après passage à 120 mJ/cm<sup>2</sup>) et le témoin négatif (suspension bactérienne non désinfectée). Le taux de flétrissement a été calculé en utilisant un indice de maladie qui tient compte de l'ensemble du nombre de plants flétris et des infections latentes révélées après analyse bactériologique des plants qui ne présentaient pas de symptômes.

## c) Evaluation due l'état viable non cultivable (VNC)

*R.solanacearum* peut exister dans la nature dans en état viable mais non cultivable. Cet état permet à la bactérie de rester viable mais incapable de se multiplier. Les conditions qui induisent ce type d'état sont de nature différente et dépendent du type de bactérie : stress osmotique, changements de température, présence de métaux lourds etc. Dans certains cas, la bactérie peut restaurer son état normal et redevenir capable de se multiplier et être pathogène.

L'étude de l'état VNC n'est réalisée que pour les échantillons des deux souches à  $10^7$  UFC/ml. De plus, à chaque manipulation à J0 et J+7, le nombre de bactéries en état VNC est évalué sur un échantillon d'eau d'irrigation (témoin) sans inoculation avant et après passage.

# D - RESULTATS ET DISCUSSION

## 1.1 - Efficacité des différentes doses germicides sur la population bactérienne

### 1.1.1 Eau d'apport

- Concentration bactérienne de  $10^3$  UFC/ml

Les rayons ultraviolets sont efficaces à partir d'une dose germicide de 60 mJ/cm<sup>2</sup> avec une eau d'apport chargée à la concentration bactérienne de  $10^3$  UFC/ml et cela quelle que soit la souche utilisée pour l'inoculation (Fig. 2).

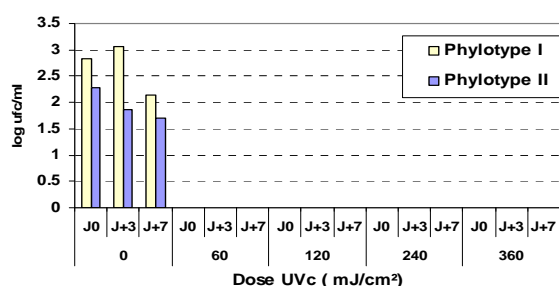


Figure 2 : Niveau moyen de population bactérienne dans l'eau d'apport chargée à la concentration bactérienne  $10^3$  ufc/ml après désinfection aux UVc (doses germicides UV : 0, 60, 120, 240, 360 mJ/cm<sup>2</sup>), mesuré immédiatement (J0) puis 3 (J+3) et 7 jours après (J+7)

- *Concentration bactérienne de  $10^5$  UFC/ml*

En ce qui concerne la population bactérienne à la concentration de  $10^5$  UFC/ml dans l'eau d'apport, elle subit une forte réduction de concentration après le passage à travers le stérilisateur, comme le montre la figure 3. Il est intéressant de noter une meilleure efficacité de désinfection pour le Phylotype II. En effet, pour le Phylotype I, malgré la forte dose bactéricide ( $360 \text{ mJ/cm}^2$ ), les analyses faite à J+3 et J+7 montrent que le risque d'un passage de quelques bactéries capables de se multiplier, même 7 jours après passage, existe. Le rayonnement UV a un effet sur l'ADN, l'acide nucléique et les enzymes. L'action stérilisante, est due à la perturbation apportée par le rayonnement ultraviolet dans la structure chimique des constituants de la cellule vivante, et par suite, de leur fonctionnement. Les organismes pathogènes sont donc inactivés ou détruits. La différence de croissance bactérienne que nous avons observée entre les deux souches pourrait être attribuée à une divergence dans les mécanismes réparateurs qui interviennent lorsque l'ADN est endommagé par les rayons ultraviolets. Ce processus se traduit dans une meilleure résistance et capacité de survie du Phylotype I. Ce résultat nous suggère que telle dose d'exposition appliquée ne permet pas la destruction totale (effet bactéricide).

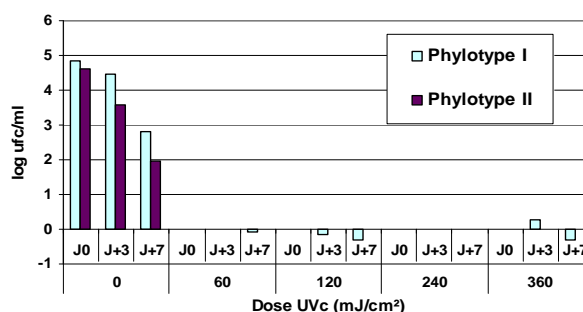


Figure 3 : Niveau moyen de population bactérienne dans l'eau d'apport chargée à la concentration bactérienne  $10^5$  ufc/ml après désinfection aux UVc (doses germicides UV : 0, 60, 120, 240, 360 mJ/cm²), mesuré immédiatement (J0) puis 3 (J+3) et 7 jours après (J+7)

- *Concentration bactérienne de  $10^7$  UFC/ml*

Quand nous avons analysé l'effet germicide des UVc sur de l'eau d'irrigation contaminée avec une concentration bactérienne très élevée de  $10^7$ UFC/ml, nous observons aussi une forte diminution de la charge bactérienne. Comme nous avons décrit précédemment, nous constatons un effet plus important sur le Phylotype II. Mais dans ce cas l'efficacité des lampes UVc est fortement réduite. En effet, malgré la forte dose germicide (240, 360 mJ/cm²) la population bactérienne reste en quantité considérable dans l'eau (quantité de l'ordre de une unité logarithmique). (Figure 4)

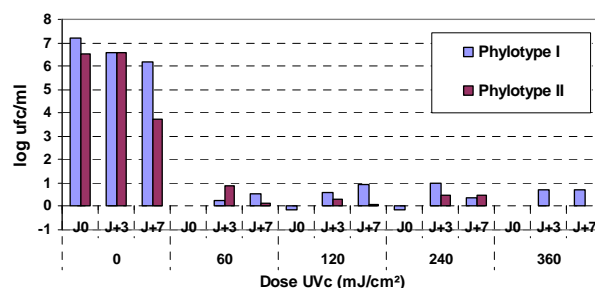


Figure 4 : Niveau moyen de population bactérienne dans l'eau d'apport chargée à la concentration bactérienne  $10^7$  ufc/ml après désinfection aux UVc (doses germicides UV : 0, 60, 120, 240, 360 mJ/cm²), mesuré immédiatement (J0) puis 3 (J+3) et 7 jours après (J+7)

### 1.1.2 - Eau de drainage

Comme pour l'eau d'apport, l'effet désinfectant des rayons UVc sur l'eau de drainage contaminée à une concentration de  $10^7$ UFC/ml est visible (Figure 5). Contrairement à ce que nous avons constaté dans le cas précédent l'effet est plus élevé pour le Phylotype I. L'explication que nous pouvons avancer est que l'eau de drainage utilisée pour cette dernière inoculation était fortement trouble et chargée en matière organique puisque issue d'une culture de tomate qui venait d'être plantée sur fibre de coco. L'efficacité de rayons ultraviolets est fortement compromise lorsque la turbidité de l'eau augmente puisque la transmittance diminue.

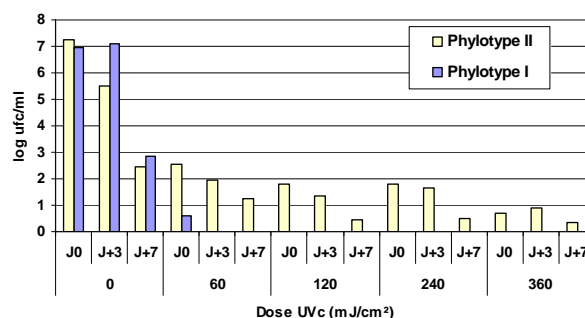


Figure 5 : Niveau moyen de population bactérienne dans l'eau de drainage chargée à la concentration bactérienne  $10^7$  ufc/ml après désinfection aux UVc (doses germicides UV : 0, 60, 120, 240, 360 mJ/cm²), mesuré immédiatement (J0) puis 3 (J+3) et 7 jours après (J+7)

## 1.2 - Evaluation du pouvoir pathogène

L'évaluation du pouvoir pathogène confirme les résultats obtenus précédemment avec les analyses bactériologiques des eaux d'apport et de drainage après le passage à travers les stérilisateur. Nous pouvons remarquer un pouvoir germicide des lampes sur une charge bactérienne élevée. Cependant, le nombre de plants flétris et la présence de la bactérie dans des plants non flétris à la fin de la période d'observation, mettent en évidence un taux de flétrissement considérable à la dose germicide de 60mJ/cm<sup>2</sup>, même sept jours après la désinfection dans le cas de l'eau d'apport (47.50 %). De plus, malgré un passage à des doses germicides plus élevées, les plants restent susceptibles d'être contaminés même après sept jours (240 mJ/cm<sup>2</sup> J+7 : 5% ; 360 mJ/cm<sup>2</sup> à J<sub>0</sub> :15%), et ceci de façon plus évident pour le Phylotype I . (Figure 6)

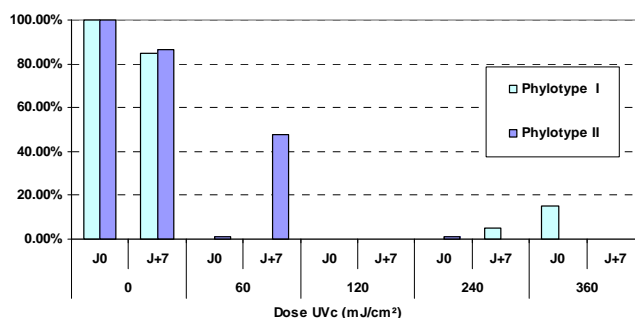


Figure 6: Pourcentage de plants flétris. A partir de plants sains inoculés avec l'eau d'apport chargée à la concentration bactérienne 10<sup>7</sup> ufc/ml après désinfection aux UVc (doses germicides UV : 0,60,120,240, 360 mJ/cm<sup>2</sup>), mesuré immédiatement (J0) puis 3 (J+3) et 7 jours après (J+7)

Par contre, le taux de flétrissement des plants inoculés avec le Phylotype II reste élevé même pour les plants inoculés avec l'eau de drainage qui a subi un passage à fortes doses germicides (240 mJ/cm<sup>2</sup>, 360mJ/cm<sup>2</sup>), (Figure7). Ceci confirme le résultat précédent. En effet si l'eau de drainage est très colorée, l'efficacité des UV est réduite et la charge bactérienne reste importante et toujours pathogène, même avec de l'eau conservée pendant sept jours. Cela expliquerait aussi la différence de pourcentage de plants flétris entre les Phylotype I et II. En effet, des contraintes d'expérimentation nous ont obligé à prélever le drainage en deux temps. L'eau contaminée avec le Phylotype I était une eau de drainage plus claire, prélevée en fin de culture. L'eau contaminée avec le Phylotype II a été prélevée en début de culture, plus chargée en fibre de coco.

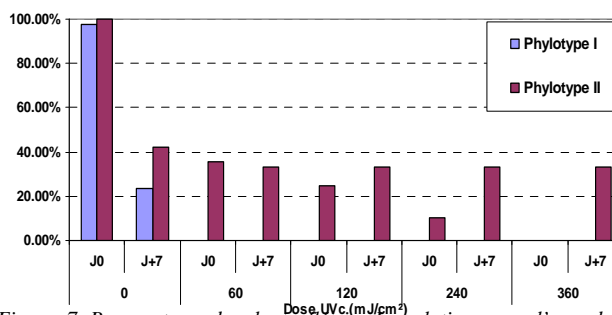
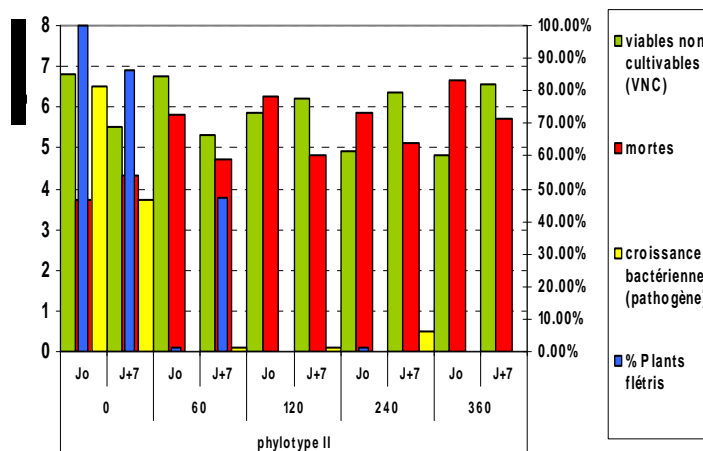
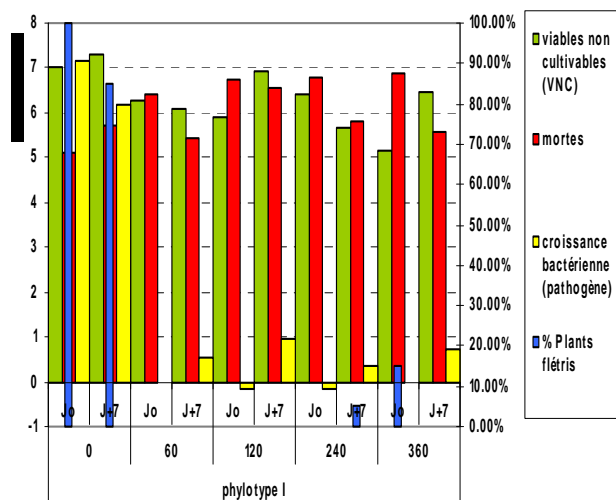


Figure 7: Pourcentage de plants flétris. Inoculation avec l'eau de drainage chargée à la concentration bactérienne 10<sup>7</sup> ufc/ml après désinfection aux UVc (doses germicides UV : 0,60,120,240, 360 mJ/cm<sup>2</sup>), mesuré immédiatement (J0) puis 3 (J+3) et 7 jours après (J+7)

## 1.3 - Evaluation de l'état viable non cultivable (VNC)

L'étude de l'état VNC montre que la possibilité de conversion *R. solanacearum* en état viable mais non cultivable existe. En effet le nombre de bactéries VNC comptées reste relativement équivalent à la suspension de départ, même après passage à travers les rayons ultraviolet (10<sup>7</sup> ufc/ml) et il est également constant après sept jours. L'évaluation de la croissance bactérienne a montré que, malgré la forte dose germicide (240, 360 mJ/cm<sup>2</sup>), la population bactérienne reste en quantité considérable dans l'eau. Cela indique que les bactéries ne sont pas toutes complètement détruites, elles restent viables. Donc suite au rayonnement les bactéries sont endommagées par les UV, elles subissent un stress. Parmi les stressées il y a une fraction qui évolue vers la mort, certaines qui restent viables et pathogènes et, enfin la majorité qui bascule en état VNC et qui est capable de ressusciter et reprendre son activité. Ceci semble être lié à la présence d'exsudats racinaires de certains plants. (Figures 8 et 9)



Figures 8 et 9 : Effet des UV (Doses germicides: 0 ;60 ;120 ;240 ;360 mJ/cm<sup>2</sup>) sur la population de *R. solanacearum* ( Phylotypes I et II) dans l'eau à jour 0 (J<sub>0</sub>) et après 7 jours ( J+7).

