

			
			
Evaluation de l'effet des extraits aqueux de <i>Moringa oleifera</i> et d'<i>Allium fistulosum</i> sur le contrôle de <i>Ralstonia Solanacearum</i>			
Projet Resymar Action « Contrôle agroécologique des ravageurs »	Date : 30/07/2023	Pages : 16	
Rédacteur : N'kolba Dimiline TAHABA			
Essai réalisé par l'Institut Technique Tropical (IT2) avec la collaboration de Régine CORANSON-BEAUDU			

1. Contexte, enjeux et objectifs

Le flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* est l'une des maladies les plus dévastatrices de la tomate dans le monde. En Martinique, cette maladie représente un enjeu majeur pour les producteurs de tomates, car elle peut causer des pertes importantes de rendement et de qualité, ainsi que des coûts élevés en matière de gestion et de contrôle.

La tomate est l'un des légumes les plus importants de la Martinique en termes de production et de consommation. La culture de la tomate est souvent effectuée en serre et au champ, où les eaux de ruissellement, favorisent la propagation de *Ralstonia solanacearum*. Les producteurs de tomates de la Martinique utilisent actuellement des méthodes prophylactiques pour le contrôle du *R. Solanacearum*, mais avec très peu d'efficacité.

Il est donc important d'intensifier les méthodes prophylactiques et de développer des stratégies de contrôle alternatives qui soient efficaces et durables pour prévenir et gérer le flétrissement bactérien sur les cultures maraîchères, en particulier sur la tomate en Martinique. Cela pourrait inclure l'utilisation de produits de bio contrôles tels que des extraits de plantes, des micro-organismes bénéfiques, ou des pratiques culturales. Parmi cette liste, l'utilisation des extraits

de plantes seraient un moyen efficace et efficient pour les maraîchers pour contrôler du *R. Solanacearum* .

Dans le cadre du projet RESYMAR, une étude de recherche sur l'effet des extraits de feuilles fraîches de *Moringa oleifera* et d'*Allium fistulosum* (oignon pays) sur le contrôle du flétrissement bactérien sur la culture de tomates en Martinique a été faite. L'objectif est d'identifier une solution durable pour les producteurs et contribuer à la durabilité de la production agricole locale.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Site expérimental.

L'expérimentation a été faite dans la « serre phyto » du campus agro-environnemental Caraïbe (CAEC) - CIRAD situé au quartier Petit Morne dans la commune de Lamentin en Martinique. Les différentes extractions des plantes et préparations de l'inoculum artificiel de *R. solanacearum* ont été faites au laboratoire du CAEC.

2.2. Matériels

2.2.1. Matériel végétal

Les plants de tomates de la variété « Symbal » ont été utilisés pour l'essai, repiqué 2 semaines après semis.

Les feuilles fraîches de *Moringa oleifera* et les feuilles + bulbes d'*Allium fistulosum* ont été utilisés comme organes des plantes de service pour les extractions.

2.2.2. Matériel biologique bactérien

Dans le cadre de cette étude, une seule souche de *Ralstonia solanacearum* a été utilisée pour infester le terreau stérilisé. Il s'agit de la souche hautement virulente de *R. solanacearum* CFBP6783 appartenant à la phylotype de population émergente IIB/4NPB (36), qui a été initialement isolée à partir d'une plante malade d'*Heliconia* et déposée dans la Collection Française de Bactéries Phytopathogènes (CFBP, Angers, France) (Deberdt et al. 2012).

2.2.3. Matériels techniques

- ✓ 255 pots de cultures de 0.4 l
- ✓ 300 plants de tomate « symbal »

- ✓ Une balance numérique de 0.1 de précision pour peser les feuilles et bulbes pour les extractions,
- ✓ Un Moulinex pour broyer les feuilles et les bulbes et feuilles respectivement de *M. oleifera* et d'*Allium fistulosum*
- ✓ Des scopes en plastique pour recueillir les solutions provenant des pots de cultures
- ✓ Un marqueur pour identifier chaque échantillon et pour marquer la date de la préparation sur les scopes.
- ✓ 50Kg Nitrate de calci, 0,2 Kg d'oligoéléments, 50Kg Nitrate de potasse, 25 Kg Sulfate de Magnesium, et 12 Kg de Phosphate Monopotassique pour la ferti-irrigation.
- ✓ Boîtes de Petri dans lesquelles sera faite la multiplication de l'inoculum *R. solanacearum*.
- ✓ 100 L de terreau pour la plantation
- ✓ Un doseur pour apporter les traitements
- ✓ Torchon neuf pour filtrer les extraits aqueux des plantes ;
- ✓ Les tubes à essai et boîtes de pétris pour évaluer les infections latentes des plantes par *R. solanacearum*.

