

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*



FACULTE DES SCIENCES  
FACULTY OF SCIENCES

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET DE FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES DE LA  
VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT

*CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING IN GRADUATE STUDIES IN LIFE SCIENCE*

*HEALTH AND ENVIRONMENTAL SCIENCES*

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES

*DEPARTMENT OF PLANT BIOLOGY*

**Potentiel bactéricide des extraits des graines  
de *Thevetia peruviana* (pers.) K. Schum sur  
*Ralstonia solanacearum*, agent causal du  
flétrissement bactérien chez la tomate  
(*Solanum lycopersicum* L.)**

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat/Ph.D en  
Biologie des Organismes Végétaux

**Option:** Biotechnologies Végétales

Par:

**MOUNTSENG Cylvain Patrick**

*Master ès Sciences*

Matricule : 11S0104


Sous la direction de :

**AMBANG Zachée**

*Professeur*

Année : 2025



<b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b> <b>Faculté des Sciences</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>		<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>

**ANNÉE ACADEMIQUE 2023/2024**  
 (Par Département et par Grade)  
**DATE D'ACTUALISATION 04 Juin 2024**

**ADMINISTRATION**

**DOYEN** : OWONO OWONO Luc Calvin, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DPSAA** : NDJIGUI Paul Désiré, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DSSE** : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DRC** : NOUNDJEU Pierre, *Maître de Conférences*

**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*

**Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS** : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

**1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)**

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
4.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
5.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGUEFACK Julienne	Professeur	En poste
7.	NJAYOU Frédéric Nico	Professeur	En poste
8.	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9.	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10.	ATOUGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
11.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12.	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
13.	DAKOLE DABOY Charles	Maître de Conférences	En poste
14.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Maître de Conférences	En poste
15.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
16.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En poste
17.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>
18.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
19.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
20.	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En poste
21.	MANANGA Marlyse Joséphine	Maître de Conférences	En poste
22.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En poste
23.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / UDs</i>

24.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
25.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
26.	Palmer MASUMBE NETONGO	Maître de Conférences	En poste
27.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Maître de Conférences	En poste
28.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

29.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
30.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
31.	BEBOY EDJENGUELE Sara N.	Chargé de Cours	En poste
32.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
33.	FOUPOUPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En poste
34.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
35.	MBOUCHE FANMOE Marceline J.	Chargé de Cours	En poste
36.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
37.	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En poste

38.	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
39.	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
40.	EYENGA Eliane Flore	Assistant	En Poste
41.	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Assistant	En Poste
42.	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistant	En Poste
43.	WOGUIA Alice Louise	Assistant	En Poste

## 2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (49)

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	DAARS/FS
2.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
4.	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
5.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	CD et Vice Doyen/FMSB/UYY
6.	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	Chef de Département(a.i)
7.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
8.	NOLA Moïse	Professeur	En poste
9.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
10.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	Inspecteur de service / Coord.Progr./MINSANTE
11.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

12.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	Vice Doyen/ Uté Ebwa
13.	ATSAMO Albert Donatien	Maître de Conférences	En poste
14.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épouse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
17.	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
18.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Maître de Conférences	En poste
19.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste

20.	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En poste
21.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
22.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
23.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En poste
24.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En poste
25.	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
26.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Maître de Conférences	En poste
27.	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
28.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
29.	TAMSA ARFAO Antoine	Maître de Conférences	En poste
30.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

31.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Chargé de Cours	En poste
32.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
33.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
34.	FEUGANG YOUMSSI François	Chargé de Cours	En poste
35.	FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE	Chargé de Cours	En poste
36.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
37.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
38.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
39.	MAPON NSANGOU Indou	Chargé de Cours	En poste
40.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
41.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
42.	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
43.	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
44.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
45.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
46.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

47.	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste
48.	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En poste
49.	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En poste

### 3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (32)

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	BIYE Elvire Hortence	Professeur	En poste
3.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Professeur	<i>DIRECTEUR MINESUP</i>
5.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
6.	NDONGO BEKOLO	Professeur	En poste

7.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
8.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9.	DJEUANI Astride Carole	Maître de Conférences	En poste

10.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En poste
11.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
12.	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste
13.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
14.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste
15.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
16.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste

17.	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Chargé de Cours	En poste
18.	GONMADGE CHRISTELLE	Chargé de Cours	En poste
19.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20.	MANGA NDJAGA JUDE	Chargé de Cours	En poste
21.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
22.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
23.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
24.	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Chargé de Cours	En poste
25.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
26.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
27.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
28.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
29.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
30.	BOLIE Hubert	Assistant	En poste
31.	MACHE NKOUANDEU Pasma	Assistant	En poste
32.	MAFFO FOKOU Adèle	Assistant	En poste
33.	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En poste
34.	NTONMEN YONKEU Amandine F	Assistant	En poste
35.	ONANA EBODE Clotaire	Assistant	En poste
36.	PETMI Carine Lauvette	Assistant	En poste

#### 4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (27)

1.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
2.	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
3.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
4.	NENWA Justin	Professeur	En poste
5.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
6.	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Professeur	En poste
7.	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste

8.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
9.	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMGANG YOUNBI Georges	Maître de Conférences	En poste

11	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
12	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
13	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
14	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
15	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
16	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
17	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
18	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
19	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
20	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
21	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste

22.	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
23.	NCHIMI NONO KATIA	Chargée de Cours	En poste
24.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
25.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
26.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste
27.	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Assistant	En Poste

#### **6- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)**

1.	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
2.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UYI</i>
3.	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Recteur UBertoua/ Chef de Département</i>
5.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste
6.	MKOUNGA Pierre	Professeur	En poste
7.	TCHOUANKEU Jean-Claude	Professeur	<i>Doyen /FS/ UYI</i>

8.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
11.	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
12.	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
13.	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14.	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
15.	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
16.	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
17.	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>Dir ENS/Uté Bertoua</i>
18.	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
19.	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
20.	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
21.	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Maître de Conférences	En poste
22.	ZONDEGOUNBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

23.	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
24.	MUNVERA MFIFEN Aristide	Chargé de Cours	En poste

25.	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
26.	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
27.	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
28.	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
29.	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
30.	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
31.	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
32.	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
33.	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste

34	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste
----	---------------------	-----------	----------

#### 6- DEPARTEMENT DES ENERGIES RENOUVELABLES (ER) (1)

1.	BODO Bertrand	Professeur	<i>Chef de Département</i>
----	---------------	------------	----------------------------

#### 7- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division des SI/ MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général Académique/ MINESUP</i>
3.	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste
5.	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
6.	AMINOUE HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13.	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14.	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
15.	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
16.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En poste
17.	OLLE OLLE Daniel Claude	Chargé de Cours	<i>Directeur Adjoint ENSET</i>

.	Georges Delort		<i>Ebolowa</i>
18.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
19.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
20.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
21.	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	<i>Directeur CUTI</i>
22.	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

### 8- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)

1.	AYISSI Raoul Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	<i>Chef de Division/ENSPY</i>
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	<i>Chef de Département de modélisation et applications industrielles/ENSPY</i>
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>VDRC/FS/UYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

10.	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11.	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En poste
12.	BITYE MVONDO Esther	Chargé de Cours	En poste
13.	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14.	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
15.	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
16.	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17.	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
18.	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
19.	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste
20.	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
21.	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
22.	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
23.	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
24.	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
25.	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
26.	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Chargé de Cours	En poste
27.	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
28.	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste
29.	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
30.	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste

31.	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
32.	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
33.	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste

### 9- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Professeur	En poste

4.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
6.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
8.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
9.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
10.	TCHIKOUA Roger	Maître de Conférences	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>

11.	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
12.	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
13.	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste
14.	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
15.	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
16.	NKOUÉ TONG Abraham	Chargé de Cours	En poste
17.	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste
18.	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Chargé de Cours	En poste
19.	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste
20.	EZO'O MENGO Fabrice Télésfor	Assistant	En poste
21.	EHETH Jean Samuel	Assistant	En poste
22.	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste
23.	NGOUE NAM Romial Joël	Assistant	En poste
24.	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En poste

### 10. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE(PHY) (42)

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	BIYA MOTTO Frédéric	Professeur	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
3.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
4.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
5.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
6.	EYEBE FOU DA Jean sire	Professeur	En poste
7.	HONA Jacques	Professeur	En poste
8.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste

9.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
10.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
11.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
12.	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
13.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
14.	SIMO Elie	Professeur	En poste
15.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
16.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
17.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
18.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

19.	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	<i>Chef de Division de la formation continue et à distance/ENSPY</i>
20.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21.	FOUEJIO David	Maître de Conférences	<i>Chef Cell/ MINADER</i>
22.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
23.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
24.	MELI'I Joelle Larissa	Maître de Conférences	En poste
25.	MVOGO ALAIN	Maître de Conférences	En poste
26.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
27.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
28.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29.	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UIYI</i>
30.	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférences	<i>En stage depuis février 2023</i>
31.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
32.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
33.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
34.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
35.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
36.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste
37.	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
38.	NGA ONGODO Dieudonné	Chargé de Cours	En poste

39.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	<i>Directeur Unité de production des réactifs/IMPM</i>
40.	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
41.	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste
42.	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En poste

### 11- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1.	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA /Uds</i>
2.	EKOMANE Emile	Professeur	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
3.	GANNO Sylvestre	Professeur	En poste
4.	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
5.	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DPSAA</i>
6.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
7.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
8.	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
9.	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
10.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>

11.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
12.	Elisé SABABA	Maitre de Conférences	En poste
13.	EYONG John TAKEM	Maître de Conférences	En poste
14.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT(ai)</i>
15.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Div. /Uté Bertoua</i>
16.	MBIDA YEM	Maitre de Conférences	En poste
17.	MBESSE Cécile Olive	Maitre de Conférences	En poste
18.	METANG Victor	Maître de Conférences	En poste
19.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
20.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
21.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
22.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
23.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
24.	TCHAKOUNTE Jacqueline épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
25.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
26.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
27.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
28.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
29.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
30.	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
31.	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste
32.	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef Serv./Uté</i>

			<i>Maroua</i>
33.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
34.	NGO'O ZE ARNAUD	Chargé de Cours	En poste
35.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
37.	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
38.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
39.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
40.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste
41.	KOAH NA LBOGO Serge P.	Assistant	En poste
42.	NGO'O ZE ARNAUD	Assistant	En poste
43.	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO	Assistante	En poste

### Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	20 (12)	9 (04)	6 (05)	<b>43 (22)</b>
BPA	11 (01)	19 (09)	16 (05)	3 (02)	<b>49 (17)</b>
BPV	7 (02)	09 (02)	14 (07)	7 (03)	<b>37 (14)</b>
CI	7 (01)	14 (04)	5 (01)	1 (00)	<b>27 (06)</b>
CO	7 (01)	15 (05)	11 (05)	1 (00)	<b>34 (11)</b>
ER	1 (00)		/	/	<b>1 (0)</b>
IN	2 (00)	2 (00)	14 (01)	4 (00)	<b>22 (01)</b>
MAT	1 (00)	8 (00)	19 (02)	5 (01)	<b>33 (03)</b>
MIB	3 (01)	7 (03)	9 (05)	5 (02)	<b>24 (11)</b>
PHY	18 (01)	12 (04)	11 (01)	1 (00)	<b>42 (06)</b>
ST	10 (00)	17 (03)	13 (03)	3 (01)	<b>43 (07)</b>
<b>Total</b>	<b>74 (07)</b>	<b>124 (42)</b>	<b>121 (35)</b>	<b>31 (11)</b>	<b>350 (95)</b>

Soit un total de **355 (97)** dont:

- Professeurs **75 (08)**
- Maîtres de Conférences **123 (41)**
- Chargés de Cours **121 (34)**
- Assistants **35 (14)**

( ) = Nombre de Femmes **97**

## **DEDICACE**

Je dédie ce mémoire à :

Ma feu grand-mère ADIDIGUE Bibiane.

## REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pas vu le jour sans l'apport indispensable d'un certain nombre de personnes et d'Institutions, à qui j'exprime entièrement ma gratitude. Je tiens à remercier particulièrement:

- L'Université de Yaoundé I, notamment l'Unité de Recherche de Phytopathologie et de Protection des Végétaux pour les enseignements, la formation, l'encadrement, le matériel et les encouragements qui ont été le véritable levier de la réalisation de ce travail;
- L'Institut de Recherche Agricole pour le Développement de Nkolbisson pour le plateau technique offert, le renforcement de mes capacités et de sa collaboration;
- Pr. AMBANG Zachée, Chef de Département de Biologie et Physiologie Végétales (DBPV) de l'Université de Yaoundé I (UYI) et mon directeur de thèse, dont la rigueur scientifique très impressionnante contribue au rayonnement du dit Département, et qui a accepté de m'accueillir dans son laboratoire de recherche où j'ai acquis une très bonne formation. Vos conseils et encouragements ont été d'une importance capitale;
- Tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Végétales de l'UYI, pour leurs enseignements, conseils, et encouragements ;
- Dr MAHOT Hermine, pour sa collaboration, son assistance à mes travaux de laboratoire, de serre, ses encouragements, sa disponibilité et du soin qu'elle a apporté à la relecture et à la correction de ce manuscrit ;
- Dr MBOUSSI Serges Bertrand, pour sa collaboration, sa disponibilité, ses conseils, dans la relecture et la correction du manuscrit,
- Dr NGATSI ZEMKO Patrice, pour sa disponibilité, ses conseils précieux et surtout son aide dans l'analyse de mes données ;
- Dr MESSI Lin Marcelin, pour l'extraction et le fractionnement des extraits ;
- toute l'équipe du laboratoire de Phytopathologie, particulièrement AMBELLA LIGENG William, DOUANLA Martial, BOLOMOGUI BOYOMO, NGATA Laurence, Dr DIDA LONTSI ; Dr MEMBANG Gertrude ;
- Mr KUETE Michel, pour son assistance à mes travaux *in vitro* et en serre ;
- Mes parents OMBANG AYOMBA Apollinaire et AKEBANA Madeleine pour leur affection, soutien et leurs multiples conseils ;
- tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail et dont les noms n'ont pas été cités, qu'ils trouvent ici mes plus sincères remerciements ;
- le Président et les membres du jury, pour leur précieux temps, qu'ils ont sacrifié à examiner et à combler les insuffisances repérées dans ce document.

# SOMMAIRE

DEDICACE .....	xii
REMERCIEMENTS.....	xiii
SOMMAIRE.....	xiv
LISTE DES FIGURES .....	xvii
LISTE DES TABLEAUX .....	xix
LISTE DES ABREVIATIONS .....	xx
LISTE DES ANNEXES .....	xxi
RESUME.....	xxii
ABSTRACT .....	xxiii
INTRODUCTION .....	1
I.1. Généralités de la tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.).....	6
I.1.1. Origine et expansion de la tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.).....	6
I.1.2. Taxonomie de <i>Solanum lycopersicum</i> L. ....	6
I.1.3. Description botanique de <i>Solanum lycopersicum</i> L. ....	7
I.1.4. Biologie de la tomate.....	9
I.1.5. Exigences pédoclimatiques .....	10
I.1.5.1. Exigence climatique .....	10
I.1.5.2. Exigence édaphique.....	10
I.1.6. Importance et production de <i>Solanum lycopersicum</i> L. ....	10
I.1.6.1 Production de la tomate .....	10
I.1.6.2.Importance nutritionnelle et sanitaire de la tomate .....	11
I.2. Flétrissement bactérien.....	12
I.2.1. Importance socio-économique de la maladie et répartition géographique.....	12
I.2.2 Taxonomie de <i>R. solanacearum</i> .....	13
I.2.3 Symptomatologie.....	13
I.2.4. Cycle infectueux.....	14
I.2.5. Caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques de <i>R. solanacearum</i> .....	15
I.2.6. Epidémiologie : conservation et dissémination.....	17
I.2.7. Classification de <i>R. solanacearum</i> .....	19
I.2.8. Déterminants du pouvoir pathogène de <i>R. solanacearum</i> .....	22
I.2.9. Moyens de lutte .....	24
I.3. Autres contraintes liées à la production de la tomate .....	27
I.3.1. Chancre bactérien .....	28
I.3.2. Maladies virales.....	29
I.3.3 Maladies fongiques.....	29
I.3.4 Ravageurs .....	31
I.4. Laurier jaune ( <i>Thevetia peruviana</i> ).....	32
I.4.1. Description de la plante du laurier jaune.....	32

I.4.2. Quelques propriétés de <i>T. peruviana</i> .....	33
I.5. Mode d'action des métabolites secondaires .....	34
II. 1. Matériel .....	35
II. 1. 1. Site d'étude .....	35
II. 1. 2. Matériel végétal.....	37
II.1.3.Matériel chimique .....	38
II.1.4. Autres matériels .....	38
II.2. Méthodes.....	39
II. 2.1.Caractérisation biochimique et physiologique des isolats de <i>Ralstonia solanacearum</i> et screening des souches virulentes .....	39
II.2.1. 1 Prélèvement d'échantillons et désignations des isolats prélevés .....	39
II.2.1.2.Observation des symptômes visuels (Test à l'eau) .....	41
II.2.1.3. Isolement de <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	41
II.2.1.4. Caractéristique macroscopique .....	42
II.2.1.5. Test de motilité.....	42
II.2.1.6. Tests biochimiques.....	42
II.2.1.7. Test d'hypersensibilité du tabac.....	44
II.2.1.8.Screening des souches virulentes .....	45
II.2.2. Evaluation <i>in vitro</i> du potentiel antibactérien des extraits des graines de <i>Thevetia peruviana</i> .....	46
II.2.2.1 Obtention et Screening des extraits de <i>Thevetia peruviana</i> .....	46
II.2.2.2 Evaluation des effets des extraits de <i>Thevetia peruviana</i> sur <i>Ralstonia solanacearum</i> en laboratoire .....	48
II.2.3 Détermination des principaux métabolites secondaires responsables de l'activité antibactérienne contre <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	50
II.2.3.1. Fractionnement par partition des extraits de <i>T. peruviana</i> .....	50
II.2.3.2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'effet antibactérien de chaque partition sur <i>R. solanacearum</i> .....	51
II.2.3.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MC) des partitions les plus efficaces des extraits .....	52
II.2.3.4. Etapes du docking moléculaire .....	53
II.2.4. Effets des partitions des extraits des graines de <i>T. peruviana</i> sur l'incidence du flétrissement bactérien en serre et en champ .....	54
II.2.4.1. Effets des partitions des extraits sur l'incidence du flétrissement bactérien en serre.....	54
II.2.4.2.Effet des extraits des graines de <i>T. peruviana</i> sur l'incidence de la maladie en champ.....	56
II.2.5 Analyse statistique .....	59
III. 1. Résultats.....	60
III.1.1.Caractérisation morphologique, biochimique et physiologique de <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	60
III.1.1.1.Test à l'eau et caractérisation morphologique de <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	60

III.1.1.2. Caractérisation microscopique et biochimique de <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	60
III.1.1.3. Détermination des races .....	64
III.1.1.4. Screening des souches virulentes .....	65
III.1.2. Effet antibactérien des extraits des graines de <i>T. peruviana</i> sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>R. solanacearum</i> .....	67
III.1.2.1. Rendements d'extraction .....	67
III.1.2.2. Screening phytochimique des extraits .....	67
III.1.2.3. Evaluation du potentiel antibactérien des extraits des graines de <i>T. peruviana</i> .....	68
III.1.2.4. Tests de corrélation entre les différentes concentrations et les pourcentages d'inhibition .....	70
III.1.2.5. Concentrations minimales inhibitrices CMI <sub>50</sub> , CMI <sub>90</sub> et concentrations minimales bactéricides CMB des différents extraits .....	73
III.1.3. Détermination des principaux métabolites secondaires à effet antibactérien .....	73
III.1.3.1. Rendements d'extraction des différentes fractions .....	73
III.1.3.2. Effets des différentes partitions sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>R. solanacearum</i> .....	74
III.1.3.3. Tests de corrélation entre les différentes concentrations des fractions efficaces et les pourcentages d'inhibition .....	78
III.1.3.4. Analyse GC-MS des différents extraits .....	80
III.1.3.5. Influence des composés antibactériens présents dans les fractions efficaces de <i>T. peruviana</i> sur l'activité des protéines de <i>R. solanacearum</i> .....	87
III.1.4. Effet des traitements sur l'incidence du flétrissement bactérien <i>in vivo</i> et en champ ...	93
III.1.4.1. Effet des traitements sur l'incidence du flétrissement bactérien <i>in vivo</i> .....	93
III.1.4.2. Effet des traitements sur les paramètres de croissance de la tomate en champ .....	96
III.1.4.3. Effet des traitements sur les paramètres épidémiologiques de <i>Ralstonia solanacearum</i> en champ .....	98
III.1.4.4. Effet des traitements sur le rendement .....	101
III.2. Discussion .....	103
1-Conclusion .....	113
2-Perspectives .....	114
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	115
ANNEXES .....	145

## LISTE DES FIGURES

Fig. 1. Plante de tomate .....	7
Fig. 2 .Feuille de tomate. ....	8
Fig. 3. Fleur de tomate à l’anthèse.....	9
Fig. 4. Structure du fruit de la tomate à partir d’une coupe longitudinale.....	9
Fig. 5. Répartition mondiale de <i>R. Solanacearum</i> sur les 5 continents.....	13
Fig. 6. Symptôme de flétrissement bactérien sur tomate.....	14
Fig. 7. Cycle infectueux de <i>R. solanacearum</i> .....	15
Fig. 8. Aspect caractéristique d’une souche de <i>R. solanacearum</i> sur milieu Kelman modifié. ....	16
Fig. 9. Classification de <i>R. solanacearum</i> en phylotypes .....	21
Fig. 10. Plante de <i>T. peruviana</i> . ....	33
Fig. 11. Localisation du site d’étude en champ .....	36
Fig. 12. Conditions climatiques du site expérimental (Balamba 1).....	37
Fig. 13. Matériel végétal utilisé .....	38
Fig. 14. Souche pure de <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	41
Fig. 15. Puits contenant les différents hydrates de carbones. ....	44
Fig. 16: Etapes du test de pathogénicité en milieu gnotobiotique. ....	46
Fig. 17. Dispositif du fractionnement par partition de l’extrait à l’éthanol de <i>T. peruviana</i> .....	51
Fig. 18. Dispositif expérimental de l’essai en serre. ....	55
Fig. 19. Dispositif expérimental en champ.....	57
Fig. 20. Caractéristiques morphologiques de <i>R. solanacearum</i> . ....	60
Fig. 21. Caractéristiques biochimiques de <i>R. solanacearum</i> . ....	61
Fig. 22. Fermentation du glucose, du saccharose et du lactose par les bactéries testées.....	62
Fig. 23. Oxydation des hydrates de carbone par les bactéries testées.. ....	64
Fig. 24. Réactions d’hypersensibilité du tabac. ....	65
Fig. 25. Effet de l’extrait à l’éthanol de <i>T. peruviana</i> sur la croissance de <i>R. solanacearum</i> .. ....	68
Fig. 26. Vue des colonies sous l’effet du traitement à l’extrait à l’éthanol de <i>T. Peruviana</i> . ....	68
Fig. 27. Effet de l’extrait aqueux de <i>T. peruviana</i> sur la croissance de <i>R. solanacearum</i> . ....	69
Fig. 28. Vue des colonies sous l’effet du traitement à l’extrait aqueux de <i>T. Peruviana</i> .....	69
Fig. 29. Effet del’huile de <i>T. peruviana</i> sur la croissance de <i>R. solanacearum</i> .. ....	70
Fig. 30. Vue de colonies sous l’effet du traitement à l’huile de <i>T. Peruviana</i> .....	70
Fig. 31. Droites de régressions des extraits de <i>T. peruviana</i> .....	72
Fig. 32. Pourcentage d’inhibition des fractions de l’extrait à l’éthanol.....	75
Fig. 33. Croissance des colonies sur les milieux amandés avec les fractions de l’extrait à l’éthanol.....	75
Fig. 34. Pourcentage d’inhibition de la fraction à l’acétate d’éthyle de l’extrait à l’éthanol. ....	76

Fig. 35. Pourcentage d'inhibition de la fraction de l'extrait aqueux. ....	76
Fig. 36. Croissance des colonies sur les milieux amandés avec les fractions de l'extrait aqueux. ...	77
Fig. 37. Pourcentage d'inhibition de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux.....	77
Fig. 38. Pourcentage d'inhibition des fractions de l'huile de <i>T. peruviana</i> .....	78
Fig. 39. Pourcentage d'inhibition de la fraction à l'hexane de l'huile de <i>T. peruviana</i> . ....	78
Fig. 40. Droites de regression des 03 fractions efficaces des extraits des graines de <i>T. peruviana</i> ..	79
Fig. 41. Profil chromatographique GC-MS de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de <i>T. peruviana</i> .....	81
Fig. 42. Profil chromatographique GC-MS de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol de <i>T. peruviana</i> . ....	84
Fig. 43. Profil chromatographique GC-MS de la fraction à l'hexane de l'huile de <i>T. peruviana</i> . ....	86
Fig. 44. Interaction entre les composés antibactériens et la cétopantoate reductase putative.. ....	90
Fig. 45. Interaction entre les composés et le glutathione transferase. ....	91
Fig. 46. Interaction entre les composés et le dihydrolipoyl dehydrogenase. ....	92
Fig. 47. Interaction entre les composés antibactériens et la lectine. ....	93
Fig. 48. Evolution <i>in vivo</i> de l'incidence de <i>R. solanacearum</i> sous l'effet des traitements.. ....	94
Fig. 49. Effet de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol sur <i>R. solanacearum</i> .....	94
Fig. 50. Evolution <i>in vivo</i> des AUDPC de <i>R. solanacearum</i> sous l'effet des traitements.....	95
Fig. 51. Evolution de la hauteur des plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2020. ....	97
Fig. 52. Evolution de la hauteur des plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2021. ....	97
Fig. 53. Evolution du nombre des feuilles des plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2020. ....	98
Fig. 54. Evolution de la hauteur des plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2021.. ....	98
Fig. 55. Evolution de l'incidence de la bactériose sur les plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2020. ....	99
Fig. 56. Evolution de l'incidence de la bactériose sur les plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2021.. ....	99
Fig. 57. Evolution de la sévérité de la maladie sur les plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2020. ....	100
Fig. 58. Evolution de la sévérité de la maladie sur les plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2021.. ....	101

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Caractéristiques biochimiques différentielles utilisés pour identifier des souches bactériennes appartenant à l'espèce <i>R. Solanacearum</i> .....	16
Tableau II. Caractéristiques différentielles des biovars de <i>R. solanacearum</i> .....	20
Tableau III. Caractéristiques des deux variétés de tomates utilisées .....	38
Tableau IV. Zones d'échantillonnage des plants de tomates attaqués par le flétrissement bactérien.....	40
Tableau V. Identification des composés chimiques des extraits .....	47
Tableau VI. Observations microscopiques et tests biochimiques .....	61
Tableau VII. Résultat du test TSI .....	62
Tableau VIII. Tests de détermination des biovars .....	63
Tableau IX. Races de <i>R. solanacearum</i> infectant la tomate au Cameroun.....	64
Tableau X. Taux de plantules mortes après inoculation racinaire des souches.....	66
Tableau XI. Rendements d'extraction des différents extraits.....	67
Tableau XII. Apparition des composés naturels dans les extraits de <i>T. peruviana</i> .....	67
Tableau XIII. Corrélation entre les pourcentages d'inhibition et les concentrations sur les différents isolats testés avec les 03 extraits de <i>Thevetia peruviana</i> . .....	72
Tableau XIV. Concentrations minimales inhibant la croissance de <i>R. solanacearum</i> .....	73
Tableau XV. Concentrations minimales bactéricides des différents extraits sur <i>R. solanacearum</i> ..	73
Tableau XVI. Rendements d'extraction des différentes fractions de l'extrait à l'éthanol .....	74
Tableau XVII. Rendements d'extraction des différentes fractions de l'extrait aqueux .....	74
Tableau XVIII. Rendements d'extraction des différentes fractions de l'huile.....	74
Tableau XIX. Corrélation entre pourcentage d'inhibition et les concentrations des fractions les plus efficaces .....	79
Tableau XX. Variation des CMI des fractions les plus efficaces. ....	80
Tableau XXI. Récapitulatif des différents composés identifiés par GC-MS de de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de <i>T. peruviana</i> . ....	81
Tableau XXII. Récapitulatif des différents composés identifiés par GC-MS dans la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol de <i>T. peruviana</i> . ....	84
Tableau XXIII. Récapitulatif des différents composés identifiés par GC-MS dans la fraction à l'hexane de l'huile de <i>T. peruviana</i> . ....	86
Tableau XXIV. Energie de liaison du complexe ligand-protéines de la bactérie.....	88
Tableau XXV. Moyennes des Asin((Rac(IFB)) 14 JAT .....	95
Tableau XXVI. Moyenne des Rac(AUDPC).....	96
Tableau XXVII. Rendement de la tomate des différents traitements obtenus durant les deux campagnes.....	102

## LISTE DES ABREVIATIONS

ANOVA :	Analysis of Variance (Analyse des variances)
AUDPC :	Area under disease progress curve (Courbe de progression de la maladie)
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
CMB :	Concentration minimale bactéricide
EPS :	Exopolysaccharides
Fae.EA :	Fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux
Fae.EOH :	Fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol
Fhe.HL :	Fraction à l'hexane de l'huile
FAO :	<i>Food and agriculture organization</i> (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture)
FAOSTAT:	<i>Food and Agriculture Organization Division of statistics</i>
GC-MS:	Gas Chromatography-mass spectrometry
hrp:	hypersensitive response and pathogenicity
IFB :	Indice de flétrissement bactérien
IRAD:	Institut de recherché agricole pour le développement
JAR :	Jours après repiquage
JAT :	Jours après traitement
MINADER:	Ministère de l'Agriculture et du Développement rural
PDB :	Protein Data Bank (Banque de Données Proteiques)
PI:	pourcentage d'inhibition
T.peruviana:	<i>Thevetia peruviana</i>
R1bv2:	race1 biovar 2
R3bv3:	race 3 biovar 3
<i>R. solanacearum:</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>

## **LISTE DES ANNEXES**

Annexe 1 : Caractéristiques physico-chimiques du sol du site expérimental

Annexe 2 : Quelques activités effectuées *in vitro*

Annexe 3 : Plants de tomates en champ

Annexe 4 : traitement phytosanitaire

## RESUME

La tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) est largement cultivée dans le monde entier. Mais cette culture est sujette aux maladies, particulièrement le flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* entraînant d'énormes pertes de rendement (90,62 %). La présente étude avait pour objectif général d'inhiber le développement de *R. solanacearum* sur la tomate par l'utilisation des extraits des graines de *Thevetia peruviana*. A cet effet, trente (30) échantillons des plants de tomates malades ont été prélevés en champ dans 03 zones agro écologiques afin de faire une caractérisation de la population bactérienne. Trois extraits des graines de *T. peruviana* (extrait aqueux, extrait à l'éthanol et l'huile) et cinq traitements : T0 (témoin sans traitement) ; T1 (12,5 µl/ml) ; T2 (25 µl/ml) ; T3 (50 µl/ml) ; T4 (100 µl/ml) ont été utilisés et testés *in vitro* sur les isolats les plus virulents. Trois fractions (à l'hexane, à l'acétate d'éthyle et au butan-1-ol) de chaque extrait ont également été effectuées et testées *in vitro* sur un isolat à différentes concentrations. La GC-MS des fractions les plus efficaces contre *R. solanacearum* et le docking moléculaire ont été réalisés afin de déterminer les principaux métabolites secondaires responsables de l'activité antibactérienne des extraits. Les fractions efficaces ont été utilisées en serre et en champ afin d'inhiber l'évolution de la maladie. Les tests en champ ont été réalisés à balamba 1 dans la région du Centre durant deux campagnes, suivant le dispositif expérimental en split-plot constitué de deux facteurs dont un facteur principal constitué de deux variétés (Cobra et Roma) et un facteur secondaire constitué de 05 traitements (T<sup>-</sup>, T<sup>+</sup>, Fae.EA, Fae.EOH, Fhe.HL). Tous les résultats des tests biochimiques réalisés ont démontré que les isolats des plantes de tomate étaient l'agent pathogène *R. solanacearum*. Deux biovars ont été identifiés comme responsables de l'infection de la tomate au Cameroun : biovar 2 et biovar 3 (majoritaire) et deux races ont également été déterminées : race 1 et race 3 (majoritaire). Les isolats Fm6 (race 3 bv2) et Bfo (race 3 bv 3) se sont montrés plus virulents. Tous les extraits ont inhibé *in vitro* à 100 % la croissance des isolats testés à la dose de 100 µl/ml. Les plus faibles valeurs des CMI ont été obtenues avec l'extrait à l'éthanol, ce qui justifie sa plus grande efficacité par rapport aux deux autres extraits. La fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux s'est montrée plus efficace *in vitro* avec une inhibition de 100 % à la dose de 25 µl/ml et une CMB de 30 µl/ml. L'analyse GC-MS de ces trois fractions a révélé la présence des composés antibactériens et le docking moléculaire a montré que le 1,2-15,16-diepoxyhexadecane ; l'eicosanoic acid ; hexadecanoic acid butyl ester ; le diisooctyl phthalate ; le bis(2-éthylhexyl)phthalate ; l'azulène ; l'eicosanoic acid, methyl et le (Z)-7- hexadecenoic acid, methyl ester interagissent avec les sites actifs des protéines de la bactérie, tout en bloquant leur activité. Ces trois fractions ont réduit l'incidence du flétrissement bactérien de 88-100 % en serre et de 70-85 % en champ, elles peuvent être exploités comme bactéricide biologique dans la lutte intégrée contre *R. solanacearum*.

Mots clés : *Ralstonia solanacearum*, *Thevetia peruviana*, extrait des graines, bactéricide, tomate.

## ABSTRACT

The tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) is widely cultivated all over the world. But this crop is prone to disease, particularly bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*, resulting in huge yield losses (90,62 %). The general objective of the present study was to inhibit the development of *R. solanacearum* on tomatoes by the use of extracts from the seeds of *Thevetia peruviana*. To this end, thirty (30) samples of diseased tomato plants were taken in the field in 03 agro-ecological zones in order to characterize the bacterial population. To this end, thirty (30) samples of diseased tomato plants were taken in the field in 03 agro-ecological zones in order to characterize the bacterial population. Three extracts of *T. peruviana* seeds (aqueous extract, extracted with ethanol and oil) and five treatments: T0 (control without treatment); T1 (12,5 µl/ml); T2 (25 µl/ml); T3 (50 µl/ml); T4 (100 µl/ml) were used and tested *in vitro* on the most virulent isolates. Three fractions (hexane, ethyl acetate and 1-butanol) of each extract were also performed and tested *in vitro* on an isolate at different concentrations. GC-MS of the most effective fractions against *R. solanacearum* and molecular docking were performed to determine the main secondary metabolites responsible for the antibacterial activity of the extracts. The effective fractions were used in greenhouses and fields to inhibit disease progression. Field tests were carried out at balamba 1 in the Centre region during two seasons, following the split-plot experimental setup consisting of two factors, including a main factor consisting of two varieties (Cobra and Roma) and a secondary factor consisting of 05 treatments (T-, T+, Fae.EA, Fae.EOH, Fhe.HL). All biochemical test results demonstrated that tomato plant isolates were the pathogen *R. solanacearum*. Two biovars have been identified as responsible for tomato infection in Cameroon: biovar 2 and biovar 3 (majority) and two breeds have also been determined: breed 1 and breed 3 (majority). Isolates Fm6 (race 3 bv2) and Bfo (race 3 bv 3) were more virulent. All extracts inhibited 100 % *in vitro* growth of the isolates tested at the dose of 100 µl/ml. The lowest MIC values were obtained with the ethanol extract, which justifies its greater efficiency compared to the other two extracts. The ethyl acetate fraction of the aqueous extract was more effective *in vitro* with a 100 % inhibition at a dose of 25 µl/ml and a CMB of 30 µl/ml. GC-MS analysis of these three fractions revealed the presence of antibacterial compounds and molecular docking showed that 1,2-15,16-diepoxyhexadecane; eicosanoic acid; hexadecanoic acid butyl ester; diisooctyl phthalate; bis(2-ethylhexyl)phthalate; azulene; Eicosanoic acid, methyl and (Z)-7-hexadecenoic acid, methyl ester interact with the active sites of the bacteria's proteins, while blocking their activity. These three fractions reduced the incidence of bacterial wilt by 88-100 % in greenhouses and 70-85 % in the field, and can be exploited as a biological bactericide in integrated pest management of *R. solanacearum*.

Keywords: *Ralstonia solanacearum*, *Thevetia peruviana*, seed extract, bactericide, tomato.

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

La tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) est la deuxième culture maraichère la plus importante au niveau mondial en termes de consommation alimentaire (FAOSTAT, 2019). Appartenant à la famille des Solanacées, les premières tomates proviennent des régions andines de la côte nord-ouest d'Amérique du Sud où diverses espèces, dont *Solanum lycopersicum cerasiforme* (la tomate cerise) et *Solanum pimpinellifolium*, se multiplient spontanément (Friedman, 2002 ; Grubben et Denton, 2004).

Elle est cultivée sous tous les climats, notamment en zone tropicale, c'est une culture à cycle assez court qui donne un haut rendement, et a de bonnes perspectives économiques. La superficie cultivée s'agrandit de jour en jour car c'est une source bon marché de vitamines A, C et E et elle contient une grande quantité d'eau, de calcium et de niacine (Tsala *et al.*, 2022). Riche en lycopène, sa consommation régulière peut réduire les risques de cancer, de maladies cardiovasculaires et d'ostéoporose (Quinet *et al.*, 2019). La tomate réduit significativement le mauvais cholestérol, ainsi que l'agrégation plaquettaire et donc la formation de caillots sanguins (Tsala *et al.*, 2022), elle contient une diversité de métabolites spécialisés tels que les caroténoïdes, des composés phénoliques et des glycoalcaloïdes qui sont des composés bioactives (propriétés thérapeutiques) à effets anti-inflammatoires, anti-allergènes et anti-thrombotiques (Marwa, 2021). En plus des fruits frais, la tomate est consommée après transformation dans des soupes, des jus et des sauces (Li *et al.*, 2018). Sa production mondiale en 2023 a été de 192 317 972,01t sur une superficie de 5 412 458 ha. La chine est de loin le premier producteur avec une production de 68 391 522,33t sur une superficie de 1 143,399 ha, devant l'Inde qui a une production de 20 425 000t sur une superficie de 849 000 ha (FAOSTAT, 2024).

En Afrique, la production a été de 23 080 075,94t sur une superficie 1 781 826 ha, l'Egypte est premier producteur avec une production de 6 211 015,96t sur une superficie de 155,874 ha (FAOSTAT, 2024).

Au Cameroun, la production de la tomate en tonnes en 2018 a été de 106 8495t sur une superficie de 6 977 ha et 1 248 099,3t sur une superficie de 68,108 ha en 2023 (FAO, 2024). Bien que le rendement augmente au fil des années, celui-ci reste encore en deçà de la moyenne mondiale. Ce déficit de production est plus lié aux maladies fongiques, bactériennes, virales et aux ravageurs de la tomate (Paudel *et al.*, 2019). Parmi les maladies bactériennes, le flétrissement bactérien, causé par *Ralstonia solanacearum* est la maladie phytopathologique vasculaire la plus destructrice chez la tomate lui occasionnant des pertes de rendement en fruits frais allant jusqu'à 90,62 % en champ (Mingming *et al.*, 2020). Elle entraîne également de graves pertes dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées, estimées à près de 1 milliard de dollars dans le

monde et c'est l'une des principales causes de réduction des rendements en Afrique (Harahagazwe *et al.*, 2018). Cette maladie est répandue dans les cinq continents. En Afrique, elle a été signalée dans un certain nombre de pays dont le Burundi, l'Afrique du Sud, l'Égypte, la Libye, le Nigéria, la Zambie et le Cameroun (CABI, 2017 ; Elsayed *et al.*, 2020).

Au Cameroun, sur 5 zones agro écologiques, le flétrissement bactérien est présent dans 4 zones à savoir les hautes savanes guinéennes, les hauts plateaux de l'ouest, et les deux zones forestières à pluviométrie respectivement monomodale et bimodale, zones considérées comme le grenier potager du Cameroun et de l'Afrique centrale où elle constitue une contrainte majeure à la culture des solanacées (Mahbou *et al.*, 2009).

*Ralstonia solanacearum* est une bactérie complexe dotée d'une grande diversité génétique. En effet, quatre phylotypes ont été décrits par Fegan et Prior (2005) et trois des quatre phylotypes ont été identifiées au Cameroun : le phylotype asiatique I, le phylotype Américain II et le phylotype Africain III (Mahbou, 2009). Par ailleurs, le système de classification par races et biovars est actuellement en vigueur au plan international, respectivement classé en fonction de sa gamme d'hôtes et sa capacité à oxyder les hydrates de carbone (Nurdika *et al.*, 2022). A cause de sa très grande variabilité phénotypique, génotypique, sa plasticité et sa capacité à s'adapter à différents environnements agro-climatiques, la maladie est difficile à contrôler (Bollier *et al.*, 2018).

Différents moyens de lutte sont donc employés pour contrôler l'infection des plantes par *R. solanacearum*. Mais les plus utilisées sont :

- la lutte chimique mais l'apparition des résistances chez les organismes et les dommages causés à l'environnement et à la santé humaine mettent en exergue les limites de cette méthode de lutte dont les produits sont également très coûteux (Dida *et al.*, 2024). Par conséquent, à ce jour, il n'existe aucun bactéricide conventionnel connu qui permette de lutter efficacement contre cet agent transmis dans le sol (Oluoch, 2023) ;

-la lutte génétique : la recherche des variétés résistantes au flétrissement bactérien est actuellement la méthode de lutte la plus employée. Cependant, malgré quelques succès chez le tabac, l'arachide, l'aubergine et le piment, la résistance chez la tomate n'a été trouvée que pour certains environnements donnés et ne donne pas de résultats durables. La résistance est de plus polygénique et dépend des conditions expérimentales, les connaissances des caractéristiques génétiques des souches utilisées dans les programmes de sélection variétale étant insuffisantes (Bollier *et al.*, 2018).

Dans la recherche des alternatives plus efficaces et soucieuses de l'environnement, les biostimulateurs qui sont des matériels biologiques ou leurs extraits ayant des effets bénéfiques sur les propriétés du sol, la croissance et le développement de la plante, la résistance au stress

biotique et abiotique sont préconisés. On peut citer entre autres les plantes *Ricinus communis* (Euphorbiaceae), *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) (Kone *et al.*, 2018 ; Manga, 2022). C'est également le cas des extraits des graines de *Thevetia peruviana* dont les recherches ont révélé le potentiel antifongique, nématocide, insecticide. En effet, Ambang *et al.* (2010), Ngho Dooh *et al.* (2014 a,b), Dida *et al.* (2024) ont montré l'effet fongicide de la solution des graines de laurier jaune sur *Phytophthora megakarya*, *Colletotricum gloesporioides f.sp.Manihotis*, *Mycosphaella fijiensis* Morelet et sur *Phytophthora infestans* respectivement responsable de la pourriture brune du cacao, de l'antracnose du manioc, de la maladie des raies noires du bananier et du mildiou de la pomme de terre. Par ailleurs, Obasi et Igboechi (1991), Ngatsi *et al.* (2020) ont respectivement démontré le potentiel bactéricide et insecticide des extraits des graines de *T. peruviana*. Les extraits du laurier jaune ont donc un large spectre d'action sur les phytopathogènes, mais leur action antibactérienne est très peu étudiée et par conséquent n'a jamais été testée sur *Ralstonia solanacearum*. Fort de ce qui précède, une question générale de recherche se pose : Est ce que les extraits des graines de *Thevetia peruviana* peuvent inhiber le développement de la population de *Ralstonia solanacearum* ?

De cette question de recherche, découlent différentes questions spécifiques de recherche à savoir :

-Quelles sont les différents biovars et races de *R. solanacearum* qui infectent la tomate au Cameroun ?

-Est-ce que les extraits de graines de *Thevetia peruviana* ont un effet antibactérien sur *Ralstonia solanacearum* ?

-Quels sont les principaux composés des extraits de graines de *Thevetia peruviana* responsables de cette activité antibactérienne ?

-Ces extraits peuvent-ils inhiber le développement de la maladie en serre et en champ ?

Les questions ci-dessus posées ont donc suscité les hypothèses de recherches ci-après :

-les souches de *R. solanacearum* qui infectent la tomate au Cameroun sont de biovars et de races différents dont la connaissance est indispensable pour l'élaboration d'une meilleure méthode de lutte;

-les extraits des graines de *Thevetia peruviana* grâce aux métabolites secondaires peuvent inhiber *in vitro* *Ralstonia solanacearum*;

-l'analyse par chromatographie en phase gazeuse capillaire suivie d'une spectrométrie de masse (GC-MS) des fractions efficaces des extraits des graines de *T. peruviana* et le docking moléculaire des composés antibactériens sur les protéines de *R. solanacearum* permettent de déterminer les principaux métabolites secondaires responsables de l'activité antibactérienne contre *R. solanacearum* et leur mécanisme d'action;

-Ces métabolites secondaires peuvent inhiber en serre et en champ l'évolution de la maladie.

Les extraits des graines de *T. peruviana* contiennent des composés antibactériens responsables de l'inhibition du développement de *R. solanacearum* sur la tomate.

Ces différentes questions et hypothèses de recherche justifient les motivations de ce travail dont l'objectif général est d'inhiber le développement de *Ralstonia solanacearum* sur la tomate par l'utilisation des extraits des graines de *Thevetia peruviana*. Plus spécifiquement, il s'agit de :

-faire une caractérisation morphologique, biochimique et physiologique des isolats de *R. solanacearum* ;

- tester *in vitro* le potentiel antibactérien des extraits des graines de *Thevetia peruviana* sur *Ralstonia solanacearum* ;

-déterminer les principaux métabolites secondaires responsables de cette activité antibactérienne ;

- évaluer l'influence des extraits de *T. peruviana* sur l'évolution de la maladie *in vivo* et en champs.

Ce travail présente un grand intérêt. Sur le plan scientifique, il contribue à l'enrichissement de la littérature scientifique notamment sur le potentiel antibactérien des extraits des graines de *Thevetia peruviana*, les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides et sur les nouvelles molécules à fort potentiel antibactériens contre *R. solanacearum*. Par ailleurs, il complète les informations sur les caractéristiques biochimiques et physiologiques de *R. solanacearum* qui infecte la tomate au Cameroun.

Sur le plan environnemental, les extraits des graines de *T. peruviana* sont biodégradables et contribuent à la protection de l'environnement comme alternative au remplacement des produits chimiques.

Sur le plan économique, ce travail améliore la production de la tomate et amoindrit l'investissement des producteurs car ces extraits ne nécessitent pas beaucoup de moyens financiers. En outre, ce travail met en exergue le large spectre d'action des extraits sus-évoqués et contribue à les valoriser davantage.

Sur le plan social, ces extraits sont faciles à obtenir et à utiliser et peuvent être accessibles et utilisables par n'importe quel agriculteur.

Sur le plan politique, l'utilisation de ces extraits contribue à limiter les importations des produits phytosanitaires qui s'inscrivent dans l'une des grandes orientations de la stratégie nationale de développement 2020-2030 (SND 30) à savoir l'import/substitution. Par ailleurs, ce travail contribue à atteindre trois objectifs de développement durable (ODD) qui consistent à : éliminer la pauvreté sous toutes ses formes (ODD1) ; éliminer la faim, assurer la sécurité

alimentaire, améliorer la nutrition et promouvoir l'agriculture durable (ODD 2) ; et permettre à tous de vivre en bonne santé et promouvoir le bien être de tous (ODD 3).

Sur le plan personnel, ce travail sert de levier pour mettre un produit sur le marché afin de générer des revenus et créer des emplois.

**CHAPITRE I**  
**REVUE DE LA LITTERATURE**

## **I.1. Généralités de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.)**

### **I.1.1. Origine et expansion de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.)**

La tomate (*Solanum lycopersicum* L.) appartient à la famille des solanacées. Elle est originaire des Andes d'Amérique du sud. Elle fut domestiquée au Mexique, puis introduite en Europe en 1544. De là, sa culture s'est propagée en Asie du sud et de l'Est, en Afrique et en moyen Orient (Friedman, 2002; Naika *et al.*, 2005). Elle se positionne au premier rang mondial des fruits cultivés avec une production annuelle d'environ 160 millions de tonnes (Lee *et al.*, 2017). Si l'on se réfère à la définition d'un fruit : produit végétal qui succède à la fleur après fécondation et qui renferme les graines de la plante, la tomate serait donc bien un fruit (on voit les graines à l'intérieur). La tomate est biologiquement parlant un fruit mais un légume culinaire parlant (Chaux et Foury, 1994).

Il existe plus de 12 espèces de tomates sauvages, la tomate cultivée est issue de la domestication de la forme semi sauvage *Solanum lycopersicum* var. *Cerasiforme*, cette dernière étant un mélange de *Solanum lycopersicum* et de l'espèce sauvage *Solanum pimpinellifolium* (Peralta *et al.*, 2008 ; Ranc *et al.*, 2008 ; Knapp et Peralta, 2016).

### **I.1.2. Taxonomie de *Solanum lycopersicum* L.**

La tomate (*S. lycopersicum* L.) est une plante herbacée, annuelle, appartenant à la famille des solanacées et du genre *Solanum*. Le nombre chromosomique est de  $2n=24$  (De Lannoy, 2001). Linné (1753) avait inclus la tomate dans le genre *Solanum*, en la nommant *Solanum lycopersicum*; mais Miller la renomma *Lycopersicon esculentum*, en créant le genre *Lycopersicon*. La taxonomie actuelle a replacé la tomate dans le genre *Solanum*, section *Lycopersicon* et son nom est désormais *Solanum lycopersicum* L. (Spooner *et al.*, 1993). Le genre *Solanum* est très important dans le monde (environ 1700 espèces recensées) et comporte des plantes alimentaires comme la pomme de terre (*S. tuberosum*), et notamment la tomate. Ce genre comprend aussi des plantes ornementales comme la morelle faux jasmin (*Solanum jaminoides*). Certaines espèces de la famille des solanacées sont connues pour leur toxicité comme la morelle noire (*S. nigrum*) ou la douce-mère (*S. dulcamara*). La dernière classification taxonomique établie reconnaît 13 espèces différentes. *Solanum peruvianum* se subdivise en *S. arcanum*, *S. hualasense*, *S. peruvianum* et *S. corneliomullerie*. *Solanum chesmaniae* se subdivise en *S. galapagense* et *S. chesmaniae* (Peralta et Spooner, 2007 ; Blanca *et al.*, 2015).

Les jeunes fruits verts contiennent de la tomatine, un glycoalcoloïde potentiellement toxique. La tomate fait partie de la famille des solanacées qui comprend 94 genres et environ 2950 espèces cosmopolites. Les solanacées contiennent aussi le tabac (*Nicotiana tabacum*) et le piment (genre *Capsicum*) (Ranc, 2010). La classification scientifique de la tomate la range dans le règne des

plantes, sous-règnes des Trachéobontes, division des Magnoliophytes classe Magnoliopsides, sous-classe des Asterides, ordre des solanales, famille des solanacées, genre *Solanum* et espèce *Solanum lycopersicum* L. (Jones, 2008).

L'espèce a fait l'objet depuis longtemps d'une sélection pour des caractères souhaitables tels que la taille du fruit, la teneur en sucre et en métabolites spécialisés (lycopène) (Ilahy *et al.*, 2009; Kanayama, 2017).

### **I.1.3. Description botanique de *Solanum lycopersicum* L.**

#### **I.1.3.1. Appareil végétatif de *Solanum lycopersicum* L.**

La taille de la tomate varie de 40 cm à plus de 2 mètres selon les variétés (Fig. 1) et le mode de culture (Dumortler *et al.*, 2010), elle peut être classée selon ses caractères botaniques et morphologiques. A cet effet, on peut la classer selon son mode de croissance qui peut être du type indéterminé ou du type déterminé. Les variétés à port déterminé sont des variétés naines, leur croissance s'arrête une fois que la plante a produit un nombre déterminé de bouquets de fleurs (en général trois ou quatre). C'est dans ce type de tomate que l'on trouve, le plus souvent, les variétés industrielles de conserverie, cultivées en plein champ (Besford et Maw, 1975 ; Costa et Heuvelink, 2005). On retrouve également dans ce type de croissance, des variétés fixées et des hybrides. Les variétés indéterminées sont les plus nombreuses, elles continuent de pousser et produire les bouquets floraux, tant que les conditions sont favorables. Elles sont plus productives en général que les tomates à port déterminé (Costa et Heuvelink, 2005).

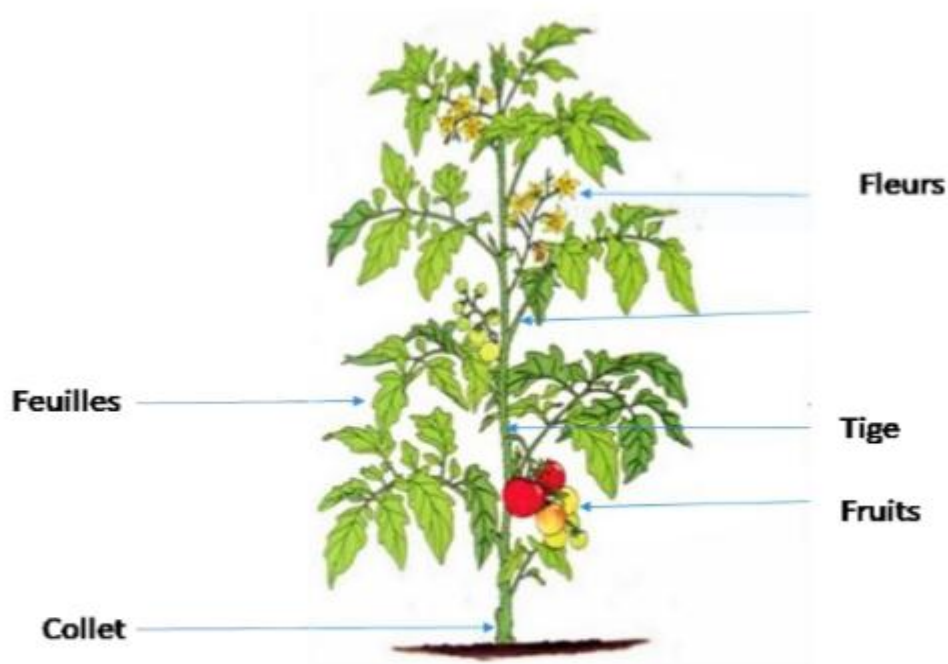


Fig. 1. Plante de tomate (Hodgson, 2020)

#### **I.1.3.1.1. Racines**

La tomate a un système racinaire puissant, très ramifié à tendance fasciculée (Chaux et Foury, 1994 ; Polosse, 2007). Sa racine est de type pivotant important qui pousse à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une grande densité de racines latérales et adventices.

#### **I.1.3.1. 2. Tiges**

Elles sont vertes, épaisses aux entre-nœuds. Elles disposent de deux types de poils blanchâtres : des poils simples et des poils glanduleux servant à la production de l'huile essentielle responsable l'odeur et la coloration verte de la tomate (Kolev, 1976 ; Elise *et al.*, 1989). Elles portent les feuilles, les fleurs et les fruits. Une tige peut porter de nombreuses ramifications (appelées axillaires) et a une croissance déterminée ou indéterminée selon les variétés.

#### **I.1.3.1. 3. Feuilles**

Les feuilles sont composées de 5 à 7 folioles principales. Elles ont une disposition alternée sur la tige (Abbayes *et al.* 1963), long de 10 à 25 cm et d'un certain nombre de petites folioles intercalaires ovales, un peu dentés sur les bords (fig.2). Elles sont souvent repliées en forme de cuillères ou même roulés en dessus (Raemaekers, 2001).



Fig. 2 .Feuille de tomate (Naika *et al.*, 2005).

#### **I.1.3.2. Appareil reproductif de *Solanum lycopersicum* L.**

##### **I.1.3.2.1. Fleurs**

Les fleurs de tomates sont les organes bisexués. Elles sont hermaphrodites et autofécondes et regroupées sur le même pédoncule en bouquets lâche en inflorescence formant des grappes plus ou moins bifurquées de 3 à 8 fleurs chez les variétés fixées et au-delà chez les hybrides.

Le tube du calice est court et velu, comporte 5 sépales, il est persistant après la fécondation et subsiste au sommet du fruit. L'androcée comporte 5 étamines latérales, les anthères allongées forment un cône resserré autour du pistil ; celui-ci est constitué de deux carpelles soudés formant un ovaire super biloculaire à 2 loges et à placenta central (fig.3) (Dore et Varoquaux, 2006).

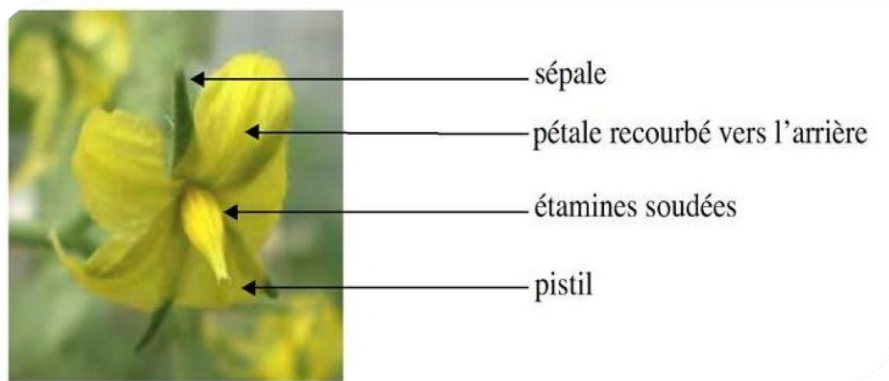


Fig. 3. Fleur de tomate à l'anthèse (Chaïb, 2007)

### I.1.3.2.2. Fruits

Le fruit est une baie plus ou moins grosse, avec l'épiderme lisse et brillant de forme variable (sphérique, oblongue, allongée), et de couleurs variées (blanche, rose, rouge, jaune, orange, verte noire) selon les variétés (Renaud, 2006 ; Dumortier *et al.*, 2010).

La paroi de l'ovaire évolue en péricarpe charnu et délimité des loges (Fig.4). Le placenta constitue la partie centrale du fruit et est à l'origine du tissu parenchymateux. Le nombre de loges, l'épaisseur du péricarpe et l'importance du gel sont dépendant des variétés (Grasselly *et al.* 2000). Les graines sont nombreuses et réparties dans les loges remplies de gel, forme de reins ou de poire, poilues, beiges, de 3 à 5 mm de long et de 2 à 4 mm de large. Elles sont recouvertes d'un mucilage, l'embryon enroulé dans l'albumen (Naïka, 2005).