## **E - CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

L'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité désinfectante des stérilisateur UVc sur une eau d'irrigation contaminée par *R. solanacearum*. Afin de recommander des mesures prophylactiques qui permettraient de maintenir des serres exemptes de *R. solanacearum* ou réduire les possibilités d'introduction de la bactérie par l'eau d'irrigation, nous avons cherché à définir une dose germicide applicable en situation réelle d'exploitation agricole. Dans ces travaux nous avons considéré aussi la possibilité de désinfecter l'eau de drainage. En effet le recyclage des eaux en culture hors sol sera nécessaire.

Après désinfection la croissance bactérienne dans de l'eau contaminée à trois concentrations, une faible à 10<sup>3</sup> ufc/ml, une moyenne 10<sup>5</sup> ufc/ml et une forte 10<sup>7</sup> ufc/ml, a été étudiée. Les résultats montrent que l'efficacité de lampes UV pour la désinfection de l'eau d'apport est fonction de la charge bactérienne et de la souche. En effet à concentration bactérienne relativement « faible » (10<sup>3</sup> ufc/ml) les lampes UV sont efficaces à partir de 60 mJ/cm<sup>2</sup>, à concentration bactérienne 10<sup>5</sup> ufc/ml l'efficacité est quasi-totale. Le passage de quelques bactéries dans l'eau reste une éventualité même après une dose germicide élevée. Par contre pour la concentration bactérienne plus élevée (10<sup>7</sup> ufc/ml) l'efficacité est réduite. En effet l'évaluation du VNC (« état viable non cultivable ») confirme que, sur une fraction de la population bactérienne les UV ont une action bactériostatique, qui permet à la cellule de continuer à vivre, mais sans avoir la possibilité de se reproduire, toutefois une autre fraction reste viable et pathogène. La population bactérienne qui est en état VNC peut restaurer son état normal et redevenir capable de se multiplier et être pathogène. Cet aspect pose la question sur la « durabilité » de la désinfection aux UV. L'influence du rayonnement UVc sur passage de *R. solanacearum* de VNC à pathogène est un sujet qui mériterait d'être approfondi.

Pour ce qui concerne la désinfection de l'eau de drainage l'efficacité des lampes est fonction de la turbidité et de la coloration du drainage. En effet, nous avons constaté que quand un drainage est « coloré » ou trouble, même après passage à travers les filtres, l'efficacité est fortement compromise. Ces résultats ont été confirmés par le taux de flétrissement enregistré pour le même traitement.

Il est donc recommandé de ne pas réutiliser l'eau de drainage en début de culture dans un substrat comme la fibre de coco et en dans tous les cas de mélanger l'eau de drainage avec de l'eau claire avant passage aux UV.



On peut conclure à la suite de cet essai que les UV sont efficaces pour contrôler la bactérie dans certaines conditions. En effet, il semble assez clair que ce système de désinfection utilisé comme seul moyen de contrôle de la bactérie a des limites qui sont liées au type de lampe utilisée, au système de culture (la puissance des lampes est limitée par le débit), au Phylotype de la bactérie présent, à l'état VNC et bien sûr à la charge bactérienne dans l'eau d'apport. La combinaison de deux méthodes de désinfection pourrait apporter une efficacité plus renforcée.

Afin de pouvoir faire un choix ciblé sur la dose UV germicide la plus appropriée nous aurions besoin de connaître quelle est la gamme des concentrations bactériennes présentes naturellement dans l'eau d'irrigation et mais aussi si elles varient d'une saison à l'autre. Le fait d'avoir pris en considération ces trois concentrations différentes nous a permis d'avoir une idée de la réduction de la charge bactérienne que nous pouvons obtenir tout en sachant qu'une concentration de  $10^5$  ufc/ml est une charge déjà très forte mais pas impossible à atteindre en condition fortement contaminant.

Sur la base de ces résultats la prochaine étape consiste à vérifier en condition de culture si une désinfection de l'eau d'apport en préventif peut être efficace pour prévenir ou réduire le développement du flétrissement bactérien en cas de contamination accidentelle.

# MAITRISE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL

**« MISE AU POINT D'UN SYSTEME PREVENTIF DE DESINFECTION DE L'EAU »**

### *Valorisation des résultats : saison fraîche 1<sup>er</sup> cycle*

Durée : Mai- septembre 2005

Code essai : 12 E 06

Auteurs : Arianna CARIGLIA (ARMEFLHOR) - Philippe PRIOR (INRA-CIRAD) - Olivier PRUVOST (CIRAD) - Anne CAPY (ARMEFLHOR) – Jean-Jacques CHERON (CIRAD) - Isabelle CABEU (ARMEFLHOR) - Bernard NARINSAMY (ARMEFLHOR) - Frédéric CHIROLEU (CIRAD) – Jacques VESLOT ( CIRAD)

Partenaires : CIRAD - SPV - FDGDON - Université de la Réunion - Chambre d'Agriculture

## **A - CADRE GENERAL DE L'ETUDE**

A la Réunion, le développement du flétrissement bactérien est un facteur limitant reconnu de la culture de tomate en plein champ. Toutefois, comme en plein champ, une contamination des plants cultivés sous serres en hors sol reste possible, car la bactérie peut être véhiculée par l'eau. Le rôle de l'eau dans la dissémination de *R.solanacearum*, l'agent pathogène du flétrissement bactérien, a été montré par différentes études menées en différents pays. L'origine de la contamination des rivières semble être liée à des rejets domestiques (station d'épuration) ou industriels. De plus certaines plantes adventices présentes au bord des cours d'eaux, sont considérées comme des réservoirs d'inoculum pouvant assurer la survie et la multiplication du pathogène. A la Réunion, la contamination de l'eau d'irrigation par *R.solanacearum* se produit souvent suite à des ruptures d'alimentation en raison d'accidents climatiques (fortes pluies ou cyclone). De plus la dissémination risque d'être plus importante à la suite des travaux de basculement des eaux de l'Est, où la bactérie est présente, vers l'Ouest. Puisque à l'heure actuelle il n'existe aucune information officielle et précise concernant la présence et la quantité de *R. solanacearum* dans l'eau d'irrigation à la Réunion, une décontamination efficace de l'eau comme moyen prophylactique est donc indispensable pour éviter toute introduction dans une serre par les apports d'irrigation. Les méthodes permettant de réduire le risque phytosanitaire les plus employées dans le cadre de culture hydroponique en circuit fermé sont la désinfection physique par ultraviolets et chimique par chloration. Elles présentent l'avantage d'assurer la désinfection de l'eau d'irrigation. Actuellement très peu d'études ont été conduites sur l'efficacité de la désinfection vis-à-vis de *R. solanacearum*, et surtout sur les méthodes applicables en conditions réelles.

## B – OBJECTIFS

Ce projet a comme objectif la mise au point de techniques culturales, qui permettent de maintenir les serres de production exemptes de *R.solanacearum*, mais aussi de maîtriser le problème en cas d'introduction. Il prévoit plusieurs actions sur une période de trois ans. Suite aux résultats obtenus précédemment sur la désinfection chimique par chloration (ACTION 1, 2002) et la désinfection par rayons ultra-violet de l'eau d'irrigation vis-à-vis de *R.solanacearum* en 2005, le travail de ces dernières expérimentations est de valider ces résultats en cours de culture. Nous avons donc mis en place des essais au cours des deux saisons qui caractérisent l'année australe, fraîche et chaude et avec les deux souches présentes à la Réunion (Phylotype I « tropical », en saison chaude et Phylotype II, « tempère » en saison fraîche). L'objectif est de mettre au point un système de désinfection de l'eau d'irrigation d'une culture hors sol en préventif pour réduire le risque de contamination accidentelle et empêcher le développement de la bactérie d'un plant à l'autre en cas de contamination.

## **C - MATERIEL ET METHODES**

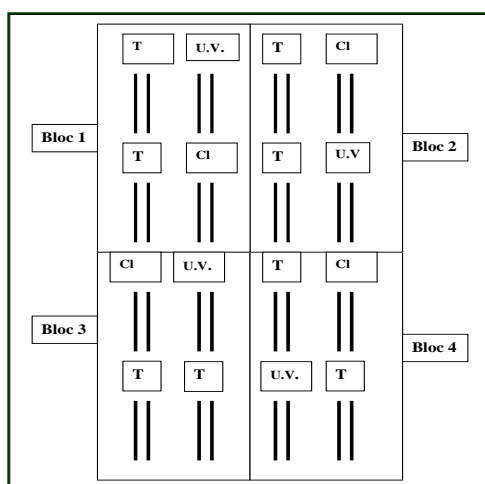
L'expérimentation a été mise en place dans la serre d'expérimentation au Pôle de Protection des Plantes, à St Pierre spécialement prévue pour accueillir les essais dans le cadre du projet. Les analyses microbiologiques ont été réalisées dans le laboratoire de microbiologie du Pôle de Protection des Plantes.

### **1. Facteur étudié**

Le facteur étudié dans les deux expérimentations est *l'efficacité* du système de désinfection de l'eau contaminée par *R. solanacearum* dans une culture hors sol de tomate. Deux systèmes de désinfection sont étudiés, la chloration et la stérilisation aux UVc.

### **2. Protocole expérimental**

L'essai a été mené sur une culture de tomate conduite en hors sol dans une serre tunnel de 240 m<sup>2</sup> conduite selon la pratique commune utilisant des sacs de fibre de coco (sacs de 60 cm ; 2 plants par sac). La variété de tomate utilisée est CENCARA. Chaque parcelle élémentaire est composée d'une double ligne de 32 plants (Figure 1). Afin d'éviter toute contamination entre les modalités, chaque parcelle élémentaire a été séparée des autres, mais a reçu la même solution nutritive. Le réseau d'irrigation a été équipé d'un système de filtration. L'eau a été filtrée d'abord sur un filtre à sable ensuite sur deux filtres à tamis de 100 µ avant d'être stockée dans un réservoir. Avant d'être utilisée pour l'irrigation elle est filtrée à nouveau sur deux filtres à tamis de 130 et 80 µ. En effet, une filtration efficace garantit un effet accru du système de désinfection aux UVc. Un système de récupération des eaux drainage a été mis en place pour que le drainage soit collecté et désinfecté chimiquement à la sortie de la serre. Afin d'éviter toute contamination entre les différentes modalités, les travaux d'entretien des cultures ont été effectués en portant des gants pour ce qui concerne le traitements aux UVc et au Chlore. Par contre, afin de mettre en évidence une « mauvaise conduite de la culture », aucune précaution particulière n'a été prise pour les plants témoins pour lesquels le même sécateur a été utilisé sans aucune désinfection. L'essai a débuté en avril 2005 et a pris fin en septembre 2005.



#### ***2.1 - Dispositif expérimental***

- 3 modalités

- 1) Traitement UV + désinfection des outils de travail
- 2) Traitement Chlore + désinfection des outils de travail
- 3) Témoin non traité

- 4 répétitions

Le plan expérimental (Figure 1) est constitué de 4 blocs, chacun contenant 4 parcelles élémentaires : une parcelle pour le traitement U.V., une pour le traitement Chlore (Cl) et deux pour le témoin (T), répétés deux fois par bloc. La position des trois modalités dans chaque bloc est choisie au hasard.