2.3. Méthodes

2.3.1. Dispositif Expérimental

Le dispositif de l'essai sur l'évaluation de la phytotoxicité a été en blocs aléatoires complet avec trois répétitions de chaque traitement (voir tableau 2).

Le dispositif de l'essai sur le contrôle de *R. solanacearum* par les extraits aqueux de feuilles de *Moringa O.* et l'oignon pays a été en blocs aléatoires complet avec trois répétitions de chaque traitement (voir le tableau 4).

Toutefois, avant d'évaluer l'impact des extraits végétaux sur le *Ralstonia*, un 1^{er} essai sans inoculum a permis d'évaluer la phytotoxicité des extraits des plantes retenues pour cette étude sur la tomate. L'essai sur la phytotoxicité a été mis en place avant l'essai sur le contrôle de *R. Solanacearum*. L'unité expérimentale a été de 5 plants de culture dans les pots de 0.4l pour l'essai sur l'évaluation de la phytotoxicité et 10 plants pour l'essai sur le contrôle de *R. solanacearum*.

Les différents traitements des deux essais sont consignés dans le tableau 1 et 3. La plantation des plants de tomates a été faite en semaine 23 pour l'essai sur la phytotoxicité et en semaine 27 pour le contrôle de *R. solanacearum* à un plant par pot. Le terreau a été stérilisé à une température de 120°C et à une pression de 1 bar pendant 24 heures avant d'être utilisé.

La répartition des modalités dans les blocs a été effectuée par tirage aléatoire sans remise dans une urne.

Tableau 1 : Les différents traitements de l'essai sur l'évaluation de la phytotoxicité des extraits.

Extraits de plantes	Nombre de plants	concentrations	Traitements	Fréquence application
<i>Moringa Oleifera</i> (MO)	5	50%	30 ml / pot	2 fois / semaine pendant 4 semaines
	5	25%	30 ml / pot	2 fois / semaine pendant 4 semaines
<i>Allium fistulosum</i> (Af)	5	50%	30 ml / pot	2 fois / semaine pendant 4 semaines
	5	25%	30 ml / pot	2 fois / semaine pendant 4 semaines
Témoin (T)	5	0%	0 ml	0 fois / semaine pendant 4 semaines

Tableau 2 : La répartition des modalités dans les blocs pour l'essai évaluation des extraits

Bloc 1	Bloc 2	Bloc 3
Af 50%	Mo 50%	Af 25%
Mo 25%	T0	Mo 25%
Af 25%	Af 50%	T0
Mo 50%	Mo 25%	Mo 50%
T0	Af 25%	Af 50%

Tableau 3 : Les différents traitements de l'essai sur le contrôle de *R. solanacearum*. (R. S).

Extraits de plantes	Nombre de plants	Inoculum	concentrations	Traitements	Fréquence application
<i>Moringa Oleifera</i> (Mo)	10	20ml	50%	30 ml / pot	2 fois / semaine pendant 4 semaines
	10	20ml	25%	30 ml / pot	2 fois / semaine pendant 4 semaines
<i>Allium fistulosum</i> (Af)	10	20ml	50%	30 ml / pot	2 fois / semaine pendant 4 semaines
	10	20ml	25%	30 ml / pot	2 fois / semaine pendant 4 semaines
Témoin inoculé	10	20 ml	0	0 ml	0 fois
Témoin (T)	10	0 ml	0	0 ml	0 fois

Tableau 4 : La répartition des modalités dans les blocs pour l'essai sur le contrôle de R. S

Bloc 1	Bloc 2	Bloc 3
Af 50% + inoculum	Mo 50% + inoculum	Af 50% + inoculum
Af 25% + inoculum	T + inoculum	Mo 25% + inoculum
Mo 50% + inoculum	Af 25% + inoculum	T + inoculum
T + inoculum	Af 50% + inoculum	Mo 50% + inoculum
Mo 25% + inoculum	T0	Af 25% + inoculum
T0	Mo 25% + inoculum	T0



Figure 1 : dispositif expérimental de l'essai sur la phytotoxicité



Figure 2 : dispositif expérimental de l'essai sur le contrôle du *Ralstonia solanacearum*

2.4. Méthodes d'extraction des extraits aqueux des feuilles de *Moringa oleifera* et des bulbes plus les feuilles d'*Allium fistulosum*.