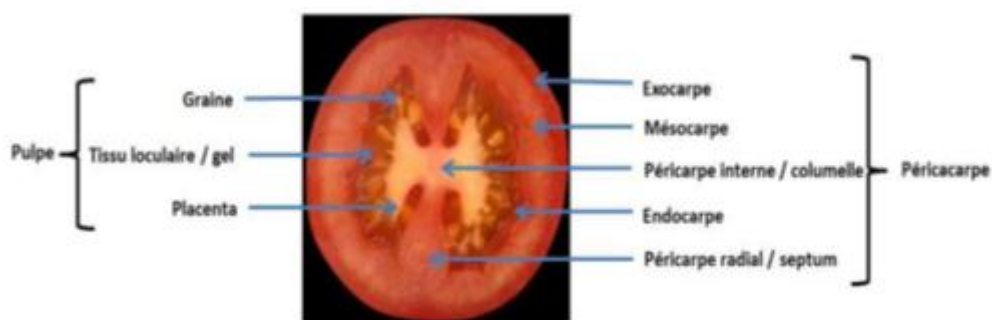


Fig. 4. Structure du fruit de la tomate à partir d'une coupe longitudinale (Alexandre, 2018).

### I.1.4. Biologie de la tomate

La tomate est une espèce diploïde. Le cycle de la graine à la graine est variable selon les variétés et les conditions de culture, il est en moyenne de 3 à 4 mois (7 à 8 semaines de la graine à la fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit) (Polese, 2007 ; Jones, 2008). La tomate est généralement autogame mais les allo fécondations sont possibles (Ranc, 2010). Lorsque les semences sont mises en pépinière, la germination a lieu après 3 à 4 jours et elle est épigée. Les

plantules sont repiquées au bout de 25 à 45 jours après la mise pépinière lorsqu'elles ont à peu près 15 cm de hauteur, 5 à 6 feuilles et une tige d'environ 5 mm de diamètre. La floraison débute 50 à 65 jours après la mise en pépinière, les plantules sont sensibles à la température de l'air qui joue un rôle non seulement au moment de la formation des fleurs, mais également au moment de la pollinisation et de la fécondation. La première récolte intervient 60 à 80 jours après repiquage et se fait lorsque les fruits sont rouges (pour la transformation), orange à rouge pour la consommation immédiate ou vert jaunâtre pour la consommation différée (De Lannoy, 2001).

### **I.1.5. Exigences pédoclimatiques**

#### **I.1.5.1. Exigence climatique**

La température optimale de la tomate se situe entre 20 et 30° C, avec une croissance maximale vers 25° C. La tomate est sensible au photopériodisme et exigeante en énergie lumineuse. Un faible rayonnement lumineux réduit le nombre de fleurs par bouquet et affecte la fécondation. Combiné à des fortes températures diurnes et à des nuits tièdes (écart jour/nuit < 10° C), ce faible rayonnement conduit à l'avortement des fleurs et des fruits. Les périodes sèches et fraîches sont plus favorables à la production que la saison pluvieuse et chaude (Caburet *et al.*, 2003).

#### **I.1.5.2. Exigence édaphique**

La tomate préfère les sols riches en matières organiques, meubles et profond, à forte rétention en eau, mais bien drainés. Sa tolérance à l'acidité du sol est moyenne (6,5 à 7,5) (De Lannoy, 2001). Les sols sablo-argileux, limoneux-sableux ou limoneux semblent les plus conseillés pour exprimer au mieux le potentiel de culture (Peron, 2006).

### **I.1.6. Importance et production de *Solanum lycopersicum* L.**

#### **I.1.6.1 Production de la tomate**

La tomate (*S. Lycopersicum* L.) est la deuxième espèce la plus importante au niveau mondial en termes de consommation alimentaire, juste derrière la pomme de terre (FAOSTAT, 2019). Sa production est majoritairement localisée en Asie (61 %), tandis que l'Europe, l'Amérique et l'Afrique représentent respectivement 14 %, 13 % et 12 % de la production mondiale (Marwa, 2021). Avec une superficie d'environ 3 millions d'hectares, sa culture occupe près du tiers des surfaces mondiales consacrées aux légumes. A l'échelle mondiale, la production annuelle de la tomate, en tant que fruit frais en 2021, représente 189 133 955,04t sur une superficie de 5 167 388 hectares avec un rendement de 36,60 t/hectare (FAOSTAT, 2022). La Chine est le premier producteur mondial de tomates avec 67 538,34 millions de tonnes. L'extension des terres que la Chine a consacrées en 2021 à la production de tomates était de 1 140 716 hectares, avec un

rendement au mètre carré de 5,92 kilos. En 2<sup>ème</sup> position, l'Inde a produit 21 181 millions de tonnes de tomates pour la même période, sur une superficie de 845 000 hectares et un rendement de 2,51 kilos au mètre carré. La Turquie se classe au 3<sup>ème</sup> rang avec un volume de 13 095,26 millions de tonnes sur une superficie de 165 204 hectares et un rendement de 7,93 kilos/m<sup>2</sup> (FAOSTAT, 2022). En 4<sup>ème</sup> position, les États-Unis a produit 10 475,26 millions de tonnes de tomates en 2021 sur 109 226 hectares et un rendement de 9,59 kg/m<sup>2</sup>. Ce pays est suivi par l'Égypte, avec une production de 6 245,79 millions de tonnes de tomates, cultivées sur une superficie de 150 109 hectares et qui ont donné un rendement moyen de 4,16 kilos par mètre carré. Enfin, l'Espagne occupe le 6<sup>ème</sup> rang mondial dans la production de tomates, avec un volume total de 4 754,38 millions de tonnes, cultivées sur 56 110 hectares, obtenant un rendement moyen de 8,47 kilos par mètre carré (FAOSTAT, 2022).

En Afrique, la production est de 21 383 399,69T sur une superficie 1 556 541 hectares avec un rendement de 13,73 T/hectare, l'Égypte étant le premier producteur. (FAOSTAT, 2022).

Au Cameroun, la production de la tomate en tonnes en 2011 était de 853060t pour une superficie de 67550 hectares (FAOSTAT, 2020). Elle a augmenté à : 106 8495t en 2018 sur une superficie de 6 977 ha puis à 1 090 212,34t sur une superficie de 86 553 hectares en 2021 (FAOSTAT, 2022).

### **I.1.6.2.Importance nutritionnelle et sanitaire de la tomate**

Chez certaines tribus en Nouvelle-Guinée, on utilise les feuilles fraîches comme un antibiotique pour guérir les plaies infectées. Dans les fruits, on trouve des traces d'éléments antitoxiques tels le chlorure qui permettent de mieux filtrer les déchets de l'organisme et le sulfure qui protège le foie contre certains engorgements (Agarwal et Rao, 2000). La tomate diminue l'hypertension, car étant riche en potassium, des études cliniques ont démontré qu'elle agit positivement sur les reins dans plusieurs cas : un bon fonctionnement rénal permet de diminuer l'hypertension (Naika *et al.*, 2005)

La tomate est riche en vitamine A, C et E et contient une grande quantité d'eau, de calcium et niacine (Olaniyi *et al.*, 2010 ; Morard, 2013). Elle est également riche en minéraux, en acides aminés, en sucres ainsi qu'en fibres alimentaires. La consommation des fruits de tomate contribue à un régime riche et équilibré. Riche en lycopène, sa consommation régulière peut réduire les risques de cancer, de maladies cardiovasculaires et d'ostéoporose (Bhowmik *et al.*, 2012, Viuda-Martos *et al.*, 2014). En plus des caroténoïdes, la tomate contient plus de 500 formes de flavonoïdes ayant des propriétés thérapeutiques (Bovy *et al.*, 2007; Quinet *et al.*, 2019). Ses fruits se consomment fraîches en salade, cuites dans les sauces, dans les soupes ou dans les plats de viande ou de poisson

(Naika *et al.*, 2005 ; Krauss *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2018). Elle contribue également à la prévention des maladies de dégénérescence liées à l'âge (Tsala *et al.*, 2022).

## **I.2. Flétrissement bactérien**

### **I.2.1. Importance socio-économique de la maladie et répartition géographique**

Le flétrissement bactérien est une phyto bactériose d'origine tellurique causée par *Ralstonia solanacearum*, bactérie gram négatif en forme de bâtonnet mesurant de 0,5 à 0,7 × 1,5 à 2,0 µm (Buddhenagen et Kelman, 1964 ; Yabuuchi *et al.*, 1992 ; Johnson, 2003). Cette maladie est l'une des phyto bactérioses les plus répandues et des plus dévastatrices dans le monde, elle figure en deuxième place sur la liste des maladies phytopathologiques d'importance économique et scientifique (Mansfield *et al.*, 2012 ; Nion et Toyota, 2015), et est responsable des pertes massives dans plusieurs cultures commercialement importantes (tomate, piment, aubergine, pomme de terre et légumineuses) (Elsayed *et al.*, 2020). Elle opère sous une gamme variée de climats comprenant aussi bien les climats tempéré, méditerranéen, subtropical que tropical où elle est capable d'infecter près de 450 espèces de plantes chez 54 familles botaniques ; aussi bien chez les monocotylédones que les dicotylédones (Hayward, 1991). Sur la tomate, elle peut occasionner des pertes allant jusqu'à 90, 62 % en champ (Artal *et al.*, 2013, Mingming *et al.*, 2020).

De par sa large gamme d'hôtes et les pertes économiques qu'elle provoque (plus d'1M\$ par an rien que pour les cultures de pomme de terre) (Elphinstone, 2005), *R. solanacearum* a été inscrite sur la liste A2 des agents pathogènes de quarantaine de l'Organisation Européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes (OEPP) et de l'Union Européenne (UE) depuis 1975, et classée comme un agent du bioterrorisme aux États-Unis (Madden, 2003). Cette bactérie est présente sur les 5 continents (Fig. 5) d'après les synthèses de l'OEPP et de la CABI « Centre for Agricultural Bioscience International », essentiellement en zone tropicale et subtropicale (Asie, Afrique et Océan Indien, Amérique centrale et du sud). *R. solanacearum* a été identifié en Asie, principalement en Chine (Xu *et al.*, 2009, She *et al.*, 2013), en Inde (Chandrashekara *et al.*, 2012 ; Ramesh *et al.*, 2014), en Malaisie (Zulperi et Sijam, 2014 ; Zulperi *et al.*, 2014) ainsi qu'à Taïwan (Wu *et al.*, 2013 ; Guinard, 2015). En Afrique, le flétrissement bactérien est répandu dans un certain nombre de pays dont le Burundi, l'Afrique du Sud, l'Égypte, la Libye, le Nigéria, la Zambie et le Cameroun (CABI, 2017).



Fig. 5. Répartition mondiale de *R. Solanacearum* sur les 5 continents (source: www.cabi.org).

Au Cameroun, sur les 5 zones agro écologiques que compte le pays, cette maladie est signalée dans 4 à savoir les hautes savanes guinéennes, les hauts plateaux de l'ouest, et les deux zones forestières à pluviométrie respectivement monomodale et bimodale. En plus cette phyto bactériose est citée comme étant la principale contrainte à la production de la tomate dans les départements de la Lékié (Obala, Okola) et du Mbam (Bafia) en zone forestière humide à pluviométrie bimodale (encore appelée zone V), dans les hauts plateaux de l'Ouest Cameroun (Foumbot, Dschang, Bamougoum, Baham, Mbouda) (Mahbou, 2009).

### I.2.2 Taxonomie de *R. solanacearum*

La bactérie *R. solanacearum* avait été décrite pour la première fois par Smith E.F en 1896 et fut appelée *Bacillus solanacearum*. En 1914, Smith suite au système de classification taxonomique des bactéries proposé par Migula reclassa cette bactérie dans le taxon des pseudomonacées en tant que *Pseudomonas solanacearum* (Smith, 1914). Par la suite, les caractéristiques phénotypiques, l'analyse des acides gras et autres lipides cellulaires, l'analyse phylogénique des séquences nucléotidiques de l'ARN ribosomique 16S et l'homologie ADN-ARN ont permis de placer cette bactérie dans le genre Burkholderia (Yabuuchi *et al.*, 1992) et enfin, toujours sur la base des mêmes critères dans le genre Ralstonia. Cette bactérie est donc connue aujourd'hui sous le nom de *Ralstonia solanacearum* (Yabuuchi *et al.*, 1996).

### I.2.3 Symptomatologie

Le flétrissement soudain et irréversible de l'appareil végétatif aérien est le symptôme le plus caractéristique de la maladie chez la plupart des plantes hôtes de *R. solanacearum* (Buddenhagen et Kelman, 1964). Cependant, la vitesse d'apparition et l'intensité de la maladie dépendent de l'hôte (espèce, cultivar, stade physiologique), de la nature de la souche et de la quantité de l'inoculum et surtout des interactions avec l'environnement (température, humidité, type de sol, présence des

nématodes, etc.). Chez la tomate, la manifestation la plus classique est l'épinastie foliaire, suivi du flétrissement irréversible de la plante pendant les périodes chaudes de la journée comme si le flétrissement était dû à un manque d'eau (Fig. 6a), les feuilles flétries attachées à la tige conservent leur couleur verte. Sur la tige, on observe de bourrelets et de racines adventives, résultant de l'accumulation d'acide indole acétique dans les cellules végétales (Buddenhagen et Kelman, 1964). Une section de la tige placée dans un verre d'eau présentera un filament laiteux, formé d'exsudats blanchâtres de colonies bactériennes provenant des vaisseaux du xylème (fig. 6b) (Digat et Caffier, 1996).



Fig. 6. Symptôme de flétrissement bactérien sur tomate. A : épinastie foliaire suivi d'un flétrissement irréversible de la plante ; B : exsudat formé de colonies bactériennes (Mahbou, 2010).

#### I.2.4. Cycle infectueux

Lorsque la bactérie *R. solanacearum* se développe, elle infecte la plante hôte soit sous une forme d'infection latente, infectant la plante hôte sans provoquer de symptômes (Prior *et al.*, 1990 ; Swanson *et al.*, 2005), soit sous une forme infectieuse provoquant des symptômes (Denny, 2006). L'infection à *R. solanacearum*, bactérie tellurique, se fait naturellement par le système racinaire. Les exsudats racinaires des plantes hôtes diffusant au niveau des bactéries et agissant comme stimuli provoqueraient un chimiotactisme entre ces derniers et les racines (Digat et Caffier, 1996). La bactérie mobile progresse jusqu'à la surface des extrémités racinaires, puis pénètre l'hôte par les racines (Fig.7.2) soit en profitant des blessures causées par les nématodes tels que *Meloidogyne Spp.* et insectes ravageurs ou bien provoqué par l'Homme via les outils agricoles et le repiquage des plantes, soit en profitant d'ouvertures naturelles comme l'émergence des racines secondaires, les lenticelles ou la zone d'élongation au niveau de l'apex des racines (Vasse *et al.*, 1995 ; Karim et Hossain, 2018). Ensuite, elle colonise le cortex racinaire en passant par les espaces intercellulaires du parenchyme racinaire, produisant des exopolysaccharides pour pouvoir pénétrer dans les tissus du xylème (Fig.7.3). Les bactéries progressent alors jusque dans la tige des plantes où elles se multiplient au travers de l'endoderme jusqu'au cylindre central et produisent de longs monosaccharides N-acétylés polymères, des exopolysaccharides (EPS) (Vasse *et al.*, 2005 ; Meng, 2013) qui empêchent la circulation d'eau dans la plante et provoquent donc le flétrissement

bactérien. La bactérie sécrète également des enzymes dégradant la paroi cellulaire telles que l'endoglucanase, les pectines méthylestérases, les exopolygalacturonases, les endopolygalacturonases, les exoglucanases qui sont toutes associées aux souches virulentes (Denny, 2006). C'est à ce stade de l'infection, lorsque la bactérie a envahi les vaisseaux de la plante, que commencent à apparaître les symptômes (Fig. 7.4), d'abord sur les feuilles jeunes, puis sur toute la plante, qui finit par en mourir (Fig.7.5). La bactérie retourne alors au sol (Fig.7.5) où elle peut survivre plusieurs années en fonction du taux d'humidité du sol et vraisemblablement de sa capacité à dégrader les débris de plantes contaminées et de métaboliser les dérivés aromatiques de la lignine (férulate, acide vanillique, hydroxybenzoates de propyle et protocatechuates) (Genin et Boucher, 2004 ; Genin, 2010). *R. solanacearum* est donc hémibiotrophe car elle réalise d'abord une phase de biotrophie pendant laquelle elle se nourrit des cellules végétales, et réalise ensuite une phase nécrotrophe (Collmer *et al.*, 2009).



Fig. 7. Cycle infectueux de *R. solanacearum* (Genin, 2010)

## I.2.5. Caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques de *R. solanacearum*

### I.2.5.1 Caractéristiques morphologiques et physiologiques

*Ralstonia solanacearum* est une bactérie en forme de bacille ou bâtonnet mesurant de 0,5 à 0,7 × 1,5 à 2,0 µm, asporulante, et possédant un ou plusieurs flagelles polaires la rendant de ce fait mobile.

Sur un milieu semi-sélectif Kelman enrichi au Chlorure de Triphénil Triphéniltétrazolium (TTC) (Kelman 1954), les colonies de *R. solanacearum* sont visibles et reconnaissables, et présentent un phénotype soit muqueux ou rugueux (Fig. 8). Les colonies dites « rugueuses » sont rondes, sèches et colorées d'un rouge vif en leur centre (Kelman, 1954) (Fig. 8A). Les colonies dites « muqueuses » sont ovoïdes, de couleur crème opaque en raison de son abondante sécrétion d'EPS, de forme irrégulière, de couleur blanchâtre évoluant à rosée au centre après 48h à 28°C, voire rouge, décentrée (pigmentation due à la dégradation du tétrazolium en formazan) (Fig. 8B). Le phénotype muqueux conserve sa virulence tandis que le variant rugueux est avirulent. Le passage d'un phénotype muqueux à un phénotype rugueux (et vice-versa), est un phénomène spontané et réversible appelé « variation de phase » due à des mutations dans le locus *phcA* (Poussier *et al.*, 2003). Cette variation de phase peut être induite par les exsudats racinaires de la plante (Poussier *et al.*, 2003).

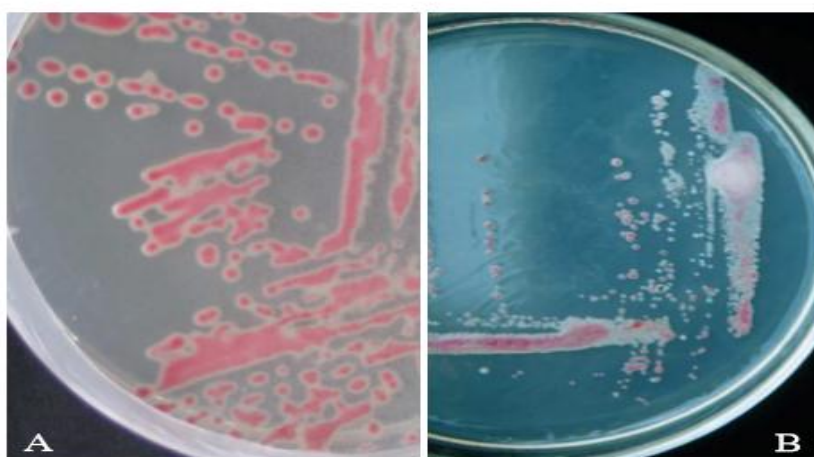


Fig. 8. Aspect caractéristique d'une souche de *R. solanacearum* sur milieu Kelman modifié. A : souche avirulente ; B : souche virulente (Mahbou, 2009).

### I.2.5.2 Caractéristiques biochimiques

*Ralstonia solanacearum* est une bactérie Gram négatif, aérobie strict, elle possède toujours une oxydase et ne synthétise pas de pigments fluorescents.

Tableau I. Caractéristiques biochimiques différentielles utilisés pour identifier des souches bactériennes appartenant à l'espèce *R. Solanacearum* (Klement *et al.*, 1990 ; Tans-Kersten *et al.*, 2001).

Tests	Résultats attendus
Coloration de gram	gram <sup>-</sup>
Inclusions de poly-β-hydroxybutyrate	+
Test d'oxydation/fermentation (O/F)	O+/F-
Activité de la catalase	+
Test de l'oxydase de Kovac	+

Réduction du nitrate	+
Utilisation du citrate	+
Croissance à 40 °C	-
Croissance dans du Cl à 1 %	+
Croissance dans du Cl à 2 %	-
Activité de la dihydrolase d'arginine	-
Liquéfaction de la gélatine	-
Hydrolyse de l'amidon	-
Hydrolyse de l'esculine	-
Production de levane	-
Production de pigments fluorescents	-

(+) : réaction positive ; (-) : réaction négative.

La plupart des souches oxydent généralement le glucose et accumulent des réserves énergétiques sous forme de granules lipidiques (poly- $\beta$ -hydroxybutyrate) (Girard *et al.*, 1967 ; Hayward, 1990). Les principaux critères biochimiques utilisés pour identifier l'espèce *R. solanacearum* sont présentés dans le tableau I.

## **I.2.6. Epidémiologie : conservation et dissémination**

### **I.2.6.1 Conservation**

Le type de sol, la température, l'humidité et l'eau influencent la survie de *R. solanacearum* :

- la nature du sol peut influencer la conservation de la bactérie dans le sol. Certains sols, en fonction de leurs caractéristiques sont propices au flétrissement bactérien (conducteur) tandis que d'autres sont supprimeurs (Hayward, 1991). De façon générale, les oxysols (sols ferrallitiques à argiles de type halloysite ou kaolinite) sont propices au développement de la maladie alors que les vertisols (à montmorillonites) ont un effet supprimeurs (Prior *et al.*, 1993). Dans le mélange sol-sable à 28° C, pression 2 bars, aucune souche utilisée par Granada et Sequeira (1983) n'a survécu plus de 24 semaines. Les bactéries peuvent survivre 5 semaines au plus dans un sol contenant des plantes non hôtes tels que le maïs ou le haricot. *R. solanacearum* ne pourrait survivre dans un sol pendant une période prolongée dû au fait qu'il n'est pas un compétiteur suffisamment efficace par rapport à la microflore du sol (Sequeira *et al.*, 1983). La bactérie ne survivrait pas dans un sol par elle-même mais en infectant continuellement les racines des plantes hôtes ou en colonisant la rhizosphère de plantes non hôtes (Granada et Sequeira, 1983) ;

-un sol humide et bien drainé favorise plus la survie de *R. solanacearum* qu'un sol inondé (Buddenhagen et Kelman, 1964). Les taux d'humidité les plus favorables à la reproduction et la persistance du pathogène sont rangés entre -0,5 et -1 bar, alors que ceux entre -5 à -15 bar sont défavorables (Nesmith et Jenkins, 1985) ;

-la température affecte la survie mais également l'interaction hôte pathogène (Vanoverberk et al., 2004). Kelman (1954) a ainsi démontré qu'entre 0 et 10° C, la maladie ne se manifeste pas malgré la présence de la bactérie dans le sol. En effet, des conditions climatiques légèrement défavorables, telles que les basses températures ont une influence sur l'expression des symptômes (Nyangeri et al., 1984). L'optimum de température pour la manifestation de cette maladie se situant entre 30 et 35° C sauf pour les souches dites « froide » de phylotype II (IIB sequevar 1, historiquement race 3, biovar 2) pour lesquelles il est voisin de 23° C (Buddenhagen et Kelman, 1964). A 43°C, *R. solanacearum* est incapable de survivre dans le sol (Seneviratne, 1988) ;

-l'eau est un bon moyen de conservation et *R. Solanacearum* est capable d'y survivre. Sa durée de survie planctonique est variable en fonction de la qualité de l'eau et de la température selon la souche concernée. En conditions expérimentales, il a été démontré que *R. solanacearum* était toujours capable de provoquer le flétrissement bactérien après 132 jours d'incubation de la bactérie dans de l'eau ultrapure (van Overbeek et al., 2004). Une eau purifiée (eau osmosée ou eau des villes) favorise la survie de la bactérie plusieurs mois contre 02 semaines au plus dans une eau d'irrigation (Poussier, 2000).

Un aspect encore largement méconnu chez *R. solanacearum* est sa capacité à survivre dans un état viable mais non cultivable, VBNC (Viable but nonculturable cells) sous certaines conditions de stress comme une exposition au cuivre (CuSo4) dans une solution saline, dans un sol autoclavé (Grey and Steck, 2001), incubation à faible température dans le sol (Caruso et al., 2004). Il pourrait être considéré comme un mécanisme de dormance et de survie pour certaines bactéries (Lebeau, 2012).

### **I.2.6.2. Dissémination**

Plusieurs voies servent à la transmission du flétrissement bactérien. Parmi les nombreuses voies de dissémination de *R. solanacearum*, l'homme joue un rôle prépondérant dans sa propagation à l'échelle à la fois mondiale et locale. En effet, il est responsable d'épidémies déclenchées par l'utilisation d'outils contaminés lors d'interventions culturales ou par l'utilisation de matériel végétal abritant des populations de *R. solanacearum* (Hayward, 1991 ; Hayward, 1994). Son transport de matériel végétal porteur d'infection latente (tubercules de pommes de terre, pieds de bananes, rhizomes de gingembre, boutures, etc.) est la principale cause de dissémination de la bactérie d'un pays à l'autre, d'un continent à un autre (Granada et Sequeira, 1983). L'homme intervient également dans la propagation de la maladie lors des interventions culturales telles que la

taille et la récolte (Hsu *et al.*, 1993). Par ailleurs la transmission se fait par les semences vraies dont celles de l'arachide et de la tomate (Hayward, 1991). On peut également citer la transmission mécanique par blessure de racines lors de pratiques culturales, par les blessures dues au nématodes sur divers hôtes (Kelman, 1953 ; Deberdt *et al.*, 1999) ou encore via les zones d'émergence de racines secondaires. La dissémination de cette maladie peut également se faire de plante à plante. En effet, une plante flétrie génère dans le sol une grande quantité d'inoculum qui peut contaminer les plantes environnantes, contamination que l'on qualifie de « proche en proche » (Kelman et Sequeira, 1965).

## **I.2.7. Classification de *R. solanacearum***

### **I.2.7.1 Classification par races**

La classification par races divise les souches de *R. solanacearum* en cinq races en fonction du spectre d'hôtes des souches (Buddenhagen et Elsasser, 1962 ; Seal *et al.*, 1992 ; Alvarez, 2005):

- les souches de la race 1 affectent les Solanacées (tabac, tomate, piment, poivron, aubergine), les bananiers diploïdes ornementaux, les Composées, les Légumineuses, les Euphorbiacées, les Casuarinacées et les Rubiacées. Cette race est la plus répandue en milieu tropical et présente la plus large gamme d'hôtes. Elle présente un optimum de croissance à température élevée (35-37° C) et se maintient bien dans le sol et dans la rhizosphère de nombreuses plantes ne présentant pas de symptômes, y compris les mauvaises herbes (Hayward, 1991 ; Leroux, 1996) ;

- les souches de la race 2 affectent les Musacées (Bananiers triploïdes et certains diploïdes) et autres *Héliconia spp.*. Certaines souches de cette classe sont responsables de la fameuse maladie « Moko » en Amérique centrale et dans les Caraïbes. Elles sont transmises par un insecte. Leur aire géographique comprend l'Amérique centrale et l'Indonésie et présente également une température optimale de croissance élevée (35-37° C) ;

- la race 3 est pathogène de la pomme de terre et la tomate en conditions tempérées. Encore appelée « race froide » par opposition aux « races tropicales », elle est sans grande virulence sur les autres cultures des Solanacées et présente un optimum de croissance à une température plus faible (27° C), en zones de hautes altitudes à climat froid ;

- la race 4 rassemble les souches hôtes du gingembre et autres Zingibéracées ;

- la race 5 regroupe les souches inféodées au mûrier.

### **I.2.7.2 Classification en biovars**

La classification de *R. solanacearum* en biovars définie par Haward (1964) est basée sur la capacité des souches à utiliser trois dissaccharides (cellobiose, lactose, maltose) et trois hexoses alcools (mannitol, dulcitol, sorbitol) (tableau II). Les souches ont ainsi été subdivisées en 4

biotypes. Par la suite, deux autres biovars ont été mis en évidence : le biovar 5 (He *et al.*, 1983) et le biovar N2 ou 2T, isolé de la pomme de terre qui possède une activité métabolique différente du biovar 2 de par sa capacité à hydrolyser un quatrième dissaccharide, le D-thréalose (Haward *et al.*, 1992).

Tableau II. Caractéristiques différentielles des biovars de *R. solanacearum*

	Biovar 1	Biovar 2	Biovar 3	Biovar 4	Biovar 5
Cellobiose	-	+	+	-	+
Lactose	-	+	+	-	+
Maltose	-	+	+	-	+
Mannitol	-	-	+	+	+
Dulcitol	-	-	+	+	-
Sorbitol	-	-	+	+	-

(+) : réaction positive ; (-) : réaction négative.

Il n'existe pas de corrélation stricte entre les races et biovars, excepté pour la race 3 correspondant au biovar 2 ; la race 5 au biovar 5, tous deux inféodés au Mûrier en Chine (Hayward, 1983).

Au Cameroun, la race 3/ biovar 2 qui correspond au phylotype II a été déterminé dans les hauts plateaux de l'Ouest par l'évaluation de la diversité génétique et la phylogénie des souches échantillonnées par réaction en chaîne multiplex-polymérase et le test PCR spécifique de race 3/biovar 2. Mais les souches du phylotype II représentaient 35 % de la collection et parmi elles, 5 % ont été identifiées comme race 3/ biovar 2 (Mahbou *et al.*, 2009).

### I.2.7.3 Classification par phylotypes

La phylogénie est basée sur la comparaison des distances génétiques dans une population. L'étude phylogénétique permet ainsi d'établir des relations de filiation. Son intérêt est de comprendre le passé évolutif afin de prédire le futur. La construction d'un arbre phylogénétique est basée sur l'étude du niveau de similarité/dissimilarité entre les séquences nucléotidiques de ses individus. Fegan et Prior (2005) ont proposé un système de classification hiérarchique en phylotypes aujourd'hui largement acceptée par la communauté scientifique. Ils ont défini un phylotype comme étant un groupe monophylétique révélé lors d'analyse de séquences de la région ITS, du gène *hrpB*, du gène *egl* et du gène *mutS*. Une PCR multiplexe (« Phylotype-multiplexPCR » ou Pmx-PCR) a ainsi été développée pour permettre l'identification rapide des souches suspectées comme appartenant à *R. solanacearum* (Fegan et Prior, 2005). Le phylotype des souches est déterminé à l'aide d'amorces ciblant la région génomique de l'ITS (Internal Transcript Spacer). Chaque phylotype génère un fragment de taille spécifique. Ainsi, quatre phylotypes distincts ont

ainsi été identifiés (fig. 9), correspondant à des souches d'origines géographiques différentes (Yabuuchi *et al.*, 1995 ; Remenant *et al.*, 2010 ; Lower-power *et al.*, 2018) :

-Phylotype I nommé *Asiaticum* regroupant les souches des biovars 3, 4 et 5 originaires d'Asie et d'Australie ;

-Phylotype II nommé *Americanum* regroupant les souches des biovars 1, 2 et 2T originaires du nouveau monde, des Amériques. Le phylotype II est subdivisé en deux groupes dont les dynamiques évolutives sont assez différentes : phylotype IIA, comprenant des souches spécialisées sur bananier (souches dites <<moko>>, sequevar 3) et sur pomme de terre (souches dites <<brown rot>>, sequevar 1) ;

-Phylotype III nommé *Africanum* constitué des souches de biovars 1 et 2T originaires du sud de l'Afrique ;

Phylotype IV regroupant les souches de biovars 2T, de *R. solanacearum* de BDB (<<Blood Disease Bacterium>>) responsable de la maladie du sang sur bananier (*Musa sp.*) et de *R. syzygii* responsable de sumatra sur giroflier (Taghavi *et al.*, 1996 ; Vaneechoutte *et al.*, 2004).

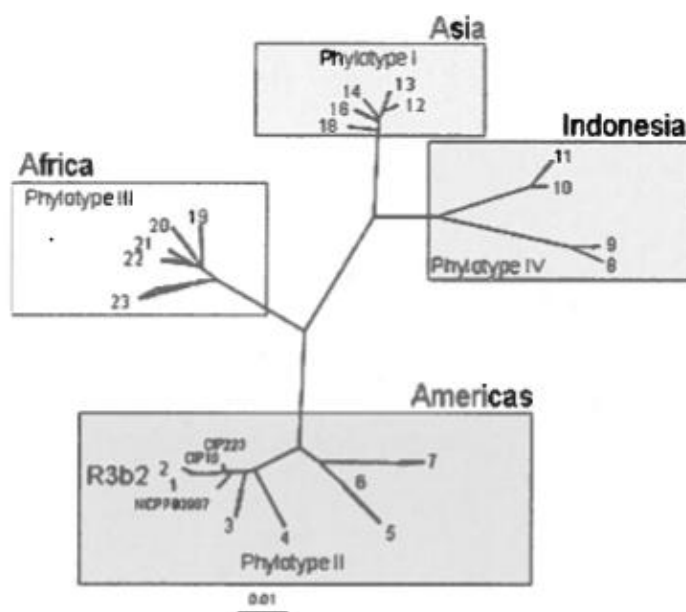


Fig. 9. Classification de *R. solanacearum* en phylotypes (Fegan et Prior, 2005)

Chacun des phylotypes, sur la base des méthodes moléculaires (RADP, AFLP...) est subdivisé en séquévares. Les souches regroupées en un même séquévar possèdent moins de 1 % de variation sur la séquence nucléotidique de l'endoglucanase egl. (Remenant *et al.*, 2011 ; Safni *et al.*, 2014). IL n'existe pas de correspondance entre race-biovar et phylotype. Les souches originaires d'Afrique et d'Indonésie restent à explorer.

Certaines souches ont déjà été décrites au Cameroun : CMR 134 (phylotype I-13), CMR 34 (IIB-1), CMR 39 (IIA-41), CMR15 (III-29), CMR 32 (III-29) (Mahbou, 2009 ; Remenant *et al*, 2010).

### **I.2.8. Déterminants du pouvoir pathogène de *R. solanacearum***

Le pouvoir pathogène est défini par un ensemble des gènes, ainsi que leurs régulations, nécessaires à la colonisation, la survie, la multiplication et le développement de la maladie chez l'hôte. Deux concepts permettent d'appréhender le pouvoir pathogène d'une bactérie. D'une part la virulence, définie comme la capacité d'une souche de bactérie à interagir de façon compatible avec un génotype hôte conduisant à la maladie ; d'autre part l'agressivité qui est l'intensité des symptômes induits par une bactérie lors d'une réaction compatible avec l'hôte. L'agressivité peut être mesurée à travers l'AUDPC (Area Under Disease Progress Curve), elle-même déduite de la cinétique de flétrissement. Certains facteurs sont impliqués dans le pouvoir pathogène chez les bactéries phytopathogènes :

#### **I.2.8.1. Taxie**

La taxie désigne un comportement complexe qu'utilisent les bactéries pour percevoir des substances chimiques telles des acides aminés, acides organiques, etc. ou des conditions environnementales spécifiques et se déplacer vers ces substances ou conditions attractives (Adler, 1966). La taxie bactérienne est impliquée dans les interactions avec leurs hôtes (Dharmatilake et Bauer, 1992 ; Yao et Allen, 2006). *R. solanacearum* dépend de la taxie pour localiser et coloniser les racines des plantes. Les mécanismes impliqués dans la taxie ont montré que les récepteurs de la membrane cellulaire appelés protéines du chimiotactisme accepteurs de méthyl MCPs (methyl-accepting chemotaxis proteins) détectent les stimuli environnementaux et répondent par un changement de conformation. D'autres molécules interviennent dans ce mécanisme :

- une histidine kinase cytoplasmique CheA qui est autophosphorylée suite à la conformation du MCPs avec qui il forme un complexe via une protéine dite de couplage appelée CheW ;

- un régulateur cytoplasmique CheY vers lequel la CheA transfère un groupe phosphate après formation du complexe MCPs-CheA via la protéine de couplage CheW qui altère la rotation du flagelle en interagissant avec le moteur flagellaire, ce qui entraîne un déplacement vers des conditions favorables ou un déplacement loin des conditions défavorables (Yao et Allen, 2006).

La mutation des gènes CheA, CheY ou CheW conduit à un phénotype non tactisme. L'agressivité des mutants non tactiques CheA et CheW de *R. solanacearum* est réduite sur plants de tomates après ajout de suspension dans le sol alors qu'elle n'est pas affectée dans le cas d'une inoculation dans le pétiole (Yao *et al.*, 2007).

### **I.2.8. 2. Mobilité**

*Ralstonia solanacearum* possède un ou plusieurs flagelles polaires la rendant de ce fait mobile. Cette mobilité contribue significativement au pouvoir pathogène de la bactérie au stade initial de l'infection (Tans-Kersten *et al.*, 2001). Des gènes interviennent dans la mobilité de *R. solanacearum*. Il s'agit des gènes *fliC* codant pour la flagelline, sous unité du filament flagellaire, *fliM* codant une protéine du moteur flagellaire et *flhDC* codant un régulateur majeur de la biosynthèse du flagelle et de la mobilité bactérienne. Les mutations de ces gènes entraînent une perte de mobilité de la bactérie et réduisent significativement la capacité à causer le flétrissement bactérien chez les plantes (Tans-Kersten *et al.*, 2001 ; Tans-Kersten *et al.*, 2004). Cependant *R. solanacearum* est essentiellement non mobile une fois dans les vaisseaux du xylème (Tans-Kersten *et al.*, 2001). Le fait d'injecter un mutant *fliC* directement dans le pétiole de l'hôte restaure la virulence telle qu'observé chez la souche de *R. solanacearum* non mutée, suggérant ainsi que la mobilité contribue à la virulence dans les étapes précoces du développement de la maladie.

### **I.2.8. 3. Exopolysaccharides**

Kelman avait établi la relation entre la virulence et l'aspect muqueux des colonies de *R. solanacearum* en milieu de culture (Kelman, 1954). Il est ainsi établi que les souches présentant un aspect muqueux sont plus virulentes que celles dont l'aspect est rugueux. L'aspect muqueux est dû à la production par les souches virulentes des exopolysaccharides (EPS). L'EPS est constitué d'un polymère acide, composé d'une unité trimérique répétée de Nacetyl-galactosamine, d'acide 2N-acetyl-2-desoxy-L-galacturonique et d'acide 2Nacetyl-4-(hydroxybutanoyl)-2,4,6-trideoxy-D-glucose (Orgambide *et al.*, 1991). Les EPS sont des facteurs majeurs de virulence de *R. solanacearum* (Denny et Baek, 1991). En effet, un mutant incapable de synthétiser EPS I, un polymère hétérogène de monosaccharides N-acétylés, est presque avirulent et présente une diminution importante de la colonisation du xylème par rapport à la souche sauvage (Denny et Baek, 1991 ; Orgambide *et al.*, 1991). Malgré la complexité de la diversité génétique de *R. solanacearum*, la structure des EPS est tellement bien conservée entre les souches qu'un même anticorps anti-EPS peut reconnaître tous les membres de la famille des EPS (Alvarez, 2004). Ces derniers sont produits en abondance lors des cultures cellulaires ou lorsque la bactérie se développe dans les vaisseaux du xylème de la plante hôte (Schell, 2000). Il a été démontré que les EPS provoquent directement le flétrissement par occlusion du xylème et par restriction hydrique de la plante colonisée (Genin et Boucher, 2002). Par contre, l'aspect rugueux des souches les rend moins agressives même si elles ne perdent pas leurs virulences (Denny *et al.*, 1990 ; Schell, 1996). Le passage de la phase rugueuse à la phase muqueuse s'appelle la conversion phénotypique. Ce passage est contrôlé par une mutation dans le gène *phcA* (Poussier *et al.*, 2003).

#### **I.2.8.4. Gènes hrp et phc**

Les gènes hrp (hypersensitive response and pathogenicity) sont des gènes responsables du système de sécrétion dit de type III, encore désigné SST3 (Alfano et Collmer, 2004). Ils sont impliqués dans la régulation des gènes impliqués au stade précoce de l'infection de *R. solanacearum*. Les gènes hrp sont des gènes de régulation impliqués au stade précoce de l'infection :

-hrpG régule les gènes impliqués dans l'adaptation et la survie *in planta* de la bactérie, suggérant l'implication de hrpG dans la régulation d'un panel de gènes impliqués dans la transition entre les milieux environnementaux et la plante-hôte (Valls *et al.*, 2006) ;

-hrpB régule l'expression des gènes hrp qui codent le SST3 (Schell, 2000 ; Liu *et al.*, 2001 ; Brown *et al.*, 2007).

Ces gènes sont indispensables à l'établissement de la relation bactérie-hôte (Genin *et al.*, 1992). Le Système de Sécrétion de Type 3 (SST3) est une seringue moléculaire permettant d'injecter directement un ensemble de protéines, dites effecteurs de type III (ou ET3), dans le cytoplasme des cellules-hôtes. Sans leur SST3, ces bactéries seraient incapables de se multiplier *in planta*, d'induire la maladie lors d'une interaction compatible, ou d'induire une réaction hypersensible lors d'une interaction incompatible (Alfano et Collmer, 2004).

Les gènes phc (phc pour « phenotype conversion ») sont des gènes de régulation impliqués au stade tardif de l'infection de la bactérie. En effet, le gène phcA coordonne la biosynthèse des EPS, et réprime d'autres gènes de virulence tels que les gènes hrp, ainsi que ceux liés à la motilité et à la production de polygalacturonase (Huang *et al.*, 1995 ; Liu *et al.*, 2000 ; Brown *et al.*, 2007). Un mutant de phcA ne produit donc ni EPS, ni pectine methyl-esterase (Von Bodman *et al.*, 2003). La mutation spontanée de phcA provoque une conversion phénotypique chez *R. solanacearum* d'un phénotype muqueux en rugueux (Brumbley *et al.*, 1993 ; Denny *et al.*, 1994). Cette conversion phénotypique implique la perte d'un ou de plusieurs composant(s) des EPS (Orgambide *et al.*, 1994) ainsi que la forte réduction de l'activité endoglucanase, mais provoque aussi l'augmentation de la production de polygalacturonase (Brumbley *et al.*, 1993). De plus, il a été démontré que la motilité bactérienne est réduite chez le mutant rugueux (Kelman et Hruschka, 1973 ; Brumbley *et al.*, 1993) ainsi que sa capacité à provoquer du flétrissement bactérien.

#### **I.2.9. Moyens de lutte**

Différentes méthodes de lutte sont utilisées pour réduire l'incidence ou la sévérité des épidémies à *R. solanacearum* :

##### **I.2.9.1 Lutte réglementaire**

La lutte réglementaire vise à éviter l'importation et la dissémination d'un agent phytopathogène dans une zone où il en est exempt. Pour *R. solanacearum*, la norme OEPP PM 9/3

(OEPP/EPPO, 2004) préconise différentes stratégies pour prévenir sa dissémination, telles que la détection, le confinement et l'éradication de la bactérie lorsqu'elle est détectée dans du matériel végétal ou dans une parcelle.

### **I.2.9.2 Lutte chimique**

Les pratiques d'utilisation des bactéricides chimiques se font généralement par application foliaire, par l'eau d'irrigation et le sol, selon les propriétés physico-chimiques de ces substances (Sekizawa et Wakabayashi, 1990). Mais la fumigation s'est révélée avoir peu, voire pas d'effet sur la maladie, ce qui serait certainement dû à la localisation de cette bactérie dans les couches profondes du sol ou de sa localisation *in planta*, dans le xylème, la protégeant de tout type de traitement (Wenneker *et al.*, 1999). De plus, les quelques études réalisées avec cette technique montrent que l'efficacité est dépendante de la nature des sols et donc qu'elle n'est pas universellement applicable (Saddler *et al.*, 2005). Par ailleurs la chloropicrine, le métam sodium, le formol, l'hypochlorite de calcium, le bromure de méthyle sont des produits phytopharmaceutiques qui ont fait l'objet d'utilisation à grande échelle pour le contrôle de *R. solanacearum* sur plantules. Ces produits donnent des résultats satisfaisants en culture hors sol mais en champ les résultats sont limités dans le temps. En plus, ils ont des effets néfastes sur l'environnement et coûtent cher (Aghofack, 2015). Les effets sur l'environnement du bromure de méthyle ont entraîné son interdiction, ce qui a ouvert la recherche sur des méthodes alternatives (Frank, 2003).

### **I.2.9.3 Lutte génétique**

La lutte génétique est la méthode la plus utilisée pour lutter contre *R. solanacearum*. Elle consiste à identifier des génotypes résistants à travers des tests d'évaluation des collections de ressources génétiques (Wang *et al.*, 1998 ; Carmeille *et al.*, 2006). Pour la tomate, s'il a été possible de développer des variétés ayant une résistance stable dans des conditions environnementales locales, cette stabilité est très souvent perdue dans le temps et dans l'espace (Prior *et al.*, 1994 ; Wang *et al.*, 1998). Le développement de sources de résistance universelles et durables a donc rencontré de nombreuses difficultés liées à la nature essentiellement quantitative et partielle des résistances connues, avec une forte interaction entre le génotype et l'environnement, mais aussi à la forte plasticité phénotypique et génotypique de la bactérie (Prior *et al.*, 1994 ; Jaunet et Wang, 1999). L'instabilité de cette résistance peut être expliquée par des connaissances insuffisantes des mécanismes impliqués dans les différents phénotypes de résistance (résistance totale, infections latentes) car une plante colonisée par *R. solanacearum* sans développer de symptômes peut être responsable de la multiplication et de la dispersion de la bactérie. Elle peut également être expliquée par des connaissances insuffisantes des caractéristiques génétiques des souches utilisées dans les programmes de sélection variétale et des interactions non connues entre

les facteurs génétiques impliqués dans la résistance de l'hôte et la pathogénicité de la bactérie (Lebeau *et al.*, 2011, Guinard, 2015 ; Bollier *et al.*, 2018).

#### **I.2.9.4 Lutte agronomique**

L'utilisation combinée des différentes méthodes de lutttes agronomiques permet aussi de réduire le potentiel d'inoculum et la capacité d'infection des bactéries. Il s'agit notamment de :

-mettre en pratique des mesures prophylactiques : choisir des plants sains, limiter les sources de contamination et désinfecter le matériel agricole, utiliser des plants certifiés et contrôlés au champ et en laboratoire, contrôler les hôtes alternatifs (Johnson, 1984) ;

-décaler les cultures dans le temps afin d'éviter les périodes sensibles, souvent liées à une forte chaleur et une forte humidité ;

-décontaminer les sols par solarisation. Le maintien d'une période de sécheresse du sol et de la rhizosphère de 20 jours après 26 semaines (7 à 8 mois) de culture, réduit les populations bactériennes à un niveau non infectieux (Okon, 1990) ;

-épandre de l'eau bouillante et utiliser des bâches en plastique transparent car les traitements thermiques permettent une meilleure gestion de l'humidité des sols et diminuent la population de *R. solanacearum* (Yuliar *et al.*, 2015).

-faire la rotation culturale car elle permet de réduire efficacement les sources et la quantité d'inoculum. Il est par exemple recommandé d'éviter les successions solanacées-cucurbitacées car ces deux familles sont très sensibles à *R. solanacearum* (Wicker *et al.*, 2002).

-fertiliser les sols. Le type d'engrais apporté joue également un rôle sur le développement de *R. Solanacearum*. En effet, Vincent et Schönfeld (2003) ont montré qu'un apport d'urée peut diminuer la concentration de l'agent *R. solanacearum* dans certaines conditions. Cela est dû à la synthèse de nitrite par les bactéries nitrifiantes du sol, composé toxique pour *R. solanacearum*. A l'inverse, un apport de nitrate favorise le développement de *R. solanacearum* qui est une bactérie dénitrifiante et utilise ce substrat comme source d'énergie. Djeugap *et al.* (2014) ont d'ailleurs montre une réduction considérable de l'incidence du flétrissement bactérien de la pomme de terre, en procédant à la fertilisation organominérale par amendement du sol avec le compost CGW et l'engrais minéral NPK (11-11-22) + 55 % MgO combinée à l'utilisation du fongicide Ridomil Gold plus. De même Hema (2018) a réduit en champ l'incidence du flétrissement bactérien sur la tomate par la fertilisation organominérale (fiente de volaille ou déjection de porc + NPK : 15-15-15 + urée : 46 % N) associé à la solarisation (à l'aide d'un film plastique blanc).

#### **I.2.9.5 Lutte biologique**

Cette méthode consiste à combattre un organisme nuisible par l'utilisation de mécanismes naturels appartenant soit au règne animal soit au règne végétal, ou qui en dérivent. Nous pouvons citer entre autres :

-la lutte microbiologique : des études menées dans les pays où l'épidémie fait rage (Chine, Inde, Japon, etc.) ont montré que les agents de lutte biologique connus sont à 90 % des bactéries, le 10 % restant est représenté par des champignons antagonistes (Bollier *et al.*, 2018). Les mécanismes de la lutte biologique contre *R. solanacearum* sont basés principalement sur la compétition pour l'espace (colonisation de la rhizosphère), la compétition pour les nutriments. Le parasitisme et la libération d'antibiotiques sont aussi des mécanismes utilisés (Rostand *et al.*, 2018). En effet, les bactéries endophytes (qui accomplissent leur cycle à l'intérieur d'une plante) comme *Bacillus amyloliquefaciens* Bg-C31 qui produit une protéine antimicrobienne LCI, colonisent la même niche écologique que *R. solanacearum*. Elles sont des agents de lutte très intéressants contre le flétrissement bactérien (Eljounaidi *et al.*, 2016). D'autres bactéries comme *Bacillus amyloliquefasciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* et *Streptomyces virginiae* agissent sur les sidérophores (chélateurs de fer synthétisés et sécrétés par les micro-organismes pour leur permettre de puiser le fer) ou produisent des agents antimicrobiens (Eljounaidi *et al.*, 2016 ; Kumar et Umesha, 2017a ; Elsayed *et al.*, 2020). Des études ont montré que les sidérophores joueraient un rôle clé dans la protection de l'hôte contre les infections bactériennes (Vaulont et Schalk, 2015). Mais certains agents de contrôle biologique sont exclus d'office, car ils diminuent les rendements et certains sont même toxiques (*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus spp*, *Bacillus cereus*) pour l'homme et peuvent être utilisés comme arme biologique (Essoh, 2013, cit. Bollier *et al.*, 2018). En outre, le facteur déterminant pour l'efficacité des agents de contrôle biologique est le taux de colonisation des racines. Parfois, des mutations s'opèrent au sein des colonies et les bactéries perdent leur compétitivité face à *R. solanacearum*. Certains vont même jusqu'à prétendre que les pathogènes développeront des résistances contre les organismes antagonistes de la même manière qu'avec les produits phytosanitaires de synthèse (Eljounaidi *et al.*, 2016). Il y a également un manque de méthodes d'inoculation appropriées à grande échelle (Karim et Hossain, 2018) ;

-l'utilisation des extraits de plantes : l'utilisation des traitements à base d'huile essentielle de Palmarosa (*Cymbopogon martinii*) et de thymol a donné des résultats intéressants en conditions semi-contrôlées (Pradhanang *et al.*, 2003) mais le prix de ces huiles essentielles a rendu cette stratégie économiquement non viable à l'échelle agricole (Ji *et al.*, 2005a,b). De même, les extraits aqueux d'*Allium fistulosum* ont inhibé significativement *in vitro* et *in vivo* la croissance de *R. solanacearum* (Déberdt *et al.*, 2012).

### **I.3. Autres contraintes liées à la production de la tomate**

La production de la tomate est sujette à plusieurs contraintes qui limitent considérablement son rendement. Il s'agit des contraintes abiotiques et des contraintes biotiques. Parmi les contraintes abiotiques, on peut citer celles socioéconomiques. Il s'agit notamment du faible équipement des producteurs, de la faible organisation de la filière et les difficultés de conservation

et de transformation des produits. Le manque de moyens financiers des maraîchers, l'inaccessibilité au crédit agricole et le coût élevé des intrants (engrais, produits phytosanitaires) constituent aussi quelques difficultés rencontrées (TOE, 2010; Daïrou *et al.*, 2020). A côté des contraintes socioéconomiques, il existe aussi celles liées au climat et à la qualité du sol. L'insuffisance du calcium dans le sol peut être à l'origine de la nécrose apicale encore appelée maladie du cul noir. L'insuffisance du potassium dans le sol et l'excès de l'ensoleillement peuvent souvent à l'origine de la couleur verte du collet. De façon générale, le manque d'éléments nutritifs dans le sol peut provoquer la chlorose et ralentir l'accroissement des fruits (Chaux et Foury, 1994 ; Hema, 2018).

La tomate est également sujette à de nombreuses contraintes biotiques. La tomate peut subir l'attaque d'une grande diversité de pathogènes (bactéries, virus, champignons) (Moriones *et al.*, 2017; Timilsina *et al.*, 2018) et de ravageurs (nématodes et insectes) ((Lamovšek *et al.*, 2017; Arnó *et al.*, 2019).

### **I.3.1. Chancre bactérien**

L'agent responsable du chancre bactérien est *Clavibacter michiganense*. Le chancre bactérien est une maladie de la tomate importante sur le plan économique et qui sévit dans le monde entier. Cette maladie est propagée par le biais des graines ou de la terre et les bactéries peuvent survivre sur des résidus de plantes (Kabdwal *et al.*, 2019). Les plantes sont infectées par le biais des tiges ou des racines blessées, les dommages sont importants lorsque des nématodes de nodosité des racines sont également présents. Les feuilles des plantes infectées jaunissent, flétrissent puis se dessèchent et de longues striures brunes qui peuvent se fendre apparaissent sur les tiges les racines adventives peuvent se former sur les tiges (Snoussi, 2010). Dans certaines conditions, des chancres apparaissent également sur les tiges. Dans la plante, les tissus vasculaires des tiges montrent des stries dont la couleur varie du jaune clair au brun. Finalement, la moelle se décolore et devient friable. Des taches en relief qui ressemblent à des yeux d'oiseau, caractérisées par un point rouge entouré d'un cercle blanc, apparaissent sur les fruits. Les symptômes n'apparaissent pas toujours sur les fruits, mais facilitent le diagnostic lorsqu'ils se présentent.

Quelques mesures qui permettent de lutter contre le chancre bactérien figurent sont :

l'utilisation des graines ou des plants libres de pathogènes, le trempage des graines dans de l'eau à 56° C pendant 30 minutes, ou encore dans une solution d'acide chlorhydrique à 5 % pendant 5 heures pour garantir une bonne désinfection, le ramassage et brûlage de tous les résidus de culture, la rotation des cultures avec des espèces qui ne sont pas des plantes-hôtes pour ce pathogène, en cas de forte infection (Shankara *et al.*, 2005), la pulvérisation des fongicides à base de cuivre insoluble est également efficace pour maîtriser la maladie (Doolittle *et al.*, 1961).

## **I.3.2. Maladies virales**

### **I.3.2.1 Mosaïque de la tomate (TMV)**

Le TMV est le virus responsable de la mosaïque de la tomate. Il cause de graves maladies dans la culture de la tomate. Les symptômes comprennent : les feuilles tachetées vert-jaune, des feuilles enroulées, une croissance chétive et des décolorations au niveau des fruits. Le vecteur naturel du TMV n'est pas connu, mais les graines transmettent le virus. Les mesures de répression comprennent : l'utilisation des graines exemptes de pathogènes et la destruction des plantes contaminées, l'utilisation des variétés résistantes, la production des tomates sous abri imperméable aux insectes et la lutte précoce contre les insectes vecteurs couplée à un assainissement général en champs (Nkombou, 2010).

### **I.3.2.2 Mosaïque du concombre (CMV)**

L'agent pathogène de la mosaïque du concombre le CMV est responsable du rabougrissement des pieds de tomate. Les feuilles peuvent montrer de légères marbrures vertes ou des symptômes de fil formisme plus poussés où les limbes sont considérablement réduits, les fruits sont de taille réduite et souvent difformes (Blancard, 2009). Le CMV est transmis par différentes espèces de pucerons. En général, les pucerons introduisent le virus dans une culture de tomates à partir des mauvaises herbes ou des cultures qui poussent dans les environs. Afin de prévenir des épidémies de CMV, il est important de réprimer le vecteur, cultiver des variétés résistantes. Comme le CMV connaît une gamme élaborée de plantes-hôtes, il est important d'éliminer les mauvaises herbes ainsi que les plantes ornementales qui recèlent le virus. Le fait d'arracher les pieds contaminés peut aider à limiter la propagation du virus dans le champ (Naika *et al.*, 2005).

## **I.3.3 Maladies fongiques**

### **I.3.3.1. Mildiou de la tomate**

Le mildiou de la tomate est causé par *Phytophthora infestans*. Ce pathogène peut attaquer tous les organes aériens de la plante. Il se caractérise par le développement d'abord humide, de plages, sur les folioles. Ces attaques confèrent localement aux tissus touchés une teinte vert pâle à vert brun, des proportions importantes du limbe finissent par être affectées et ne tardent pas à brunir et se nécroser (Erwin *et al.*, 2000). Ces tâches sont fréquemment entourées d'une marge de tissus livide, mal définie, sur laquelle se forme parfois, à la face inférieure du limbe un discret et fugace duvet blanc constitué par les sporangiophores et les sporocystes de *Phytophthora infestans* (Dominique *et al.*, 2009). Lorsque les conditions sont particulièrement favorables, la progression des symptômes sur folioles est fulgurante ; les feuilles, les rameaux, les plants, finissent par se nécroser et se dessécher entièrement. Sur la tige, le symptôme typique est une nécrose brun

violacée s'étendant sur 2 à 10 cm à partir du nœud. Par temps très humide, cette nécrose se couvre d'une couche poudreuse blanche ou grisâtre (Kariuki *et al.*, 2020).

Les méthodes de lutte contre le mildiou de la tomate sont variées, on utilise les variétés tolérantes, la destruction des plants lorsque plus de 25 % du feuillage ou des fruits sont attaqués afin d'éliminer le foyer d'infection, le maintien d'une bonne aération en respectant les écarts entre les plants (1mx 0,5m), la rotation des cultures, la lutte biologique par *Enterobacter aerogenes* (Naika *et al.*, 2005). Au Cameroun, l'utilisation des fongicides chimiques permet de contrôler le mildiou à des niveaux économiquement rentables où divers fongicides à base de manèbe, mancozèbe, oxyde de cuivre et métalaxyl sont utilisés par les maraîchers (Fovo *et al.*, 2016 ; (Leesutthiphonchai *et al.*, 2018 ; Ivanov *et al.*, 2021). Par ailleurs les extraits des graines du laurier jaune sont également utilisés pour contrôler le mildiou (Dida *et al.*, 2019 ; Salé *et al.*, 2021).