Figure 1 : Plan expérimental. 4 blocs de 4 parcelles élémentaires  
(T :Témoin; Cl : Chloration; UV : lampes UVc)

## 2.2 - La contamination de l'eau d'irrigation

Afin de simuler une contamination accidentelle du réseau d'irrigation par *R.solanacearum* de la souche JT 516 appartenant au Phylotype II (biovar 2 race 3), les parcelles ont été contaminées avec une suspension bactérienne à une concentration de  $10^5$  ufc/ml trois semaines après la plantation. Cette souche est caractéristique des zones hautes de l'île et aussi de la saison fraîche. L'injection de la suspension bactérienne dans l'eau d'irrigation est faite pendant 15 jours à l'aide de pompes doseuses (DOSATRON) à un taux d'injection de 1 %. Les pompes hydrauliques étaient placées en amont des lignes de culture avant les systèmes de désinfection. (Figure 2)



Figure 2 : Pompe doseuse pour l'injection de la suspension bactérienne dans le système d'irrigation

A la différence du traitement Chlore et du Témoin, dans le cas du traitement aux Uvc, l'eau a été d'abord contaminée et désinfectée avant de recevoir l'injection de la solution nutritive, ceci pour éviter l'interaction entre les lampes UV et le fer présent dans la solution nutritive. En effet, la désinfection par irradiation UV détruit les chélates de fer, conduisant à une diminution du fer assimilable et à un dépôt d'oxyde de fer sur le quartz de la lampe. Les plants recevaient donc, après quinze jours, chacun une dose totale d'inoculum de 210 ml. Afin d'assurer la vitalité des bactéries inoculées, l'inoculum dans la solution nutritive a été renouvelé tous les 2 jours. Les parcelles témoins sont inoculées de la même façon mais n'ont reçu aucune désinfection de l'eau.

## 2.3 - La désinfection de l'eau d'irrigation

Actuellement aucun produit désinfectant n'est homologué pour la désinfection de l'eau. En effet dans le catalogue des usages publié par le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, il existe une catégorie intitulée « produits pour la désinfection des eaux de drainage de culture hors sol en circuit fermé », mais aucun produit n'y est inscrit. Compte tenu du fait que le chlore pourrait être homologué pour cet usage, nous avons voulu comparer deux méthodes de désinfection de l'eau d'irrigation : la désinfection chimique par chloration et la désinfection physique par irradiation aux rayons ultraviolets.

### 2.3.1 - La chloration

Le produit utilisé et la dose de chlore sont déterminés sur la base des résultats des essais précédents. Les résultats en laboratoire relatifs à la première action, « La désinfection de l'eau d'irrigation contaminée par *Ralstonia solanacearum* », ont révélé la possibilité d'une décontamination de l'eau par des produits ayant un effet anti-bactérien satisfaisant. Le produit que nous avons retenu est le SR JAVEL (caractéristiques décrites dans le tableau 1). Ce sont des pastilles de chlore utilisées à une dose efficace sur les bactéries mais pas phytotoxique pour les plants (résultat de l'ACTION 2, 2003). La dose utilisée a été donc de 62 ppm correspondant à la Dose Minimale d'Inhibition double (D.M.I., p.p.m.), après injection, au niveau des plants ; la même dose avait été utilisée lors de l'évaluation de la phytotoxicité. L'injection du produit désinfectant est faite par une pompe doseuse hydraulique (DOSATRON) avec un taux d'injection de 1 %.

Tableau 1 : Caractéristiques du produit utilisé pour la chloration.

NOM COMMERCIAL	MATIERE ACTIVE	FOURNISSEUR	DOSE CONSEILLÉE PAR LE FABRICANT	USAGE COURANT
SR Javel	chlore et dichloroisocyanure de sodium dihydrate	SRPI	(2 pastilles) 3,3gCl/10L d'eau (300ppm)	Locaux domestique et industriel

### 2.3.2 - La désinfection par irradiation aux rayons ultraviolets

Sur la base des résultats obtenus dans l'expérimentation précédente au cours de laquelle le pouvoir germicide des lampes UVc vis-à-vis de *R. solanacearum* a été étudié, et en fonction de la disponibilité des lampes sur le marché, nous avons défini une dose germicide efficace contre *R. solanacearum*. Nous avons donc installé deux stériliseurs positionnés en série (Figure 3). Chaque lampe a une dose germicide de 112 mJ/cm<sup>2</sup>, nous obtenons donc une dose germicide totale de 224 mJ/cm<sup>2</sup>. L'eau a été désinfectée en continu en fonction des irrigations. Les lampes sont restées allumées en permanence pendant toute la période de l'essai.



Figure 3 : Système de stérilisation au UV

### 2.4 - Variables mesurées

#### a) Suivi de la présence de *R. solanacearum* dans les eaux d'apport et de drainage

Afin d'évaluer et de quantifier la présence de la bactérie dans la solution d'apport et de drainage, des prélèvements réguliers ont été réalisés dès le début de l'inoculation pour chaque modalité. Au moment de renouveler la suspension bactérienne injectée, un échantillon de cette dernière a été analysé pour vérifier et quantifier la présence de bactéries.

#### b) Taux de flétrissement des plants

#### *Evaluation de la progression de la bactérie en cours de culture*

- Sur la modalité sans désinfection (témoin) le taux de flétrissement a été observé et noté à chaque apparition de symptômes (mesure non destructive) pour mettre en évidence la transmission de la maladie d'un plant à l'autre.
- Sur les modalités avec désinfection (chlore et UV) dès l'apparition de symptômes de flétrissement visibles le plant est prélevé et analysé. Des prélèvements de substrat sont aussi effectués autour des plants infectés et des plants voisins (mesures destructives).

#### *Evaluation des populations bactériennes dans les plants non flétris et flétris en fin d'essai*

En fin d'essai, le travail de diagnostic a consisté à déterminer la présence de populations bactériennes dans tous les plants ayant présenté ou non des symptômes, et d'évaluer le taux d'infection. Donc, 15 plants par traitement et par parcelle sont prélevés. L'analyse au laboratoire du collet de chaque plant a permis de vérifier l'absence ou la présence de la bactérie.

#### *Détection de *R. solanacearum* par Single Closed-Tube Nested-PCR :*

Tableau 2 : Caractéristiques techniques des stériliseurs

Série UVPS IBP 10HO (Fournisseur : ECR Réunion)
Réacteurs inox
Longueur d'onde de 254 nm
Dose germicide UV=112 mJ/cm <sup>2</sup>
Transmission 98% sur 10 nm, débit de pointe horaire 4.8 m <sup>3</sup> /h
Lampe basse pression puissance : 75W

Afin d'approfondir les analyses et pour détecter les infections latentes de la bactérie dans les plants inoculés qui n'ont pas flétri et qui n'ont pas été positifs aux analyses bactériologiques, nous avons utilisé un outil mis au point au Pôle de Protection des Plantes par le CIRAD et le SPV. Il s'agit d'une méthode par Nested PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne) plus sensible et performante

pour détecter *R. solanacearum* *in planta*. Nous avons effectué les analyses sur le liquide d'extraction des échantillons de plants : 5 échantillons par bloc pour les traitements Chlore et UV et 8 échantillons pour les témoins.

### c) Recherche de *R.solanacearum* dans les substrats

Afin de quantifier et vérifier la présence de la bactérie dans la serre, les substrats associés aux plants sont analysés. Pour avoir une vision globale de la répartition de la bactérie dans les parcelles un échantillonnage en maille est réalisé. Nous avons collecté quatre échantillons de substrat de fibre de coco par parcelle. Au final, un échantillon unique, issu des quatre sacs de substrat échantillonnés les uns à la suite des autres sur la parcelle, est constitué.

### d) Evaluation de l'impact des traitements désinfectants sur la culture (relevés physiologiques, récolte)

Afin d'estimer l'effet des traitements désinfectants par chloration sur la physiologie des plantes nous avons suivi le développement des plants.

- *Développement végétatif* : le diamètre de la tige ; le stade de floraison et le stade de nouaison ont été observés sur 5 plants échantillonnés par parcelle et par traitement; dans le cas des témoins une seule parcelle par bloc a été suivie.

- *Rendement* : nombre et poids des fruits commercialisables et fruits non commercialisables par calibre (<47, 47-57, >57), la nature des déchets a été évaluée pour chaque parcelle élémentaire.

## 2.5 - Analyse statistique

L'effet des facteurs traitement, bloc et date sur tige ainsi que l'effet des facteurs traitement et bloc sur rendement ont été testés par l'analyse de la variance. Pour les effets significatifs un Test de TUKEY, fondé sur la Honest Significant Difference (HSD), a été réalisé pour comparer les moyennes des modalités 2 à 2 au seuil 5 %.

## D - RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Développement de *R.solanacearum* dans les eaux d'apport et de drainage

L'évolution de la présence bactérienne dans les eaux d'apport et de drainage tout au long de l'essai est représentée dans le graphique (Figure 4). Dans l'eau désinfectée aux UV et au Chlore aucune présence bactérienne n'a été détectée. Les analyses bactériologiques ont révélé la présence de bactéries uniquement dans les parcelles du témoin. Nous pouvons également remarquer que le taux d'inoculum dans l'eau d'apport du témoin tend à diminuer après l'inoculation (10/08/2005) et en fin d'essai. Par contre les concentrations bactériennes retrouvées dans les eaux de drainage augmentent en fonction du développement du flétrissement des plants. En effet les plants, après infection, relâchent des bactéries dans l'eau de drainage et augmentent la possibilité de contamination d'autres plants.

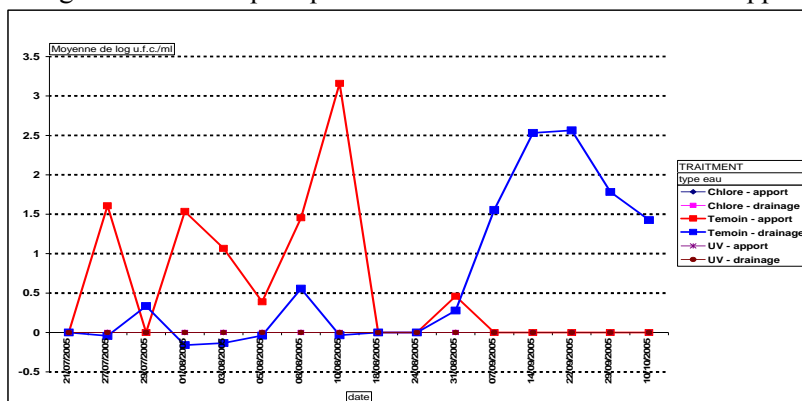


Figure 4 : Evolution temporelle de la population bactérienne dans les eaux d'apport et drainage ; Les courbes des traitements Chlore et UV sont superposées (pas de bactéries).



## 2. Développement de la bactérie dans la serre

### 2.1 - Pourcentage de plants flétris

Les premiers symptômes de flétrissement des plants ont débuté dix jours après l'inoculation et ont concerné seulement les plants des parcelles témoins. Les plants irrigués avec l'eau désinfectée n'ont pas exprimé de symptômes. Les analyses en laboratoire n'ont pas non plus révélé la présence de la bactérie. (Figure 5). Afin d'obtenir une valeur plus précise de l'indice de maladie (IM: Plantes flétris + plants porteurs sains), nous avons considéré comme malades les plants sans symptômes visibles qui se sont révélés positifs suite aux analyses. Comme nous pouvons le constater, le pourcentage de plants flétris dans le témoin a été relativement faible et n'a concerné que les parcelles des blocs 1, 3 et 4. En effet les blocs 3 et 4 sont positionnés en aval de la serre, la pente a pu influencer sur la distribution de la bactérie dans les blocs.

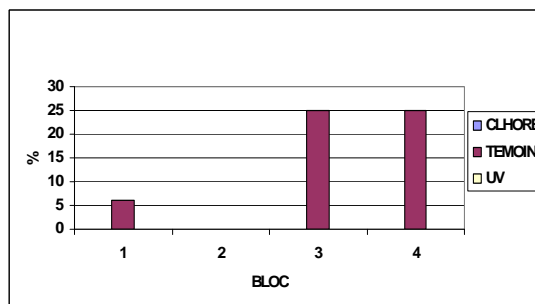


Figure 5 : Pourcentage de plants flétris par bloc. Tous les pourcentages des traitements Cl et UV sont nuls.

### 2.2 - Détection de *R. solanacearum* par Nested-PCR

La méthode par Nested PCR nous a permis de vérifier, avec un seuil de détection bas, la présence ou l'absence de bactéries dans les plants. Cette méthode est beaucoup plus sensible car elle permet de détecter l'ADN de la bactérie dans un plant. Ceci nous permet donc de rechercher les infections latentes dans les plants qui ont reçu de l'eau traitée au préalable mais aussi de compléter les résultats obtenus par les analyses bactériologiques qui ne permettent pas de détecter la présence de la bactérie à des niveaux plus faibles. En effet, nous avons confirmé la présence de bactéries dans les plants du témoin du bloc 1 et 2 alors que nous nous n'avions pas eu de plant flétri. Sur le nombre total d'échantillons du témoin, 60 % des plants ont été positifs au flétrissement bactérien. Les analyses faites sur les extraits de plant issus des traitements chlore et UV indiquent la présence de l'ADN de bactérie (Tableau 3). Ceci confirme le résultat obtenu dans l'expérimentation précédente : l'éventualité d'une infection existe. Ce résultat nécessite d'être approfondi, une réponse plus claire sera donnée avec les résultats du prochain essai.

