

## MAITRISE DU FLÉTRISSEMENT BACTÉRIEN EN CULTURE DE TOMATE HORS SOL

### « MISE AU POINT D'UN SYSTÈME PREVENTIF DE DÉSINFECTION 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 GÉNÉRAL DE L'ÉTUDE

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 de Plantes, à Saint-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 de 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), répétée deux fois par bloc. La position des trois modalités dans chaque bloc est choisie au hasard.

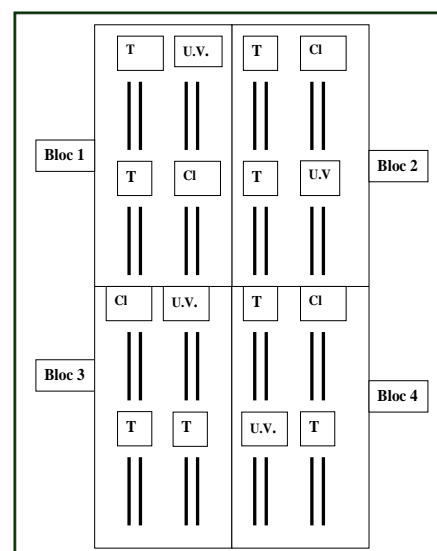


Figure 1 : Plan expérimental. 4 blocs de 4 parcelles élémentaires (T : Témoin; Cl : Chloration; UV : lampes UVc)

## 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 FABRICANT	USAGE COURANT
SR Javel	chllore 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 stérilisateur 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 stérilisateur 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.

Tableau 2 : Caractéristiques techniques des stérilisateur

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



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, 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).

*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 plants non flétris 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. 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.

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 d'essai pour le 3eme 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 3eme 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 %.