### **I.3.3.2. Fusariose**

L'agent responsable de la fusariose est *Fusarium oxysporum*. Les feuilles des plantes flétrissent, jaunissent et s'enroulent à leurs bords en commençant par la base de la plante et continuant vers le haut. L'on peut observer une tache brune si l'on coupe la tige ou les racines. Il est possible que la plante ne flétrisse que sur un côté alors que le reste de la plante est sain pendant longtemps ; l'on trouvera du duvet de moisissure rose sur les parties de plantes mortes (Messiaen *et al.*, 1993).

Certaines mesures qui permettent de lutter contre la Fusariose sont les suivantes : la lutte chimique par le benomyl ou le captafol (Marios et Mitchell, 1981), la lutte biologique par l'utilisation des extraits de compost (Reuveni *et al.*, 2002 ; Al-Dahmani *et al.*, 2003) et l'utilisation des microorganismes antagonistes tels que les actinomycètes (Nirina *et al.*, 2014).

### **I.3.3.3. Verticilliose**

La verticilliose (*V. albo-dahliae*, *V. atrum*) est une maladie qui est très courante dans les climats frais. Les signes d'infection sont similaires à ceux de la Fusariose, mais ils apparaissent plus lentement, les plantes flétrissent et les feuilles jaunissent et de nombreuses racines secondaires peuvent se former à la base de la plante (Ruocco *et al.*, 2010). Les résidus de cultures propagent la moisissure, surtout dans les sols très acides (à faible pH). Plusieurs méthodes sont utilisées pour lutter contre la verticilliose. Il s'agit par exemple de l'utilisation des graines saines, de la rotation des cultures avec des plantes qui ne sont pas des Solanacées, de l'application du calcium ou de la marne sur le sol (Dominique, 2009). Aussi, l'utilisation des microorganismes antagonistes tels que *Trichoderma harzianum* réduisent considérablement la verticilliose (Mouria *et al.*, 2013).

### **I.3.3.4. Oïdium**

Le mal blanc ou oïdium est causé par un champignon microscopique (*Leveillula taurica*). Cette moisissure apparaît par des taches jaunes sur les feuilles et de la poudre provenant des spores sur le

côté inférieur de ces taches (Blancard, 2009). Contrairement aux autres types de moisissures, les hyphes se trouvent entièrement à l'intérieur de la plante. La plante est infectée par le biais des stomates et de la surface des feuilles et la maladie se propage rapidement dans des conditions arides. La lutte contre ce champignon consiste à s'assurer d'une bonne aération des serres pour éviter l'excès de chaleur, à éviter le dessèchement des plants, à supprimer les feuilles basales attaquées par la maladie, à stimuler la croissance par un apport azoté. L'utilisation du Ridomil dans la lutte chimique a montré une grande efficacité (Jou, 2014).

### **I.3.4 Ravageurs**

#### **I.3.4.1 Nématodes**

Les nématodes sont des vers qui sont très petits et qui vivent dans le sol en se nourrissant sur les racines de plantes. Etant donné leur petite taille (seulement quelques mm de long), il n'est pas possible de les voir à l'oeil nu. Ils ont des organes perforateurs au niveau de la bouche qui leur permettent de sucer la sève des plantes. Ces derniers rendront la plante malade et la feront mourir (Naïka *et al.*, 2005). Une probable infestation à nématode est observable dans un champ où une partie des cultures souffre clairement d'un retard de croissance avec une couleur plus claire et des feuilles de forme anormale sans pour autant montrer des aspects de mosaïque. Pour la culture de la tomate, les nématodes des racines noueuses présentent un problème important. Ils provoquent des galles (des tumeurs cancéreuses) sur les racines des plantes. Trois types fréquents de nématodes de nodosité des racines sont connus : *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* et *M. arenaria* (Coyne *et al.*, 2010).

L'infestation et la transmission des nématodes peuvent se produire par le biais du matériel végétal contaminé, des outils, de l'eau de pluie et d'irrigation, des vents violents (qui font voler les particules de terre contaminées) et de la terre contaminée collée aux chaussures des humains ou aux pattes des animaux. Les nématodes peuvent survivre dans le sol tant que celui-ci reste humide (Dominique *et al.*, 2009). L'utilisation des pesticides chimiques (nématocides) et des produits qui stérilisent le sol (y compris les traitements à la vapeur) est efficace mais coûteuse (Grubben et Denton, 2004).

#### **I.3.4.2 Mineuse des feuilles de la tomate**

La mineuse des feuilles de la tomate est causée par un petit lépidoptère *Tuta absoluta*. C'est un ravageur spécialiste des solanacées. Ses larves se nourrissent du mésophylle des feuilles en y creusant des galeries jusqu'à destruction complète du limbe et infectent également les baies de tomates (Desneux *et al.*, 2010 ; Cocco *et al.*, 2015; Biondi *et al.*, 2018). Plusieurs techniques de lutte sont utilisées contre ce ravageur tels que, les pièges distributeurs de phéromones en association avec des sources lumineuses, les pièges à eau, les pièges collants (Caparros Megido *et al.*, 2012; Biondi *et*

al., 2018). De nombreuses espèces d'insectes sont considérées comme des ennemis naturels de *Tuta absoluta* (les anthocoridés, les géocoridés, les mirides, les nabidés et les pentatomides) et peuvent ainsi être utilisés dans la lutte biologique de ce ravageur (Desneux *et al.*, 2010 ; Zappalà *et al.*, 2013).

#### **I.4. Laurier jaune (*Thevetia peruviana*)**

##### **I.4.1. Description de la plante du laurier jaune**

De son nom scientifique *Thevetia Peruviana* (Pers.) K. Schum., le laurier jaune est un arbuste décoratif originaire de l'Amérique tropicale (Pérou) et pousse dans d'autres régions du monde comme l'ouest de l'Asie, le sud de l'Europe, l'Inde et l'Afrique tropicale (Kareru *et al.* 2008). Il appartient à la famille des Apocynacées. Cet arbre peut atteindre une taille de 2-7 m de hauteur. Il présente un feuillage persistant avec des feuilles linéaires, sessiles, longues de 8-15 cm, étroites, lancéolées, pointues à nervure centrale. Ses fleurs sont d'une belle couleur jaune, assez grande, odorantes, en cymes subterminales ; elles sont hermaphrodites, spiralées, évasées à 5 pétales à bords légèrement ondulés. Sous climat tropical, la floraison est annuelle. Le fruit est une drupe globuleuse et tétraédrique ; vert quand il est encore jeune et vert sombre à maturité. Il renferme des grosses graines de couleur marron (Kengne, 1984), et un noyau ligneux très dur et de couleur généralement jaunâtre, parfois brunâtre, noirâtre ou rougeâtre. Son péricarpe est ligneux et composé de deux carpelles séparés par une cloison ligneuse ailée contenant chacune deux graines aplaties, ovoïdes logées dans les alvéoles (Fig. 10). Il a une croissance rapide et se multiplie par bouturage ou par semis. Il préfère des sols drainés fertiles, acides, neutres ou alcalins. Toutes les parties de la plante contiennent un latex quiforme de grosses gouttelettes blanches dès qu'on blesse le fruit vert ou l'extrémité des tiges et qui se dessèche rapidement ; il est d'un blanc de lait et renferme un principe toxique (Berhaut, 1971). Les toxines principales sont : la thévétine A, la thévétine B et la peruvoside. Cette dernière est librement soluble dans le méthanol et l'éthanol et moyennement soluble dans du chloroforme et l'acétone. Le latex est insoluble dans l'alcool mais soluble dans de l'eau froide.

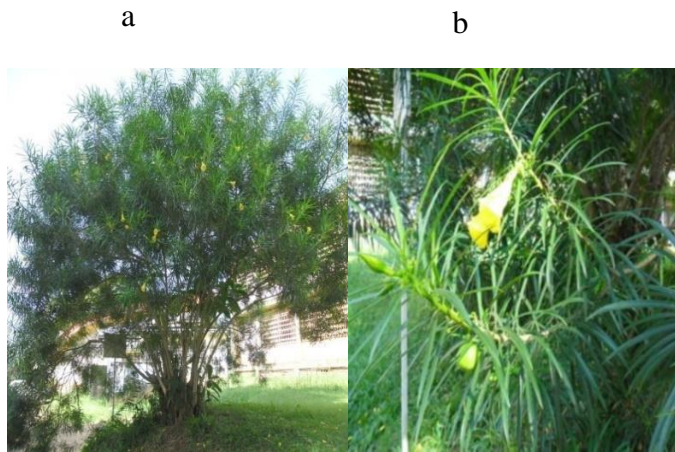


Fig. 10. Plante de *T. peruviana*. (a) vue d'ensemble ; (b) feuilles, fleur et fruit. (Mboussi, 2016).

Le laurier est communément utilisé comme plante ornementale à cause de son ombrage et du parfum odoriférant de ses fleurs.

#### **I.4.2. Quelques propriétés de *T. peruviana***

##### **I.4.2.1. Insecticide**

Toutes les parties du laurier jaune contiennent un latex blanc laiteux toxique (Berhaut, 1971). Les flavonoïdes contenus dans ce latex sont à la fois responsables de sa couleur et de sa toxicité (Louis, 2004). Les graines de *T. peruviana* (Pers.) K. Schum. renferment 35,5-57 % d'huile (Gata-Gonçalves *et al.*, 2003). Des noyaux broyés et mis à tremper dans de l'eau froide constitueraient un bon insecticide en additionnant à cette solution une quantité de savon égale au poids des noyaux utilisés ; le dosage efficace est d'autant plus important que le squelette des insectes à détruire est dur (Berhaut, 1971).

##### **I.4.2.2. Fongicide**

Les extraits totaux et leurs fractions extraits des différents organes du laurier jaune sont utilisés dans la lutte contre les champignons d'une part et dans la détermination des composés actifs contre ces microorganismes d'autre part. L'efficacité des extraits des graines de *T. peruviana* a été démontrée sur quelques souches de *Phytophthora megakarya* (Ambang *et al.*, 2010 ; Ngoh Dooh *et al.*, 2014 a et b).

##### **I.4.2.3. Bactéricide**

Saxena et Jain (1990), Obasi et Igboechi (1991) ont démontré l'efficacité de l'huile des graines de *T. peruviana* comme un potentiel agent antibactérien.

##### **I.4.2.4. Rodenticide**

Dans une étude comparative des extraits de feuilles, d'écorce et de graines, Oji O. et Okafor (2000) ont montré l'efficacité de ces différentes parties du laurier jaune sur les rongeurs.

#### **I.4.2.5. Médicinale**

Les graines, les feuilles, les fruits et les racines sont couramment utilisés en médecine traditionnelle comme purgatif contre l'hydropisie et le rhumatisme et comme émétique. Elles sont aussi utilisées au même titre que l'écorce pour le traitement des fièvres intermittentes (Gata-Gonçalves *et al.*, 2003). Le latex mélangé à l'huile de cotonnier est recommandé pour la gale, la lèpre et psoriasis (Berhaut, 1971). En médecine moderne, cette plante est utilisée comme cardiotonique pour le traitement des défaillances cardiaques (Petelot, 1953).

#### **I.5. Mode d'action des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires des plantes sont des composés chimiques synthétisés par les plantes (composés phytochimiques) qui jouent des rôles physiologiques et écologiques majeurs. Ces composés participent à la vie de relation de la plante (ou de leur organisme hôte), ils peuvent servir de défense (sécrétions amères ou toxiques pour les prédateurs et les agents pathogènes) ou au contraire, attirer certaines espèces ayant des rôles bénéfiques (pollinisateurs), ils peuvent également permettre la communication entre les plantes (Mboussi, 2016).

Les métabolites secondaires se classent en de nombreux groupes : les alcaloïdes, les composés phénoliques, les saponines et les composés terpéniques. Ils ont des propriétés antimicrobiennes et sont également des biostimulateurs (Manga, 2022).

Les métabolites secondaires peuvent réaliser des associations électrophiles ou nucléophiles sur les groupements sulfhydriles (SH) des protéines (changeant les conformations des protéines), comme c'est le cas des composés tels que les furanocoumarines et les sesquiterpènes (Nghoh Dooh, 2014).

D'autres composés secondaires se complexent ou se lient de manière sélective avec les sites actifs, les inhibant ou les rendant inactifs. Beaucoup sont en effet des analogues de neurotransmetteurs (acétylcholine, dopamin...). Ils induisent une surexpression artificielle d'une fonction métabolite ou empêchent le fonctionnement normal d'un pas métabolique. Un autre type d'action se rencontre quand les cibles sont des canaux Na<sup>+</sup> ou des ATPases ou des routes de signalisation ; c'est le cas des glycosides, des saponines, des stéroïdes et des diterpènes (Laurent *et al.*, 2003 ; Mboussi, 2016).

D'autres composés induisent des changements dans la conformation des microtubules de telle manière que l'alternance entre polymérisation et dépolymérisation, capitale pour que la division ne puisse pas se réaliser. C'est le cas des terpènes et des alcaloïdes (Chwaleka *et al.*, 2006).

Un autre mode est la libération des cyanures par les glycosides qui provoquent une inhibition de la chaîne respiratoire et bloquent la production d'ATP.

Certains métabolites secondaires ont pour site les acides nucléiques (ADN/ARN), les processus de replication et de transcription, bloquant ainsi la division cellulaire (Narberhaus *et al.*, 2005).

**CHAPITRE II**  
**MATERIEL ET METHODES**

## **II. 1. Matériel**

### **II. 1. 1. Site d'étude**

Le présent travail a été réalisé en laboratoire, en serre et en champ. Les travaux de laboratoire ont été menés dans le laboratoire de Biotechnologies Végétales, unité de Phytopathologie et de Microbiologie du Département de Biologie et Physiologie Végétales de l'Université de Yaoundé I, dans le laboratoire régional de Lutte Biologique et de Microbiologie Appliquée de l'IRAD de Nkolbisson, dans le laboratoire de Phytochimie et synthèse de la matière du département de Chimie Organique, dans le laboratoire de Microbiologie de l'Université de Yaoundé I et dans le laboratoire national d'analyse diagnostique des Produits et Intrants Agricoles du MINADER.

En serre, le travail a été réalisé dans la serre du Laboratoire Régional de Lutte Biologique de l'IRAD de Nkolbisson.

En champ, l'essai a été conduit sur deux campagnes successives de Septembre à Décembre 2020 et de Mars à Juin 2021 dans la région du Centre, département du Mbam et Inoubou, arrondissement de Bokito, village Balamba I, zone où la tomate est très cultivée et très attaquée par le flétrissement bactérien et où les plants de tomates malades ont également été prélevé (avec BFo comme code du site de prélèvement) de coordonnées géographiques : 4°25'33,6"de latitude N et 11°14'16,8" de longitude E (Fig. 11).

La végétation de Balamba I est caractérisée par une prédominance des savanes parsémées d'arbustes. Cette contrée est habitée par les Yambassa (autochtones) et les hallogènes à savoir : les Anglophones, les Bamilékés, les Bamouns et les Bafia qui sont les principaux jardiniers de la localité. Ces derniers louent des grandes superficies de savanes pour y cultiver la tomate, le piment, la morelle noire et les condiments.

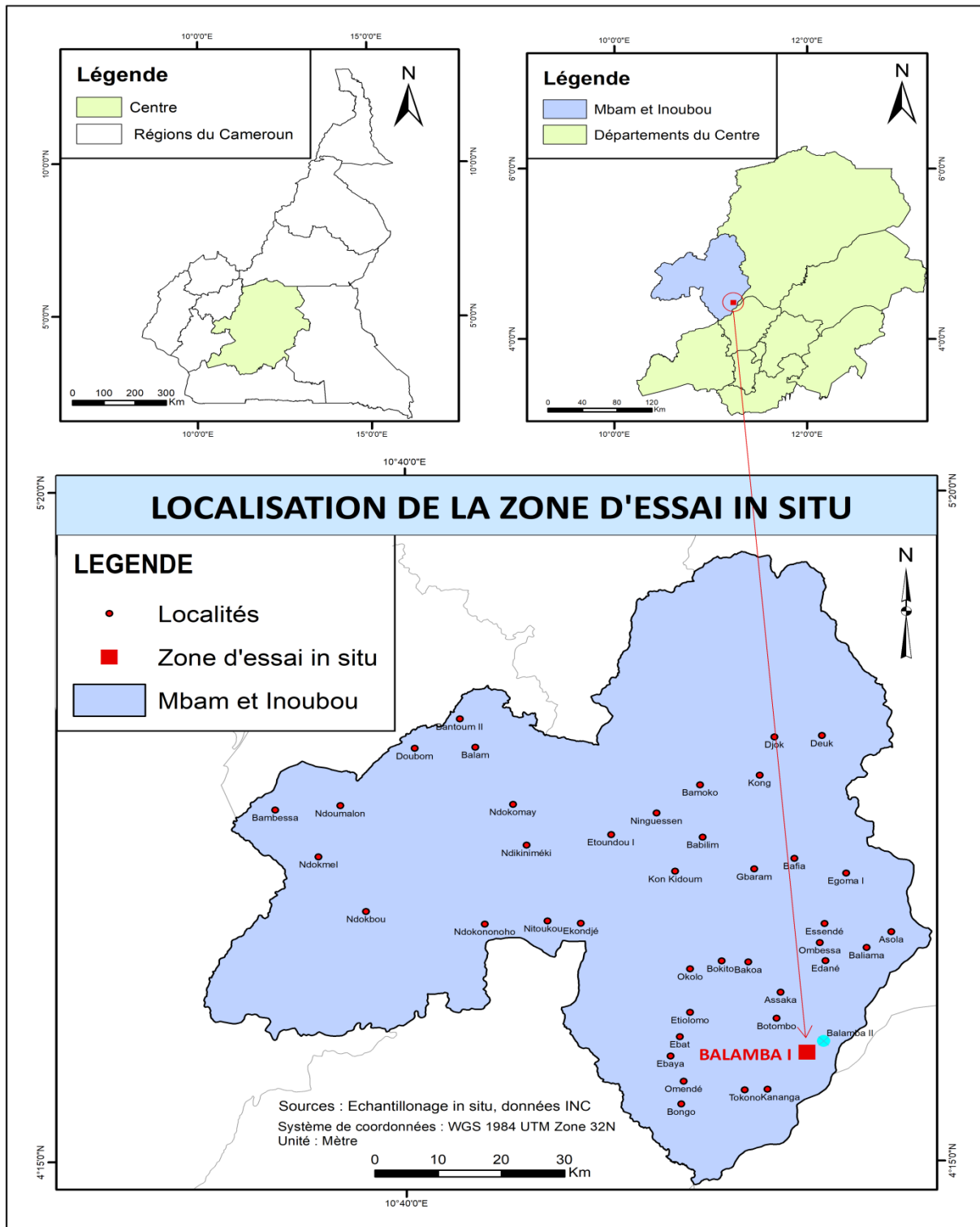


Fig. 11. Localisation du site d'étude en champ

Ce site appartient à la zone agro-écologique V dite zone forestière à pluviométrie bimodale, caractérisée par un climat sub-équatorial de type guinéen avec deux saisons sèches (de Décembre à

Février et de Juillet à Août) alternant avec deux saisons de pluies (de Mars à Juin et de Septembre à Novembre).

Les données météorologiques du site ont été obtenues à la station météorologique de Bafia (Fig. 12). Les analyses du sol ont été effectuées, le sol a présenté une texture sablo-argileuse (confère annexe 1).

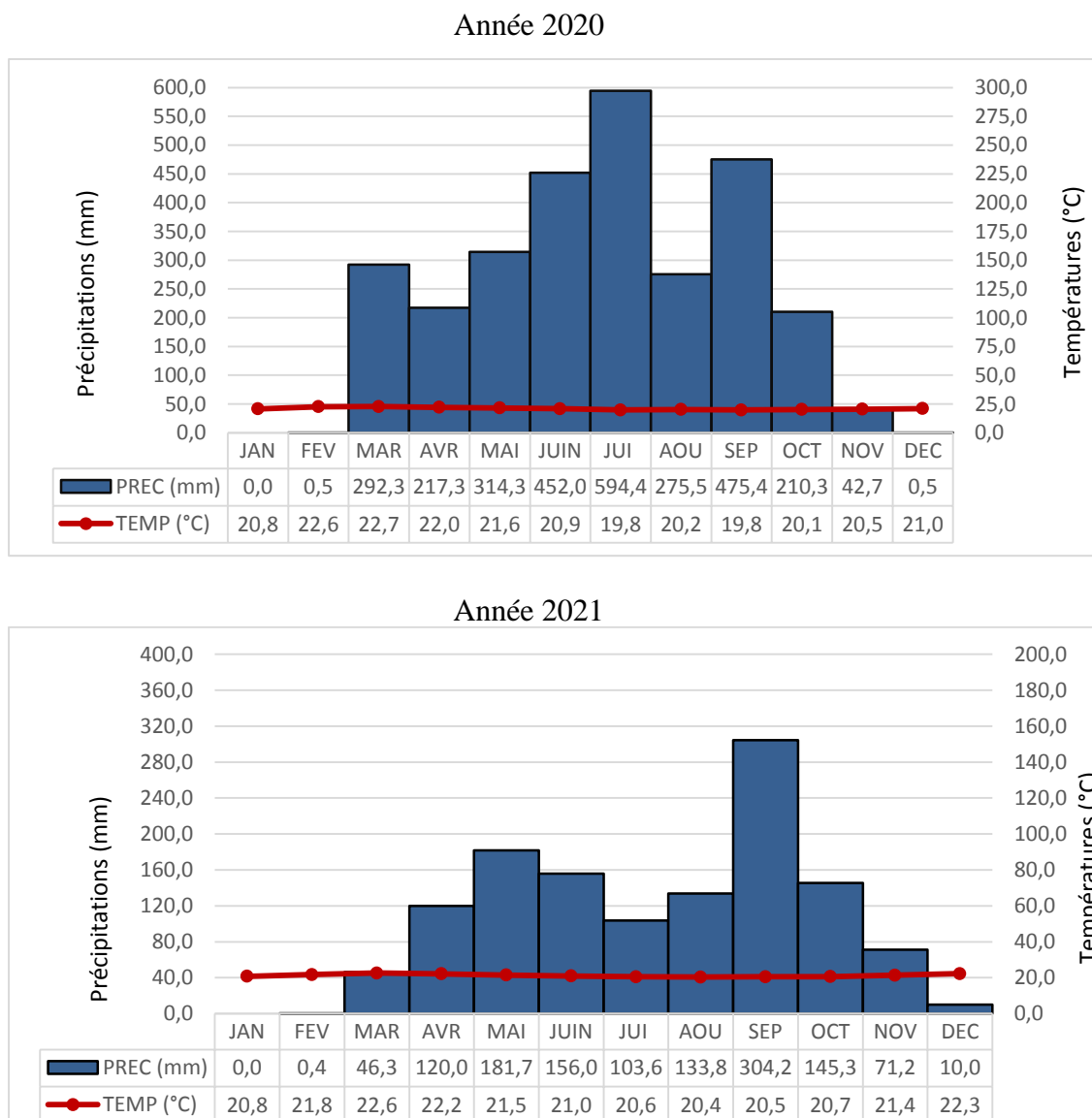


Fig. 12. Conditions climatiques du site expérimental (Balamba 1) (Station météorologique de Bafia, 2022).

## II. 1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué de graines de deux variétés de tomates : la variété Roma vf, choisie pour sa grande sensibilité au flétrissement bactérien bien que très productive et très appréciée par les producteurs et les consommateurs (Groshens, 2009) ; et la variété Cobra F1 pour sa tolérance au flétrissement bactérien et sa production précauce (Tableau III). Ces semences ont été fournies par SEMAGRI, distributeur exclusif du Novalliance et principalement des marques Technicem, Tropica, Jardinova et Jarditropic en Afrique.

Par ailleurs le matériel biologique était constitué des graines de *Thevetia peruviana* récoltées dans la localité de Yaoundé (Fig.13).

Tableau III. Caractéristiques des deux variétés de tomates utilisées (Groshens, 2009)

Variétés	Forme des fruits	des	Rendement (t/ha)	Sensibilité au flétrissement bactérien	Cycle(en jours)	Taux de germination	de
Roma vf (V1)	Allongée et ovale	et	40-50	élevée	120	supérieur à 90%	à
Cobra F1(V2)	Uniforme et ronde	et	35-45	moyenne	90	supérieur à 90%	à

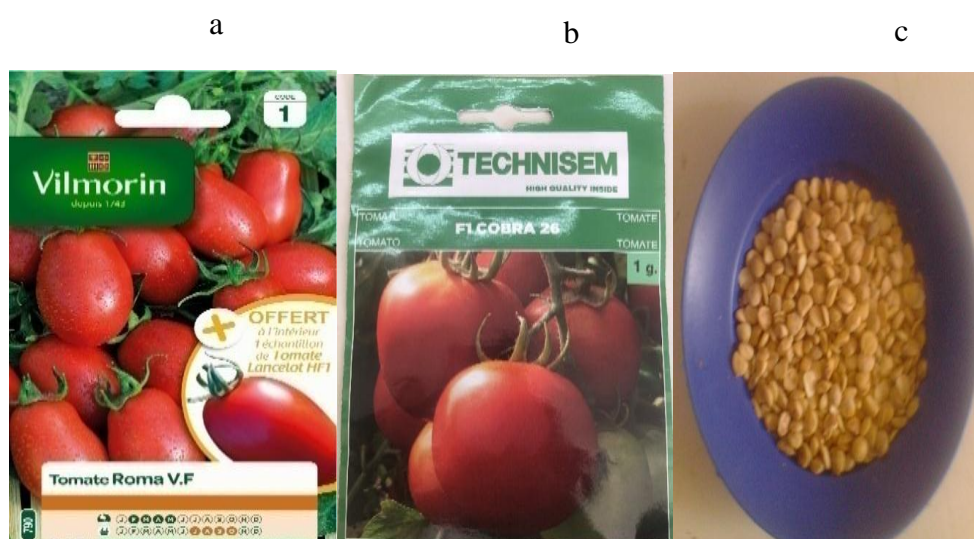


Fig. 13. Matériel végétal utilisé : a) variété de tomate Roma vf ; b) variété de tomate Cobra F1 ; c)graines décortiquées de *Thevetia peruviana*.

### II.1.3. Matériel chimique

Le matériel chimique était constitué d'un bactéricide systémique Furaplant Super, ayant l'oxamyl 100g/kg comme matière active, couramment utilisé en champs pour lutter contre les maladies de la tomate. Quatre solvants organiques : l'éthanol, l'acétate d'éthyle, le butan-1-ol et l'hexane ont également été utilisés pour l'obtention des différents extraits organiques des graines de *Thevetia peruviana*.

### II.1.4. Autres matériels

Bien d'autres matériels ont été utilisés pour la réalisation de ce travail à l'instar des boîtes de Pétri en plastique et en verre de 90 mm de diamètre, des béciers, du coton, un morceau de tissu de mousseline, du papier buvard, un microscope photonique (marque Perfex science), une balance de précision (stalec), du papier aluminium, du film alimentaire, une hôte à flux laminaire, un

autoclave (marque GeorGIN), des pipettes, une hanse de platine, un emporte-pièces, un agitateur magnétique, une règle graduée de 30 cm, un réfrigérateur, un moulin manuel pour écraser les graines de *Thevetia peruviana*, un brûleur à alcool, un appareil photo numérique, un micro-filtre, des microcentrifugeuses, des micropipettes.

## **II.2. Méthodes**

### **II. 2.1. Caractérisation biochimique et physiologique des isolats de *Ralstonia solanacearum* et screening des souches virulentes**

#### **II.2.1. 1 Prélèvement d'échantillons et désignations des isolats prélevés**

Trente (30) échantillons ont été prélevés aux mois d'octobre et novembre 2020 dans les villes et villages des trois zones agro écologiques du Cameroun où la tomate est fortement cultivée : quatorze (14) échantillons dans les hauts plateaux de l'Ouest (à Bandjoug, Baham, Mbouda, Fombot, Dschang, Bafou), douze (12) échantillons dans la zone forestière à pluviométrie bimodale (à Bafia, Ossimbi, Wassé, Obala, Nkometou, Yaoundé, Metet) et quatre échantillons (04) dans la zone forestière à pluviométrie monomodale (à Melong et Njombé). Le prélèvement s'est fait de manière aléatoire dans chaque parcelle possédant des plantes de tomates infectées ; chaque plant infecté était prélevé entièrement avec ses racines sur le terrain. Les symptômes de la maladie ont été étudiés par observation visuelle selon la procédure standard (Champoiseau *et al.*, 2009). Les plants ainsi récoltés ont été chacun emballés dans un plastique et conservés dans une glacière puis acheminés au laboratoire pour l'extraction de la bactérie.

Les isolats prélevés ont été désignés en fonction de la zone de prélèvement (Aminuzzaman *et al.*, 2010). Les coordonnées géographiques des zones de prélèvement ont été relevés (Tableau IV).

Tableau IV. Zones d'échantillonnage des plants de tomates attaqués par le flétrissement bactérien

ZAE	Localité de prélèvement	Code de l'isolat	Coordonnées géographiques de la localité de prélèvement
	Bandjoug 1	Bj1	N 5°24'39,6" et E 10°28'29,9"
	Bandjoug 2	Bj2	N 5°22'30" et E 10°24'43,2"
	Mbouda 3	Mb1	N 5°36'50,4" et E 10°25'1,2"
	Mbouda 4	Mb2	N 5°37'37,2" et E 10°15'18"
	Baham 5	Bh1	N 5°20'5,9" et E 10°22'4,8"
	Baham 6	Bh2	N 5°23'34,8" et E 10°31'40,8"
Zone III :	Foumbot 7	Fm1	N 5°28'8,4" et E 10°44'2,4"
Hauts plateaux de l'Ouest	Foumbot 8	Fm2	N 5°22'51,6" et E 10°41'56,4"
	Foumbot 9	Fm4	N 5°23'38,4" et E 10°32'38,4"
	Foumbot 10	Fm5	N 5°18'54" et E 10°37'40,8"
	Foumbot 11	Fm6	N 5°24'50,4" et E 10°37'15,6"
	Dschang 12	Dsc	N 5°27'50,4" et E 10°3'46,8"
	Bafou 13	Bfo1	N 5°28'33,6" et E 10°6'43,2"
	Bafou 14	Bfo4	N 5°30'35,9" et E 10°6'10,8"
Zone IV :	Nkongsamba 1	Nkg1	N 5°7'19,2" et E 9°56'56,4"
Zone à pluviométrie monomodale	Nkongsamba 2	Nkg2	N 5°3'28,8" et E 9°57'46,8"
	Nkongsamba 3	Nkg3	N 4°57'10,8" et E 9°56'20,4"
	Ndjombé 4	Ltn	N 4°33'54,7" et E 9°37'37,5"
Zone V :	Obala 1	Ob1	N 4°9'57,6" et E 11°32'6"
Zone forestière à pluviométrie bimodale	Nkometou 2	Nk1	N 4°3'10,8" et E 11°33'14,4"
	Nkometou 3	Nk3	N 4°5'13,2" et E 11°27'7,2"
	Nkometou 4	Nk3'	N 4°2'27,6" et E 11°33'7,2"
	Wassé 5	W1	N 4°36'10,8" et E 11°15'25,2"
	Wassé 6	W2	N 4°36'57,6" et E 11°23'27,6"
	Ombessa 7	Oss	N 4°42'57,6" et E 11°16'58,8"
	Bafia 8	Bf <sub>0</sub>	N 4°25'33,6" et E 11°14'16,8"
	Bafia 9	Bf2	N 4°45'14,4" et E 11°11'49,2"
	Yaoundé 10	Ydé1	N 3°56'16,8" et E 11°30'57,6"
	Yaoundé 11	Ydé5	N 4°4'22,8" et E 11°32'56,4"
	Metet 12	Met	N 3°26'31,9" et E 11°45'54,4"

ZAE : Zones agroécologiques

### II.2.1.2. Observation des symptômes visuels (Test à l'eau)

La méthode de Bollier *et al.* (2018) a permis de faire un diagnostic de *R. solanacearum*. Elle a consisté à prélever un fragment de tige dans les étages inférieurs, le désinfecter superficiellement avec de l'alcool éthylique à 95 % pendant une minute puis le rincer 5 fois à l'eau distillée stérilisée et enfin à l'immerger dans un verre d'eau. Au bout de 5 minutes, ont apparu des volutes blanches constituées de milliards de bactéries, témoignant de la présence de la maladie.

### II.2.1.3. Isolement de *Ralstonia solanacearum*

#### II.2.1.3.1. Préparation du milieu Kelman modifié

Un litre du milieu Kelman modifié est obtenu en mélangeant 10 g de peptone, 1 g de casamino acide (Difco), 17g d'agar, 5 ml de glycérol. Le pH est ajusté à 7,2 ; puis la solution obtenue est stérilisée à l'autoclave pendant 20 mn à 120° C. Après refroidissement du milieu à 50° C, 5 ml de chlorure de tetrazolium TTC à 1% est ajouté. Ce milieu a été utilisé pour isoler et purifier *R. solanacearum* (Kelman, 1954).

#### II.2.1.3.2. Obtention des souches pures de *Ralstonia solanacearum*

*R. solanacearum* s'isole aisément sur milieux gélosés, en particulier sur le milieu de Kelman additionné de chlorure de triphenyltetrazolium (TTC). La tige de chaque échantillon de plant infecté a été aseptisée respectivement par l'alcool 70 %, 2 % d'eau de javel puis rincée avec l'eau distillée stérile. La tige désinfectée de chaque échantillon a été sectionné sur environ 10 cm de longueur puis fendu en deux demi cylindre. La partie section de chaque demi- cylindre de la tige a été déposé directement en contact sur milieux Kelman enrichi en chlorure de triphenyltétrazolium contenu dans les boîtes de Pétri. Différentes colonies bactériennes qui ont poussé sur le milieu Kelman et montrant un aspect morphologique caractéristique de *R. solanacearum* ont été purifiées par la méthode d'épuisement sur milieu solide (Paret *et al.*, 2010) (Fig.14). Puis les boîtes ainsi traitées ont été renversées et incubées à l'étuve à 28° C pendant 48 heures.



Fig. 14. Souche pure de *Ralstonia solanacearum*

#### **II.2.1.4. Caractéristique macroscopique**

L'objectif de l'observation macroscopique était de décrire les aspects morphologiques des colonies. Elle a été faite à l'œil nu et à la loupe. Au cours de cette analyse, l'aspect, la consistance, la forme et la couleur des colonies ont été déterminés, ainsi que la présence ou non des spores (Pawaskar *et al.*, 2014).

#### **II.2.1.5. Test de motilité**

Pour confirmer la présence ou l'absence des flagelles dans la bactérie étudiée, le test de motilité a été effectué (Sasidahrn Sreedevi *et al.*, 2013). Il a consisté à placer une goutte de la suspension bactérienne de  $3 \times 10^8$  CFU/ml (0,1 McFarland) sur une lame, à la recouvrir d'une feuille de couverture d'objet et l'observer au microscope dans l'objectif 60X.

#### **II.2.1.6. Tests biochimiques**

##### **II.2.1.6.1 Coloration de Gram**

Les jeunes cultures pures (24 heures) ont été utilisées pour la coloration de Gram. Une boucle de la bactérie a été étalée sur une lame de verre et fixée par chauffage sur une flamme très faible. Une solution aqueuse de cristal violet (0,5 %) a été étalée sur le frottis pendant 30 secondes, puis lavée à l'eau courante pendant une minute. Il a ensuite été inondé d'iode pendant une minute, rincé dans du ruban adhésif à l'eau et décoloré avec de l'éthanol à 95 % jusqu'à écoulement incolore, la safranine a été appliquée sur la lamelle et maintenue pendant 30 secondes puis lavée avec de l'eau (Suslow *et al.*, 1982).

##### **II.2.1.6.2. Test de KOH**

Une solution d'hydroxyde de potassium KOH (3 %), une lame de microscope et un cure-dent stériles ont été utilisés pour parfaire le test de Gram sur les colonies bactériennes isolées. Les isolats de *R. solanacearum* ont été prélevés de manière aseptique sur des plaques de culture vieilles de 24 à 36 heures à l'aide d'un cure-dent stérile. Ils ont ensuite été placés sur une lame de verre dans une goutte de solution de KOH à 3 %, agités pendant 10 secondes et observés pour la formation de fils de boue (Suslow *et al.*, 1982).

##### **II.2.1.6.3. Test de la catalase**

Des cultures jeunes de *R. solanacearum* (18 à 24 heures) et 3 % de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ont été utilisées pour observer la production de bulles de gaz. Une boucle pleine de culture bactérienne a été mélangée avec une goutte de  $H_2O_2$  sur une lame de verre et observée pour la production de bulles de gaz à l'œil nu et sous un grossissement de dissection de 25X (Schaad, 1980). La formation de bulles correspond à la production de catalase donc à une bactérie à catalase positive (catalase +), la non production de bulles correspond à l'absence de catalase, donc à la présence d'une bactérie à catalase négative (catalase -).

#### **II.2.1.6.4. Test de l'oxydase de Kovac**

Le test de l'oxydase permet d'identifier les bactéries qui possèdent l'enzyme cytochrome oxydase. Le N,N-Diméthyl-phénylène diamine Dihydrochloride à 1 % (100 ml) a été préparée et conservée dans un flacon foncé à bouchon en caoutchouc. Une goutte de réactif a été ajoutée à un morceau de papier filtre (whatman n°1) placé dans une boîte de Pétri en verre. De petites quantités d'inoculum ont été frottées sur le papier filtre imprégné de solution de réactif oxydase à 1 % (p/v). Les bactéries ont ensuite été notées pour le développement de la couleur pourpre en 10 à 60 secondes indiquant l'oxydation du réactif (Goszczyńska *et al.*, 2000).

#### **II.2.1.6.5. Test de l'arginine**

Pour l'activité de l'arginine dihydrolase en milieu de Thornley's dans un tube à essai, le milieu a été inoculé avec une boucle de colonies de *R. solanacearum*, puis incubé pendant 24 heures à 28° C. La réaction positive pour la dégradation de l'arginine en ornithine + CO<sub>2</sub> + NH<sub>3</sub> est indiquée par un changement de couleur du milieu du violet au jaune (Schaad *et al.*, 2001).

#### **II.2.1.6.6. Test TSI (trois sucres et fer)**

##### **II.2.1.6.6.1. Préparation du milieu TSI**

La préparation d'un litre du milieu TSI s'est faite en mélangeant 3 g d'extrait de viande, 3 g d'extrait de levure, 20 g de peptone, 5 g de chlorure de sodium, 10 g de lactose, 10 g de saccharose, 1 g de glucose, 300 mg de sulfate ferreux ammoniacal, 24 mg de rouge de phénol, 300 mg de thiosulfate de sodium anhydre et 11 g d'agar dans 1000 ml d'eau distillée. Le pH a été ajusté à 7,4 ; puis la solution obtenue est stérilisée à l'autoclave pendant 20 mn à 120° C (Sasidahrn Sreedevi *et al.*, 2013).

##### **II.2.1.6.6.2. Principe du test TSI**

Le test TSI repose sur l'aptitude ou l'incapacité des bactéries à fermenter le glucose (avec ou sans dégagement de gaz), le lactose, le saccharose et à réduire les sulfates en sulfures qui, en présence de fer, donne un précipité noir de sulfure de fer. Les cultures jeunes de *R. solanacearum* (24 heures) ont étéensemencées sur la pente du milieu TSI par des stries et dans le culot par pique d'une pipette pasteur préalablement stérilisée à la flamme, puis laissées incubées pendant 24 heures à une température de 37° C (Sasidahrn Sreedevi *et al.*, 2013).

#### **II.2.1.6.7. Test de détermination des biovars**

La technique qui a permis de distinguer les différents biovars de *Ralstonia solanacearum* au sein des différents isolats était basée sur des tests biochimiques en rapport avec les aptitudes des souches à utiliser et/ou à oxyder trois disaccharides, notamment le maltose, le lactose et le cellobiose ainsi que trois hexoses alcools le mannitol, le sorbitol et le dulcitol. Le biovar 1 n'oxyde aucun sucre disaccharide et alcool hexose, le biovar 2 oxyde uniquement les sucres disaccharides, le biovar 3 oxyde à la fois les sucres disaccharides et les alcools hexoses, le biovar 4 oxyde

uniquement les alcools hexoses tandis que le biovar 5 oxyde les disaccharides sucre et oxyde uniquement l'alcool hexose mannitol mais pas le sorbitol et le dulcitol (Hayward, 1964 ; Denny, 2000). Les biotypes du biovar 2 se reconnaissent selon leur utilisation du tréhalose et/ou du méso-inositol (Hayward, 1964 ; Hayward *et al.*, 1990).

Le milieu de base utilisé à cet effet était composé de 1 g Bacto-peptone, 1 g de  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  (Ammonium dihydrogène phosphate), 0,2 g de KCl (Chlorure de potassium), 0,2 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (magnésium sulphate), 0,03 g de Bleu de Bromothymol, 3 g d'Agar dans un litre d'eau distillée (Hayward, 1976). Le pH a été ajusté entre 7 et 7,1 en y ajoutant quelques gouttelettes de solution de NaOH 40 % poids/volume, puis le mélange du milieu par chauffage et agitation constante a été effectué. Le milieu ainsi obtenu avait une coloration vert olive. Il a été réparti dans des bêcher en aliquotes de 90 ml correspondant au nombre d'hydrates de carbone à tester avant autoclavage à  $121^\circ \text{C}$  pendant 21 minutes. Toutes les solutions de sucres ont été stérilisées par filtration (Seitz ou membrane à millipores de 0.22 microns) dans des tubes à essai préalablement stérilisés. Il a été ajouté environ 10 ml de chaque solution de 10 % d'hydrate de carbone au 90 ml du milieu de base refroidi à  $60^\circ \text{C}$  afin d'obtenir une concentration finale de 1 %. La solution a été répartie à l'aide d'une pipette de précision soit 200  $\mu\text{l}$  dans chacun des 96 puits stériles de boîtes de culture en gardant une rangée par sucre (Fig.15). L'inoculum est une culture bactérienne de 48 h. Les puits contenant les différents sucres ont étéensemencés en prélevant des colonies des souches pures à l'aide des pipettes pasteur stériles. Trois répétitions par sucre (sur la même ligne) et par souche ont été effectuées. Les témoins négatifs ne contenant pas de bactéries sont également représentés (Magnan *et al.*, 2018).



Fig. 15. Puits contenant les différents hydrates de carbones etensemencés par des colonies de *R. solanacearum*.

#### II.2.1.8. Test d'hypersensibilité du tabac

Ce test a été utilisé pour faire la distinction entre la race 1 (qui infectent le tabac, la tomate, le piment, le poivron, l'aubergine, bananiers diploïdes ornementaux, légumineuses, Euphorbiacées, Casuarinacées et Rubiacées), la race 2 (qui infecte les bananiers triploïdes et certains diploïdes et autres *Héliconia* spp) et la race 3 (qui infecte la pomme de terre et la tomate) (Buddenhagen *et al.*,

1962). Ce test a été réalisé en utilisant les feuilles de tabac par infiltration des cellules bactériennes dans le parenchyme des feuilles avec une seringue. Le flétrissement et la mort des feuilles de tabac après huit (8) jours indiquent la race 1. L'hypersensibilité avec les tissus nécrosés blancs de la zone entre les veines indiquait la race 2. Le jaunissement de la zone d'infiltration indiquait la race 3 (Magnan *et al.*, 2018).

### II.2.1.9. Screening des souches virulentes

L'étude de la virulence des souches s'est effectuée en conditions gnotobiotiques selon les différentes étapes de la méthode de Sing *et al.* (2018) :

-germination des plants de tomates pour l'inoculation

Les graines de tomate de la variété Roma vf, très sensible au flétrissement bactérien ont été pré-trempées dans de l'eau distillée stérile pendant deux jours. Elles ont ensuite été dispersées sur du papier soie humide stérile dans un plateau en plastique placé dans une chambre de croissance (Orbitek) maintenue à une température (T) de 28° C, 75 % d'humidité relative (HR) et une photopériode (L/D) de 12 heures (Fig. 16a). Des arrosages ont été effectués après chaque deux jour avec de l'eau distillée stérile. Sept (07) jours après germination des graines, les plantules ont été obtenues sur le lit de papier en soie (Kumar *et al.*, 2017) ;

-préparation de l'inoculum bactérien

*Ralstonia solanacearum* a été repiqué sur le milieu Kelman modifié, puis laissé en incubation pendant 24 heures à une température de 28° C. Les colonies âgées de 24h ont été mises en suspension dans de l'eau distillée stérile, puis calibrées à 10<sup>8</sup> CFU/ml grâce à un spectrophotomètre à une longueur d'onde correspondant à 600 nm et une densité optique D.O = 0,1 (Paret *et al.*, 2010) ;

-inoculation racinaire de *R. solanacearum* dans les plants de tomate

Environ 15 à 20 ml d'inoculum de chaque isolat de *R. solanacearum* (environ 10<sup>8</sup> CFU/ml) ont été prélevés dans un récipient stérile. Les plantules de tomates âgés de 6 à 7 jours évoquées étaient chacune plongées dans l'inoculum bactérien (jusqu'à la jonction racine-pousse) (figure 16c). Elles ont été par la suite transférées dans un tube de micro centrifugeuse stérile vide de 1,5 à 2 ml (figure 16d), tube auquel 1 à 1,5 ml d'eau stérile ont été ajoutées (figure 16e). Quarante (40) plantules ont été utilisées pour chaque inoculum bactérien. Comme témoins, quarante (40) plantules ont également été inoculés avec de l'eau distillée stérile en suivant la même procédure que précédemment. Toutes les plantules inoculées ainsi que les témoins ont été transférés dans une chambre de croissance maintenue à T 28° C, HR de 75 %, une L/D de 12 heures (figure 16g). Dès le jour suivant, les semis ont fait l'objet d'une observation afin d'évaluer la progression de la maladie.

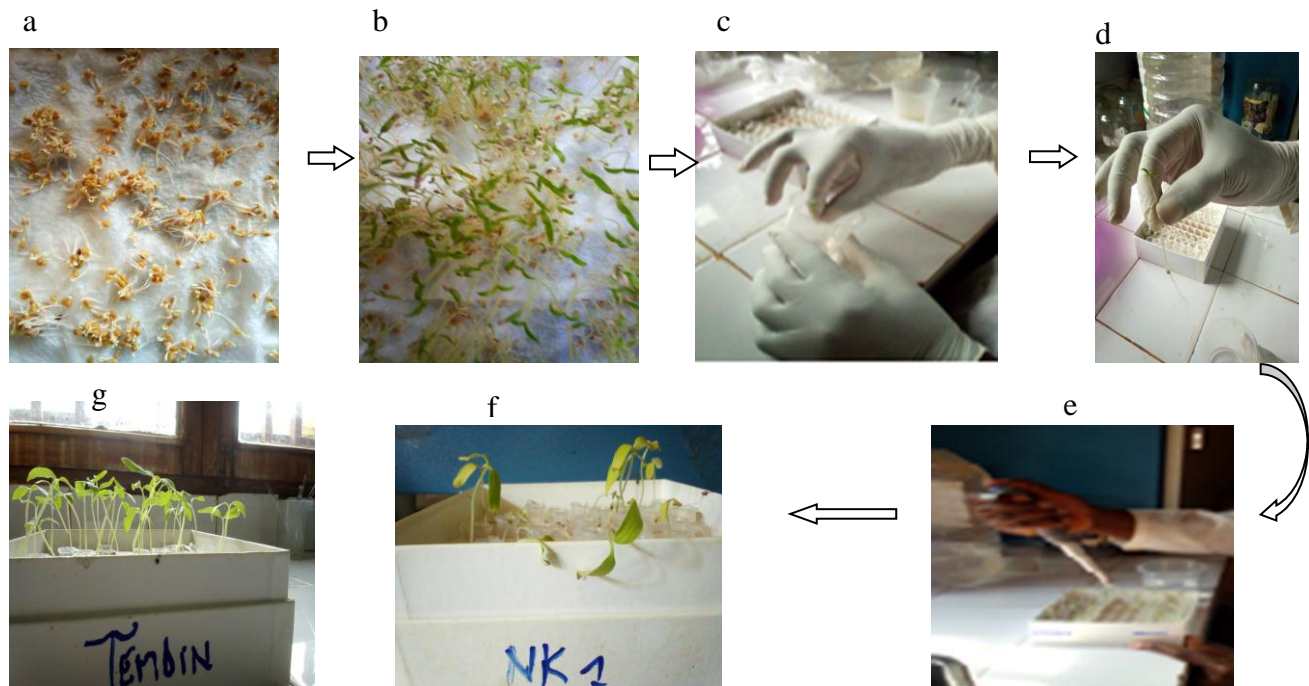


Fig. 16: Etapes du test de pathogénicité en milieu gnotobiotique. a) germination des graines de tomate ; b) croissance des plantules (plantules de 5 jours) ; c) trempage des plantules dans la solution bactérienne ; d) transfert des plantules dans les microtubes stériles vides ; e) addition de 1-1.5 ml d'eau stérile ; f) plantules mortes ; g) témoin.

## II.2.2. Evaluation *in vitro* du potentiel antibactérien des extraits des graines de *Thevetia peruviana*

### II.2.2.1 Obtention et Screening des extraits de *Thevetia peruviana*

#### II.2.2.1.1 méthode d'obtention des extraits

Des fruits murs de laurier jaune ont été collectés à Yaoundé et ses environs. La collecte a consisté en la cueillette directe des fruits murs de couleur noire sur la plante et au ramassage de ceux qui sont au sol. Ces fruits ont été débarrassés de leurs coques manuellement à l'aide d'une pierre. Les graines obtenues sont séchées à température ambiante pendant 2-3 semaines, puis broyées finement à l'aide d'une broyeuse électrique (Victoria Grain Mill-high Hopper).

Trois extraits ont été préparés et utilisés dans cette étude : l'extrait aqueux, l'extrait à l'éthanol et l'huile de laurier jaune.

Pour l'obtention de l'extrait à l'éthanol et l'extrait aqueux, 500 g de poudre ont été introduit dans un erlenmeyer contenant respectivement 2l d'éthanol et 2l d'eau puis laissés macérer pendant 48 à 72 h (pour l'extrait à l'éthanol) et au moins 12 h (pour l'extrait aqueux). Le mélange obtenu a été filtré à l'aide d'une toile ou du papier filtre de type Whatman N°2, et les solvants ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi-R-200, Medellin, Colombia) à 20° C. L'extrait à l'éthanol obtenu a été conservé au réfrigérateur à 4° C jusqu'à utilisation (Ngho Dooh *et al.*, 2014 a).

Le principe d'extraction des huiles végétales tel que décrit par Kosma *et al.* (2011) a été utilisé pour extraire les huiles de laurier jaune à partir de la même poudre. Ainsi, 500 g de la poudre des graines de laurier ont été introduits dans un récipient et 25 ml d'eau chaude y ont été ajoutés. L'extraction a été effectuée par pression de la Poudre sans ajout de solvant organique. La poudre a été transformée en une pâte malaxée à la main pour extraire une huile. A la fin de l'extraction, l'huile de laurier brute (mélange d'huile et de boue) obtenue a été filtrée à l'aide d'un filtre à café (filtration douce). L'huile filtrée a été mise dans des bouteilles en aluminium adaptées au conditionnement des huiles.

### II.2.2.1.2 Rendement d'extraction des extraits

Les rendements d'extraction ont été calculés par rapport au poids du matériel végétal suivant la formule utilisée par Dida (2021) :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait(g)}}{\text{Masse du matériel végétale (g)}} \times 100$$

### II.2.2.1.3 Screening chimique des extraits de *Thevetia peruviana*

Les classes des métabolites secondaires présents dans les extraits des graines de *T. peruviana* ont été déterminées par une adaptation des procédures standards (Harbone, 1973 ; Sofowara, 1993 ; Edeoga *et al.*, 2005 et Sahuvinod *et al.*, 2010). Ces techniques sont basées sur la turbidité, la précipitation et la mousse des extraits en présence des différents réactifs caractérisant chaque classe des métabolites secondaires. L'identification des composés chimiques s'est donc faite sur observation de certaines caractéristiques après des tests de chaque extrait avec des colorants spécifiques (tableau V).

Tableau V. Identification des composés chimiques des extraits

Famille de composés	Mode opératoire	Caractéristiques
Huiles essentielles	Evaporation de 2 ml d'extrait dans l'eau.	Dégagement d'un parfum à partir de l'extrait.
huiles saponifiables	02 gouttes d'extrait sur du papier filtre.	tâche translucide sur du papier.
Coumarine	3mld'extrait+eau chaude+10% NH4OH.	Fluorescence.
Alcaloïde	4 ml d'extrait+2 ml de réactif de Meyer+agitation.	Un précipité beige (jaune pâle).
Stérols	2 ml d'extrait+4ml d'anhydride acétique+1 ml CHCl3+quelques gouttes d'acide sulfurique concentrée.	Coloration bleu vert.
Triterpénoïde	2 ml d'extrait+4 ml d'anhydride acétique+1 ml CHCl3+quelques gouttes d'acide sulfurique concentrée.	Coloration jaune marron.
Flavonoïde	2 ml d'extrait+3 ml Hcl concentré+ 3 tournure de magnésien.	Coloration rose.

Gallic tannins	1 ml d'extrait+1 ml d'eau+ 3 gouttes de chlorure ferrique à 5%.	Vert marron ou bleu vert.
Saponine	1 ml d'extrait+ 1 ml d'eau+agitation vigoureuse.	Formation d'une mousse persistante indiquant leur présence.
Sucre	2 ml d'extrait+2 naphthols dans l'éthanol (réactifs de molish)	Formation d'un précipité.
Phénol	2ml d'extrait+éthanol+solution d'acétate.	Apparition d'un précipité blanc.

## II.2.2.2 Evaluation des effets des extraits de *Thevetia peruviana* sur *Ralstonia solanacearum* en laboratoire

### II.2.2.2.1 Préparation de l'inoculum bactérien

Les trois isolats les plus virulents de la collection de chaque zone agro écologique (FM6: R3bv2, BFo: R3bv3, LTn: R1bv3) ont été repiqués sur le milieu Kelman modifié, puis laissé en incubation pendant 24 heures à une température de 28° C. Les colonies âgées de 24h ont été mises en suspension dans de l'eau distillée stérile, puis calibrées à 10<sup>8</sup> CFU/ml grâce à un spectrophotomètre à une longueur d'onde correspondant à 600 nm et une densité optique D.O = 0,1 puis dilué à 10<sup>3</sup> CFU/ml (Paret *et al.*, 2010).

### II.2.2.2.2. Obtention des différentes doses d'extraits utilisées en laboratoire

Pour la dilution des extraits, une solution mère de 500 µl/ml a été préparée en mélangeant 1 ml d'extrait ; 0,25 ml de solvant (éthanol 70° ou le tween 80 permettant une incorporation plus homogène dans le milieu de culture) et 0,75 ml d'eau distillée stérile, soit un volume initial de 2 ml. Le tween 80 a été utilisé pour la dilution de l'huile de laurier jaune à une proportion (1/1). En utilisant la formule (CiVi = CfVf) (Gata-gonçalves, 2001), quatre doses ont été élaborées à partir de la solution mère : 12,5 ; 25 ; 50 et 100 µl/ml (µg/ml pour l'extrait aqueux), en prélevant respectivement dans la solution mère : 0,75 ; 1,5 ; 3 et 6 ml et en additionnant à 29,25 ; 28,5 ; 27 et 24 ml de milieu de culture, soit un volume final de 30 ml. Ce volume final obtenu a été coulé dans des boîtes de Pétri de 90mm, en raison de 10ml chacune. Pour les témoins négatifs 30 ml de milieu de culture ont été préparés (26,25 ml de milieu Kelman + 3,75 ml de tween 80 et 26,25 ml milieu Kelman+ 3,75 ml éthanol 70°), une solution de 10ml de milieu de culture a été directement coulée dans chaque boîte de Pétri.

### II.2.2.2.3. Dispositif expérimental

L'expérimentation a été conduite sous un dispositif randomisé constitué de 05 traitements : T0 (témoin sans traitement) ; T1 (12,5 µg ou µl/ml) de chaque extrait ; T2 (25 µg ou µl/ml) ; T3 (50 µg ou µl/ml) ; T4 (100 µg ou µl/ml). Chaque traitement a été répété trois(03) fois.

#### II.2.2.2.4. Evaluation de la croissance des bactéries et du pourcentage d'inhibition des extraits

*R. solanacearum* infectant les plantes dans le sol, la culture bactérienne sur milieu amandé a été utilisée afin d'estimer la capacité de *R. solanacearum* à se multiplier sur un milieu en contact direct avec les différents extraits. Les colonies âgées de 24h ont été dosées à  $10^8$  CFU/ml par un spectrophotomètre. Une concentration de chaque isolat de bactéries ( $10^8$  CFU/ml) a été obtenue en réglant le spectrophotomètre à une longueur d'onde correspondant à 600 nm et une densité optique D.O = 0,1 ; puis dilué à la concentration  $10^3$  CFU/ml (Paret *et al.*, 2010). Les milieux amandés ont été coulés dans les boîtes de Pétri etensemencés à l'aide de 100 µl de concentrations en inoculum de chaque isolat de *Ralstonia solanacearum*, puis incubés pendant 72 heures à 28° C. Le comptage du nombre de colonies de *R. solanacearum* exprimées en CFU/ml par boîte de Pétri s'est fait après 72 heures. Le comptage des boites de Pétri présentant plus de 200 colonies a été limité à 200 colonies.

Le pourcentage d'inhibition (PI) a été déterminé pour chaque traitement par rapport au témoin au bout de 3 jours de croissance, suivant la formule de Leroux *et al.* (1978):

$$PI = (A-B)/A \times 100$$

Avec : PI = pourcentage d'inhibition ; A = nombre de colonies estimé sur le milieu témoin (sans extrait) ; B = nombre de colonies estimé en présence de l'extrait à tester.

#### II.2.2.2.5. Corrélation entre concentration et pourcentage d'inhibition

Les tests de corrélation ont été réalisés dans le but de déterminer la relation qui existe entre les concentrations utilisées et les pourcentages d'inhibition obtenues pour chaque extrait. Dans chacun des cas le coefficient de corrélation (r) a été déterminé afin d'apporter les informations sur le degré de dépendance linéaire entre les deux variables. Dans ce cas, si le coefficient directeur  $a < 0$  alors la relation est inversement proportionnelle et la corrélation est négative. Si  $a > 0$  alors la relation est positive; si r compris entre 0,8 et 1 alors la corrélation est parfaite et positive ; si r est compris entre -0,8 et -1 alors la corrélation est parfaite et négative ; si r est supérieur à -0,8 alors la corrélation est négative mais imparfaite (Heu, 2012).