Tableau 3. Résultats d'analyse microbiologique et Nested PCR sur extraits de plants échantillons : nombre de plants /nombre total d'échantillons (n°/n tot)

Traitements	Analyse microbiologique n°/n Tot	Nested PCR n°/n Tot
TEMOIN	7\64	39\64
CLHORE	0\20	1\20
UV	0\20	3\20

### 2.3 - Distribution et quantification de la bactérie dans les substrats

La localisation de la bactérie dans les sacs de fibre de coco et sa quantification est représentée en figure 6. Le résultat confirme celui obtenu sur le pourcentage de plants flétris. Nous retrouvons un niveau moyen de population bactérienne détectable uniquement dans les parcelles témoins les plus atteintes. Les analyses faites sur les substrats issus des traitements Chlore et UV n'ont pas signalé la présence de bactéries.

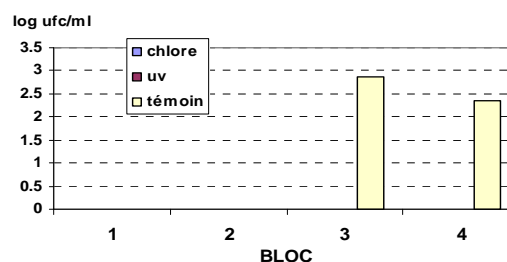


Figure 6: Population bactérienne dans le substrat de chaque bloc. Les valeurs des traitements Cl et UV sont nulles.

### 3. Impact des traitements désinfectants sur la culture

#### 3.1 - Développement végétatif

En ce qui concerne le nombre de bouquets fleuris et le nombre de bouquets noués, les figures 7 et 8 montrent clairement que il n'y a pas de différences entre les traitements. En effet, les courbes sont très proches. En revanche, les analyses statistiques mettent en évidence une différence dans le diamètre de tige pour les plants du traitement UV par rapport aux deux autres modalités. (Figure 9 et 10). Cette différence peut être expliquée par un fonctionnement différent des pompes doseuses de la fertilisation.

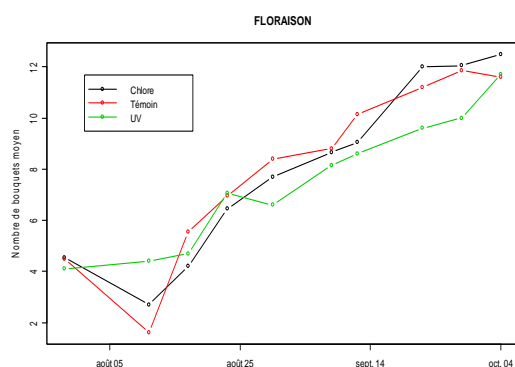


Figure 8 : Evolution de la floraison (nombre moyen de bouquets fleuris) en fonction du traitement.

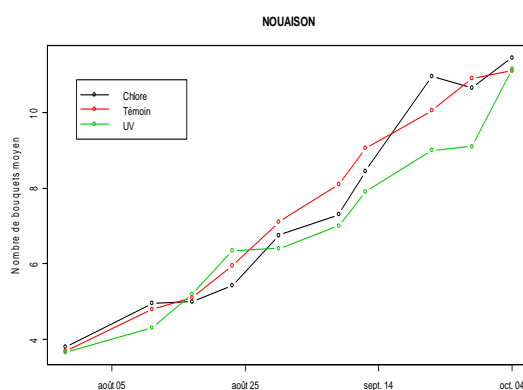


Figure 7 : Evolution de la nouaison (nombre moyen de bouquets nouée) en fonction du traitement.

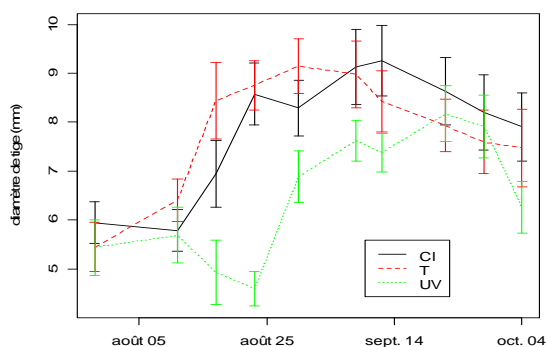


Figure 9 : Diamètre moyen de la tige en mm au cours du temps et en fonction du traitement (intervalles de confiance asymptotiques à 95% sur la moyenne)

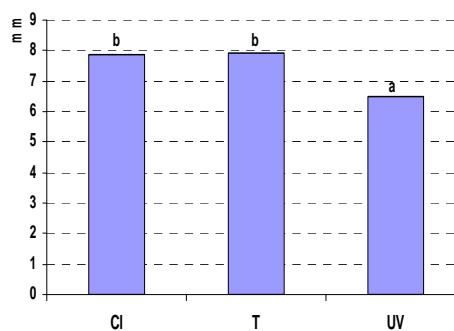


Figure 10 : Diamètre moyen de la tige en mm. Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de Tukey HSD au seuil de 5%)

### 3.2 - Rendement

Globalement le rendement est faible, ceci est dû au fait que l'essai n'a duré que deux mois et des problèmes techniques au niveau des pompes doseuses ont compromis la fertilisation. A la différence du développement végétatif dans le rendement, nous retrouvons un léger effet dû à la chloration. (Figure 11). Les plants traités au chlore ont montré une légère baisse de rendement par rapport au témoin. Par contre malgré les problèmes de fertilisation dans le traitement UV, il n'y a pas de différence significative entre le témoin et le

traitement UV.

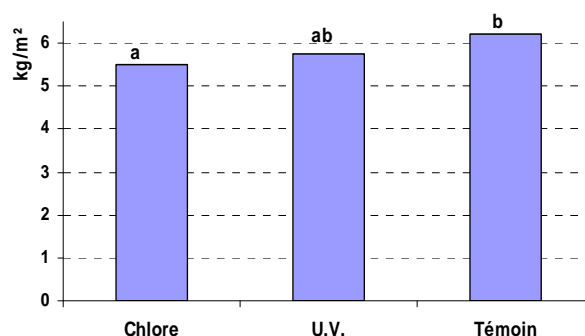


Figure 11: Valeur du rendement moyen. Test de TUKEY HSD (Honest Significant Difference) de comparaison des moyennes au seuil 5%

## E - CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif de cette étude a été de répondre à la question : « Comment désinfecter de façon appropriée l'eau d'irrigation contaminée par *R. solanacearum* et quelles précautions prendre pour éviter que la bactérie ne soit transmise en cours de culture ? »

Pour cela nous avons simulé une contamination accidentelle (souvent constaté après des pluies abondantes), en contaminant artificiellement l'eau d'apport. Nous avons donc évalué l'efficacité de la désinfection de l'eau d'irrigation contaminée, directement en cours de culture, par deux types de désinfection : une physique, la stérilisation aux rayons UVc et une chimique, la chloration. En effet, dans les précédentes expérimentations nous avons obtenu des réponses intéressantes en terme d'efficacité germicide des lampes UVc et du chlore sur de l'eau contaminée par *R. solanacearum*. La décontamination par rayonnement aux UVc s'est révélée être un moyen efficace à certaines puissances germicides et à certains niveaux de contamination. Elle est aussi d'utilisation facile.

La chloration par l'utilisation de pastilles de chlore s'est montrée efficace à des doses qui n'ont pas entraîné d'effet phytotoxique. Bien qu'aucun produit ne soit autorisé pour la désinfection de l'eau en culture hors sol, en voie expérimentale nous avons utilisé le chlore car il est efficace et d'application aisée. Dans cette étude nous avons constaté qu'aucun plant des traitements UV et Chlore n'a montré symptôme de flétrissement bactérien. La présence de la bactérie n'a été détectée ni dans les plants, ni dans les eaux de drainage ni dans les substrats. En effet, les résultats des analyses bactériologiques ont révélé la présence de bactéries uniquement dans les parcelles témoin. Par contre les analyses PCR faites sur les extraits de plant issus des traitements chlore et UV ont montré la présence de l'ADN de la bactérie. Ceci nous confirme le résultat obtenu dans l'expérimentation précédente : l'efficacité des rayons UV est quasi-totale. Un système de stérilisateurs UV avec une dose germicide de 220 mJ/cm² a toutefois des limites. Le passage de quelques bactéries reste une éventualité et donc, à une concentration bactérienne très élevée dans l'eau ( $10^5$  ufc/ml), la possibilité d'une infection existe, même avec un traitement au chlore. Il faut souligner qu'à l'heure actuelle nous ne disposons pas d'information précise concernant la présence et la quantité de *R. solanacearum* présente dans l'eau d'irrigation à la Réunion, et que  $10^5$  ufc/ml est considéré comme une dose très élevée mais possible. En ce qui concerne l'impact sur la culture dû chlore dans les apports d'irrigation, aucun effet phytotoxique n'a été démontré sur les plants, mais un léger effet dépressif sur le rendement a été remarqué.

Le deuxième aspect de cette étude était de mettre au point un système pour empêcher le développement de la bactérie d'un plant à l'autre en cas de contamination, malgré la désinfection. Lorsque les niveaux de flétrissement sont faibles, une intervention immédiate et drastique pourrait réduire les « dégâts ». Or, nous n'avons pas eu de développement de flétrissement d'un plant à l'autre dans les modalités avec désinfection.

**Cela nous suggère et confirme la possibilité d'une décontamination efficace de l'eau.**

La désinfection en continu est donc un moyen prophylactique qui permet d'éviter ou de réduire fortement l'introduction de la bactérie dans une serre de façon accidentelle par l'eau d'irrigation.

Nous pouvons conclure que les deux systèmes de désinfection ont une efficacité significative sur une charge bactérienne élevée. Afin d'améliorer l'efficacité de la désinfection, un système qui prévoit l'utilisation des lampes plus puissantes, et/ou un système qui associe les deux types de désinfection, chlore et UV, pourrait être envisagé. Ceci augmente aussi la sécurité de la désinfection si un des deux systèmes ne fonctionne pas.

Les résultats obtenus nécessitent d'être approfondis. En effet, une réponse plus claire en terme de possibilité d'infection des plants après désinfection de l'eau sera donnée avec les résultats des prochains essais en saison chaude et en saison fraîche. Il ne sera de même de l'effet dû au chlore sur les plants et sur le rendement. Ceci nous permettra de définir, un guide des «bonnes pratiques culturales» pour garantir une lutte préventive et une prophylaxie efficace.

## MAITRISE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL

### « MISE AU POINT D'UN SYSTEME PREVENTIF DE DESINFECTION DE L'EAU »

#### Valorisation des résultats :

Saison fraîche 2<sup>ème</sup> cycle

Saison chaude 1<sup>er</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> cycle

//////  
Durée : octobre 2005 – janvier 2007

Code essai : 12 E 06

Auteurs : Arianna CARIGLIA (ARMEFLHOR) - Philippe PRIOR (INRA-CIRAD) - Olivier PRUVOST (CIRAD) –  
Isabelle ROBENE-SOUSTRADE - Anne CAPY (ARMEFLHOR) – Jean-Jacques CHERON (CIRAD) – Annie  
LAURANT - Isabelle CABEU (ARMEFLHOR) - Bernard NARINSAMY (ARMEFLHOR) – Jean Michel BAPTISTE  
- Sylvain LEBON - Frédéric CHIROLEU (CIRAD)

Partenaires : CIRAD - SPV - FDGDON - Université de la Réunion - Chambre d'Agriculture  
//////

### A - CADRE GENERAL DE L'ETUDE

A la Réunion, le développement du flétrissement bactérien est un facteur limitant reconnu de la culture de tomate en plein champ. Toutefois, comme en plein champ, une contamination des plants cultivés sous serres en hors sol reste possible, car la bactérie peut être véhiculée par l'eau.

Le rôle de l'eau dans la dissémination de *R.solanacearum*, l'agent pathogène du flétrissement bactérien, a été montré par différentes études menées en différents pays. Dans la plupart des cas l'origine de la contamination des rivières semble être liée à des rejets domestiques (station d'épuration) ou industriels. De plus certaines plantes adventices présentes au bord des cours d'eau, sont considérées comme des réservoirs d'inoculum pouvant assurer la survie et la multiplication du pathogène. (Elphinstone, 1996 ; Janse, 1996 ; Hayward et al, 1998 ; Farag et al., 1999 ; Expert, 2000).

A la Réunion, la contamination de l'eau d'irrigation par *R.solanacearum* se produit souvent suite à des ruptures d'alimentation en raison d'accidents climatiques (fortes pluies ou cyclone). De plus la dissémination risque d'être plus importante à la suite des travaux de basculement des eaux de l'Est, où la bactérie est présente, vers l'Ouest. Puisque à l'heure actuelle il n'existe aucune information officielle et précise concernant la présence et la quantité de *R. solanacearum* dans l'eau d'irrigation à la Réunion, une décontamination efficace de l'eau comme moyen prophylactique est donc indispensable pour éviter toute introduction dans une serre par les apports d'irrigation.

Les méthodes permettant de réduire le risque phytosanitaire les plus employées dans le cadre de culture hydroponique en circuit fermé sont la désinfection physique par ultraviolets et chimique par chloration. Elles présentent l'avantage d'assurer la désinfection de l'eau d'irrigation.

Actuellement très peu d'études ont été conduites sur l'efficacité de la désinfection vis-à-vis de *R. solanacearum*, et surtout sur les méthodes applicables en conditions réelles.

### B – OBJECTIF

Ce projet a comme objectif la mise au point de techniques culturales, qui permettent de maintenir les serres de production exemptes de *R.solanacearum*, mais aussi de maîtriser le problème en cas d'introduction. Suite aux résultats obtenus précédemment sur la désinfection chimique par chloration ( ACTION 1, 2002) et la désinfection par rayons ultra-violet de l'eau d'irrigation vis-à-vis de *R.solanacearum* en 2005, le travail de ces dernières expérimentations est de valider ces résultats en cours de culture.