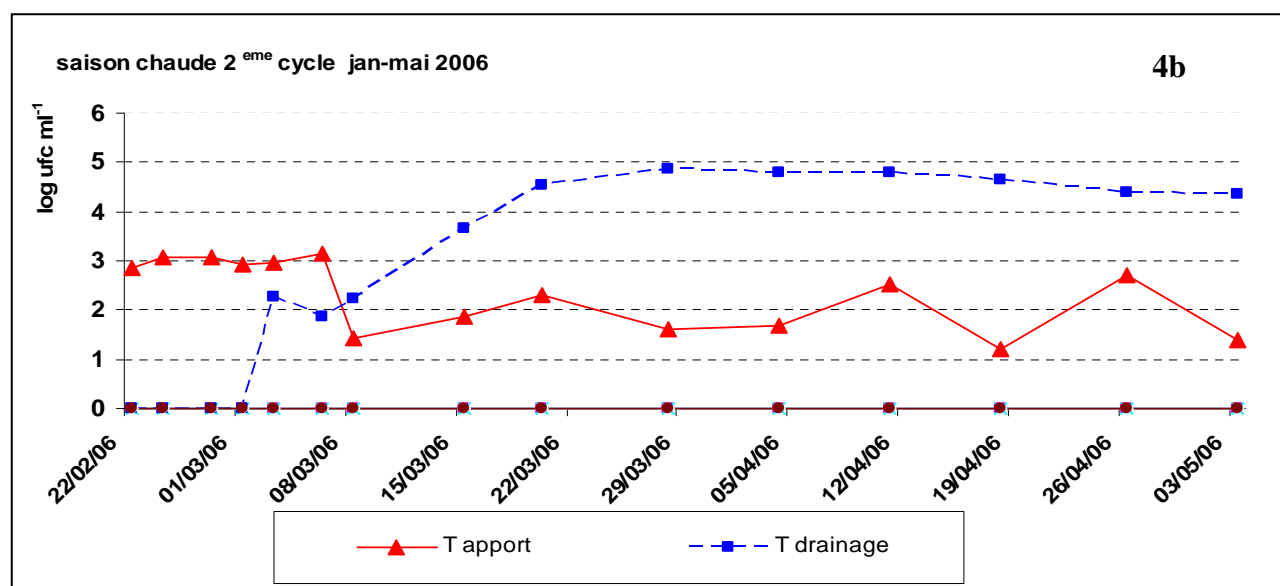
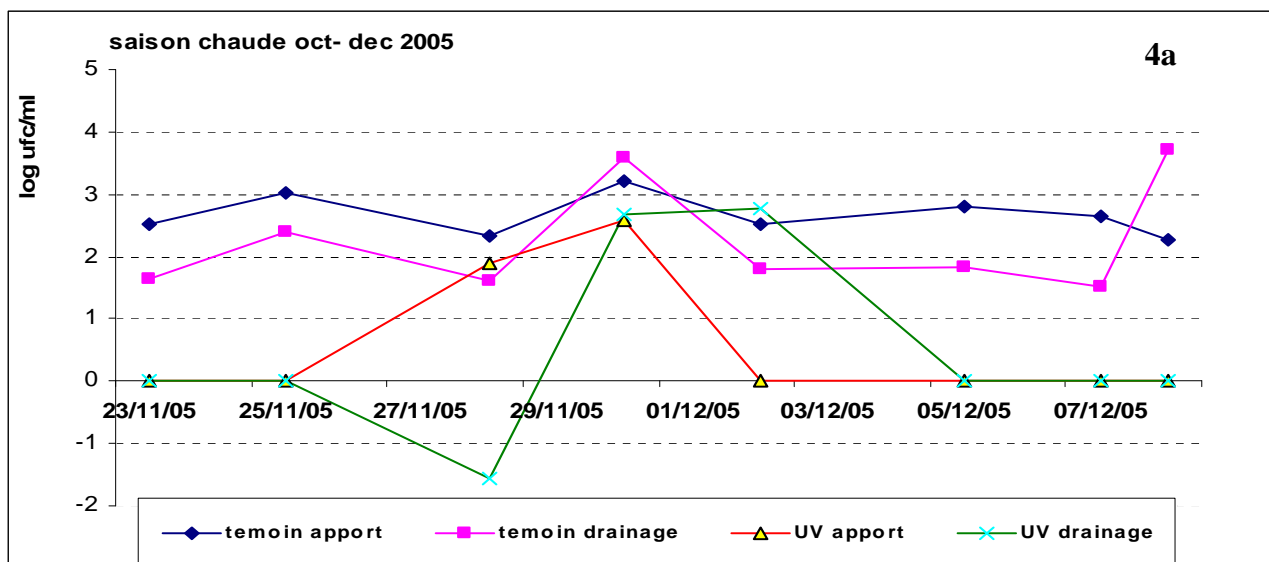
## D. RESULTATS ET DISCUSSION

