

LE REGARD D'UN PHYTOPATHOLOGISTE SUR LA BIODIVERSITE ET LE DEVELOPPEMENT DURABLE : DE L'USAGE DES MARQUEURS MOLECULAIRES POUR LA CONNAISSANCE DE LA DIVERSITE DU COMPLEXE D'ESPECES *RALSTONIA SOLANACEARUM* POUR UNE PRODUCTION DURABLE DE LA POMME DE TERRE A MADAGASCAR.

Ravelomanantsoa S.H. (1,2), Robène I. (2), Costet L. (2), Arribat S. (2), Cellier G. (3), Ramanankierana H. (4), Adrianjohany I. (5), Pruvost O. (2), Poussier S. (6), Guérin F. (6), Prior P. (7).

(1) Laboratoire de Pathologie Végétale, DRA, FOFIFA, Antananarivo, Madagascar. (2) UMR PVBMT, CIRAD, Saint-Pierre, La Réunion, France. (3) ANSES, Saint Pierre, La Réunion, France. (4) CNRE, Antananarivo, Madagascar. (5) Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar. (6) UMR PVBMT, Université de la Réunion, Saint-Denis, La Réunion, France. (7) UMR PVBMT, INRA, Saint-Pierre, La Réunion, France.

LES BIOAGRESSEURS, UNE BIODIVERSITE QUI DERANGE.

Un des grands défis de l'agriculture du 21^{ème} siècle est d'accroître la production agricole pour nourrir adéquatement une population mondiale en forte croissance d'ici 2050 (FAO, 2009). Comme la biodiversité constitue le fondement de l'agriculture, son maintien est indispensable à la production de nourriture et d'autres produits agricoles pour garantir la sécurité alimentaire, les besoins nutritionnels et les moyens de subsistance à l'humanité (CDB, 2008). Cependant, il existe une autre facette de la biodiversité nuisible à l'agriculture. Il s'agit de « biodiversité qui dérange » composée d'organismes nuisibles responsables des maladies et des famines (Lévêque, 2008) tels que les bioagresseurs des cultures dont la nature pourrait bien se passer sans inconvénient majeur, et que l'Homme souhaite maîtriser ou éradiquer.

Les menaces omniprésentes posées par ces ennemis de culture constituent une contrainte majeure pour l'agriculture pouvant entraîner de sérieuses répercussions à long terme sur la production durable, la sécurité alimentaire et impacter l'économie d'un pays.

LE COMPLEXE D'ESPECES *RALSTONIA SOLANACEARUM* HAUTEMENT NUISIBLE A LA POMME DE TERRE.

Parmi cette biodiversité négative figure le complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* (ceRs), agent responsable du flétrissement bactérien (FB), considéré comme les plus nuisibles de la pomme de terre à travers le monde. Les pertes infligées au champs et au stockage peuvent être très lourdes. A titre d'exemple, au Kenya, le FB affecte plus de 70% des exploitations de pommes de terre avec des pertes de rendement allant de 50 à 100% (Muthoni et al., 2012) ; et récemment en Bolivie, les pertes de la récolte de pomme de terre sont signalées jusqu'à 75% dans les

zones à forte incidence et 100% des pommes de terre entreposées (Castillo & Plata, 2016).

Les souches qui unifient le ceRs sont de répartition mondiale et structurées génétiquement en quatre phylotypes (I à IV) (Prior & Fegan, 2005). La nouvelle taxonomie classe ces phylotypes en trois espèces : *R. pseudosolanacearum* regroupant les phylotypes I et III, *R. solanacearum* qui correspond au phylotype II et l'espèce *R. syzygii* qui correspond au phylotype IV. L'ensemble de ces souches sont capables d'infecter la pomme de terre. En raison de leur exceptionnelle gamme de plantes hôtes, leur large répartition géographique, leur capacité de survie, et la diversité génétique associée (Álvarez et al., 2010 ; CABI, 2016 ; EPPO, 2015), la dispersion d'un tel agent pathogène pose de très sérieux problèmes agronomiques et économiques, notamment s'agissant des souches IIB-1 réglementés faisant l'objet de mesures de quarantaine (Directive 2000/29/CE) dans la zone de l'Union Européenne (EPPO, 2015) et inscrit sur la liste des agents potentiels de bioterrorisme aux Etats-Unis (USDA/APHIS, 2005). Dans ce contexte, le ceRs figure parmi les bactéries phytopathogènes vasculaires les plus étudiées (Mansfield et al., 2012).

