UNIVERSITÉ DU BURUNDI
GRENIER DU SAVOIR DU BURUNDI
Dépôt institutionnel officiel
https://repository.ub.edu.bi

Identification des champignons pathogènes pour la tomate et mise en place d'une lutte biologique pouvant minimiser les risques liés à l'utilisation des pesticides chimiques

NIMBONA, Vincent; Sous la direction de : Pr Venant NIHORIMBERE; Doctorant, Gaspard NIHORIMBERE, Msc

2022-04
UB, FACULTE D'AGRONOMIE ET DE BIO-INGENIERIE
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/1050

Document téléchargé depuis le **Grenier du Savoir du Burundi** — https://repository.ub.edu.bi

UNIVERSITE DU BURUNDI
FACULTE D'AGRONOMIE ET DE BIO-INGENIERIE
Département des Sciences et Technologie des Aliments

Identification des champignons pathogènes pour la tomate et mise en place d'une lutte biologique pouvant minimiser les risques liés à l'utilisation des pesticides chimiques

Par

Vincent NIMBONA

MÉMOIRE

Présenté en vue d'obtenir

LE DIPLOME DE MASTER

SPÉCIALITÉ : MASTER EN SCIENCES ET TECHNOLOGIE DES ALIMENTS
OPTION : GESTION DE LA QUALITE DES PRODUITS AGROALIMENTAIRES

Sous la direction de : **Pr Venant NIHORIMBERE**
Doctorant, Gaspard NIHORIMBERE, Msc

Bujumbura, Avril 2022

Membres du jury

Président : Pr. NZIGAMASABO Aloys

Secrétaire : Doctorant, NTEZIRYAYO Vincent, Msc

Membres : - Pr. NIHORIMBERE Venant

- Doctorant, NIHORIMBERE Gaspard, Msc.

Dédicaces

A Dieu Tout Puissant qui m'a répondu favorablement dans les difficultés rencontrées. Je peux témoigner que j'ai prié en secret et que la réponse m'est parvenue à la vue de tout le monde. Tu es celui qui est

A mes parents qui m'ont montré le chemin de l'école et m'ont assisté durant tout le parcours de ma formation

A mes frères et sœurs qui ont été proches de moi

A mes amis qui ont partagé avec moi certaines expériences

A tous ceux qui me sont chers

Je dédie ce mémoire.

Remerciements

Dans la vie courante comme dans la recherche, on ne peut pas faire grand-chose sans avoir de soutien. Je saisis donc cette occasion pour remercier vivement tous ceux qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Je tiens, premièrement, à exprimer ma gratitude à mon directeur de mémoire Pr. Venant NIHORIMBERE. Cher Professeur, je suis très reconnaissant d'avoir accepté de m'encadrer. Votre qualité de communiquer m'a réconforté. Votre encouragement m'a donné un souffle de plus dans les difficultés. Vos réponses instantanées à mes questions m'ont permis de prendre de bonnes décisions au bon moment. Les mots me manquent pour exprimer ma gratitude, seulement, ce que vous avez fait est un bon acte humain qui m'a permis d'avancer un pas préparant les autres pas. Je vous remercie encore plus, de m'avoir connecté avec Gaspard.

Je suis également reconnaissant envers Gaspard NIHORIMBERE, doctorant en phytopathologie à l'Université Catholique de Louvain, à sa contribution dans l'avancement de ce travail. Cher Gaspard, vous avez été près de moi durant ce travail malgré la distance qui nous séparait de temps en temps. Merci également de m'avoir mis en contact avec Dr Privat NDAYIHANZAMASO, le responsable du laboratoire de phytopathologie à l'ISABU. Cher Privat, vous m'avez beaucoup aidé et ça a vraiment touché mon cœur. Je vous remercie aussi de m'avoir mis en contact avec l'équipe, très gentille, de votre laboratoire. Merci à l'équipe.

Je ne peux pas rester indifférent face à la contribution du personnel du LAMSA. Je n'ai rien manqué parmi ce que vous étiez capables de faire. Vous m'avez rappelé un amour que je dois montrer aux autres ; vous avez été de bons parents, de bons exemples. Je vous en remercie.

Un grand merci à Pélagie NIMBONA et Emmanuel NKURUNZIZA qui ont accepté de fournir une solution standard depuis le laboratoire de chimie du CNTA.

Mes remerciements s'adressent aussi au personnel de l'IRRI où étaient conservées les bactéries à -80°C.

En ce qui est des travaux effectués au laboratoire de chimie de la faculté des sciences ; ma gratitude doit commencer par le doyen de la faculté qui a accepté ma demande d'accès au laboratoire pour enfin remercier tout le personnel du laboratoire de chimie.

Je remercie, globalement, tous ceux qui ont contribué dans l'accomplissement de ce travail. Vous êtes des humains ayant un caractère humanitaire. Vous avez fait des choses de valeur mais sans prix. Je ne peux que vous souhaiter les bénédictions émanant du Dieu Tout Puissant.

NIMBONA Vincent

Résumé

Les pesticides chimiques sont largement utilisés par les agriculteurs burundais pour lutter contre les maladies fongiques de la tomate. Les effets sanitaires de ces produits sont connus d'être non négligeables. Dans l'objectif d'avoir des produits alimentaires non contaminés, des méthodes alternatives de lutte sont utilisées. Le présent travail a fait des investigations sur l'efficacité des bactéries bénéfiques du genre Bacillus contre ces maladies de la tomate.

L'objectif de cette recherche est tout d'abord d'identifier les champignons pathogènes, pour la tomate, responsables des altérations en champ. Il vise ensuite à connaître si les fongicides pulvérisés sur les tomates peuvent être enlevés par le lavage à l'eau. En fin, des bactéries bénéfiques du genre Bacillus sont utilisées pour lutter contre l'une des maladies identifiées de la tomate.

(1) Un échantillon de tomates a été récolté à partir d'un champ traité avec différents pesticides (mancozeb, Eureka, Dithane, …). L'isolement sur le milieu PDA, des champignons qui colonisaient la chair de la tomate, a été effectué au LAMSA/Université du Burundi.

(2) Un échantillon de tomate a été collecté au marché de COTEBU pour analyser les résidus des pesticides. Cette analyse a été effectuée en utilisant la chromatographie sur couche mince (CCM).

(3) *Alternaria solani* a été confronté à *Bacillus nakamurai* et *Bacillus velezensis* QST 713 *in vitro* et *in vivo*. Les confrontations *in vitro* ont été réalisées au LAMSA et l'essai *in vivo* a été installé au centre d'innovation de l'ISABU à Mparambo, en province de Cibitoke.

Les résultats indiquent que : (1) *Fusarium sp*. et *Alternaria sp*. constituent les principaux champignons pathogènes pour la tomate ; (2) les résidus des pesticides restent présents sur la peau de la tomate, même après lavage; (3) sous les conditions qui régnaient à Mparambo, *B. nakamurai* était plus efficace contre *Alternaria solani* que *B. velezensis* QST 713. Cette efficacité de *B.nakamurai* contre *A. solani* a également été observée *in vitro*.

L'importance de l'effet de *B. nakamurai* par rapport à *B. velenzesis* QST 713 serait due à sa grande adaptabilité dans les conditions climatiques locales surtout qu'elle a été isolée dans les sols du Burundi alors que *B. velezensis* a été isolé en Europe. Cette bactérie (*B. nakamurai*) serait un bon candidat pour le contrôle de l'alternariose de la tomate au Burundi.

Mots clés : Champignons phytopathogènes, Pesticides chimiques, santé du consommateur, biocontrôle.

Abstract

Chemical pesticides are widely used by Burundian farmers to control fungal diseases of tomatoes. The health effects of these products are known to be significant. In order to have uncontaminated food products, control alternatives are used. The present work investigated the effectiveness of beneficial bacteria of the genus Bacillus against these tomato diseases.

The objective of this research is first of all to identify the pathogenic fungi for tomatoes which cause alterations in the field. It then aims to find out if the fungicides sprayed on the tomatoes can be removed by washing with water. Finally, beneficial bacteria of the Bacillus genus are used to fight against one of the identified tomato diseases.

(1) A sample of tomatoes was taken from a field treated with different pesticides (mancozeb, Eureka, Dithane…). The isolation on the PDA medium, of the fungi that colonized the flesh of the tomato, was carried out at LAMSA/University of Burundi.

(2) A tomato sample was collected at the COTEBU market to analyze pesticide residues. This analysis was carried out using Thin Layer Chromatography (TLC).

(3) *Alternaria solani* has been screened with *Bacillus nakamurai* and *Bacillus velezensis* QST 713 *in vitro* and *in vivo*. The *in vitro* confrontations were carried out at LAMSA and the *in vivo* test was installed in the ISABU innovation center at Mparambo, province of Cibitoke.

The results indicate that: (1) *Fusarium sp.* and *Alternaria sp*. are the main pathogenic fungi for tomatoes; (2) pesticide residues remain on tomato skin even after washing; (3) under the conditions prevailing at Mparambo, *B. nakamurai* was more effective against *Alternaria solani* than *B. velezensis* QST 713. This effectiveness of *B. nakamurai* against *A. solani* was also observed *in vitro*.

The importance of the effect of *B. nakamurai* compared to *B. velezensis* QST 713 would be due to its great adaptability in local climatic conditions, especially since it was isolated in the soils of Burundi while *B. velezensis* was isolated in Europe. *B.nakamurai* would be a good candidate for the control of tomato alternaria in Burundi.

Keywords: Phytopathogenic fungi, chemical pesticides, consumer health, biocontrol.

Table des matières

Membres du jury i
Dédicaces ii
Remerciements iii
Résumé iv
Abstract v
Table des matières vi
Liste des figures viii
Liste des tableaux viii
Liste des sigles et abréviations ix
Avant-propos x
Introduction ..... - 1 -
I. La culture de tomate ..... - 3 -
I.1 Généralités sur la tomate ..... - 3 -
I.1.1 Origine et historique de la tomate ..... - 3 -
I.1.2 Classification taxonomique de la tomate ..... - 3 -
I.1.3 Brève description botanique de la plante ..... - 3 -
I.1.4 Importance économique et nutritionnelle ..... - 4 -
I.1.5 Les exigences climatiques de la tomate ..... - 4 -
I.1.6 Cycle biologique de la tomate ..... - 5 -
I.1.7 Les pertes de tomates ..... - 6 -
I.2 Lutte phytosanitaire avec les pesticides chimiques ..... - 11 -
I.2.1 Introduction ..... - 11 -
I.2.2 Classification des fongicides selon leur mode d'action ..... - 13 -
I.2.3 Résistance aux antimicrobiens ..... - 13 -
II. Les pesticides chimiques, un risque pour la santé ..... - 14 -
0. Introduction sur les risques des pesticides ..... - 14 -
II.1 Quelques notions relatives à l'exposition aux résidus de pesticides via l'alimentation ..... - 15 -
II.1.1 La dose sans effet (DSE) et Dose journalier Admissible (DJA) ..... - 15 -
II.1.2 Apport journalier maximum théorique et Limite maximale des résidus ..... - 15 -
II.2 Types d'interaction des pesticides dans l'organisme ..... - 16 -
II.3 Effets pathologiques des pesticides sur la santé humaine ..... - 17 -
II.3.1 Les troubles endocriniens ..... - 18 -
II.3.2 Effets cancérogènes ..... - 19 -
II.3.3 Troubles neurologiques ..... - 19 -
III. La lutte biologique, un remède naturel à l'impact des pesticides chimiques ..... - 20 -

0. Introduction sur la lutte biologique ..... - 20 -
III.1 Mécanismes d'action des bactéries de contrôle biologique ..... - 21 -
IV. Matériel et méthodes ..... - 24 -
IV.1 Matériel utilisé ..... - 24 -
IV.2 Méthodes ..... - 25 -
IV.2.1 Identification des agents pathogènes ..... - 25 -
IV.2.2 Analyse des résidus des pesticides ..... - 27 -
IV.2.3 Evaluation de l'effet de biocontrôle de *Alternaria solani* par des bactéries bénéfiques ..... - 29 -
V. Résultats ..... - 33 -
V.1 Identification des pathogènes majeurs de la tomate ..... - 33 -
V.2 Analyse des résidus des pesticides sur les fruits de tomate ..... - 34 -
V.3 Evaluation de l'effet des bactéries bénéfiques pour le contrôle de *Alternaria solani* de la tomate ..... - 35 -
V.3.1 Test de confrontation *in vitro* ..... - 35 -
V.3.2 Essai au Champ ..... - 35 -
VI. Discussion des résultats ..... - 38 -
VI.1 Identification des pathogènes majeurs de la tomate ..... - 38 -
VI.2 Analyse des résidus des pesticides ..... - 39 -
VI.3. Evaluation de l'effet des bactéries bénéfiques pour le contrôle de *Alternaria solani* de la tomate ..... - 40 -
VI.3.1. Test de confrontation *in vitro* ..... - 40 -
VI.3.2 Essai *in vivo* ..... - 40 -
VII. Conclusion et recommandation ..... - 41 -
Références bibliographiques ..... - 42 -

Liste des figures

Figure 1 : Symptômes et conidies de *Alternaria solani* ..... - 8 -
Figure 2 : Symptômes de la fusariose causée par *Fusarium oxysporum* sur la tomate..... - 10 -
Figure 3 : Conidies de *Fusarium oxysporum* ..... - 10 -
Figure 4 : Tomates portant des taches de pesticides en vente au marché de Gasenyi - Bujumbura ..... - 12 -
Figure 5 : Tomates portant des taches de pesticides en vente au marché de COTEBU..... - 12 -
Figure 6 : Photo des conidies de *Fusarium sp.* ..... - 33 -
Figure 7 : Photo de *Alternaria sp.* ..... - 34 -
Figure 8 : Confrontations in vitro de *Alternarai solani* contre *B. nakamurai* et *B. velezensis* ...- 35 -
Figure 9 : Croissance de *Alternaria solani* face à *Bacillus nakamurai* et *Bacillus velezensis* QST 713. ..... - 35 -
Figure 10 : Evolution de la sévérité de l'alternariose de la tomate en fonction du temps .. - 36 -
Figure 11 : AUDPC de *Alternaria solani* face à *Bacillus nakamurai* et *Bacillus velezensis* QST 713 ..... - 36 -

Liste des tableaux

Table 1 : Niveau d'élution du composé standard et celui des échantillons à analyser..... - 34 -
Table 2 : Comparaison par paire entre les traitements selon le test de Wilcoxon..... - 37 -

Liste des sigles et abréviations

%	: Pour cent
°C	: Degré Celsius
AUDPC	: Area under the disease progress curve
BCAs	: Biological Control Agents
BPA	: Bonnes Pratiques Agricoles
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
CDP	: Clinique des plantes
cm	: centimètre
COTEBU	: Complexe Textile du Burundi
DJA	: Dose Journalière Admissible
DO	: Densité Optique
EFSA	: European Food Safety Autority
EPA	: Environmental Protection Agency
FABI	: Faculté d'Agronomie et de Bio-Ingénierie
FAO	: Food and Agriculture Organization
g	: gramme
GC	: Gaz Chromatography
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
HRAC	: Herbicide Resistance Action Committee
INPN	: Inventaire National du Patrimoine Naturel
ISHS	: International Society for Horticultural Science
ISABU	: Institut des Sciences Agronomiques du Burundi
ITIS	: Integrated Taxonomic Information System
IUPAC	: International Union of Pure and Applied Chemistry
L	: litre
LAMSA	: Laboratoire d'Analyses Microbiologiques et de Sécurité des Aliments
LB	: Luria Bertani
LBA	: Luria Bertani Agar
m	: mètre
ml	: millilitre
mm	: millimètre
OGM	: Organisme Génétiquement Modifié
PDA	: Potato Dextrose Agar
pH	: Potentiel d'Hydrogène
Rf	: Retention factor (Rapport frontal : traduction abusive française)
S.F	: Sénat Français
T	: Tone
UB	: Université du Burundi

Avant-propos

Au cours de ce mémoire, nous mettons en relation la lutte chimique contre les champignons pathogènes pour la tomate, la présence des résidus des pesticides dans les tomates vendues et l'exposition de la santé humaine. Ce travail procédera ainsi à la proposition d'une alternative de lutte biologique permettant d'éviter la présence des résidus des pesticides chimiques dans la tomate/fruit. En effet, ces résidus sont connus depuis longtemps comme étant à l'origine des maladies pour la santé de l'homme et des problèmes pour l'environnement.