### 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.



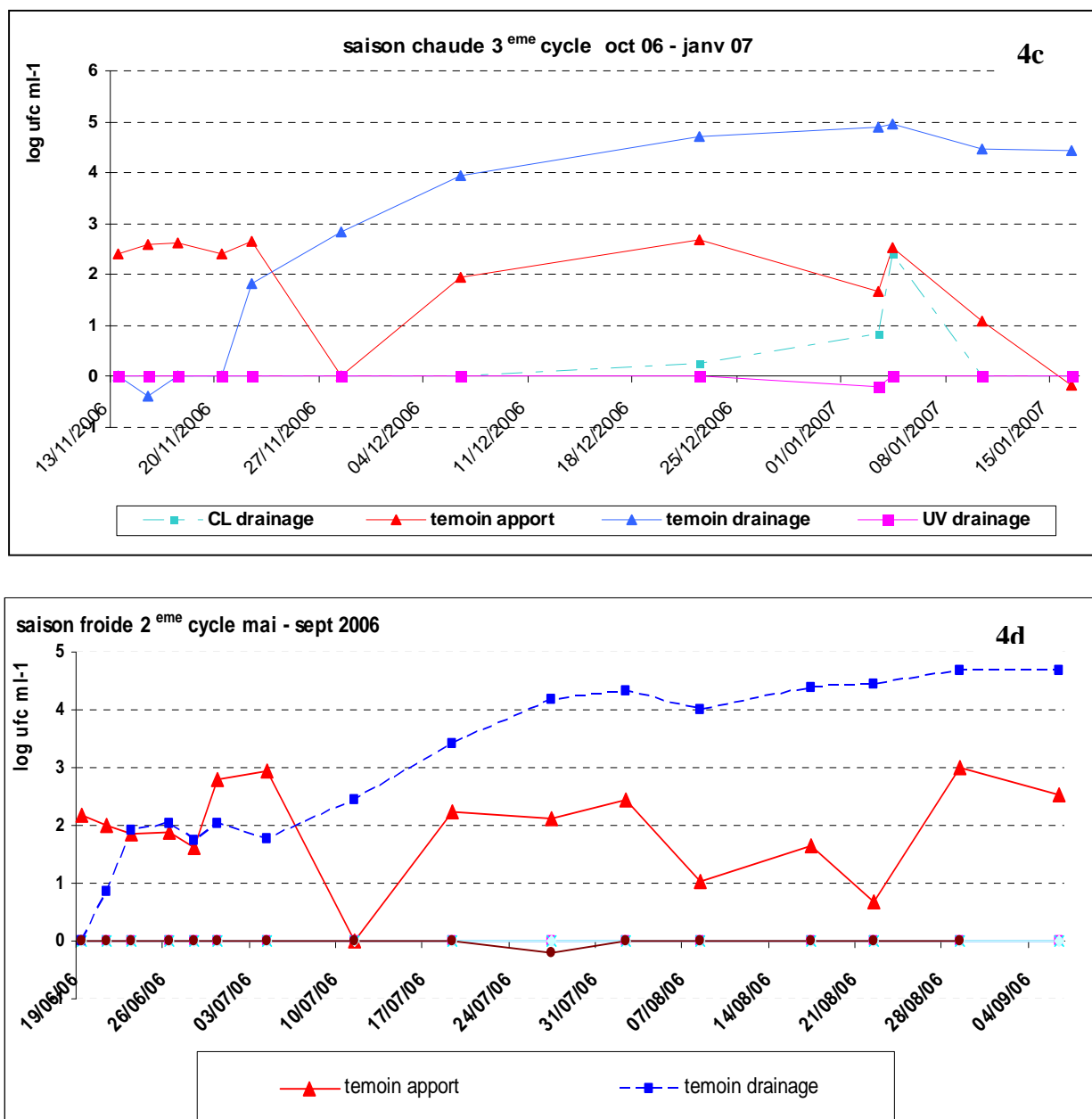


Figure 4 : Evolution temporelle de la population bactérienne dans les eaux d'apport et drainage ;  
Les courbes des traitements Chlore et UV sont superposées (pas de bactéries).

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.

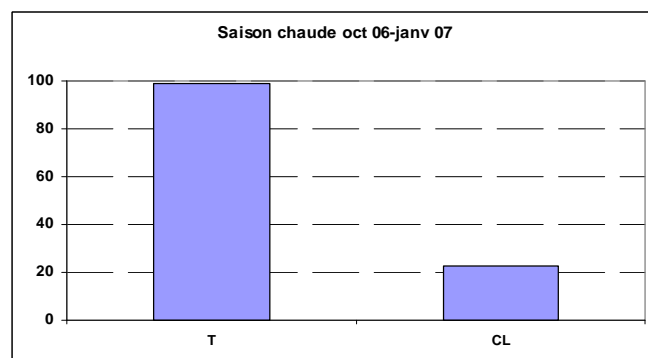
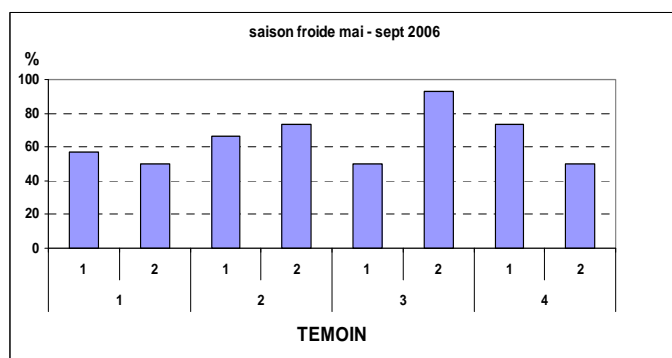
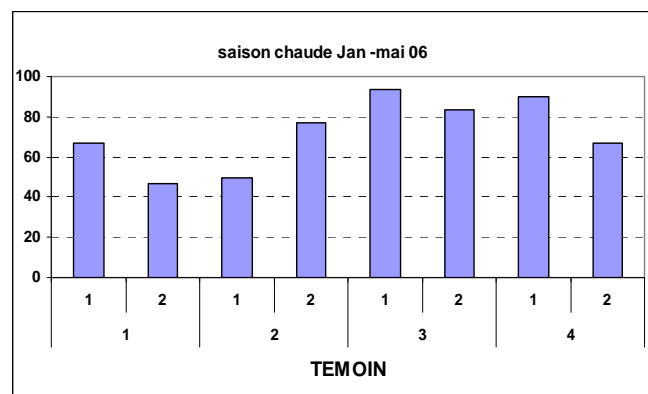