UNE EPIDEMIE SEVERE ET ATYPIQUE DE FLETRISSEMENT BACTERIEN MENACE LA FILIERE POMME DE TERRE A MADAGASCAR.

Signalé vers 1934 à Madagascar (Bourriquet, 1946), le FB sévit de façon récurrente dans les zones maraîchères et affecte diverses cultures comme la pomme de terre, le tabac, la tomate et le haricot, avec des pertes de rendement à des proportions acceptables par les agriculteurs (Rasolofo, 1965). Aujourd'hui, un changement radical de la situation épidémiologique du FB de la pomme de terre est constaté sur les Hauts Plateaux. Si habituellement le FB est observé sur *tanety* infectés et les symptômes se manifestent au stade de tubérisation-floraison de la pomme de terre, l'épidémie actuelle est marquée par l'infection des cultures sur rizière et également des

cultures d'altitude et les symptômes apparaissent très tôt, dès le stade d'émergence complète au stade végétatif de la pomme de terre. Enfin, les variétés de pomme de terre supposées résistantes sont devenues sensibles au FB. Les pertes aux champs sont importantes pouvant aller de 20 à 100% et la maigre récolte est inapte à la conservation, à l'alimentation et à la commercialisation car les tubercules pourrissent rapidement (Andriamihaja, 2013 ; enquêtes FIFAMANOR). Le FB ne cesse de gagner du terrain et progresse dans l'ensemble des bassins de production de pomme de terre des Hauts Plateaux malgaches, et également dans quelques zones d'extension.

L'incidence accrue du FB constitue aujourd'hui une menace potentielle pour la filière pomme de terre à Madagascar avec une crainte d'extension sur d'autres cultures. Ces épidémies spectaculaires sont également sources d'instabilité alimentaire majeure et compromettent les moyens d'existence des ruraux.

EXPLORER LA DIVERSITE GENETIQUE, UN PREALABLE POUR COMPRENDRE LA DYNAMIQUE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN.

La situation d'épidémie de FB est alarmante qu'il est urgent de mettre en œuvre une vaste étude sur la diversité des souches du ceRs présentes dans les bassins de production de la pomme de terre et de mener des investigations épidémiologiques pour comprendre l'émergence et la dispersion du ceRs. C'est un prérequis indispensable afin d'orienter les stratégies efficaces et adaptées visant à contrôler ou éradiquer la maladie. Cependant, l'état des connaissances sur la diversité des souches malgaches est très limité. Très peu de données génétiques sont disponibles à ce jour. Ainsi, il est indispensable de caractériser, d'une part, les souches responsables de FB qui affecte de façon permanente les cultures de pomme de terre. Jusqu'ici la diversité des souches prévalentes dans les bassins sont méconnus. D'autre part, caractériser les souches associées à l'épidémie. Comme hypothèse, la situation d'épidémie pourrait s'expliquer par l'émergence de souches plus agressives variant des souches historiques ou l'émergence de souches cryptiques qui ont existé mais non caractérisé ou qui auraient fait un saut d'hôte, ou l'introduction de souches exotiques virulentes où les variétés de pomme de terre cultivées leur sont sensibles. L'analyse de cette diversité nous permet ensuite d'identifier les mécanismes et les principaux facteurs contribuant à la persistance et/ou recrudescence du FB dans les bassins. Il s'agit d'identifier les sources potentiels d'infection, les réservoirs d'inoculum et les mécanismes de dispersion.