Comme activités, ce travail procédera d'abord à l'isolement des champignons pathogènes pour la tomate dans les fruits mûrs. La deuxième activité consistera à analyser qualitativement les résidus dans les tomates prêtes à être consommées. In fine, ce travail comparera l'effet de biocontrôle de *Bacillus nakamurai* (souche autochtone) à celui de *Bacillus velezensis* QST 713 (souche commercialisée dans certains pays développés) comme alternative à la lutte chimique.

Les contraintes n'ont pas manqué. Nous avions prévu d'analyser quantitativement les résidus des pesticides avec des équipements avancés (HPLC ou GC) et un échantillon de tomate a été envoyé en Belgique pour y être analysé et les résultats ne sont pas encore disponibles. Nous avons dû recourir aux équipements disponibles localement (CCM).

Ce travail est constitué par deux parties principales, à savoir :

1. La revue bibliographique, qui comprend trois chapitres dont (i) la culture de tomate ; (ii) usage des pesticides chimiques, un risque pour la santé ; et enfin (iii) la lutte biologique, un remède naturel à l'impact des pesticides chimiques. Dans le chapitre culture de tomate, nous montrons les généralités sur la culture de tomate et les raisons conduisant les agriculteurs à appliquer les pesticides. Le deuxième chapitre traite de l'impact de ces pesticides utilisés en champ sur la santé humaine. Le troisième chapitre, quant à lui, parle des travaux de recherche déjà menés sur l'utilisation des biopesticides comme alternative à la lutte chimique.
2. La partie pratique comprend quatre chapitres dont (i) matériel et méthodes ; (ii) résultats ; (iii) discussion des résultats ; (iv) Conclusion et recommandations. Dans le premier chapitre de cette deuxième partie, nous montrons le matériel et la méthodologie utilisée pour (1) isoler les champignons pathogènes dans les fruits de tomates mures ; (2) analyser les résidus des pesticides dans la tomate ; (3) évaluer le niveau de biocontrôle offert par *Bacillus nakamurai* et *Bacillus velezensis* QST 713 contre *Alternaria solani*. Dans le deuxième chapitre, nous montrons les résultats obtenus en utilisant chacune des méthodologies précédemment énumérées. Le troisième chapitre discute des résultats obtenus dans le deuxième chapitre pour enfin donner une conclusion et émettre des recommandations dans le quatrième chapitre.

Introduction

La tomate est après la pomme de terre, le légume le plus consommé dans le monde (Laterrot, 2013). L'utilisation des pesticides chimiques permet d'aboutir à de grande production de cette culture (de Córdova & Martínez, 2021). Or, l'utilisation des pesticides devrait tenir compte certaines connaissances car, si on prend l'exemple des fongicides, ils ont plusieurs modes d'action et plusieurs types de classification (Leroux, 2003).

La vigilance dans l'emploi des fongicides s'avère plus que nécessaire, surtout que leur utilisation peut aller jusqu'à plus de 50% des pesticides utilisés dans certains pays (S.F., 2021) ce qui justifie leur place importante dans la lutte chimique contre les maladies des plantes (Leroux, 2003).

Au Burundi, le mancozeb est le fongicide le plus fréquemment utilisé par les agriculteurs dans le traitement des tomates qui sont cultivées par plus de 80% d'agriculteurs burundais sur une superficie moyenne de 11,5 ares par ménage (Ministère de l'agriculture et de l'élevage & la FAO-Burundi, 2013). Malheureusement, comme rapporté par Nimpagaritse (2019) qui précise que les prix des fruits et légumes varient considérablement en fonction des saisons, au Burundi, les tomates ne sont produites en grande quantité que durant la saison sèche. Par contre, durant la saison des pluies, suite aux conditions de température et d'humidité (Rurema, 2019) qui coïncident avec les préférences des champignons pathogènes pour la tomate (Blancard, 2013 ; Loiseau, 2010 ; Hamini, 2011), les tomates deviennent donc malades et les agriculteurs n'ont pas d'autre choix qu'appliquer les pesticides pour les traiter. Niyongere *et al.* (2015) ont montré que l'application des pesticides sur les tomates au Burundi est faite deux fois par semaine par plus de 40% d'agriculteurs alors que l'application devrait être faite une fois les deux semaines environ, d'après les informations marquées sur les emballages. Okonya *et al.,* 2019, quant à eux, ont montré que les agriculteurs burundais appliquent les pesticides même sur les fruits de tomates prêts à être récoltés en essayant de limiter les pertes causées par les maladies. D'où les grosses taches de pesticides sur les tomates vendues dans les différents marchés de Bujumbura, surtout durant la saison des pluies. Cela étant, la mauvaise utilisation de ces pesticides laisse leurs résidus dans les produits de récolte (Arias *et al.,* 2013). Ces résidus de pesticides sont également retrouvés dans le sol, l'eau et dans l'air (de Córdova & Martínez, 2021) malgré leurs effets néfastes sur la santé humaine et environnementale (Marete et *al.,* 2020).

Des recherches déjà réalisées ont montré qu'il est possible de contourner ces conséquences liées à l'utilisation des pesticides chimiques en recourant aux biopesticides, qui sont soit des microorganismes (Shoda, 2000 ; Abbas et *al.*, 2019) soit des extraits des plantes (Mohammed, 2017) dans la protection des cultures. Toutefois, contrairement aux microorganismes qui se retrouvent dans différentes niches écologiques comme le sol, l'eau et l'air (Shoda, 2000 ; EPA, 2012) et que l'on peut isoler et multiplier, les extraits des plantes exigent l'exploitation des végétaux malgré que les substances actives puissent représenter moins de 1% de la masse végétale (Mohammed, 2017). Cela indique l'importance de privilégier l'utilisation des microorganismes en vue de préserver les végétaux qui sont nécessaires à l'environnement.

Dans l'objectif de promouvoir la lutte biologique considérée comme ayant moins de risques sur l'environnement et la santé humaine, beaucoup de pays ont développé des politiques et des lois diverses encourageant l'utilisation de biopesticides (Arora et *al*., 2016 ; Ministère français de l'agriculture et de l'alimentation, 2020) à action spécifiques (Arora et *al.*, 2016), écologiques et efficaces contre les maladies et ravageurs (Gupta et Dikshit, 2010).

C'est peut-être dans ce sens qu'il y a des firmes de production des agents de biocontrôle qui ont commencé à être installés en Afrique en vue de satisfaire les demandes locales en BCAs (Kesse-Guyot et *al.*, 2013). Ces firmes produisent plus particulièrement les bactéries du genre Bacillus (Kulimushi, 2017) qui est un genre de bactérie le plus représentatif et le plus étudié de tous les BCAs (Demeule, 2020) en raison des avantages qu'elles offrent surtout dans les analyses génétiques et leur aptitude à produire des composés fongicides, insecticides et antimicrobiens différents (Shoda, 2000, Pérez-Garcıá et *al.*, 2011), et leur capacité à induire des réponses de croissance et de défense chez la plante hôte (Pérez-Garcıá et *al*., 2011 ; Abbas et *al*., 2019). Toutefois, ces bactéries n'ont pas tous la même efficacité et n'offrent pas le même niveau de biocontrôle. Shafi *et al*. (2017) suggèrent qu'il reste toujours nécessaire de chercher de nouvelles souches plus performantes en vue de remplacer les pesticides chimiques.

Ce travail de mémoire de master réalisé dans le cadre du projet de recherche pour le développement (PRD 2019 Burundi) a pour objectif principal de proposer un moyen alternatif de la lutte chimique contre les maladies de la tomate. Les objectifs spécifiques sont : (1) identification des pathogènes majeurs de la tomate cultivée dans la plaine de l'Imbo ; (2) Mise en évidence des pesticides chimiques les plus utilisés pour lutter contre les maladies de la tomate ; (3) évaluation du comportement des pesticides utilisés sur le fruit de la tomate (4) proposition des solutions pouvant réduire les résidus de pesticides dans les fruits de tomate.

Revue de la littérature

I. La culture de tomate

I.1 Généralités sur la tomate

I.1.1 Origine et historique de la tomate

La tomate prend son origine entre le Mexique et la côte Ouest de l'Amérique du sud, dans une zone délimitée à l'Est par les contreforts des Andes et s'étalant du sud de la Colombie au nord du Chili. Après son introduction en Espagne au 16è siècle, la tomate a été diffusée en Afrique où elle s'est rapidement répandue (De Lannoy, 2001).

I.1.2 Classification taxonomique de la tomate

La classification de la tomate proposée par Linné est la suivante :

Règne : *Plantae*
Division : *Magnoliophyta*
Classe : *Magnoliopsida*
Ordre : *Solanales*
Famille : *Solanaceae*
Genre : *Solanum*
Espèce : *Solanum lycopersicon* (Spooner *et al*., 1993)

Ce nom scientifique « *Solanum lycopersicon* » signifie « pêche de loup » (de lucos : loup, et persica : pêche) (Petit, 2014) mais Miller a affiné cette classification en donnant à la tomate le nom latin de *Lycopersicon esculentum* pour une reconnaissance comme plante alimentaire, puisque *esculentum* désigne le caractère comestible (Toufouti, 2013).

I.1.3 Brève description botanique de la plante

La tomate est une plante potagère herbacée, annuelle buissonnante, poilue, aux tiges grimpantes de taille variant entre 40cm et 5m selon les variétés. La germination est épigée. Les cotylédons ont parfois du mal à sortir des téguments, ce qui peut entrainer des déformations de plantules et faciliter la transmission de virus.

Le système racinaire est très ramifié et est très actif aux environs de 35 premiers centimètres avec la possibilité d'atteindre 1m dans les sols profonds.

La tomate est cultivée pour ses fruits de formes et de couleurs variées. Le fruit est une baie charnue à placentation centrale. L'épiderme, lisse et brillant, peut présenter, sur les fruits mûrs,

des couleurs différentes selon la variété. La taille et les poids des fruits diffèrent aussi selon les variétés et vont respectivement de 1.5cm à plus de 10cm de diamètre et de 1 gramme à 1 kilogramme (Toussaint & Baudoin, 2010).

I.1.4 Importance économique et nutritionnelle

La tomate est, après la pomme de terre, le légume le plus consommé dans le monde. Elle est cultivée sous toutes les latitudes dans des conditions très variées (climats, modes de production) (Laterrot, 2013). Mais cela n'a pas été le cas depuis fort longtemps car, auparavant, on pensait que la tomate était toxique (Bénard, 2009). Occupant, à lui seul, le quart du marché de tomates dans le monde, le commerce de tomate industriel atteint un chiffre d'affaire de 10 milliards de dollars américains (Fabre, 2020).

Au Burundi, bien qu'il y ait un manque des données, nous avons pu trouver que la tomate est, après les amarantes, la deuxième culture la plus cultivée. Elle occupe, à elle seule, une superficie de 11.5 ares par ménage et est cultivée par plus de 80% d'agriculteurs (Ministère de l'agriculture et de l'élevage & la FAO-Burundi, 2013).

I.1.5 Les exigences climatiques de la tomate

Beaucoup de facteurs (Température, humidité, lumière, air, eau, fertilisant, pH du sol, etc) (Caron, 2018) peuvent influer sur la croissance d'une culture de tomate mais nous allons considérer ceux qui sont en lien avec les facteurs de croissance des microorganismes (champignons phytopathogènes surtout) qui sont susceptibles de causer des dommages à la production des tomates : Température et l'humidité relative.

I.1.5.1 Température

Gosselin et Trudel (1984) ont montré l'influence de la température sur le système racinaire, la croissance de la tomate (végétation) et même sur le rendement de la tomate. Leurs résultats ont montré que les tomates développent beaucoup le système racinaire à basse température tandis qu'une végétation élevée et les plus hauts rendements sont obtenus aux environs de 25°C. Cette température optimale a aussi été rapportée par Caburet *et al.* (2014) dans memento de l'agronome.

I.1.5.2 Humidité

Dans leur étude réalisée sur l'influence d'intrants innovants sur les propriétés du sol et la production de tomate et d'aubergine, Konfe et *al.* (2019) ont trouvé que les taux d'humidité du sol, sous culture de tomate, peuvent aller de 10 % à 19 % dépendamment de la variété. Quant à l'humidité atmosphérique, elle est d'environ 76 % lors de la germination, 75- 80% durant le développement en pépinière, 70-80 % lors du développement végétatif, 60-80 % durant la floraison et 60-70 % pendant le développement des fruits (Kansie, 2017).

I.1.6 Cycle biologique de la tomate

Le cycle de la tomate est très variable, sa durée totale moyenne est de 130 jours pour les différentes variétés (FAO, 2012). Il comprend les étapes suivantes :

1) Germination

La germination est le stade de levée conduisant la graine à la jeune plantule capable de croitre normalement. Une température ambiante d'environ 20°C et une humidité relative de 70 à 80 % sont nécessaires pour la germination (Bachir, 2017).