Nous avons donc mis en place des essais au cours des deux saisons qui caractérisent l'année australe, fraîche et chaude et avec les deux souches présentes à la Réunion (Phylotype I « tropical », en saison chaude et Phylotype II, « tempéré » en saison fraîche). L'objectif est de mettre au point un système de désinfection de l'eau d'irrigation d'une culture hors sol en préventif pour réduire le risque de contamination accidentelle et empêcher le développement de la bactérie d'un plant à l'autre en cas de contamination.

## **C - MATERIEL ET METHODES**

L'expérimentation a été mise en place dans la serre d'expérimentation au Pôle de Protection des Plantes, à St Pierre spécialement prévue pour accueillir les essais dans le cadre du projet. Les analyses microbiologiques ont été réalisées dans le laboratoire de microbiologie du Pôle de Protection des Plantes.

### **1. Facteur étudié**

Le facteur étudié dans les deux expérimentations est *l'efficacité* du système de désinfection de l'eau contaminée par *R. solanacearum* dans une culture hors sol de tomate. Deux systèmes de désinfection sont étudiés, la chloration et la stérilisation aux UVc.

### **2. Protocole expérimental**

L'essai a été mené sur une culture de tomate conduite en hors sol dans une serre tunnel de 240 m<sup>2</sup> conduite selon la pratique commune utilisant des sacs de fibre de coco (sacs de 60 cm ; 2 plants par sac). La variété de tomate utilisée est CENCARA. Chaque parcelle élémentaire est composée d'une double ligne de 32 plants (Figure 1). Afin d'éviter toute contamination entre les modalités, chaque parcelle élémentaire a été séparée des autres, mais a reçu la même solution nutritive. Le réseau d'irrigation a été équipé d'un système de filtration. L'eau a été filtrée d'abord sur un filtre à sable ensuite sur deux filtres à tamis de 100 µ avant d'être stockée dans un réservoir. Avant d'être utilisée pour l'irrigation elle est filtrée à nouveau sur deux filtres à tamis de 130 et 80 µ. En effet, une filtration efficace garantit un effet accru du système de désinfection aux UVc. Un système de récupération des eaux drainage a été mis en place pour que le drainage soit collecté et désinfecté chimiquement à la sortie de la serre.

Afin d'éviter toute contamination entre les différentes modalités, les travaux d'entretien des cultures ont été effectués en portant des gants pour ce qui concerne le traitement aux UVc et au Chlore. Par contre, afin de mettre en évidence une « mauvaise conduite de la culture », aucune précaution particulière n'a été prise pour les plants témoins pour lesquels le même sécateur a été utilisé sans aucune désinfection.

- Le deuxième cycle de l'essai en saison fraîche a débuté en mai 2006 et a pris fin en septembre 2006.
- Le premier cycle en saison chaude a débuté en octobre 2005 et a pris fin en décembre 2005.
- Le deuxième cycle en saison chaude a débuté en janvier 2006 et a pris fin en mai 2006
- Le troisième cycle en saison chaude a débuté en octobre 2006 et a pris fin en janvier 2007

#### ***2.1 - Dispositif expérimental***

- 3 modalités
  - 1) Traitement UV + désinfection des outils de travail
  - 2) Traitement Chlore + désinfection des outils de travail
  - 3) Témoin non traité

- 4 répétitions

Le plan expérimental (Figure 1) est constitué de 4 blocs, chacun contenant 4 parcelles élémentaires : une parcelle pour le traitement U.V., une pour le traitement Chlore (Cl) et deux pour le témoin (T), répétées deux fois par bloc. La position des trois modalités dans chaque bloc est choisie au hasard.

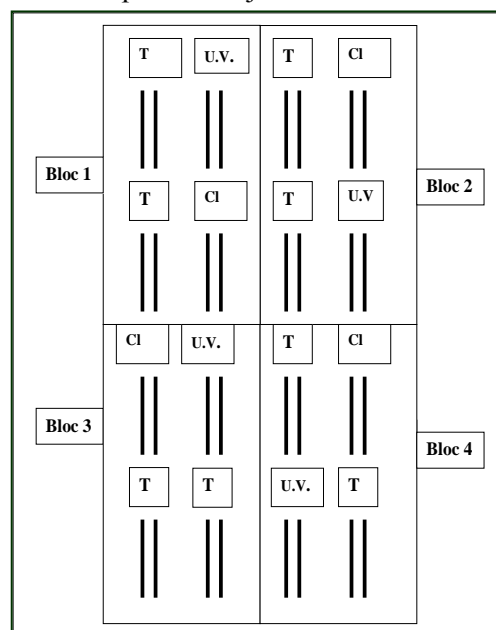


Figure 1 : Plan expérimental. 4 blocs de 4 parcelles élémentaires  
(T : Témoin; Cl : Chloration; UV : lampes UVc)



## 2.2. La contamination de l'eau d'irrigation

Afin de simuler une contamination accidentelle du réseau d'irrigation par *R.solanacearum* les parcelles ont été contaminées avec une suspension bactérienne à une concentration de  $10^5$  ufc/ml pour obtenir  $10^3$  ufc/ au niveau des plants trois semaines après la plantation. Les souches utilisées ont été :

- JT 519 appartenant au Phylotype I (biovar 3 race 1) en saison chaude et
- la souche JT 516 appartenant au Phylotype II (biovar 2 race 3) en saison froide.

L'injection de la suspension bactérienne dans l'eau d'irrigation est faite pendant 15 jours à l'aide de pompes doseuses (DOSATRON) à un taux d'injection de 1 %. Les pompes hydrauliques étaient placées en amont des lignes de culture avant les systèmes de désinfection. (Figure 2)

A la différence du traitement Chlore et du Témoin, dans le cas du traitement aux UVc l'eau a été d'abord contaminée et désinfectée avant de recevoir l'injection de la solution nutritive, ceci pour éviter l'interaction entre les lampes UV et le fer présent dans la solution nutritive. En effet, la désinfection par irradiation UV détruit les chélates de fer, conduisant à une diminution du fer assimilable et à un dépôt d'oxyde de fer sur le quartz de la lampe. Les plants recevaient donc, après quinze jours, chacun une dose totale d'inoculum de 210 ml. Afin d'assurer la vitalité des bactéries inoculées, l'inoculum dans la solution nutritive a été renouvelé tous les 2 jours. Les parcelles témoins sont inoculées de la même façon mais n'ont reçu aucune désinfection de l'eau.

Un système de vannes anti-retour de sécurité a été installé afin d'éviter des remontées d'eau par le système d'irrigation après inoculation.



Figure 2 : Pompe doseuse pour l'injection de la suspension bactérienne dans le système d'irrigation

## 2.3 - La désinfection de l'eau d'irrigation

Actuellement aucun produit désinfectant n'est homologué pour la désinfection de l'eau. En effet dans le catalogue des usages publié par le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, il existe une catégorie intitulée « produits pour la désinfection des eaux de drainage de culture hors sol en circuit fermé », mais aucun produit n'y est inscrit. Compte tenu du fait que le chlore pourrait être homologué pour cet usage, nous avons voulu comparer deux méthodes de désinfection de l'eau d'irrigation: la désinfection chimique par chloration et la désinfection physique par irradiation aux rayons ultraviolets.

### 2.3.1 - La chloration

Le produit utilisé et la dose de chlore sont déterminés sur la base des résultats des essais précédents. Les résultats en laboratoire relatifs à la première action, « La désinfection de l'eau d'irrigation contaminée par *Ralstonia solanacearum* », ont révélé la possibilité d'une décontamination de l'eau par des produits ayant un effet anti-bactérien satisfaisant. Le produit que nous avons retenu est le SR JAVEL (caractéristiques décrites dans le tableau 1). Ce sont des pastilles de chlore utilisées à une dose efficace sur les bactéries mais pas phytotoxique pour les plants (résultat de l'ACTION 2, 2003). **Dans le cadre du 1<sup>er</sup> cycle en saison chaude** (octobre – décembre 2005), la dose utilisée a été donc de 62 ppm correspondant deux fois à la Dose Minimale d'Inhibition (D.M.I., p.p.m.), après injection, au niveau des plants; la même dose avait été utilisée lors de l'évaluation de la phytotoxicité. L'injection du produit désinfectant est faite par une pompe doseuse hydraulique (DOSATRON) avec un taux d'injection de 1 %. A cause de la phytotoxicité, dans les essais suivants la dose a été réduite à 30 ppm après injection, au niveau des plants.

Tableau 1 : Caractéristiques du produit utilisé pour la chloration.

NOM COMMERCIAL	MATIERE ACTIVE	FOURNISSEUR	DOSE CONSEILLÉE PAR LE FABRICANT	USAGE COURANT
<b>SR Javel</b>	chlore et dichloroisocyanure de sodium dihydrate	SRPI	(2 pastilles) 3,3gCl /10L d'eau (300ppm)	Locaux domestique et industriel

### 2.3.2 La désinfection par irradiation aux rayons ultraviolets

Sur la base des résultats obtenus dans l'expérimentation précédente au cours de laquelle le pouvoir germicide des lampes UVc vis-à-vis de *R. solanacearum* a été étudié, et en fonction de la disponibilité des lampes sur le marché, nous avons défini une dose germicide efficace contre *R. solanacearum*. Nous avons donc installé deux stériliseurs positionnés en série (Figure 3). Chaque lampe a une dose germicide de 112 mJ/cm<sup>2</sup>, nous obtenons donc une dose germicide totale de 224 mJ/cm<sup>2</sup>. Les caractéristiques des stériliseurs sont résumées dans le tableau 2. L'eau a été désinfectée en continu en fonction des irrigations. Les lampes sont restées allumées en permanence pendant toute la période de l'essai.



Figure3 : Système de stérilisation au UV

## 2.4 - Variables mesurées

### a) Suivi de la présence de *R. solanacearum* dans les eaux d'apport et de drainage

Afin d'évaluer et de quantifier la présence de la bactérie dans la solution d'apport et de drainage, des prélèvements réguliers ont été réalisés dès le début de l'inoculation pour chaque modalité. Au moment de renouveler la suspension bactérienne injectée, un échantillon de cette dernière a été analysé pour vérifier et quantifier la présence de bactéries.

### Méthodologie

Trois prélèvements (répétitions) de l'eau de drainage et de l'eau d'apport pour chaque traitement dans chaque bloc sont collectés et analysés. Les échantillons sont filtrés à l'aide d'un filtre à membrane MILLIPORE de 0.22 µm 47 mm de diamètre monté sur un filtre SWINEX (stérilisé). La membrane est récupérée dans des tubes CV (20 mm de diamètre), immergée et agitée dans 5 ml de TRIS. Une dilution à 1/10 est effectuée et une aliquote de 50 µl est ensemencée par râtelier sur le milieu spécifique Phylotype II (3 répétitions/dilutions). Le comptage des colonies est réalisé après quatre - cinq jours de croissance en étuve à 28° C.

Tableau 2 : Caractéristiques techniques des stériliseurs

Série UVPS IBP 10HO (Fournisseur : ECR Réunion)
Réacteurs inox
Longueur d'onde de 254 nm
Dose germicide d'une lampe UV=112 mJ/cm <sup>2</sup>
Transmission 98% sur 10 mm, débit de pointe horaire 4.8 m <sup>3</sup> /h
Lampe basse pression puissance : 75W

## b) Taux de flétrissement des plants

### *Evaluation de la progression de la bactérie en cours de culture*

- Sur la modalité sans désinfection (témoin) le taux de flétrissement a été observé et noté à chaque apparition de symptômes (mesure non destructive) pour mettre en évidence la transmission de la maladie d'un plant à l'autre.
- Sur les modalités avec désinfection (chlore et UV) dès l'apparition de symptômes de flétrissement visibles le plant est prélevé et analysé. Des prélèvements de substrat sont aussi effectués autour des plants infectés et des plants voisins (mesures destructives).

### *Evaluation des populations bactériennes dans les plants non flétris et flétris en fin d'essai*

En fin d'essai, le travail de diagnostic a consisté à déterminer la présence de populations bactériennes dans tous les plants ayant présenté ou non des symptômes, mais aussi de localiser les zones contaminées et d'évaluer le taux d'infection. Donc, 15 plants par traitement et par parcelle sont prélevés, soit 1 plant par sac de culture. L'analyse au laboratoire du collet de chaque plant a permis de vérifier l'absence ou la présence de la bactérie. Pour les plants des parcelles du témoin tous les plants sans présence de symptômes ont été prélevés. Un échantillonnage représentatif des plants flétris par chaque parcelle a été effectué en fonction du taux de flétrissement (environ 5 plants par parcelle)

### *Méthodologie*

L'extraction des bactéries dans les plants a été effectuée sur le collet prélevé sur chaque plant et mis dans un tube CV avec 5ml de TRIS afin de permettre la diffusion des bactéries.

Le liquide d'extraction est ensemencé sur un milieu de culture sélectif (Granada & Sequeira ; et Sequeira modifié pour le Phylotype II et pour le phylotype I) (3 répétitions). Après 3 jours d'incubation à 28 °C, la croissance des cultures est notée. Les lectures faites sur les boîtes de Pétri donnent une indication de la présence des bactéries.