DES MARQUEURS MOLECULAIRES POUR RENDRE COMPTE DES ASPECTS DE LA DIVERSITE GENETIQUE DU ceRs SUR LES HAUTS PLATEAUX MALGACHES.

Aborder les questions biologiques sous-tendant la diversité génétique nécessite des outils de génotypage efficaces et robustes avec lesquels on peut décrire de subtiles variations génétiques. A l'aide de marqueurs moléculaires déterminés sur le génome d'un individu, le génotypage permet d'attribuer un profil génétique à un individu donné et de différencier les individus entre eux.

Dans cette étude, nous appliquons l'approche d'analyse du polymorphisme de plusieurs locus de séquences répétées en tandem ou MLVA, qui est davantage utilisée en phytopathologie comme outil épidémiologique car elle est plus pointue avec un fort pouvoir discriminant pour différencier les souches au sein d'une population. La technique MLVA consiste en premier à déterminer le nombre de répétitions de séquences répétées en tandem sur un locus donné puis à définir le profil allélique qui représente un haplotype. La diversité génétique est ensuite mesurée au sein de la population.

APPROCHES METHODOLOGIQUES.

Notre première approche est de constituer une collection de souches géo-référencées, représentatives des principaux bassins touchés par une infection récurrente au FB, d'une part, et en situation d'épidémie récente de FB, d'autre part. Les prospections sont réalisées en trois périodes (Décembre 2012, Avril et Décembre 2013), réparties sur 12 zones agro-écologiques (ZAEs) : Antsirabe, Betafo, Faratsiho, Ambatolampy, Ambohimadana, Ambohidratrimo, Arivonimamo, Miarinarivo Soavinandriana, Ambositra, Ambohimahasoa, Manjakandriana. L'appartenance des isolats au ceRs et la détermination des phylotypes auxquelles les souches collectées sont assignées sont ensuite identifiées grâce au PCR multiplexe ceRs-phylotype spécifique (Opina et al., 1997 ; Fegan et Prior, 2005) et au PCR simplexe spécifique aux souches de quarantaine IIB-1 (Fegan et al., 1998).

Notre deuxième approche consiste à développer des schémas de génotypage MLVA capables de détecter le polymorphisme génétique entre souches. Une fois les outils mis au point, les souches du ceRs sont génotypées et les données générées sont analysées avec différents logiciels bio-informatiques pour évaluer la diversité génétique à différentes échelles spatiotemporelles, la structure génétique et spatiale sur les Hauts Plateaux. Les données d'enquêtes

épidémiologiques réalisées sur terrain sont ensuite confrontées avec les données obtenues pour mettre en exergue les facteurs qui jouent un rôle dans la dynamique du FB dans les bassins.

PRESENCE DES PHYLOTYPES I, III DECRIIS AUPARAVANT ET PREMIER SIGNALEMENT DU PHYLTYPE IIB-1 A MADAGASCAR.

Un total de 1224 isolats sont constitués à partir d'une vaste prospection de 74 sites couvrant les bassins de production de pomme de terre des Hauts Plateaux malgaches. Les profils d'amplification ont montré que les isolats appartiennent au ceRs, 10% des isolats sont assignés au phylotype I (n=124), 18% au phylotype III (n=221) ; et la grande majorité des isolats (72%) tombent dans le phylotype II (n=879). Avec une grande surprise, la bande spécifique aux souches IIB-1 est amplifiée chez phylotype II. Il s'agit alors d'un premier signalement des souches de quarantaine IIB-1 à Madagascar. Le phylotype I est localisé généralement dans la région Itasy tandis que les phylotypes IIB-1 et III se rencontrent dans presque la totalité des zones prospectées. Le phylotype I est isolé de la tomate, aubergine africaine, pomme de terre, piment et morelle sauvage. Le phylotype IIB-1 est isolé de la pomme de terre, tomate, haricot et mauvaise herbe identifiée sur les parcelles de pomme de terre (le bident). Le phylotype III est isolé de la pomme de terre, tomate, piment, haricot, pélagonium, amours-en-cage et des adventices comme le bident et la morelle sauvage. Les trois phylotypes affectent la pomme de terre et également la tomate. De plus, les phylotypes IIB-1 et III sont isolés des eaux d'irrigation ; ce qui suggère qu'elles constituent, au même titre que les espèces hôtes précitées, une source potentielle de contamination dans les parcelles. Compte tenu de l'importance des souches IIB-1 dans les bassins de production, nous pouvons supposer que les souches IIB-1 sont associées à l'épidémie de FB.