2) Croissance

La croissance de la tomate peut être déterminée ou indéterminée. Pour le premier cas (croissance déterminée), la croissance se poursuit jusqu'à ce que les extrémités des tiges ne produisent plus des fleurs, d'où l'allongement impossible. Le nombre d'inflorescence est déterminé. La récolte est groupée dans le temps et dans l'espace. Pour le second cas (croissance indéterminée), il y a une récolte prolongée et plus tardive. Le haut de la tige s'allonge de façon régulière car la plante produit continuellement une nouvelle pousse ainsi que de nouvelles feuilles et inflorescences. On peut avoir donc de nombreuses générations de fleurs et de fruits et les plants peuvent atteindre plusieurs mètres de longueur (Laure, 1994).

3) Floraison

C'est le développement des ébauches florales par transformation du méristème apical de l'état végétatif, à l'état reproducteur. A un certain moment de la croissance de la plante qui dure environ un mois, la tomate produit des fleurs. Ces fleurs étaient auparavant des boutons floraux. La floraison dépend de la photopériode, de la température et d'un apport équilibré en éléments nutritifs (Bachir, 2017).

4) Pollinisation

La pollinisation peut être assurée par des bourdons d'élevage (*Bombus spp*.), des colonies d'abeilles mellifères (*Apis mellifera*, *Amegilla chlorocyanea* et *A. holmesi*), d'abeilles sauvages (*Xylocopa olivacea*, *Amegilla sp*., *Halictus* sp. et *Hylaeus sp*.) (Toni et Djossa, 2019) mais aussi les syrphes et les papillons le peuvent également **(**Hodgson et Cadorette, 2019). Toutefois, la bibliographie montre aussi que les tomates peuvent s'autopolliniser. Ainsi, Toni et Djossa (2019) ont montré une différence sur les qualités, le poids, le diamètre des fruits obtenues entre les tomates pollinisées par les insectes et les tomates autopollinisées. Ainsi, ils ont trouvé que les abeilles pouvaient améliorer le taux de fructification de 6 à 29 % environ, le poids de 26 à 28g environ et le diamètre médian de 3,55 à 3,66cm environ. Le taux de fructification a augmenté du simple au quintuple.

5) Fructification

La fructification désigne la formation ainsi que la production du fruit depuis sa conception jusqu'à sa maturité (CCB Benchmark, 2021). La tomate a besoin d'une humidité atmosphérique de 60 à 70% pendant le développement des fruits (Kansie, 2017).

6) Maturation du fruit

La tomate est un fruit climactérique c'est-à-dire dont le processus de maturation se caractérise par une émission autocatalytique de l'éthylène associée à une crise respiratoire (crise climactérique). Une fois la capacité de répondre à l'éthylène acquise, ils ont la propriété d'autonomie de maturation (Mbeguie-a-mbeguie, 2013). Toutefois, la maturation excessive conduit à la pourriture/perte du fruit.

I.1.7 Les pertes de tomates

Les pertes de la tomate peuvent avoir lieu au niveau du champ comme elles peuvent survenir après la récolte ou lors de la conservation. Mais pour notre cas, nous allons nous borner sur les maladies et ravageurs qui sont les principales causes des pertes au niveau du champ (FAO, 1983).

Il importe de signaler que les maladies observées au niveau du champ peuvent être à l'origine des pertes post-récoltes surtout que les mauvaises décisions prises en amont de la chaîne de production peuvent réduire la durée de conservation du produit, même dans des conditions optimales de stockage (FAO, 2019) ce qui peut nuire à la qualité des aliments destinés à la consommation humaine.

I.1.7.1 Les ravageurs

Selon Trottin-Caudal *et al.* (1995), les principaux ravageurs sont : la noctuelle de la tomate ; l'acariose bronzée ; les nématodes à galles, surtout sur les sols sableux ; les insectes ; thrips ; punaises ; pucerons.

Toutefois, l'expérience a montré que tous les insectes qui piquent et qui sucent, tels que les thrips, les pucerons, et les mouches blanches, ne provoquent des dommages mécaniques que lorsqu'ils surviennent en grands nombres, mais les virus qu'ils peuvent transmettre, provoquent des dommages bien plus importants (Toufouti, 2013).

I.1.7.2 Les maladies fongiques de la tomate

Il existe beaucoup de champignons qui sont pathogènes pour la tomate et qui peuvent provoquer des dommages à différents stades de croissance, sur les différentes parties (racines, collet, tiges, feuilles et même le fruit). Ainsi, on observe *Alternaria solani*, *Phytophthora parasitica*. *Fusarium solani.* et *Rhizoctonia solani* en pépinière. Après repiquage, les champignons qui envahissent la tomate sont *Pyrenochaeta Zycopersici, Colletotrichum coccodes, Rhizoctonia bataticolu, Fusarium solani, Rhizoctonia solani* au niveau des racines, *Phytophthora parasitica, Sclerotinia sclerotiorum, Colletotrichum coccodes, Corticium rolfsii, Alternaria sp., Fusarium sp., Rhizoctonia solani* au niveau du collet (Davet *et al.*, 1972). Mais aussi *Phytophthora infestans, Botrytis cinerea, Alternaria solani* (Sainte-Agathe, 2020) sur les parties aériennes. Toutefois, il existe des champignons qui attaquent les racines mais qui peuvent se retrouver dans le fruit ; l'exemple le plus courant est celui de *Fusarium spp.* (Rakotoarimanga *et al*., 2014). Pour notre cas, nous allons nous intéresser aux maladies causées par les deux derniers champignons évoqués précédemment.

1. Altérnariose de la tomate

Pouvant être causée par différents champignons du genre Altenaria (Bessadat, 2014) dont *Altenaria alternata, Altenaria solani, A. tenuissima , A. arborescens, A. tomatophila.* L'altérnariose est l'une des principales maladies de la tomate pouvant affecter toutes les parties de la tomate à tous les stades de développement (Davet *et al.*, 1972 ; Sainte-Agathe, 2020). Toutes ces espèces partagent la même taxonomie jusqu'au genre :

- Domaine : Biota
- Règne : Fungi
- Phylum : Ascomycota
- Classe : Dothideomycetes

- Ordre : Pleosporales
- Famille : Pleosporaceae
- Genre : Alternaria (INPN, 2020$_a$)

L'altérnariose est caractérisée par l'apparition de taches noires arrondies à la surface des feuilles, des tiges et des fruits. Ces taches sont caractérisées par une croissance en anneaux concentriques, donnant aux lésions une forme de cercle (Loiseau, 2010). Le champignon libère des conidies lorsqu'il règne des conditions atmosphériques sèches. Par contre, la sporulation est déclenchée quand les conditions atmosphères sont humides et chaudes (Ooreka, 2020).

Les spores de Alternaria se conservent dans le sol, sur les reliquats des cultures malades et sont capables de survivre plus d'une année dans le sol ou à sa surface. Son mode de dissémination est par le vent et la pluie (CDP, 2016).

L'infection à *Alternaria spp*. est due à la projection de spores sur la plante par le vent, la pluie ou directement par contact entre les feuilles et le sol. La germination des spores et l'infection nécessitent la présence de l'eau libre (Loiseau, 2010). Une pluie légère suffit pour déclencher la contamination qui s'effectue à des températures comprises entre 18°C et 25°C. La propagation rapide de la maladie est ensuite dépendante de la fréquence des rosées matinales ou des précipitations. Ensuite les spores issues des taches déjà formées propagent la maladie sur les autres plants (CDP, 2016).

La figure 2 montre les Symptômes de *Alternaria solani* sur *Solanum tuberosum* (même famille que la tomate) (A) et les conidies de *Alternaria solani* (B) qui infectent la plante pour enfin causer des symptômes.

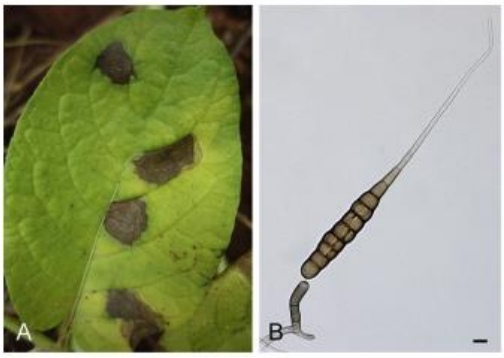


Figure 1 : Symptômes de l'alternariose et conidies de *Alternaria solani*
Source : CDP, 2016

2. Fusariose de la tomate

Pouvant être causée par *Fusarium oxysporum lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (IRIIS, 2021), *Fusarium solani et Fusarium spp.* (Davet *et al.*, 1972). La taxonomie de l'agent causal de la fusariose est la suivante :

- Domaine : Biota
- Règne : Fungi
- Classe : Sordariomycetes
- Ordre : Hypocreales
- Famille : Nectriaceae
- Genre : Fusarium (INPN, 2020_b)

Fusarium spp. survit sur les débris de plantes, dans le sol, en forme de chlamydospores. La germination de ces derniers est déclenchée par des substrats organiques ou exsudats racinaires, d'où la formation du mycélium. En présence d'une plante hôte, ce mycélium envahit les racines suite à la pénétration de l'épiderme. Les hyphes mycéliens progressent inter et intra cellulairement et colonisent le cortex jusqu'au niveau du cylindre central où le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème d'où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des microconidies aisément véhiculées par la sève (Hamini, 2011).

Dès que les symptômes apparaissent, ils se manifestent comme suit (Duval, 1991) :

- Brunissement des racines et des vaisseaux situés au niveau du pivot et du collet ;
- Chancre brun se développant sur le collet et la tige.
- Système racinaire bruni et pourri
- Feuilles supérieures fanent avant les feuilles inférieures et il y a décoloration jaune ou doré.
- Les fruits n'ont pas leur brillance normale.

La figure 2 montre les symptômes de la fusariose causés par *Fusarium oxysporum* : (1) le chancre brun foncé du collet ; (2) le jaunissement et flétrissement des feuilles ; (3) la pourriture des racines et du collet ; (4) plant témoin (sain) (Mohammed, 2017). La figure 3, quant à elle, montre les conidies de *Fusarium oxysporum* comme présenté par Tivoli, 1988.



Figure 2 : Symptômes de la fusariose causée par *Fusarium oxysporum* sur la tomate



Figure 3 : Conidies de *Fusarium oxysporum*

Source: Tivoli, 1988

I.2 Lutte phytosanitaire avec les pesticides chimiques

I.2.1 Introduction

Les pesticides sont des substances utilisées pour lutter contre des organismes nuisibles. Dérivé du latin pestis (fléau) et caedere (tuer), ils visent plusieurs cibles d'où dérivent leurs noms : insecticides (contre les insectes), rodenticides (contre les petits rongeurs), herbicides ou désherbants, fongicides (contre les champignons), acaricides, nématicides (contre les vers), molluscicides (contre les limaces) (Leveau, 2016).

La lutte chimique contre les agents phytopathogènes concerne essentiellement les champignons responsables des maladies fongiques des plantes. Suite à leur importance dans l'agriculture, plusieurs critères de classifications des fongicides ont été proposés. Ainsi, on peut trouver la classification des fongicides en fonction de leurs modes d'action biologique (exemple : préventif/curatif), de leurs comportements dans les plantes (exemple : contact, systémique), de leurs structures chimiques et enfin la classification des matières actives selon leur mode d'action biochimique (Leroux, 2003).

Vu l'ampleur de la croissance de l'utilisation des pesticides dans l'agriculture, les gouvernements ont procédé à l'élaboration des réglementations sur la commercialisation et l'utilisation de pesticides afin d'empêcher des produits chimiques aux propriétés inacceptables d'être introduits sur le marché (FAO, 2017), surtout que l'usage abusif des pesticides peut entraîner, d'une part, le développement de souches fongiques résistantes et, d'autre part, des risques pour l'homme, les organismes non cibles (Leroux, 2003) et pour l'environnement (Deuse et *al*., 1996).

Deuse *et al.,* (1996) ont rappelé que l'application des pesticides dans les pays en voie de développement souffre souvent du manque de connaissances techniques et scientifiques ce qui conduit à utiliser des produits interdits d'usage dans les pays industrialisés (LFDA, 2002) avec comme conséquences la mise en danger de la santé humaine, animale et de l'environnement. L'exemple le plus proche, qui ne date pas de longtemps, est celui des agriculteurs burundais qui appliquaient et/ou appliquent des pesticides sur les tomates prêtes à être mises sur le marché pour allonger leur durée de vie (Lisa, 2016).

Par ailleurs, au Burundi, il est connu que les stocks des produits chimiques périmés ou gérés de façon inappropriée existent. L'importation, la commercialisation et l'utilisation frauduleuse des produits chimiques sont aussi plus fréquentes (MINEAGRI, 2020).

La figure 5 montre la photo des tomates imprégnées de pesticides chimiques en vente au marché de COTEBU alors que la figure 6 montre les tomates imprégnés de pesticides au marché de Gasenyi en mairie de Bujumbura.



Figure 4 : Tomates portant des taches de pesticides en vente au marché de Gasenyi -Bujumbura



Figure 5 : Tomates portant des taches de pesticides en vente au marché de COTEBU

I.2.2 Classification des fongicides selon leur mode d'action

On désigne par ''mode d'action'' le mécanisme biochimique utilisé par un produit phytosanitaire pour entraîner la mort du bioagresseur visé (BASF, 2019). Ainsi, ces derniers peuvent être des champignons, insectes et mauvaises herbes (bayer-agri, 2021) qui sont détruits respectivement par les fongicides, insecticides et les herbicides dont chacun a, à son tour, un organisme international qui contrôle son efficacité. Ces organismes sont respectivement Fungicide Resistance Action Committee's (Fishel et Dewdney, 2015), Insecticide Resistance Action Committee's (Thomas et Ralf, 2015) et Herbicide Resistance Action Committee's (hrac, 2021). Pour le moment, nous allons nous focaliser sur les fongicides. Nous allons donner les différentes classifications faites aux fongicides sur base de leur mode d'action.

I.2.2.1 Les fongicides à action curatives/préventives

Les fongicides peuvent agir en détruisant le champignon avant que celui-ci ne pénètre pas dans la plante ; dans ce cas, on parle de traitement préventif. Par contre, si la maladie est déjà en incubation, le traitement n'est plus réalisé à titre préventif, mais curatif (Sanssené *et al*., 2008). Les fongicides à action curative permettent de mettre à terme au développement d'un champignon déjà présent dans la plante (Bayer, 2021).

Pour être efficace, les produits antifongiques à action préventive nécessitent de grosses quantités. Donc, ces produits antifongiques nécessitent la formation, sur les surfaces végétales à protéger, d'une barrière continue (sous forme d'un film liquide) ou discontinue (sous forme d'un réseau de points très denses et répartis de façon homogène) ; la densité d'impacts correspond au nombre de gouttes déposées par cm^2 (Lande, 1979).