Figure 5 : Symptôme de flétrissement bactérien dans la parcelle témoin

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 ont 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 ont été positifs, ceci nous indique le traitement au chlore peut avoir joué en rôle dans la limitation de la progression de la maladie dans les parcelles traitées.

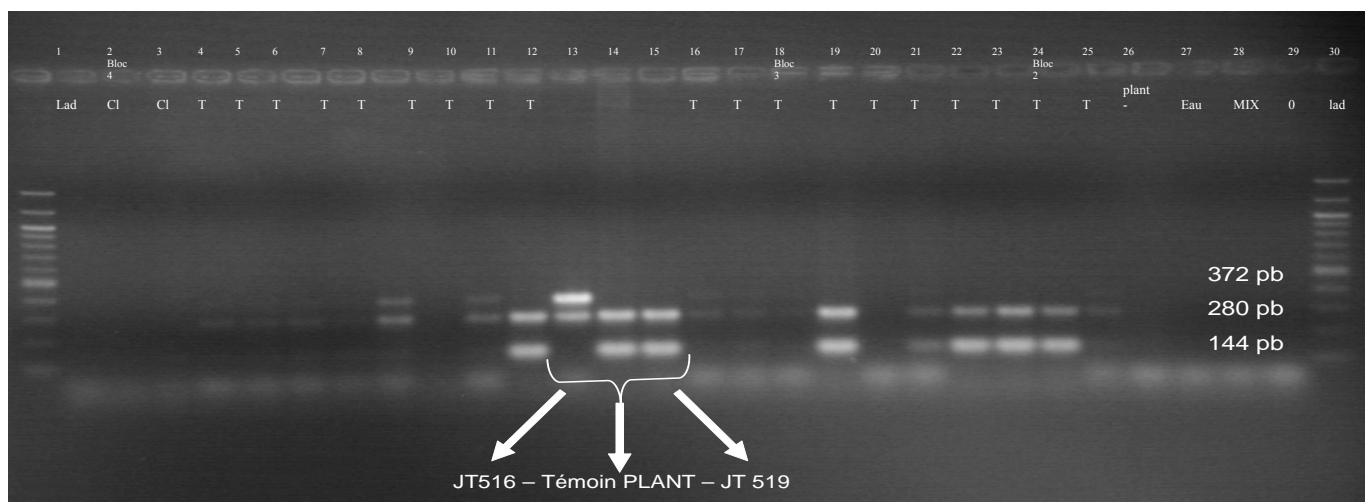


Figure 7 : Résultats de la Multiplex- PCR sur extraits de plant des parcelles témoins et Chlore