RS3-MLVA16 ET RS2-MLVA9, DEUX PUISSANTS OUTILS DE CARACTERISATION, DE SURVEILLANCE DES SOUCHES PHYLOTYPES III ET II.

Nous avons développé un schéma de génotypage MLVA hautement résolutif - RS3-MLVA16 basé sur 16 marqueurs (RS3L27, RS3L28, RS3L29, RS3L17, RS3L19, RS3L30, RS3L31, RS3L32, RS3L33, RS3L34, RS1L05, RS3L35, RS3L36, RS1L10, RS3L37, RS1L12), adapté pour génotyper le phylotype III. Un travail qui a fait l'objet d'une publication scientifique (Ravelomanantsoa et al., 2016). Le schéma RS3-MLVA16 montre une bonne capacité à distinguer des

souches distantes géographiquement issues de différents pays, et à relier les souches épidémiologiquement liées à l'échelle d'une localité et d'une parcelle. Le schéma est proposé à la communauté scientifique mondiale pour le génotypage des souches du phylotype III présentes en Afrique et dans les îles de la zone SOOI.

Pour caractériser les souches du phylotype IIB-1, 9 marqueurs hautement polymorphes (RS2BL25, L539, RS2BL22, L540, RS2BL21, RS2AL01, RS2BL24, L563, L504) sont sélectionnés des schémas publiés de N'Guessan et al. (2013) et de Parkinson et al. (2013) pour constituer le schéma RS2-MLVA9. Ce schéma est particulièrement discriminant pour différencier les souches monomorphes du phylotype IIB-1 et relier les souches épidémiologiquement actives à différentes échelles : dans les bassins, les ZAEs et les parcelles. Le schéma RS2-MLVA9 est proposé pour le génotypage des souches de quarantaine IIB-1.

DEUX PROFILS EPIDEMIOLOGIQUES CONTRASTES DU PHYLTYPE IIB-1 ET PHYLTYPE III.

Les deux outils développés ont permis d'évaluer le degré de diversité génétique des phylotypes III et IIB-1 prévalents sur les Hauts Plateaux. Les indices de diversité montrent une faible diversité génétique chez le phylotype IIB-1 et une diversité élevée chez le phylotype III.

A partir des données MLVA, nous avons pu aussi mettre en évidence les relations génétiques des souches à l'échelle mondiale et bassins de production des Hauts Plateaux malgaches. Le réseau d'haplotypes pour le phylotype II révèle que les souches malgaches sont apparentées aux souches distribuées mondialement, suggérant ainsi une introduction malheureuse à Madagascar. Les souches sont regroupées dans un complexe clonal structuré en étoile qui est caractéristique d'une épidémie à expansion clonale récente. Ainsi, l'épidémie du FB qui sévit dans les bassins de production de pomme de terre est attribué par l'émergence des souches introduites IIB-1. A l'échelle des bassins de production de pomme de terre, plusieurs haplotypes sont partagés par différents ZAEs. La structure génétique et spatiale des populations de phylotype IIB-1 montre que la dispersion des souches IIB-1 suit le flux de distribution de semences. Combiné avec le fait que les souches IIB-1 sont capables d'infections latentes dans les tubercules de pommes de terre (Skoglund et al., 1993), le mode de transmission se fait principalement par des échanges de tubercules semences infectés. Un mode de propagation reconnu conditionnant son succès invasif à l'échelle mondiale.