Les jeunes feuilles fraîches de *Moringa oleifera* et les bulbes + feuilles de l'oignon pays (*Allium fistulosum*) ont été collectées séparément et pesées sur une balance électronique. Ces derniers ont été broyées à l'aide d'un Moulinex sur la base de 100g pour 100ml d'eau distillée pour obtenir les solutions mères (100%) de chaque extrait. Les solutions mères ont été diluées une fois avec de l'eau distillée stérile pour avoir des solutions filles de 50% et

25% de concentrations de chaque extrait. Les différentes concentrations des différents extraits obtenus ont été apportées à une dose de 30ml par pied.

Il a été utilisé 1 Kg de feuilles fraîches de *Moringa oleifera* et 1 Kg d'Oignon pays pour la préparation des différentes solutions mères.



Pesée des feuilles :
1kg



Quantité d'eau
distillée : 1000 mL



Broyage de 1kg de
feuilles avec 1000 mL
d'eau distillée.



Extrait de 1L du jus à
une concentration de
100%



Tamisage du broyat
pour récupérer le jus.



Fin du Broyage

Figure 3 : Différentes étapes de la préparation des solutions mères

2.5. Méthodes de dilution des concentrations.



La solution mère à
concentration de
100%



200 mL de la
solution mère



Ajout de 200 mL
d'eau distillée sur
la solution mère



La solution fille à
concentration de
50%

Figure 4 : Différentes étapes de dilutions de la solution

La solution fille à concentration 25% a été obtenue en procédant par ces différentes étapes illustrées pour obtenir la concentration de 50%. Pour préparer 200 mL de solution fille pour une dilution de 25%, il a fallu donc prélever 50 mL de solution mère et de diluer avec 150 mL d'eau distillée.

2.6. Méthode d'évaluation de la biomasse sèche des plants de tomates.

A la fin de l'essai, les cinq plants de chaque traitement (modalité) ont été arrachés avec leurs racines puis rincés à l'eau de robinet afin de ce débarrassé du terreau. Les racines ont été découpées et séparées des tiges + feuilles des plants. Les racines séparées de l'ensemble des tiges + feuilles de chaque modalité ont été mis dans une étuve à 70°C pendant 48 heures pour avoir la biomasse sèche des plants pour chaque traitement (modalité).

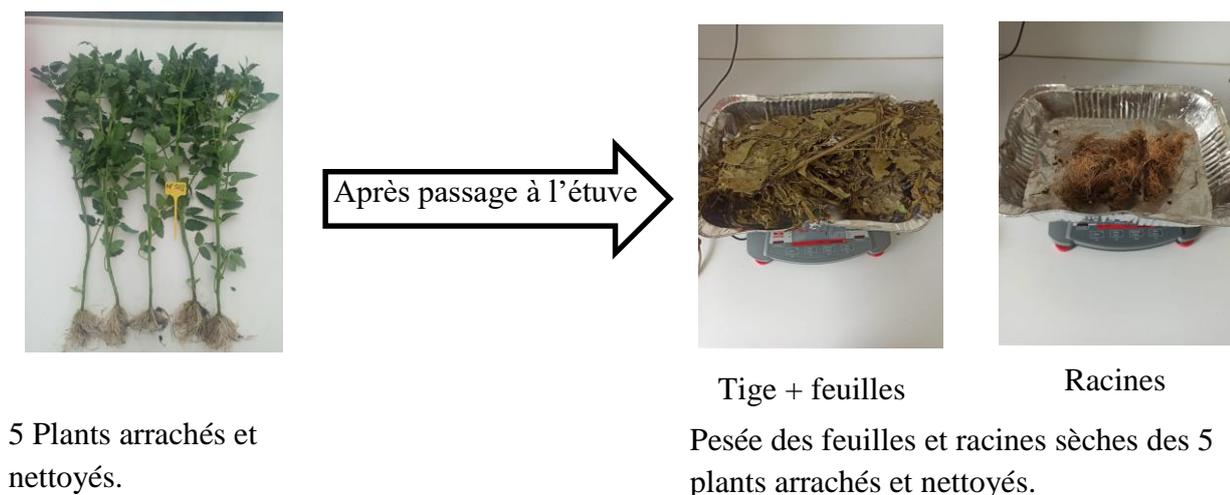


Figure 5 : Différentes étapes pour l'évaluation de la biomasse sèche.