I.2.2.2 Les fongicides systémiques et les fongicides de contact

Les fongicides systémiques sont pénétrants et sont plus ou moins redistribués dans toutes les parties de la plante par le système vasculaire de cette dernière (Blogowski, 2021) ce qui permet la destruction des champignons qui y sont présents ; d'où leur effet curatif (Carisse, 2008).

Les fongicides de contact sont, quant à eux, efficaces en prévention, mais des applications répétées sont souvent nécessaires pour protéger le feuillage en croissance et contrecarrer la perte d'efficacité du fongicide due au lessivage ou à la dégradation (Carisse, 2008).

I.2.3 Résistance aux antimicrobiens

Dans certaines régions, la résistance aux pesticides limite l'utilisation des pesticides d'origine chimique (Boland et *al.*, 2004). En France, par exemple, on a interdit depuis 2019, la vente, l'utilisation et la détention des produits phytopharmaceutiques pour un usage non professionnel

(Ministère français des solidarités et de la santé, 2019). La loi tolère toutefois l'usage des produits autorisés dans le cadre de l'agriculture biologique (Ministère français de l'agriculture et de l'alimentation, 2020). Seuls les produits ‘‘de synthèse chimique’’ ont été visés par la loi (Ministère français des solidarités et de la santé, 2019).

L'utilisation d'agents antimicrobiens dans la production alimentaire animale et végétale représente un facteur de risque important pour la sélection et la transmission de micro-organismes résistants aux antimicrobiens (WHO et FAO, 2015) avec des conséquences avérées sur la santé humaine.

II. Les pesticides chimiques, un risque pour la santé

0. Introduction sur les risques des pesticides

Tout le monde veut vivre en bonne santé. L'alimentation a toujours été liée à l'état sanitaire ; de multiples maladies sont souvent causées par ce que l'on mange (Beaune, 2001 ; Castronovo, 2003). Les risques sanitaires liés à la qualité des aliments peuvent se situer à différents niveaux : (1) la mise au point de nouvelles semences répondant à un besoin précis (les OGMs sont, comme montré par certaines études, responsables de certaines pathologies) (Ceballos et Kastler, 2004) ; (2) au niveau du champ en appliquant des pesticides pour lutter contre les maladies et ravageurs des cultures (Zhou *et al*., 2004 ; Thevenin, 2017)

Pour les produits consommés après transformation, certains travaux conduisent à se demander si la transformation d'un produit constitue un niveau de risque ou pas. En effet, les travaux de Aurore (2022) ont montré que certaines opérations industrielles comme le lavage et l'épluchage des fruits et légumes peuvent réduire les teneurs en résidus de pesticides de certaines denrées alimentaires alors que d'autres opérations de transformation (comme la stérilisation) ne changent rien ou même peuvent faciliter la formation d'un composé plus toxique à partir des pesticides, l'éthylènetuouré. Cela montre combien il est incontournable d'optimiser la qualité des produits alimentaires en amont, surtout que les opérations industrielles ne permettent pas toujours d'éliminer ou de réduire les risques déjà présents.

Des travaux de recherche déjà réalisés ont prouvé la présence des résidus des pesticides dans les produits destinés aux consommateurs (Payrastre et Lukowicz, 2017). D'autres études ont mis en évidence les doses pouvant causer des dangers pour la santé pour différentes substances et les apports journaliers maximum théoriques ont été fixés (OMS, 1997). Pour essayer de contraindre aux problèmes d'exposition des consommateurs, les bonnes pratiques agricoles permettant d'aboutir aux produits sains et sûrs ont été élaborées. Pour la tomate, les normes

répètent sans cesse que pour aboutir à une tomate (fruit) de bonne qualité, contenant moins de résidus des pesticides, il faut réduire les doses appliquées au champ tout en allongeant les intervalles entre les traitements (les instructions marquées sur l'étiquette) mais aussi se rappeler de la durée d'attente avant récolte (Gölles *et al.*, 2015).

Or, comme montré précédemment, les agriculteurs burundais augmentent les doses des pesticides appliquées sur les tomates tout en réduisant les intervalles entre les traitements pour essayer de lutter contre les maladies qui attaquent les tomates. Ils ignorent même le délai d'attente avant récolte quitte à appliquer des pesticides au jour de la récolte voire sur les tomates récoltées. Le mancozeb est la substance antifongique la plus utilisée pour lutter contre les champignons pathogènes pour la tomate (Okonya *et al.*, 2019). C'est pour cette raison que ce travail prévoit travailler sur cette substance active, mancozeb, qui est la plus utilisée au Burundi mais interdit d'usage en Europe pour ses effets sur la santé humaine.

II.1 Quelques notions relatives à l'exposition aux résidus de pesticides via l'alimentation

II.1.1 La dose sans effet (DSE) et Dose journalier Admissible (DJA)

La dose sans effet est la quantité maximale d'une substance toxique (pesticide pour notre cas) qui n'entraine aucune trouble détectable à l'organisme : que ça soit du trouble morphologique, de croissance (ou développement) ou même de la durée de vie de l'organisme cible dans des conditions d'exposition définies (IUPAC, 2007).

La dose journalière admissible ou DJA est, quant à elle, la quantité d'un pesticide qui peut être quotidiennement ingérée pendant toute la vie sans risque pour la santé. Elle est exprimée en milligramme (ou microgramme) de résidus par kilogramme de poids corporel et par jour (Herzine, 2016). La DJA est déterminée en divisant la dose sans effet (DSE) de l'animal le plus sensible par 100 (Adimi, 2018) ou par 1000 qui sont des facteurs de sécurité variant en fonction de la nature des effets observés entre les espèces et entre les individus (Charlier & Plomteux, 2002).

II.1.2 Apport journalier maximum théorique et Limite maximale des résidus

Un autre indice de toxicité qui puisse être comparé à la DJA est l'apport journalier maximum théorique (AJMT) (OMS 1997). Ce dernier correspond à la DJA multiplié par le poids corporel fixé à 60kg (Charlier & Plomteux, 2002 ; IUPAC, 2007) qui est considéré comme un poids corporel moyen estimatif (PNUE *et al.* 1989 ; OMS, 1997). Cette valeur de 60 peut varier dans certaines régions où le poids corporel moyen est différent de 60 (OMS, 1997).

L'AJMT est une prévision de l'apport maximum journalier en résidus d'un pesticide, faite en supposant que les concentrations de résidus sont égales aux LMR (OMS, 1997). Il est donc calculé en multipliant la quantité (en kg) de chaque aliment théoriquement consommé par une personne et de façon journalière à la limite maximale de résidus puis en faisant la somme des résultats obtenus. Il est exprimé en milligramme de résidus par personne (PNUE *et al.* 1989). Donc, la différence entre la DJA et l'AJMT réside au fait que, pour une même substance toxique, la DJA reste la même pour tout le monde tandis que l'AJMT varie en fonction du poids corporel du consommateur.

La LMR correspond, quant à elle, à un niveau maximal de résidus auquel on peut s'attendre trouver dans un produit alimentaire donné en respectant les bonnes pratiques agricoles (BPA) lors de l'application d'un pesticide (OMS, 1997). C'est pour cette raison que l'on doit connaitre tous ces indices toxicologiques (DSE, DJA, AJMT) avant de fixer la LMR car cette dernière doit être telle que l'apport soit inférieur à l'AJMT, calculé, à son tour, à partir de la DJA (Charlier & Plomteux, 2002) calculé, à son tour aussi, à partir de la DSE (Herzine, 2016 ; Adimi, 2018).

Toutefois, Charlier & Plomteux (2002) ont montré que les valeurs fixées pour ces indices toxicologiques peuvent être mises en question surtout en cas de multirésidus. Dans leur travail, ils ont confirmé que même quand on parvient à respecter les indices de toxicité, le consommateur ne peut en aucun cas être protégé à 100% suite aux interactions entre différentes substances actives (Charlier & Plomteux, 2002). En effet, lorsqu'un individu est exposé à plusieurs types de substances actives, elles interagissent et les effets sont toujours imprédictibles suite au manque d'études scientifiques mettant en évidence ces mécanismes d'interaction qui sont plus ou moins complexes (Payrastre, 2011). Ces interactions peuvent avoir des effets d'antagonisme, additifs, synergistes et/ou de potentialisation (OMS, 1989 ; Payrastre & Lukowicz 2017). Un autre effet méconnu est un effet cumulatif des résidus des pesticides dans l'organisme humain (Payrastre, 2011).

II.2 Types d'interaction des pesticides dans l'organisme

II.2.1. Potentialisation

La potentialisation est une action dépendante dans laquelle une substance (pesticide pour notre cas) se trouvant à une concentration ayant peu ou pas de toxicité augmente les dommages causés par un autre pesticide (IUPAC, 2007) ; ce qui est un peu différent de l'addition.

II.2.2 L'addition

L'addition est l'effet lié à l'exposition à deux ou plusieurs pesticides agissant conjointement mais sans aucune interaction entre eux. Dans ce cas, la réponse est égale à la somme des réponses des substances prises isolement (OMS, 1989)

Il importe de signaler que les anciennes théories considéraient l'addition et potentialisation comme des sous-groupes de la synergie (OMS, 1989) mais les travaux récents considèrent chacun des trois (synergie, addition et potentialisation) comme une interaction à part (Rick & Relyea, 2003 ; Brodeur *et al.*, 2014 ; Payrastre & Lukowicz 2017).

III.2.3 La synergie

La synergie, en toxicologie, est définie comme une interaction entre les constituants d'un mélange dans lequel un composé du mélange accroît l'effet des autres (Payrastre & Lukowicz, 2017).

II.2.4 L'antagonisme

Il est un type d'interaction entre les substances du mélange dans lequel il y a réduction des effets par un ou plusieurs substances (Payrastre & Lukowicz, 2017).

Dans l'analyse critique de la littérature relative aux effets des mélanges de produits phytosanitaires sur les mammifères *in vitro* et *in vivo* réalisée par Rizzati *et al.* (2016) mais aussi reporté par (Payrastre & Lukowicz, 2017), les données récoltées sur 78 études sélectionnées montraient l'existence de ces quatre types d'effets (additions, synergies, antagonismes, potentialisation) au taux allant de 21 à 48%.

II.2.5 Les effets cumulatifs

Les effets cumulatifs sont des effets liés non seulement aux expositions récentes mais aussi aux valeurs des expositions passées et/ou courantes en fonction du temps et du niveau de risque. Donc, les effets cumulatifs ne dépendent pas seulement de la valeur la plus récente mais aussi de valeurs observées dans le passé (Abrahamowicz & Sylvestre, 2011)

Sur ce point, quelques études commencent à être réalisées afin de pouvoir fixer la limite maximale des résidus en tenant compte des effets cumulatifs (Wolterink *et al.*, 2016).

II.3 Effets pathologiques des pesticides sur la santé humaine

Les effets des pesticides peuvent se manifester immédiatement après exposition, on parle dans ce cas de toxicité aiguë. Ils peuvent apparaitre après de longue période d'exposition, toxicité chronique. Les effets immédiats, aiguës, comme les lésions cutanées, les brûlures oculaires ne

seront pas abordés au cours de ce chapitre car ils résultent d'une mauvaise utilisation ou d'un usage accidentel des pesticides ; ces effets occupent une part très faible des maladies causées par l'utilisation des pesticides et ils peuvent être maitrisés en respectant les règles de base en matière de sécurité (Cherina et *al.*, 2012). Les maladies (pathologies) comme le cancer de la prostate (Blanchet & Multigner, 2008), le cancer des testicules (Chasles, 2018) et les mélanomes (Baldi et *al.*, 2019) dont les origines restent encore méconnues combinant les expositions professionnelles aux pesticides, les causes génétiques, environnementales et l'âge (Blanchet & Multigner, 2008 ; Chasles, 2018 ; Baldi et al., 2019) ne seront pas évoqué dans ce chapitre. Seuls les effets qui se manifestent, à long terme, après exposition aux pesticides à de faibles doses via l'alimentation seront abordés. Ce type d'effets constitue d'ailleurs une préoccupation majeure des intoxications aux pesticides (Belhamel, 2016) et de plus en plus des travaux continuent à être réalisés afin de déterminer tous les risques liés à la consommation des produits contenant des pesticides chimiques.

Parmi les effets à long terme liés à la consommation d'aliments contaminés par les pesticides, nous allons parler des troubles endocriniens (Bretveld *et al.*, 2006), de certains effets cancérigènes et mutagènes mis en évidence *in vivo* et/ou *in vitro*. La grande partie de ces effets sont causés par les fongicides de la famille des EBDC (éthylenebisdithiocarbamate) (Debbarh *et al.*, 2004). Nous allons aussi parler de certains troubles neurologiques.

II.3.1 Les troubles endocriniens

Certains pesticides sont connus (ou suspectés) d'avoir des effets hormonaux ou ovotoxiques susceptibles de compromettre la fonction de reproduction (Hefni et *al.*, 2005). Bretveld et *al.* (2006) ont montré que les pesticides peuvent perturber la fonction hormonale du système reproducteur féminin et en particulier le cycle ovarien. Les travaux de Farr et *al.* (2004) ont montré que les pesticides perturbent le fonctionnement hormonal de l'appareil reproducteur féminin ce qui provoque l'allongement ou le raccourcissement du cycle menstruel. En complément à ces travaux, les expériences menaient par Hefni et *al.* (2005) sur les animaux, en les exposant aux pesticides via l'alimentation, ont montré que certains pesticides peuvent modifier le cycle menstruel et peuvent par la suite influencer la fécondité et le risque de troubles hormonaux. Comme l'a montré Bretveld *et al.* (2006) lindane, Mancozeb, Malathion sont des exemples de pesticides qui sont à l'origine de cycles ovariens irréguliers et de l'altération de la fertilité.

II.3.2 Effets cancérogènes

Dans leur travail sur le pesticide dicofol, Imane et Lanez (2014) ont montré que certains pesticides peuvent avoir des effets potentiellement cancérogènes et mutagènes.

Dans la synthèse, réalisée par Inserm, sur les travaux scientifiques qui étaient déjà disponibles jusqu'en 2012, Baldi et *al.* (2019) ont montré que les mécanismes d'action des pesticides en cancérogenèse peuvent être multiples et concerner une altération du matériel génétique, un déséquilibre des processus de survie et de mort cellulaire, la liaison à des récepteurs nucléaires ou hormonaux, la bioactivation métabolique et la génération de stress oxydant pesticides. Cela montre que les pesticides peuvent être à l'origine de multiples cancers. Ce sujet a été abordé par Belpoggi, et *al.* (2002) dans une expérience sur la cancérogénicité à long terme de l'éthylène-bisdithiocarbamate (mancozeb) chez le rat. D'après les résultats de cette expérience, le mancozeb est un cancérigène multipotent. En effet, les rats que Belpoggi et *al.* (2002) avaient alimentés à base de la nourriture traitée avec du mancozeb ont développé des tumeurs malignes, des tumeurs mammaires malignes, des carcinomes de la glande zymbale et du conduit auditif, des hépatocarcinomes, des tumeurs malins du pancréas, des tumeurs malignes de la glande thyroïde, des ostéosarcomes des os de la tête, des néoplasies hémolymphoréticulaires et les rats ont commencé à mourir spontanément après 104 semaines alors que les rats (témoins) nourris avec des aliments sains n'ont développés aucun symptôme.