#### II.2.2.2.6. Détermination des CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> et CMB des différents extraits

Les CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub> (Concentration minimale inhibant 50 % et 90 % la croissance) des différents extraits vis-à-vis des isolats de bactéries ont été déterminées en confrontant les valeurs du pourcentage d'inhibition (PI) à celles du logarithme népérien des concentrations correspondantes (Ci) :  $PI = f(\ln Ci)$ .

La droite de régression linéaire de type  $Y = aX + b$  issue de la fonction  $PI = f(\ln Ci)$  ont permis de déterminer les CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub>, où Y = pourcentage d'inhibition, a = pente de la droite,  $CMI_{50} = e^{-x}$  et b = constante (Dohou *et al.*, 2004).

Les CMB (concentration minimale bactéricide) des extraits ont été déterminées par la méthode de dilution sur milieu gélosé telle que décrite par Li *et al.* (2014). En effet, cinq (05) concentrations (80 µl/ml, 85 µl/ml, 90 µl/ml et 100 µl/ml) de chaque extrait ont été utilisées, la CMB a été définie comme la concentration la plus faible à laquelle aucune croissance de *R. solanacearum* ne s'est produite après 96 heures d'incubation. Trois répétitions par essai ont été effectuées.

## **II.2.3 Détermination des principaux métabolites secondaires responsables de l'activité antibactérienne contre *Ralstonia solanacearum***

### **II.2.3.1. Fractionnement par partition des extraits de *T. peruviana***

Le fractionnement par partition a été effectué afin de déterminer les composés responsables de l'activité antibactérienne dans les extraits des graines de *T. peruviana*. A cet effet, 04 solvants ont été utilisés dont 03 solvants extracteurs que sont l'hexane (solvant organique apolaire), l'acétate d'éthyle (solvant organique moyennement polaire), le butan-1-ol (solvant organique polaire) qui récupèrent les composés avec lesquels ils ont plus d'affinité et un solvant de dissolution qu'est l'eau distillée.

L'utilisation des différents solvants extracteurs s'est faite par ordre de polarité, c'est-à-dire du plus apolaire au plus polaire. En effet, 250 ml de chaque extrait brut ont été dissoud dans 250 ml d'eau distillée ; un volume précis (250 ml x 2) de chaque solvant extracteur a été introduit dans l'ampoule à décanter. Chaque extrait brut préalablement dissoud dans l'eau a été introduit dans l'ampoule à décanter contenant le solvant extracteur. Après agitation et fermeture de l'ampoule, elle a été mise au repos pendant au moins 15 minutes ; deux phases se sont formées : une phase inférieure (phase plus dense) et une phase supérieure (phase moins dense) (Fig.17). L'ouverture du robinet de l'ampoule à décanter a permis de séparer les deux phases, puis le solvant de la phase moins dense a été évaporé à l'aide d'un rotavapeur. L'extrait obtenu a été conservé au réfrigérateur à 4° C jusqu'à utilisation.

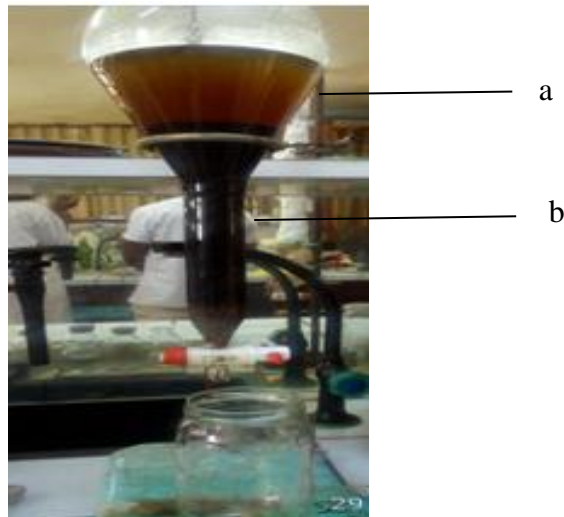


Fig. 17. Dispositif du fractionnement par partition de l'extrait à l'éthanol de *T. peruviana*. a) phase moins dense ; b) phase plus dense.

### II.2.3.1.1. Rendement d'extraction des partitions

Les rendements d'extraction ont été calculés suivant la formule utilisée par Dida (2021) :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait (g)}}{\text{Masse du matériel végétale (g)}} \times 100$$

### II.2.3.2. Evaluation *in vitro* de l'effet antibactérien de chaque partition sur *R. solanacearum*

L'isolat le plus virulent de *R. solanacearum* échantillonné (Fm6) a été repiqué sur le milieu Kelman modifié. Les colonies âgées de 24h ont été mises en suspension dans de l'eau distillée stérile, puis calibrées à  $10^8$  CFU/ml grâce à un spectrophotomètre à une longueur d'onde correspondant à 600 nm et une densité optique D.O = 0,1 puis diluées à  $10^3$  CFU/ml (Paret *et al.*, 2010).

La formule (CiVi = CfVf) de Gata-gonçalves (2001) a permis d'élaborer trois doses de chaque partition : 25 ; 50 et 100 µl/ml en prélevant respectivement dans leur solution mère : 1,5 ; 3 et 6 ml et en additionnant à 28,5 ; 27 et 24 ml de milieu de culture Kelman modifié, soit un volume final de 30 ml. Ce volume final obtenu a été coulé dans des boîtes de Pétri de 90 mm, en raison de 10 ml chacune. Les partitions les plus efficaces ont été testées à 05 doses (6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 et 100 µl/ml). Les milieux amandés ont été coulés dans les boîtes de Pétri etensemencés à l'aide de 100 µl de concentrations en inoculum de *R. solanacearum*, puis incubés pendant 72 heures à 28° C. Le comptage du nombre de colonies de *R. solanacearum* exprimées en CFU/ml par boîte de Pétri s'est fait après 48h et 72 heures.

Le pourcentage d'inhibition (PI) a été déterminé pour chaque traitement par rapport au témoin au bout de 3 jours de croissance.

### **II.2.3.2.1. Corrélation entre concentration et pourcentage d'inhibition des partitions**

De l'équation de regression linéaire entre les logarithmes népériens des concentrations en abscisses et les pourcentages d'inhibition en ordonnées, on détermine les concentrations inhibant de 50 % et 90 % la population bactérienne (Dohou *et al.*, 2004).

Les CMB (concentration minimale bactéricide) des partitions ont également été déterminées par la méthode de dilution sur milieu gélosé telle que décrite par Li *et al.* (2014).

### **II.2.3.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MC) des partitions les plus efficaces des extraits**

Les partitions qui ont montré une meilleure activité antibactérienne ont également été analysés par chromatographie en phase gazeuse suivie d'une spectrométrie de masse (GC-MS), à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Auto system XL (Agilent GC 7890A) doté d'un injecteur à vaporisation en mode split (1:50) couplé à un spectrophotomètre de masse Turbomass Perkin-Elmer (Agilent Technologie 5975 C TAD VL MSD). Les paramètres analytiques étaient l'hélium comme gaz porteur avec le débit de la colonne de 1,21 ml/min. Le programme de température du four était de 50° C pendant 3 mn, puis augmenté à 5° C jusqu'à 180° C, suivi de 15° C/min jusqu'à 250° C et enfin jusqu'à 350° C à 10° C/min (isotherme 45 min). Une colonne en capillaire en silice fondue, de 30x32 mm (DB-1 ; 100 % di-15099. Méthylpolysiloxane) a été utilisée. La source d'ions et la ligne de transfert ont été maintenues à 200 et 280° C respectivement (Atangana *et al.*, 2023).

Les extraits ont préalablement été dilués, la dilution s'est faite au quart ( $\frac{1}{4}$ ), c'est-à-dire pour 500  $\mu$ l d'extrait, 1500  $\mu$ l de solvant ont été utilisés. L'hexane a été utilisé pour diluer la fraction à l'hexane de l'huile ; l'acétate d'éthyle pour diluer la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol ; l'acétonitrile pour diluer la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux. Pour ce dernier cas, 1g de sel (sulfate de magnésium) a été ajouté à la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux afin d'absorber l'eau. Les extraits dilués ont été centrifugés pendant 10 minutes à 1500 tours/minute ; 1 ml de chaque extrait dilué a été prélevé dans une seringue et injectés dans un injecteur en mode split. Les spectres de masse par ionisation électronique dans la gamme 40-500 Da ont été enregistrés à une énergie électronique 70 eV. Le temps de balayage était de 1 ms, le potentiel du multiplicateur 430 V et la pression de la source 10 Torr. Un ordinateur a enregistré toutes les données et les composés (Atangana *et al.*, 2023).

#### **II.2.3.3.1. Identification des composés**

Sur la base des interférences, le spectre de masse a été réalisé en utilisant la base de données de la norme et de la technologie des instituts nationaux ayant plus de 62000 modèles. Le spectre du composé identifié a été comparé au spectre du composé connu stocké dans la bibliothèque NIST et Wiley Banque de données spectrales. La masse, le poids moléculaire et la structure du composé du

matériel d'essai ont été relevés. La comparaison moyenne en pourcentage a été calculée à partir des aires de pic normalisées sans utiliser de facteurs de correction. Le spectre du composé inconnu a été comparé au Spectrum du composé stocké dans la bibliothèque NIST et Wiley.

#### **II.2.3.4. Etapes du docking moléculaire**

L'analyse de docking des composés antibactériens contenus dans les fractions efficaces de *T. peruviana* avec quatre protéines de *R. solanacearum* ont permis d'examiner comment ces composés se positionnent dans les sites actifs des protéines. Ainsi, la détermination des résidus des sites actifs forme des interactions avec ces composés (Luo *et al.*, 2014).

##### **II.2.3.4.1. Préparation des composés antibactériens**

Les structures moléculaires 3D des composés antibactériens isolés ont été générées à l'aide de Chem3D 15.0 exécutant une station de travail Windows avec un processeur Intel(R) Core (TM) i5-3340M. Les structures 3D ont ensuite été enregistrées au format .pdb., puis importées dans l'espace de travail et la préparation des études d'accostage a été effectuée.

##### **II.2.3.4.2. Préparation des enzymes**

Les structures 3D des protéines de *R. solanacearum* sélectionnées ont été obtenues à partir de la banque de données protéiques (<http://www.rcsb.org>) au format .pdb. (Colovos et Yeates, 1993).

Dans le but d'effectuer une recherche conformationnelle du ligand (composé antibactérien) au sein du site actif d'une structure protéique de *R. solanacearum*, les codes de docking moléculaire doivent définir cet espace, c'est ce qu'on appelle le Grid Box. La méthode basée sur une grille a donc été utilisée pour améliorer l'évaluation rapide de l'énergie de liaison des conformations des complexes formés, les cases de la grille ont été centrées à l'aide des coordonnées d'un atome de centre de masse virtuel pour les enzymes. Pour chaque protéine, la grille a été déterminée respectivement en dimension x, y et z en fonction des acides aminés qui formaient le site actif. Quatre protéines de *R. solanacearum* ont été utilisées et un modèle a été généré pour chacune d'elle. La cétopantoate réductase putative (PDB ID : 3ghy ; Grid points : X = 46, Y = 46, Z = 46 ; x = 47,981, y = 18,34, z = 79,784), le Glutathione transférase (PDB ID : 3tou ; Grid points : X = 40, Y = 40, Z = 40 ; x = -16,041, y = 40,209, z = -11,637), le dihydrolipoyl dihydrogenase (PDB ID : 5u25 ; Grid points : X= 40 ; Y = 40 ; Z = 40 ; x = 13,822 ; y = 32,059 ; z = 14,122) et la lectine (Grid points : X=40, Y = 40, Z = 40 ; x= -1,627, y= -19,599, z= 9,772) sont les protéines sélectionnées.

##### **II.2.3.4.3. Amarrage moléculaire**

Les interactions entre protéines de *R. solanacearum* et les composés antibactériens correspondant ont été analysées à l'aide des approches d'amarrage moléculaire. Avant l'amarrage moléculaire, les ligands et les protéines ciblées ont été préparés à l'aide de l'Autodock. Les

structures ont été optimisées en ajoutant les modifications requises telles que les charges de Kollman et Gasteiger (Kuhn *et al.*, 2008).

Des atomes d'hydrogènes polaires ont également été ajoutés aux structures protéiques. L'autodock Vina a été utilisé pour l'amarrage moléculaire du ligand contre les protéines cibles (Trott et Olson, 2009). L'affinité des complexes amarrés a été décrite à l'aide d'une énergie de liaison basée sur un champ de force semi-empirique.

Les paramètres d'amarrage ont été résumés et le studio de découverte a été utilisé pour visualiser les interactions entre ligands et les protéines ciblées. Lorsque l'énergie de liaison de docking est plus faible, l'affinité du ligand pour cette cible est plus élevée. La méthode de simulation de docking moléculaire est validée lorsque l'énergie de liaison du ligand lié avec le récepteur appartient à l'intervalle de -5 et -15 Kcal/mol (Luo *et al.*, 2014 ; Su *et al.*, 2020).

## **II.2.4. Effets des partitions des extraits des graines de *T. peruviana* sur l'incidence du flétrissement bactérien en serre et en champ**

### **II.2.4.1. Effets des partitions des extraits sur l'incidence du flétrissement bactérien en serre**

Un essai *in vivo* a été mis en place, les doses efficaces des meilleures partitions obtenues *in vitro* (25 µl/ml pour la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux et 50 µl/ml pour la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol et de l'extrait à l'hexane de l'huile) ont été utilisées sur les isolats les plus virulents (FM6:R3bv2 ; BFo:R3bv3 ; LTn:R1bv3) de chaque zone agro écologique dans laquelle les échantillons ont été prélevés, dans une serre ayant une humidité moyenne de 80 %, une photopériode de 14 heures et une température de nuit de 25° C et de jour 30 ±2° C. Les sols ont été transportés au laboratoire et séchés en vue d'éliminer l'eau présente.

#### **II.2.4.1.1. Mise en place de la pépinière de la tomate**

Le sol de la pépinière a été stérilisé à 121° C à l'autoclave pendant deux heures (1h x 2). Le sol a été ensuite introduit dans des bassines perforées en dessous et placées sur des étagères dans une serre. La variété Roma vf, très sensible au flétrissement bactérien a été utilisée ; environ 5 grammes de semence était déversé en lignes dans chaque bassine et remué légèrement. L'arrosage quotidien était effectué afin de maintenir une certaine humidité dans les bassines pour favoriser une bonne croissance des jeunes plantules.

#### **II.2.4.1.2. Préparation du substrat**

Le sol utilisé était collecté dans la région du centre. Il a ensuite été mélangé à du sable dans des ratios 3 :1 (sols/sable) en vue de faciliter l'aération du sol et la circulation de l'eau (Mwangi *et al.*, 2018). Une double stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant une heure a été effectuée en vue de s'assurer de l'élimination complète de la microflore (Mwangi *et al.*, 2018).

### II.2.4.1.3. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé était de type split-plot (système bi factoriel : isolats ou facteur principal, traitements ou facteur secondaire), constitué de 04 traitements pour chaque isolat : T0 (témoin sans traitement) ; T1 (dose efficace de la partition à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux) ; T2 (dose efficace de la partition à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol) ; T3 (dose efficace de la partition à l'hexane de l'huile), disposé en trois blocset ayant un gradient d'hétérogénéité (l'ombrage) (Fig.18). Cinq (05) pots par traitement ont été retenus, soit un total de 15 pots par traitement.

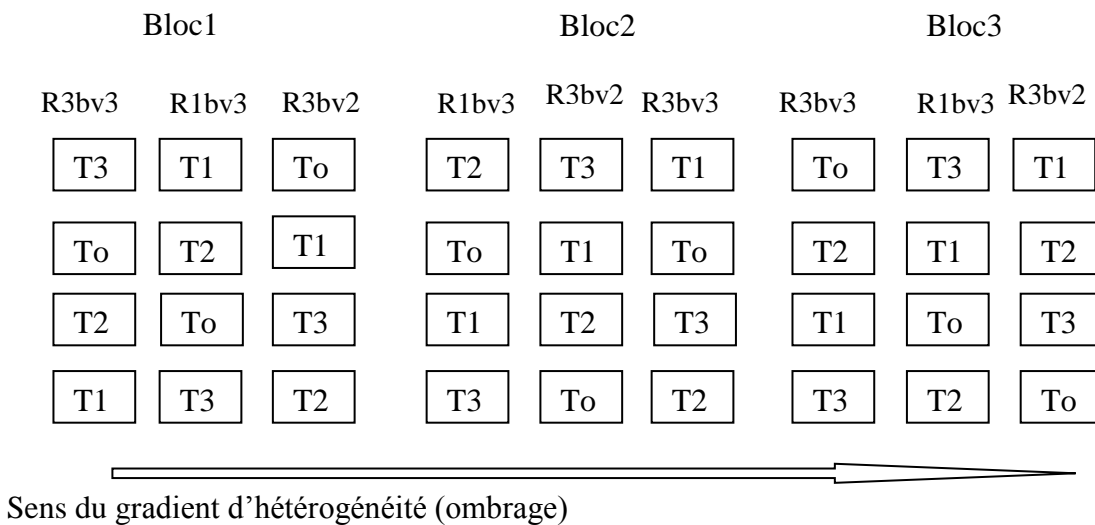


Fig. 18. Dispositif expérimental de l'essai en serre. T0 (témoin sans traitement) ; T1 (dose efficace de la partition à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux) ; T2 (dose efficace de la partition à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol) ; T3 (dose efficace de la partition à l'hexane de l'huile).

### II.2.4.1.3. Déroulement de l'essai

Les isolats de *R. solanacearum* testées ont été étalées sur milieu Kelman et incubées pendant 48 heures à 28° C. Des colonies de *R. solanacearum* ont été transférées du milieu Kelman à de l'eau stérile vortexées et ajustées à 10<sup>8</sup> CFU/ml. Après humification des pots, 20 ml de chaque isolat de *R. solanacearum* ont été inoculés dans chaque pot (Paret *et al.*, 2010). Cinq (05) jours après inoculation, les traitements en extraits ont été appliqués par inondation du sol à raison de 0,13 litres/pot de 12 cm x12 cm x17 cm de dimension, puis ces pots ont été recouverts de plastiques blancs. Le traitement témoin (négatif) a reçu un volume identique en eau stérile.

Les plants âgés de 17 jours ont été repiqués dans les pots 07 jours après traitement puis surveillés quotidiennement pendant 14 jours. Les pots ont été arrosés à la main quotidiennement afin de maintenir l'humidité propice au développement de la bactérie.

Le nombre de plants flétris à la date  $t_k$  a permis d'évaluer l'incidence de la maladie à ces mêmes dates et son évolution au cours du temps représenté par la courbe IFB=f( $t_k$ ) avec pour chaque date ( $t_k$ ) :

IFB (t) = nb de plantes atteint de flétrissement bactérien à la date t/ nb de plantes totales (Launay, 2012).

Les données des indices de flétrissement à différentes dates permettent d'évaluer la sévérité de la maladie à ces mêmes dates et son évolution au cours du temps représenté par la courbe  $AUDPC=f(t)$  avec pour chaque date  $t_k$  :

$$AUDPC(t_k) = \sum_{i=1}^{k-1} (IFB_i + IFB_{i+1})(t_{i+1} - t_i)/2$$

Avec  $AUDPC(t_k)$  : area under disease progress curve à X jours après inoculation,  $IFB_i$  : IFB au précédent jour d'observation,  $IFB_{i+1}$  : IFB le jour de l'observation,  $t_{i+1}$  : nombre de JAI le jour de l'observation,  $t_i$  : nombre de JAI au précédent jour d'observation. L'incidence et la sévérité ont été observées pendant 14 jours.

## **II.2.4.2. Effet des extraits des graines de *T. peruviana* sur l'incidence de la maladie en champ**

### **II.2.4.2.1. Mise en place et suivi de la pépinière, préparation du terrain**

Les planches de 2 m<sup>2</sup> ont été confectionnées pour la mise en pépinière. Une semaine avant semis, la matière organique (fientes de poulets) a été incorporée et un nématicide-insecticide bastion super (avec l'oxamyl 100g/kg comme matière active) épandu pour la désinfection du sol. Après semis, le nettoyage et le désherbage se sont effectués régulièrement afin d'assurer un développement normal et sain des plantules de tomates. L'arrosage des plants se faisait après 48 heures. Pendant le séjour en pépinière qui était de 21 jours, deux traitements ont été effectués avec les extraits aqueux de *T. peruviana* en vue de protéger les plants contre les microorganismes pathogènes et les ravageurs.

Les travaux en champ ont été effectués à Balamba1 dans la zone où l'isolat le plus virulent du centre (BFo) de notre collection a été récoltée. Tous les travaux de préparation de terrain se sont fait manuellement. Après défrichage du site à l'aide d'une machette, la délimitation des parcelles s'est faite avec un décimètre, les herbes ont été entassées et brûlées et les parcelles ont été labourées à l'aide d'une houe.

### **II.2.4.2.2. Dispositif expérimental**

Le dispositif expérimental en split-plot (système bi factoriel : variétés de tomates, traitements), constitué de 05 traitements pour chaque variété : T- (témoin sans traitement) ; T+ (bactéricide synthétique Furaplant super) ; T1 (fraction à l'hexane de l'huile : F.he.HL) ; T2 (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol : Fae.EOH) ; T3 (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux : F.ae.EA) a été utilisé ; disposé en trois blocs, chaque bloc était constitué de 05 parcelles. Les variétés constituaient le facteur principal randomisé dans les blocs à deux niveaux

(V1 : Roma, V2 : Cobra) et les traitements constituaient le facteur secondaire randomisé dans les blocs à cinq niveaux (Fig. 19). Chaque parcelle a mesuré 9 m<sup>2</sup> et 36 plants de tomates distants chacun de 0,5 m ont été repiqués dans chacune d'elle. Les parcelles étaient espacées de 1 m et les blocs de 2 m disposés perpendiculairement à la légère pente qui constituait le facteur d'hétérogénéité de la surface cultivée.

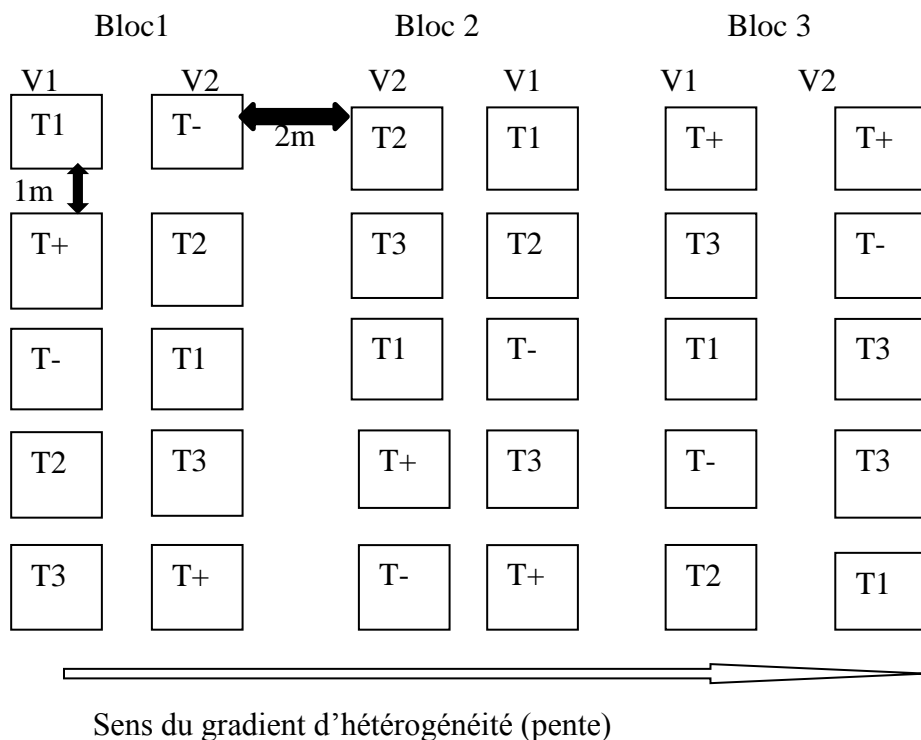


Fig. 19. Dispositif expérimental en champ.

T- : Témoin sans traitement ; T+ : furaplant super ; T1 : fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux (Fae.EA) ; T2 : fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol (Fae.EOH) ; T3 : fraction à l'hexane de l'huile (Fhe.HL).

#### II.2.4.2.3. Repiquage et entretien

Le repiquage a eu lieu 03 semaines après la mise en pépinière à raison de 36 plants par parcelle. Les paramètres ont été pris sur 20 plantes situées au centre de chaque parcelle, les autres plantes ont servi d'effet bordure. Le désherbage manuel a été effectué régulièrement afin d'éviter la concurrence des adventices en ce qui concerne la lumière, l'eau et les éléments nutritifs et pour éviter d'éventuels réservoirs d'agents pathogènes (nématodes, bactéries, virus, insectes)

#### II.2.4.2.4. Obtention des concentrations des extraits et traitement phytosanitaire

Les doses des différents traitements utilisées en champ étaient celles ayant données des bons résultats en laboratoire et en serre sur *R. solanacearum*, soit 25 ml/l pour la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux (T1) et 50 ml/l pour la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol (T2) et la fraction à l'hexane de l'huile (T3). Ces doses ont été ajustées et introduites dans un pulvérisateur à dos de 15 litres.

Le savon en poudre (10 g) a été ajouté dans les extraits comme agent mouillant afin de renforcer l'adhésion des produits sur les parties de la plante à traiter (Stoll, 1994).

La concentration du bactéricide de synthèse furaplant super a été celle recommandée par le fabricant à savoir 5g/poquet et le traitement s'effectuait après chaque deux semaines.

Les traitements des plantes ont débuté 14 jours après repiquage avant l'apparition des premiers symptômes du flétrissement bactérien (après reprise des plants). La fréquence d'application des traitements a été d'une fois par semaine à raison de 0,15 litres/plante, les parcelles témoins n'ont reçu aucun traitement. Les extraits ont été appliqués sur toutes les parties de la plante en insistant sur le collet et la rhizosphère de la plante.

#### **II.2.4.2.5. Influence des extraits des graines de *T. peruviana* sur les paramètres agromorphologiques**

La hauteur des tiges et le nombre de feuilles ont été déterminés, la collecte des données a débuté 21 jours après repiquage (JAR) et s'est terminée à 45 JAR. La hauteur des plants a été mesurée en mètre à l'aide d'un mètre ruban en partant du collet jusqu'à l'extrémité de la dernière feuille déployée sur chaque pied étiqueté. Le nombre de feuilles a été évalué par dénombrement.

#### **II.2.4.2.6. Influence des extraits des graines de *T. peruviana* sur les paramètres épidémiologiques**

L'évaluation de l'infection des plantes par la maladie a porté sur l'incidence et la sévérité. Le nombre de plants flétris à une date  $t$  a permis d'évaluer l'incidence de la maladie dont l'évolution au cours du temps a été représentée par la courbe  $IFB=f(t)$  et les données des IFB à différentes dates ont également permis d'évaluer la sévérité de la maladie à ces mêmes dates grâce au calcul de l'indice AUDPC (Launay, 2012).

#### **II.2.4.2.7. Influence des extraits des graines de *T. peruviana* sur le rendement**

Le rendement a été mesuré en tenant compte du nombre de fruits par pied échantillonné et du poids moyen des fruits. La pesée de chaque récolte a permis de déterminer la production de chaque parcelle élémentaire en fonction des traitements. Les valeurs obtenues ont par la suite été estimées à l'hectare en utilisant la formule de Svecnjack *et al.* (2006).

$$Rdt = PFFp \times NPG/S \times 10\,000$$

Avec PFFp : poids moyen des fruits frais de tomate par pied ;

NPG : nombre de pieds de tomate par parcelle élémentaire traitée ;

S : surface de chaque parcelle traitée ;

$$10\,000 \text{ m}^2 = 1 \text{ ha.}$$

## II.2.5 Analyse statistique

Les données ont été représentées sous forme de moyenne pour un minimum de trois répétitions. Le nombre de colonies (cfu) a été transformé en  $\log(\text{cfu}+1)$ , les valeurs des incidences de l'essai en serre en  $\text{asin}(\text{rac}(\text{IFB}))$  et les valeurs AUDPC en racine (AUDPC) afin de normaliser les données. Les histogrammes et les droites de régressions  $y=ax+b$  issues de la fonction  $\text{PI}=f(\ln \text{Ci})$  ont été réalisés à l'aide du tableur Excel 2013. L'analyse de variance ANOVA suivie d'un test de comparaisons multiples de Tukey des moyennes a été réalisée à l'aide du logiciel R version 3.5.1. Pour les tests (Tukey, Student-Newman-Fisher), le niveau de signification a été évalué au seuil 5 %.

**CHAPITRE III**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

### III. 1. Résultats

#### III.1.1.Caractérisation morphologique, biochimique et physiologique de *Ralstonia solanacearum*

##### III.1.1.1.Test à l'eau et caractérisation morphologique de *Ralstonia solanacearum*

Toutes les tiges coupées des plantes symptomatiques récoltées et immergées dans l'eau ont présentés un suintement blanchâtre dans l'eau claire. Les résultats montrent que tous les isolats bactériens isolés l'ont été sur milieu de culture Kelman ; les colonies étaient bien visibles et reconnaissables. De tous les isolats (30), vingt-neuf (29) ont présenté des colonies ayant un aspect muqueux, de forme irrégulière, de couleur blanchâtre évoluant à rosée au centre (Fig. 20a). Par contre l'isolat Mb1 a présenté des colonies de formes rugueuses, avec des petites colonies rondes de couleur rouge vif (Fig. 20b). Aucune formation des spores n'a été observée chez tous les isolats.

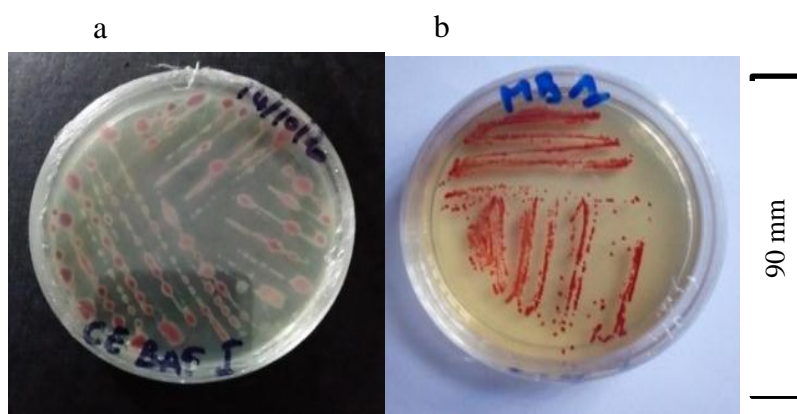


Fig. 20. Caractéristiques morphologiques de *R. solanacearum*. a) colonies de l'isolat virulent ; b) colonies de l'isolat avirulente.

##### III.1.1.2.Caractérisation microscopique et biochimique de *Ralstonia solanacearum*

Le tableau VI montrent que tous les isolats testés ont eu une réaction positive pour les tests de motilité, ont produit des bulles de gaz en présence du peroxyde d'hydrogène à 3 % attestant que les isolats sont des bactéries à catalase<sup>+</sup> (Fig. 21a), possèdent l'enzyme cytochrome oxydase car le développement de la couleur pourpre après frottement de petites quantités d'inoculum des bactéries sur le N,N-Diméthyl-phénylène diamine Dihydrochloride à été observé (Fig. 21b) et la formation des fils de boue après contacts des bactéries avec une solution de KOH à 1 % a également été observée, indiquant que ce sont des bactéries à KOH<sup>+</sup>. Mais tous les isolats testés étaient de coloration rose attestant que ce sont des bactéries Gram<sup>-</sup> (Fig. 21c). Par ailleurs, aucune activité de l'arginine dihydrolase n'a été observée car la coloration du milieu est restée inchangée (violet), confirmant ainsi une réaction négative pour la dégradation de l'arginine et l'absence de l'arginine dihydrolase dans les bactéries testées (Fig. 21d).

Tableau VI. Observations microscopiques et tests biochimiques

Zones agro écologique de prélèvement	codes isolats	test de motilité	coloration de Gram	test KOH	test catalase	test oxydase kovac	test arginine
Zone III :	BJ1	+	R	+	+	+	-
	BJ2	+	R	+	+	+	-
	BH1	+	R	+	+	+	-
	MB1	+	R	+	+	+	-
	MB2	+	R	+	+	+	-
	DSC	+	R	+	+	+	-
Hauts plateaux de l'Ouest	BFO4	+	R	+	+	+	-
	FM1	+	R	+	+	+	-
	FM2	+	R	+	+	+	-
	BH2	+	R	+	+	+	-
	FM4	+	R	+	+	+	-
	FM5	+	R	+	+	+	-
	FM6	+	R	+	+	+	-
Zone IV :	BFO1	+	R	+	+	+	-
	NKG1	+	R	+	+	+	-
Zone forestière à pluviométrie monomodale	NKG2	+	R	+	+	+	-
	NKG2'	+	R	+	+	+	-
	Ltn	+	R	+	+	+	-
Zone V :	W1	+	R	+	+	+	-
	W2	+	R	+	+	+	-
	BF <sub>0</sub>	+	R	+	+	+	-
	BF2	+	R	+	+	+	-
Zone forestière à pluviométrie bimodale	OSS	+	R	+	+	+	-
	OB1	+	R	+	+	+	-
	NK1	+	R	+	+	+	-
	NK3	+	R	+	+	+	-
	NK3'	+	R	+	+	+	-
	Ydé1	+	R	+	+	+	-
	Ydé5	+	R	+	+	+	-
Met	+	R	+	+	+	-	

(+) : positif ; (-) : négatif ; (R) : couleur rose.

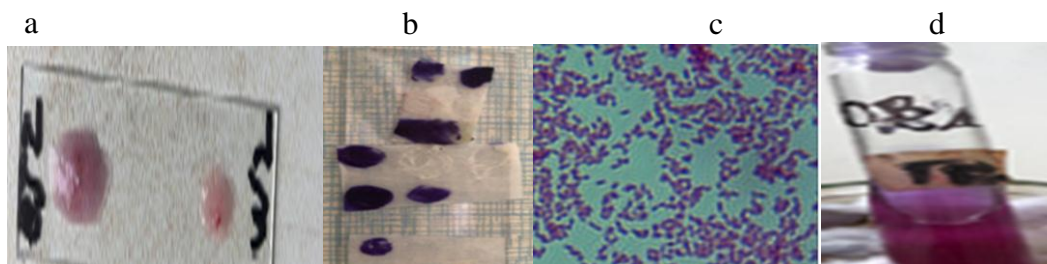


Fig. 21. Caractéristiques biochimiques de *R. solanacearum*. a) production des bulles de gaz (bactéries à catalase<sup>+</sup>) ; b) développement de la couleur pourpre sur papier filtre imprégné du réactif (test à l'oxydase Kovac<sup>+</sup>) ; c) bactéries Gram<sup>-</sup> ; d) tube contenant l'arginine non dégradé (test à l'arginine<sup>-</sup>).

### III.1.1.2.1. Test TSI

Le test TSI (tableau VII) révèle que tous les isolats ont fermenté le lactose et le saccharose avec formation d'une pente lactose et/ou saccharose dans les tubes (Fig. 22a), des dégagements de gaz ont également été observés (Fig. 22b) avec formation des culots jaunes au fond des tubes (Fig. 22c) attestant que les bactéries ont fermenté le glucose. Mais aucune réduction du sulfate n'a été observée.

Tableau VII. Résultat du test TSI

Zones agro écologique de prélèvement	codes isolats	penne lactose et/ou saccharose	culot	gaz	H <sub>2</sub> S
Zone III :  Hauts plateaux de l'Ouest	BJ1	+	+	-	-
	BJ2	+	+	-	-
	BH1	+	+	-	-
	MB1	+	+	-	-
	MB2	+	+	+	-
	DSC	+	+	+	-
	BFO4	+	+	-	-
	FM1	+	+	+	-
	FM2	+	+	-	-
	BH2	+	+	+	-
	FM4	+	+	+	-
	FM5	+	+	+	-
	FM6	+	+	-	-
BFO1	+	+	-	-	
Zone IV :	NKG1	+	+	+	-
	NKG2	+	+	+	-
Zone forestière à pluviométrie monomodale	NKG2'	+	+	+	-
	Ltn	+	+	-	-
Zone V :	W1	+	+	+	-
	W2	+	+	+	-
	BF <sub>0</sub>	+	+	-	-
	BF2	+	+	+	-
	OSS	+	+	+	-
Zone forestière à pluviométrie bimodale	OB1	+	+	-	-
	NK1	+	+	-	-
	NK3	+	+	+	-
	NK3'	+	+	-	-
	Ydé1	+	+	-	-
	Ydé5	+	+	+	-
	Met	+	+	+	-

(+): fermentation; (-): absence.

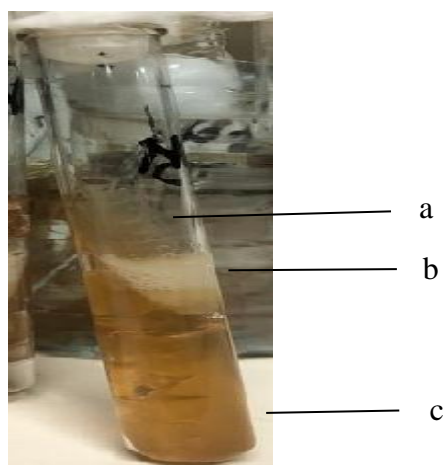


Fig. 22. Fermentation du glucose, du saccharose et du lactose par les bactéries testées. a) penne lactose et/ou saccharose, b) dégagement de gaz ; c) formation du culot jaune.

### III.1.1. 2. 2. Tests de détermination des biovars

Concernant le test de détermination des biovars, vingt-trois (23) isolats ont oxydé à la fois les sucres disaccharides (cellobiose, lactose, maltose) et les alcools hexoses (mannitol, dulcitol, sorbitol), identifiés comme biovar 3 (Tableau VIII), l'oxydation est caractérisée par le changement

de couleur du milieu qui vire du vert olive au jaune (Fig. 23). Cinq (05) isolats (Fm1, Fm6, BJ1, BJ2 et ydé 5) ont oxydé uniquement les sucres disaccharides, caractéristique des biovars 2 ; les isolats Fm1, Fm6 et BJ2 n'ont pas oxydé le tréhalose et le méso-inositol, par conséquent sont de biotype N2. Par contre les isolats BJ1 et Ydé 5 qui ont oxydé ces deux sucres sont de biotype 2T. Les biovars de deux (02) isolats (Mb1 et Fm2) récoltés dans les hauts plateaux de l'Ouest n'ont pas été déterminés. Par ailleurs toutes les plaques de contrôle des différents sucres et alcools de sucre sont restées inchangées (Fig. 22a).

Tableau VIII. Tests de détermination des biovars

Zones agro écologique de prélèvement	codes isolats	cellobiose	lactose	maltose	mannitol	dulcitol	sorbitol	tréhalose	mésositol	Biovars
Zone III: Hauts plateaux de l'Ouest	BJ1	+	+	+	-	-	-	+	+	2T
	BJ2	+	+	+	-	-	-	-	-	N2
	BH1	+	+	+	+	+	+			3
	MB1	+	-	+	-	-	-			ND
	MB2	+	+	+	+	+	+			3
	DSC	+	+	+	+	+	+			3
	BFO4	+	+	+	+	+	+			3
	FM1	+	+	+	-	-	-	-	-	N2
	FM2	-	+	+	-	-	+			ND
	BH2	+	+	+	+	+	+			3
	FM4	+	+	+	+	+	+			3
FM5	+	+	+	+	+	+			3	
FM6	+	+	+	-	-	-	-	-	N2	
BFO1	+	+	+	+	+	+			3	
Zone IV :	NKG1	+	+	+	+	+	+			3
	NKG2	+	+	+	+	+	+			3
Zone forestière à pluviométrie monomodale	NKG2'	+	+	+	+	+	+			3
	Ltn	+	+	+	+	+	+			3
Zone V :	W1	+	+	+	+	+	+			3
	W2	+	+	+	+	+	+			3
	BF <sub>0</sub>	+	+	+	+	+	+			3
	BF2	+	+	+	+	+	+			3
	OSS	+	+	+	+	+	+			3
	OB1	+	+	+	+	+	+			3
	NK1	+	+	+	+	+	+			3
	NK3	+	+	+	+	+	+			3
	NK3'	+	+	+	-	+	+			3
	Ydé1	+	+	+	+	+	+			3
Ydé5	+	+	+	-	-	-	+	+	2T	
Met	+	+	+	+	+	+			3	

ND: non déterminé

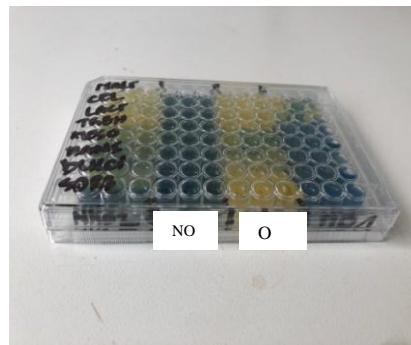


Fig. 23. Oxydation des hydrates de carbone par les bactéries testées. NO : lignes non oxydées (témoin) ; O :hydrates de carbone oxydés.

### III.1.1.3.Détermination des races

Les résultats de l'infiltration des feuilles de tabac avec différents isolats montrent que les isolats Fm2, Fm4, Oss, Ob1, Nk3', Ydé 5, NkG1, Nkg2, Nkg2' et Ltn ont causé le flétrissement des feuilles de tabac 5 jours après inoculation (Fig. 24a), ce qui indique leur appartenance à la race 1 (Tableau IX). Par contre les autres isolats, excepté l'isolat Mb1 ont provoqué le jaunissement après inoculation sur les feuilles de tabac traitées 72 heures après (fig. 24b). Les feuilles de tabac infiltrées avec de l'eau stérile et l'isolat Mb1 n'ont montré aucune réaction.

Tableau IX. Races de *R.solanacearum* infectant la tomate au Cameroun

Zones agro écologique de prélèvement	codes isolats	Races
Zone III: Hauts plateaux de l'Ouest	BJ1	3
	BJ2	3
	BH1	3
	MB1	ND
	MB2	3
	DSC	3
	BFO4	3
	FM1	3
	FM2	1
	BH2	3
	FM4	1
	FM5	3
	FM6	3
	BFO1	3
Zone IV :	NKG1	1
	NKG2	1
Zone forestière à pluviométrie Monomodale	NKG2'	1
	Ltn	1
Zone V :	W1	3
	W2	3
	BF <sub>0</sub>	3
	BF2	3
	OSS	1
	OB1	1
	NK1	3
	NK3	3
	NK3'	1
	Ydé1	3
	Ydé5	1
	Met	3

ND : non déterminé

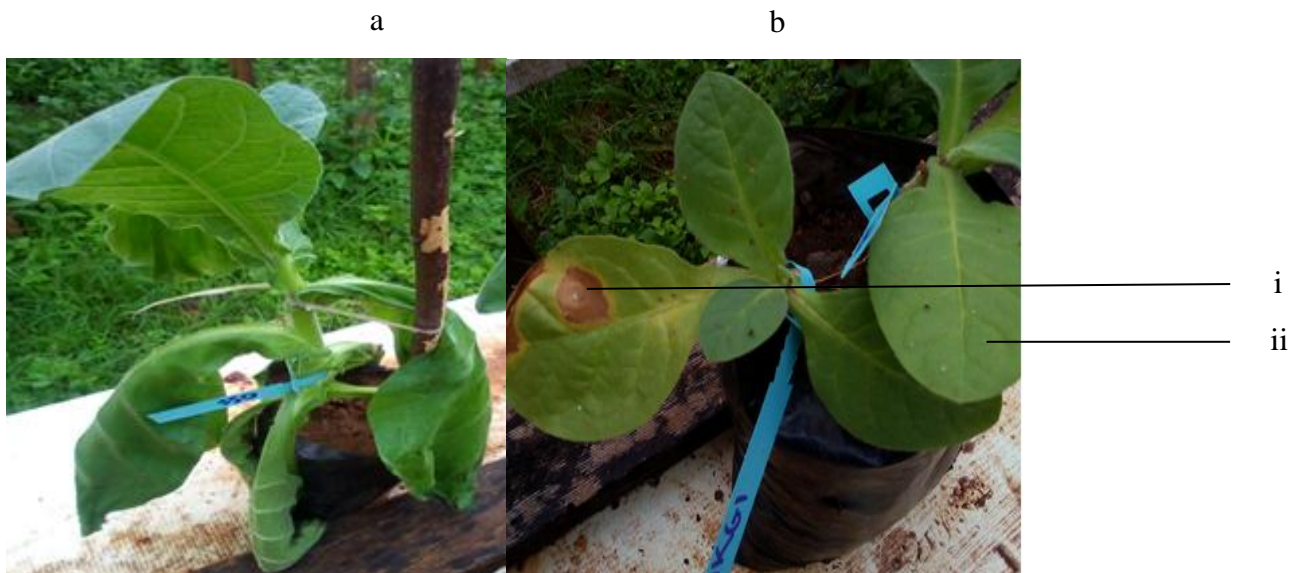


Fig. 24. Réactions d'hypersensibilité du tabac. a) flétrissement des feuilles de tabac infectées avec la race 1 de *R. solanacearum*; b) nécroses des feuilles de tabac dans les zones d'infiltration de la race 3 de *R. solanacearum* (i : zone nécrosée de la feuille après injection de la bactérie, ii : feuille non injectée par la bactérie)

#### III.1.1.4. Screening des souches virulentes

Les tests de pathogénicité en milieu gnotobiotique ont montré l'apparition des symptômes du flétrissement bactérien dans les 48 heures après inoculation racinaire, pratiquement toutes les souches causent la mort des plantules à partir de cette période. Une différence significative du taux de morts des plantules a été observée entre les plantes non inoculées (témoin) et les plantes inoculées car les plantes non inoculées par *R. solanacearum* n'ont présentées aucun symptôme de la maladie. Ce résultat indique que la mort des semis est causée par *R. solanacearum*. Les isolats Fm6 et Bfo se sont montrés très virulentes car le sixième jour après inoculation 100 % des plantules inoculées se sont avérées mortes (Tableau X).

Tableau X. Taux de plantules mortes après inoculation racinaire des souches

Zone agro écologique de prélèvement	Isolats	jour 1	jour 2	jour 3	jour 4	jour 5	jour 6	jour 7
Zone III:	FM1	0±0,0 h	7±1,72 h	12±3,1g	23±2,55f	51±1,7 cde	70±4,0 bcd	80±1,9bc
	FM2	0±0,0 h	8±1,85h	15±1,5g	28±3,15f	58±3,5 cde	75±2,5 bc	86±0,6 ab
	FM4	0±0,0 h	10±2,00g	18±2,5g	34±2,63ef	61±4,0bcd	80±2,6 bc	90±2,0 ab
	FM5	0±0,0 h	14±1,35g	25±3,0 f	40±2,15ef	66±3,2 bcd	85±4,8 ab	95±2,3 a
	FM6	0±0,0 h	25±2,03f	50±0,33def	78±3,68bc	90±2,4 ab	100±1,7 a	100±0,4 a
	Hauts plateaux de l'Ouest	BFO1	0±0,0 h	4±1,88 h	8±2,01h	18±2,20 g	40±2,3 def	63±4,5 bcd
BFO4		0±0,0 h	20±1,71 g	30±2,75f	54±4,2cde	70±2,7 bcd	88±3,3 ab	98±0,3 a
DSC		0±0,0 h	12±1,57 g	25±0,77f	50±3,25def	78±3,5 bc	90±3 ab	100 ±0,1a
BJ1		0±0,0 h	15±1,42 g	25±2,0 f	40±1,78 ef	65±1,9 bcd	85±2,3 ab	95±1,30 a
BJ2		0 ±0,0 h	4±1,82 h	12±0,33g	25±1,78 f	55±1,7 cde	72±1,9 bc	85±2,7 ab
BH1		0±0,0 h	5±2,01 h	12±4,2 g	25±2,05 f	56±2,0 cde	73±3,5 bc	85±2,3 ab
BH2		0±0,0 h	0±0,01 h	5±2,05 h	12±1,78 g	41±1,2 def	59±0,9 cde	70±2,7bcd
MB2		0±0,0 h	2±1,27 h	5±2,78 h	15±1,56 g	44±3,3 def	62±4,3 bcd	72±3,1 bc
Zone IV :	NKG1	0±0,0 h	0±1,0 h	1 ±0,88 h	5±1,79 h	12±1,8 g	30±1,8 f	46±2,6def
	NKG2	0±0,0 h	0±0,0 h	2±1,05 h	7±1,99 h	8±0,3 h	40±3,2 ef	55±2,9cde
Zone forestière à pluviométrie monomodale	NKG2'	0±0,0 h	0±0,5 h	7±2,76 h	15±0,88g	38±2,0 ef	60±2,0cde	80±3,0 bc
	Ltn	0±0,0 h	5±1,97 h	10±3,05g	20±1,86g	45±2,61 def	65±1,6 bcd	90±0,4 ab
Zone V :	W1	0±0,0 h	0±0,0 h	0 ±1,2h	2±1,72e	5±1,11 h	28±2,89 f	45±4,2def
	W2	0±0,0 h	0±1,1 h	1±0,32 h	5±0,52e	10±0,66 g	32±0,9 ef	50±1,6def
Zone forestière à pluviométrie bimodale	OSS	0±0,0 h	4±2,26 h	8±2,22 h	17±2,75g	46±2,5 def	65±1,3 bcd	75±2,2 bc
	BF0	0±0,0 h	26±1,63 f	51±3,75cde	75±3,26bc	91±3,8 ab	100±0,6 a	100±0,3 a
	BF2	0±0,0 h	17±1,90 g	38±0,79 ef	55±2,46cde	65±3,7bcd	79±3,1 bc	95±2,6 a
	NK1	0 ±0,0 h	23±1,22 f	48±1,98 def	67±4,4bcd	78±1,5 bc	95±2,5 a	100±0,1 a
	NK3	0±0,0 h	4±1,73 h	12±2,12 g	25±3,22f	55±2,1 cde	72±2,2 bc	85±1,8 ab
	NK3'	0±0,0 h	10±0,77 g	18±3,78 g	35±1,15ef	60±3,7cde	80±2,5 bc	90±2,5 ab
	OB1	0±0,0 h	0±1,5 h	1±0,05 h	8±1,57h	17±1,8 g	42±0,3 def	60±3,1cde
	Ydé1	0±0,0 h	17±3,01 g	38±4,11ef	55±3,25cde	65±0,9 bcd	79±2,3 abc	95±1,9 a
	Ydé5	0±0,0 h	0±0,2 h	5±0,65 h	12±1,73g	41±1,8 def	59±2,7 cde	70±2,9bcd
	Met	0±0,0 h	0±0,0 h	0 ±0,03h	2±0,18 h	5±0,5 h	28±1,8 f	45±1,4def
	Témoin	0±0,0 h	0±0,0 h	0±0,0h	0±0,0h	0±0,0 h	0±0,0 h	0±0,0 h

Les valeurs dans les colonnes ayant les lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5% selon le test de Tukey.

### III.1.2. Effet antibactérien des extraits des graines de *T. peruviana* sur la croissance *in vitro* de *R. solanacearum*

#### III.1.2.1. Rendements d'extraction

Le rendement et les caractéristiques de chaque extrait obtenu diffèrent selon le solvant d'extractions utilisées et la méthode d'extraction. En effet, la pression avec la main de 500g de poudre mélangés à 25 ml d'eau chaude afin d'obtenir l'huile de laurier a donné le rendement le plus élevé (26,08 %) suivie de l'extrait aqueux avec un rendement de 18 %. L'extrait à l'éthanol a donné le rendement le plus faible (12,12 %). L'extrait aqueux a présenté un aspect liquide et une couleur blanchâtre, l'huile de laurier un aspect huileux, une couleur marronne tandis que l'extrait à l'éthanol a un aspect huileux et une couleur jaunâtre (Tableau XI).

Tableau XI. Rendements d'extraction des différents extraits

Extrait	Rendement (%)	Caractéristique
Aqueux	18	liquide et blanchâtre
Huile	26,08	huileux et marron
Ethanol	12,12	huileux jaunâtre

#### III.1.2.2. Screening phytochimique des extraits

Le screening a révélé la présence de nombreux composés chimiques appartenant à des familles différentes tels que les huiles essentielles, les stérols, les coumarines, les phénols, les sucres, les tannins, les alcaloïdes et les saponines. Cependant l'extrait aqueux s'est montré plus riche en stérols et en sucres ; les coumarines, les huiles essentielles et les alcaloïdes ont été présentes mais en faible quantité. L'extrait à l'éthanol s'est montré plus riche en flavonoïde, en tannins et en terpénoïdes. Par contre l'extrait à l'huile s'est montré plus riche en huiles essentielles et saponifiables (Tableau XII).

Tableau XII. Apparition des composés naturels dans les extraits de *T. peruviana*

Famille des composés	Résultats		
	Extrait à l'éthanol	Extrait aqueux	Huile
Huiles saponifiables	-	+	+++
Huiles essentielles	+++	+	+++
Phénols	-	-	+
Coumarines	-	+	-
Saponines	+++	++	-
Flavonoïdes	++	-	-
Alcaloïdes	-	+	-
Tannins galliques	++	-	+
Terpénoïdes	+++	-	+
Stérols	++	+++	-
Sucres	++	+++	-

'-' absence, '+' présence, '++' présence abondante, '+++' présence très abondante du produit.

### III.1.2.3. Evaluation du potentiel antibactien des extraits des graines de *T. peruviana*

La croissance de *R. solanacearum* a été totalement inhibée par les extraits de *T. peruviana* testés. A 72 heures après incubation, aucune colonie n'a été observée à la dose C4 (100 µl/ml) et ce, sur toutes les souches et pour tous les extraits testés comparativement aux témoins où l'on a observé un nombre de colonies d'environ 10 log CFU/ml ( $P < 0,05$ ).

#### III.1.2.3.1. Effet *in vitro* de l'extrait à l'éthanol

L'extrait à l'éthanol s'est révélé plus efficace, une différence significative au seuil de 5 % selon le test de Tukey-Newman-Fisher en nombre de colonies a été observée entre le témoin et les différents traitements (Fig. 25) avec à la dose C3 (50 µl/ml) un nombre de colonies d'environ 5,78 log CFU/ml ; 5,10 log CFU/ml et 4,52 log CFU/ml respectivement pour les isolats Fm6, Bfo et Ltn, avec une sensibilité plus élevée de la souche Ltn. Concernant l'isolat Fm6, l'extrait à l'éthanol est le seul extrait à avoir présenté une différence significative entre la dose C1 (12,5 µl/ml) et le témoin au seuil 5 % selon le test de Tukey-Newman-Fisher.

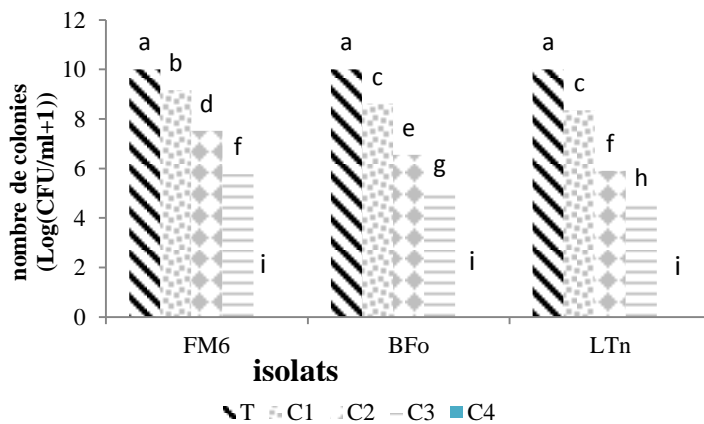


Fig. 25. Effet de l'extrait à l'éthanol de *T. peruviana* sur la croissance de *R. solanacearum*. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Tukey).

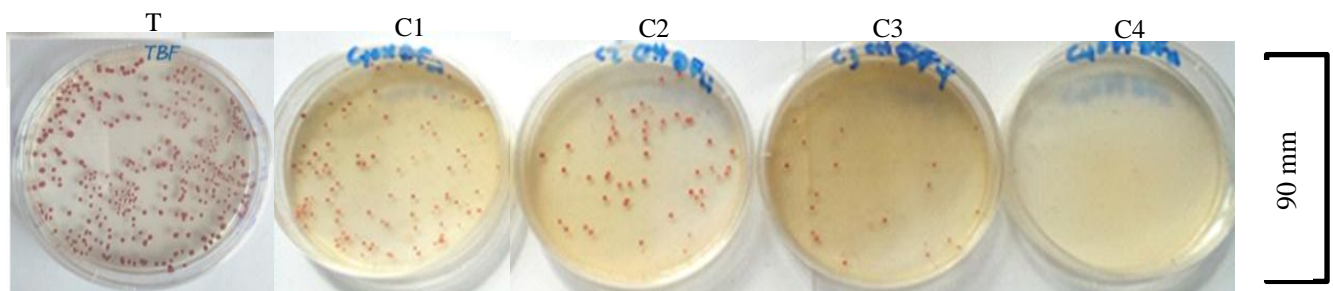


Fig. 26. Vue du nombre de colonies sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait à l'éthanol de *T. Peruviana* 72h après incubation. C1= 12,5 µl/ml; C2= 25 µl/ml ; C3= 50 µl/ml; C4= 100 µl/ml; T= témoin.

#### III.1.2.3.2. Effet *in vitro* de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux n'a présenté aucune différence significative au seuil de probabilité de 5 % selon le test de Tukey-Newman-Fisher entre la dose C1 (12,5 µg/ml) et le témoin (Fig. 27). Mais une différence significative a été observée à la dose C3 (50 µg/ml) avec un nombre de colonies

d'environ 6,30 log CFU/ml ; 5,88 log CFU/ml ; 5,43 log CFU/ml respectivement pour les isolats Fm6, Bfo et Ltn en comparaison aux témoins qui ont présenté un nombre de colonies d'environ 10 log CFU/ml. Aucune colonie n'a poussé sur le traitement C4 (100 µg/ml).

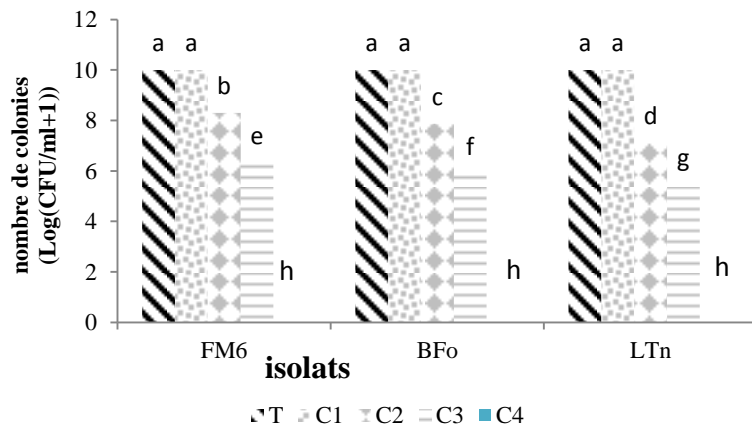


Fig. 27. Effet de l'extrait aqueux de *T. peruviana* sur la croissance de *R. solanacearum*. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Tukey).