2.7. Description des variables mesurées.

- Le flétrissement : désigne la perte de rigidité des parties non ligneuses d'une plante. Il correspond à une perte de turgescence.

- Perte de vigueur d'une plante de tomate : les signes courants de la perte de vigueur comprennent un jaunissement des feuilles, un ralentissement de la croissance, une diminution de la floraison ou de la fructification, et une susceptibilité accrue aux stress environnementaux.
- Tâches foliaires : Les taches foliaires sur une plante de tomate se manifestent généralement sous la forme de marques ou de décolorations sur les feuilles de la plante. Ces taches sont décrites comme des zones altérées de la surface des feuilles, qui peuvent être de couleur brune, jaune, noire, ou même blanche selon la cause



Plant flétri



Perte de vigueur d'un plant de tomate



Plant avec tâches foliaires

Figure 6 : Photos des différents symptômes observés

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats de l'essai sur la phytotoxicité de *Moringa oleifera* et de l'oignon pays sur les plants de tomates.

a-) Evaluation de la phytotoxicité des extraits aqueux sur les plants de tomates.

Les différentes concentrations (25% et 50%) des extraits aqueux de chaque extrait (Moringa O. et oignon pays) ont été apportées aux pieds des plants de tomates 2 fois par semaine pendant 4 semaines.



Figure 7 : Apport du traitement au pied d'un plant après plantation



Figure 8 : Aucun symptôme sur les plants de tomates

Au bout de 4 semaines, les observations n'ont montré aucun symptôme tel que : les tâches foliaires, brûlures des feuilles, difficultés de croissances des plants, le nombre de plans flétris. Ce qui implique que les différents extraits aqueux de *Moringa oleifera* et d'oignon pays n'ont pas eu d'effets de phytotoxicité sur les plants de tomates quelques soient la concentration apportée.

b-) Effet des extraits aqueux sur la biomasse des plants de tomates.

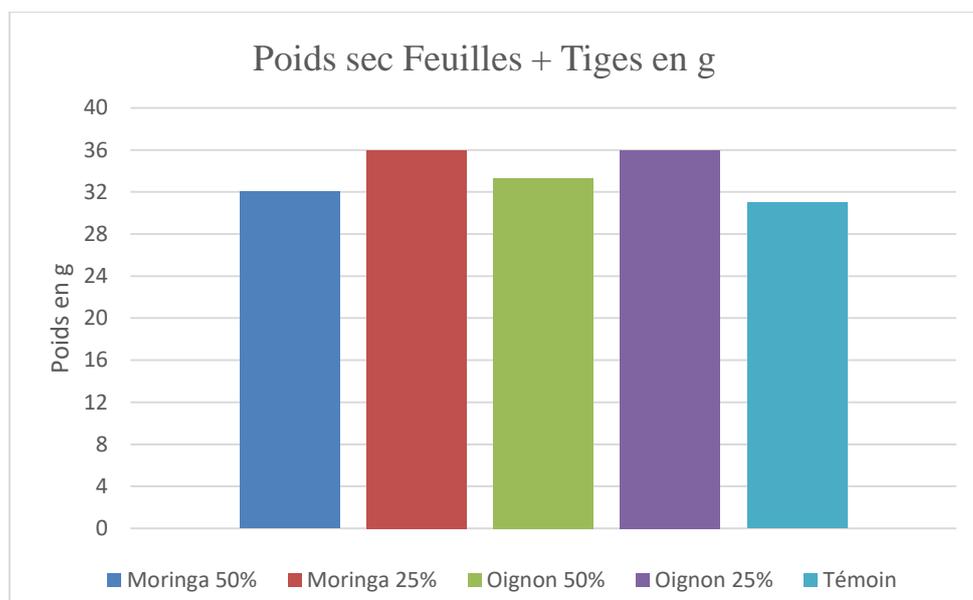


Figure 9 : Effet des extraits aqueux de *Moringa oleifera* et oignon pays sur la biomasse aérienne