## 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.

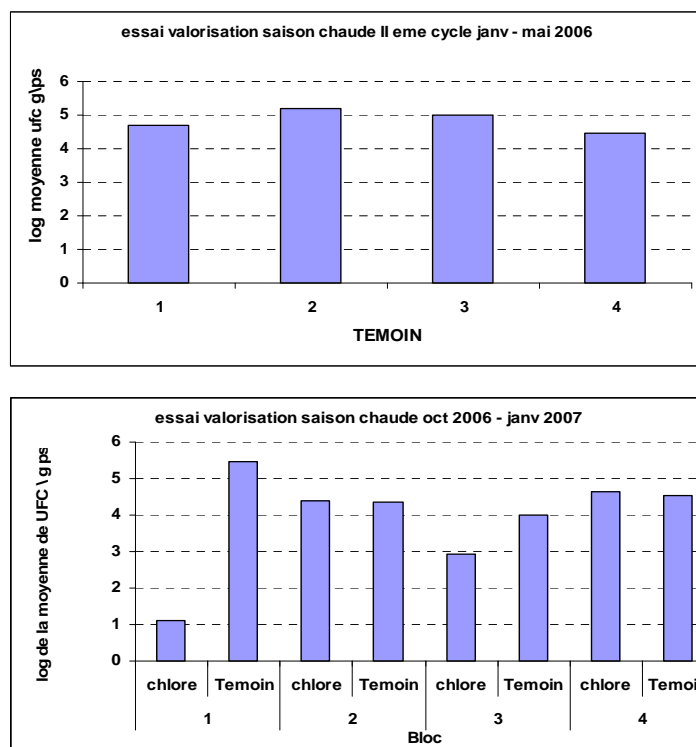


Figure 8 : Population bactérienne dans le substrat de chaque bloc. Les valeurs des traitements Cl et UV son nuls.

## 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 ).



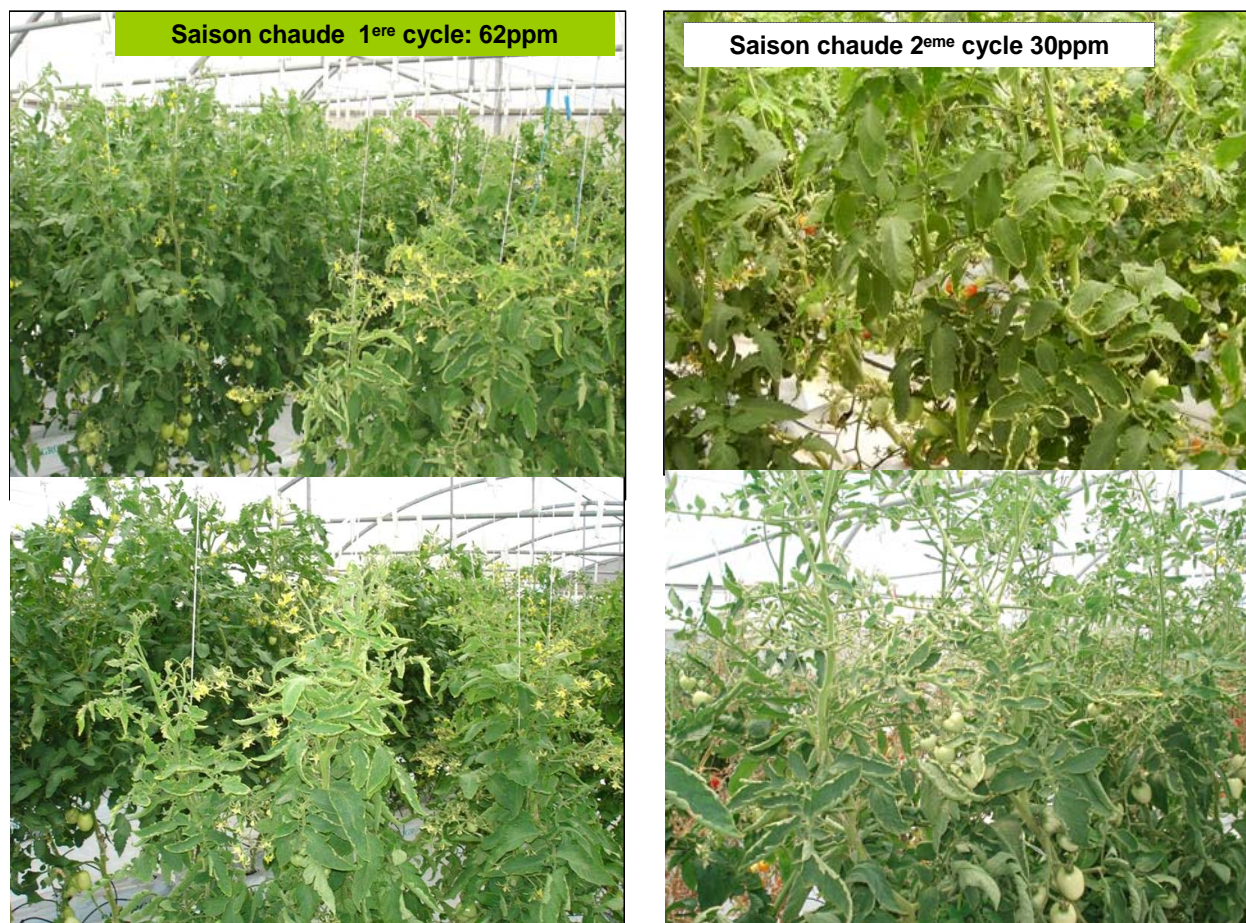
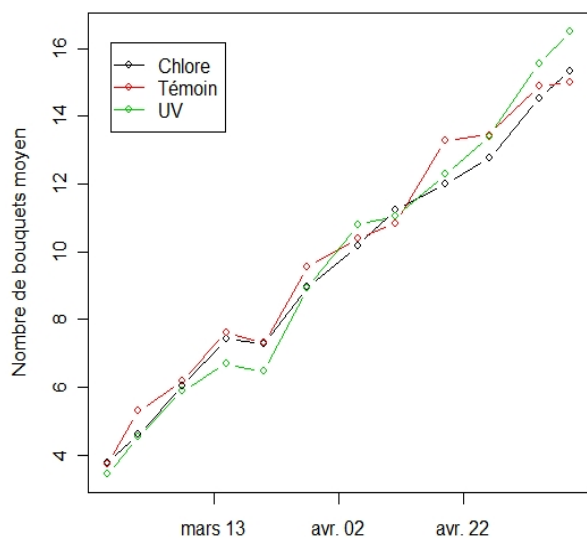