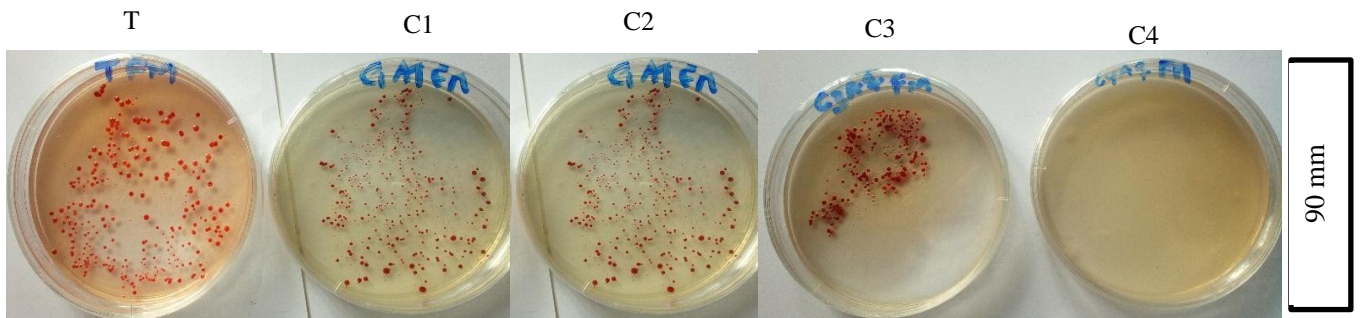


Fig. 28. Vue du nombre de colonies sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait aqueux de *T. Peruviana* 72h après incubation. C1= 12,5 µg/ml; C2= 25 µg/ml ; C3= 50 µg/ml; C4= 100 µg/ml; T= témoin.

### III.1.2.3. Effet *in vitro* de l'huile de *T. peruviana*

L'huile de *T. peruviana* a également réduit la croissance de *R. solanacearum*, les populations étaient d'environ 6,97 log CFU/ml ; 6,68 log CFU/ml et 6,23 log CFU/ml à la dose C3 (50 µl/ml) respectivement pour les isolats de Fm6, Bfo et Ltn significativement inférieur au témoin où environ 10 log CFU/ml ont été observées (Fig. 29). Une inhibition totale a été observée à la dose C4 (100µl/ml).

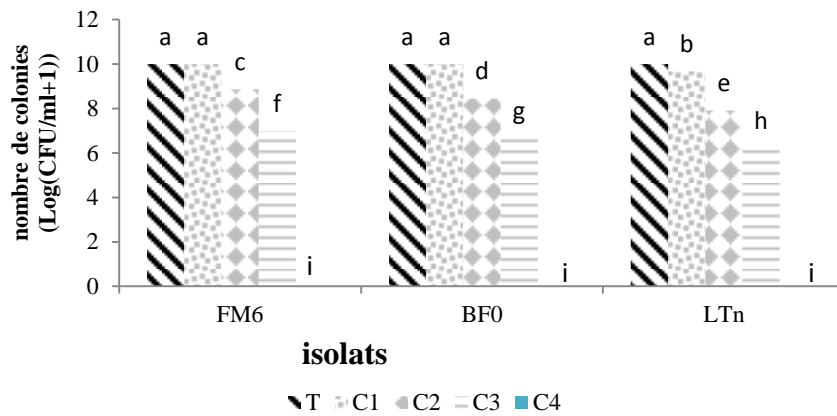


Fig. 29. Effet de l'huile de *T. peruviana* sur la croissance de *R. solanacearum*. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Tukey).

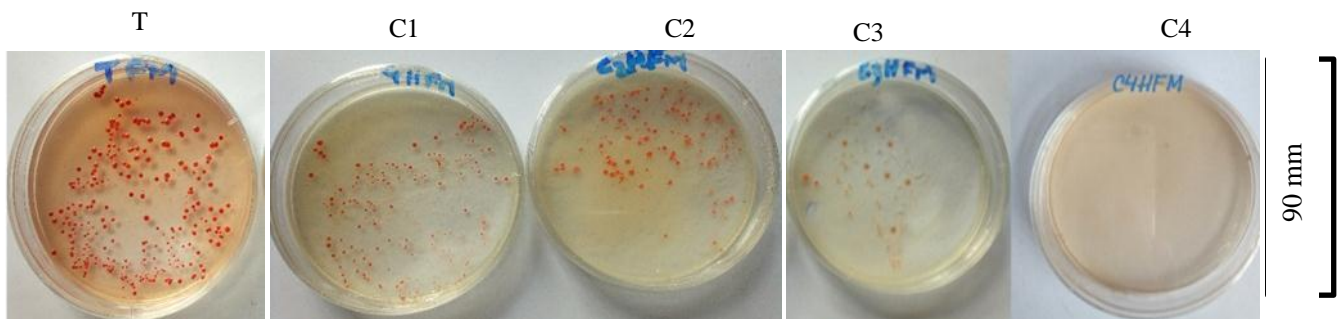
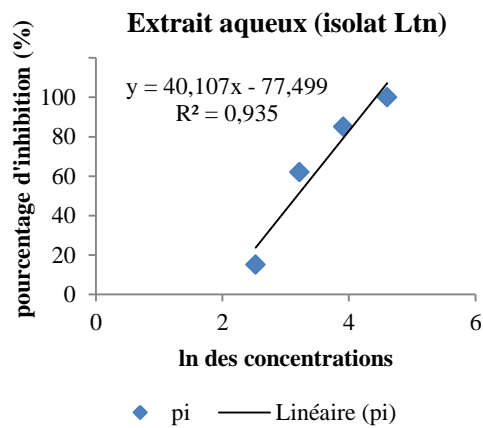
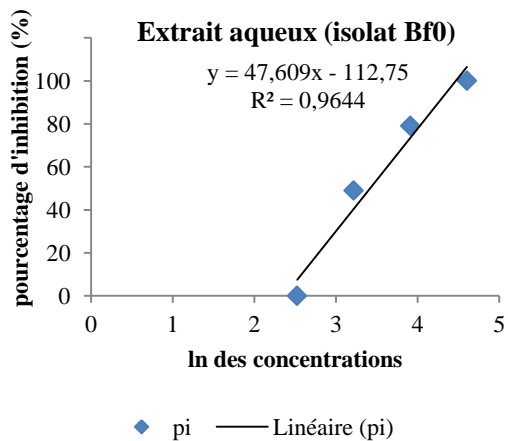
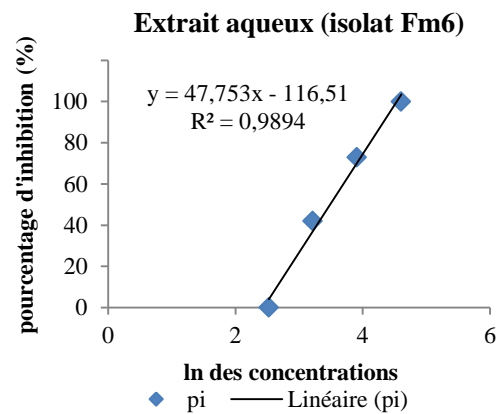
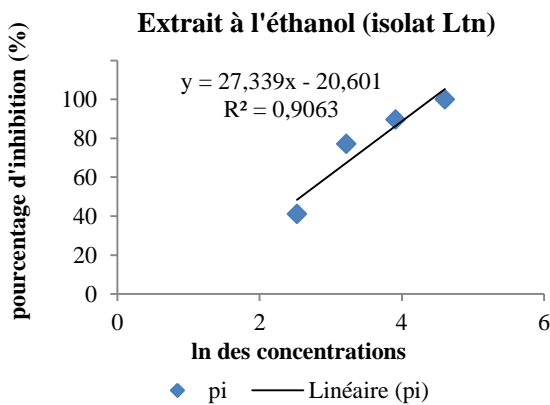
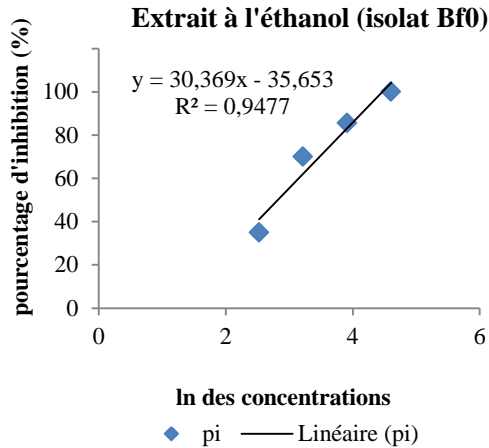
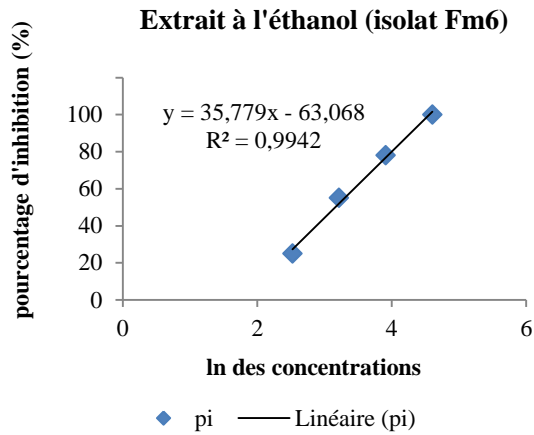


Fig. 30. Vue du nombre de colonies sous l'effet des différentes concentrations de l'huile de *T. Peruviana* 72h après incubation. C1= 12,5 µl/ml; C2= 25 µl/ml ; C3= 50 µl/ml; C4= 100 µl/ml; T= témoin.

### III.1.2.4. Tests de corrélation entre les différentes concentrations et les pourcentages d'inhibition

Les équations de régression obtenues avec les extraits ont montré des relations linéaires croissantes. Les trois extraits utilisés lors des traitements ont présenté des droites de régression à pentes positives : ( $y = 35,77x - 63,06$  ;  $y = 30,36x - 35,65$ ;  $y = 27,33x - 20,60$ ) ; ( $y = 47,75x - 116,5$  ;  $y = 47,60x - 112,7$  ;  $y = 40,10x - 77,49$ ) ; ( $y = 47,89x - 121,2$  ;  $y = 47,32x - 116,2$  ;  $y = 44,00x - 99,13$ ) respectivement pour l'extrait à l'éthanol, l'extrait aqueux et l'huile (Fig.31) et correspondant respectivement aux isolats Fm6, Bfo et Ltn.



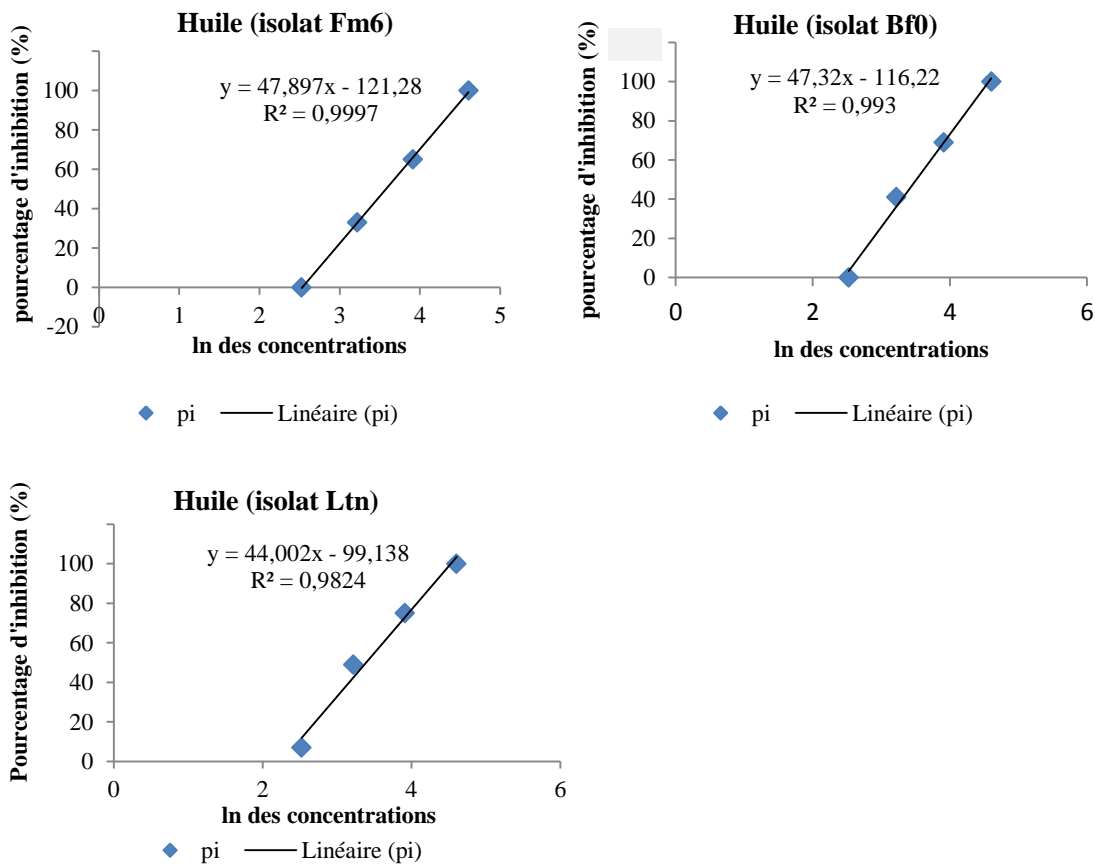


Fig. 31. Droites de régressions des extraits de *T. peruviana*

Une forte corrélation parfaite et positive a été obtenue entre les concentrations des différents extraits et les pourcentages d'inhibition de la croissance des trois isolats de *R. solanacearum* car, le coefficient de corrélation  $r$  étant supérieur à 0,8 (Tableau XIII). Donc plus la concentration augmente, plus l'inhibition est élevée.

Tableau XIII. Corrélation entre les pourcentages d'inhibition et les concentrations sur les différents isolats testés avec les 03 extraits de *Thevetia peruviana*.

Extraits	Isolats	Coefficient corrélation	Interprétation
Ethanol	Fm6	0,99	Fortement corrélé
	Bfo	0,97	Fortement corrélé
	Ltn	0,95	Fortement corrélé
Aqueux	Fm6	0,99	Fortement corrélé
	Bfo	0,98	Fortement corrélé
	Ltn	0,96	Fortement corrélé
Huile	Fm6	0,99	Fortement corrélé
	Bfo	0,99	Fortement corrélé
	Ltn	0,99	Fortement corrélé

### III.1.2.5. Concentrations minimales inhibitrices CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> et concentrations minimales bactéricides CMB des différents extraits

Les droites de régression obtenues après les tests de corrélation ont permis de déterminer les concentrations des différents extraits inhibant de 50 % toutes les isolats de *R. solanacearum* testés. Les plus faibles doses ont été obtenues avec l'extrait à l'éthanol (23,57 ; 16,77 et 13,19 µl/ml) respectivement pour les isolats Fm6, Bfo et Ltn. De même, les plus faibles doses de CMI<sub>90</sub> ont été obtenues avec le même extrait (71,52 ; 62,17 ; 56,82 µl/ml) justifiant ainsi sa plus forte efficacité par rapport aux deux autres extraits. L'isolat Fm6 a enregistré les CMI les plus élevés, suivis de l'isolat Bfo confirmant ainsi une virulence plus élevée que l'isolat Ltn (Tableau XIV).

Tableau XIV. Concentrations minimales inhibant la croissance de *R. solanacearum*

Isolats	Extrait à l'éthanol		Extrait aqueux		Huile	
	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>
FM6	23,57	71,52	32,45	75,18	35,51	82,26
BFo	16,77	62,17	30,26	70, 10	33,44	77,47
LTn	13,19	56,82	23,80	64,71	29,37	72,96

Les concentrations minimales bactéricides (CMB) des différents extraits ont été déterminées sur chaque isolat. Aux concentrations 95 µl/ml, 90 µl/ml et 85 µl/ml de l'extrait à l'éthanol et de l'extrait aqueux respectivement pour les isolats Fm6, Bfo et Ltn, aucune croissance de *R. solanacearum* n'a été observée après 96 heures d'incubation. L'huile a présenté les CMB les plus élevées, elles ont été de 100 µl/ml pour les isolats Fm6 et Bfo et de 95 µl/ml pour l'isolat LTn (Tableau XV).

Tableau XV. Concentrations minimales bactéricides des différents extraits sur *R. solanacearum*

Isolats	CMB extrait à l'éthanol	CMB extrait aqueux	CMB huile
FM6	95	95	100
BFo	90	90	100
LTn	85	85	95

### III.1.3. Détermination des principaux métabolites secondaires à effet antibactérien

#### III.1.3.1. Rendements d'extraction des différentes fractions

Le rendement, la couleur et l'aspect des différentes fractions obtenues dépendent du solvant d'extraction utilisé. Concernant la fraction de l'extrait à l'éthanol, l'hexane a donné le rendement le plus élevé (49,20 %) et l'acetate d'éthyle le rendement le plus faible (5 %). Le butan-1-ol a donné un rendement de 10,63 %. La fraction à l'acétate d'éthyle et au butan-1-ol ont un aspect pâteux et

de couleur marron tandis que la fraction à l'hexane a un aspect huileux et de couleur marron foncé (Tableau XVI).

Tableau XVI. Rendements d'extraction des différentes fractions de l'extrait à l'éthanol

Fractions de l'extrait à l'éthanol	Rendements (%)	Caractéristiques
Fraction à l'acétate d'éthyle	5	pâteux et marron clair
Fraction à l'hexane	49,29	huileux et marron clair
Fraction au butan-1-ol	10,63	pâteux et marron foncé

Pour les fractions de l'extrait aqueux, le rendement le plus élevé est obtenu avec l'acétate d'éthyle (61,2 %), suivi de l'extraction avec le butan-1-ol (57,6 %). L'extraction à l'hexane présente un rendement faible (15,6 %). Toutes ces fractions ont présenté un aspect huileux et une couleur marron (Tableau XVII).

Tableau XVII

Tableau XVII. Rendements d'extraction des différentes fractions de l'extrait aqueux

Fractions de l'extrait aqueux	Rendement (%)	Caractéristiques
Fraction à l'acétate d'éthyle	61,2	huileux et marron foncé
Fraction à l'hexane	15,6	huileux et marron foncé
Fraction au butan-1-ol	57,6	huileux et marron clair

S'agissant des fractions de l'huile, l'extraction au butan-1-ol a donné un rendement élevé (83,33 %) et l'hexane le rendement le plus faible (5,12 %). Toutes les fractions présentent un aspect huileux et une couleur marron (Tableau XVIII).

Tableau XVIII. Rendements d'extraction des différentes fractions de l'huile

Fractions de l'huile	Rendement (%)	Caractéristiques
Fraction à l'acétate d'éthyle	12,82	huileux et marron clair
Fraction à l'hexane	5,12	huileux et marron clair
Fraction au butan-1-ol	83,33	huileux et marron foncé

### III.1.3.2. Effets des différentes partitions sur la croissance *in vitro* de *R. solanacearum*

#### III.1.3.2.1. Effets des fractions de l'extrait à l'éthanol

A 48 heures après incubation, toutes les fractions ont totalement inhibé la croissance de *R. solanacearum* à la dose C3=100 µl/ml (Fig. 32A). La fraction au butan-1-ol ne présente aucune différence significative ( $p < 0,05$ ) à la dose C1=25 µl/ml en comparaison au témoin. Mais une différence significative est observée à la dose C2=50 µl/ml.

A 72 heures après incubation, de nouvelles colonies se sont formées sur les plaques modifiées avec les fractions au butan-1-ol et à l'hexane (Fig. 32B), les pourcentages d'inhibition ont été de 65,16 % et 79,83 % à la dose C2= 50 µl/ml respectivement pour la fraction au butan-1-ol

et la fraction à l'hexane. Aucune croissance de colonies n'est observée à la dose C2 de la fraction à l'acétate d'éthyle.

La fraction à l'acétate d'éthyle s'est montrée plus efficace que toutes les autres fractions avec 100 % d'inhibition obtenu à la dose C2=50 µl/ml. Cinq (05) concentrations de cette fraction ont été testées, aucune différence significative n'a été observée à la dose Co'=6,25 µl/ml en comparaison au témoin (Fig. 33) tandis que les doses Co=12,5 µl/ml, C1=25 µl/ml ont inhibé la croissance de *R. solanacearum* à 36,66 % et 65,33 % respectivement.

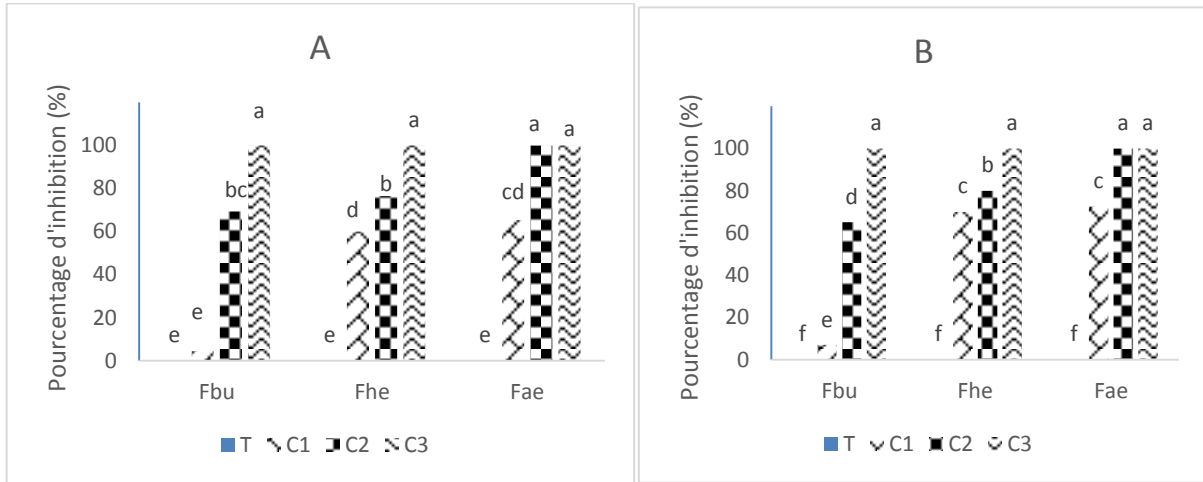


Fig. 32. Pourcentage d'inhibition des fractions de l'extrait à l'éthanol. A : 48 heures après incubation ; B : 72 heures après incubation. Avec T : témoin ; C1 :25 µl/ml ; C2 :50 µl/ml ; C3 :100 µl/ml. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Tukey).

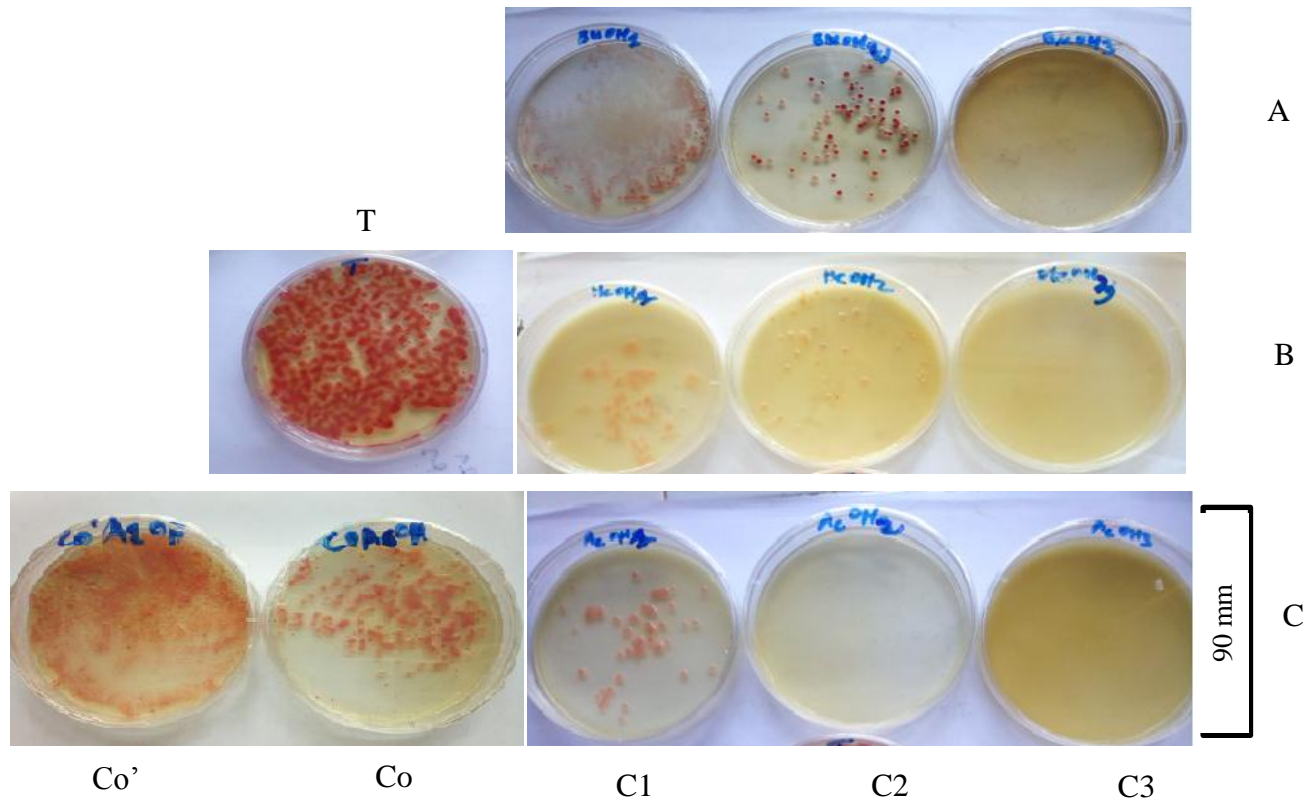


Fig. 33. Croissance des colonies sur les milieux amandés avec les fractions de l'extrait à l'éthanol. A : Fraction au butan-1-ol ; B : Fraction à l'hexane ; C : Fraction à l'acétate d'éthyle.

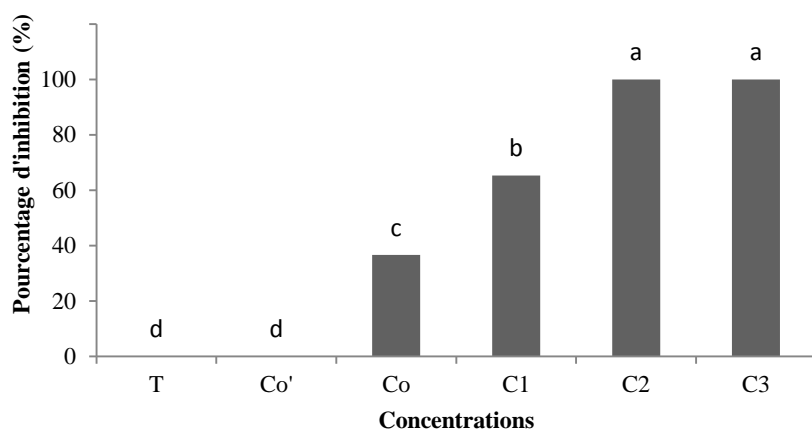


Fig. 34. Pourcentage d'inhibition de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol. T : témoin ; Co' : 6,25 µl/ml ; Co : 12,5 µl/ml ; C1 : 25 µl/ml ; C2 : 50 µl/ml ; C3 : 100 µl/ml. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (test de Tukey).

### III.1.3.2.2. Effets des fractions de l'extrait aqueux

L'inhibition totale est également observée à la dose C3=100 µl/ml pour toutes les fractions testées à 48 heures après incubation (Fig. 35A). Les pourcentages d'inhibition de la fraction au butan-1-ol : 77,33 % et 87,11 % correspondant aux doses C1=25 µl/ml et C2=50 µl/ml respectivement, sont supérieures à ceux obtenus avec avec la fraction à l'hexane (35,55 ; 53,77 %).

A 72 heures après incubation, de nouvelles colonies se sont formées sur les milieux amendés avec la fraction au butan-1-ol et à l'hexane ramenant les potentiels d'inhibition à 83,33 % et 33,66 % à la dose C2=50 µl/ml respectivement pour la fraction au butan-1-ol et la fraction à l'hexane (Fig. 35B). Aucune colonie n'a poussé sur les milieux amendés avec la fraction à l'acétate d'éthyle aux différentes doses testées. Cette fraction s'est donc montrée plus efficace, une différence significative ( $p < 0,05$ ) est observée à partir de la dose Co=12,5 µl/ml en comparaison au témoin (Fig.36).

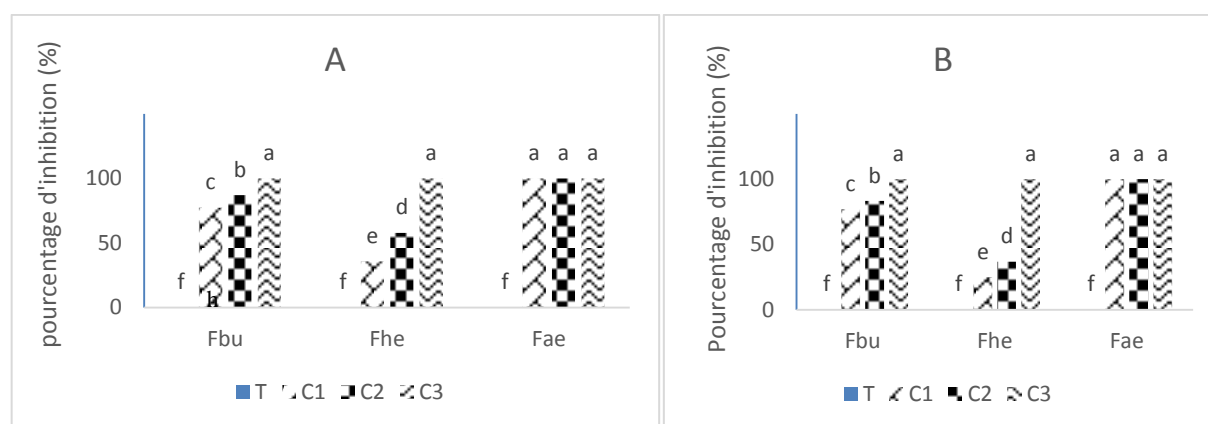


Fig. 35. Pourcentage d'inhibition des fractions de l'extrait aqueux. A : 48 heures après incubation ; B : 72 heures après incubation. Avec T : témoin ; C1 : 25 µl/ml ; C2 : 50 µl/ml ; C3 : 100 µl/ml. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (test de Tukey).

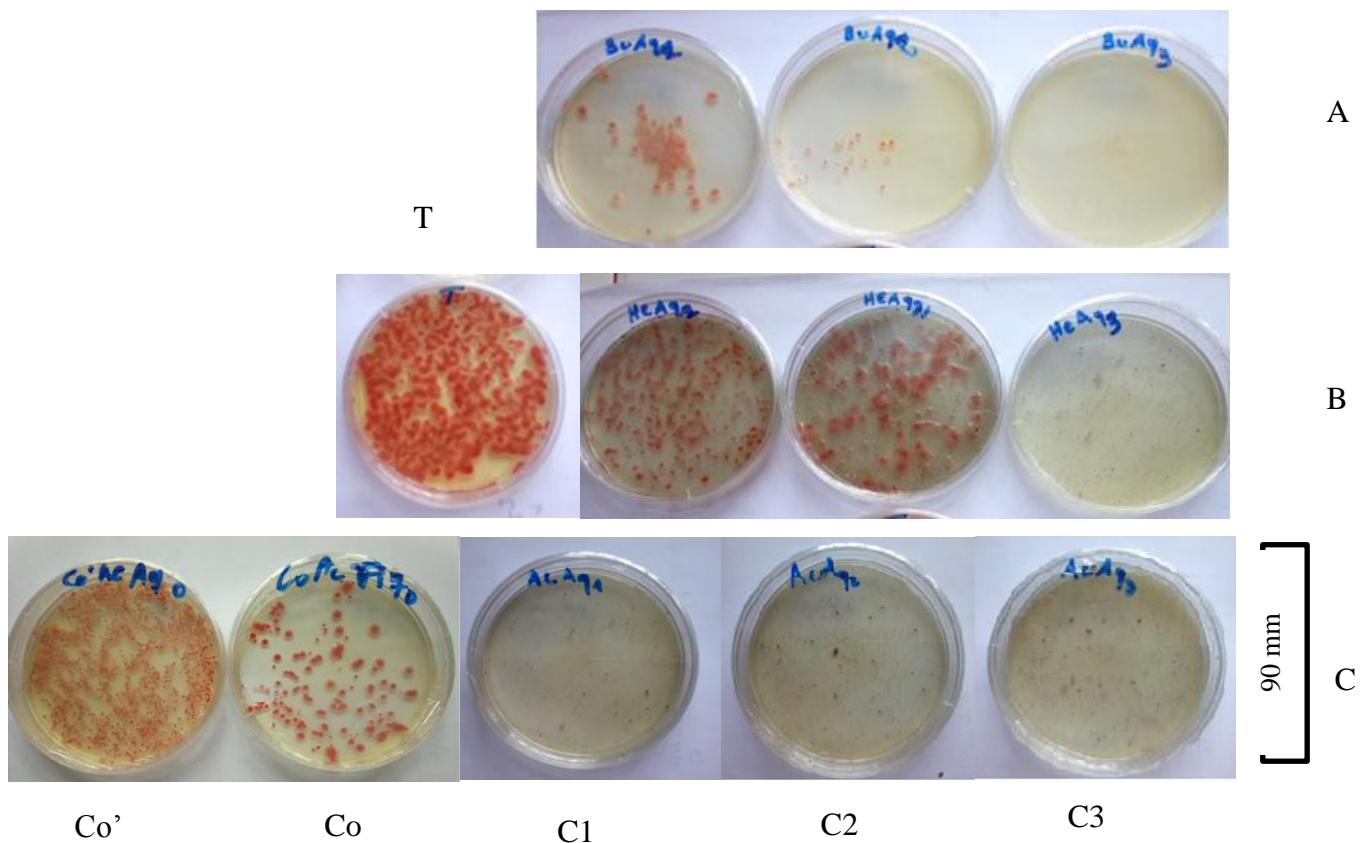


Fig. 36. Croissance des colonies sur les milieux amendés avec les fractions de l'extrait aqueux. A : Fraction au butan-1-ol ; B : Fraction à l'hexane ; C : Fraction à l'acétate d'éthyle. Avec T : témoin ; Co' : 6,25 µl/ml ; Co : 12,5 µl/ml ; C1 :25 µl/ml ; C2 :50 µl/ml ; C3 :100 µl/ml.

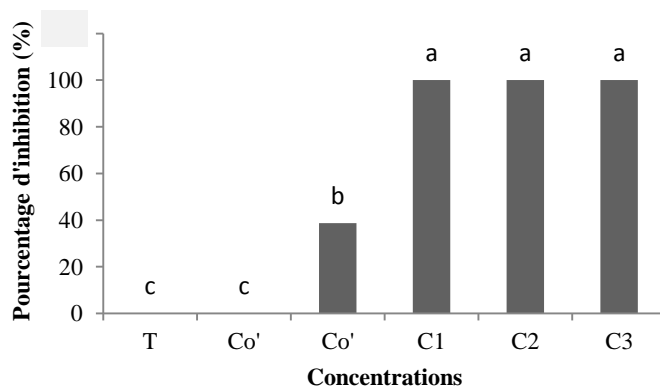


Fig. 37. Pourcentage d'inhibition de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux. T : témoin ; Co' : 6,25 µl/ml ; Co : 12,5 µl/ml ; C1 :25 µl/ml ; C2 :50 µl/ml ; C3 :100 µl/ml. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (test de Tukey).

### III.1.3.2.3. Effets des fractions de l'huile des graines de *T. peruviana*

La fraction à l'acétate d'éthyle de l'huile s'est montrée moins efficace que les autres fractions. Aucune différence significative n'a été observée à la dose C1=25 µl/ml en comparaison au témoin (Fig. 38). La meilleure inhibition a été obtenue sur les milieux amendés avec la fraction à l'hexane dont les pourcentages d'inhibition obtenus 72 heures après incubation sont de 65 % et 88,16 % aux doses C1=25 µl/ml et C2=50 µl/ml respectivement. Une inhibition totale est obtenue à la concentration C3=100 µl/ml. Cinq (05) concentrations de la fraction à l'hexane ont été testées,

Co'=6,25 µl/ml et Co=12,5 µl/ml ont inhibé la croissance de *R. solanacearum* à 35 % et 45 % respectivement (Fig.39).

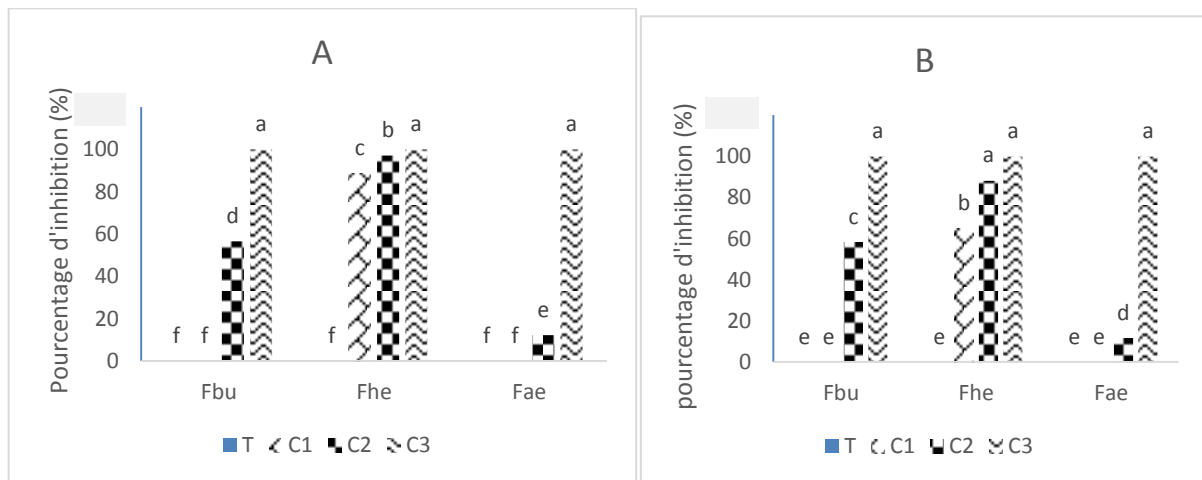


Fig. 38. Pourcentage d'inhibition des fractions de l'huile de *T. peruviana*. A : 48 heures après incubation ; B : 72 heures après incubation. T : témoin ; C1 :25 µl/ml ; C2 :50 µl/ml ; C3 :100 µl/ml. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (test de Tukey).

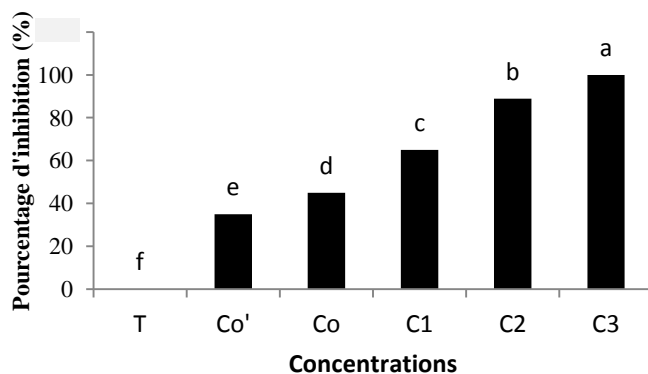


Fig. 39. Pourcentage d'inhibition de la fraction à l'hexane de l'huile de *T. peruviana*. T : témoin ; Co' : 6,25 µl/ml ; Co : 12,5 µl/ml ; C1 :25 µl/ml ; C2 :50 µl/ml ; C3 :100 µl/ml.

### III.1.3.3. Tests de corrélation entre les différentes concentrations des fractions efficaces et les pourcentages d'inhibition

Les fractions de l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux et de l'extrait à l'éthanol et la fraction à l'hexane de l'huile ont été très efficaces contre *R. solanacearum*. Toutes les droites obtenues présentent des pentes positives et des corrélations parfaites entre les concentrations et les différents pourcentages d'inhibition (Fig. 40). Les équations de regression obtenues avec ces trois fractions montrent des relations linéaires croissantes d'ordre de  $y=47,41x-85,69$  ;  $y=72,13x-135,9$  ;  $y=24,98x-13,78$  respectivement pour les fractions à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol et de l'extrait aqueux et pour la fraction à l'hexane de l'huile.

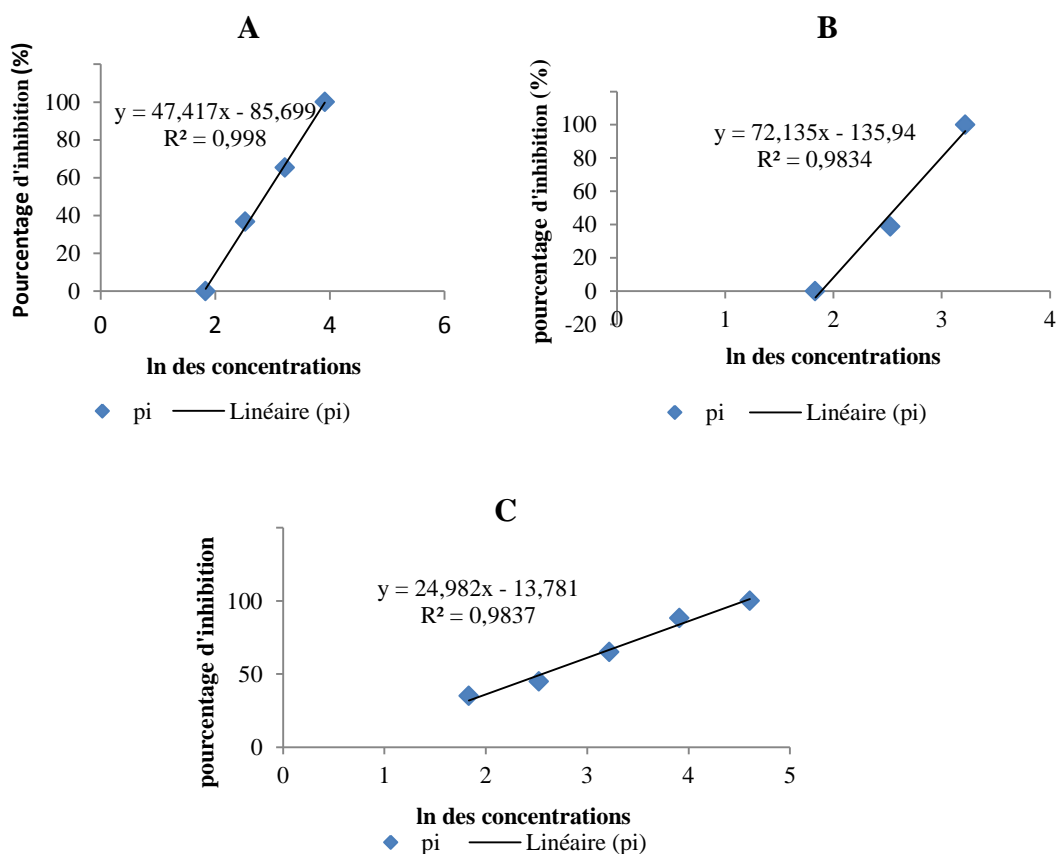


Fig. 40. Droites de regression des 03 fractions efficaces des extraits des graines de *T. peruviana*. A :fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol ; B :fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ; C :fraction à l'hexane de l'huile.

Une forte corrélation parfaite et positive a été obtenue entre les différentes concentrations et les pourcentages d'inhibition obtenus (Tableau XIX).

Tableau XIX. Corrélation entre pourcentage d'inhibition et les concentrations des fractions les plus efficaces

Fractions des extraits	Coefficient de corrélation	Interprétation
F.ae.EoH	0,99	fortement corrélé
F.ae.EA	0,99	fortement corrélé
F.he.HL	0,99	fortement corrélé

F.ae.EoH : fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ; F.ae.EA : fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ; F.he.HL : fraction à l'hexane de l'huile.

Les concentrations minimales inhibant de 50 % (CMI50) et 90 % (CMI90) et les concentrations minimales bactéricides (CMB) des différentes fractions ont été déterminées. Les plus faibles valeurs ont été obtenues avec la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux (XX).

Tableau XX. Variation des CMI des fractions les plus efficaces.

Fractions	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	CMB
F.ae.EoH	17,81	40,44	45
F.ae.EA	13,06	22,87	30
F.he.HL	22,3	64,07	100

F.ae.EoH : fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ; F.ae.EA : fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ; F.he.HL : fraction à l'hexane de l'huile.

#### III.1.3.4. Analyse GC-MS des différents extraits

Les profils chromatographiques des fractions les plus efficaces (F.ae.EA, F.ae.EOH et F.he.HL) de *T. peruviana* ont été déterminés. Les pics les plus élevés représentent les composés majoritaires alors que les pics peu élevés et très peu élevés représentent respectivement les composés minoritaires et ultraminoritaires. Les temps de rétention de ces composés, leur abondance, leurs poids moléculaires et leurs bioactivités ont également été déterminés.

##### III.1.3.4.1. GC-MS de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux

Le profil chromatographique de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux a montré la présence de nombreux pics constitués des composés majoritaires. Les pics correspondant aux composés le plus abondants (23,066 %) et (10,940 %) ont des temps de rétention de 36,243 minutes et 43,421 minutes respectivement (Fig.41).

Trente trois (33) composés ont été détectés dans cette fraction. Selon la littérature, neuf (09) composés ont une activité antibactérienne, quatre (04) une activité antibactérienne et fongicide, trois une activité fongicide, deux (02) une activité fongicide et insecticide, un (01) une activité insecticide (Tableau XXI).

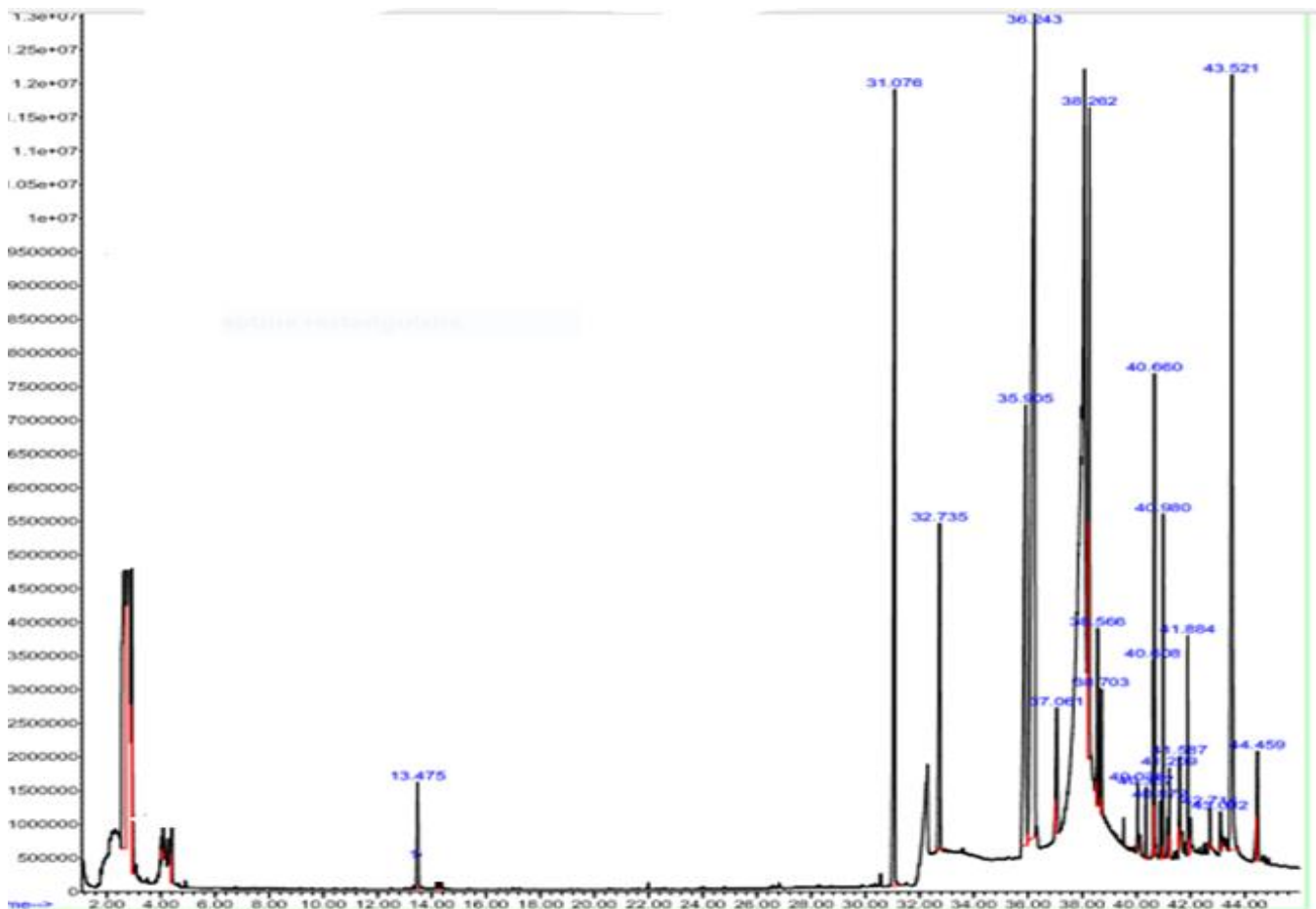


Fig. 41. Profil chromatographique GC-MS de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *T. peruviana*.

Tableau XXI. Récapitulatif des différents composés identifiés par GC-MS de de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *T. peruviana*.

TR	Abondance (%)	Poids moléculaire (g/mol)	Nom du composé	Structure chimique	BA	Références
13,475	1,025	128,17	Naphthalene	$C_{10}H_8$	Autre	Niranjan et Prashanta , 2020
		128	Azulene	$C_{10}H_8$	A	Bano et Deora, 2020
31,076	10,909	270	Hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	F et I	Adegoke <i>et al.</i> , 2019
32,735	4,224	284,48	Hexadecanoic acid, ethyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$	A	Adegoke <i>et al.</i> , 2019
35,905	9,674	294,47	9,12-Octadecadienoic acid, methy...	$C_{19}H_{34}O_2$	Autre	Muzahid <i>et al.</i> , 2023
		294,47	10,13-Octadecadienoic acid, meth...	$C_{19}H_{34}O_2$	Autre	Sirisha et Rao, 2016
		280	9,12-	$C_{18}H_{32}O_2$	I	Belakdar <i>et al.</i> , 2015

			Octadecadienoic acid (Z,Z)-methyl ester			
36,243	23,066	296,48	8-Octadecenoic acid, methyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	A et F	Vijisara et Arumugam, 2014
		296	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl. Ester	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	F et I	Je mimma <i>et al.</i> , 2017
		296,48	cis-13-Octadecenoic acid, methyl...	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	Autre	Kumari et Ananthi, 2013
37,061	2,015	298	Methyl stearate	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	F	Shabin <i>et al.</i> , 2022
		298	Heptadecanoic acid, 16-methyl-, ...	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	Autre	Elaiyaraja et Chandramohan, 2016
38,262	8,096	296,48	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	F	Chukwunonye <i>et al.</i> , 2015
38,566	1,600	312	Hexadecanoic acid, butyl ester	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	A et F	Belakdar <i>et al.</i> , 2015
		312,53	Hexadecanoic acid, 1,1-dimethyle...	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	ND	Elaiyaraja et Chandramohan, 2016
		312,53	Eicosanoic acid	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	A et F	Belakdar <i>et al.</i> , 2015
38,703	1,214	312	Octadecanoic acid, ethyl ester	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	A	Adegoke <i>et al.</i> , 2019
		298.50	Heptadecanoic acid, 15-methyl-, ...	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	ND	
40,608	1,078	336,6	Butyl 9,12-octadecadienoate	C <sub>22</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	Autre	Fadri <i>et al.</i> , 2020
		322,52	n-Propyl 9,12-octadecadienoate	C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> O	ND	Mensah-Agyei <i>et al.</i> , 2020
		222,40	8-Hexadecyne	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	Autre	Zhao <i>et al.</i> , 2019
40,660	2,371	324	n-Propyl 9-octadecenoate	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	ND	Je mimma <i>et al.</i> , 2017
		282,46	9-Octadecenoic acid, (E)-	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	Autre	Adegoke <i>et al.</i> , 2019
40,980	1,603	370,56	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	A	Kamaruding <i>e tal.</i> , 2020
		370,56	Hexanedioic acid, dioctyl ester	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	A	Kusumawati <i>et al.</i> , 2021
41,884	1,655	330,50	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	A	Al-Marzoqi <i>et al.</i> , 2015
		258,39	15-Hydroxypentadecanoic acid	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	ND	

		330,50	Glycerol 1-palmitate	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	ND	
43,521	10,940	340,54	Oleic acid, 3-hydroxypropyl ester	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>	A et F	Dash <i>et al</i> , 2022
		356	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	A	Baba <i>et al</i> , 2021
44,459	1,372	356,53	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	A	Baba <i>et al</i> , 2021
		254,40	1,2-15,16-Diepoxyhexadecane	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	A	Shareef <i>et al</i> , 2016
		238,40	cis-9-Hexadecenal	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O	F	Hoda <i>et al.</i> , 2020

TR : temps de retention ; PM : poids moléculaire ; BA : bioactivité ; A : antibactérienne ; F : fongicide ; I : insecticide ; Autre : nématocide, herbicide, larvicide, rodenticide.

#### III.1.3.4.2. GC-MS de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol

Huit (08) pics constitués des composés majeurs ont été déterminés dans le profil chromatographique de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol. Les pics 7 et 6 correspondent aux composés les plus abondants avec des temps de retention de 42,233 et 38,062 minutes respectivement. Bon nombre de composés minoritaires et ultraminoritaires sont également observés (Fig. 42). Parmi les composés majeurs détectés, deux (02) ont une activité antibactérienne, trois (03) une activité antibactérienne et fongicide, deux (02) une activité fongicide et insecticide, un (01) une activité insecticide (Tableau XXII).

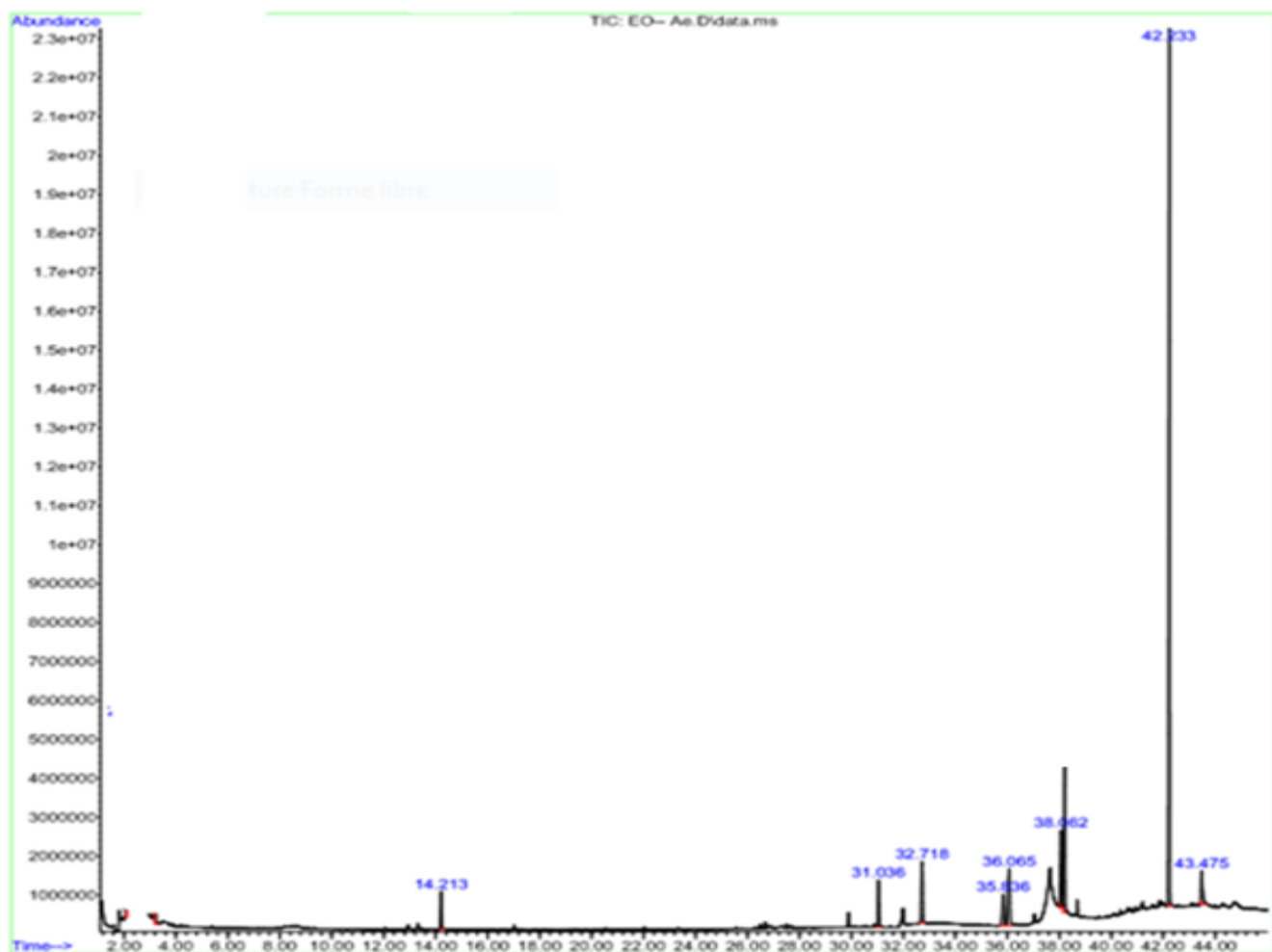


Fig. 42. Profil chromatographique GC-MS de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol de *T. peruviana*.

Tableau XXII. Récapitulatif des différents composés identifiés par GC-MS dans la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol de *T. peruviana*.