### *Détection de *R. solanacearum* par MULTIPLEX PCR:*

Afin d'approfondir les analyses et pour détecter les infections latentes de la bactérie dans les plants inoculés qui n'ont pas flétri et qui n'ont pas été positifs aux analyses bactériologiques, nous avons utilisé un outil mis au point au Pôle de Protection des Plants par le CIRAD et le SPV. Il s'agit d'une méthode par MULTIPLEX PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne), sensible et performante pour détecter les deux phylotypes de *R. solanacearum in planta*. Nous avons effectué les analyses sur le liquide d'extraction des échantillons de plant :

15 échantillons par bloc pour les traitements Chlore et UV et un échantillon de tous les plants non flétris pour les témoins.

### *Méthodologie*

- Extraction d'ADN total à partir des plants de tomate
- Réaction PCR sur ces extraits
- Migration des amplifias PCR par électrophorèse
- Révélation de l'ADN amplifié

### c) Recherche de *R.solanacearum* dans les substrats

Afin de quantifier et vérifier la présence de la bactérie dans la serre, les substrats associés aux plants sont analysés. Pour avoir une vision globale de la répartition de la bactérie dans les parcelles un échantillonnage en maille est réalisé. Nous avons collecté quatre échantillons de substrat de fibre de coco par parcelle. D'abord, trois zones de prélèvement ont été définies par sac : deux en périphérie et l'autre au milieu du sac. Un échantillon par sac est composé, donc, du mélange des prélèvements des trois zones. Au final, un échantillon unique, issu des quatre sacs de substrat échantillonnés les uns à la suite des autres sur la parcelle, est constitué.

#### *Méthodologie*

Un échantillon de 20 gr (poids frais) de substrat est alors constitué. Il est mis dans 200 ml de TRIS puis broyé pendant 30 secondes à l'Ultra Turrax. Le broyat est dilué à 1/10 (quatre dilutions) et ensemencé sur milieu sélectif (Sequeira modifié pour le Phylotype II). Après une incubation de quatre jours à 28° C, les colonies sont dénombrées. Une aliquote de 20g a été séchée au four à 80° C pendant deux jours et le poids sec est noté afin de mesurer la quantité de bactérie par gramme d'échantillon de substrat.

### d) Evaluation de l'impact des traitements désinfectants sur la culture (relevés physiologiques, récolte)

Afin d'estimer l'effet des traitements désinfectants par chloration sur la physiologie des plantes nous avons suivi le développement des plants.

- *Développement végétatif* : le diamètre de la tige; le stade de floraison et le stade de nouaison ont été observés sur 5 plants échantillonnés par parcelle et par traitement; dans le cas des témoins une seule parcelle par bloc a été suivie et seulement en fin essai pour le 3ème cycle en saison chaude.
- *Rendement* : nombre et poids des fruits commercialisables et non commercialisables par calibre (<47, 47-57, >57), la nature des déchets a été évaluée pour chaque parcelle élémentaire.

A cause de problèmes de nature physiologique des plantes due à variation de l'irrigation et de la solution nutritive, les rendements n'ont été pas évalués pour l'essai 3ème cycle en saison chaude (septembre 2006-janvier 2007)

#### **2.5 - Analyse statistique**

L'effet des facteurs traitement, bloc et date sur tige ainsi que l'effet des facteurs traitement et bloc sur rendement ont été testés par l'analyse de la variance. Pour les effets significatifs un Test de TUKEY, fondé sur la Honest Significant Difference (HSD), a été réalisé pour comparer les moyennes des modalités 2 à 2 au seuil 5 %.

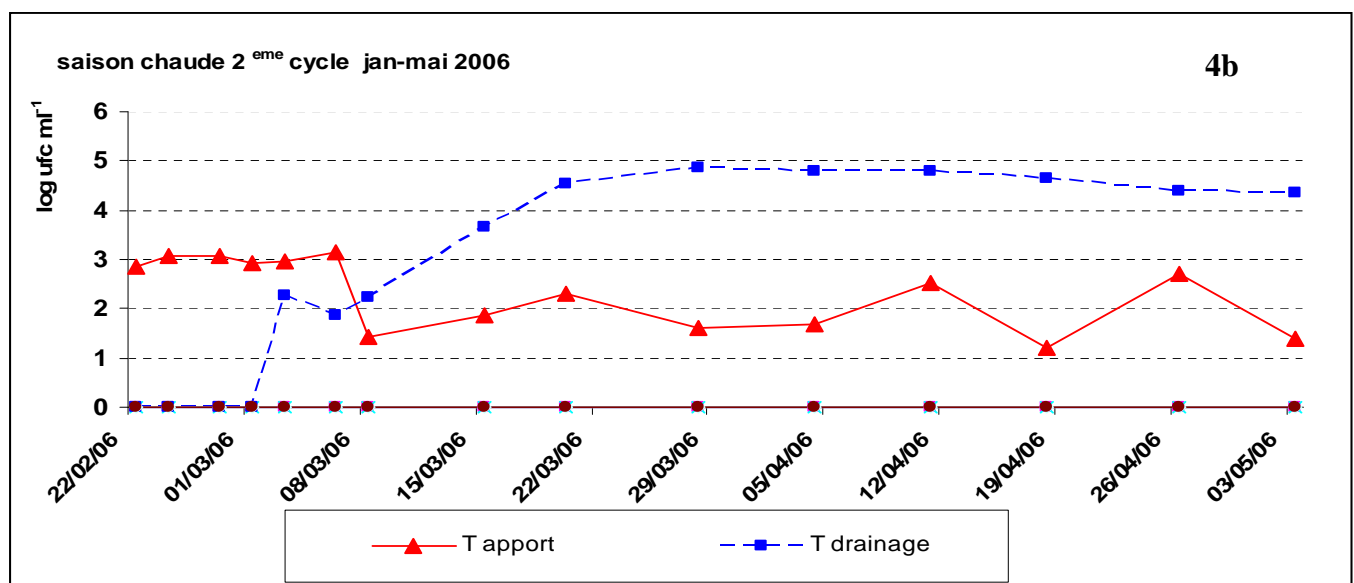
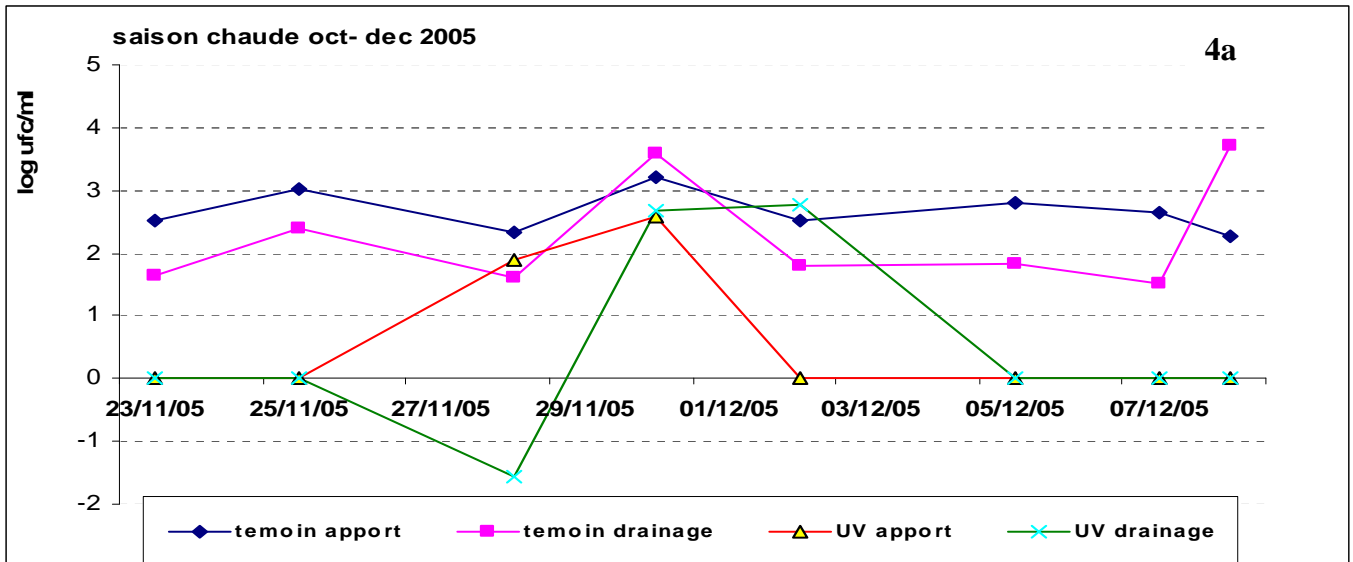
## **D - RESULTATS ET DISCUSSION**

### **1. Développement de *R.solanacearum* dans les eaux d'apport et de drainage**

L'évolution de la présence bactérienne dans les eaux d'apport et de drainage tout au long de l'essai est représentée dans les graphiques (Figure 4).

Dans l'essai valorisation en saison chaude 1<sup>er</sup> cycle (graphique 4a) nous avons détecté une forte concentration bactérienne dans les eaux d'apport et de drainage du traitement UV. En effet, au cours de l'inoculation une vanne est tombée en panne laissant passer l'eau contaminée pendant la nuit quand les lampes étaient éteintes. Aussitôt la panne réparée, aucune bactérie n'a été retrouvée dans l'eau traitée aux UVc ; ceci prouve l'efficacité de la désinfection aux UV. Pour cette raison un nouvel essai a été mis en place le mois suivant (janvier 2006).

Pendant les autres cycles en saison chaude (janvier -mai 2006 et septembre 2006 - Janvier 2007) et en saison froide (graphique 4b 4c et 4d) pour les deux phylotypes, aucune présence bactérienne n'a été détectée dans l'eau désinfectée aux UV et au Chlore. Les analyses bactériologiques ont révélé la présence de bactéries uniquement dans les parcelles du témoin. Quelques colonies ont été isolées une seule fois dans l'analyse des eaux de drainage du traitement aux UV ; ceci ne s'est jamais reproduit ce qui fait penser à une erreur de manipulation.



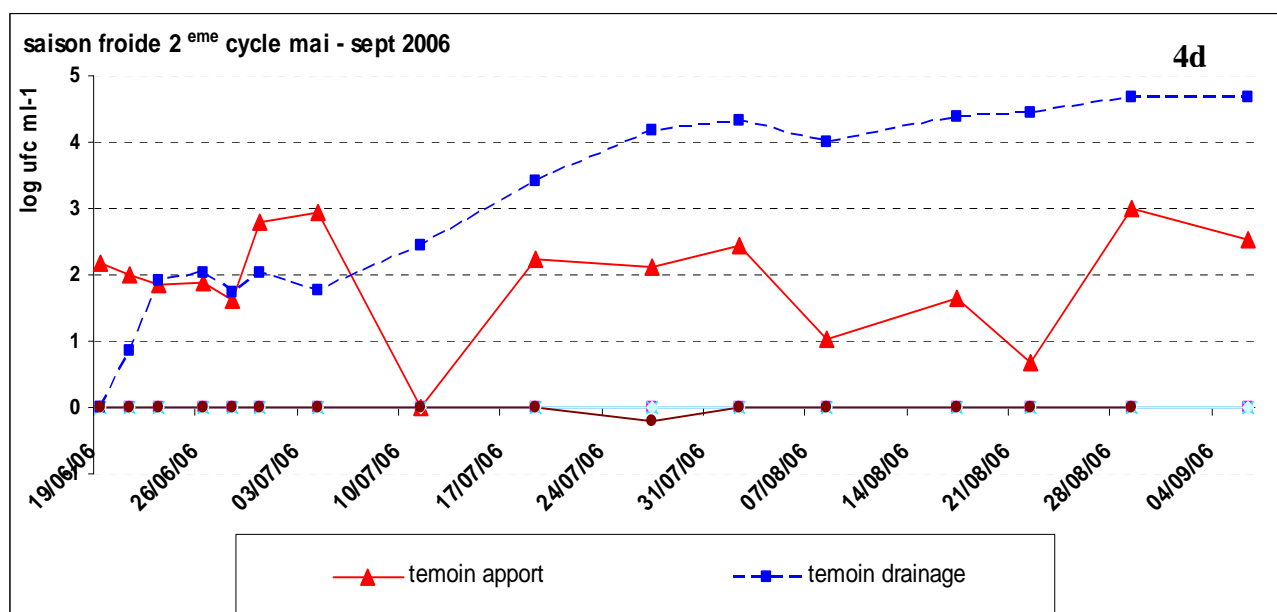
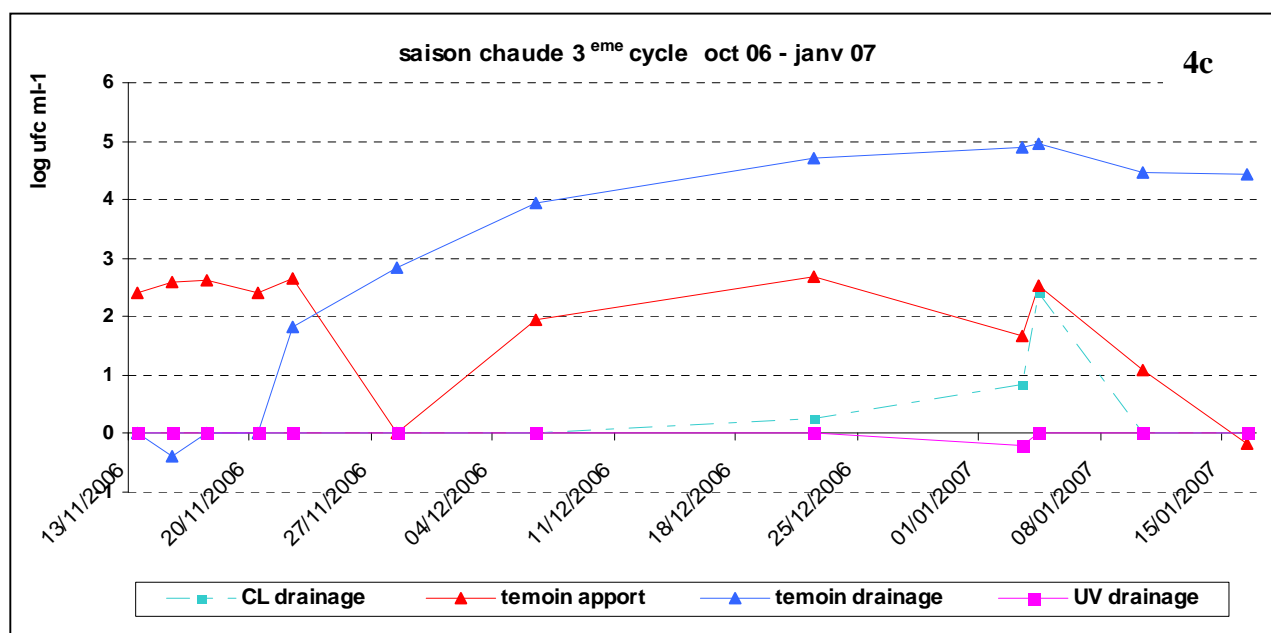


Figure 4 : Evolution temporelle de la population bactérienne dans les eaux d'apport et drainage ;  
Les courbes des traitements Chlore et UV sont superposées (pas de bactéries).