Figure 9 : Effet phytotoxique du chlore

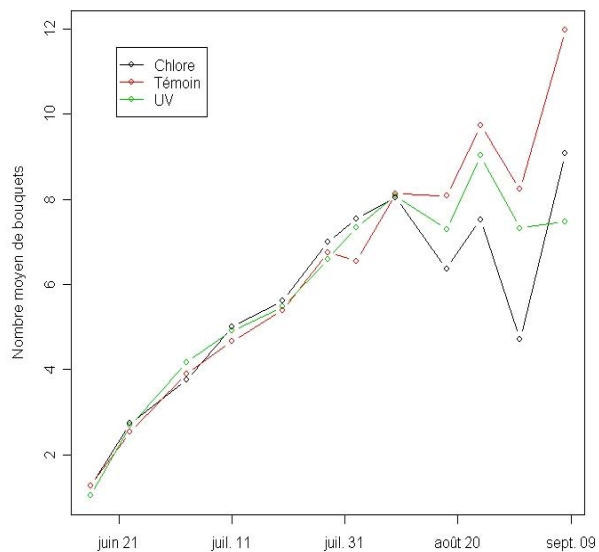
Par contre les analyses statistiques ne mettent pas en évidence une différence entre les modalités. En ce qui concerne le nombre de bouquets fleuris et le nombre de bouquets noués, les graphiques en figure 9 et 10 montrent que il n'y a pas de différences entre les traitements. En effet, les courbes sont très proches.

Pour la longueur et le diamètre de tige a 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.