TR (min)	Abondance (%)	PM (g/mo)	Nom du composé	Formule chimique	BA	Référence
14,213	1,724	116,16	Methyl valerate	$C_6H_{12}O_2$	ND	
		208	2,6-Di-O-methyl-d-galactopyranose	$C_8H_{16}O_6$	ND	Rajeswari et Rani, 2014
		100,15	3-Buten-2-ol, 2,3-dimethyl-	$C_6H_{12}O$	ND	
31,036	1,971	270,45	Hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	F et I	El Din et Mohyeldin, 2018
		284	Hexadecanoic acid, ethyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$	A	Adegoke <i>et al.</i> , 2019
32,718	3,017	242,39 75	Ethyl tridecanoate	$C_{15}H_{30}O_2$	Autre	Chandralega et Ramdas, 2020
35,836	2,125	294,47	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- methyl ester	$C_{19}H_{34}O_2$	I	Tandukan <i>et al.</i> , 2009

36,065	3,918	296,48	11-Octadecenoic acid, methyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	A et F	Shoge et Amusan, 2020
		296,49	9-Octadecenoic acid, methyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	Autre	Astiti et Ramona, 2021
		296,48	cis-13-Octadecenoic acid, methyl...	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	Autre	Kumari et Ananthi, 2013
38,062	3,395	308,49	Linoleic acid ethyl ester	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	Autre	Je mimma <i>et al.</i> , 2017
		308,49	9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	Autre	Adeoye-Isijola <i>et al.</i> , 2018
42,233	29,394	390	Diisooctyl phthalate	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	A et F	Shabin <i>et al.</i> , 2022
		390	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	A	Shabin <i>et al.</i> , 2022
43,475	2,024	266,46	9-Octadecenal, (Z)-	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	A et F	Samane <i>et al.</i> , 2016
		266,46	13-Octadecenal, (Z)-	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	ND	Enema <i>et al.</i> , 2019
		282,46	Oleic Acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	F et I	Adegoke <i>et al.</i> , 2019

TR : temps de retention ; PM : poids moléculaire ; BA : bioactivité ; A : antibactérienne ; F : fongicide ; I : insecticide ; Autre : nématocide, herbicide, larvicide, rodenticide.

#### III.1.3.4.3. GC-MS de la fraction à l'hexane de l'huile de *T. peruviana*

Pour ce qui est de la fraction à l'hexane de l'huile, le composé le plus abondant (40,406 %) a un temps de retention de 31,287 minutes, suivi du composé correspondant au pic 2 (13,562 %) avec un temps de retention de 36,031 minutes (Fig.43).

Seize (16) composés ont été détectés dans cette fraction. Selon la littérature, deux (02) ont une activité antibactérienne, cinq (05) une activité antibactérienne et fongicide, un (01) une activité fongicide et insecticide (Tableau XXIII).

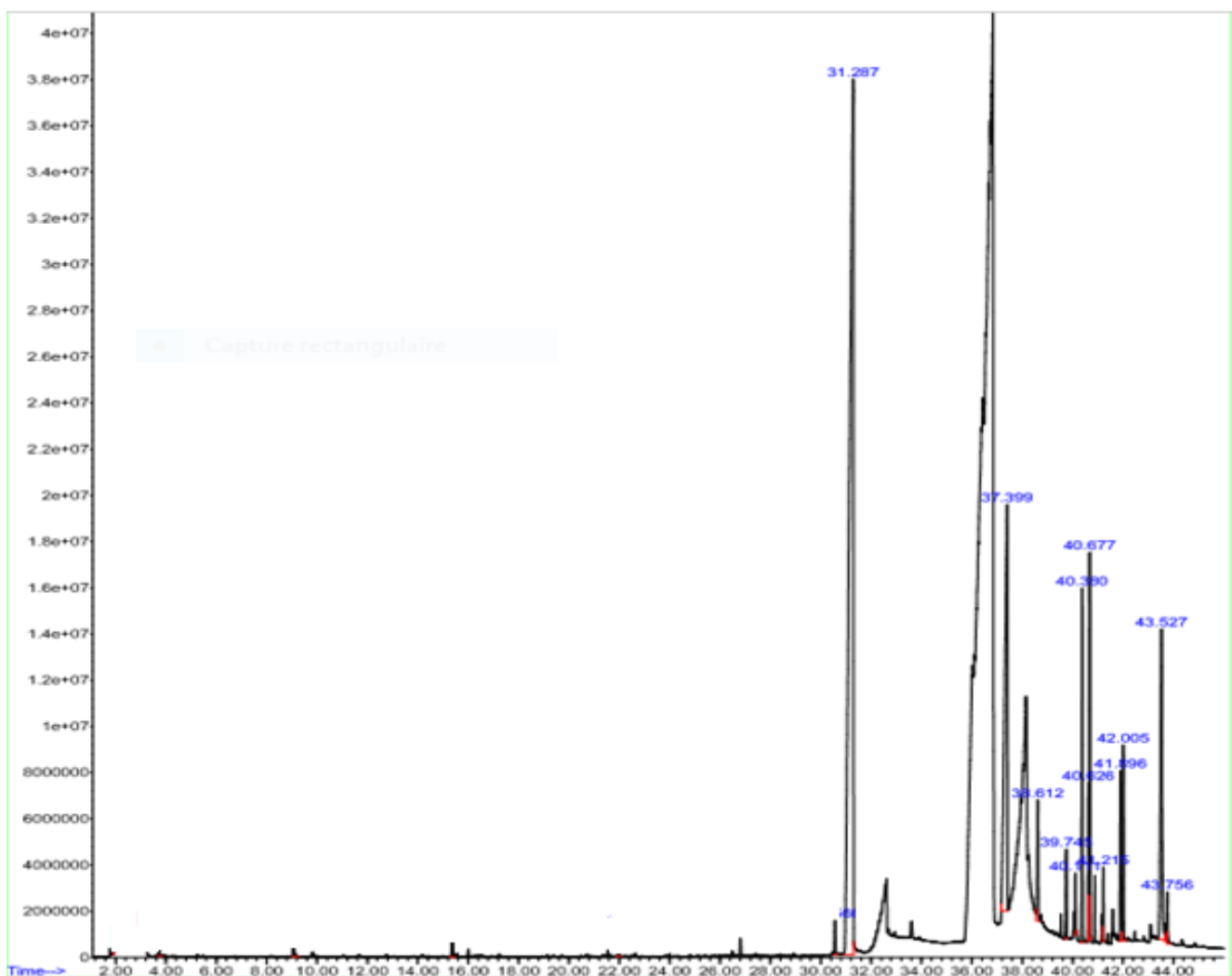


Fig. 43. Profil chromatographique GC-MS de la fraction à l'hexane de l'huile de *T. peruviana*.

Tableau XXIII. Récapitulatif des différents composés identifiés par GC-MS dans la fraction à l'hexane de l'huile de *T. peruviana*.

TR (min)	Abondance (%)	PM (g/mol)	Nom du composé	Formule chimique	BA	Référence
31,287	40,406	270,45	Hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	F et I	El Din et Mohyeldin, 2018
36,031	13,562	268,43	7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (z)-	$C_{17}H_{32}O_2$	A	Ghareeb <i>et al.</i> , 2022
37,399	13,145	298	Methyl stearate	$C_{19}H_{38}O_2$	F	Shabin <i>et al.</i> , 2022
38,612	1,414	312,53	Hexadecanoic acid, butyl ester	$C_{20}H_{40}O_2$	A et F	Belakdar <i>et al.</i> , 2015
		312,53	Hexadecanoic acid, 1,1-dimethyle...	$C_{20}H_{40}O_2$	ND	Elaiyaraja et Chandramohan, 2016
40,380	2,903	326,55	Eicosanoic acid, methyl ester	$C_{21}H_{42}O_2$	A et F	Syed <i>et al.</i> , 2023
		326,55	Methyl 18-methyl	$C_{21}H_{42}O_2$	Autre	Sobia <i>et al.</i> , 2022

		nonadecanoate				
40,677	2,601	324	n-Propyl 9-octadecenoate	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	ND	Je mimma <i>et al.</i> , 2017
		296,49	9-Octadecenoic acid, methyl ester (z)-	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	Autre	Astiti et Ramona, 2021
		422,72	Decyl oleate	C <sub>28</sub> H <sub>54</sub> O <sub>2</sub>	ND	
41,896	1,689	330,50	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	A	Al-Marzoqi <i>et al.</i> , 2015
		330,50	Glycerol 1-palmitate	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	ND	
		258,39	15-Hydroxypentadecanoic acid	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	Autre	Enema <i>et al.</i> , 2019
42,005	1,472	354,61	Docosanoic acid, methyl ester	C <sub>23</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>	A et F	Belakdar <i>et al.</i> , 2015
43,527	6,086	326,51	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-hydroxyethyl ester	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>3</sub>	A et F	Hussein <i>et al.</i> , 2016
		340,54	Oleic acid, 3-hydroxypropyl ester	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>	A et F	Dash <i>et al.</i> , 2022

TR : temps de rétention ; PM : poids moléculaire ; BA : bioactivité ; A : antibactérie ; F : fongicide ; I : insecticide ; Autre : nématocide, herbicide, larvicide, rodenticide.

### III.1.3.5. Influence des composés antibactériens présents dans les fractions efficaces de *T. peruviana* sur l'activité des protéines de *R. solanacearum*

Sept composés antibactériens ont présenté une plus grande affinité de liaison avec les protéines de *R. solanacearum* testées. Il s'agit de : l'azulène ; l'hexadecenoic acid, butyl ester ; l'eicosanoic acid ; 1,2-15,16-diepoxyhexadecane présents dans la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux, du diisooctyl phthalate et du bis(2-ethylhexyl) phthalate présents dans la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol et du (z)-7-hexadecenoic acid, methyl ester présent dans la fraction à l'hexane de l'huile. L'énergie qui résulte du passage de la forme libre de chaque composé sus-cité et de chaque protéine de *R. solanacearum* testée à l'association sous forme de complexe est faible (Tableau XXIV), ce qui confirme la grande affinité de ces composés antibactériens.

Tableau XXIV. Energie de liaison du complexe ligand-protéines de la bactérie.

Fraction	Ligands	$\Delta G$ Cétopantoate réductase Putative (Kcal/mol)	$\Delta G$ Glutathione Transferase (Kcal/mol)	$\Delta G$ Dihydrolip oyl Dehydroge nase (Kcal/mol)	$\Delta G$ Lectine (Kcal/mol)
Fae.EA	Azulene	-5,00	-6,6	-5,78	-6,43
	Hexadecanoic acid, ethyl ester	-5,05	-5,3	-5,10	-2,11
	8-Octadecenoic acid, methyl ester	-5,02	-2,02	-4,20	-2,23
	Hexadecanoic acid, butyl ester	-5,09	-5,2	-5,19	-3,33
	Eicosanoic acid	-5,36	-5,1	-4,85	-3,11
	Octadecanoic acid, ethyl ester	-5,00	-5,3	-4,40	-2,05
	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester	-4,34	-2,34	-5,22	-3,23
	Hexanedioic acid, dioctyl ester	-4,30	-5,4	-4,48	-1,98
	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	-4,50	-2,50	-4,41	-2,13
	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	-4,49	-3,32	-4,42	-2,50
	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3dihydroxypropyl ester	-4,41	-3,33	-4,50	-2,55
	1,2-15,16-Diepoxyhexadecane	-5,56	-5,5	-5,70	-5,91
F.ae.EOH	11-Octadecenoic acid, methyl ester	-4,98	-5,3	-4,20	-2,15
	Diisooctyl phthalate	-6,40	-6,5	-5,54	-5,05
	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	-6,34	-6,5	-5,75	-3,67
	(Z)-9-Octadecenal	-5,06	-2,69	-5,28	-3,85
F.he.HL	(z)-7-Hexadecenoic acid, methyl ester	-4,49	-2,01	-4,22	-6,64
	Eicosanoic acid, methyl ester	-3,70	-5,7	-4,18	-3,35
	Docosanoic acid, methyl ester	-3,00	-5,4	-4,11	-2,78
	(Z)-2-hydroxyethyl ester 9-Octadecenoic acid	-3,51	-2,51	-4,21	-2,31
	Oleic acid, 3-hydroxypropyl ester	-3,61	-5,5	-4,62	-2,89

$\Delta G$ : énergie de liaison

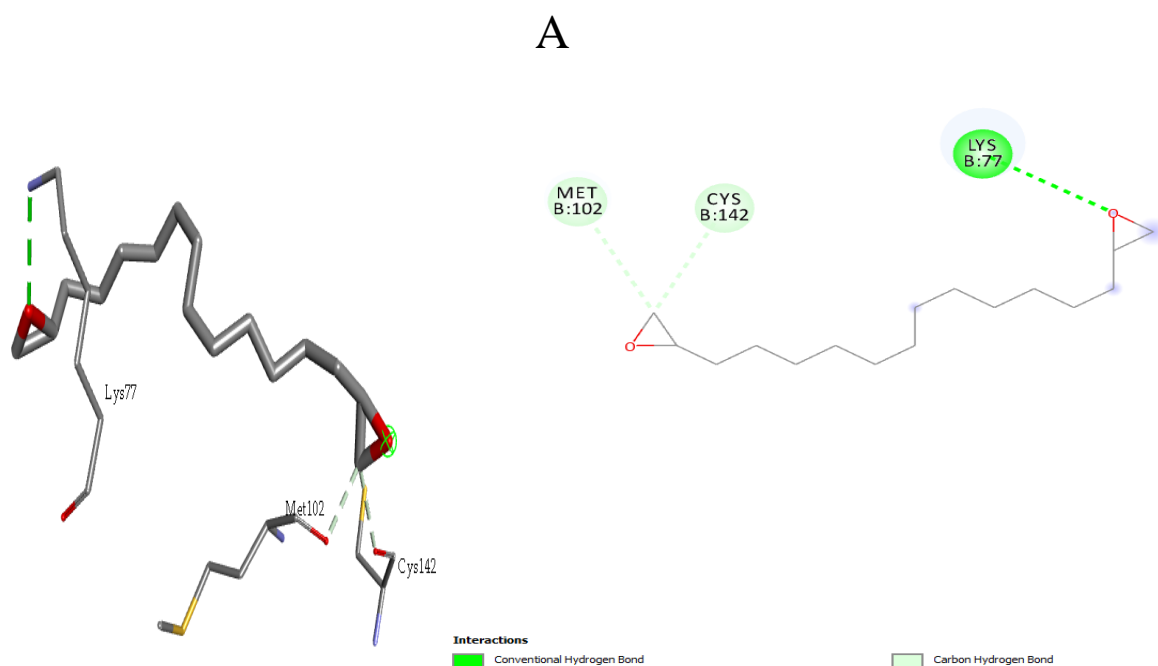
### III.1.3.5.1 Interaction entre les composés antibactériens et la cétopantoate réductase putative

Les interactions de liaison entre les composés antibactériens et les protéines cibles de *R. solanacearum* indiquent que ces composés peuvent bloquer l'activité de ces protéines et par conséquent réduire la croissance de *R. solanacearum*.

Deux composés antibactériens de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ont présenté une grande affinité de liaison avec la cétopantoate reductase putative. Le 1,2-15, 16-Diepoxyhexadecane a montré une plus grande affinité de liaison (-5,56 Kcal/mol) suivi de l'Eicosanoic acid (-5,36 Kcal/mol). L'affinité du complexe 1,2-15, 16-Diepoxyhexadecane se manifeste par une interaction de l'atome d'hydrogène avec le résidu d'acide aminé LYS B : 77 et par des interactions carbone-hydrogène avec les résidus MET B : 102 et CYS B : 142 (Fig. 44A).

Deux composés de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol ont montré une plus grande affinité de liaison avec la cétopantoate reductase putative : il s'agit du diisooctyl phthalate qui a présenté une affinité de liaison de -6,40 Kcal/mol et le bis(2-éthyl hexyl) phthalate avec une affinité de liaison de -6,34 Kcal/mol. Le premier composé a présenté des interactions d'atomes d'hydrogènes et pi-donor hydrogènes avec les résidus ALA B : 75 ; MET B : 102 ; ALA B : 278 ; VAL B : 76 ; MET B : 274 ; LY B : 77 et ALA B : 80 (Fig. 44B). Le deuxième composé a présenté deux interactions d'atomes d'hydrogènes avec les résidus AL B : 11 et VAL B: 12 et des interactions Alkyl, Pi-Alkyl et Pi-cation.

Concernant la fraction à l'hexane de l'huile, les composés ont présenté des affinités de liaisons plus faibles car le composé (z)-7 hexadecanoic acid, methyl ester a montré une plus grande affinité de liaison (-4,49 Kcal/mol).



B

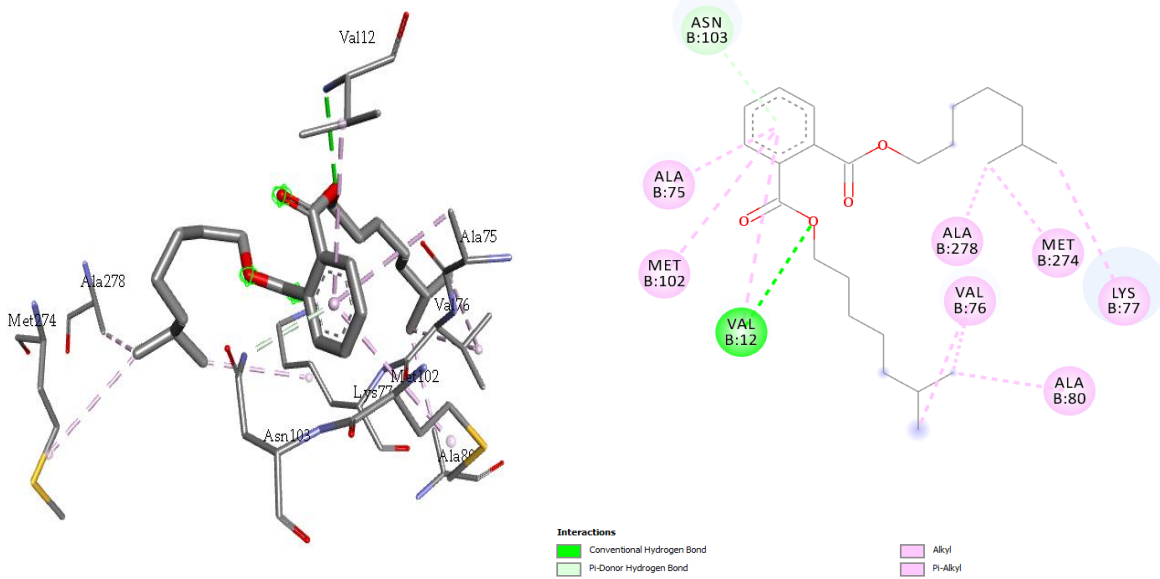
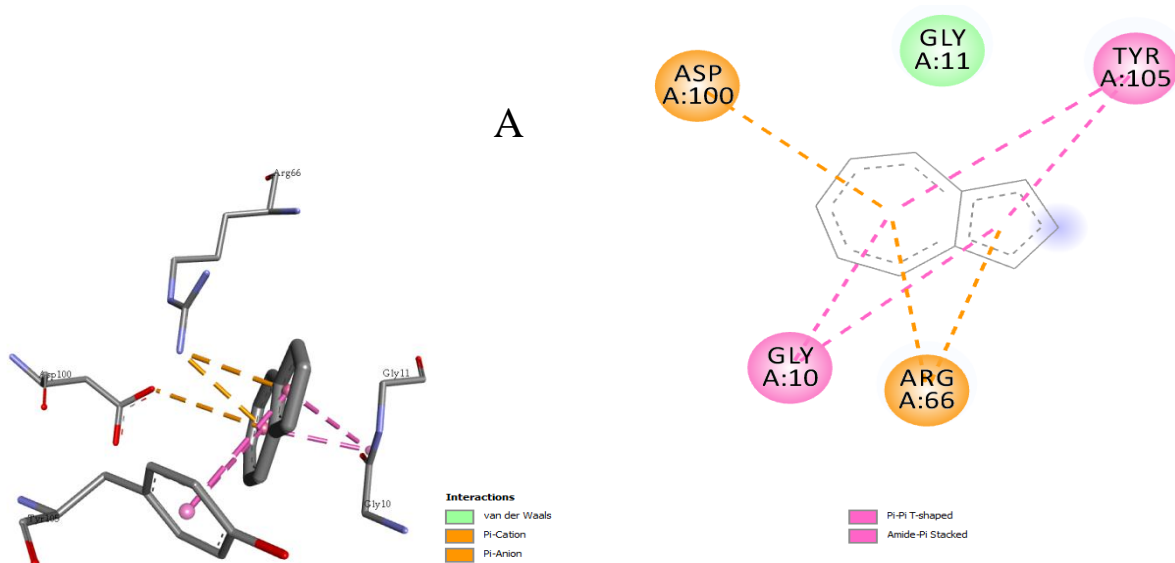


Fig. 44. Interaction entre les composés antibactériens et la cétopantoate reductase putative. A : avec le 1,2-15-16-diepoxyhexadecane ; B : avec le diisooctyl phthalate.

### III.1.3.5.2. Interaction entre les composés antibactériens et le glutathione transferase

S'agissant du glutathione transferase, l'Azulène contenu dans la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux a présenté une plus grande affinité de liaison (-6,6 Kcal/mol) qui se manifeste par des interactions Pi avec des résidus d'acides aminés : ASP A : 100, AG A : 66, GLY A :10 et TYR A : 105 et une interaction Van der Waals avec le résidu GLY A : 11 (Fig. 45A). Le diisooctyl phthalate a également présenté une grande affinité de liaison (-6,5 Kcal/mol) et a effectué des interactions d'atomes d'hydrogènes, carbone-hydrogène, Alkyl, Pi-Alkyl avec les résidus d'acides aminés (Fig. 45B).

A



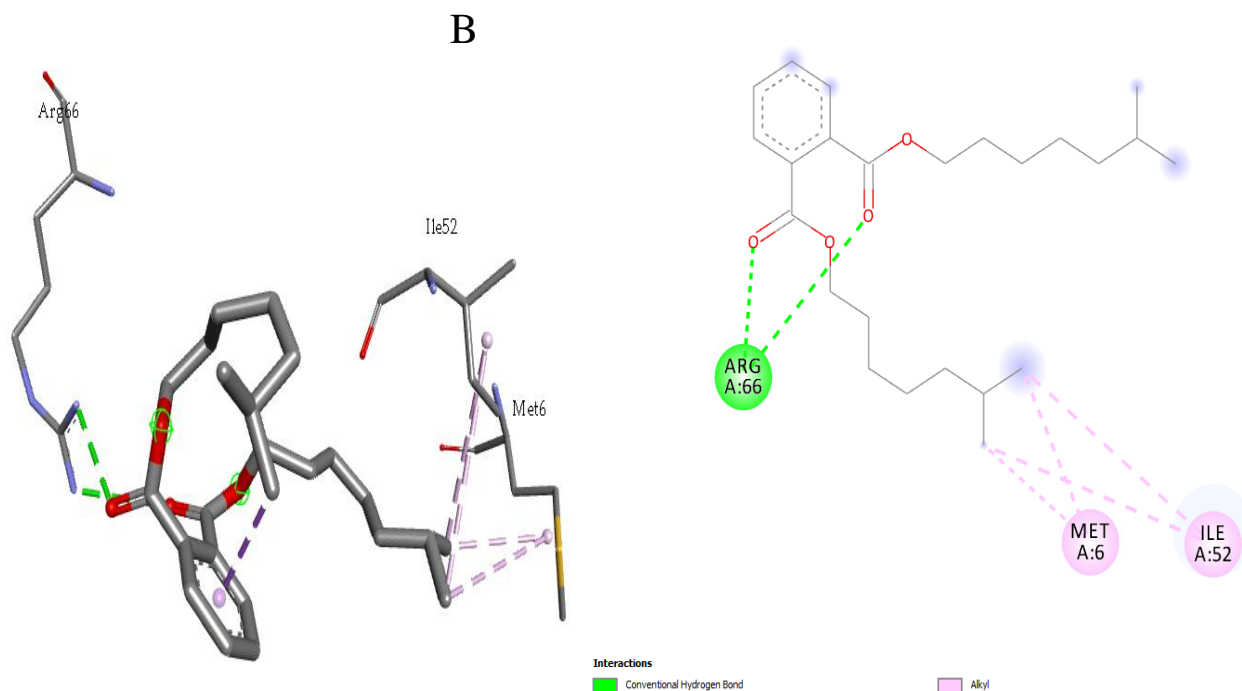


Fig. 45. Interaction entre les composés et le glutathione transferase. A : avec l'Azulène ; B : avec le diisooctyl phthalate.

### III.1.3.5.3. Interaction entre les composés antibactériens et le dihydrolipoyl dehydrogenase

L'azulène et le bis(2-ethylhexyl)phthalate ont présenté une plus grande affinité avec le dihydrolipoyl dehydrogenase. Des énergies de liaison respectifs ont été de -5,78 Kcal/mol et -5,75 Kcal/mol. Des interactions Pi-Alkyl et Pi-hydrogène ont été observées respectivement avec les résidus d'acides aminés PRO A : 440 et ILE A : 469 entre l'azulène et le dihydrolipoyl dehydrogenase (Fig. 46A).

Le complexe entre le bis(2-ethylhexyl)phthalate et le dihydrolipoyl dehydrogenase se manifeste par des interactions d'atomes d'hydrogènes avec des résidus d'acides aminés TRP A : 481, ALA A : 466 et GLY A : 483 et des interactions Alkyl avec les résidus d'acides aminés ILE A : 307 et LEU A : 442 (Fig. 46B).

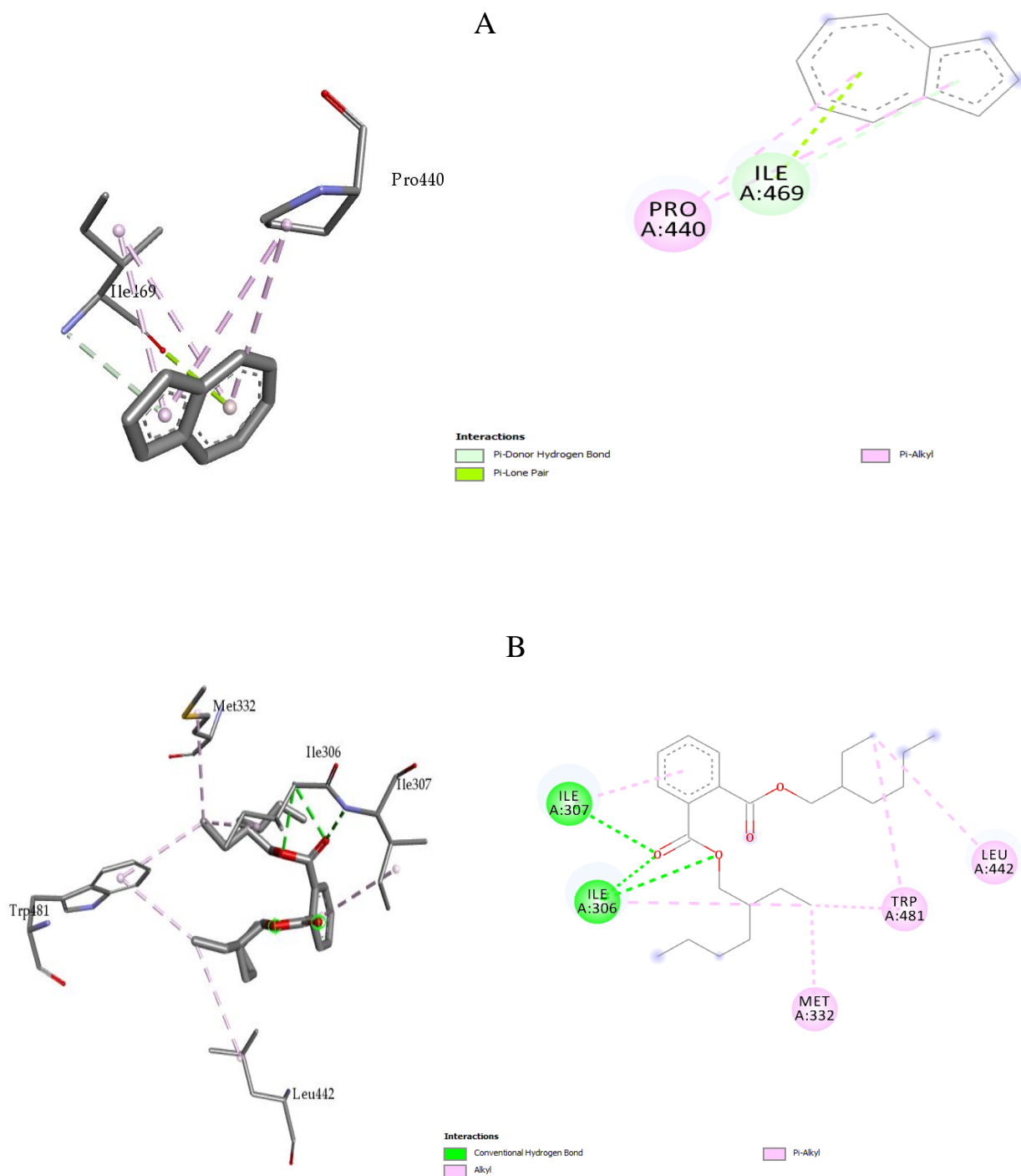


Fig. 46. Interaction entre les composés et le dihydrolipoyl dehydrogenase. A : avec l'azulène ; B : avec le bis(2-ethylhexyl)phthalate.

### III.1.3.5.4 Interaction entre les composés antibactériens et la lectine

Quatre composés ont présenté une grande affinité avec la lectine. Il s'agit du (Z)-7-hexadecenoic acid, methyl ester ; de l'azulène ; du 1,2-15,16-diepoxyhexadecane et du diisooctyl phthalate qui ont respectivement donné une énergie de liaison de -6,64 Kcal/mol ; -6,43 Kcal/mol ; -5,91 Kcal/mol et -5,05 Kcal/mol. Le (Z)-7-hexadecenoic acid, methyl ester a présenté des interactions d'hydrogène avec les résidus d'acides aminés ASP B : 75 et ASP B : 77 et une

interaction Alkyl avec le résidu ALA B : 83 (Fig. 47A). L'affinité du complexe entre l'azulène avec la lectine se manifeste par une interaction Alkyl et Pi-cation avec le résidu aminé ASP B : 75 (Fig. 47B).

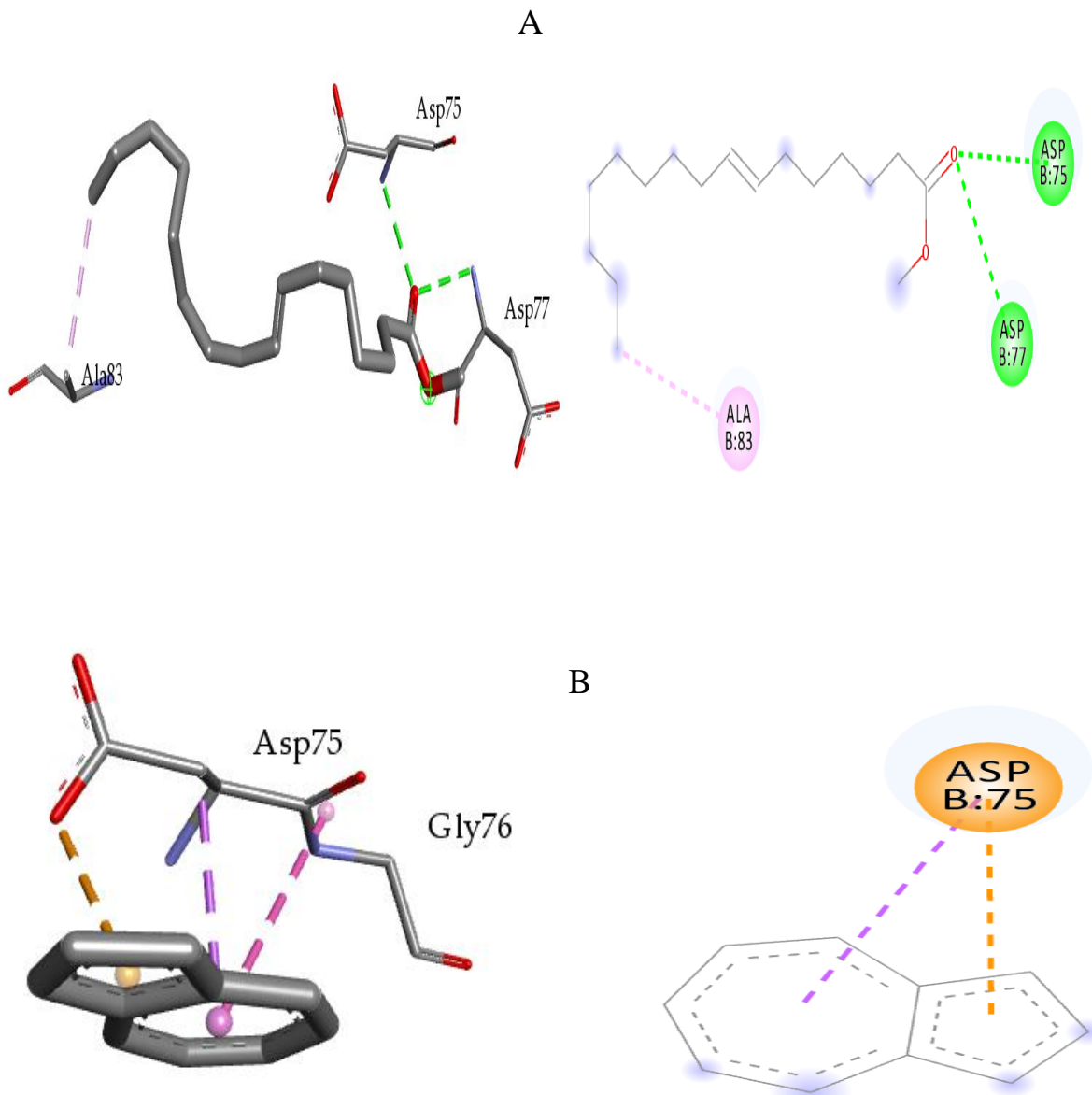


Fig. 47. Interaction entre les composés antibactériens et la lectine. A : avec le(Z)-7-hexadecenoic acid, methyl ester ; B : avec l'azulène.

### III.1.4. Effet des traitements sur l'incidence du flétrissement bactérien *in vivo* et en champ

#### III.1.4.1. Effet des traitements sur l'incidence du flétrissement bactérien *in vivo*

Les courbes d'évolution de l'incidence de *R. solanacearum in vivo* montrent qu'aucune plante flétrie n'a été observée les huit premiers jours au niveau des plantes traitées avec les trois fractions (T1 :F.ae.EA ; T2 :F.ae.EOH et T3 :F.he.HL). Contrairement aux témoins où on a observé une évolution rapide de l'incidence de la maladie avec : 48,14 ; 37,03 et 35,75 % des plantes flétries à 8 jours après traitement (JAT) et 88,88 ; 77,7 et 70,07 % des plantes flétries à 14 JAT respectivement pour les souches Fm6, Bfo et Ltn (Fig. 48). L'isolat Ltn a été plus sensible aux extraits de *T.*

*peruviana* car aucune plante flétrie n'a été observée chez les plantes traitées avec T1 (F.ae.EA) à 14 JAT, avec T2 (F.ae.EOH) à 12 JAT et chez les plantes traitées avec T3 (F.he.HL) à 8 JAT.

L'analyse statistique des Asin (Rac(IFB)) montre une différence significative au seuil de probabilité de 5 % entre les fractions et les témoins au 14 JAT (Tableau XXV).

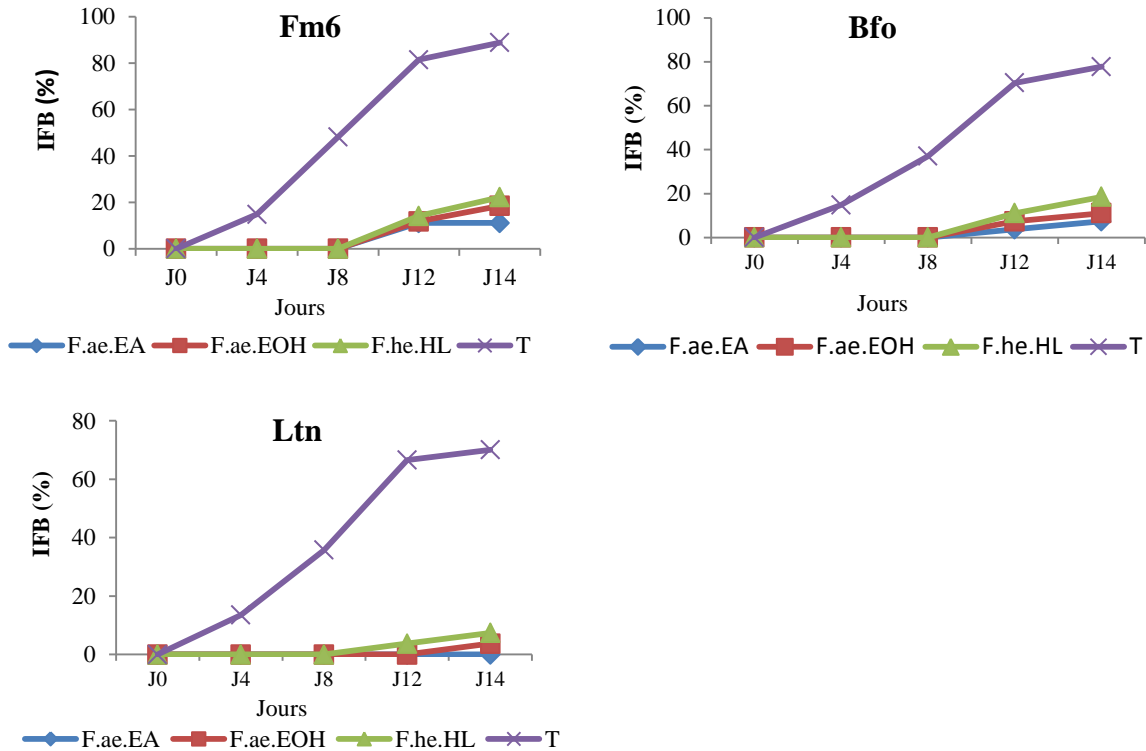


Fig. 48. Evolution *in vivo* de l'incidence de *R. solanacearum* sous l'effet des traitements. F.ae.EA (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux) ; F.ae.EOH (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol) ; F.he.HL (fraction à l'hexane de l'huile) et T(Témoin).



Fig. 49. Effet de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol sur la souche Ltn de *R. solanacearum*. A : témoin ; B : fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux.

Tableau XXV. Moyennes des Asin((Rac(IFB)) 14 JAT

Périodes	Moyenne Asin(Rac(IFB))		
	FM6	BFo	LTn
F.ae.EA	1,91±0,01d	0,63±0,11cd	0±0d
F.ae.EOH	2,14±0,19cd	1,39±0,012abcd	0±0d
F.he.HL	2,25±0,22c	2,14±0,19abc	1,27±0,10bcd
T	2,93±0,002a	2,87±0,04a	2,84±0,04a

Les valeurs dans la même colonne portant les lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5% selon les tests de Tukey.

Par ailleurs, la sévérité de *R. solanacearum* a été déterminée (Fig. 50). Les courbes d'évolution des AUDPC montrent des faibles valeurs obtenues chez les plantes traitées avec les différentes fractions : 0,47 ; 0,53 et 0,64 respectivement pour les traitements T1 (F.ae.EA) ; T2 (F.ae.EOH) et T3 (F.he.HL) sur l'isolat Fm6 à 14 jours après traitement(JAT), comparativement aux témoins où on a obtenu 5,8 ; 4,96 et 4,66 à 14 JAT respectivement pour les isolats Fm6, Bfo et Ltn. L'analyse statistique des Rac(AUDPC) a montré une différence significative entre les extraits et les témoins à 14 JAT (Tableau XXVI).

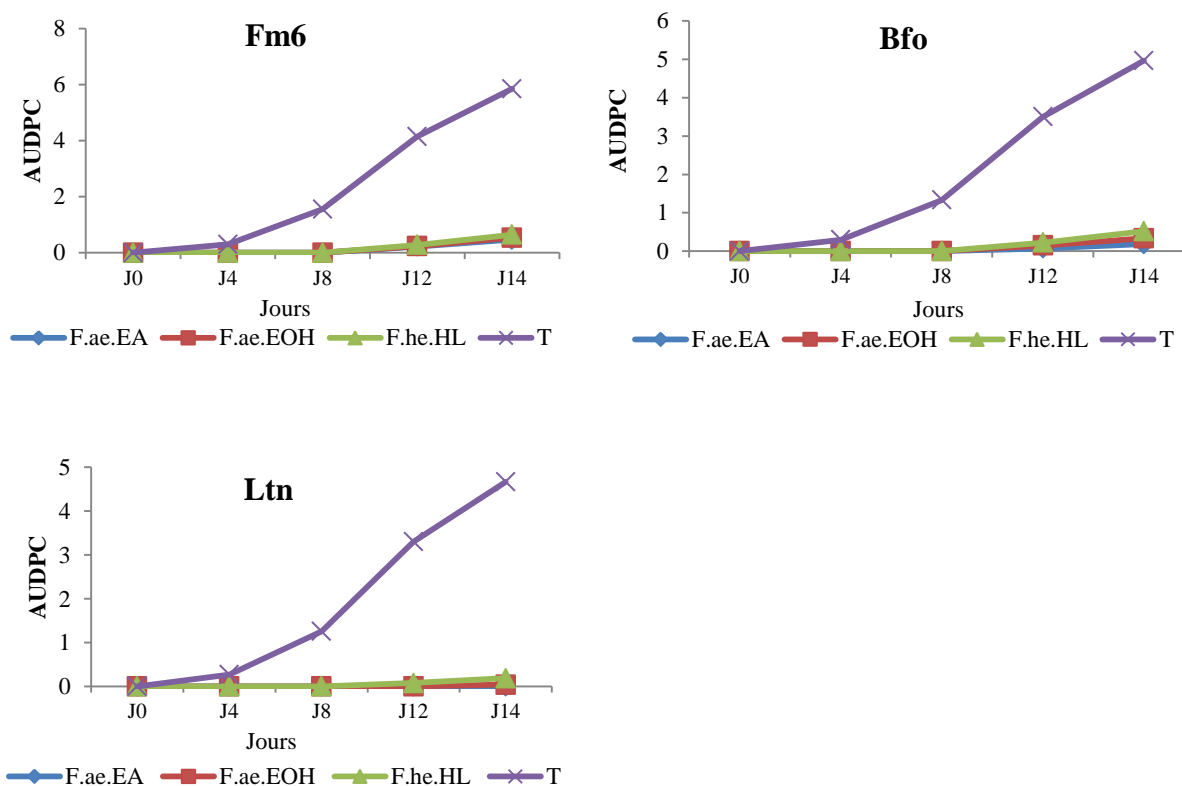


Fig. 50. Evolution *in vivo* des AUDPC de *R. solanacearum* sous l'effet des traitements F.ae.EA (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux) ; F.ae.EOH (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol) et F.he.HL (fraction à l'hexane de l'huile) ; T : témoin.

Tableau XXVI.Moyenne des Rac(AUDPC)

Traitements	Moyenne Rac(AUDPC)		
	Fm6	Bfo	Ltn
F.ae.EA	0,67±0,012f	0,43±0,0024g	0±0h
F.ae.EOH	0,73±0,0017e	0,57±0,0004e	0,20±0,014g
F.he.HL	0,80±0,0049d	0,74±0,02d	0,43±0,0026e
T	2,41±0,06a	2,22±0,004a	2,15±0,0013a

Les valeurs dans la même colonne portant les lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5% selon les tests de Tukey.

### III.1.4.2. Effet des traitements sur les paramètres de croissance de la tomate en champ

#### III.1.4.2.1. Effet des traitements sur la hauteur des plantes de tomates durant les campagnes 2020 et 2021

La hauteur des plantes a augmenté progressivement au fil du temps. Durant la campagne de 2020, une différence significative entre les fractions des extraits de *T. peruviana*, le traitement positif ( $T^+$ ) et les témoins est observée et ce, pour les deux variétés (Roma et Cobra). La variété Roma a donné des plantes ayant une hauteur moyenne de 21,66±0,57; 19,33±0,57 ; 21±2,08 et 26±1cm à 21 jours après repiquage (JAR) respectivement pour les traitements T+ (furaplant super), T1 (F.he.HL), T2 (F.ae.EOH) et T3 (F.ae.EA) et la variété Cobra une hauteur moyenne de 26,33±1,15 ; 20±1 ; 25±2; et 28±1cm (Fig. 51) respectivement pour les mêmes traitements. En revanche les plantes non traitées (T-) ont eu une hauteur moyenne significativement inférieure de 18,33±1,52 cm pour la variété Roma et de 19±1cm pour la variété Cobra à cette même période. Les plantes de tomate de la variété Cobra ont montré une croissance supérieure à celle des plantes de la variété Roma.

De même, durant la campagne de 2021, une différence significative est observée entre les fractions, T+ (furaplant) et les plantes non traitées (T-) à 45 JAR avec une hauteur de 41±1 ; 44,33±1,52 ; 51,66±1,57 et 60±2 cm respectivement pour les traitements T+ (furaplant super), T1 (F.he.HL), T2 (F.ae.EOH) et T3 (F.ae.EA) pour la variété Roma (Fig. 52) et une hauteur moyenne de 49,66±0,57 ; 52,33±1,15 ; 57,33±1,15 et 63,66±1,5 cm respectivement pour les mêmes traitement de la variété Cobra. Par contre les plantes non traitées (T-) ont donné une hauteur moyenne de 31±1cm et 40±2 cm respectivement pour les variétés Roma et Cobra. Ces résultats montrent également que la croissance des plantes a été plus importante à la campagne 2021 par rapport à la campagne 2020.

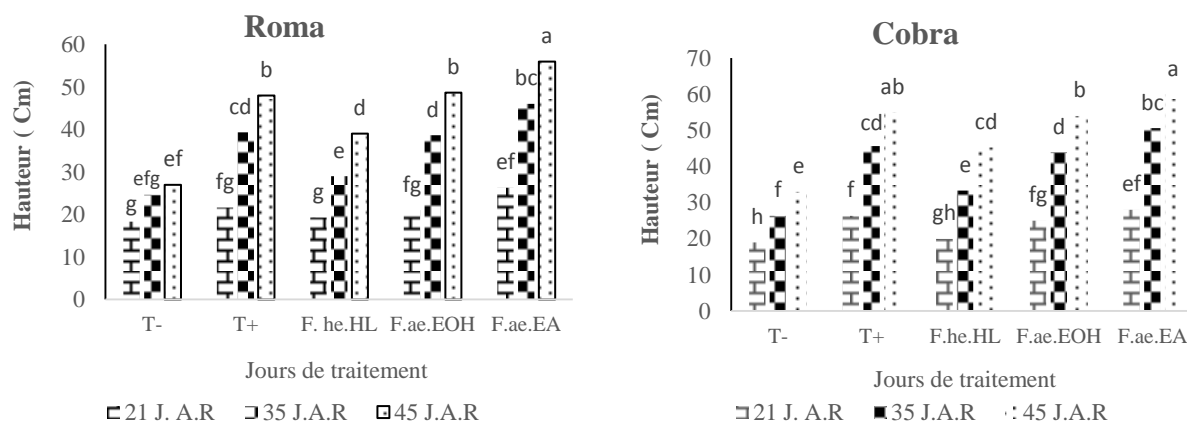


Fig. 51. Evolution de la hauteur des plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2020.

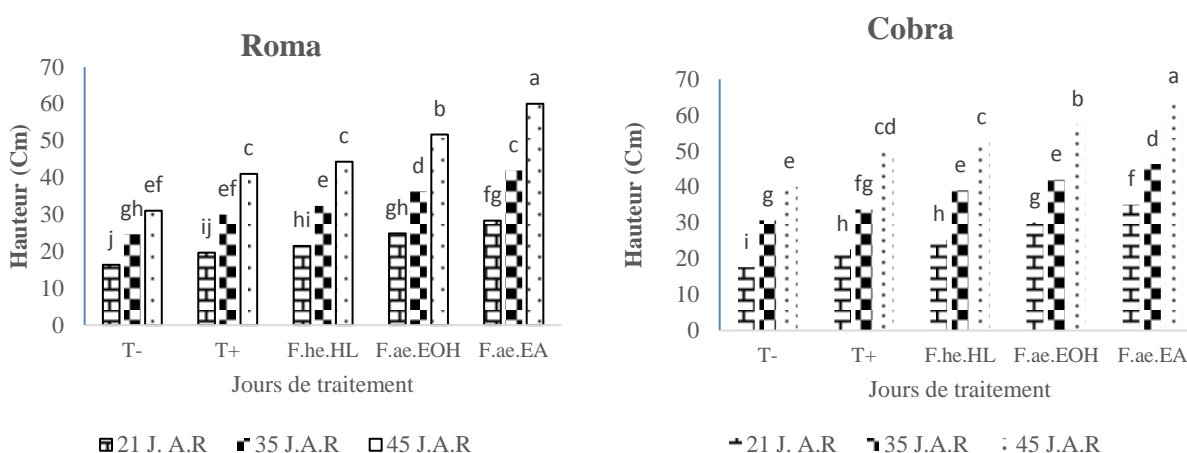


Fig. 52. Evolution de la hauteur des plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2021. T- (plantes non traitées) ; T+ (Furaplant super) ; F.ae.EA (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux) ; F.ae.EOH (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol) et F.he.HL (fraction à l'hexane de l'huile). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Tukey).

### III.1.4.2.2. Effet des traitements sur le nombre de feuilles des plantes de tomates durant les campagnes 2020 et 2021

Les extraits de *T. Peruviana* et le traitement positif (T+, Furaplant super) ont eu un effet sur le nombre de feuilles des plantes de tomates. En effet, pendant les 02 campagnes, on observe une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les témoins et les traitements. Au cours de la campagne de 2020, le nombre de feuilles est plus élevé chez les plantes de tomates traitées avec la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux (F.ae.EA : T3), suivi de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol (F.ae.EOH : T2) et du témoin positif (T+ : Furaplant super), les valeurs respectives étant de :  $33,66 \pm 1,18$  ;  $29,66 \pm 2,08$  ;  $28 \pm 0,5$  à 45 jours après repiquage (JAR) pour la variété Roma (Fig. 53). Aucune différence significative n'est observée à cette même date entre le traitement positif (T+) et le traitement T1 (F.he.HL.). Par contre le témoin négatif a obtenu un nombre moyen de feuilles faible de  $19 \pm 1,25$ .

Pour la variété Cobra, les plantes traitées avec les 03 fractions de *T. peruviana* (Fa.e.EA ; F.aeOH ; F.he.HL) ont eu un nombre de feuilles significativement plus élevé que le traitement positif (T+) et le témoin (T0) à 45 JAR avec des valeurs respectives 32,33±2 ; 30,67±0,57 ; 30±1;28,33±2,5 et 19±1,15 (Fig. 54). De même, au cours de la campagne de 2021, le nombre moyen de feuilles des plantes des 02 variétés traitées avec les différentes fractions est significativement élevé. La variété Cobra a présenté un plus grand nombre de feuilles.

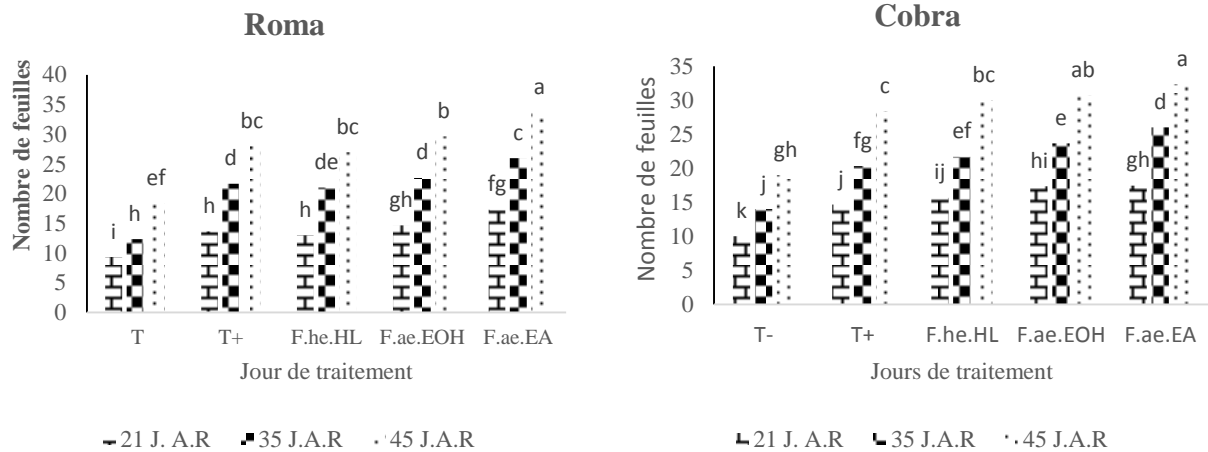


Fig. 53. Evolution du nombre des feuilles des plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2020.

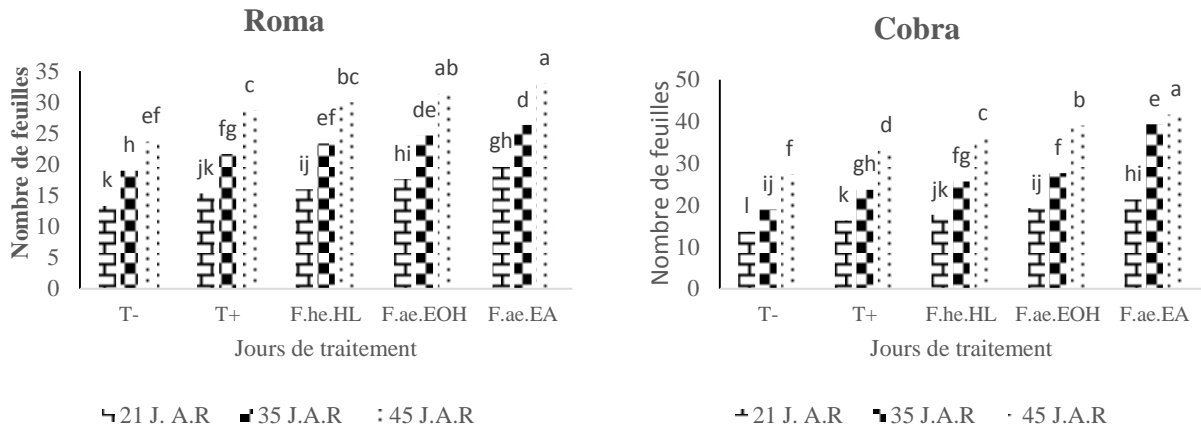


Fig. 54. Evolution de la hauteur des plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2021. T- (plantes non traitées) ; T+ (furaplant super) ; F.ae.EA (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux) ; F.ae.EOH (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol) et F.he.HL (fraction à l'hexane de l'huile). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Tukey).

### III.1.4.3. Effet des traitements sur les paramètres épidémiologiques de *Ralstonia solanacearum* en champ

#### III.1.4.3.1. Effet des traitements sur l'incidence de *Ralstonia solanacearum* en champ durant les deux campagnes (2020 et 2021)

L'incidence du flétrissement bactérien croît en fonction des jours confirmant ainsi le caractère irréversible des plantes flétries. Au cours de la campagne 2020, les courbes de l'incidence des plantes non traitées (T-) Croissent rapidement comparativement à celles observées chez les

plantes traitées car 45,33 ; 55,66 et 80 % des plantes non traitées (T-) de la variété Roma ont flétri à 25; 35 et à 45 jours après repiquage (JAR) respectivement. La variété Cobra a montré les incidences de la maladie inférieures à celles de la variété Roma (Fig. 55). L'Analyse statistique montre une différence significative entre les témoins négatifs (T-) et les autres traitements (T1 : Furaplant super ; T2 :F.he.HL ; T3 :F.ae.EOH ; T4 : F.ae.EA) avec des incidences respectives : 36,66 ; 31,66 ; 25,44 et 20,66 % à 45 JAR pour la variété Roma et 37 ; 26,66 ; 23,66 et 19 % pour la variété Cobra. Pendant cette campagne l'évolution de la maladie a été plus rapide qu'au cours de la campagne 2021.

Aucours de la campagne 2021, les incidences de la maladie des plantes non traitées (T-) ont été de 60,33 et 56 % à 45 JAR respectivement pour la variété Roma et Cobra, inférieures a celles observées durant la campagne de 2020 (Fig. 56). Les plantes ont donc été plus attaquées par la maladie en septembre-Décembre 2020 qu'en Mars-Juin 2021.

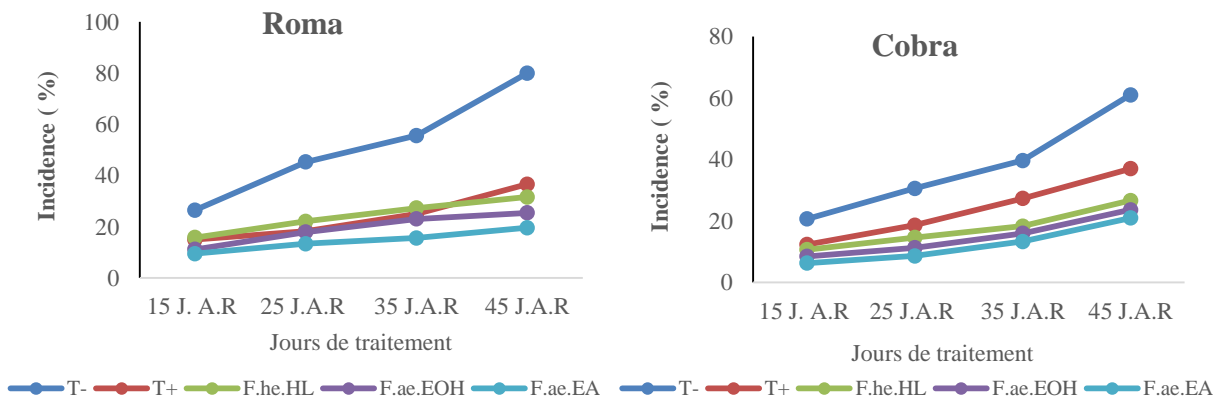


Fig. 55. Evolution de l'incidence de la bactériose sur les plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2020.

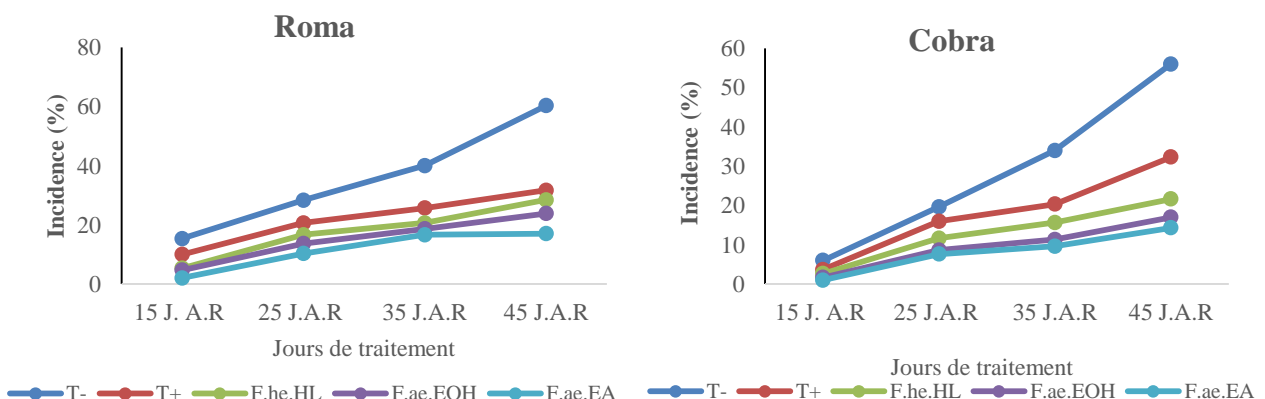


Fig. 56. Evolution de l'incidence de la bactériose sur les plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2021. T- (plantes non traitées) ; T+ (furaplant super) ; F.ae.EA (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux) ; F.ae.EOH (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol) et F.he.HL (fraction à l'hexane de l'huile).