Contrairement aux souches IIB-1, le réseau d'haplotype obtenu à partir de données de génotypage des souches phylotype III comprenant des souches mondiales isolées des pays Africains et de l'île de la Réunion, et des souches malgaches montre que les souches malgaches ne présentent aucune parenté génétique forte avec les souches des autres pays africains et également aucun haplotype n'est partagé entre pays africains. Cette structure de réseau d'haplotypes conforte la structure endémique du phylotype III en Afrique. A l'échelle des bassins des Hauts Plateaux, les souches malgaches sont groupées en plusieurs complexes clonaux génétiquement distants entre eux, reflétant une maladie endémique. En majorité, les haplotypes ne sont pas partagés entre les ZAEs. Confronté avec le schéma de distribution de semences et comparé avec la structure spatiale du IIB-1, la structure génétique du phylotype III ne reflète pas la transmission par tubercules de pomme de terre. Il est fort probable qu'il n'y ait pas d'infection latente dans les tubercules chez ce phylotype. Bien que ces souches soient présentes en permanence dans les zones d'endémie, le phylotype III n'a pas ainsi de vocation à faire des épidémies. La structure génétique et spatiale des populations indique que le phylotype III est associée à l'endémie de FB dans les bassins de production de pomme de terre des Hauts Plateaux malgaches.

IMPORTANCE ET PORTEE DE L'ETUDE DE DIVERSITE GENETIQUE DES SOUCHES DU ceRs MALGACHES.

Il est à noter qu'à notre connaissance c'est une première étude d'épidémiologie moléculaire effectuée chez le ceRs à Madagascar. A l'issue de cette étude, un outil moléculaire discriminant, robuste et s'appliquant à différentes échelles spatiotemporelles est aujourd'hui disponible pour étudier le FB provoqué par le phylotype III qui sévit majoritairement dans les pays africains. Nous avons décrit pour la première fois les souches IIB-1 à Madagascar en donnant les éléments de biologie des populations. Nous avons effectué également une première étude mondiale portant sur la biologie des populations du phylotype III. Enfin, c'est une première description conjointe de deux modèles épidémiologiques.

En outre, cette étude a dévoilé les potentialités des marqueurs moléculaires et d'une analyse génétique pour répondre aux questions soulevées par l'épidémiologie du FB. Elle permet entre autres de recueillir des informations pertinentes de biologie des populations du ceRs pouvant renseigner sur l'origine des souches, la nature de la maladie, le type de souche associé à l'épidémie/endémie et les sources

d'inoculum possibles, le mode de dispersion. Ce qui amène, de nos jours, l'épidémiologiste à travailler à l'interface de la génétique des populations et de l'épidémiologie descriptive avec comme outils d'investigation les marqueurs moléculaires les mieux adaptés aux questions de recherche posées. La méthode MLVA a largement fait preuve de son utilité comme outil d'investigation épidémiologique chez de nombreuses agents phytopathogènes d'importance agronomique.

D'un point de vue appliquée, de telles données contribue à l'élaboration d'outils d'aide à la décision pour la gestion efficace de l'épidémie, aussi bien qu'à l'amélioration des programmes de sélection de variétés résistantes à déployer, le développement d'outils de diagnostic, le contrôle, le suivi et la surveillance épidémiologique. En effet, comme le génotypage, aux moyens des marqueurs génétiques, identifie chaque individu typé en leur attribuant une carte d'identité ou empreinte génétique, chaque empreinte génétique peut être stockée en une base de données de profils génotypiques numériques consultables *via* des applications Web. Cela permet de mettre en place un système d'épidémiosurveillance de type comparatif ou archivé fournissant des profils numériques reproductibles, permettant la comparaison d'un large nombre de souches, la reconnaissance des profils existants et l'identification de ceux qui sont nouvellement définis. Il existe aujourd'hui un certain nombre d'outils de génotypage accessibles en réseau ou en ligne intégrant les bases de données de génotypage (Struelens et al., 1998; Carriço et al., 2012; Sabat et al., 2013).

PRIORITES DANS LA STRATEGIE DE LUTTE CONTRE LE FLETRISSEMENT BACTERIEN DU AUX SOUCHES DE QUARANTAINE IIB-1.