II.3.3 Troubles neurologiques

Bien qu'il y ait des travaux de recherche sur les liens entre l'exposition aux pesticides et l'incidence de certaines maladies (de Parkinson, d'Alzheimer, troubles cognitives) considérant ces pathologies comme d'origine multiples et évoquant les facteurs génétiques et environnementaux (Baldi et *al.*, 2019 ; Blanc-Lapierre et *al.*, 2011), certains fongicides font exception et ont été accusés d'être déclencheurs des troubles neurologiques avec presque nul doute en raison de l'inclusion de soufre et de métaux tels que le manganèse, le zinc et le mercure dans leur structure chimique (Blanc-Lapierre et *al*., 2011). Là on peut donner l'exemple du mancozeb (Thevenin, 2017) et du maneb (Zhou et *al*., 2004). Ces deux fongicides appartiennent à la famille des EBDC (ethylenebisdithiocarbamate) (Zhou et *al*., 2004).

III. La lutte biologique, un remède naturel à l'impact des pesticides chimiques

0. Introduction sur la lutte biologique

L'utilisation de pesticides chimiques, dans l'agriculture, a exponentiellement augmenté ces dernières années en vue d'accroitre la production (de Córdova & Martínez, 2021). Cependant, la mauvaise utilisation de ces pesticides laisse leurs résidus dans les produits alimentaires de récolte (Arias et *al.*, 2013). Ces résidus des pesticides sont également retrouvés dans le sol, dans l'eau et dans l'air (de Córdova & Martínez, 2021) avec leurs conséquences négatives sur la santé humaine et environnementale (Marete et *al.*, 2020).

Des recherches déjà réalisées ont montré qu'il est possible de contourner les conséquences liées à l'utilisation des pesticides chimiques en recourant aux biopesticides, qui sont soit des microorganismes (Shoda, 2000 ; Mohammed, 2017 ; Abbas et *al.*, 2019) soit des extraits des plantes (Mohammed, 2017) dans la protection des cultures. Toutefois, contrairement aux microorganismes qui se retrouvent dans différentes niches écologiques comme le sol, l'eau et l'air (Shoda, 2000 ; EPA, 2012) et que l'on peut isoler et multiplier ; les extraits des plantes, quant à elles, exigent l'exploitation des végétaux (Mohammed, 2017). D'où l'importance de privilégier l'utilisation des microorganismes en vue de préserver l'environnement.

Plusieurs études ont montré l'importance de l'utilisation des microorganismes et suggèrent que les bactéries du genre Bacillus restent de bons candidats dans la lutte contre les pathogènes (Shoda, 2000 ; Essalmani & Lahlou, 2003 ; Pérez-Garcıá et *al.*, 2011 ; Kesse-Guyot et *al.*, 2013 ; Arora et *al.*, 2016 ; Kulimushi, 2017 ; Shafi et *al.*, 2017 ; Abbas et *al*. 2019 ; Demeule, 2020).

C'est dans cette perspective que beaucoup de pays essayent d'adopter la lutte biologique en raison des avantages qu'elle offre (Arora et *al.*, 2016 ; Ministère français des solidarités et de la santé, 2019 ; Ministère français de l'agriculture et de l'alimentation, 2020). Toutefois, il y a encore une large inégalité dans l'adoption de la lutte biologique tout comme dans la consommation de produits bio. Ainsi, les pays développés restent toujours les plus grands producteurs et consommateurs de produits biologiques comparativement au pays en voie de développement (Kesse-Guyot et *al.*, 2013). Encore plus, bien qu'il y ait des firmes de production d'agents de biocontrôle qui s'installent en Afrique en vue de satisfaire les demandes locales en BCAs, les produits biologiques récoltés sur les sols de ce continent sont en grande partie exportés vers les pays développés et contribuent à générer des devises pour certains pays (Kulimushi, 2017).

Les BCAs produits par ces firmes sont en grande partie des bactéries du genre Bacillus (Kulimushi, 2017). En effet, ce genre de bactérie est le plus représentatif et le plus étudié de tous les BCAs (Demeule, 2020) bien qu'il y ait des champignons utilisés dans la lutte biologiques (Stummer et *al*., 2022).

Les études ont montré que les bactéries du genre Bacillus constituent de bons candidats à utiliser en tant que BCAs (Pérez-Garcıá et *al.* 2011, Essalmani & Lahlou, 2003) en raison des avantages qu'elles offrent surtout dans les analyses génétiques et leur aptitude à produire des composés fongicides, insecticides et antimicrobiens différents (Shoda, 2000 ; Pérez-Garcıá et *al.*, 2011), et leur aptitude à induire des réponses de croissance et de défense chez la plante hôte (Pérez-Garcıá et *al.,* 2011 ; Abbas et *al.,* 2019). Toutefois, ces bactéries n'ont pas tous la même efficacité et n'offrent pas le même niveau de biocontrôle. C'est pourquoi la recherche de souches plus performantes reste toujours une préoccupation en vue de substituer les pesticides de synthèse chimique (Shafi et *al.*, 2017).

III.1 Mécanismes d'action des bactéries de contrôle biologique

Les bactéries utilisées en tant qu'agents de contrôle biologique (Biological Control Agents : BCAs) des maladies des plantes peuvent agir directement, par compétition et/ou antibiose, contre le pathogène en le supprimant chez la plante hôte (Essalmani & Lahlou, 2003) ou tout simplement en réduisant son métabolisme et/ou sa vitesse de croissance (Daroodi et *al.*, 2021). Ces bactéries peuvent aussi agir indirectement contre le pathogène par stimulation des systèmes de défense de la plante (Essalmani & Lahlou, 2003). Certaines des bactéries, et plus particulièrement les Bacillus, utilisées dans la protection des cultures peuvent promouvoir la croissance de la plante ; ce sont des PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Shoda, 2000 ; Essalmani & Lahlou, 2003 ; Demeule, 2020).

III.1.1 Antagonisme direct contre le pathogène

Dans ce type d'interaction, l'agent de biocontrôle inhibe la croissance du pathogène qui pourrait provoquer des dommages importants sur la plante hôte (Daroodi et *al.*, 2021).

III.1.1.1 Antibiose

Les bactéries bénéfiques, utilisées comme agents de biocontrôle, sécrètent des substances qui peuvent être des antibiotiques (Essalmani & Lahlou, 2003), comme les fengycines (Pérez-Garcıá et al. 2011), les iturines (iturin A) et les surfactines (Abbas et *al*., 2019) mais aussi bacillomycin, mycosubtilin, bacilysin, et mycobacillin pour quelques bactéries du genre Bacillus (Shoda, 2000), des enzymes (comme les cellulases, chitinases, glucanases et proteases

(Pérez-Garcıá et *al*., 2011 ; Fatima, 2019) et des composés volatiles (volatile organic compounds : VOCs), ayant des effets inhibiteurs contre le pathogène de la plante (Essalmani & Lahlou, 2003 ; Daroodi et *al*., 2021).

En guise d'exemple, certaines bactéries du genre Bacillus sont capables de produire des molécules de nature lipopeptidique (les surfactines, les iturines et/ou les fengycines) qui agissent en tant qu'antibactérien, antifongique direct (Ongena & Jacques, 2007 ; Pérez-Garciá et *al.*, 2011) et/ou insecticide en fonction de l'espèce bactérienne utilisée (Pérez-Garcıá et *al.*, 2011). Ces bactéries secrètent aussi des composés organiques volatiles (VOCs) (Abbas et *al.*, 2019) et les enzymes (Fatima, 2019). Les premiers (VOCs) entravent la croissance du pathogène (Abbas et *al.*, 2019) alors que les derniers (enzymes) interviennent dans la dégradation/décomposition de la paroi du pathogène (Fatima, 2019), ce qui provoque sa mort. C'est là qu'on dit que le mécanisme antibiotique opère, lorsque les produits métaboliques secrétés par une espèce inhibent ou empêchent la croissance d'une autre espèce (Shoda, 2000).

III.1.1.2 Compétition pour les niches écologiques et nutriments

Une fois installé dans la rhizosphère, le micro-organisme d'intérêt peut agir en privant les organismes potentiellement infectieux des ressources nutritives (substances carbonés, oxygénés, oligoéléments essentiels) et en occupant les premiers l'espace rhizosphérique de la plante. De plus, les substances sécrétées par les microorganismes bénéfiques peuvent empêcher le pathogène de s'installer et ainsi de coloniser la plante (Abbas et *al.*, 2019).

III.1.2 Antagonisme indirect

III.1.2.1 Stimulation du système de défense de la plante

Les substances sécrétées par certaines bactéries utilisées comme agents de biocontrôle peuvent activer les systèmes de défense de la plante (Ongena & Jacques, 2007, Pérez-Garcıá et *al*., 2011). Bien que les molécules lipopeptidique (les surfactines, les iturines et/ou les fengycines) puissent avoir un effet antibactérien ou antifongique direct, ils peuvent également activer les défenses des plantes, (Pérez-Garcia et *al.*, 2011) ou tout simplement agir comme des immunosuppresseurs en renforçant le potentiel de résistance de l'hôte. (Ongena & Jacques, 2007).

III.1.2.2 Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

Il a été démontré que les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) seraient capables d'exclure les autres micro-organismes (pathogènes) de certaines niches écologiques où la production des exsudats racinaires est importante (Lugtenberg et Kamilova, 2009). En

effet, quand un PGPR se croise avec un champignon pathogène sur une culture, la sévérité de la maladie est significativement réduite (Shoda, 2000).

Les BCAs agissant en tant que PGPR ont des mécanismes d'action directe et indirecte. Dans le mécanisme direct, les PGPR peuvent agir en tant que biofertilisant, stimulant de la croissance racinaire, contrôleur du stress des plantes et agir dans la rhizoremédiation. Dans le cas des mécanismes indirects, les PGPR peuvent promouvoir la croissance des plantes et faire en sorte que la plante échappe à la maladie (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

Partie pratique

IV. Matériel et méthodes

IV.1 Matériel utilisé

IV.1.1 Matériel biologique

1. Des tomates mures présentant des symptômes de maladies ont été échantillonnées à un champ d'un agriculteur à Tenga-Gahwami et emmenées au laboratoire pour analyse.
2. Un autre échantillon de tomates a été pris aléatoirement au marché de COTEBU sans tenir compte de la variété ou de la provenance des tomates. Toutefois, selon les commerçants rencontrés, les tomates vendues au marché de COTEBU proviennent en grande partie de la province Cibitoke et un peu moins dans la province de Bubanza.
3. *Bacillus nakamurai* Bdi-ISI : Bactérie bénéfique, de biocontrôle, isolée dans les sols de la commune ISARE dans la province de Bujumbura, au Burundi. Les travaux qui ont permis d'avoir cette bactérie ont été réalisés dans le cadre du projet de recherche pour le développement (PRD 2019 Burundi).
4. *Bacillus velezensis* QST 713 : Une bactérie commerciale utilisée en tant que BCA des maladies des plantes. Les noms de cette bactérie ont évolué au cours des années. Ainsi, elle a passée de *Bacillus subtilis* QST 713 à *Bacillus amyloliquefaciens* (Anastassiadou et *al*., 2020) puis à *Bacillus velezensis* QST 713 (EFSA 2021) bien que les deux derniers noms restent tous d'utilisation.

   Cette bactérie a été fournie par le laboratoire de Gembloux.
5. *Alternaria solani* : Un champignon isolé, sur les feuilles de tomates cultivées dans la province de Cibitoke, au Burundi, dans le cadre du projet de recherche pour le développement (PRD 2019 Burundi).
6. Les tomates : Une variété, Floradel, de tomate cultivée par les agriculteurs locaux, achetée dans un point de vente des semences à Bujumbura
7. Le terrain : Nous avons travaillé sur un terrain se trouvant au centre d'innovation de l'ISABU à Mparambo, Province de Cibitoke.

IV.1.2 Les milieux de culture

- PDA (Potato Dextrose Agar): PDA (39 g) + Agar (2g) + Eau (1000ml)
- Luria Bertani (LB) constitué de Tryptone, extraits de levure et sel à des proportions respectives de 10g/l, 5g/l et 10g/l : un milieu liquide pour la culture bactérienne.

- Luria Bertani Agar (LBA) : LB dans laquelle on ajoute de l'agar, un agent gélifiant, à une concentration de 1%.

IV.1.3 Produits chimiques

- L'acétonitrile a été utilisé pour son pouvoir à extraire les pesticides polaires et non polaires, mais aussi pour sa facile séparation avec la phase aqueuse par simple effet de relargage en présence d'un sel comme cité par de Córdova & Martínez (2021).
- Le sulfate de sodium, de formule chimique Na_2SO_4, est un sel qui a été utilisé en raison de son pouvoir relargant (salting-out) comme l'a montré Loudjani (2018)
- L'éthyl benzène et l'acétone, de formule chimique C6H5 - C2H5 et CH3-CO-CH3 respectivement, est un système de solvant expérimenté par Tewari et Singhz (1978) pour éluer le mancozeb.
- Iode : l'iode est un élément électronégatif pouvant avoir plusieurs états d'oxydation entre autre -1, +1, + 3, +4, +5 et +7 (Liu et Gunten 1988). Il peut se lier à une multitude de composés chimiques
- La solution standard du mancozeb a été fournie par le laboratoire de chimie du Centre National de Technologie Alimentaire (CNTA). Ce standard a été conçu pour le HPLC.

IV.2 Méthodes

IV.2.1 Identification des agents pathogènes

L'identification de l'agent pathogène s'est déroulée en deux étapes :

- Isolement et purification de l'agent pathogène
- Identification proprement-dite

1. Isolement et purification de l'agent pathogène

Avant de procéder à l'isolement et à la purification de l'agent pathogène, nous avons tout d'abord préparé le milieu de culture comme suit :

Avec une spatule, nous avons prélevé 39 g de PDA synthétique mesurés avec une balance analytique de précision. Nous les avons mis dans un flacon fermant (à bouchon). Nous avons ensuite prélevé 2g d'agar avec une autre spatule. Nous avons enfin mélangé le milieu avec de l'agar pour les dissoudre avec de l'eau distillée (1000ml) mesurés avec une éprouvette graduée. Après mélange, nous avons suivi les instructions d'utilisation telles que marquées sur l'étiquette du milieu PDA : (1) homogénéisation avec un agitateur magnétique jusqu'à l'homogénéité complète, (2) Stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Après stérilisation, le

milieu a été retiré de l'autoclave étant à 50°C enfin d'être coulé sur les boîtes de Pétri pour qu'il solidifie.

