

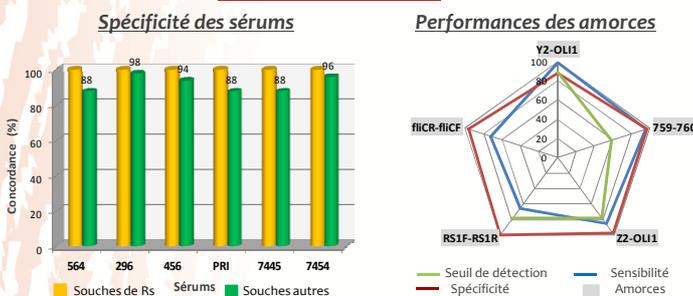
Objectifs

Ralstonia solanacearum est l'agent responsable de la pourriture brune sur pomme de terre et du flétrissement bactérien sur plus de 250 espèces végétales. A côté de sa large gamme d'hôtes, cette bactérie, classée sur la liste des parasites de quarantaine en Europe, présente une très grande diversité génétique et un fort pouvoir d'adaptation. Afin d'éviter son introduction et sa dissémination dans l'environnement, il est nécessaire d'avoir **des outils de caractérisation et de détection performants** ainsi que de **bonnes connaissances de la biologie et de l'épidémiologie** de cet agent pathogène.

Mise au point et optimisation des méthodes de détection (CASDAR 7124, 2008-2011)

- ✓ Les outils et méthodes utilisés doivent être sensibles, spécifiques et reproductibles ;
- ✓ Une évaluation des réactifs sérologiques et moléculaires a été menée dans le cadre du projet CASDAR 7124 ;
- ✓ Des méthodes de détection de *R. solanacearum* au sein de différentes matrices ont également été évaluées et optimisées.

• Evaluation de réactifs



- ➔ Les réactifs sérologiques présentent une très bonne spécificité en IF.
- ➔ Les amorces Z2-OLI1, RS1F-RS1R et Y2-OLI1 constituent de bons outils pour la détection par PCR des souches européennes de *R. solanacearum*.

• Seuils de détection des méthodes dans les matrices complexes

➔ Sur Eau :

Efficacité	Méthodes testées					
	Isololement sur SMSA	IF	CTAB	Easy DNA Kit	Dneasy Kit	E + PCR
100%	1,5.10 ⁴	1,5.10 ⁵	1,5.10 ⁵	1,5.10 ⁵	1,5.10 ³	1,5.10 ³
67%	-	-	1,5.10 ⁴	-	-	-

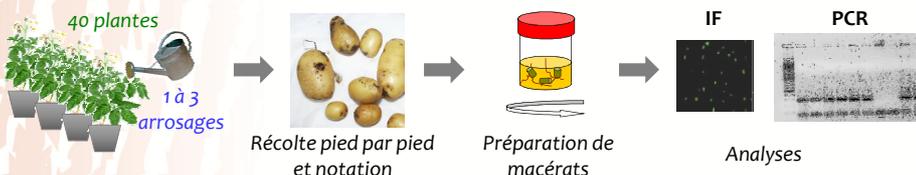
➔ Sur Plante :

Efficacité	Méthodes testées					
	IF	CTAB	Easy DNA Kit	Dneasy Kit	Qlamp	E + PCR
100%	8.10 ⁵	8.10 ³	8.10 ²	8.10 ⁵	8.10 ⁵	8.10 ³
67%	-	8.10 ²	-	8.10 ²	8.10 ²	-

- ➔ La bio PCR (E+PCR) est une méthode sensible pour la détection de RS dans l'eau et les plantes.

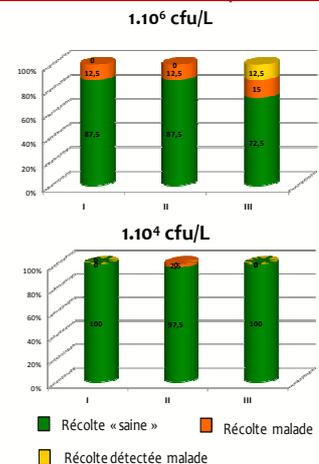
Evaluation du risque lié à l'arrosage de pomme de terre par une eau contaminée

- ✓ Essais conduits en conditions contrôlées (serre S2) dans du terreau stérilisé à la vapeur.
- ✓ Arrosages (1 à 3) de plantes de pomme de terre par 100 ml d'une eau artificiellement contaminée ; le 1^{er} arrosage contaminant est fait au stade émergence et les suivants à 15 jours d'intervalle.
- ✓ 2 concentrations bactériennes : 1.10⁴ et 1.10⁶ cfu/Litre.



- ➔ Des concentrations bactériennes de l'ordre de 1.10⁶ cfu/L d'eau sont contaminantes et ce dès un arrosage. Seule 1 plante a donné une descendance infectée par la bactérie après arrosage avec une eau contaminée à 1.10⁴ cfu/Litre.
- ➔ 80 % des tubercules fils infectés présentaient des symptômes. Les autres étaient apparemment sains mais ont été détectés positifs (contaminations latentes).
- ➔ Aucune différence significative de rendement n'a été observée sur la récolte. La bactérie a impacté la descendance en qualité mais pas en quantité dans ces conditions expérimentales.

% de plantes saines et malades par modalité



Perspectives

- ✓ Détection de *R. solanacearum* dans les boues et autres déchets verts ;
- ✓ Evaluation des outils PCR temps réel pour quantifier l'inoculum ;
- ✓ Evaluation du risque lié à l'arrosage avec une eau contaminée en utilisant du sol naturel et une fréquence d'arrosage de 1/semaine ;
- ✓ Travaux de recherche sur les techniques de traitements des eaux.