### III.1.4.3.2.Effet des traitements sur la sévérité de *Ralstonia solanacearum* en champ durant les deux campagnes (2020 et 2021)

*R. solanacearum* s'est montré plus agressif durant la campagne de septembre-Décembre 2020 avec des valeurs AUDPC des plantes non traitées (T-) de  $20,33 \pm 0,31$  et  $15,48 \pm 0,72$  respectivement pour la variété Roma et la variété Cobra à 45 JAR (Fig. 57). Comparativement à la campagne de Mars-juin 2021 pendant laquelle on a obtenu des valeurs AUDPC plus faibles :  $14,25 \pm 0,02$  ;  $10,57 \pm 0,57$  respectivement pour les deux variétés (Fig. 58). La fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux a été plus efficace, suivi du traitement T2 (F.ae. EOH) avec des valeurs AUDPC les plus faibles de  $5,45 \pm 0,07$  ;  $8,58 \pm 0,65$  pour la variété Roma et de  $4,79 \pm 0,54$ ;  $6,01 \pm 0,29$  pour la variété Cobra à 45 JAR, respectivement pour les 02 traitements durant la campagne de 2020 et de  $4,42 \pm 0,08$  ;  $6,07 \pm 0,01$  pour la variété Roma et de  $2,75 \pm 0,15$  ;  $3,77 \pm 0,32$  pour la variété cobra, respectivement pour les deux traitements durant la campagne 2021.

Aucours de la campagne 2020, le traitement T1 (F.he.HL) (valeur AUDPC :  $10,04 \pm 0,06$ ) n'a pas été significativement différent par rapport au témoin positif T+ (AUDP :  $10,03 \pm 0,1$ ) chez la variété Roma. Par contre une différence significative a été observée chez la variété cobra avec des valeurs de  $7,6 \pm 0,06$  et  $9,79 \pm 0,12$  respectivement pour le traitement T1 et T+. Pendant la campagne 2021, le traitement T1(F.he.HL) a été plus efficace que le Furaplant (T+) et ce, chez les deux variétés.

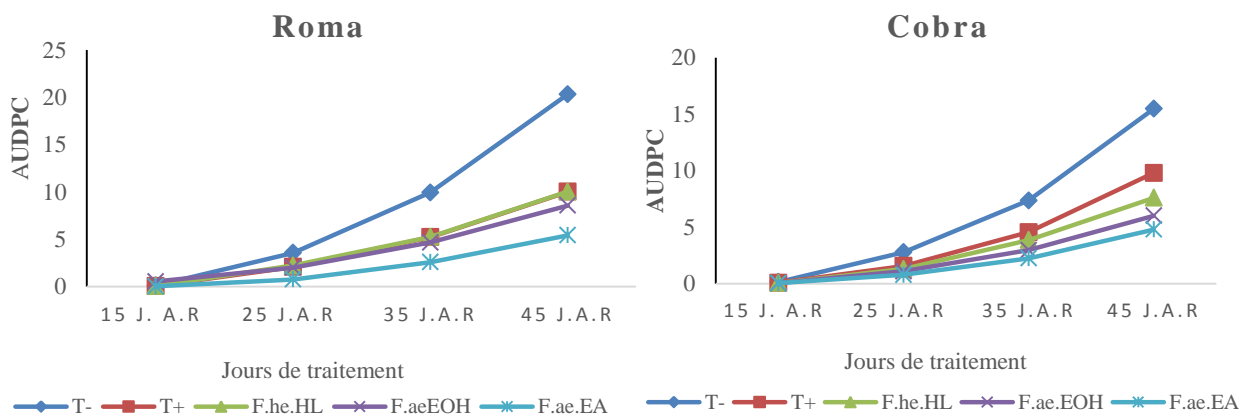


Fig. 57. Evolution de la sévérité de la maladie sur les plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2020.

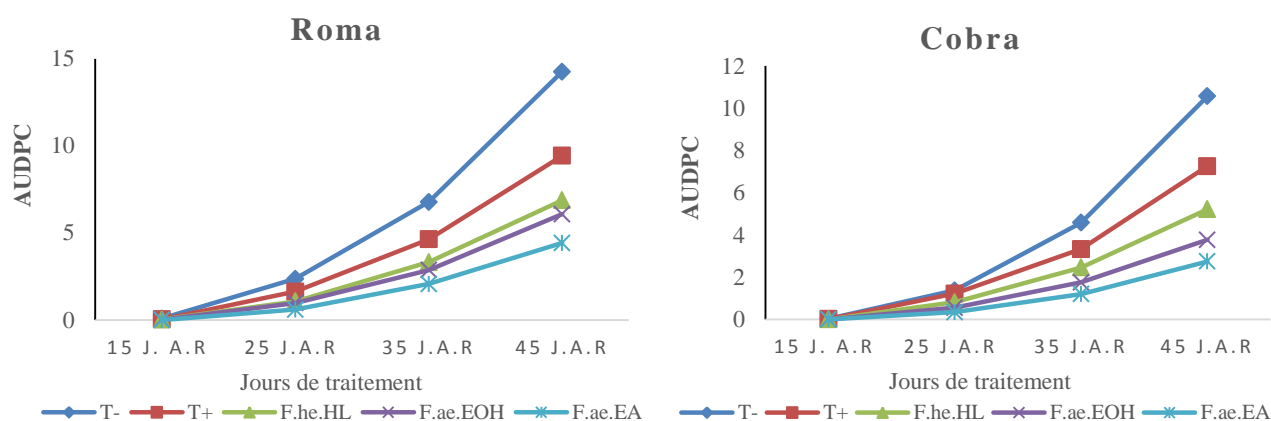


Fig. 58. Evolution de la sévérité de la maladie sur les plants au cours du temps en fonction des traitements durant la campagne 2021. T- (plantes non traitées) ; T+ (furaplant super) ; F.ae.EA (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux) ; F.ae.EOH (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol) et F.he.HL (fraction à l'hexane de l'huile).

#### III.1.4.4. Effet des traitements sur le rendement

L'analyse des variances révèle une différence significative entre les différents traitements au seuil de probabilité de 5 % selon le test de Tukey. L'application des traitements a amélioré de manière significative le rendement de la tomate comparativement au témoin durant les deux campagnes. Au cours de la campagne de 2020, les témoins négatifs ont donné les plus petits rendements ( $4,85 \pm 0,13$  t/ha pour la variété Roma et  $7,15 \pm 0,33$  t/ha pour la variété cobra) suivi des témoins positifs et du traitement T1 (F.heHL) aucune différence significative n'est observée entre les traitements T+ (Furaplant super) et T1 (F. he. HL) sur les 02 variétés cultivées (tableau XXVII). Le traitement T3 (F.ae.EA) s'est montré plus efficace avec des rendements de  $27,76 \pm 0,68$  t/ha et  $31,58 \pm 0,42$  t/ha respectivement pour les variétés Roma et Cobra.

Durant la campagne 2021, une différence significative est observée entre le traitement T+ (Furaplant) et T1 (F.he.HL) car les rendements obtenus sont de  $14,8 \pm 1,6$  t/ha et  $19,22 \pm 0,84$  t/ha respectivement pour les variétés Roma et Cobra significativement supérieur à ceux obtenus avec T+ (furaplant super) :  $19,66 \pm 1,04$  et  $19,08 \pm 0,38$  respectivement pour les mêmes variétés (Roma et Cobra).

Durant les deux campagnes, la variété cobra a obtenu les plus grands rendements.

Tableau XXVII. Rendement de la tomate des différents traitements obtenus durant les deux campagnes.

Rendement en fruits (t/ha)				
Campagnes	Campagne 2020		Campagne 2021	
Traitements	Roma	Cobra	Roma	Cobra
T <sup>-</sup>	4,85 ± 0,13f	7,15 ± 0,73f	8,5 ± 0,5g	11,10 ± 1,01fg
T <sup>+</sup>	11,51 ± 0,5e	18,58 ± 0,52d	14,66 ± 1,04f	19,08 ± 0,38de
T <sub>1</sub>	12,22 ± 0,68e	16,66 ± 0,57d	14,81 ± 1,66ef	19,22 ± 0,84d
T <sub>2</sub>	18,26 ± 2d	22,88 ± 1,67c	21,33 ± 1,53cd	25,18 ± 2,5c
T <sub>3</sub>	27,76 ± 0,68b	31,58 ± 0,42a	31,44 ± 1,5b	38,04 ± 2,58a

Les valeurs dans la même colonne portant les lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5% selon les tests de Tukuey. T<sup>-</sup> : plantes non traitées ; T<sup>+</sup> : traitement chimique ; T<sub>1</sub> : F.heHL ; T<sub>2</sub> : F.aeEOH ; T<sub>3</sub> : F.aeEA.

### III.2. Discussion

*Ralstonia solanacearum* étant le deuxième phytopathogène le plus destructeur au monde, le présent travail s'est donné pour objectif général d'inhiber le développement de cette bactérie avec des extraits des graines de *T. peruviana*, en passant par une caractérisation biochimique et physiologique des isolats prélevés dans les zones considérées comme le grenier du potager au Cameroun.

Le suintement blanchâtre exsudé dans l'eau claire par les tiges de plantes de tomates malades échantillonnées est caractéristique de la présence de *R. solanacearum*. En effet Charkowski *et al.* (2020) ont montré qu'un tissu vasculaire coupé de la tige et placé dans l'eau exsude des fils de suintement bactérien. Une détection similaire de *R. solanacearum* a été effectuée par Razia *et al.* (2021) au Bangladesh sur les fragments de tige des plantes des solanacées.

Tous les isolats étaient positifs sur milieu Kelman, largement utilisé et le mieux étudié pour caractériser *R. solanacearum*. Ces isolats cultivés sur milieu Kelman ont montré la différence entre les colonies virulentes et les colonies non virulentes. Vingt-neuf (29) isolats ont présenté des colonies ayant un aspect muqueux, aspect dû à la production d'exopolysaccharides (EPS) tel que décrit par Kelman (1954) qui avait établi la relation entre la virulence et l'aspect muqueux de *R. solanacearum* en milieu de culture. Leur forme irrégulière et leur couleur blanchâtre avec un centre rose, justifient la présence des bactéries pathogènes de l'espèce *R. solanacearum* démontré par Klément (1990) lorsqu'il effectuait la caractérisation morphologique de cette bactérie. Un (01) isolat a présenté des colonies ayant un aspect rugueux. En effet, Kelman (1954) a montré que cet aspect des colonies est dû à l'accumulation de triphénylformazan, stables rouge foncé caractéristique des souches non-virulentes. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Schaad (1980) et suslow *et al.* (1982) lors de la caractérisation morphologique des souches de *R. solanacearum* sur les milieux solides enrichie en chlorure de triphényltétrazolium. De même Arwiyanto (2014) dans ses travaux avait distingué les souches virulentes de *R. solanacearum* des souches non-virulentes qui étaient rouges vif, rondes, petites et sèches.

Les résultats de coloration de Gram ont révélé que les cellules de *R. solanacearum* étaient de Gram négatif, en forme de bâtonnet droit ou incurvés, ce qui caractérise les bactéries phytopathogènes comme mentionné par (Schaad, 1989). Par ailleurs, He *et al.* (1983), Chaudhry et Rashid (2011) ont rapporté un résultat morphologique et de coloration similaire de *R. Solanacearum*. Par ailleurs le test KOH a indiqué que la bactérie a été confirmée comme Gram négatif. De tels résultats ont également été obtenus par Pawaskar *et al.* (2014) lorsqu'ils ont effectué le test KOH sur les souches de *R. solanacearum* isolées des solanacées au Chili. Toutes les bactéries Gram négatif isolées ont produit des bulles de gaz lorsqu'elles ont été mélangées à une goutte de 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur une lame de verre, confirmant ainsi la présence des bactéries aérobies facultatives, également obtenue par Mohamed *et al.* (2014) lorsqu'ils ont réalisé ce test sur *R.*

*solanacearum* isolé des plantes de tomate en Egypt. Le test Kovacs oxydase a différencié tous les isolats testés car tous ont produit une couleur pourpre foncée en 15 à 30 secondes, indiquant en effet qu'elles étaient des bactéries aérobies (Goszczyńska *et al.*, 2000). Par ailleurs le test à l'arginine était négatif à cause de l'incapacité des bactéries à dégrader l'arginine, résultats également rapporté par les travaux de Rahman *et al.* (2010) et Nurdika *et al.* (2022) lors de la caractérisation biochimique de *R. solanacearum* isolé de l'aubergine, de la tomate et de la pomme de terre.

Tous les isolats ont été mobiles et ne présentaient pas des spores ce qui confirme le fait que *R. solanacearum* possède un ou plusieurs flagelles polaires la rendant de ce fait mobile. Tans-Kersten *et al.* (2001) ont démontré que cette mobilité contribue significativement au pouvoir pathogène de la bactérie au stade initial de l'infection. Tous les isolats de *R. solanacearum* isolés à partir des plantes de tomates malades par Mohammed *et al.* (2014) ont présentés le même résultat.

Le test TSI a révélé que les isolats ont oxydés le lactose, le saccharose. Sasidahrán Sreedevi *et al.* (2013) ont obtenus des résultats similaires lorsqu'ils caractérisaient *R. solanacearum* isolé des plantes de gingembre. De même, les isolats ont oxydé le glucose avec dégagement de gaz, ce résultat corrobore également avec ceux de de Khetmalas (1984), Pawaskar *et al.* (2014) qui ont signalé que *R. solanacearum* était positif dans la production de gaz en présence de glucose. Par contre les résultats concernant la production négative de sulfure d'hydrogène gazeux (H<sub>2</sub>S) corroborent à ceux de Hsu *et al.* (1993), Razia *et al.* (2021) qui ont réalisé le même essai sur *R. solanacearum*. Tous les résultats susmentionnés ont prouvé que les isolats des plantes de tomate étaient typiques de l'agent pathogène *R. solanacearum*.

Deux biovars (biovar 2 et biovar 3) ont été identifiés comme étant à l'origine de l'infection de la tomate au Cameroun. La différenciation des biovars de *R. solanacearum* basée sur l'utilisation des glucides a également été rapportée par He *et al.* (1983) et Kumar *et al.* (1993) qui ont différencié des souches qui oxydaient uniquement les dissacharides (cellobiose, lactose, maltose), caractéristiques du biovar 2 et par Rahman *et al.* (2010) et Nurdika *et al.* (2022) qui ont différencié des souches qui oxydaient à la fois les dissacharides et les sucres alcools, caractéristique du biovar 3, résultats similaires au nôtre. Ces résultats, contrairement aux travaux de Mahbou *et al.* (2009) qui n'ont que signalé la présence du biovar 2 de *R. solanacearum* au Cameroun confirment la présence des biovar 2 et biovar 3 qui infectent les plantes de tomates. Selon l'oxydation du tréhalose et du méso-inositol tel que décrit par Hayward (1994), les biotypes 2T et N2 ont également été déterminés avec dominance du biotype N2. Les isolats Bj1 et Ydé5 sont de biotype 2T, résultats qui corroborent avec ceux de Sedighian *et al.* (2020) qui ont rapporté que les souches de biovar 2T isolées de la tomate au Sud-Ouest de l'Iran sont également responsables de l'infection de tomate dans les zones tropicales. La diversité a été observée dans les isolats prélevés dans les

Hauts plateaux de l'Ouest où tous les trois groupes ont été identifiés. Les travaux de Horita *et al.* (2005) et Lemessa et Zeller (2007) ont indiqué que l'effet de la température sur la croissance de *R. solanacearum* était associé à la désignation des biovars. Ils ont montré que les souches de biovar 2 étaient capables de croître préférentiellement à des températures plus basses (20-22° C), par contre les souches de Biovar 3 poussaient à des températures plus élevées (27 - 37° C), ce qui justifierait la répartition des biovars dans les différentes zones agroécologiques. En outre Mahbou *et al.* (2009) a mentionné qu'au Cameroun les souches de biovar 2 s'adaptent à des climats avec des températures relativement plus froides (cas des hauts plateaux de l'Ouest).

Le test d'hypersensibilité de tabac a montré la présence de deux races (02) qui infectent la tomate au Cameroun (la race 1 et la race 3 qui est prédominante). *Ralstonia solanacearum* a pu déclencher une réaction d'hypersensibilité dans les feuilles de tabac. En effet cette bactérie a un système de sécrétion de type HR III (T3SS), ce mécanisme de sécrétion joue un rôle dans le processus de pathogénèse qui peut déclencher une réaction d'hypersensibilité (Razia *et al.* 2021 ; Nurdika *et al.*, 2022). Tous les isolats de la zone forestière à pluviométrie monomodale étaient de la race 1. Par contre la race 3 est la plus représentée de notre collection et plus présente dans les deux autres zones agro écologiques où les échantillons ont été prélevés. Les travaux d'Álvarez *et al.* (2010) ont montré que contrairement à la race 1 qui a son optimum de croissance à des températures élevées (autour de 35° C), la race 3 s'établit plutôt dans des milieux tempérés et a un développement optimal autour de 27° C.

Quatre groupes de *R. solanacearum* infectent la tomate au Cameroun : race 1 bv2, race 1 bv3, race 3 bv2 et race 3 bv3. Dans les cinq (05) biovars 2 identifiés, quatre (04) ont été isolés dans les hauts plateaux de l'Ouest et les 3/4 correspondaient à la race 3 biovar 2 adaptés aux zones froides. Ce résultat corrobore à celui obtenu par Mahbou *et al.* (2009) qui ont isolé les souches de race 3 biovar 2 sur les plantes de tomates collectées dans les hauts plateaux de l'Ouest, une zone de culture de montagne au climat tempéré. Les races 1 bv3 et les races 3 bv3 prédominent dans zones chaudes et humides (zones agroécologiques à pluviométries monomodale et bimodale). En Afrique, Mohamed *et al.* (2014), Sikirou *et al.* (2017), Shut *et al.* (2018) et Magnan *et al.* (2018) ont respectivement rapporté que le biovar 2 race 1, le biovar 3 race 1, le biovar 2 race 3, le biovar 3 race 3 causent des pertes énormes chez la tomate.

La pathogénicité extensive de *R. solanacearum* chez les plants de tomate âgés de 6-7 jours dans un délai de 48 heures d'inoculation racinaire est la démonstration de sa virulence dans les stades très précoces de la plante. En outre la courbure, caractéristique de la région supérieure de la pousse au début de la maladie observée chez les plantules après inoculation par les racines indique que la mort des semis est due à *R. solanacearum* (Sing *et al.*, 2018). Les auteurs Kumar *et al.* (2017), Kabyashree et Ray (2020) qui ont étudié les fonctions de virulence en milieu gnotobiotique

ont démontré grâce à la coloration de gus et la microscopie à fluorescence que les semis de tomates fanés étaient colonisés par *R. solanacearum*. Les isolats Fm6 (race 3 biovar) et Bfo (race 3 biovar 3) se sont avérés les plus virulents. Cette virulence serait due à l'expression des gènes de virulence de *R. solanacearum* tels que *hrpB*, *phcA* et *pilT* (Phukan *et al.*, 2019). Sing *et al.* (2018) ont obtenu les résultats similaires lorsqu'ils ont effectué les tests de pathogénicité par inoculation racinaire des semis de tomates en milieu gnotobiotique. Les travaux de French *et al.* (2018) ont montré que l'auxine sécrétée par *R. solanacearum* est impliquée lors des premiers stades d'infection chez la tomate et accentue les symptômes de la maladie, ils ont également démontré que plusieurs mutants de signalisation et de transport de l'auxine induit la résistance de la tomate au flétrissement bactérien. Par ailleurs, les travaux de Xue *et al.* (2020) ont rapporté que lors de l'inoculation *in vitro* de *Ralstonia solanacearum*, les protéines effectrices (T3SS et T3E) appelées effecteurs de type III dont l'expression est régulée par la protéine bactérienne HrpB, sont les principaux déterminants de la pathogénicité de la bactérie responsables des différentes altérations morphologiques et du blocage de la croissance des racines primaires des plantes hôtes avec induction des symptômes de la maladie.

Les rendements obtenus après extraction de 500g de poudre de *T. peruviana* ont variés en fonction des solvants utilisés, 18 % pour l'extrait aqueux, 26,08 % pour l'huile et 12,12 % pour l'extrait à l'éthanol. Cette variation de rendement serait due à la polarité des solvants qui diffère les uns des autres, car Muhammad *et al.* (2013) ont montré que la polarité des solvants utilisés jouerait un rôle dans l'extraction de nombreux composés. Le rendement en huile obtenu est inférieur à celui obtenu par Chagourou *et al.* (2012) qui ont obtenu au Soxhlet un rendement en huile de 68,4 %. Cette variation de rendement serait liée aux conditions environnementales, à l'état du matériel végétal au moment de la cueillette et au cycle végétal de la plante (Svoboda et Hampson, 1999 ; Smallfeld, 2001).

Les tests *in vitro* ont montré que l'extrait à l'éthanol, l'extrait aqueux et l'huile de *T. peruviana* sont très efficaces contre *R. solanacearum*. Des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 100 % ont été obtenus à la concentration C4 = 100 µl/ml sur tous les isolats testés avec les trois extraits, ce résultat serait dû aux différents métabolites secondaires tels que des huiles essentielles, les phénols, les alcaloïdes, les saponines, les tannins et les sucres qu'a révélés le screening phytochimique des différents extraits. En effet, Ohri et Pannu (2010), Pandey *et al.* (2017) ont montré que certains composés phénoliques, les alcaloïdes, les glycosides, les terpénoïdes et les huiles essentielles ont une activité antibactérienne. Plusieurs de ces composés ont également été obtenus par Mboussi *et al.* (2016) et Salé *et al.* (2021) lorsqu'ils effectuaient le screening phytochimique de *T. peruviana*.

L'extrait à l'éthanol de *Thevetia peruviana* s'est avéré plus efficace que l'extrait aqueux et l'huile, car à la concentration C3=50 µl/ml on a observé un nombre de colonies de 5,78 log CFU/ml ; 5,10 log CFU/ml et 4,52 log CFU/ml respectivement pour les souches Fm6, Bfo et Ltn et une inhibition de 100 % à la dose C4=100 µl/ml. Plus la concentration augmentait, plus le pourcentage d'inhibition était fort. De tels résultats ont été obtenus par Murthy *et al.* (2015) qui ont obtenu *in vitro* une inhibition de *R. solanacearum* isolé des plantes de tomates avec l'extrait au méthanol des feuilles de neem. De même, les travaux de Bai *et al.* (2016) ont montré un fort potentiel antibactérien de l'extrait à l'éthanol des boutons floraux de *Syringa oblata* contre *R. solanacearum*, responsable du flétrissement bactérien chez le tabac.

L'extrait aqueux et l'huile de *T. peruviana* ont également inhibé de façon significative la croissance des différents isolats de *R. solanacearum* testés. Cependant l'isolat Ltn du littoral a été le plus sensible aux différents extraits car le nombre de colonies a été de 5,43 log CFU/ml et de 6,23 log CFU/ml à la concentration C3= 50µl/ml respectivement pour l'extrait aqueux et l'huile de *T. peruviana*. D'autres études des extraits des plantes ont montré un effet antibactérien contre *R. solanacearum*. Ainsi Gopalakrishman *et al.* (2014), Li et Yu (2015) ont respectivement montré *in vitro* l'effet antibactérien de l'huile essentiel des feuilles de *Macleaya cordata* et de l'huile essentiel de *Syzygium aromaticum* sur des souches de *R. solanacearum* isolées des plantes de tomates. Par ailleurs Gopalakrishman *et al.* (2014), Thuy Thu Vu *et al.* (2017) ont rapporté que l'extrait aqueux d'*Allium sativum* inhibe *in vitro* *R. solanacearum*.

Les pourcentages d'inhibition des extraits des végétaux sur la croissance des souches ont également varié avec l'augmentation des concentrations utilisées. A des fortes concentrations, les extraits ont présenté une inhibition totale sur le développement de la bactérie. Preuve que l'efficacité des extraits est proportionnelle à chaque concentration utilisée, ce qui révèle les corrélations observées entre concentrations et pourcentage d'inhibition. Les CMI<sub>50</sub> et les CMI<sub>90</sub> ont en effet été déterminées sur *R. solanacearum*. L'extrait à l'éthanol a présenté des faibles valeurs sur tous les isolats testés par rapport à l'extrait aqueux et à l'huile, ce qui justifie son efficacité par rapport à ces deux extraits et par conséquent sont potentiel antibactérien. Cette variabilité s'expliquerait par le fait que les bactéries phytopathogènes ne réagissent pas de la même manière vis-à-vis des biopesticides. De tels résultats ont été obtenus par Carlton *et al.* (1992) qui ont montré que les champignons phytopathogènes agissent différemment en présence des biopesticides. De plus, Kone *et al.* (2018) ont montré qu'effectivement les faibles valeurs des CMI mettent en avant l'efficacité d'un extrait car, ils ont obtenu *in vitro* une forte inhibition du développement mycélien de *Cercospora albemoschus* avec des extraits aqueux de *Jatropha curcas* ayant des CMI faibles (indéterminé à CMI<sub>50</sub> ; CMI<sub>90</sub>=3,48).

Les CMB des différents extraits ont également été déterminées. Les plus faibles valeurs ont été obtenues avec l'extrait à l'éthanol (95, 90 et 85 µl/ml respectivement pour les isolats Fm6, Bfo et Ltn) et les plus grandes valeurs ont été obtenues avec l'huile (100, 100 et 95 µl/ml respectivement pour les isolats Fm6, Bfo et Ltn). Ces CMB sont plus faibles que celles obtenues par Li *et al.* (2014) qui ont montré que la Lausiumamide B, isolée à partir des graines de *Clausena lansium* inhibe complètement la croissance *in vitro* de *R. solanacearum* à une CMB=125 µg/ml.

Le fractionnement des extraits bruts a été effectué. Concernant les fractions de l'extrait à l'éthanol, l'hexane a donné le rendement le plus élevé (49,20 %), l'acétate d'éthyle pour les fractions de l'extrait aqueux avec un rendement de 61,2 % et le butan-1-ol pour les fractions de l'huile avec un rendement de 83,33 %. Ceci s'expliquerait par les différences de polarité des solvants tel que démontré par Atangana *et al.* (2023) qui ont obtenu des rendements différents en fonction des solvants utilisés lors du fractionnement des extraits des racines d'*Acacia polycantha*, chaque solvant extrait donc des molécules avec lesquelles ils ont le plus d'affinité.

De toutes les fractions testées *in vitro* contre *R. solanacearum*, la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux s'est montrée plus efficace avec 100 % d'inhibition à la dose C=25 µl/ml, suivi de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol qui a inhibé à 100 % *R. solanacearum* à la dose C=50 µl/ml. De tels résultats ont été obtenus par Rueda *et al.* (2018) qui ont montré *in vitro* une inhibition totale de *R. solanacearum* race 2, isolé du bananier plantain avec les extraits au méthanol des fleurs et des feuilles de *Tagetes patula*. De même, Hossain *et al.* (2021) ont montré que l'extrait d'éther de pétrole des racines de *Rauvolfia serpentina*, l'extrait au méthanol de *Cymbopogon citratus* et l'extrait à l'éthanol de *Lantanacamara* inhibent significativement *in vitro* *R. solanacearum*. Par ailleurs, la fraction à l'hexane de l'huile a complètement inhibé *R. solanacearum* à C=100 µl/ml, corroborant ainsi avec les travaux d'Oluoch (2023) qui a rapporté que l'huile essentiel du clou de girofle présentait *in vitro* une puissante activité antibactérienne contre *R. solanacearum*, agent responsable du flétrissement de la pomme de terre.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub>) de ces trois fractions ont été faibles avec pour CMI<sub>50</sub> : 13,06 ; 17,81 ; 22,3 µl/ml et pour CMI<sub>90</sub> : 22,87 ; 40,44 ; 64,07 µl/ml respectivement pour la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux, la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol et la fraction à l'hexane de l'huile. Par ailleurs, la fraction à l'acétate d'éthyle a obtenu la concentration minimale bactéricide (CMB) la plus faible (30 µl/ml) suivi de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol (45 µl/ml) et la fraction à l'hexane de l'huile (100 µl/ml) confirmant ainsi leur efficacité respective. Ces CMI sont plus faibles que celles obtenues par Songting *et al.* (2021) qui ont montré que la 7-methoxycoumarine supprime

significativement *in vitro* *R. solanacearum* mais avec une concentration minimale inhibitrice CMI = 75 mg/l et une concentration minimale bactéricide CMB= 175 mg/ml.

L'analyse GC-MS des trois (03) fractions efficaces (fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux, fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol et la fraction à l'hexane de l'huile) révèle la présence de nombreux composés ayant une activité antibactérienne tel que mentionnée dans la littérature. Leur GC-MS a révélé la présence de 13 composés à activité antibactérienne (Azulene ; Hexadecanoic acid, ethyl ester ; 8-Octadecenoic acid, methyl ester ; Hexadecanoic acid, butyl ester ; Eicosanoic acid ; Octadecanoic acid, ethyl ester ; Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester ; Hexanedioic acid, dioctyl ester ; Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester ; Oleic acid, 3-hydroxypropyl ester ; 9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester ; 9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester ; 1,2-15,16-Diepoxyhexadecane) dans la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux, de cinq (05) composés antibactériens dans la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol (Hexadecanoic acid, ethyl ester ; 11-Octadecenoic acid, methyl ester ; Diisooctyl phthalate ; Bis(2-ethylhexyl) phthalate ; 9-Octadecenal, (Z)-) et de sept (07) composés antibactériens (7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (z)-; Hexadecanoic acid, butyl ester ; Eicosanoic acid, methyl ester ; Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester ; Docosanoic acid, methyl ester ; 9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-hydroxyethyl ester ; Oleic acid, 3-hydroxypropyl ester) dans la fraction à l'hexane de l'huile. Ces résultats révèlent des nouveaux composés antibactériens responsables de l'inhibition de *R. solanacearum*. En effet des travaux antérieurs ont montré le potentiel antibactérien des extraits des plantes contre *R. solanacearum*, mais l'analyse GC-MS de ces extraits ont révélé des composés antibactériens différents de ceux obtenus dans ces travaux. Ainsi, Kyarimpa *et al.* (2014), ont montré le potentiel antibactérien de l'huile essentielle de *Tagetes minuta* contre *R. solanacearum* dont l'analyse GC-MC a révélé neuf composés majeurs parmi lesquels le limonène, le bêta-trans ocimène, et la verbénone. De même Rueda *et al.* (2018) ont révélé par l'analyse GC-MS des extraits au méthanol des fleurs et des feuilles de *Tagetes patula* des composés antibactériens (Indane, D-limonene, Z-ocimeno, terpinolene, Bervenona et piperitone) qui inhibent la croissance de *R. solanacearum*.

L'analyse du docking de ces composés antibactériens sur la cétopantoate réductase putative, le glutathione transferase, le dihydrolipoyl dihydrogenase et la lectine, protéines de *R. solanacearum* montre que quatre composés (1,2-15,16-diepoxyhexadecane ; eicosanoic acid ; hexadecanoic acid butyl ester ; azulène) présents dans la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux, deux composés (diisooctyl phthalate ; bis(2-éthyl hexyl)phthalate) présents dans la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol et deux composés (Eicosanoic acid, methyl ester ; (Z)-7 hexadecenoic acid, methyl ester) présents dans la fraction à l'hexane de l'huile seraient les

principaux métabolites secondaires responsables de l'activité antibactérienne des différentes fractions car ils ont présenté les plus faibles énergies de liaison, par conséquent une affinité de liaison plus forte. Ces composés interagissent avec des sites actifs des protéines de *R. solanacearum* et la plupart des interactions sont de type liaison hydrogène qui constituent et présentent les interactions les plus importantes dans les processus biologiques, les interactions hydrophobiques stabilisantes et les liaisons électrostatiques qui sont aussi d'une grande importance. Ces interactions forment le complexe composé antibactérien-protéine et bloqueraient ainsi l'activité de ces protéines. De tels résultats ont également été obtenus par Navyashree *et al.* (2021) qui ont montré par amarrage moléculaire, une grande affinité de liaison (liaisons hydrogènes et hydrophobes) des phytoconstitués antibactériens tels que le phthalate de dioctyle proglycine annexés aux nanoparticules d'argent (AgNPS) avec la cétopantoate réductase putative de *R. solanacearum*. De même Hossain *et al.* (2021), après avoir montré *in vitro* le potentiel antibactérien des extraits de *Cymbopogon citratus* et de *Rauvolfia serpentina* sur *R. solanacearum*, ont démontré par docking moléculaire que les interactions de liaison entre les composés antibactériens de ces extraits et les protéines essentielles de la bactérie sont responsables du blocage de l'activité de ces protéines et par conséquent de l'inhibition de la croissance de *R. solanacearum*.

Les activités des extraits aqueux et organiques sont souvent réduites à l'activité de leurs composés majeurs ou de ceux susceptibles d'être actifs (Sonboli *et al.*, 2006 ; Bolie, 2023).

Les tests réalisés *in vivo* ont également montré l'efficacité des trois fractions (F.aeEA, F.aeEOH, F.heHL) de *T. peruviana* sur les trois (03) isolats testés (Fm6, Bfo et Ltn). La fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux s'est également montrée plus efficace et l'isolat Ltn a également été plus sensible car 14 jours après traitement, aucune plante flétrie n'a été observée chez les plantes inoculées avec cet isolat et traitées avec cette fraction, comparativement au témoin où on a observé une incidence relative de la maladie de 70 %. Des résultats similaires ont été obtenus par Paret *et al.* (2010) qui ont contrôlé en serre la race 4 de *R. solanacearum* qui infecte les plants de gingembre en utilisant les huiles essentielles de *Cymbopogon martini* et d'*Eucalyptus globulus*. Par ailleurs, les courbes d'évolution de la sévérité ont montré des faibles valeurs AUDPC chez les plantes inoculées avec l'isolat le plus virulent (Fm6) et traitées avec les différentes fractions : 0,47 ; 0,53 et 0,64 respectivement pour le traitement à la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux, la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol et la fraction à l'hexane de l'huile, comparativement au témoin où on a obtenu une valeur AUDPC de 5,8. Ces résultats s'expliqueraient par la présence dans ces fractions des métabolites secondaires tels que révélés par l'analyse GC-MS et le docking moléculaire, qui interagissent avec les protéines cibles de *R. solanacearum*, en bloquant ainsi leur activité tout en réduisant la croissance de *R. solanacearum*. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Li *et al.* (2020) qui ont inhibé à 82-100 % la

croissance de *R. solanacearum* en serre avec l'extrait (actinomycine D) d'une souche d'actinomycète nommée NEAU-HV9.

Les doses efficaces des trois fractions obtenues *in vitro* et en serre ont permis de réaliser des expérimentations en champ dans les conditions agricoles réelles pendant deux campagnes (2020, 2021). L'application des extraits de *T. peruviana* ont considérablement augmenté les paramètres de croissance chez les variétés Cobra et Roma de la tomate cultivée. En effet, la hauteur des plants de la variété Cobra était plus élevée que celle des plants de la variété Roma durant les deux campagnes. Les plants de tomates traités avec la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ont montré une hauteur plus importante. De même, les différents traitements ont stimulé la production des feuilles pendant les deux campagnes, une différence significative a été observée entre les témoins et les traitements. Les plants de tomates traités avec la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ont également montré un nombre de feuilles élevé par rapport aux autres traitements. Aucune différence significative n'a été observée entre le traitement positif (Furaplant super) et le traitement à la fraction à l'hexane de l'huile. L'augmentation des paramètres de croissance des plants de tomates par les extraits des graines de *T. peruviana* serait due d'une part aux composés tels que les stérols, les sucres et les alcaloïdes qui auraient induits la croissance des plantes (N'guessan *et al.*, 2006 ; Bolie, 2023). Des résultats similaires ont été obtenus par Salé (2021) lorsqu'il évaluait l'efficacité de l'extrait aqueux et des extraits organiques de *T. peruviana* dans la lutte contre le mildiou du taro. D'autre part, cette augmentation serait due aux propriétés bactéricides des extraits car ils auraient inhibé le développement de *R. solanacearum* et par conséquent favorisés la croissance des plantes de tomate. Les mêmes résultats ont été obtenus par Manga (2022) lorsqu'il a évalué l'efficacité des graines de *Ricinus communis* et d'*Anonidium mannii* sur les organismes qui influencent le développement de *Phaseolus vulgaris* au Cameroun et de Bolie (2023) lorsqu'il a évalué l'effet des extraits d'*Annona muricata* sur la cercosporiose du gombo.

Concernant les paramètres épidémiologiques, les extraits de *T. peruviana* ont significativement réduit l'incidence de la maladie durant les deux campagnes. Les plantes traitées avec la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux ont présenté des faibles incidences de la maladie : 20,66 % et 19 % en 2020 respectivement pour la variété Roma (la plus sensible) et la variété Cobra, comparativement aux plantes non traitées où on a obtenu des incidences plus élevées : 80 % et 61 % respectivement pour les mêmes variétés. Suivi de la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol (25,44 % et 23,66 %) et la fraction à l'hexane de l'huile (31,66 % et 26,66 %) respectivement pour les mêmes variétés. Contrairement aux travaux de Konappa *et al.* (2018) qui ont réduit le flétrissement bactérien de la tomate causé par *R. solanacearum* de 51,07 % avec certains isolats de *Trichoderma asperellum*, les extraits des graines de *T. peruviana* ont réduit

l'incidence de la maladie de 70-85 %. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Yah N'guettial *et al.* (2022) qui ont significativement réduit en champ l'incidence et la sévérité de *Ralstonia solanacearum* sur les plants de tomates avec les extraits d'*Alchornea cordifolia* et de *Mezencyon benthamianum*. L'évolution de la maladie a été plus rapide au cours de la campagne 2020 car les plantes non traitées ont présenté au cours de la campagne 2021 une incidence de 60,33 % et de 56 % respectivement pour la variété Roma et Cobra. Par ailleurs *R. solanacearum* s'est montré plus agressif durant la campagne de Septembre-Décembre 2020, les plantes non traitées de la variété Roma (plus sensible à *R. solanacearum*) ont donné une valeur AUDPC de 20,33 alors que cette valeur a été de 14,25 pendant la campagne de Mars-Juin 2021. Ceci s'expliquerait par les températures plus élevées du mois de Novembre et Décembre (saison sèche), période pendant laquelle l'incidence et la sévérité ont été plus élevées ; l'isolat Bfo étant de race 3 biovar 3, Lemessa et Zeller (2007) ont montré que le biovar 3 croissait plus rapidement à des températures plus élevées.

Pendant les essais en champ, aucune fertilisation n'a été effectuée afin d'éviter la lutte intégrée et de mieux évaluer l'effet des extraits sur *R. solanacearum* car la fertilisation organominérale, très utilisée dans la culture de la tomate a un effet sur l'incidence du flétrissement bactérien. Malgré cette absence de fertilisation, les rendements de tomates obtenus durant les deux campagnes montrent que les extraits des graines de *T. peruviana* ont amélioré la production de la tomate par rapport au traitement chimique et le témoin. Ce qui démontre que les extraits des graines de *T. peruviana*, non seulement jouent un rôle de protection, mais aussi de stimulateur de croissance et de rendement. Dida *et al.* (2019), Salé (2021) ont montré que les extraits des graines de *T. peruviana* amélioraient respectivement le rendement de la pomme de terre et du taro.

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## 1-Conclusion

L'objectif de ce travail consistait à inhiber le développement de *Ralstonia solanacearum* sur la tomate par l'utilisation des extraits des graines de *Thevetia peruviana*.

Tous les résultats des tests caractéristiques de *R. solanacearum* ont montré que les isolats des plants de tomates échantillonnés étaient typiques de l'agent pathogène *R. solanacearum*. Quatre (04) groupes ont été identifiés comme à l'origine de l'infection de la tomate au Cameroun : race 1 bv2, race 1 bv3, race 3 bv2 et race 3 bv3. Deux (02) isolats : Fm6 (race 3 bv2) et Bfo (race 3 bv 3) se sont montrés plus virulents.

Le potentiel antibactérien des extraits des graines de *T. peruviana* a été testé *in vitro* sur trois isolats virulents de *R. solanacearum*. Tous les extraits ont inhibé à 100 % la croissance des différents isolats à la dose C= 100 µl/ml. Les CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub> ont été déterminées pour tous les extraits et les plus faibles valeurs ont été obtenues avec l'extrait à l'éthanol, ce qui justifie sa plus grande efficacité par rapport aux deux autres.

Trois fractions (à l'hexane, à l'acétate d'éthyle et au butan-1-ol) de chaque extrait ont été effectuées et testées sur l'isolat Fm6, la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux s'est montrée plus efficace avec une inhibition de 100 % à C= 25 µl/ml et une CMB= 30 µl/ml. L'analyse GC-MS de ces trois fractions a révélé la présence de nombreux composés antibactériens contenus dans ces extraits. Le docking moléculaire de ces composés, réalisé sur quatre protéines de *R. solanacearum* a montré que huit (08) composés : 1,2-15,16-diepoxylhexadecane ; eicosanoic acid ; hexadecanoic acid butyl ester ; azulène ; diisooctyl phthalate ; bis(2-éthylhexyl)phthalate ; eicosanoic acid, methyl ester ; (Z)-7-hexadecenoic, methyl ester interagissent avec les sites actifs des protéines de la bactérie tout en bloquant leur activité et seraient à l'origine de l'effet bactéricide des extraits des graines de *T. peruviana*.

Les doses efficaces des trois fractions obtenues *in vitro* ont réduit l'incidence du flétrissement bactérien de 88-100 % en serre et 70-85 % en champ. Ces extraits ont été plus efficaces que le bactéricide chimique (Furaplant super) car durant la campagne de Septembre-Décembre 2020, *R. solanacearum* a été plus agressif mais les rendements obtenus chez la variété Roma (plus sensible à la maladie) ont été de 11,51 t/ha ; 12,22 t/ha ; 18,26t/ha et 27,76 t/ha respectivement pour le traitement chimique, la fraction à l'hexane de l'huile, la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol et la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux.

Ces résultats démontrent que ces extraits peuvent être exploités comme biobactéricide dans la lutte intégrée contre *R. solanacearum*.

## 2-Perspectives

Les résultats obtenus dans cette étude pourraient être utilisés comme base pour les travaux futurs. Il serait question de :

-étudier les fonctions de virulence des isolats les plus virulents qui infectent la tomate au Cameroun ;

-faire des tests multi locaux des fractions testées en champ sur d'autres champs de tomates attaqués par *R. solanacearum* ;

-fractionner complètement les extraits ;

-formuler un biopesticide à bases des principaux métabolites secondaires ayant présentés une plus forte activité antibactérienne ;

-tester ces extraits dans la lutte intégrée contre *R. solanacearum*.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABBAYES H., Chadefaud M., Ferré Y., 1963. Botanique Anatomie cycle sevolutifs systématique, Masson et Cie.
- Adegoke A., Jerry O.V., Ademola O.G., 2019. GC-MS Analysis of Phytochemical Constituents in Methanol Extract of Wood Bark from *Durio Zibethinus* Murr. *International Journal of Medicinal Plants and Natural Products* (IJMPNP), 5(3):1-11.
- Adler J., 1966. Chemotaxis in bacteria science, 153: 708-716.
- AghofackNguemzi J., Schinzoumka A. P., Tatchago V., 2015. Effets des extraits de poudre de *Spirulina platensis* et *Jatropha curcas* sur la croissance et le développement de la tomate. *J.Appl. Biosci.*, 90:8413-8420.
- AlAmery F.S., AlGaraawi I.N., 2020. Phytochemical profile and Antifungal Activity of Stems and Leaves Methanol Extract from the *Juncus Maritimus* Linn. Juncaceae Family Against some Dermatophytes Fungi. In: AIP Conference Proceedings: The 8th International Conference on Applied Science and Technology. AIP Conf. Proc. 2290, 020034-1–020034-17; <https://doi.org/10.1063/5.0027554>.
- Al-Dahmani J.H., Abbasi P.A., Miller S.A., Hoitink HAJ., 2003. Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. *Plant Dis.* 87, 80 : 913–919.
- Alexandre A.C.V. B., 2018. Comment piloter au champ la qualité de la tomate d'industrie ? Impact du déficit hydrique, du génotype et des procédés sur la qualité finale des produits transformés. Thèse de doctorat, l'université d'Avignon et des pays de Vaucluse, 126p.
- Alfano J.R., Collmer A., 2004. Type III secretion system effector proteins : double agents in bacterial disease and plant defense. *Annu Rev Phytopathol*, 42:385-414.
- Alvarez A.M., 2004. Integrated approaches for detection of plant pathogenic bacteria and diagnosis of bacterial diseases. *Annu Rev Phytopathol*, 42:339-366.
- Alvarez A. M., 2005. Diversity and diagnosis of *Ralstonia solanacearum*. In: ALLENC., PRIORP., and HAYWARD. C. (Eds.). *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. The American phytopathological society: 437-447.
- Álvarez B.E. G., Biosca M. M. L., 2010. On the life of *Ralstonia solanacearum*, a destructive bacterial plant pathogen. In: Méndez-Vilas A., (ed). *Current Research, Technology and*

- Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Badajoz, Formatex:267–279.
- Ambang Z., Ngoh Dooh J., Essono G., Bekolo N., Chewachong G., Asseng C., 2010. Effect of *Thevetia peruviana* seeds extracts on in vitro growth of four strains of *Phytophthora megakarya*. *Plant Omics journal* 3(3): 70-76.
- Aminuzzaman F.M., Hossain I. and Ahmed F., 2010. Cultural and pathogenicity of *bipolaris sorokiniana* on wheat in Bangladesh. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 3: 93-98.
- Arnó J., Gabarra R., Molina P., Godfrey K.E., and Zalom F.G., 2019. *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) success on common solanaceous species from california tomato production areas. *Environ. Entomol*, 48: 1394–1400.
- Artal R.B., Gopalakrishnan C., Thippeswamy B., 2013. An efficient inoculation method to screen tomato, brinjal and chilli entries for bacterial wilt resistance. *Pest Manag. Hortic. Ecosyst.*, 18: 70–73.
- Arwiyanto T., 2014. *Ralstonia solanacearum*, Biologi, Penyakit yang Ditimbulkan, dan Pengelolaannya. *Gadjah Mada University Press*, Yogyakarta (Indonesian).
- Atangana J.F., Messi L.M., Haddad M., Ngo Mbing J., Begoude A.D., Pegnyemb D.E., Noté O.P., 2023. New acylated triterpenoid saponins from the roots of *Acacia polyacantha* willd. (Fabaceae). *Carbohydrate Research*, 523: 108725.
- Belahdar G., Benjouad A., Abdennebi E.H., 2015. Determination of some bioactive chemical constituents from *Thesium humile* Vahl. *J. Mater. Environ. Sci.*, 6 (10): 2778-2783.
- Besford R.T. and Maw G.A., 1975. Effect of potassium nutrition on tomato plant growth and fruit development. *Plant Soil*, 42: 395-412.
- Berhaut J., 1971. *Flore illustrée du Sénégal*. Tome 1. Claire Afrique Sénégal. 626 p.
- Bhowmik D., Kumar K.P.S., Paswan S. et Srivastava S., 2012. La tomate, un médicament naturel et ses bienfaits pour la santé. *Journal de pharmacogrosie et phytochimie*, 1(1) :33-43.
- Biondi A., Guedes R.N.C., Wan F.H., and Desneux N. (2018). Ecology, worldwide spread, and management of the invasive south american tomato pinworm, *Tuta absoluta*: past, present, and future. *Annu. Rev. Entomol*, 63: 239–258.
- Blanca J., Montero-Pau J., Sauvage C., Bauchet G., Illa E., Díez M.J., Francis D., Causse M., van der Knaap E., and Cañizares J., 2015. Genomic variation in tomato, from wild ancestors to contemporary breeding accessions. *BMC Genomics*, 16: 257.

- Blancard D., 2009. *Les maladies de la tomate : Identifier, connaître, maîtriser*. Quae, Versailles, 750 p.
- Bolie H., 2023. Evaluation du potentiel antifongique et insecticide des extraits des graines d'*Annona muricata* L (Annonaceae) contre la cercosporiose et les insectes ravageurs du gombo (*Abelmoschus esculentus* L. Moech). Thèse, Université de Yaoundé I, 155p.
- Bollier D., Scheidegger L., Favre E., Mercado A., 2018. *Ralstonia solanacearum* le nouveau fléau de l'agriculture vivrière. In : François L. (ed). *Agroflash*. Hepia, Genève: 14-17.
- Bovy A., Schijlen E., and Hall R.D., 2007. Metabolic engineering of flavonoids in tomato (*Solanum lycopersicum*): the potential for metabolomics. *Metabolomics*, 3: 399.
- Brown D.G., Swanson J.K., Allen C., 2007. Two host-induced *Ralstonia solanacearum* genes, *acrA* and *dinF*, encode multidrug efflux pumps and contribute to bacterial wilt virulence. *Applied and environmental microbiology*, 73(9):2777-2786.
- Brumbley S.M., Carney B., Denny T.P., 1993. Phenotype conversion in *Pseudomonas solanacearum* due to spontaneous inactivation of *PhcA*, a putative LysR transcriptional regulator. *Journal of bacteriology*, 175(17):5477-5487.
- Buddenhagen I.W. and Elsasser T.A., 1962. An insect-spread bacterial wilt epiphytotic of bluggoe banana. *Nature*, 194:164-165.
- Buddenhagen I., 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. phytopatol*, 2:203-230.
- CABI, 2017. Datasheet on *Ralstonia Solanacearum*. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/45009#E929E841-EB6A-4C43-A4C6-651B7A4D6CE8CABI/EPP01999>.
- Caburet A., Daly P., De Bon H., Langlais C., 2003. Les légumes: In gret (ed). *Memento de l'agronome*. Cirad, Paris-France : 1023-1049.
- Caparros Megido R., Haubruge E., and Verheggen F.J., 2012. First evidence of deuterotokous parthenogenesis in the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Pest Sci*, 85: 409–412.
- Carlton R., Watermann R., Gray A. I. and Deans S. G., 1992. The antifungal activity of leaf gland volatile oil of sweet gale (*Myrica gale*) Myricaceae. *Chemaecology*, 3: 55-59.
- Carmeille A., Caranta C., Dintinger J., Prior P., Luisetti J. and Besse P., 2006. Identification of QTL for *Ralstonia solanacearum* race 3-phylo-type II resistance in tomato. *Theor Appl Genet* doi 10.1007/s00122-006-0277-3.

- Caruso P., Palomo J.L., Bertolini E., Alvarez B., López M.M., and Biosca E.G., 2004. Seasonal variation of *Ralstonia solanacearum* Biovar 2 populations in a Spanish river: Recovery of stressed cells at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.*,71(1):140–148.
- Champoiseau P.G, Jones G.B and Allen C., 2009.*Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 causes tropical losses and temperate Axietis. *Plant health progress*, 10: 1-10.
- Chandrashekara K.N., Prasanna kumar M.K., Deepa M., Vani A., Khan A.N.A., 2012. Prevalence of races and biotypes of *Ralstonia solanacearum* in India. *Journal of Plant Protection Research*, 52(1):53-58.
- Charkowski A., Sharma K., Parker M.L., Secor G.A. and Elphinstone J., 2020. Chapter 10: Bacterial Diseases of Potato. In: Campos H. and OrtizO.(Eds). *The Potato Crop: Its Agricultural, Nutritional and Social Contribution to Humankind*.Springer, Cham, 351-388.
- Chaudhry Z. and Rashid H., 2011. Isolation and characterization of *Ralstonia solanacearum* from infected tomato plants of soanskesar valley of Punjab. *Pak. J. Bot.*, 43(6): 2979-2985.
- Chaux C.L. et Foury C. L., 1994. Cultures légumières et maraichères. *Tomes III : légumimineuses potagères, légumes fruit*. Tec et Doc Lavoisier, Paris, 563 P.
- Chukwunonye M.O., Kelechi I. N., Marycolette N. E., 2015. The Chemical Constituents and Bioactivity of the seed (Fruit) extracts of *Buchholzia Coriacea* Engler (Capparaceae). *J. Appl. Sci. Environ. Manage*, 19 (4) 795 – 801.
- Chwaleka M., Lalunb N., Bobichonc H., Plea K. et Voutquenne-Azabadiokoa L., 2006. Structure-activity relationship of some hederagenin diglycosides: Haemolysis, cytotoxicity and apoptosis induction. *Biocimica and Biophysica acta*, 1760: 1418-1427.
- Cocco A., Deliperi S., Lentini A., Mannu R., and Delrio G., 2015. Seasonal phenology of *Tutaabsoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in protected and open-field crops under mediterranean climatic conditions. *Phytoparasitica*, 43: 713–724.
- Collmer A., Schneider D.J., Lindeberg M., 2009. Lifestyles of the effector rich: genome-enabled characterization of bacterial plant pathogens. *many ref*, 150(4):1623-1630.
- Colvos C., Yates T.O., 1993. ERRAT: an empirical atom-based method for validating protein structures. *Protein Sci.*, 2: 1511-1519.
- Costa J.M., Heuvelink E., 2005. Introduction: The tomato crop and industry. In: Heuvelink E. (Ed).*Tomatoes*. CABI Publishing, London : 1 - 20.

- Coyne D.L., Nicol J.M. et Claudius-Cole B., 2010. Les nématodes des plantes : Un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire. Secrétariat SP-IPM, Institut International d'Agriculture Tropicale (IITA), Cotonou, Benin.
- Dairou S., Vunyingah M., Housseini J., Amidou A., Pahimi L., Kengne M., 2020. Caractérisation de système de culture maraîchère dans la ville de Garoua: cas de la filière tomate (*Lycopersicon esculentum*). *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 49: 342-348.
- Danks C. and Barker I., 2000. On site detection of plant pathogens using lateral flow devices. *Eppo Bulletin*, 30: 421-426.
- Dash S., Meher A., Dash K.S., Das C. and Kumar D.S., 2022. GC-MS analysis of methanolic extract of *Urochloa distachya* (L.) t. q. *nguyen, leave. IJPSR*, 13(6): 2380-2394.
- Deslandes L., Frédéric P., Laurence L., Sylvie C., Canan C., William K., Holub E., Beynon J., Arlat M. and Marco Y., 1998. Genetic characterization of RRS1, a recessive locus in *Arabidopsis thaliana* that confers resistance to the bacterial soilborne pathogen *Ralstonia solanacearum*. *The American Phytopathological Society*, 11:659-665.
- Deberdt P. and Prior P., 1999. Analyse de la résistance au flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum* -Race1) gouvernée par le chromosome 6 chez la tomate. Thèse de Doctorat : Biol. Des populations et écol., Montpellier 2. Résumé N°047115351.
- Deberdt, P., Perrin, B., Coranson-Beaudu, R., Duyck, P.-F., and Wicker, E., 2012. Effect of *Allium fistulosum* extract on *Ralstonia solanacearum* populations and tomato bacterial wilt. *Plant Dis.*, 96:687-692.
- De Lannoy G., 2001. Gombo *Abelmoschus esculentus* (L.). In: Moench (ed). *Agriculture en Afrique Tropicale*. Légumes, Direction Générale de la Coopération Internationale (DGCI):478-484.
- Denny T.P., Baek S.R., 1991. Genetic evidence that extracellular polysaccharide is a virulence factor of *Pseudomonas solanacearum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 4(2):198-206.
- Denny T., Brumbley S., Carney B., Clough S., Schell M., Hayward A., Hartman G., 1994. Phenotype conversion of *Pseudomonas solanacearum*: its molecular basis and potential function. Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*: 137155.
- Denny T.P. and Hayward A.C., 2001. *Ralstonia solanacearum*. In: Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 3rd Edition. Schaad N.W., Jones J.B. and Chun W.(Eds). APS Press, Saint Paul:151-173.

- Denny T.P., 2006. Plant pathogenic *Ralstonia* species. In:Gnanamanickam S.S.,Dordrecht (eds). *Plant-associated bacteria*. Springer,the Netherlands: 573-644.
- Desneux, N., Wyckhuys K., Burgio G., 2010. Biological invasion of european tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *J Pest Sci*, 83: 197–215.
- Dharmatilake A.J., Bauer W.D., 1992. Chemotaxis of *Rhizobium meliloti* towards nodulation gene-inducing compounds from alfalfa roots. *Appl Environ Microbiol.*, 58: 1153-1158.
- Diab T. A., Donia T.and Saad-Allah K.M., 2021. Characterization, antioxidant, and cytotoxic effects of some Egyptian wild plant extracts.*Journal of Basic and Applied Sciences*, 10:1-13.
- DidaLontsi L.S., Ambang Z., Djieto L.C., Wouom Chedjou C.B., Heu A., Ndogho Pegalepo A., 2019. Effect of aqueous extracts of *Thevetia peruviana* K. seeds on the control of late blight and pest insects of *Solanum tuberosum* L. in Cameroon. *Greener Journal of AgriculturalSciences*, 9(1) :14-22.
- Dida Lontsi L.S., Kuate T.W.N., Ngatsi Z.P. Heu A., Mboussi S.B., Gbaporo C.F., Ambang Z., 2024. First report of different mating types of *Phytophthora infestans* isolates from potatoes in Cameroon and their control using *Thevetia peruviana* (Pers.k) K. Schum. Seeds extracts analyzed by GC-MS. *Indian Phytopathology*, <https://doi.org/10.1007/s42360-024-00720-6>.
- Dohou N., Yamni K., Badoc A. et Douira A., 2004. Activité antifongique d'extraits de *Thymelaelythroïdes* sur trois champignons pathogènes du riz. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 143. 31-38.
- Dominique B., 2009. *Les maladies de la tomate : Identifier, connaître, maîtriser*.Quae, 679 p.
- Doolittle S. P., Taylor L. and Damieson D., 1961. Les maladies de la tomate. *Collection techniques américaines*, 73 : 124.
- Doré C. et Varraquaux F., 2006. *Histoire de l'amélioration de cinquantaine plantes cultivées*. INRA, 691-710.
- Dumortier P., Evrad M., Maiche M., Nicolas A., De ridderi C. Et Costasantos baltazzar S., 2010. *Biodiversité chez la tomate, stratégie de conservation et de collection « Luc fichot »*. Rapport final. Phytotechnie et horticulture, Gembloux agrobio tech, 105 p.
- Eljounaidi K., Lee S.K., Bae H., 2016. Bacterial endophytes as potential biocontrol agents of vascular wilt diseases – Review and future prospects. *Biol. Control*, 103: 62–68.