Pour isoler les champignons pathogènes, nous nous sommes référés au protocole décrit par Bachir (2015) :

- Sous hotte à flux laminaire, plonger l'échantillon de tomate dans un bécher contenant l'hypochlorite de sodium concentré à 5% pendant 30 secondes ;
- En renouvelant à chaque fois l'eau utilisée, laver à 3 répétitions l'échantillon de tomate, venant d'être retiré de la solution d'hypochlorite de sodium, dans l'eau distillée stérile ;
- Prélever les petits morceaux d'environ 2mm*2mm chacun sur les parties malades de la tomate et les mettre séparément sur le milieu PDA solide (de préférence trois portions disposées sous forme d'un triangle par boîte de Pétri) ;
- Incuber les boîtes à 22°C, juste à la paillasse, jusqu'à la croissance du mycélium.

Après 3 jours environ, le mycélium en croissance devient visible. Il faut faire une purification sous hotte à flux laminaire pour éviter les contaminations :

- Distinguer les différents mycéliums suivant leurs couleurs pour éviter de prélever le même champignon de façon répétée ;
- Prélever, avec le bistouri stérile, un petit mycélium de couleur homogène (coupé, avec le milieu qui le supporte, sous forme d'un petit carrée) à l'extrémité de la colonie et repiquer-le sur un nouveau milieu PDA solide ;
- Incuber à 22°C pendant 21 jours.

2. Identification proprement-dite

Nous avons fait l'identification en deux principales étapes entre autre :

A. L'analyse au microscope
B. Détermination du type de microorganisme observé.

A. L'analyse au microscopique.

Le microscope utilisé est microscope électronique de marque Olympus.

Pour réaliser cette étape, nous nous sommes référés aux recommandations du groupe d'alloprof (2021) qui sont les suivants :

- Nettoyer délicatement la lame de verre à l'aide de papier à lentille
- Déposer le matériel à observer au centre de la lame puis une goutte d'eau sur ce matériel
- Recouvrir délicatement la préparation à l'aide d'une lamelle. Eviter la formation de bulles d'air en appuyer à la verticale la lamelle ;

- Allumer la lampe du microscope puis tourner la vis macrométrique afin de baisser la platine
- Mettre délicatement en place la lame en ouvrant les valets. Une fois la lame installée, refermer les valets pour la maintenir en place.
- Tourner la tourelle (ou revolver), afin que l'objectif du plus petit grossissement soit devant l'orifice de la platine.
- En regardant dans l'oculaire, tourner lentement la vis micrométrique pour faire la mise au point de l'image.
- Changer l'objectif pour un autre dont le grossissement sera supérieur jusqu'à atteindre le grossissement 40X qui donne une bonne image.

Il importe de signaler qu'à chaque fois que nous changions l'objectif, nous répétions l'avant-dernière étape.

Après avoir mis au point une bonne image, nous positionnions un appareil photo sur l'oculaire du microscope pour capturer une photo.

B. Détermination du type de microorganisme

Pour identifier le microorganisme observé, nous confrontions les caractéristiques d'une macro et microcolonie avec celles décrites pour les microorganismes isolés selon les procédures générales similaires pour *Fusarium* et *Alternaria*.

IV.2.2 Analyse des résidus des pesticides

Nous avions prévu d'analyser les résidus des pesticides avec des équipements avancés (HPLC ou GC). Ces derniers n'étant disponibles localement pour nous servir dans ces analyses, un échantillon a été envoyé en Belgique pour y être analysé mais les résultats ne sont pas disponibles. Nous avons dû recourir aux équipements accessibles localement (chromatographie sur couche mince).

IV.2.2.1 Préparation de l'échantillon

Deux kilogrammes de tomates ont été lavés puis divisés en deux parties d'un kilogramme chacune. Pour le premier kilogramme, nous avons utilisé les peaux tandis que pour le deuxième nous avons utilisé une petite couche de chair en bas de la peau. (! Ces deux groupes, chair et peau, ont été préparés séparément). Nous avons découpé en de petits morceaux les peaux et les chairs de ces tomates. Nous les avons remplis dans des tubes falcon de 15ml jusqu'à 10ml. Nous avons ensuite rempli de l'acétonitrile dans chaque tube falcon jusqu'à 13ml. Les tubes ont ensuite été vortexés jusqu'à l'homogénéité complète. Après avoir été vortexés, les tubes ont été centrifugés à 6.000 rpm pendant 5 minutes, ce qui a permis de séparer la phase liquide de la

phase solide de l'échantillon. Nous avons, par la suite, prélevé le surnagent, constitué par le solvant et la phase liquide extraite des peaux ou de la chair de la tomate, à l'aide d'une micropipette. Ce surnageant a été mis dans de nouveaux tubes falcons vides et stériles. Le surnagent a été recentrifugé pour enlever toute matière solide dans la phase liquide. Après ça, nous avons ajouté 2 g du sulfate de sodium par tube contenant la phase liquide avant de les centrifuger à 6.000 rpm pendant 5 minutes, ce qui a provoqué la séparation des phases (solvant au-dessus, eau au milieu et sulfate de sodium en-dessous). Nous avons ensuite prélevé le solvant (car c'est lui qui contient les substances extraites de la tomate). Le solvant a enfin été concentré, jusqu'à avoir 3ml, dans un évaporateur rotatif à 60 rpm sous une température de 35°C.

IV.2.2.2 Analyse chromatographique

Comme annoncé précédemment, nous avons utilisé la chromatographie sur couche mince pour analyser qualitativement les résidus des pesticides dans les tomates.

Un système de solvant ethylbenzene – acétone (9 :1) a été versé dans une cuve chromatographique puis fermé pendant 1 heure et demie pour attendre la saturation de la cuve. En attendant la saturation, nous avons procédé à la préparation de la plaque CCM : sur une plaque CCM de 20cm*20cm, nous avons tracé la ligne de dépôt à 2cm depuis l'extrémité. 10µl pour chaque échantillon, solution standard comprise, ont été déposés sur cette ligne. Pour permettre le séchage du solvant qui se trouvait dans l'échantillon, nous avons attendu avant de déposer la plaque dans la cuve (la ligne de dépôt doit être parallèle au fond de la cuve mais aussi être à un niveau supérieur au niveau du solvant). Après 2 heures, nous avons retiré la plaque puis tracé la ligne au niveau atteint par le solvant. La mesure de la distance parcourue par le solvant a été effectuée, soit 10cm. Nous l'avons ensuite séchée à température ambiante pendant 1 heure. Nous avons par la suite pris une spatule des cristaux d'iode, nous les avons mis dans une autre cuve chromatographique vide et propre puis nous avons versé un mélange de solvant hexane – acétone (7 :3). Ce mélange solvant – iode a été fermé dans la cuve à condition qu'il n'y ait aucun échange entre l'intérieur et l'extérieur de la cuve en collant la cuve au couvercle par utilisation des graisses de silicone. Après deux heures et demie, la cuve était saturée d'air ayant une coloration tendant à être violette. La cuve a été ouverte pour y mettre la plaque séchée. Après 30 minutes, la plaque a été retirée puis analysée à la lampe UV-254nm.

La lecture des résultats a été faite en observant le niveau d'élution des composés de chaque échantillon et la couleur des taches caractéristiques de chaque composé élué. La présence d'une tache d'un composé au même niveau et de même couleur que le composé du standard (mancozeb) nous a permis de conclure que le mancozeb est présent ou non dans l'échantillon.

La formule permettant de montrer le niveau d'élution est la suivante :

$$Rf = \frac{distance\ parcourue\ par\ la\ substance}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

Source : Tewari et Singhz (1978)

IV.2.3 Evaluation de l'effet de biocontrôle de *Alternaria solani* par des bactéries bénéfiques

IV.2.3.1 Essai de laboratoire/ Test de confrontation sur boîtes de Pétri

i. Multiplication du champignon

Nous avons préparé le milieu PDA tel que marqué sur l'emballage (dilution de 39g de milieu dans 1000 ml d'eau distillée, autoclavage à 121°C pendant 20 minutes, incubation du milieu à 50°C). Le milieu a ensuite été coulé sur les boîtes de Pétri en verre de 90mm de diamètre. Nous avons gardé ces boîtes sous hotte à flux laminaire pendant 2 jours pour vérifier s'il y aurait eu des contaminations sur certaines boîtes. Les boîtes contaminées ont été rejetées.
Le champignon, *Alternaria solani,* a été repiqué sur les boîtes contenant le milieu PDA. Les boîtes ont été incubées dans une chambre climatisée à 22°C, pendant 6 jours avant d'inoculer les bactéries.

ii. Préparation des bactéries à inoculer (inoculum)

a) Culture sur boîte de Pétri

Le milieu de culture LBA (10g de tryptone, 5g d'extrait de levures, 15g d'agar-agar, 10 g de NaCl par litre d'eau distillée) a été préparé puis autoclavé à 121°C pendant 15 min et incubé à 50°C avant d'être coulé sur les boîtes de Pétri. Nous avons ensuite coulé le milieu sur les boîtes de Pétri dans des conditions aseptiques, sous hotte à flux laminaire et nous avons attendu sa solidification. A partir des bactéries conservées à -80°C, nous avons ensuite strié sur ces milieux solidifiés deux bactéries (*Bacillus velezensis* QST 713 et *Bacillus nakamurai*) ; chacun sur sa boîte de Pétri puis nous les avons incubées à 30°C pendant 24 heures.

b) Préculture

Après 24 heures d'incubation à 30°C, nous avons prélevé une colonie sur chaque boîte contenant les bactéries pour l'inoculer dans un seul erlenmeyer contenant 50 ml de milieu LB. Deux erlenmeyers ont été inoculés ; un pour *Bacillus nakamurai* et l'autre pour *Bacillus velezensis* QST 713. Ces erlenmeyers ont été incubés sous agitation à 120 rpm pendant 24 heures à 37°C. La suspension bactérienne obtenue est appelée préculture.

c) Culture bactérienne

A l'aide d'un spectrophotomètre UV, nous avons procédé à la mesure de la densité optique (DO) de la préculture ci-haut obtenue, et sa concentration a été ajustée à 0.01. Nous avons utilisé la formule $C_1V_1 = C_2V_2$ (où C : concentration et V : volume) pour trouver le volume à prélever sur la préculture. Ce volume a été ensuite mélangé avec un milieu LB stérile quitte à avoir 1ml de suspension bactérienne à inoculer dans 99ml de milieu LB stérile. Lors de l'ensemencement, la suspension bactérienne utilisée était de 1%, soit 1ml dans 100ml de solution. Cette dernière constitue la culture.

La culture a été incubée sous agitation à 120 rpm pendant 24heures à 37°C. Après incubation, nous avons procédé à la mesure de la DO à l'aide d'un spectrophotomètre UV pour connaître la concentration finale en cellule bactérienne.

iii. Inoculation des bactéries sur les boîtes de Pétri contenant du mycélium

Avant d'inoculer la bactérie, nous avons tout d'abord mesuré le diamètre mycélien sur toutes les boîtes de Pétri.

A l'aide d'une micropipette, nous avons prélevé 10µl de la culture bactérienne mesurant une densité optique d'environ 1.6 (soit un nombre d'UFC d'environ 10^8) et nous les avons inoculés à l'extrémité du mycélium de *Alternaria solani* se trouvant sur les boîtes âgées de 6 jours. Nous avons posé les 10 µl de l'inoculum sur les deux positions de la boîte de Pétri qui ont été incubées à 22°C. Trois boîtes de Pétri par bactérie ont été inoculés (trois boîtes pour *Bacillus nakamurai* et trois autres pour *Bacillus velezensis* QST 713) puis incubées à température de la chambre (environ 22°C).

iv. Cotation *in vitro*

La croissance radiale du champignon a été mesurée à l'aide d'une latte graduée juste avant d'inoculer les bactéries mais aussi après quatre jours d'incubation.

La détermination du pouvoir inhibiteur a été réalisée en se référant à la formule proposée par Van der Vliet et *al*. (2007) :

$$\%\ \text{d'inhibition de la croissance mycélienne} = \frac{(D_c - D_{ca})}{D_c} * 100$$

Où D_c= diam contrôle = croissance du pathogène (sans bactérie)

D_{ca} = diam (croissance) du pathogène avec candidat (bactérie)

IV.2.3.2 Essai en champ

- **Préparation du terrain**

Le terrain a été divisé en sous-parcelles suivant le dispositif expérimental en bloc aléatoire complètement randomisé avec trois traitements et quatre répétitions (blocs) ; soit un total de 12 parcelles de 28 plants chacune.

- **Plantation des tomates**

Les tomates ont été semées en pépinière avant d'être repiquées en champ. Les plants âgés d'environ 1 mois ont été repiqués en champ. Lors du repiquage, aucun engrais ou source nutritive n'a été ajouté au sol.

- **Préparation et application de l'inoculum sur les plants**

La préparation de l'inoculum à appliquer en champ a suivi le même protocole que la préparation des bactéries à utiliser dans le test de confrontation tel que décrit précédemment au sous-point ii du point IV.2.3.1

En vue de maintenir les bactéries en vie, le LB à concentration de 15g/l a été utilisé comme tampon de dilution. Le degré de dilution de la suspension bactérienne était de 10fois, soit 200 ml de suspension bactérienne dans 2000 ml de milieu LB (ou tampon de dilution).

L'application était hebdomadaire et une application foliaire a été systématiquement effectuée sur tous les plants de l'essai à l'aide d'un pulvérisateur manuel tout en estimant la quantité pulvérisée à 100 ml par plant.

- **Cotations *in vivo***

Les cotations ont commencé après deux applications des bactéries. Les cotations étaient réalisées le même jour que l'application des bactéries. Les données sur la sévérité de la maladie ont été collectées en utilisant l'échelle expérimentée et validée en serre par Nihorimbere et *al*., (2021, non encore publié) et le nombre total des cotations a été de quatre fois. Ainsi, cette échelle variée de 1 à 9 en fonction de la surface foliaire nécrosée : 1=0-5%, 3=5-10%, 5=10-20%, 7=20-50%, et 9=50-100% de la surface foliaire nécrosée.

IV.2.3.3 Traitement des données

1. Aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC)

L'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) est utilisée pour résumer la progression de la maladie (Essalmani et Lahlou, 2003). Elle est utilisée en pathologie végétale pour comparer les niveaux de résistance aux maladies parmi les variétés de plantes.