Cette recrudescence de souches IIB-1 risque fort bien de mettre en péril la filière pomme de terre à Madagascar. Elle constitue également un obstacle à la rencontre de l'objectif « Faim zéro » (ODD2), freinant les efforts visant à assurer un bon niveau de sécurité alimentaire à Madagascar et notamment la santé économique du monde rural. La filière pomme de terre à Madagascar demeure encore vulnérable après une sévère épidémie de mildiou non contrôlée vers 2003 – avec une chute flagrante d'environ 30 % de la production en tubercules et tubercules semences au niveau nationale (FAOSTAT, 2016). Les agriculteurs sont aujourd'hui dans le désarroi total et abandonnent progressivement la culture. Dans ce contexte, la gestion du FB est devenue une préoccupation d'ampleur nationale car les enjeux sont importants. En

effet, la pomme de terre contribue à la diversification alimentaire en zone urbaine, et complémente ou substitue le riz pendant la période de soudure en zone rurale (Andriamihaja, 2013 ; GRET/CITE, 2000 ; Rasolo et al., 1987). C'est un des produits phares des Hauts Plateaux malgaches, notamment de la région Vakinankaratra qui produit environ 670 000 tonnes par an dont 40 % sont destinés pour la consommation et 60 % pour la vente (données MinAgri 2015). Au niveau national, La pomme de terre est identifiée comme étant une filière d'exportation porteuse. En effet, Madagascar a exporté vers les îles voisines telles que les Comores, Maurice, Réunion, Mayotte, Seychelles (Lexp.mu 2004 ; Monty 2012 ; Rasolo et al. 1987). La production nationale de tubercules semences de pomme de terre se retrouve également aujourd'hui contrainte par le FB. L'indisponibilité en tubercules semences saines ne fait qu'aggraver la situation phytosanitaire à Madagascar car les producteurs ont recours à des tubercules semences non certifiées indemnes de ceRs. Les terrains infestés deviennent impropres à la culture non seulement de la pomme de terre mais aussi d'autres Solanées comme la tomate. Ce qui réduit les surfaces exploitables. Il n'existe pas encore de lutte curative, une alternative est l'utilisation de variété résistante.

Dans ce contexte, l'urgence absolue est d'assainir le stock de tubercules infectés par les souches IIB-1 et d'instaurer des mesures d'urgence pour assainir la filière semences pomme de terre à Madagascar. Les informations recueillies à partir cette étude permet entre autres de raisonner et de mieux prendre en charge le FB. Il faut alors pouvoir stopper et garantir l'éradication de cette souche en premier lieu pour limiter des pertes de production en pomme de terre au niveau national. Une telle opération est possible mais nécessite une approche coordonnée entre les différents acteurs de la filière pomme de terre et une stratégie de lutte intégrée sans faille.

MESURES ET PROPHYLAXIE ESSENTIELLES - BASES DE RAISONNEMENT DE LUTTE INTEGREE.

La souche IIB-1 extrêmement virulente est contrôlable. L'approche clé d'un programme de lutte consisterait à instaurer une stratégie d'assainissement de la filière pomme de terre incluant des actions conjointes de communication/formation sur l'épidémiologie des souches ceRs en vue de conscientiser et sensibiliser les différents acteurs de la filière pomme de terre à réfléchir sur les différents risques et points de contrôle à maîtriser pour la gestion du flétrissement bactérien et de les inciter à adopter un plan d'action de contrôle intégré contre le FB. Il s'agit entre autres de