Après les pesées des biomasses sèches, il ressort que les traitements de Moringa 25% et de l'oignon 25%, ont eu un effet bénéfique sur la biomasse aérienne des plants de tomates par rapport aux autres traitements et principalement par rapport au témoin. Moringa 25% et de l'oignon 25%, ont eu des effets de biostimulation sur la croissance des plants de tomates par rapport au témoin (+ 16%).

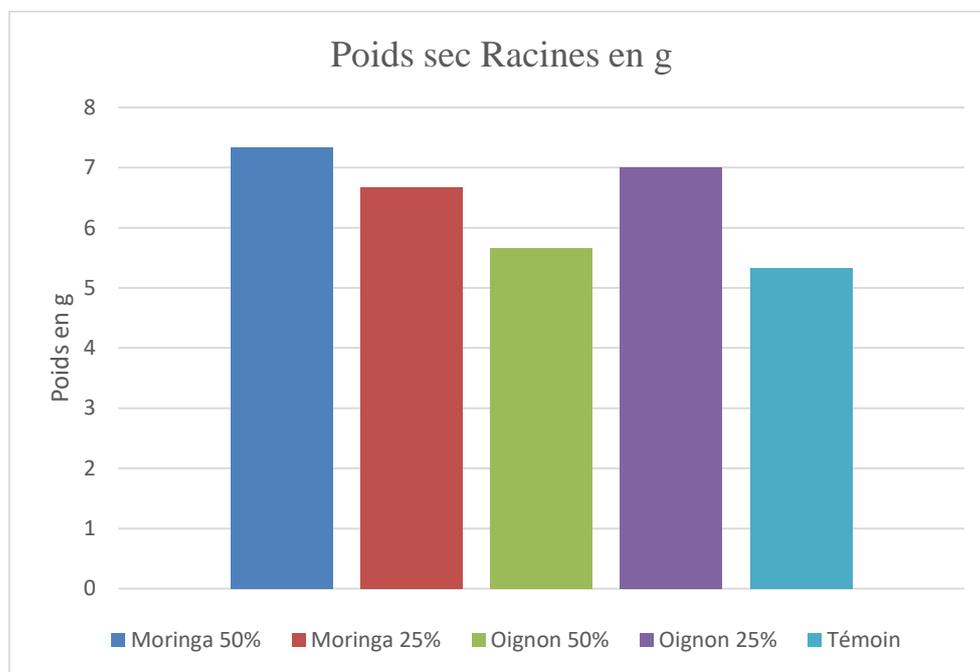


Figure 10 : Effet des extraits aqueux de *Moringa oleifera* et oignon pays sur la biomasse souterraine

Les résultats ont montré également un effet de biostimulation des extraits aqueux sur les racines des plants de tomates. Les racines des plants traités avec Moringa 50%, Moringa 25%, oignon 50%, oignon 25% ont eu un gain de poids respectivement +37,52%, +24,95%, +6,19%, +31,33% par rapport au témoin.

2. Résultats de l'essai sur le contrôle de *Ralstonia Solanacearum* par les extraits de *Moringa oleifera* et de l'oignon pays sur les plants de tomates.

Après infestation artificielle des jeunes plants de tomates par l'inoculum de *Ralstonia S.*, aucun symptôme sur les plants (plants flétris, plants morts, perte de vigueur, tâches des feuilles) n'a été observée pendant les trois semaines après l'inoculation y compris le témoin

positif (inoculé). Ce n'est qu'à partir de la 4^{ème} semaine après l'inoculation que certains plants ont commencée à flétrir.

a- Evaluation du nombre moyen de plants flétris au cours de l'essai.