La méthode trapézoïdale est la méthode la plus utilisée pour calculer l'AUDPC dont la formule est la suivante :

$$\text{AUDPC} = \sum \frac{(y_i + y_{i+1})}{2}(t_{i+1} - t_i)$$

y_i : moyenne de sévérité de la maladie à chaque observation

y_{i+1} : moyenne de sévérité de la maladie à chaque observation suivante (par rapport à y_i)

$(t_{i+1} - t_i)$ = durée séparant deux observations consécutives

Source : Essalmani et Lahlou, 2003

2. Analyse des données

L'analyse statistique des données a été réalisée en utilisant le logiciel R studio. Les postulats d'analyse de la variance n'étant pas vérifiés, le test non paramétrique dont celui de Kruskall-wallis a été utilisé pour analyser les différences entre les traitements. La comparaison par pair par le test de Wilcoxon a été utilisée pour identifier les traitements différents.

V. Résultats

V.1 Identification des pathogènes majeurs de la tomate

Les champignons isolés dans la chair de tomate étaient au nombre de deux entre autre *Fusarium sp.* et *Alternaria sp.*

Pour le premier (*Fusarium sp.*), figure 6, lors de la culture de ce champignon, le mycélium était d'abord blanc, puis il a viré vers la couleur rose. L'identification a été faite sur un champignon de 21 jours, soit après sporulation.

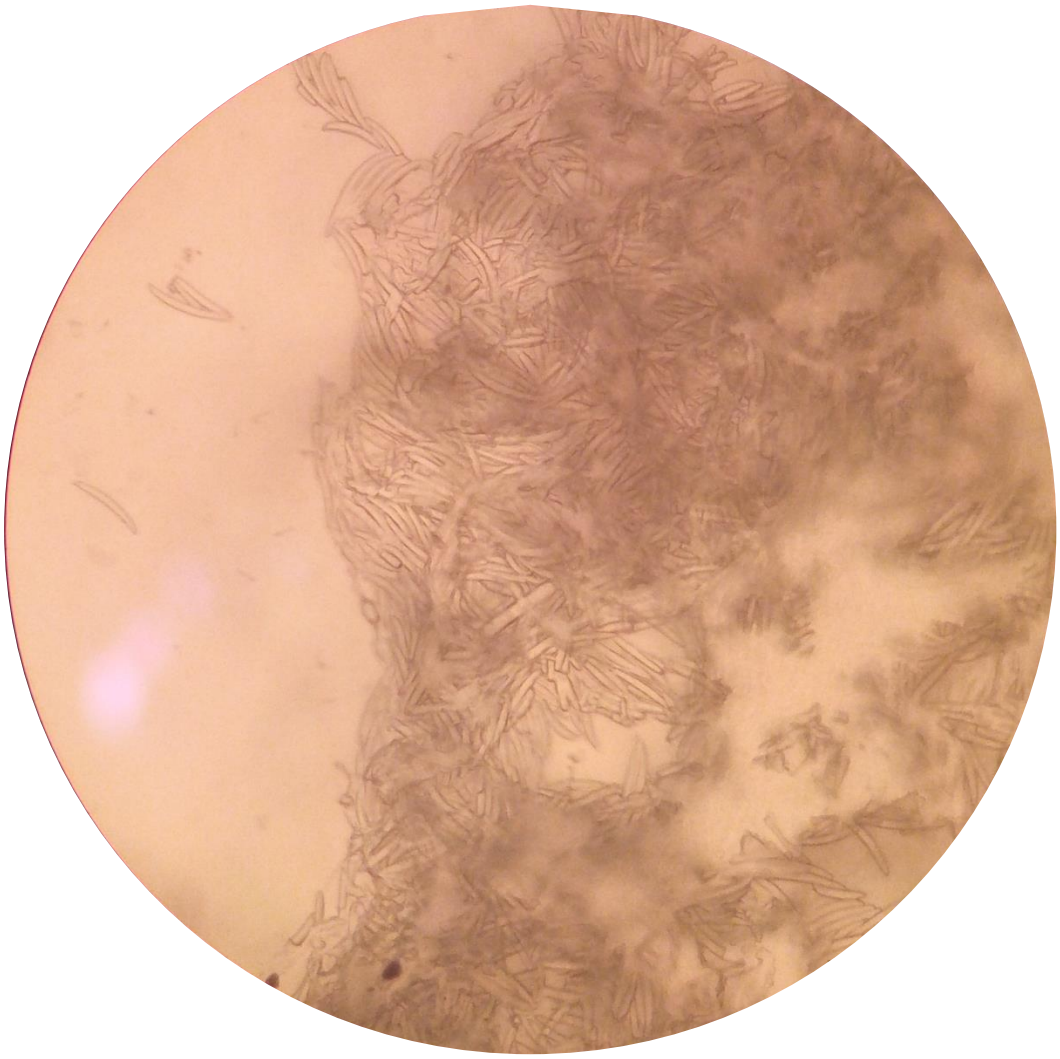


Figure 6 : Photo des conidies de *Fusarium sp.*

Le deuxième champignon observé est l'*Alternaria* sp., figure 7. Lors de sa culture, le mycélium était d'abord blanc, puis il a viré vers la couleur brune et enfin s'est assombri vers la couleur noire. Les spores étaient presque blanches et l'identification a été faite à 21 jours d'incubation.

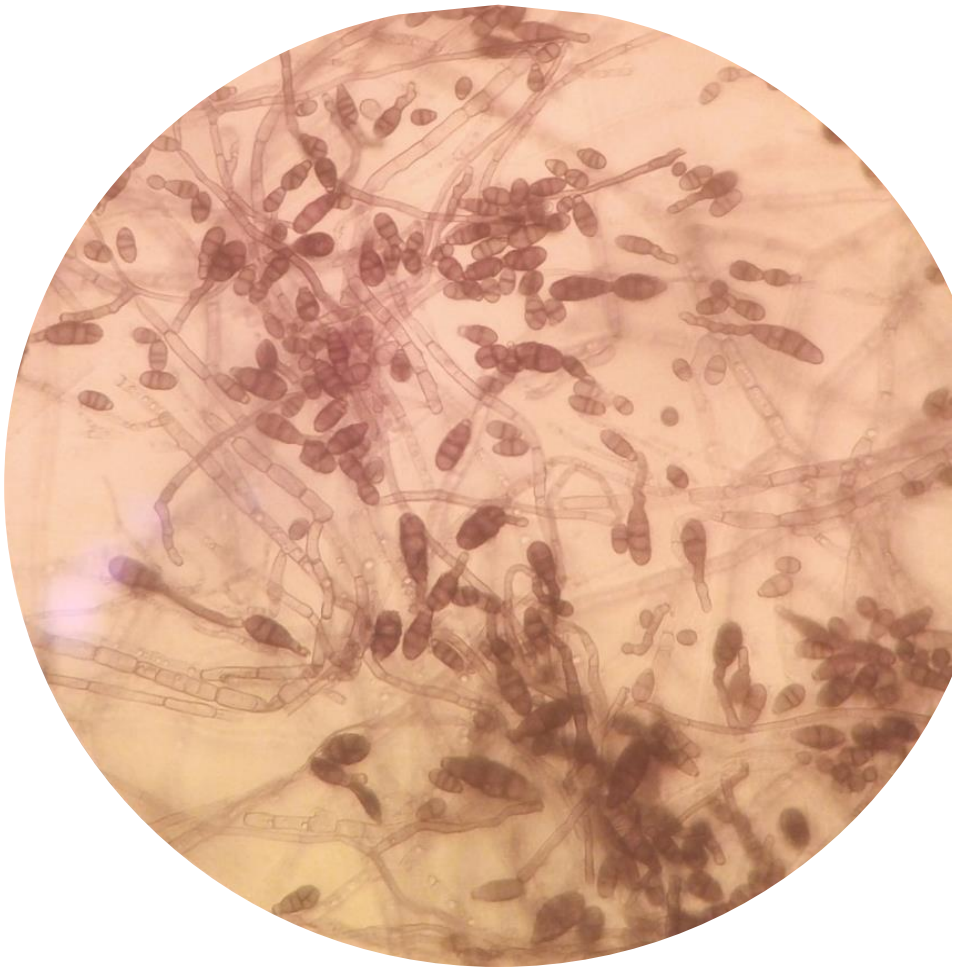


Figure 7 : Photo de *Alternaria sp.*

V.2 Analyse des résidus des pesticides sur les fruits de tomate

Le tableau 1 montre que le mancozeb était présent dans la solution obtenue à partir des peaux de tomates alors qu'il (mancozeb) était absent dans la solution obtenue à partir de la chair.

Une tache tendant vers la couleur mauve est apparue à 5.6 cm du niveau perpendiculaire à l'endroit où nous avions déposé la solution standard.

$$\text{R } standard = \frac{\text{distance parcourue par la substance}}{\text{distance parcourue par le solvant}} = \frac{5.6}{10} = 0.56\text{f}$$

Table 1 : Niveau d'élution du composé standard et celui des échantillons à analyser

Échantillon	Solution peau de tomate	Solution chair de tomate
Présence d'un composé au même niveau que le composé du standard	Oui	Non

V.3 Evaluation de l'effet des bactéries bénéfiques pour le contrôle de *Alternaria solani* de la tomate

V.3.1 Test de confrontation *in vitro*

La figure 8 montre les confrontations *in vitro* de *Alternaria solani* contre *Bacillus nakamurai* (à gauche), contre *Bacillus velezensis* QST 713 (à droite) et le témoin non confronté (au milieu)



Figure 8 : Confrontations in vitro de *Alternarai solani* contre *B. nakamurai* et *B. velezensis*

La figure suivante (nº9) montre le niveau d'inhibition offert par *Bacillus nakamurai* et *Bacillus velezensis* QST 713 selon le test de confrontation réalisé *in vitro*

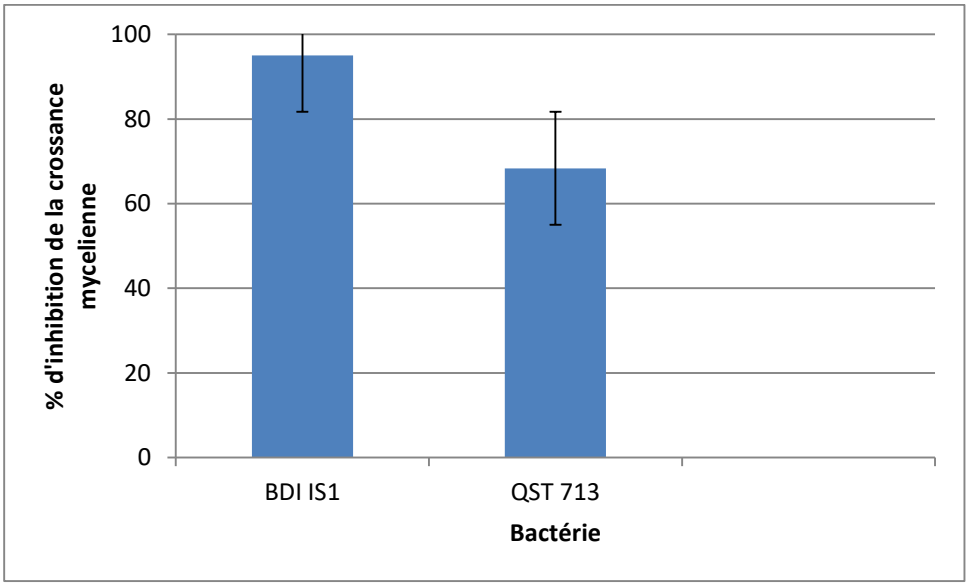
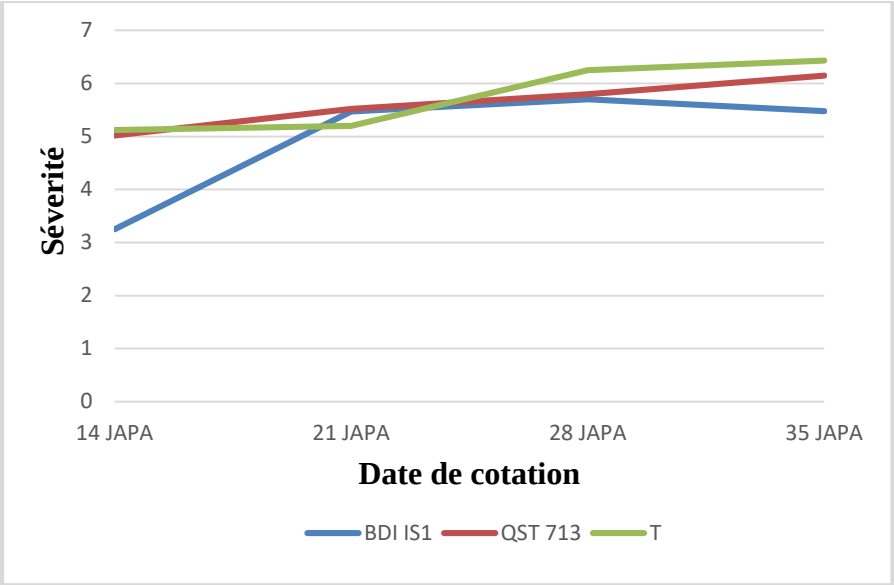


Figure 9 : Croissance de *Alternaria solani* face à *Bacillus nakamurai* et *Bacillus velezensis* QST 713.