Dans toutes les répétitions, le taux d'inoculum dans l'eau d'apport du témoin tend à diminuer après chaque inoculation et en fin d'essai, mais le pathogène reste toujours présent dans le réseau d'irrigation. La concentration bactérienne retrouvée dans les eaux de drainage augmente jusqu'à atteindre un taux de  $10^5$  ufc/ml. Elle augmente en fonction du développement du flétrissement des plants.

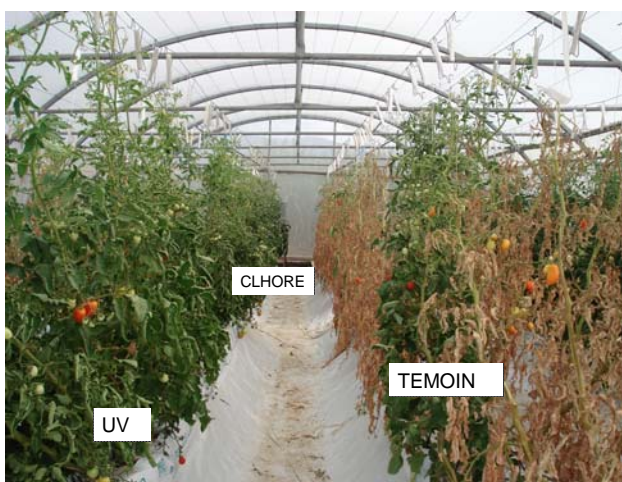


## **2. Développement de la bactérie dans la serre**

### ***2.1 - Pourcentage de plants flétris***

Une notation quotidienne des plants flétris a permis d'estimer l'indice de maladie (IM). Afin d'obtenir une valeur plus précise de l'indice de maladie, nous avons considéré comme malades les plants sans symptômes visibles qui se sont révélés positifs suite aux analyses (IM : Plantes flétris + plants porteurs sains).

Les premiers symptômes de flétrissement des plants ont débuté dix jours après l'inoculation et ont concerné seulement les plants des parcelles témoins. Des plants présentant des symptômes de flétrissement sont illustrés en Figure 5.

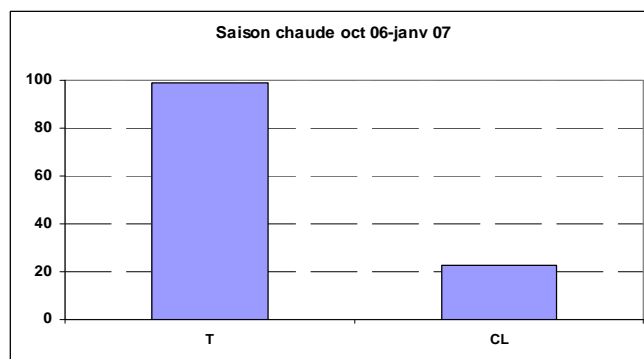
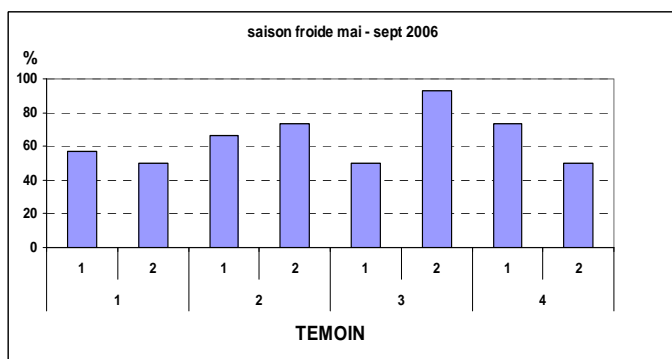
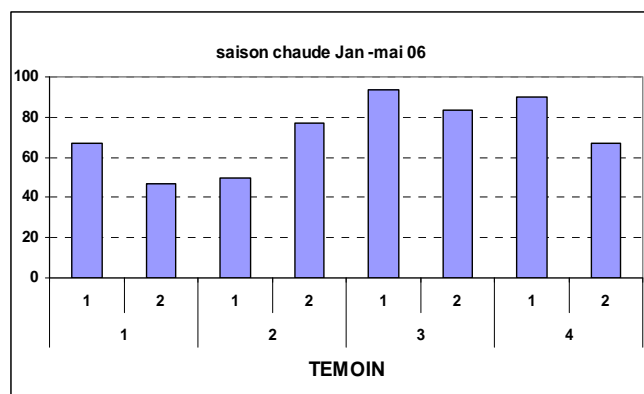


*Figure 5 : Symptôme de flétrissement bactérien dans la parcelle témoin*

Les plants irrigués avec l'eau désinfectée n'ont pas exprimé de symptômes. Les analyses en laboratoire n'ont pas non plus révélé la présence de la bactérie. (Figure 6).

Comme nous pouvons le constater, Dans le 3ème cycle en saison chaude 20% des plants appartenant aux parcelles traitées au chlore on flétri. En effet, un dysfonctionnement de la pompe à chlore pendant l'inoculation a permis le passage de bactéries et la contamination des parcelles.

Le pourcentage de plants flétris dans le chlore est resté relativement faible par rapport à celui du témoin.



## 2.2 - Détection de *R. solanacearum* par Multiplex-PCR

La méthode par Multiplex PCR nous a permis de vérifier, avec un seuil de détection bas, la présence ou l'absence de bactéries dans les plants. Cette méthode est beaucoup plus sensible car elle permet de détecter l'ADN de la bactérie dans un plant. Ceci nous permet donc de rechercher les infections latentes dans les plants qui ont reçu de l'eau traitée au préalable mais aussi de compléter les résultats obtenus par les analyses bactériologiques qui ne permettent pas de détecter la présence de la bactérie à des niveaux plus faibles.

Tableau 3. Résultats d'analyse microbiologique et Multiplex-PCR sur extraits de plants échantillons : nombre de plants /nombre total d'échantillons (n°/n tot)

ESSAIS VALORISATION	Traitement	Analyse microbiologique	PCR multiplex	Pourcentage de plants détectés en Multiplex-PCR
saison froide I <sup>er</sup> cycle mai- sept 2005	Témoin	7\64	3\41	7.4
saison froide II <sup>eme</sup> cycle mai- sept 2006	Témoin	31\117	41\86	47.7
saison chaude I <sup>eme</sup> cycle janv – mai 2006	Témoin	15\78	24\63	38
saison chaude II <sup>eme</sup> cycle sept 2006 - janv 2007	Chlore	19\112	5\93	5.4

En effet, nous avons confirmé la présence de bactéries dans les plants du témoin où nous n'avions pas eu de plant flétri. (Figure 7). Sur le nombre total d'échantillons du témoin, autour de 40% des plants ont été positifs au flétrissement bactérien.

Les analyses faites sur les extraits de plant issus des traitements chlore et UV n'indiquent pas la présence de l'ADN de bactérie (Tableau 3). Seulement 5 plants traités au Chlore en saison chaude 2007 ou ont été positifs, ceci nous indique que le traitement au chlore peut avoir joué en rôle dans la limitation de la progression de la maladie dans les parcelles traitées.

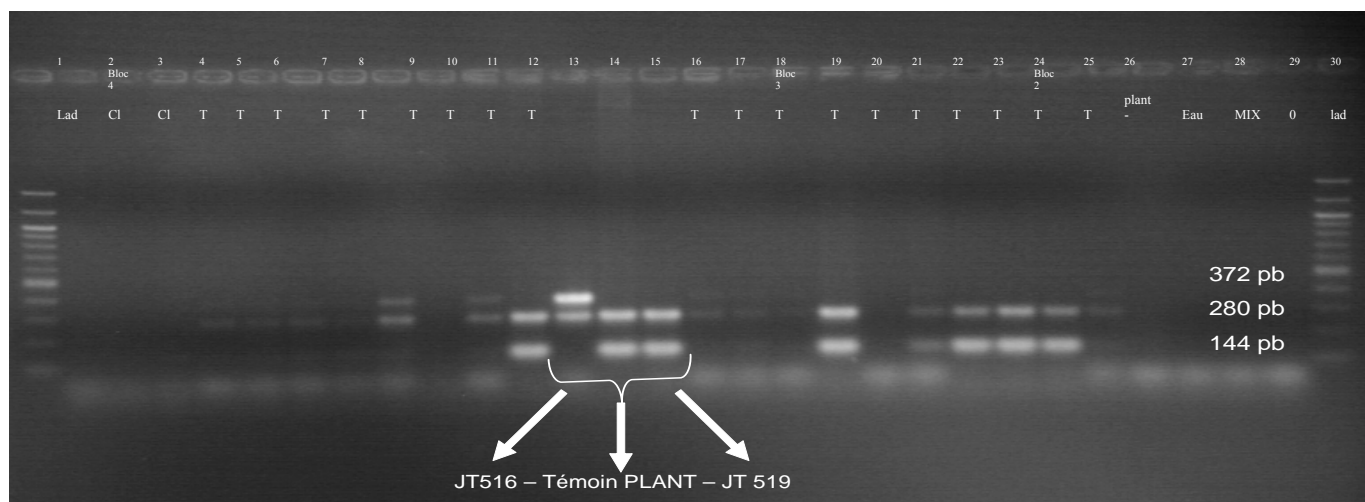


Figure 7 : Résultats de la Multiplex- PCR sur extraits de plant des parcelles témoins et Chlore

### 2.3 - Distribution et quantification de la bactérie dans les substrats

La localisation de la bactérie dans les sacs de fibre de coco et sa quantification est représentée en figure 8. Le résultat confirme celui obtenu sur le pourcentage de plants flétris. Nous retrouvons un niveau moyen de population bactérienne détectable uniquement dans les parcelles témoins. Les analyses faites sur les substrats issus des traitements Chlore et UV n'ont pas signalé la présence de bactéries. En saison chaude 2007 les résultats confirment la présence du pathogène.

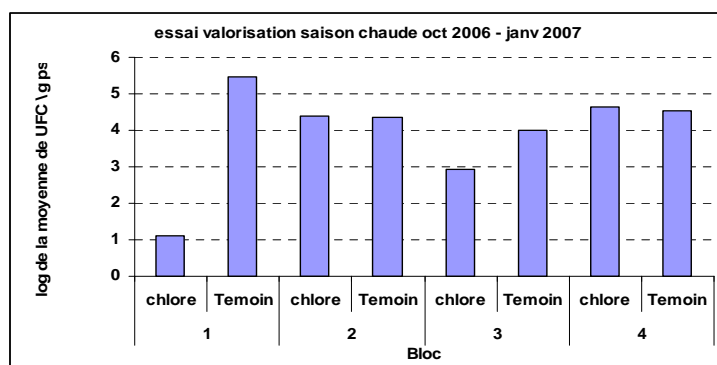
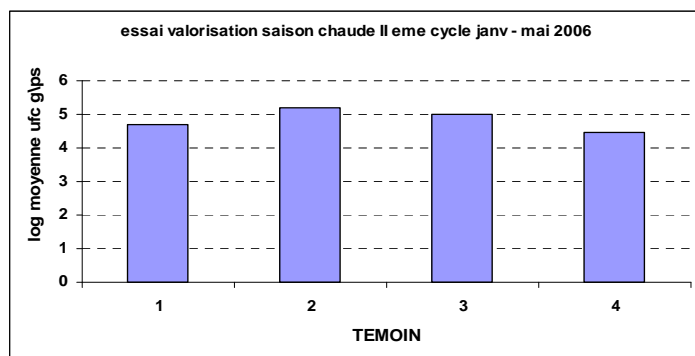
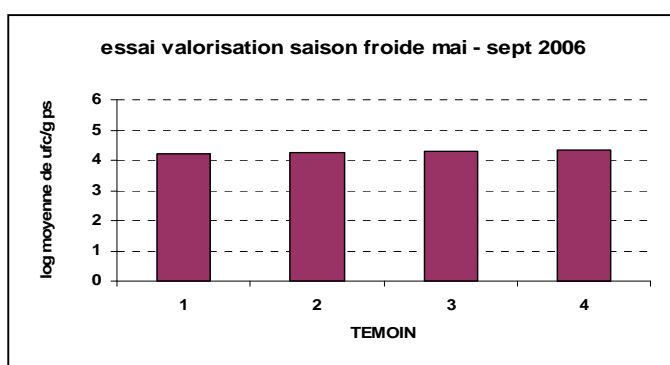


Figure 8 : Population bactérienne dans le substrat de chaque bloc. Les valeurs des traitements Cl et UV son nuls.