Les résultats dans les conditions de cet essai ont montré une différence significative ($p < 0,05$) du nombre moyen de plants flétris, des différents traitements par rapport au témoin inoculé (nombre élevé de plants flétris). L'effet de l'oignon pays 25% est statistiquement équivalent au témoin non inoculé. L'oignon pays 50% et le Moringa 25% ont eu aussi un effet significatif sur le *Ralstonia s.* Ce dernier effet est statistiquement similaire à l'effet de Moringa 50% sur le *Ralstonia s.*

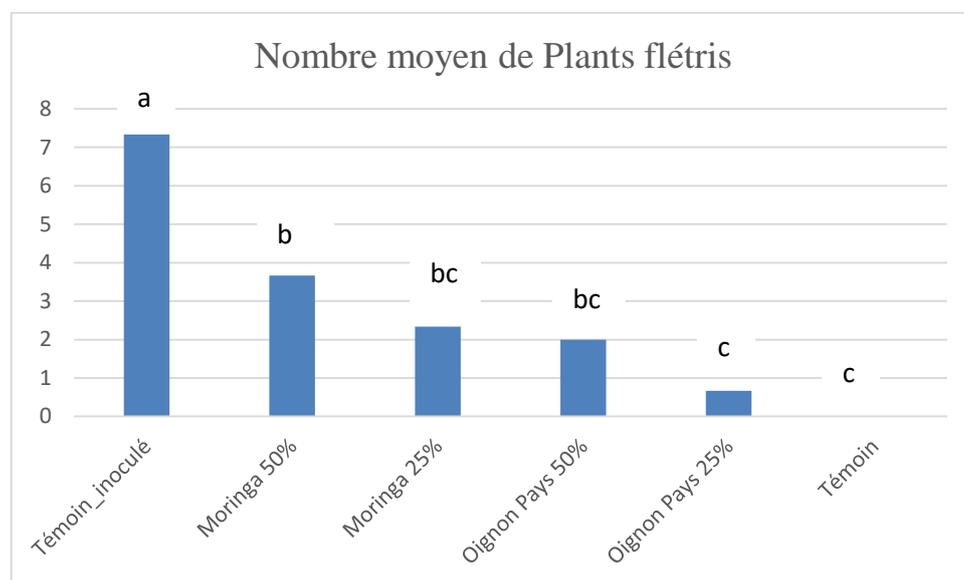


Figure 11 : Nombre moyen de plants flétris

b- Evaluation du nombre moyen de plants avec la perte en vigueur au cours de l'essai

Les résultats dans les conditions de cet essai ont montré une réduction significative ($p < 0,05$) du nombre moyen des plants en perte de vigueur de tous les traitements par rapport au témoin inoculé. Cette réduction est valable pour les deux extraits végétaux et les deux concentrations (50% et 25%). Le Moringa 50% est la modalité avec moins d'effet sur le *Ralstonia s.*

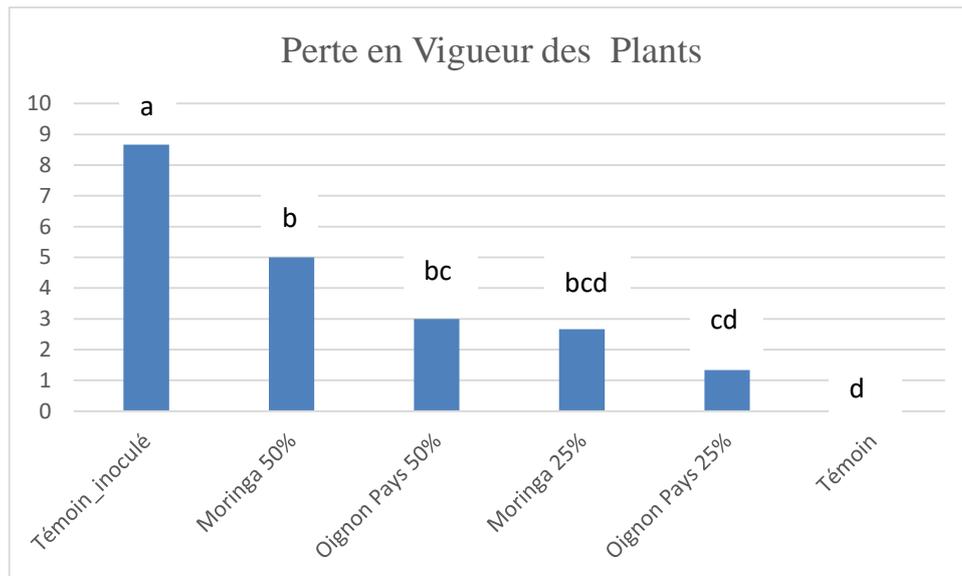


Figure 12 : Nombre moyen des plants en perte de vigueur

c- Evaluation du nombre moyen de plants avec les foliaires au cours de l'essai

Les résultats dans les conditions de cet essai ont montré aucune différence significative ($p < 0,05$) du nombre moyen des plants avec les tâches foliaires des différentes modalités.