renforcer le système de production de tubercules semences saines et de certification des semences au niveau national, et d'autre part renforcer le système de contrôle et de réglementation de l'importation de pomme de terre ou d'autres matériels végétaux susceptibles d'être réservoirs d'inoculum. Pour ce faire, il s'avère indispensable de réviser le schéma de certification de semences en intégrant une vérification de l'état sanitaire des plants et semences aux différentes étapes de la production, à l'aide de méthodes sérologiques ou moléculaires adaptées. D'autres mesures complémentaires doivent être prises comme le diagnostic pré-culture de la présence d'inoculum par l'indexage biologique, l'épidémiosurveillance au champ avec la possibilité d'identifier rapidement la maladie par des méthodes utilisables au champ, ainsi que la vérification post-récolte de l'absence d'infection latente. S'agissant de ce dernier point, nous devons confirmer que les autres souches du ceRs du phylotype III et I ne présentent pas d'infections latentes dans les semences de pomme de terre, au même titre que les souches IIB-1. La phase d'assainissement requiert aussi des bonnes pratiques culturelles intégrant des mesures prophylactiques incluant l'utilisation de semences saines certifiées et entières ; le désherbage des parcelles de culture ; la désinfection des plants infectés et brûlage dans une fosse dédiée aux déchets contaminés de maladies infectieuses ; la pratique de la jachère, de la rotation des cultures ou du pâturage sont des solutions préconisées pour rompre le cycle d'infection ; la prohibition de jeter les fanes de cultures ou de nettoyer les équipements et matériels de cultures contaminés dans les eaux d'irrigation ou dans la rivière ; la désinfection des matériels de culture contaminés par exemple avec de l'eau de javel (Muthoni et al., 2012) ; réaliser une sélection positive et négative avant la récolte et de détruire les plantes infectées. Il est toutefois primordial de renseigner les paysans sur la symptomatologie du FB. En effet, lors de nos missions de prospection nous avons constaté que les paysans ont tendance à confondre les symptômes du mildiou (*Phytophthora infestans*) et ceux du FB. Il est également indispensable de poursuivre la collection des souches du ceRs dans les différentes zones maraîchères non prospectées combinée à des enquêtes épidémiologiques, et le prélèvement sur les plantes soupçonnées réservoir potentiel d'inoculum.

Enfin, les données générées par cette étude de diversité génétique serviront de référentiel pour des futures études sur la dynamique des populations des souches au niveau national, sur leur dispersion au niveau de la zone SOOI et également l'évaluation de