- Elphinstone J.G., Hennessey J.K., Wilson J.K. and Stead D.E., 1996. Sensitivity of Different Methods for the Detection of *Pseudomonas solanacearum* in Potato Tuber Extracts. *EPPO Bulletin*, 26:663-678.
- Elphinstone J.G., 2005. The current bacterial wilt situation: a global overview. In: Allen C., Prior P., Hayward A.C. (eds). *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. Saint Paul, USA: 9-28.
- Elise P., Erik D., Mario A., Sam Chim Tam A., Teus Van L., 1989. Protection de la tomate. In : Sam Chim Tam A., et Teus Van L. (eds). *La culture de la tomate, du piment et de poivron*. Agrodok 17, Rome: 55-58.
- Elsayed T.R., Jacquiod S., Nour E.H., Sorensen J.S., Smalla K., 2020. Biocontrol of bacterial wilt disease through complex interaction between tomato plant, antagonists, the indigenous rhizosphere microbiota, and *Ralstonia solanacearum*. *Biocontrol of bacterial wilt*. Disease, (10): 2835.
- EPPO (European Plant Protection Organization), 2004. *Ralstonia solanacearum*. *EPPO Bulletin*, 34:173-178.
- Erwing E. E., Simko I., Smart C. D., Bonierbale M. W., Mizubuti E. S. G., May G. D., Fry W. E., 2000. Genetic mapping field tests of qualitative resistance to *Phytophthora infestans* in population derived *Solanum tuberosum* and *Solanum berthaultii*. *Molecular Breeding*, 25-36.
- Fahy, P.C. and Persley, G.J., 1983. Plant Bacterial Diseases, a Diagnostic Guide. In: Fahy P.C and Hayward A.C. (eds). *Media and Methods for Isolation and Diagnostic Tests*. Academic Press, New York : 369-370.
- FAO., 2019. Food and Agriculture organization of the United Nations. Production : crops. <http://faostat.fao.org>.
- FAOSTAT., 2022. DA (Département du développement durable). Consulté 11 juin 2023, à l'adresse <https://www.fao.org/faostat/fr/#data/QCL/visualize>.
- FAOSTAT, 2024. Production mondiale de la tomate.
- Fovo Djeugap J., Eko D., Nguéfack J., Colombus N.T., Fontem D., 2014. Effect of organic amendments and fungicide application on Potato late blight, bacterial wilt and yield in Cameroon. *International of Agronomy and Agriculture Research*, 5 (4), 12-19.
- French E., Kim B.S., Rivera-Zuluaga K., Iyer-Pascuzzi A.S., 2018. Whole root transcriptomic analysis suggest a role for auxin pathways in resistance to *Ralstonia solanacearum* in tomato. *Molecular plant-microbe interactions*, 31(4):432-444.
- Friedman M., 2002. Tomato glycoalkaloids: role in the plant and in the diet. *J. Agric. Food Chem*, 50: 5751–5780.

- Gata-Gonçalves L., Nogueira J.M.F., Matos O. and Bruno de Sousa R., 2003. Photoactive extract from *Thevetia peruviana* with antifungal properties against *Cladosporium Cucumerinum*. *Journal of photochemistry and phytobiology*, 70 (1):51-54.
- Genin S., Gough C.L., Zischek C. and Boucher C.A., 1992. Evidence that the HrpB gene encodes a positive regulator of pathogenicity genes from *Pseudomonas solanacearum*. *Molecular Microbiology*, 6:3065-3076.
- Genin S., Boucher C., 2002. *Ralstonia solanacearum*: secrets of a major pathogen unveiled by analysis of its genome. *Molecular Plant Pathology*, 3(3):111-118.
- Genin S., Boucher C., 2004. Lessons learned from the genome analysis of *Ralstonia solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, 42:107-134.
- Genin S., 2010. Molecular traits controlling host range and adaptation to plants in *Ralstoniasolanacearum*. *New Phytologist*, 187(4):920-928.
- Gildemacher P.R., Kinyua Z. M., Wakahiu M. and Priou S., 2006. Integrated management of bacterial wilt in potato in the East African highlands. In: The 4th bacterial wilt symposium, The Lakeside Conference Center, Central Science Laboratory, York, U.K., pp. 44.
- Girard H., Rougieux R. et Lemoigne M., 1967. Techniques de microbiologie agricole. DUNOD (2ème Edit.), 205 p.
- Gopalakrishnan, C., Artal, R. B. and Thippeswamy, B. 2014. *In vitro* evaluation of botanicals against *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith (Yabbuchi et al., 1995). *Pest Manag. Hortic. Ecosyst.* 20: 69-74.
- Goszczyńska T., Serfontein J.J. and Serfontein S., 2000. Introduction to Practical Phytobacteriology. *ARC-Plant Protection Research Institute*, Pretoria.
- Granada G.A. and Sequira L., 1983. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in soil, rhizosphere and plant roots. *Canadian Journal of Microbiology*, 29:433-440.
- Grasselly D. B. and Letard M., 2000. Tomate : pour un produit de qualité EDCTIL, P222.
- Grey B.E. et Steck T.R., 2001. The viable but nonculturable state of *Ralstonia solanacearum* may be involved in long-term survival plant infection. *Appl Environ Microbiol*, 67:3866-3872.
- Groshens E., 2009. Étude expérimentale du statut hôte et du pouvoir bactéricide d'espèces végétales candidates. Rapport de stage long au Cirad-PRAM de la Martinique, Pp. 19-21.

- Grubben G. J. H. et Denton O. A., 2004. *Lycopersicon esculentum* Mill. In : Grubben G. J. H. et Denton O. A. (éds). *Légume, ressources végétales de l'Afrique tropicale*. Fondation PROTA, Wageningen. 427 p.
- Guinard J., 2015. Dynamique évolutive de *Ralstonia solanacearum* en réponse aux pressions de sélection de l'aubergine résistante : approche populationnelle, de génétique évolutive et fonctionnelle de la durabilité de la résistance. Thèse, Université de la Réunion, 416p.
- Guidot A., Jiang W., Ferdy J.B., Theband C., Barberis P., Gouzy J., and Genin S., 2014. Multihost experimental evolution of the pathogen *Ralstonia solanacearum* unveils genes involved in adaptation to plants. *Mol.Biol.Evol.*, 31 : 2913-2918.
- Harahagazwe D., Condori B., Barreda C., Bararyenya A., Byarugaba A. A., Kude D. A., Lung'Aho C., Martinho C., Mbiri D., Nasona B., Ochieng B., Onditi J., Randrianaivoarivony J. M., Tankou C. M., Worku A., Schulte-Geldermann E., Mares V., Mendiburu F.D., & Quiroz R. Q., 2018. How big is the potato (*Solanum tuberosum* L.) yield gap in Sub-Saharan Africa and why? A participatory approach. *Open Agriculture*, 3(1), 180–189.
- Hayward A.C., 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology*, 27: 265-277.
- Hayward A. C., 1976. Systematics and relationship of *Pseudomonas solanacearum*. In: Proceedings of the 1st International Conference and Workshop on the Ecology and Control of Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas solanacearum*. Sequeira L. and Kelman A. (eds). North Carolina State University, p. 6-21.
- Hayward A. C., 1983. *Pseudomonas solanacearum*: bacterial wilt and moko disease. In: Fahy P. C. and Persley G.J. (eds). *Plant bacterial diseases*. Academic Press, Australie: 129-135.
- Hayward A. C., 1990. Proposal for a quick practical identification. In: Klement R.Z., Rudolph and Sands D.C. (eds). *Methods in phytopathology*. AKADEMIKI KIADO, pp. 272-274.
- Hayward A.C., 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, 29:65-87.
- Haward A.C., Sequeira L., French E.R., El-Nashaat H., Nydegger U., 1992. Tropical variant of biovar 2 of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, 82: 608 (Abstract).
- Hayward A.C., 1994. The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: Hayward A.C., Hartman G.L., Wallingford (eds). *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. CAB International, pp 9-24.
- He L.Y., Sequeira L. and Kelman A. 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum*. *Plant Disease*, 67:1357-1361.

- Hema S. A. (2018). Etude de l'efficacité de la solarisation associée aux fumures locales sur l'incidence du flétrissement bactérien de la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. 1754) et leurs effets sur les microorganismes du sol dans la zone Ouest du Burkina Faso. Diplôme de Master II en gestion intégrée des ressources naturelles. Université Nazi BONI. Institut de Développement Rural, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 72 p.
- Heu A., 2013. Effet des extraits de *Thevetia peruviana* et des fongicides sur la germination des spores de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Phytophthora megakaryain vitro*. Mémoire de Master de l'université de Yaoundé I. 21 p.
- Hodgson, L. (2020). Réponses à 15 questions sur la culture des tomates. Jardinier paresseux. <https://jardinierparesseux.com/2020/05/18/reponses-a-15-questions-sur-la-culture-des-tomates/>
- Horita M. and Tsuchiya K., 2001. Genetic diversity of Japanese strains of *Ralstonia solanacearum*. *Phytopathology*, 91, 399–407.
- Hossain F.M., Billah M., Ali M.R., Parvez M.S.A., Sikolar B., 2021. Molecular identification and biological control of *Ralstonia solanacearum* from wilt of Papaya by natural compound and *Bacillus subtilis*: an integrated experimental and computational study. *Saudi Journal of Biological Sciences*, xxx:1-16.
- Hsu S.T., W.F., Hong K.C., Tzeng, and Chen C.C., 1993. Bacterial wilt of *Perilla* caused by *Pseudomonas solanacearum* and its transmission. *Plant Dis.*, 77(7): 674-677.
- Huang J., Carney B.F., Denny T.P., Weissinger A.K., Schell M.A., 1995. A complex network regulates expression of *eps* and other virulence genes of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of bacteriology*, 177(5):1259-1267.
- Hussein J. H., Hadi M.Y. and Hameed I.H., 2016. Study of chemical composition of *Foeniculum vulgare* using Fourier transform infrared spectrophotometer and gas chromatography - mass spectrometry. *J. Pharmacognosy Phytother*, 8(3):60-89.
- Ilahy R., Hdider C., and Tlili I., 2009. Bioactive compounds and antioxidant activity of tomato high lycopene content advanced breeding lines. *The African Journal of Plant Science and Biotechnology*: 6.
- Ivanov A., Ukladov O., Golubeva S., 2021. *Phytophthora infestans*: An Overview of Methods and Attempts to Combat Late Blight. *Journal of Fongi*, 7(12): 1071
- Jayesh Pawaskar, Joshi M.S., Sudhir Navathe and Agale R.C., 2014. Physiological and Biochemical Characters of *Ralstonia solanacearum*. *International Journal of Research in Agricultural Sciences*, (1): 2348 – 3997.
- Jaunet T.X., Wang J.F., 1999. Variation in genotype and aggressiveness of *Ralstonia solanacearum* race 1 isolated from tomato in Taiwan. *Phytopathology*, 89(4):320-327.

- Jemimma H. L., Arumugasamy K., Nantha K.R., Abdul Kaffoor H., 2017. Gc-Ms Analysis of Root And Aerial Parts Ethanolic Extract Of *Phyllanthus Vasukii* Parthipan Et Al., Sp. Nov. (Phyllanthaceae). *International Journal of Ayurvedic & Herbal Medicine*, 7(4):2672-2684.
- Ji P., Momol M.T., Olson S.M., HOng J., Pradhanang P., Anith K.N., 2005. New tactics for bacterial wilt management on tomatoes in the Southern U.S. *In: Proceedings of the 1st International Symposium on Tomato Diseases*. Momol M.T., Ji P., Jones J.B. (eds).Belgium, vol. 695.
- Ji P., Momol M.T., Olson S.M., Pradhanang P.M., Jones J.B., 2005. Evaluation of thymol as biofumigant for control of bacterial wilt of tomato under field conditions. *Plant Disease*, 89(5):497500.
- Johnson R., 1984. A critical analysis of durable resistance. *Annual review of phytopathology*, 22(1):309-330.
- Johnson S.B., 2003. Bacterial wilt. *Spudlines*, 4: 1.
- Jones J. B., 2008. Tomato plant culture. *In Taylor and Francis group (éds.).The field, greenhouse, and home garden*. Boca Raton, 399 p.
- Kabdwal B., Sharma R., Tewari R., Tewari A, Singh R., Dandona J., 2019. Field efficacy of différent combinations of *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas fluorescens*, and arbuscular mycorrhiza fungus against the major diseases of tomato in Uttarakhand (India). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*,10 p.
- Kabyashree K. and Ray S.K., 2020. *Ralstonia solanacearum* Virulence in Cotyledon Stage Tomato Seedlings.*Mod Concep Dev Agrono*, 7(3).
- Kamaruding N. A., Ismail N., Sokry N., 2020. Identification of Antibacterial Activity with Bioactive Compounds from Selected Marine Sponges. *Pharmacogn J.*, 12(3): 493-502.
- Kanayama Y., 2017. Sugar metabolism and fruit development in the tomato. *The Horticulture Journal advpub*.
- Kareru P.G., Gachanja A.N., Keriko J.M. and Kenji G.M., 2008. Antimicrobial activity of some medicinal plants use by herbalists in Eastern Province, Kenya. *Afr. J. Trad. CAM* 5: 51-55.
- Karim Z., Hossain M., 2018. Management of Bacterial Wilt (*Ralstonia solanacearum*) of Potato: Focus on Natural Bioactive Compounds. *Journal of Biodiversity, Conservation and Bioresouce Management*, 4(1), 1–10.
- Kariuki G., Mungai W., Otaye O., Thuita M., Muema E., Korir H., Masso C., 2020. Antagonistic effects of biocontrol agents against *Phytophthora infestans* and growth stimulation in tomatoes. *African Crop Science Journal*, 28: 55-70.

- Kelman A., 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. A literature review and bibliography. N. Dak. Agr. Exp. Sta. Bul, 1:1-194.
- Kelman A., 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology*, 44:693-695.
- Kelman A., Sequeira L., 1965: Root-to-root spread of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, 55:304-309.
- Kelman A., Hruschka J., 1973. The role of motility and aerotaxis in the selective increase of avirulent bacteria in still broth cultures of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of general microbiology*, 76(1):177-188.
- Kengne J., 1984. Contribution à l'étude botanique de quelques plantes ornementales de Yaoundé. Mémoire de Maitrise, Université de Yaoundé I. 90 p.
- Khetmalas M.B., 1984. Studies on wilt of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) caused by *Pseudomonas solanacearum*. M. Sc. (Agri.) thesis submitted to Konkan Krishi Vidyapeeth, Dapoli, India.
- Kinyua, Z.M., Miller, S.A., Chin, M.A. and Subedi, M.N., 2014. Bacterial wilt disease *Ralstonia solanacearum*. Standard operating procedure for use in diagnostic laboratories. Version: EA-SOP-RS1. *International Plant Diagnostic Network*, 1-24.
- Klement Z., 1990. Tobacco (HR) test for the quick demonstration of pathogenicity. In: Klement Z., Rudolph K., Sands D.C. (eds). *Methods in Phyto bacteriology*. Akadémiai Kiadó; Budapest: 101–102.
- Kolev N., 1976. *Les cultures maraichères en Algérie : Légumes fruits*. Ministère de l'agriculture et de la réforme agraire, T.1, 207 p.
- Konappa N., Krishnamurthy S., Siddaiah N.C., Ramachandrappa S.N., Chowdappa S., 2018. Evaluation of biological efficacy of *Trichoderma asperellum* against tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Egyptian of Biological pest control*, 28:130-142.
- Kone Nsangou A.N., Ndongo Bekolo, Mountapmbeme M.M., Manga Essouma F. R., Heu A., Mvondo Nganti D., Mboussi S. B., Ambang Z., 2018. Anti-Fungal activities of *Jatropha curcas* seeds extracts against *Cercospora malayensis* causative agent of sigatoka of akra leaves. *Ijsrm.Human*. 9 (1) : 95-109.
- Kosma P. et al., 2011. Assessment of nematicidal properties and phytochemical screening of neem seed formulations using *Radopholus similis*, parasitic nematode of plantain in cameroon. *Crop Protection*, 30, 180-187.

- Kuhn M., Von Mering C., Campillos M., Jensen L.J., Bork P., 2008. STTTCH: interaction network of chemicals and proteins. *Nuclei Acids Res.*, 42: D574-D580.
- Kumar V., Singh, B. M. and Sugha, S. K. 1993. Variation in isolates of *Pseudomonas solanacearum* from Himachal Pradesh. *Indian. J. Mycol. Pl. Path.*, 23: 232-236.
- Kumar Jayanna S., and Umesha S., 2017. Quorum quenching activity of rhizosphere bacteria against *Ralstonia solanacearum*. *Rhizosphere*, 4: 22–24.
- Kumar R., Barman A., Phukan T., Kabyashree K., Singh N., Jha G., Sonti R. V., Genin S., and Ray S. K., 2017. *Ralstonia solanacearum* virulence in tomato seedlings inoculated by leaf clipping. *Plant Pathol.* 66:835–841.
- Kyarimpa, C. M.; Böhmendorfer, S.; Wasswa, J.; Kiremire, B. T.; Ndiege, I. O. and Kabasa, J. D. 2014. Essential oil and composition of *Tagetes minuta* from Uganda. Larvicidal activity on *Anopheles gambiae*. *Industrial Crops and Products*, 62:400-404.
- Lafortune D., Bérémis M., Daubèze A.M., Boissot N. and Palloix A., 2005. Partial resistance of pepper to bacterial wilt is oligogenic and stable under the tropical conditions. *Plant Disease*, 89:501-506.
- Lamovšek J., Stare B.G., Pleško I.M., Širca S., and Urek G., 2017. Agrobacteria enhance plant defense against root-knot nematodes on tomato. *Phytopathology*, 107: 681–691.
- Laurent P., Dooms C., Braekman J.C., Daloze D., Habibjiwan J.L., Rosenberg A., Termonia A., Pasteels J.M., 2003. Oleamane glycosides in defensive glands of Chrysomelid beetles are produced from dietary B-amyrim. *Naturwissenschaften*, 90: 524-527.
- Lebeau A., Daunay M.C., Frary A., Palloix A., Wang J.F., Dintinger J., Chiroleu F., Wicker E., Prior P., 2011 Bacterial wilt resistance in tomato, pepper, and eggplant: genetic resources respond to diverse strains in the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Phytopathology*, 101(1):154-165.
- Lebeau A., Gouy M., Daunay M., Wicker E., Chiroleu F., Prior P., Frary A. (2012). Dintinger J: Genetic mapping of a major dominant gene for resistance to *Ralstonia solanacearum* in eggplant. *Theoretical and Applied Genetics*, 126(1):143-158.
- Lee C.G., Lida T., Uwagaki Y., Otani Y., Nakaho K., Ohkuma M., 2017. Comparison of prokaryotic and eukaryotic communities in soils amples with and without tomato bacterial wilt collected from different fields. *Microbes Environ*, 32, 376–385.
- Leesutthiphonchai W., Vu L., Ah-Fong V., Judelson S., 2018. How does *Phytophthora infestans* evade control efforts? Modern insight into the late blight disease. *Phytopathology*, 108: 916–924.

- Lemessa F. and Zeller W., 2007. Isolation and characterisation of *Ralstonia solanacearum* strains from Solanaceae crops in Ethiopia. *J. Basic Microbiol.*, 47(1) :40-49.
- Leroux A.C., 1996. Etude de la résistance de variétés et de génotypes de pomme de terre à *Ralstonia solanacearum*, In : Production de réactifs sérologiques pour la détection de *Ralstonia solanacearum*. Rapport d'activités INRA-FNPPPT, pp. 27-31.
- Li L., Feng X., Tang M., Hao W., Han Y., Zhang G., 2014. Antibacterial activity of Lansiumamide B totobacco bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*). *Microbiol.Res.* 169: 522–526.
- Li, C. M. and Yu, J. P. 2015. Chemical composition, antimicrobial activity and mechanism of action of essential oil from the leaves of *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. *J. Food Saf.* 35: 227-236.
- Li Y., Wang H., Zhang Y., and Martin C., 2018. Can the world's favorite fruit, tomato, provide an effective biosynthetic chassis for high-value metabolites? *Plant Cell Rep.*, 37: 1443–1450.
- Ling L., Xiaoyang H., Xiao L., Xue Z., Han W., Lida Z., Peng C., Yutong W., Xiangjing W., Junwei Z., Wensheng X., 2020. A *Streptomyces* sp. NEAU-HV9: Isolation, Identification, and Potential as a Biocontrol Agent against *Ralstonia solanacearum* of Tomato Plants. *Microorganisms*, (8): 351.
- Linné C., 1753. *Species plantarum*, 1st ed. Holmiae. Stockholm. 816 p.
- Liu H., He L., Mao G., Luo J., 2000. Role of extracellular proteins in pathogenesis of *Ralstonia solanacearum*. *Scientia Agricultura Sinica*, 33(1):57-61.
- Liu H., Kang Y., Genin S., Schell M., Denny T., 2001. Twitching motility of *Ralstoniasolanacearum* requires a type IV pilus system. *Microbiol*, 147(12):3215-3229.
- Liu Z., Alseekh S., Brotman Y., Zheng Y., Fei Z., Tieman D.M., Giovannoni J.J., Fernie A.R., and Klee H.J., 2016. Identification of a *Solanum pennellii* Chromosome 4 Fruit Flavor and Nutritional Quality Associated Metabolite QTL. *Front. Plant Sci.*, 7.
- Lobna E., Mohamed S., Slim S., Lotfi M., Karray-Rebai I., Fourati-Ben F.L., Khaled A. S., Hartmut L., 2010. Bioactive Secondary Metabolites from a New Terrestrial *Streptomyces* sp. TN262. *Appl Biochem Biotechnol*, 162:579–593.
- Lozano J.C. and Sequeira L., 1970. Differentiation of Races of *Pseudomonas solanacearum* by a leaf infiltration technique. *Phytopathology*, 60: 833-838.
- Luo H., Lin Y., Gao F., Zhang C.T., Zhang R., 2014. DEG 10, an update of data base of essential genes that includes both protein-coding genes and noncoding genomic elements. *Nuclei AcidRes.*, 42: D574-D580.

- Magnan D., Adounigna K., Amadou H., 2018. Recherche de microorganismes capables de contrôler des souches de *Ralstonia solanacearum* isolé et caractérisé dans l'Office du Périmètre Irrigué de Baguinéda. Symposium malien sur les sciences appliquées (MSAS).
- Madden L.V., Wheelis M., 2003. The threat of plant pathogens as weapons against U.S. crops. *Annual Review of Phytopathology*, 41:155-176.
- Mahbou Somo Toukam G., Cellier G., Wicker E., Guilbaud C., Kahane R., Allen C. and Prior P. 2009. Broad diversity of *Ralstonia solanacearum* strains in Cameroon. *Plant Disease*, 93:1123-1130.
- Mahbou Somo Toukam G., 2010. Diversité de *Ralstonia solanacearum* au Cameroun et bases génétiques de la résistance chez le piment (*Capsicum annum*) et les solanacées. Thèse Ph.D. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'environnement (Agro Paris Tech).
- Manga A. D., 2022. Impact des pesticides sur la biodiversité en culture de *Phaseolus vulgaris* L. (le haricot commun) dans la région du centre Cameroun. Thèse, Université de Yaoundé I, 157p.
- Mansfield J., Genin S., Magori S., Citovsky V., Sriariyanum M., Ronald P., Dow M., Verdier V., Beer S., Machado M., 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13(6):614-629.
- Marchetti M., Capela D., Glew M., Cruveiller S., Ming B., Gris C., Timmers T., Poinot V., Gilbert L.B., Heeb P., Médigue C., Batut J., and Masson-Boivin C., 2010. Experimental evolution of a plant pathogen into a legume symbiot. *PLOS Biol.*8: e1000280.
- Marin J.E., El-Nashaar, H.M., 1993. Pathogenicity and new phenotypes of *Pseudomonas solanacearum* from Peru. In: Hartman G.L., Hayward A.C.(eds). *Bacterial Wilt*. Canberra, Australia: 78– 84.
- Marios J.J., Mitchell D.J., 1981. Effect of fumigations and fungal antagonists on the relationships of *inoculum* density to infection incidence and disease severity in *Fusarium* crown rot of tomato. *Phytopathology*, 71: 167–170.
- Marwa R., 2021. Les phénolamides de la tomate: développement d'une approche d'ingénierie métabolique pour l'étude de leurs fonctions *in planta*, et évaluation de leurs activités biologiques. Thèse de Doctorat de l'Université de Lorraine en Sciences Agronomiques, 292p.
- Mboussi S., Ambang Z., Ndogho P., Ngoh Dooch J. & Manga Essouma F., 2016. *In vitro* antifungal potential of aqueous seeds extracts of *Azadirachta indica* and *Thevetiaperuviana* against *Phytophthora megakarya* in Cameroon. *J. of Appl. Life Sci. Int.*, 4 (4): 1- 12.
- Meng, F., 2013. *Ralstonia Solanacearum* Species Complex and Bacterial Wilt Disease. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, 4(02):2–5.

- Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F. et Lafon R., 1993. *Les maladies des plantes maraichaires. Institut nati. Rech. Agro., Paris, 568 p.*
- Mingming H., Mohammad S.J., Wang Y., Sun J., Sheng Shu and Shirong G., 2020. Compost Amendments Based on Vinegar Residue Promote Tomato Growth and Suppress Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia Solanacearum*. *Pathogens*, 9, 227.
- Moco S., Bino R. J., Vorst O., Verhoeven H. A., de Groot J., Van Beek T. A., Vervoort J. and de Vos C., 2006. A liquid chromatography mass spectrometry-based metabolic profiles. *Metabolomics*, 1: 169-180.
- Mohamed Seleim A.A., Kamal Abo-Elyousr A.M., Kenawy Abd-El-Moneem M., and Farag Saeed A., 2014. First Report of Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* Biovar 2 Race 1 on Tomato in Egypt. *Plant Pathol J.* 30(3): 299-303.
- Moriones E., Praveen S., and Chakraborty S., 2017. Tomato leaf curl new delhi virus: an emerging virus complex threatening vegetable and fiber crops. *Viruses*, 9 : 20-50.
- Mouria B., Ouazzani-Touhami A., Douira A., 2013. Effet du compost et de *Trichoderma harzianum* sur la suppression de la verticilliose de la tomate. *Journal of Applied Biosciences*, 70: 5531–5543.
- Murthy K. N., Soumya K. and Srinivas C. 2015a. Antibacterial activity of *Curcuma longa* (turmeric) plant extracts against bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. *IJSR* 4: 2136-2141.
- Muhammad Z., Sadia H., Komal R., Nasir R., Zia-Ul-Haq M., Vincenzo D.F. 2013. Antioxidant potential and oil composition of *Callistemon viminalis* leaves. *Scientific World Journal*, 10: 11-55.
- Narberhaus I., Zintgraf V. et Dobler S., 2005. Pyrrolizidine alkaloids on three trophic levels. Evidence for toxic and detergent effect on phytophages and predators. *Chemoecology*, 15: 121-125.
- Naika S., De jeud J.V.L., Hilmi M. et Vandam B., 2005. *La culture de tomate, production, transformation et commercialisation*. Wageningen, Pays-bas, pp 90- 105.
- Ngoh Dooh J. P., Ambang Z., Ndongo B., Heu A. et Tueguem K. W., 2014a. Effect of *Thevetia peruviana* (pers) K. On development of *Phytophthora megakarya* causal agent of black pod disease of coco. *J. Appl. Biosci.* 77: 6564-6574.
- Ngatsi Z.P., Ndongo B., Yanga M.N.M., Tize T., Azafack N.S., Daouda K., Kuate T.N.W., Djiéto-Lordon L., 2020. Effect of extract of *Thevetia peruviana* (pers) K. against cassava root scale

- Stictococcus vayssierei* Richard (Hemiptera: Stictococcidae) in field. *Int. J. Biosci*, 16(3):536-547.
- Ngoh Dooh J. P., Ambang Z., Ewola A. T., Heu A., Kosma P., Yalen M. J. E. And Goghomu T. R., 2014b. Screening and the effect of extracts of *Thevetia peruviana* on the development of *Colletotrichum gloeosporioides*. Causal agent of cassava anthracnose disease. *J. of Agri. Res. And Dev.* 4 (4) : 054-065.
- Nicole J., 1995. Influence de facteurs biotiques ou abiotiques sur la dynamique des populations de *pseudomonas solanacearum* au cours de l'infection de la maladie. Thèse. Université de Nantes. 121p.
- Nion Y.A., and Toyota K., 2015. Recent trends in control methods for bacterial wilt diseases caused by *Ralstonia solanacearum*. *Microbes Environ*, 30 : 1–11.
- Nkombou I. M., 2010. Production et composition chimique de la tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) sous l'influence de la fertilisation organo-minérale sur un sol ferrallitique tropical : cas de la localité de Nkolbisson. Mémoire de Master de l'Université de Yaoundé I. 58 p.
- Noreskal M., 2011. Typologie des pratiques agricoles sur solanacées et diversité génétique de *Ralstonia solanacearum*, agent causal du flétrissement bactérien en Guyane. Mémoire d'ingénieur, AgroParisTech Paris, 102 p.
- Nirina R., Zananirina J., Ramamonjisoa D., Ramanankierana H., 2014. Lutte biologique antifongique : actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum* L., 1753) pourri. *Afrique SCIENCE*, 10(3): 243 – 255.
- Nurdika A.A.H., Triwidodo A., Sri S., 2022. Physio-biochemical, molecular characterization, and phage susceptibility of *Ralstonia pseudosolanacearum* associated with tomato (*Solanum lycopersicum*) and eggplant (*Solanum melongena*). *BIODIVERSITAS*.(23): 5149-5158.
- Obasi N.B. and Igboechi A.C., 1991. Seed-oil distillates of *Thevetia peruviana* (Syn. *T. nerifolia*): analysis and antibacterial activity. *Fitoterapia*, 62 (2): 159-162.
- Ohri P., & Pannu, S. K. (2010). Effect of phenolic compounds on nematodes- A review. *Journal of Applied and Natural Science*, 2(2), 344–350.
- Oji O. and Okafor Q. E., 2000. Toxicological studies on stem bark, leaf and seed kernel of Yellow Oleander (*Thevetia peruviana*). *Phytother. Res.* 14: 133-135.
- Okon J., 1990. Methods in agronomy to reduce bacterial diseases. *In*: Klement R.Z., Rudolph and Sands D.C. (eds). *Methods in phytopathology*. Akademiai kiado, pp. 301-306.

- Olaitan P., 2021. Identification of the bioactive phytochemicals in aqueous and ethanol leaf and root extracts of *Alafia barteri* plant. In fulfillment of the requirements for the award of bachelor of science (b.sc.) degree in biochemistry, Mountain top university, prayer city, ogun state, Nigeria, 41p.
- Oluoch G., 2023. Encapsulation of bioactive components of thyme and clove essential oils is a potential biocontrol strategy for bacterial wilt disease in potato. *Journal of Technology & Socio - Economic Development*, 11(1):111-126.
- Opina N., Tavner F., Hollway G., Wang J.F., Li T.H., Maghirang R., Fegan M., Hayward A.C., Krishnapillai V., Hong W.F., 1997. A novel method for development of species and strainspecific DNA probes and PCR primers for identifying *Burkholderia solanacearum* (formerly *Pseudomonas solanacearum*). *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 5:19-30.
- Orgambide G., Montrozier H., Servin P., Roussel J., Trigalet-Demery D., Trigalet A., 1991. High heterogeneity of the exopolysaccharides of *Pseudomonas solanacearum* strain GMI 1000 and the complete structure of the major polysaccharide. *Journal of Biological Chemistry*, 266(13):8312-8321.
- Padi B., Adu-Acheampong R. and NKansah A., 2000. Botanical pesticides for the control of cocoa capsids (Heteroptera: miradae). In: Proceeding 13<sup>th</sup> international cocoa Research Conference. Kota K., Sabah (eds). Malaysia, P.403:413.
- Pandey A. K., Kumar P., Singh P., Tripathi N. N., Bajpai V. K. (2017). Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1–14.
- Paret M.L., Cabos R., Kratky B.A., and Alvarez A.M., 2010. Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* race 4 and bacterial wilt of edible ginger. *Plant Dis.*, 94:521-527.
- Paudel S., Lin P.A., Foolad M.R., Ali J.G., Rajotte E.G., and Felton G.W., 2019. Induced plant defenses against herbivory in cultivated and wild tomato. *J. Chem. Ecol.*, 45: 693–707.
- Pawaskar J., Joshi M.S., Sudhir N., Agale R.C., Balasaheb S.K.K.V., 2014. Physiological and biochemical characters of *Ralstonia Solanacearum*. *Intl J Res Agric Sci*, 1 (6): 2348-3997.
- Peralta I. E., Spooner D. M., 2007. History, origin and early cultivation of tomato (solanaceae) In: Razdan M. K. and Mattoo A. K. (eds). *Genetic Improvement of solanaceousCrops*. Science Publishers, USA : (2) 1-27.
- Péron J. Y., 2006. Références Productions Légumières. Synthèse Agricole. Lavoisier. 2<sup>e</sup> éd., 613 p.

- Polese J.M., 2007. La culture des tomates. Amazon. Paris, France. Edition N°1, Volartemis. 95 p.
- Poussier S. and Luisetti P., 2000. Genetic diversity of African and worldwide strains of *Ralstonia solanacearum* as determined by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of the hrp gene region. *App. Environ. Microbiol.*, 65(5):2184-2194.
- Poussier S., Thoquet P., Trigalet-Demery D., Barthet S., Meyer D., Arlat M., Trigalet A., 2003. Host plant dependent phenotypic reversion of *Ralstonia solanacearum* from non-pathogenic to pathogenic forms via alterations in the phcA gene. *Molecular Microbiology*, 49(4):991-1003.
- Pradhanang P.M., Momol M.T., Olson S.M., 2003. Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. *Plant Disease*, 87(4):423-427.
- Prior P., Beramis M., Chillet M., Schmit J., 1990. Preliminary studies for tomato bacterial wilt (*Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith) resistance mechanism. *Symbiosis*, 9:393-400.
- Prior P., Beramis M., Clairon M., Quiquampoix H., Robert C. and Schmit J., 1993. *Contribution to integrated control against bacterial wilt in different pedoclimatic situations: guadeloupe experiments*. Kaoshiung, Taiwan: ACIAR Proceedings 45.
- Prior P., Grimault V., Schmit J., 1994. Resistance to bacterial wilt (*Pseudomonas solanacearum*) in tomato: present status and prospects. In: Hayward A., Hartman G.L. (eds). *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. Wallingford, UK: CAB International: 209-224.
- Prior P., Fegan M., 2005. Recent development in the phylogeny and classification of *Ralstonia solanacearum*. In: Proceedings of the First International Symposium on tomato diseases. Momol T., Jones J.B. (eds). *ISHS-Acta Horticulturae*, (695): 127-136.
- Prior P., Fegan M., 2005. Diversity and molecular detection of *Ralstonia solanacearum* race 2 strains by multiplex PCR. In: Allen C., Prior P., Hayward A.C. (eds). *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. Madison, APS Press: 405-414.
- Quinet M., Angosto T., Yuste-Lisbona F.J., Blanchard-Gros R., Bigot S., Martinez J.P., and Lutts S., 2019. Tomato fruit development and metabolism. *Front Plant Sci*, 10: 1554.
- Raemaekers R. H., 2001. *Agriculture en Afrique tropicale*. DGCI. Bruxelles, pp. 943-977.

- Rahman M.F., Islam M.R., Rahman T. and Meah M.B., 2010. Biochemical characterization of *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt of brinjal in Bangladesh. *Progress. Agric.*, 21(1 & 2): 9 – 19.
- Raiola A., Rigano M., Calafiore R., Frusciante L., and Barone A., 2014. Enhancing the health-promoting effects of tomato fruit for biofortified food. *Mediators of inflammation*, 56p.
- Ram K., 1987. Loss in yield of tomato due to bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Indian Phytopath.*, 32: (1)111-120.
- Ramesh R., Achari G.A., Gaitonde S., 2014. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* infecting solanaceous vegetables from India reveals the existence of unknown or newer sequence variants of Phylogroup I strains. *European Journal of Plant Pathology*, 140(3):543-562.
- Ranc N., 2010. Analyse du polymorphisme moléculaire des gènes de composantes de qualité des fruits dans les ressources génétiques sauvages et cultivées de tomate : recherche d'associations gènes/QTL. Thèse doctorat en Sciences, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, 300p.
- Ravelomanantsoa S.H., 2016. Biologie des populations du complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* appliquée à l'épidémiologie du flétrissement bactérien de la pomme de terre à Madagascar. PhD. Université d'Antananarivo, Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de l'Environnement, Spécialité Biotechnologie, Antananarivo, Madagascar, 238 p.
- Razia S., Chowdhury M.S.M., Aminuzzaman F.M., Sultana N., Islam M., 2021. Morphological, pathological, biochemical and molecular characterization of *Ralstonia Solanacearum* isolates in Bangladesh. *Am J Mol Biol* 11 (4): 142-64. DOI: 10.4236/ajmb.2021.114012.
- Remenant B., Coupa-goutaland B., Cellier G., Guidot A., Wicker E., Mangenot S., Barbe V., Medigue C. et Prior P., 2010. Séquençage de trois nouvelles souches du complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum*: Pangénome et génomique comparative. [Résumé]. IN : 9èmes rencontres plantes-bactéries, 18-22 janvier 2010, Paris, AUSSOIS, France, p 32.
- Remenant B., de Cambiaire J.C., Cellier G., Jacobs J.M., Mangenot S., Barbe V., Lajus A., Vallenet D., Medigue C., Fegan M., 2011. The genomes of the insect-transmitted plant pathogens *Ralstonia syzygii* and Blood Disease Bacterium reveal a recent evolutionary origin within the *Ralstonia solanacearum* species. *PLoS One*, 6(9):e24356.
- Renaud V., 2006. Les tomates qui ont du goût. In: Rice-Evans C., Miller N., Paganga G. (eds). *Antioxidant properties of phenolic compounds*. Trends in plant science, Paris: 152-159.

- Reuveni R., Raviv M., Krasnovsky A., Freiman L., Medina S., Bar A., Orion D. (2002). Compost induces protection against *Fusarium oxysporum* in sweet Basil. *Crop Prot.*, 21: 583–587.
- Rostand R. C., Joel M., Vivienne M., & Steven R., 2018. Isolation and characterization of *Ralstonia solanacearum* strains causing bacterial wilt of potato in Nakuru County of Kenya. *African Journal of Biotechnology*, 17(52): 1455–1465.
- Rubben G. J. H. et Denton O. A., 2004. *Lycopersicum esculentum* Mill. In: Grubben G. J. H. et Denton O. A. (éds). Légume, ressources végétales de l’Afrique tropicale, Fondation PROTA, Wageningen, 427 p.
- Rueda E.M.S., Ruiz Y.L.R., Chamorro N.L., Landázuri P., 2018. Extracts of *Tagetes patula* L. (Asteraceae): a bactericidal potential against Moko. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(5): 949- 959.
- Ruocco M.L., Massimo G., Oscar A., Bernard B. and Jurgen K., 2010. Food quality safety. Biological control. Cnr, .2. 104 p.
- Saddler G., Allen C., Prior P., Hayward A., 2005. Management of bacterial wilt disease. *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*, pp.121-132.
- Safni I., Cleenwerk I., De Vos P., Fegan M., Sly L., Kappler U. 2014. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *Ralstonia syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii*, *Ralstonia solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *Ralstonia solanacearum* phylotypes I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 64:3087-3103.
- Sasidharan Sreedevi, Kulangara N.R., Sailas B., 2013. Biotic Stress Induced Biochemical and Isozyme Variations in Ginger and Tomato by *Ralstonia solanacearum*. *American Journal of Plant Sciences*, (4) :1601-1610.
- Salé Essome C., Ngoh Dooh J.P., Heu A., Teguem Kuate w., Nganti Mvondo D., Ngatsi Zemko P., Chewekong G. and Ambang Z., 2021. Efficacy of Methanolic and Aqueous Extracts of *Thevetia peruviana* (pers.) K. Schum on Growth of *Phytophthora colocassiae* Racib, Causal Agent of Taro Late Blight in Cameroon. *JALSI*, 24(4):44-54.
- Salé essome C., 2021 Efficacité des extraits aqueux et organiques des graines de *Thevetia peruviana* (pers.) K. Schum dans la lutte contre le mildiou du taro (*Colocassia esculenta* (L.) Schott) causé par *Phytophthora colocassiae* Racib. Thèse, Université de Yaoundé I, 155p.

- Saxena V.K. and Jain S.K., 1990. *Thevetia peruviana* kernel oil: a potential bactericidal agent. *Fitoterapia*, 61: 348-349.
- Schaad, N.W., 1980. *Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Saint Paul, American Phytopathological Society: 28-45.
- Schaad N.W., Jones J.B., Chun W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. APS Press, Minnesota.
- Schell M.A., 2000. Control of virulence and pathogenicity genes of *Ralstonia solanacearum* by an elaborate sensory network. *Annual Review of Phytopathology*, 38:263-292.
- Schönfeld J., Gelsomino A.S., Van Overbeek L., Gorissen K., Smalla D., Van Elsas J., 2003. Effects of compost addition and simulated solarisation on the fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. *FEMS microbiology ecology*, 43(1): 63-74.
- Seal S.E., Luke A., Jackson and Daniels M.J., 1992. Use of tRNA consensus primers to indicate subgroups of *Pseudomonas solanacearum* by polymerase chain reaction amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, 58:3759-3761.
- Sedighian N., Krijger M., Taparia T., Taghavi S.M., Wicker E., Van der wolf J.M., Osdaghi E., 2020. Genome resource of two potato strains of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 (phylotype IIB, sequevar 1) and 2T (phylotype IIB, sequevar 25) isolated from lowlands in Iran. *Molecular plant-microbe interaction*, 33(7):872-875.
- Sekizawa Y. and Wakabayashi K., 1990. Bactéricides. In: Klement R.Z., Rudolph and Sands D.C. (eds). *Methods in phytopathology*. Akademiai kiado, pp. 319-326.
- Seneviratne S.N., 1988. Soil survival of *Pseudomonas solanacearum*. In: Bacterial diseases of the planning conference on bacterial disease of the potato, March 16-20, Peru, pp. 85-91.
- Shaheed K. A., AlGaraawi N.I., Alsultany A. K., Abbas Z.H., Khshayyish I.K. and Al khazali M.T., 2019. Analysis of bioactive phytochemical compound of (*Cyperus iria* L.) By using gas chromatography –mass spectrometry. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science: International Conference on Agricultural Sciences. IOP Publishing (Ed). San Francisco, 388: doi:10.1088/1755-1315/388/1/012064.
- Shahin A., Nabil-Adam A., Elnagar K., Osman H., Shreadah A.M., 2022. Bioactivity and Metabolomics Fingerprinting Characterization of Different Organic Solvents Extracts of *Padina pavonica* Collected from Abu Qir Bay. Egypt. *J. Chem.*, 65 (12): 207 -225.

- She X.M., He Z.F., Luo F.F., Li H.P., 2013. First report of bacterial Wilt caused by *Ralstonia solanacearum* on *Ageratum conyzoides* in China. *Plant Disease*, 97(3):418-419.
- Shutt V.M., Shin G., van der Waals J.E, Goszczynska T., Coutinho T.A., 2018. Characterization of *Ralstonia* strains infecting tomato plant in south Africa. *Crop protection*, (112): 56-62.
- Sikirou R., Beed F., Ezin V., Hoteigni J., Miller A.S., 2017. Distribution, pathological and biochemical characterization of *Ralstonia solanacearum*. *Ann. Agric. Sci.* (62): 83-88.
- Siswadi S. and Saragih G.S., 2021. Phytochemical analysis of bioactive compounds in ethanolic extract of *Sterculia quadrifida* R.Br. *In: International Conference on Life Science and Technology*. AIP publishing (Ed). AIP Conf. Proc. 2353, 030098.
- Singh N., Phukan T., Sharma P.L., Kabyashree K., Barman A., Kumar R., 2018. An innovative root inoculation method to study *Ralstonia solanacearum* pathogenicity in tomato seedlings. *Phytopathology*, 108:436-42.
- Smith E.F., 1994. Bacteria in relation to plant disease. Camegie Institution of Washington, Washinton D.C.
- Snoussi S.A., 2010. Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. Rome, 52 p.
- Sonboli A., Babakhani B., Mehrabian A.R., 2006. Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from *Salvia*. *Z Naturforsch*, 61(4): 160: 174.
- Songting H., Liang Y., Yao W., Yuao R., Shili L. and Wei D., 2021. Preliminary studies on the antibacterial mechanism of a new plant-derived compound, 7-methoxycoumarin, against *Ralstonia solanacearum*. *Frontiers in Microbiology*, 12:1-9.
- Spooner D.M., Anderson G.J., Jansen R.K., 1993. Chloroplast DNA evidence for the interrelationships of tomatoes, potatoes and pepillos (Solanaceae). *American Journal of Botany*, 80 (4): 676-688.
- Su, Yaxing, Xu, Yanan, Li, Yuan, 2020. The essential genome of *Ralstonia solanacearum*. *Microbiol. Res.*, 238: 126500.
- Suslow T.V., Schroth M.N. and Isaka M.H., 1982. Application of Rapid Method for Gram Differentiation of Plant Pathogenic and Saprophytic Bacteria without Staining. *Phytopathology*, 72: 917-918.
- Swanson J.K., Yao J., Tans-Kersten J.K., Allen C., 2005. Behavior of *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 during latent and active infection of geranium. *Phytopathology*, 95(2):136143.
- Taghavi M., Hayward C., Sly L.I., Fegan M., 1996. Analysis of the phylogenetic relationships of strains of *Burkholderia solanacearum*, *Pseudomonas syzigii*, and the blood disease bacterium

- of banana based on 16S rRNA gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(1):10-15.
- Tans-Kersten J., Guan Y., and Allen C., 1988. *Ralstonia solanacearum* pectin methylesterase is required for growth on methylated pectin but not for bacterial wilt virulence. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:4918-4923.
- Tans-Kersten J., Huayu H. and Caitilyn A., 2001. *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *Journal of Bacteriology*, 183:3597-3660.
- Tans-Kersten J., Brown D., Allen C., 2004. Swimming motility, a virulence trait of *Ralstoniasolanacearum*, is regulated by flhDC and the plant host environment. *Mol Plant-Microbe interact*, 17: 686-695.
- Tarinee Phukan, Kabyashree K., Singh R., Pankaj L., Sharma, Singh N., Barman A., Biswa R. and SuvendraRay K., 2019. *Ralstonia solanacearum* virulence in eggplant seedlings by the leaf-clip inoculation. *Phytopathology Research*, 1:23.
- Timilsina S., Minsavage G.V., Preston J., Newberry E.A., Paret M.L., Goss E.M., Jones J.B., and Vallad G.E., 2018. *Pseudomonas floridensis* sp. nov., a bacterial pathogen isolated from tomato. *Int J Syst Evol Microbiol*, 68: 64–70.
- Toe A. M., 2010. Étude pilote des intoxications dues aux pesticides agricoles au Burkina Faso, 94 p.
- Tsala R., Ngatsi Z., Temegne C., Lontsi D., Tueguem K., Nsangou K., Ndongo B., 2022. Efficacy of Aqueous Extract of the Seeds of *Annona muricata* L. in the Control of Late Blight (*Phytophthora infestans*) of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in the Field. *Journal of Modern Agricultur Biotechnology*, 1(1): 1147-1158.
- Thuy Thu Vu, Gyung J.C. and Jln-Cheol K., 2017. Plant derived Antibacterial Metabolites suppressing Tomato Bacterial Wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Res.Plant Dis.*, 23(2):89-98.
- Valls M., Genin S., Boucher C.A., 2006. Integrated regulation of the type III secretion system and other virulence determinants in *Ralstonia solanacearum*. *Plos pathogens*, 2(8):798807.
- Vaneechoutte M., Kämpfer P., De Baere T., Falsen E., Verschraegen G., 2004. *Wautersia* gen.nov., a novel genus accommodating the phylogenetic lineage including *Ralstonia eutropha* and related species, and proposal of *Ralstonia* [*Pseudomonas*] *syzygii*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54:317327.

- Van Overbeek L.S., Bergervoet J.H.W., Jacobs F.H.H., van Elsas J.D., 2004. The low-temperature-induced viable-but-nonculturable state affects the virulence of *Ralstonia solanacearum* biovar 2. *Phytopathology*, 94(5):463-469.
- Vasse J., Frey P., Trigalet A., 1995. Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. *Mol Plant Interact*, 8: 241-251.
- Vasse J., Danoun S., Trigalet A., 2005. Microscopic studies of root infection in resistant tomato cultivar Hawaii7996. In: Allen C., Prior P., Hayward A.C. (eds). *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. St Paul: APS Press, pp. 285-291.
- Vaulont S., Schalk I., 2015. Rôles des sidérophores bactériens et de mammifères dans les interactions hôtes-pathogènes. *Médecines/Sciences*, 31. 756-763.
- Viuda-Martos M., Sanchez-Zapata E., Sayas-Barberá E., Sendra E., Pérez-Álvarez J.A., and Fernández López J., 2014. Tomato and tomato byproducts. human health benefits of lycopene and its application to meat products: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, (54): 1032–1049.
- Von Bodman S.B., Dietz Bauer W., Coplin D.L., 2003. Quorum sensing in plant-pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 41:455-482.
- Wang J.F., Hanson P.M. and Barnes J.A., 1998. Worldwide evaluation of international set of resistance sources to bacterial wilt in tomato and Molecular and Ecological Aspects, 275p.
- Wenneker M., Verdel M.S.W., Groeneveld R.M.W., Kempenaar C., Beuningen A.R.V., Janse J.D., 1999. *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* race 3 (biovar 2) in surface water and natural weed hosts: First report on stinging nettle (*Urtica dioica*). *European Journal of Plant Pathology*, 105(3):307-315.
- Wicker E., Grassart L., Mian D., Coranson Beaudu R., Dufeal D., Guilbaud C., Prior P., 2002. *Cucumis melo*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita moschata*, and *Anthurium spp*, new hosts of *Ralstonia solanacearum* in Martinique (French West Indies). *Bacterial Wilt Newsletter*, 17:2021.
- Wicker E., Grassart L., Coranson Beaudu R., Mian D., Guilbaud C., Fegan M., Prior P., 2007. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French west Indies) exhibiting a new pathogenic potential. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, 6790–6801.
- Wu Y., Cheng A., Lin C., Chen C., 2013. First Report of Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* on Roselle in Taiwan. *Plant disease*, 97(10):1375-1375.

- Xu J., Pan Z., Prior P., Xu J., Zhang Z., Zhang H., Zhang L., He L., Feng J., 2009. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China. *European journal of plant pathology*, 125(4):641-653.
- Xue H., Lozano-Duran R., Macho A.P., 2020. Insights into the root invasion by the plant pathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum*. *Plant (Basel, Switzerland)*, 9:1-9.
- Yabuuchi E., Kosako Y., Oyaizu H., Yano I., Hotta H., Hashimoto Y., Ezaki Y. and Arakawa M., 1992. Proposal of Burkholderia gen. nov. and transfer of seven species of the genus Pseudomonas homology group II to the new genus, with the type species Burkholderia cepacia (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. *Microbiology and Immunology*, 36:1251-1275.
- Yabuuchi E., Kosako Y., Yano I., Hotta H. and Nishiuchi Y., 1996. Transfer of two Burkholderia and an Alcaligenes species to Ralstonia gen. nov.: proposal of *Ralstonia picketti* (Ralston, Palleroni and Douderoff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. *Microbiology and Immunology*, 39:897-904.
- Yah N'guettia M., Amako Pauline N., Marie Hélène K.A., Senan S., Drissa K., & Boni Clovis K., 2022. Controle des maladies de la tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) en Culture avec trois extraits de plantes à Daloa (Cote D'ivoire). *European Scientific Journal*, 18 (17): 111.
- Yang J., Sun C., Zhang Y., Fu D., Zheng X., and Yu T., 2017. Induced resistance in tomato fruit by γ-aminobutyric acid for the control of alternaria rot caused by *Alternaria alternata*. *Food Chem*, 221: 1014– 1020.
- Yao J., Allen C., 2006. Chemotaxis is required for virulence and competitive fitness of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Journal of bacteriology*, 188: 3697-3708.
- Yao J., Allen C., 2007. The plant pathogen *Ralstonia solanacearum* needs aerotaxis for normal biofilm formation and interactions with its tomato host. *Journal of bacteriology*, 189: 6415-6424.
- Yuliar Nion Y.A., Toyota K., 2015. Recent Trends in Control Methods for Bacterial Wilt Diseases Caused by *Ralstonia solanacearum*. *Microbes Environ*, 30: 1–11.
- Zappalà L., Biondi A., Alma A., Al-jboory I.J., Arno J., 2013. Natural enemies of the south american moth, *Tuta absoluta*, in Europe, North Africa and Middle East, and their potential use in pest control strategies. *J Pest Sci*, 86: 635–647.
- Zulperi D., Sijam K., 2014. First Report of *Ralstonia solanacearum* Race 2 Biovar 1 Causing Moko Disease of Banana in Malaysia. *Plant disease*, 98(2):275-275.

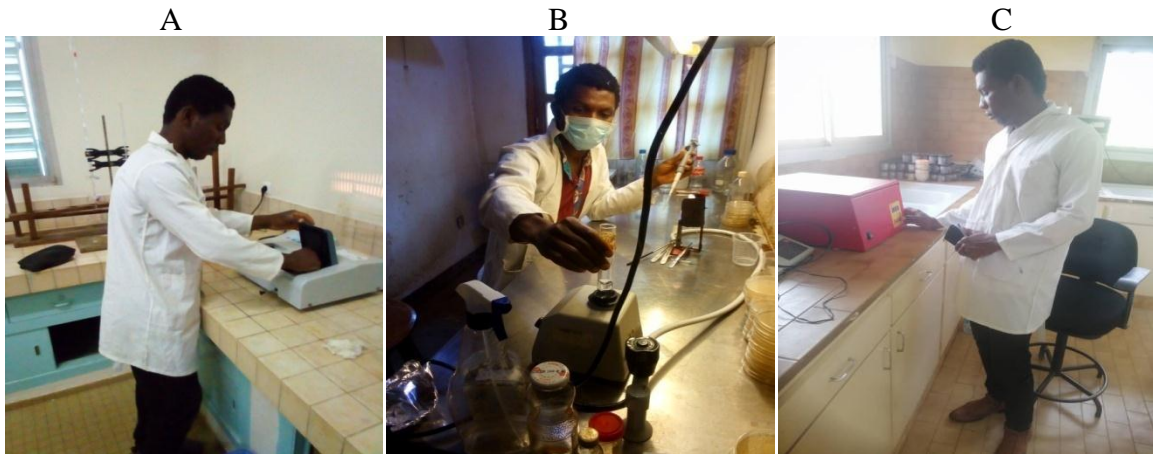
Zulperi D., Sijam K., Mior Ahmad Z., Awang Y., Sulaiman Rashid T.,2014. Occurrence of *Ralstonia solanacearum* Race 2 Biovar 1 Associated with Moko Disease of Banana (*Musaparadisiaca* cv. Nipah) in Malaysia. *Journal of phytopathology*, 162(10):697-702.

## ANNEXES

### Annexe 1: Caractéristiques physico-chimiques du sol du site expérimental (Balamba 1)

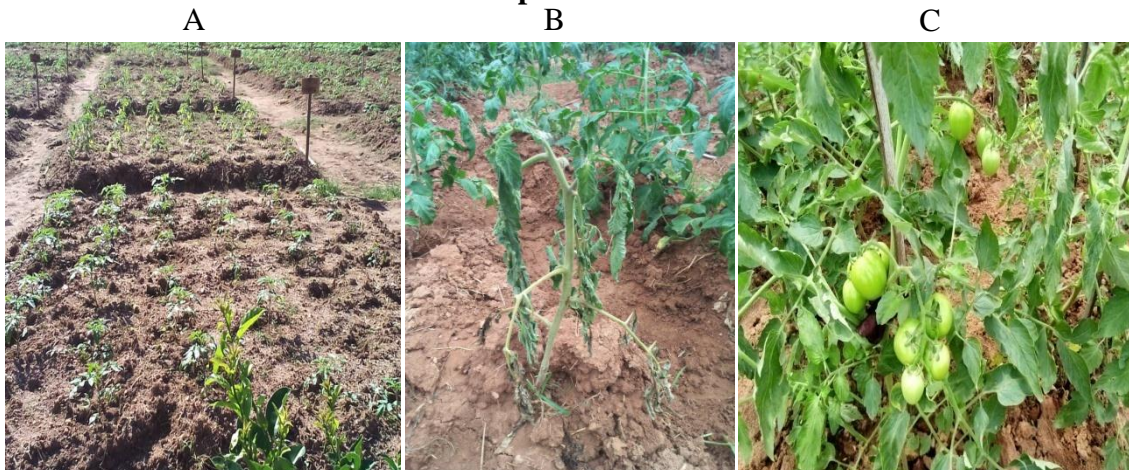
Texture (%)	
<b>Sable</b>	58
<b>Limon</b>	10
<b>Argile</b>	32
Classe texturale : Sablo-argileuse	
Réaction du sol	
<b>pH-eau</b>	7,6
<b>pH-Kcl</b>	6,1
Matière organique	
<b>CO (%)</b>	1,49
<b>MO. (%)</b>	2,57
<b>N (g/Kg)</b>	1,6
<b>C/N</b>	9,3
<b>Ca (méq/100g)</b>	9,0
<b>Mg (méq/100g)</b>	2,1
<b>K (méq/100g)</b>	1,5
<b>Na (méq/100g)</b>	0,2
<b>S (méq/100g)</b>	12,8
<b>CEC pH7 (méq/100g)</b>	23,7
<b>V (%)</b>	53,78
<b>P (mg/Kg)</b>	94,8

## Annexe 2 : Quelques activités effectuées *in vitro*



A : Calibrage de *R. solanacearum* au spectrophotomètre ; B : dilution de la concentration de la solution de *R. solanacearum* pour leur ensemencement sur milieux amendés avec les extraits de *T. peruviana* ; C : Centrifugation des extraits de *T. peruviana* pour leur analyse GC-MS.

## Annexe 3 : Plants de tomates en champ



A : Plants de tomates 02 semaines après repiquage ; B : plant de tomate attaqué par *R. solanacearum* ; C : plante de tomate en production.

## Annexe 4 : Traitement phytosanitaire



PUBLICATION