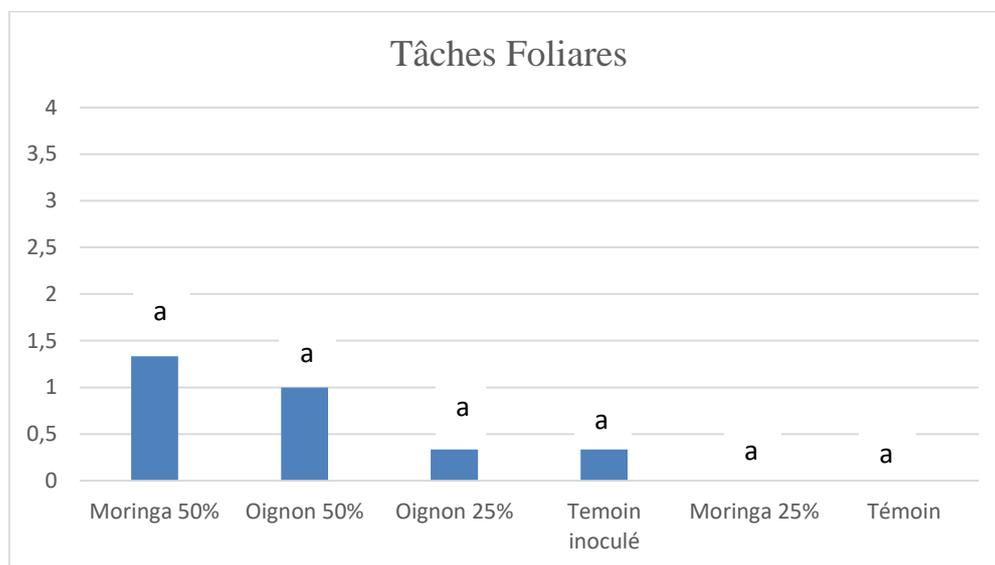


Figure 13 : Nombre moyen de plants avec les tâches foliaires

L'observation des différents symptômes (plants flétris, perte de vigueur, plants morts et les tâches foliaires) à partir de la 4^{ème} semaine après l'inoculation du *Ralstonia s.* dans les conditions de cet essai, peuvent s'expliquer par le changement de la phase de croissance des plants de tomates à la phase de floraison. Au cours de cette phase, les plants mobilisent plus d'effort pour leur nutrition hydrominérale et donc sont beaucoup plus sensibles aux attaques des microorganismes telluriques nuisibles parmi lesquelles figure *Ralstonia S.*

D'après les travaux de Smith, 1996 ; et de Yabuuchi *et al.*, 1996, la bactérie *Ralstonia S.* affectionne des températures tropicales entre 25°C et 35°C. Les conditions de températures (38°C à 45°C) sous serre fermée pendant la période estivale seraient donc défavorables pour les actions de la bactérie sur les plants de tomates. C'est qui explique les plants non flétris pendant les 3 premières semaines après l'inoculation des plants avec *Ralstonia s.*

Les racines des plants de tomates testées n'ont pas été assez blessées au préalable pour favoriser la pénétration des bactéries *Ralstonia S.* à travers les blessures. En plus, le terreau « Flora gard » à PH compris entre 5,4- 6,2, pourrait ralentir la propagation de la bactérie. Un mini test a été fait dans la même période, dans une chambre climatique avec un terreau de référence « Press Topf » qui est d'habitude utilisé pour les tests sur les effets de *Ralstonia S.* sur les plants de tomates. Il a été ressorti que la plante de tomate dans le terreau « flora gard » n'a pas flétris par rapport à la plante de tomate dans le terreau de référence (voir figure 14). Les deux terreaux ont été infesté artificiellement par *Ralstonia S.* au même moment.