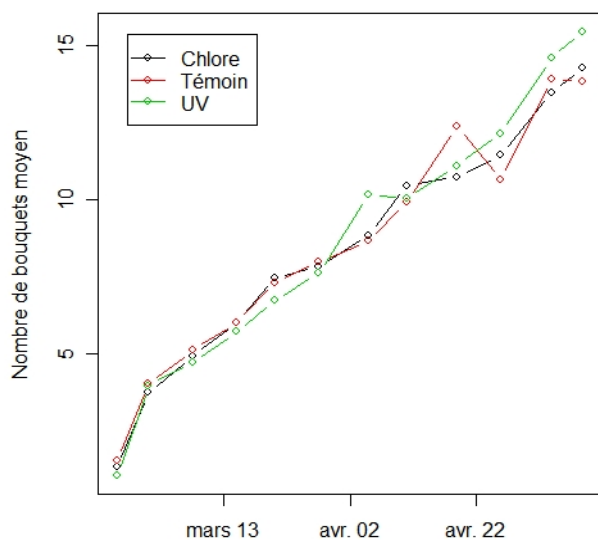
### FLORAISON



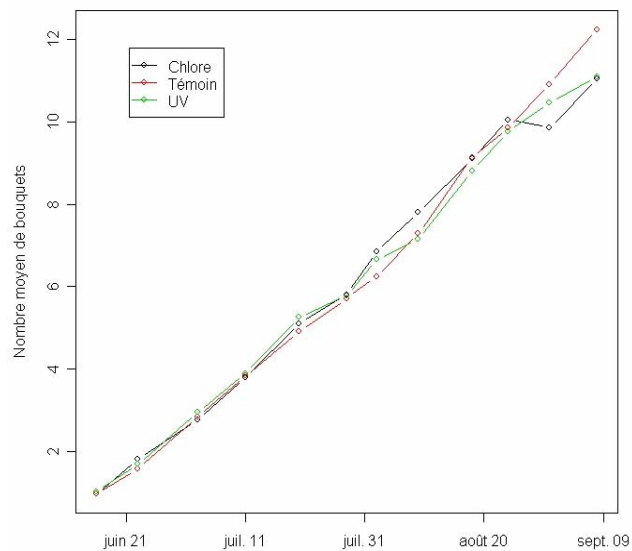
### FLORAISON



### NOUAISON



### NOUAISON



### 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.

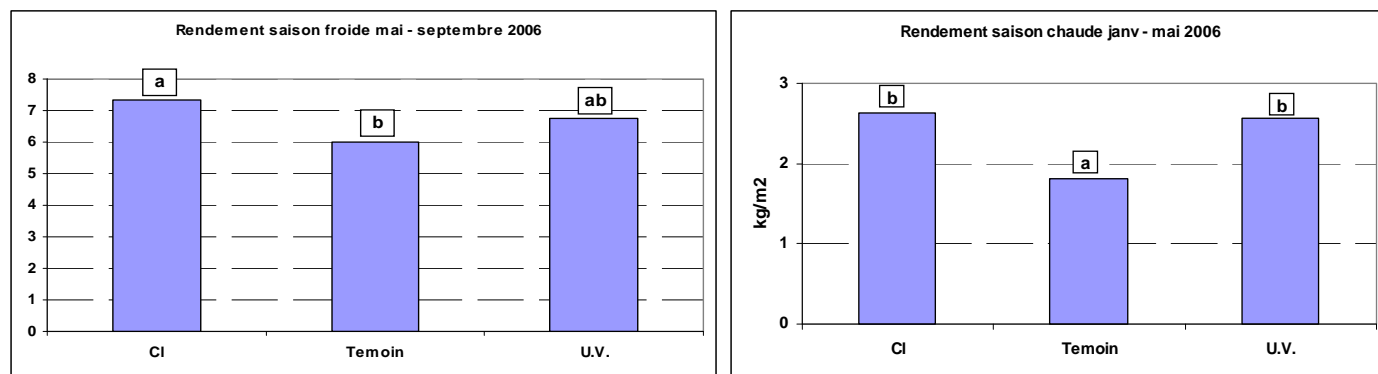


Figure 12: Valeur du rendement moyen. Test de TUKEY HSD (Honest Significant Différence) de comparaison des moyennes au seuil 5%

## 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/cm<sup>2</sup> 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/cm<sup>2</sup>.

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 30 ppm 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 au 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 recyclés, de nouveaux essais mériteraient d'être conduits sur l'utilisation et la désinfection des eaux de drainage.