### 3. Impact des traitements désinfectants sur la culture

A cause de problèmes liés au réseau d'irrigation, les relevés physiologiques et de rendements n'ont pas été effectués pour les répétitions en saison chaude 2007.

#### 3.1 - Développement végétatif

Comme nous avons expliqué dans le chapitre précédent nous avons observé des symptômes de phytotoxicité sur les plants traités au chlore en saison chaude. Les symptômes ont concerné principalement les feuilles qui ont manifesté un aspect crispé caractérisé par un jaunissement des nervures principales des feuilles (Figure 9 ).

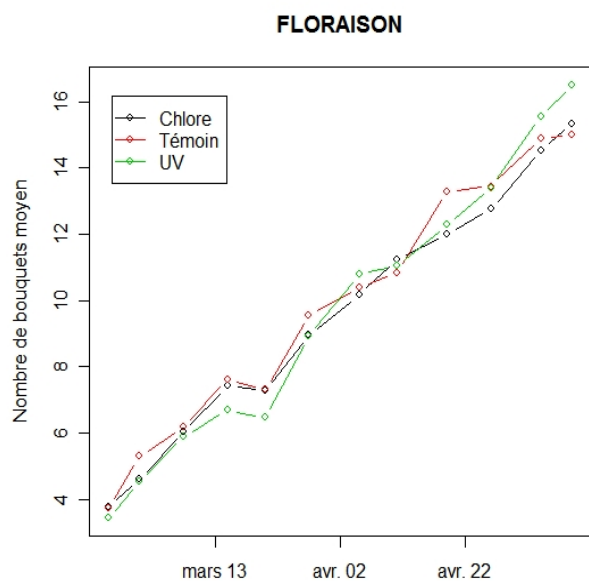


*Figure 9 : Effet phytotoxique du chlore*

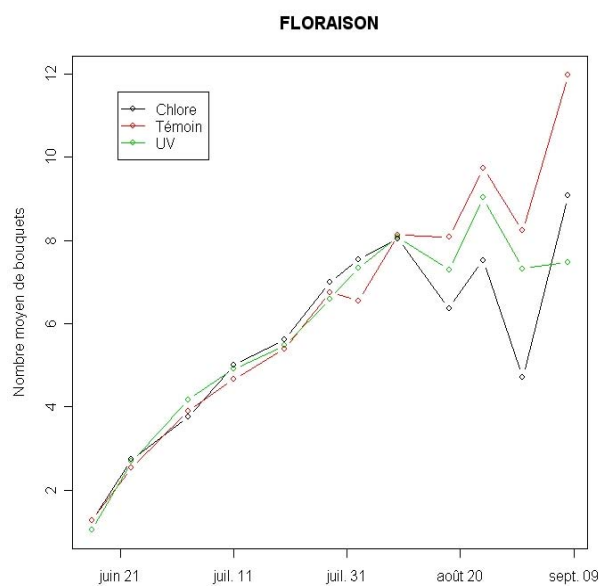
Par contre les analyses statistiques ne mettent pas en évidence une différence entre les modalités. En ce qui concerne le nombre de bouquets fleuris et le nombre de bouquets noués, les graphiques en figure 9 et 10 montrent que il n'y a pas de différences entre les traitements. En effet, les courbes sont très proches.

Pour la longueur et le diamètre de tige à cause de facteurs extérieurs à l'essai (fonctionnement différent des pompes doseuses de la fertilisation), les analyses statistiques ne permettent pas de relever une influence due au chlore comme nous avons pu remarquer de visu.



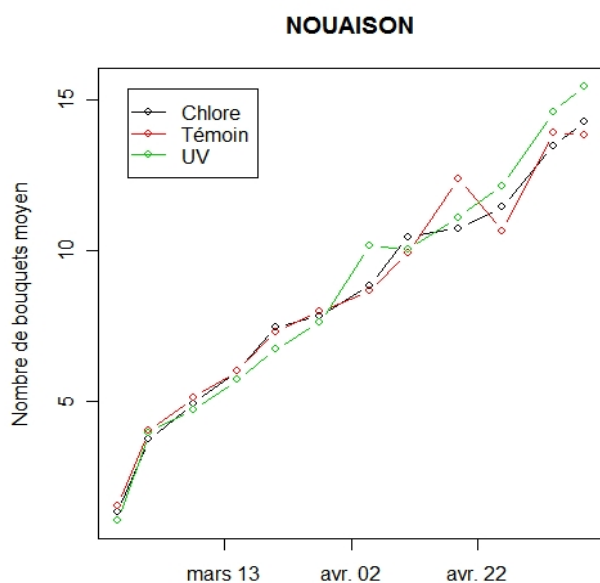


Essai valorisation saison froide mai -septembre 2006

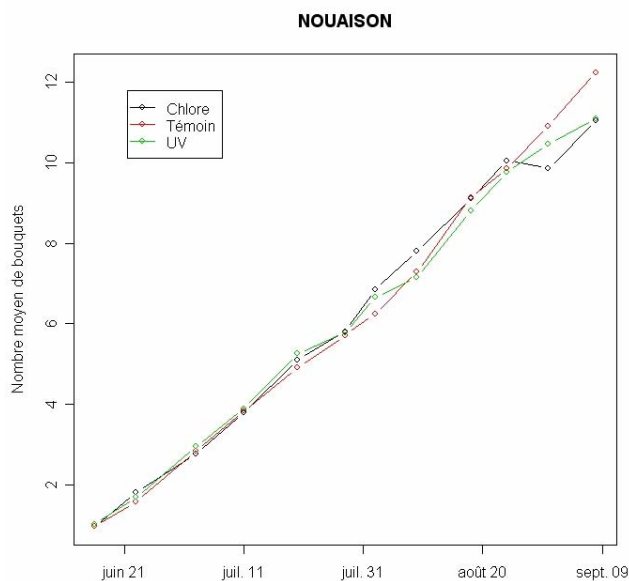


Essai valorisation saison chaude janvier – mai 2006

Figure 9 : Evolution de la floraison (nombre moyen de bouquets fleuris) en fonction du traitement.



Essai valorisation saison chaude janvier – mai 2006



Essai valorisation saison froide mai -septembre 2006

Figure 10 : Evolution de la nouaison (nombre moyen de bouquets nouée) en fonction du traitement.

### 3.2 - Rendement

Globalement le rendement est faible, ceci est dû au fait que l'essai n'a duré que deux mois et à des problèmes techniques au niveau des pompes doseuses qui ont compromis la fertilisation. C'est pourquoi, nous constatons des résultats contradictoires entre les essais (Figure 12). En effet, les analyses statistiques ne permettent pas de révéler un réel effet du chlore sur le rendement.

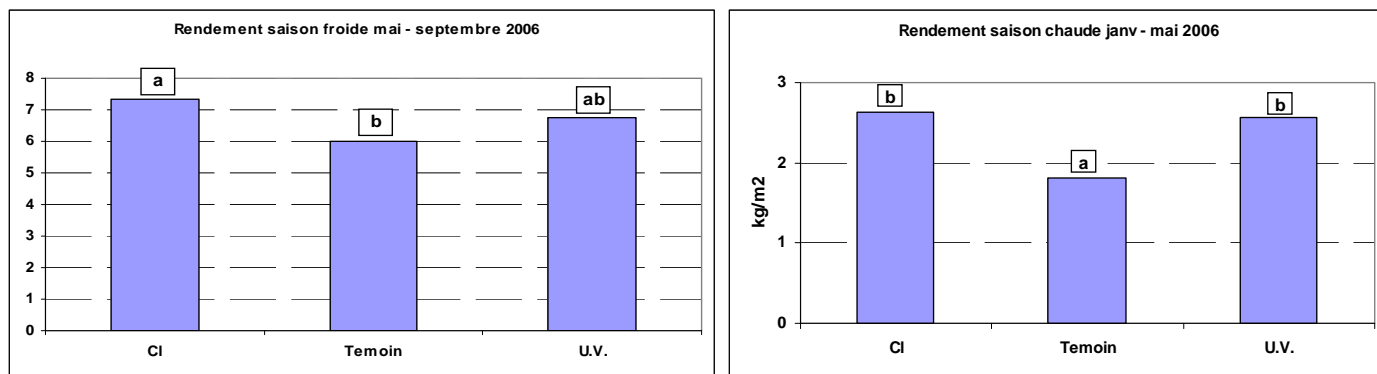


Figure 12: Valeur du rendement moyen. Test de TUKEY HSD (Honest Significant Différence) de comparaison des moyennes au seuil 5 %

## **E - CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

L'objectif de cette étude a été de répondre à la question : « Comment désinfecter de façon appropriée l'eau d'irrigation contaminée par *R. solanacearum* et quelles précautions prendre pour éviter que la bactérie ne soit transmise en cours de culture? »

Pour cela nous avons simulé une contamination accidentelle (souvent constaté après des pluies abondantes), en contaminant artificiellement l'eau d'apport. Nous avons donc évalué l'efficacité de la désinfection de l'eau d'irrigation contaminée, directement en cours de culture, par deux types de désinfection une physique, la stérilisation aux rayons UVc et une chimique, la chloration. En effet, dans les précédentes expérimentations nous avons obtenu des réponses intéressantes en terme d'efficacité germicide des lampes UVc et du chlore sur de l'eau contaminée par *R. solanacearum*. La décontamination par rayonnement aux UVc s'est révélée être un moyen efficace à certaines puissances germicides et à certains niveaux de contamination. Elle est aussi d'utilisation facile.

La chloration par l'utilisation de pastilles de chlore s'est montrée efficace à des doses qui n'ont pas entraîné d'effet phytotoxique. Bien qu'aucun produit ne soit autorisé pour la désinfection de l'eau en culture hors sol, nous avons utilisé pour les besoins de l'expérimentation le chlore car il est efficace et d'application aisée.

Dans cette étude nous avons constaté qu'aucun plant des traitements UV et Chlore n'a montré de symptômes de flétrissement bactérien. La présence de la bactérie n'a été détectée ni dans les plants, ni dans les eaux de drainage ni dans les substrats. En effet, les résultats des analyses bactériologiques ont révélé la présence de bactéries uniquement dans les parcelles témoin des essais. Les accidents survenus lors des essais 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> cycle en saison chaude montrent que la possibilité d'une infection existe et que l'association de deux systèmes de désinfection pourrait assurer la désinfection quand l'un d'entre deux tombe en panne.

Un système de stérilisateur UV avec une dose germicide de 220 mJ/cm² semble être efficace. Il faut souligner qu'à l'heure actuelle nous ne disposons pas d'information précise concernant la présence et la quantité de *R. solanacearum* présente dans l'eau d'irrigation à la Réunion, et que 10<sup>3</sup> ufc/ml est considéré comme une dose très élevée mais possible. Puisque le passage de quelques bactéries reste donc une éventualité, nous préconisons l'utilisation d'une dose supérieure à 220 mJ/cm².



En ce qui concerne l'impact sur la culture du chlore dans les apports d'irrigation, un effet phytotoxique exacerbé du chlore a été démontré en saison chaude 2006 à 60 ppm, et un effet plus léger à 30ppm en 2007. Mais nous n'avons pas prouvé statistiquement une influence ni sur le développement végétatif ni sur le rendement.

Le deuxième aspect de cette étude a été de mettre au point un système pour empêcher le développement de la bactérie d'un plant à l'autre en cas de contamination, malgré la désinfection. Lorsque les niveaux de flétrissement sont faibles, une intervention immédiate et drastique pourrait réduire les « dégâts ». Or, nous n'avons pas eu de développement de flétrissement d'un plant à l'autre dans les modalités avec désinfection. Le seul cas où il y eu une contamination dans les parcelles traitées au chlore, le développement de la maladie a été inférieur à celui des parcelles témoin.

**Cela nous suggère et confirme la possibilité d'une décontamination efficace de l'eau.**

La désinfection en continu est donc un moyen prophylactique qui permet d'éviter ou de réduire fortement l'introduction de la bactérie dans une serre de façon accidentelle par l'eau d'irrigation.

Nous pouvons conclure que les deux systèmes de désinfection ont une efficacité significative sur une charge bactérienne élevée. Cette étude nous a permis de définir un guide des « bonnes pratiques culturales » pour garantir une lutte préventive et une prophylaxie efficace.

Afin d'améliorer l'efficacité de la désinfection, un système qui prévoit l'utilisation des lampes plus puissantes, et/ou un système qui associe les deux types de désinfection, chlore et UV, pourrait être envisagé.

La connaissance de la charge bactérienne naturellement présente dans le réseau d'irrigation de l'île pourrait contribuer à donner une information importante pour le choix de la dose germicide UV et le type d'installation. De plus des études plus approfondies sont nécessaires pour connaître l'effet du chlore sur les plants et sur le rendement.

D'autre part, compte tenu de la prochaine application des directives européennes concernant l'obligation de mettre en œuvre des systèmes de culture recycles, de nouveaux essais mériteraient d'être conduits sur l'utilisation et la désinfection des eaux de drainage.