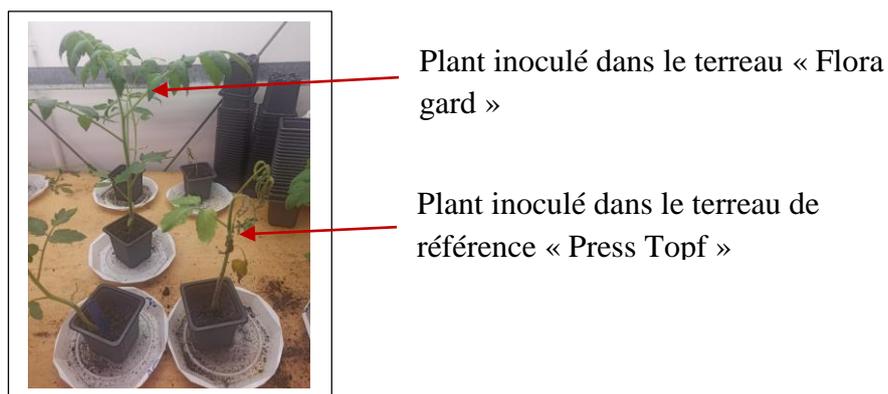


Figure 14 : Photo de comparaison de plant inoculé dans deux terreaux différents

L'oignon pays (*Allium fistulosum*) possède des composés soufrés volatiles insecticides et répulsifs tout comme l'Ail (*Allium sativum*) qui a déjà été testé sur certains phytophages comme la pyrale de la farine (Arnault et *al.*, 2005).

Conclusion

Les extraits aqueux de deux plantes de service à savoir : *Moringa oleifera* et *Allium fistulosum* (oignon pays) ont été testés sur les plantes de tomates. D'une part c'est pour évaluer la phytotoxicité de ces extraits végétaux sur les plants de tomates et d'autre part évaluer leurs effets sur le contrôle de la bactérie *Ralstonia solanacearum* responsable du flétrissement bactérien des solanacées. Il est ressorti en premier temps, que les extraits aqueux des plantes de service utilisées n'ont pas d'effet de phytotoxicité sur les plants de tomates. En second temps, l'oignon pays à 25% a eu globalement des effets positifs dans le contrôle de *Ralstonia solanacearum* par rapport aux autres traitements (Moringa 50%, Moringa 25%, Oignon 50%) qui ont quand même des effets sur *Ralstonia* s.

En perspectives, il sera intéressant de répéter cet essai avec d'autres plantes de services à potentiel assainissant tels que : *Raphanus sativus*, *Tagetes patula*, *Crotalaria spectabilis* qui sont des espèces qui ont montré *in vitro* leur efficacité sur la réduction de la population de *Ralstonia solanacearum*. Il faut donc mettre l'accent sur les pratiques de biocontrôles pour préserver l'environnement.

Cependant, aucun traitement curatif ne permet de contrôler totalement *Ralstonia solanacearum* à nos jours. Il est donc important de privilégier les méthodes prophylactiques afin d'éviter sa propagation.

Références bibliographiques

Articles scientifiques :

Admane, N., Cavallo, G., Hadjila, C., Cavalluzzi, M. M., Rotondo, N. P., Salerno, A., ... & Sanzani, S. M. (2023). Biostimulant Formulations and Moringa oleifera Extracts to Improve Yield, Quality, and Storability of Hydroponic Lettuce. *Molecules*, 28(1), 373.

Arnault I., André I., Diwo-Allain S., Auger J., Vey F., (2005). Propriétés des Alliés : Biodésinfection des sols maraîchers au moyen d'oignon et de poireau, , La défense des végétaux, Num 578

Arif, Y., Bajguz, A., & Hayat, S. (2023). Moringa oleifera extract as a natural plant biostimulant. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(3), 1291-1306.

Groshens, E. (2009). Recherche de plantes de services pour la gestion du flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum*: étude expérimentale du statut hôte et du pouvoir bactéricide d'espèces végétales candidates (Doctoral dissertation, AgroParisTech).

Sowley, E. N. K., Kankam, F., & Adomako, J. (2014). Management of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) on sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) with moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf powder. *Archives of phytopathology and plant protection*, 47(13), 1531-1538.

Sites internet :

<http://ephytia.inra.fr/fr/C/23093/Tropileg-Flétrissement-bactérien-R-solanacearum>