leur comportement au champ vis-à-vis des variétés de pomme de terre et d'autres cultures de rente.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bouriquet G. 1946. Les maladies des plantes cultivées à Madagascar. P. Lechevalier.
- Andriamihaja A. 2013. Madagascar: Les paysans cultivent des pommes de terre pour combler le manque du riz. Dépêche de nouvelles agricoles africaines. ARH.
- Álvarez B, Biosca EG, and López MM. 2010. On the life of *Ralstonia solanacearum*, a destructive bacterial plant pathogen. Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology Volume 1.
- CABI. 2016. *Ralstonia solanacearum* (bacterial wilt of potato).
- Carriço, J., Sabat, A., Friedrich, A., and Ramirez, M. (2012). Bioinformatics in bacterial molecular epidemiology and public health: databases, tools and the next-generation sequencing revolution. *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin* 18(4), 20382-20382.
- Castillo J, and Plata G. 2016. The expansion of Brown Rot disease throughout Bolivia: Possible role of climate change. *Canadian Journal of Microbiology*.
- CDB (2008). "BIODIVERSITÉ ET AGRICULTURE. Protéger la biodiversité et assurer la sécurité alimentaire", in: *JOURNÉE INTERNATIONALE DE LA DIVERSITÉ BIOLOGIQUE*. Secrétariat de la Convention sur la diversité biologique).
- EPPO. 2015. EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests: *Ralstonia solanacearum* (RALSSO).
- FAO. 2009. Comment nourrir le monde en 2050: L'agriculture mondiale à l'horizon 2050. Forum d'Experts de Haut Niveau. Rome FAO.
- FAOSTAT. 2016. Potatoes production in Madagascar 2003-2014.
- Fegan M, and Prior P. 2005. How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex. 449-461.
- Fegan M, Taghavi M, Sly LI, and Hayward AC. 1998. Phylogeny, Diversity and Molecular Diagnostics of *Ralstonia solanacearum*. In: Prior P, Allen C, and Elphinstone J, eds. *Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects*. Berlin, Heidelberg. Springer Berlin Heidelberg, 19-33.
- GRET/CITE. 2000. Diagnostic rapide de la filière de la pomme de terre.
- Lévêque, C. (2008). *La biodiversité au quotidien: Le développement durable à l'épreuve des faits*. Quae.
- Lexp.mu. 2004. La pomme de terre malgache arrive. *lexpress.mu*.
- Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, Sriariyanum M, Ronald P, Dow M, Verdier V, Beer S, Machado M, Toth IAN, Salmond G, and Foster G. 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13:614-629. doi:10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x.
- Monty. 2012. Mise en place d'une série de mesures qui aiderait à augmenter le seuil de la sécurité alimentaire de la région.
- Muthoni J, Shimelis H, and Melis R. 2012. Management of Bacterial Wilt [*Rhalsonia solanacearum* Yabuuchi et al., 1995] of Potatoes: Opportunity for Host Resistance in Kenya. *Journal of Agricultural Science* 4: p64.
- N'Guessan C, Brisse S, Le Roux-Nio A-C, Poussier S, Koné D, and Wicker E. 2013. Development of variable number of tandem repeats typing schemes for *Ralstonia solanacearum*, the agent of bacterial wilt, banana Moko disease and potato brown rot. *Journal of Microbiological Methods* 92:366-374. doi:10.1016/j.mimet.2013.01.012.
- Opina, N., Tavner, F., Hollway, G., Wang, J., Li, T., Maghirang, R., et al. (1997). A novel method for development of species and strain-specific DNA probes and PCR primers for identifying *Burkholderia solanacearum* (formerly *Pseudomonas solanacearum*). *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology* 5(1), 19-30.
- Prior P, and Fegan M. 2005. Recent developments in the phylogeny and classification of *Ralstonia solanacearum*. 695 ed:International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium. p 127-136.
- Parkinson N, Bryant R, Bew J, Conyers C, Stones R, Alcock M, and Elphinstone J. 2013. Application of variable-number tandem-repeat typing to discriminate *Ralstonia solanacearum* strains associated with English watercourses and disease outbreaks. *Appl Environ Microbiol* 79:6016-6022. doi:10.1128/AEM.01219-13.
- Rasolo F, Randrianaivo H, Ratovo A, Andrianorosa, Andriambahoaka R, Razafindraibe, Rakotondramanana, and Scott. 1987. La Pomme de Terre pour l'Autosuffisance Alimentaire: FOFIFA - FIFAMANOR - CIP.
- Rasolofo. 1965. Le flétrissement bactérien à Madagascar. In: Marseille Cdcedid, editor. *Congrès de la protection des cultures tropicales*.
- Ravelomanantsoa, S., Robène, I., Chiroleu, F., Guérin, F., Poussier, S., Pruvost, O., et al. (2016). A novel multilocus variable number tandem repeat analysis typing scheme for African phylotype III strains of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *PeerJ* 4, e1949.
- Sabat, A.J., Budimir, A., Nashev, D., Sa-Leao, R., van Dijl, J., Laurent, F., et al. (2013). Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Euro Surveill* 18(4), 20380.
- Skoglund L, Seal S, Elphinstone J, and Berrios D. 1993. Study of Latent Infection of Potato Tubers by *Pseudomonas solanacearum* in Burundi. In: (eds) HGaHA, editor. *Bacterial Wilt*. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra:ACIAR Proceedings p:106-110.
- Struelens, M.J., Gheldre, Y.D., and Deplano, A. (1998). Comparative and Library Epidemiological Typing Systems: Outbreak Investigations Versus Surveillance Systems. *Infection Control & Hospital Epidemiology* 19(08), 565-569. doi: doi:10.1086/647874.
- USDA/APHIS. 2005. Agricultural Bioterrorism Protection Act of 2002; Possession, Use, and Transfer of Biological Agents and Toxins. In: Register F, editor. 52.