Le pourcentage d'inhibition est d'environ 65 et 95% respectivement pour *Bacillus velezensis* QST 713 et *Bacillus nakamurai*

V.3.2 Essai au Champ

La figure 10 montre l'évolution des symptômes de *Alternaria solani* en champ traité avec *Bacillus nakamurai* (BDI IS1) et *Bacillus velezensis* QST 713. T est le témoin



JAPA : Jours Après la Première Application du fongicide

Figure 10 : Evolution de la sévérité de l'alternariose de la tomate en fonction du temps

La figure 10 suggère que *Bacillus nakamurai* agit précocement contre *Alternaria solani* alors que *Bacillus velezensis* QST 713 inhibe la vitesse de progression de *Alternaria solani*. Encore plus, nous voyons que le niveau de séverité de l'aternariose de la tomate reste inférieur pour les parcelles traitées avec *Bacillus nakamurai* à la dernière cotation

La figure 11 (ci-bas) montre l'aire sous la courbe de progression de l'alternariose de la tomate dans un champ dont les parcelles étaient traitées avec *Bacillus nakamurai* (BDI IS1) et *Bacillus velezensis* QST 713 tout en gardant les parcelles témoins (T) non traitées

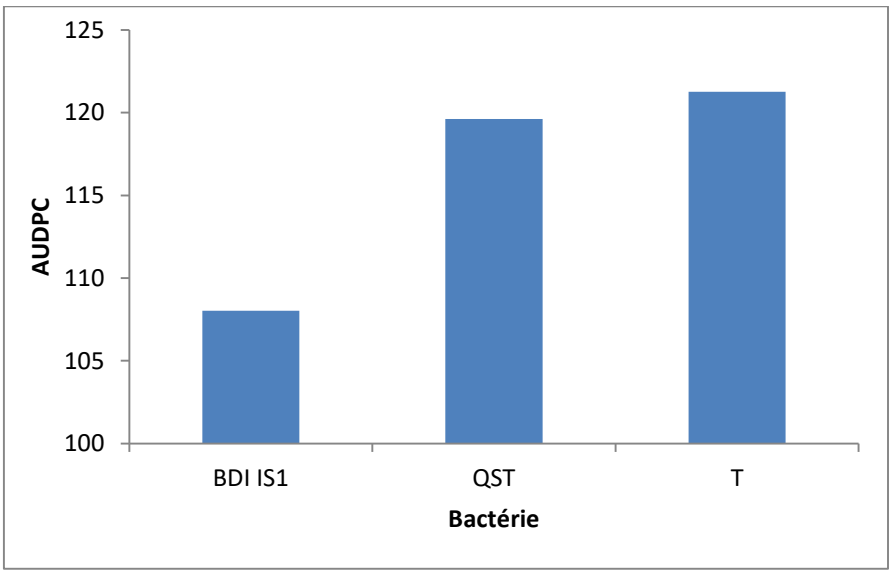


Figure 11 : AUDPC de *Alternaria solani* face à *Bacillus nakamurai* et *Bacillus velezensis* QST 713

Cette figure indique que, après toutes les cotations, la sévérité globale de la maladie est basse pour les parcelles traitées avec *Bacillus nakamurai* contrairement à celles traitées avec *Bacillus velezensis* QST 713 dont la sévérité approche le témoin

Table 2 : Comparaison par paire entre les traitements selon le test de Wilcoxon

Traitement	BDI	QST 713
QST 713	$3.4e^{-06}$	-----
BDI IS1	------	$3.4e^{-06}$
T	$1.9e^{-07}$	0.85

Le tableau 2 montre la comparaison par pair de l'effet de biocontrôle offert par *Bacillus nakamurai* BDI IS1, *Bacillus velezensis* QST 713 et le témoin contre *Alternaria solani*

VI. Discussion des résultats

VI.1 Identification des pathogènes majeurs de la tomate

Les agents pathogènes qui affectent la santé des plantes constituent une menace chronique pour la production alimentaire et la stabilité des écosystèmes. L'utilisation croissante d'intrants chimiques entraîne plusieurs effets négatifs tels que la résistance des agents pathogènes et des effets néfastes sur l'homme et l'environnement.

Les maladies des cultures trouvées (causées par deux champignons dont *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*) sont dans la marge des résultats attendus. En effet, plusieurs auteurs (Doolittle, 1993 ; Loiseau, 2010 ; Rakotoarimanga *et al.*, 2014 ; Hamini, 2011 ; Duval, 1991) ont eux-aussi montré que ces microorganismes sont pathogènes pour la tomate et qu'ils peuvent attaquer même les fruits. Ainsi, Rakotoarimanga et *al.* (2014) ont pu isoler le *Fusarium sp.* à partir des tomates pourries, au Madagascar. Quant à l'altérnariose, Boutoumou et Boumaza (2016) ont isolé *l'Alternaria sp*. à partir des fruits de tomate algérienne qui présentaient des symptômes de la maladie.

Mais, comme nous l'avons décrit précédemment, *Fusarium* sp. est un microorganisme vivant dans le sol sous forme de chlamydospores mais peut se retrouver dans la plante en entrant par les racines. Alors, si ce microorganisme du sol a pu provoquer des symptômes de maladie sur le fruit qui généralement apparaît après plus de trois mois de traitement avec des produits phytosanitaires qui étaient censés les anéantir, cela montre que les produits utilisés sont inefficaces contre la fusariose. En effet, le mancozeb, qui est le plus utilisé dans la lutte phytosanitaire contre les maladies fongiques au Burundi (Okonya *et al.*, 2019), est un fongicide de contact à action préventive (Sylviane, 2020). Or, ce type de fongicide reste à la surface du végétal sur lequel on l'applique tel que décrit pour le mode d'action des fongicides. Cela prouve que le mancozeb et ses homologues (fongicides de contact à action préventive) ne permettent pas d'assurer ni un traitement préventif ni un traitement curatif contre la fusariose qui entre par les racines (Hamini, 2011).

Quant à la présence de *Alternaria sp.*, il attaque les parties aériennes de la tomate mais ses spores peuvent même hiberner dans le sol (CDP, 2016) et l'infection se produit lorsque ces spores entrent en contact avec les feuilles ou lorsqu'elles sont projetées sur ces dernières par le vent ou la pluie. Alors, si ce champignon aérien a pu provoquer l'altération des fruits alors que les fongicides utilisés sont appliqués en grandes quantités mais aussi à des intervalles de traitement réduits, cela pourrait s'expliquer par les hypothèses suivantes : (a) les fongicides de

contact utilisés ne sont pas efficaces suite aux conditions d'utilisation comme l'application du fongicide après colonisation de la plante par des pathogènes (Sanssené *et al*., 2008) ; (b) Ils ont été inefficaces suite à leur sensibilité à l'action des rayons ultra-violets et/ou au lessivage réduisant leur durée de rémanence (Davy, 2016) ; (c) Les fongicides se seraient volatilisés juste après application (Pflieger, 2009) ouvrant ainsi les barrières aux infections.

Pour lutter contre ces deux champignons, l'utilisation d'un fongicide systémique à action curative pourrait être efficace. L'utilisation du mancozeb n'est plus autorisée en Europe (EU) depuis le 31 janvier 2021 bien qu'il soit encore d'usage au Burundi. L'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a conclu que le mancozeb est toxique pour la reproduction, cancérogène et est un perturbateur endocrinien pour l'homme (Sylviane, 2020).

Cette recherche initiée a montré que *Fusarium* sp. et *Alternaria* sp. menacent la culture de tomate dans la plaine de Bujumbura et que les pesticides chimiques d'usage pour la lutte contre les maladies se révèlent sans effets et pourtant des conséquences avérées considérables sur la biosphère et la santé de l'homme existeraient bien que non identifiées. Ces mêmes pathogènes sont connus pour être des menaces de la tomate et bien d'autres cultures dans le monde (Rakotoarimanga *et al*., 2014). Il serait opportun de continuer des recherches pour caractériser la/les souche(s) de ces genres de moisissures menaçant la tomate au Burundi en plus de celles étudiées et de chercher des produits éco-compatibles pour une lutte appropriée.

VI.2 Analyse des résidus des pesticides

Le Rf (Retention factor/rapport frontal) trouvé (en V.2) est très proche de celui trouvé par Tewari et Singhz (1978). Dans les mêmes conditions, la même molécule reproduit le même Rf. Cela suggère que le mancozeb était présent dans la solution obtenue à partir des peaux de tomates mais absent dans la solution obtenue à partir de la chair des tomates. Donc, cette substance active n'entre pas à l'intérieur du fruit de tomate. Cela peut être justifié par le fait que le mancozeb est un fongicide de contact. Par contre, les études de Burchat *et al.* (1998) ont montré la présence du mancozeb dans les tomates lavées et non lavées, dans les jus et pulpes obtenues à partir des tomates lavées et non lavées mais à des concentrations différentes. Il importe de souligner que la technique d'analyse utilisée dans le cadre de cette étude, chromatographie sur couche mince, est moins performante par rapport aux autres techniques chromatographiques plus sensibles (HPLC et GC) utilisées actuellement dans la plupart d'analyses. Nous ne pensons pas que ces résultats des analyses chromatographiques (qui ne coïncident pas totalement avec ceux des autres travaux) seraient liés au fait que nous avons dû recourir à certains produits conservés pendant plus ou moins longtemps et qui, par conséquent,

n'avaient pas leurs qualités originales. Ainsi, dans le monde scientifique, il y a encore des inquiétudes sur les raisons à l'origine de la présence des résidus des pesticides de contact dans la chair des fruits alors que ces derniers ne devraient pas pénétrer à l'intérieur (Aurore, 2022).

VI.3. Evaluation de l'effet des bactéries bénéfiques pour le contrôle de *Alternaria solani* de la tomate

VI.3.1. Test de confrontation *in vitro*

Comme le montre la figure 9, le pourcentage d'inhibition est respectivement de 68.33 et 95% pour *Bacillus velezensis* QST 713 et *Bacillus nakamurai*. Cela démontre qu'il y a une inhibition importante pour *Bacillus nakamurai* par rapport à *Bacillus velezensis* QST 713. Cela serait dû au fait que l'incubation a été effectuée sous une température plus ou moins basse, donc voisine de la température régnant au Burundi. En effet, en incubant à 30ºC, Nihorimbere et *al.* (2021, non encore publié) avaient trouvé que *Bacillus velezensis* était plus efficace que *Bacillus nakamurai*.

VI.3.2 Essai *in vivo*

(1) *Bacillus nakamurai* BDI IS1 réduit la maladie (fig. 10), la maladie a été sensiblement réduite après les deux premiers traitements (première cotation). Mais la maladie a augmenté à la deuxième cotation quitte à paraître comme le témoin qui n'était pas traité. Mais en continuant à traiter nos parcelles, nous voyons que la maladie s'est stabilisée pendant un certain temps (de la deuxième à la troisième cotation). Nous voyons qu'à la quatrième cotation, la sévérité de la maladie a diminué suite peut-être aux feuilles inférieures malades qui chutent alors que les nouvelles feuilles apparaissant ne sont pas attaquées par la maladie. Si nous aurions continué à traiter notre champ, nous pensons que le taux de sévérité de la maladie allait beaucoup diminuer.
(2) Pour *Bacillus velezensis* QST 713, les deux premiers traitements n'ont presque pas réduit la maladie par rapport au témoin. L'effet de cette bactérie se remarque en comparant les parcelles traitées par cette bactérie aux témoins qui n'avait pas été traités. La vitesse d'évolution de la sévérité de la maladie est réduite par rapport au témoin. Ce qui signifie que la maladie est freinée au cours du temps. Nous déduisons que l'utilisation du *Bacillus velezensis* QST 713 n'inhibe pas la maladie, ne la stabilise même pas mais réduit la vitesse d'apparition des symptômes de la maladie.

De nos essais, *Bacillus nakamurai* a réduit l'Alternariose de la tomate plus que *Bacillus velezensis* QST 713. La comparaison par pair montre qu'il y a une différence significative entre *Bacillus nakamurai* & *Bacillus velezensis* QST 713 et *Bacillus nakamurai* & témoin avec des P-value respectifs de $3.4e^{-06}$ et $1.9e^{-07}$ alors qu'il n'y a pas de différence significative entre

Bacillus velezensis QST 713 & le témoin (P-value de 0.85). Mais, de plus amples études restent nécessaires pour que *Bacillus nakamurai* puisse être proposée comme agent de contrôle biologique au Burundi.

VII. Conclusion et recommandation

L'utilisation des fongicides dans la lutte contre les maladies de la tomate reste une problématique au Burundi. Les agriculteurs burundais augmentent les doses et réduisent les intervalles entre les traitements par rapport à celles indiquées sur les emballages en essayant de limiter les dommages causés par les maladies, mais en vain. Ils appliquent, de façon inadaptée, les fongicides. Le mancozeb est le fongicide de contact à préventive le plus utilisé (à tort) pour traiter de façon curative les tomates ; quoiqu'il se révèle inefficace même dans la prévention. Les analyses chromatographiques montrent que le mancozeb (le plus utilisé par les agriculteurs dans la lutte contre les maladies fongiques bien qu'il soit interdit d'usage en Europe pour ses effets de perturbateurs endocriniens, son rôle dans la cancérogénèse et sa toxicité pour la reproduction) reste présent sur les tomates lavées, prêtes à être consommées. Cela montre combien les consommateurs de tomates sont exposés aux résidus du mancozeb. Les recherches ultérieures pourront compléter le présent travail en mettant en relation les habitudes alimentaires, la présence des résidus des pesticides dans les liquides biologiques et l'état de santé des individus concernés par l'étude.

Pour pallier au risque d'exposition des consommateurs des tomates aux résidus des pesticides chimiques, nous avons fait des essais de biocontrôle par utilisation des bactéries bénéfiques. Les essais effectués au laboratoire et ceux réalisés en champ (milieu réel) indiquent que la bactérie *Bacillus nakamurai* (souche isolée au Burundi dans le cadre du projet de recherche pour le développement : PRD 2019 Burundi) est plus efficace, par rapport à *Bacillus velezensis* QST 713, contre l'Alternariose de la tomate. Ainsi, bien que *Bacillus velezensis* QST 713 soit en commercialisation, il n'a pas été efficace dans les conditions de notre expérience. Toutefois, de plus amples recherches s'avèrent nécessaires pour que cette bactérie (*Bacillus nakamurai*) puisse être exploitée en tant qu'agent de biocontrôle. La lutte contre les champignons pathogènes pour la tomate par utilisation des bactéries constituerait une solution aux problèmes des agriculteurs qui essayent de lutter contre les maladies fongiques quitte à récolter les tomates imprégnées de pesticides. L'utilisation de cette bactérie autochtone pourrait aider à produire des tomates plus ou moins saines pour la santé du consommateur sans compromettre même la santé du l'agriculteur applicateur de ces pesticides et l'environnement. Il serait important de chercher à optimiser les potentialités de cette souche (*Bacillus nakamurai*).

Références bibliographiques

Abbas A. , Shahid Ullah Khan S.U., Khan W.U, Saleh T.A., Khan M.H.U, Ullah S., Ali A. et Ikram M. 2019. Antagonist effects of strains of Bacillus spp. against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides. C. R. Biologies 342. 124–135 https://doi.org/10.1016/j.crvi.2019.05.002

Abrahamowicz M., Sylvestre M. P. 2011. Modélisation des effets cumulatifs des expositions et des facteurs pronostiques. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique 59S. S5–S6

Adimi, I.S. 2018. Recherche et analyse des résidus de pesticides dans la tomate et la courgette cultivées dans la région de Boudouaou et Douaouda. 111p. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure Agronomique.

Anastassiadou M., Arena M., Auteri D., Brancato A., Bura L., Cabrera L.C., Chaideftou E., Chiusolo A., Crivellente F., De Lentdecker C., Egsmose M., Fait G., Greco L., Ippolito A., Istace F., Jarrah F., Kardassi D., Leuschner R., Lostia A., Lythgo C., Magrans O., Mangas I., Miron I., Molnar T., Padovani L., Morte J. M. P., Pedersen R., Reich H., Santos M., Sharp R., Szentes C., Terron A., Tiramani M., Vagenende B. et Villamar-Bouza L. 2020. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance Bacillus amyloliquefaciens strain QST 713 (formerly Bacillus subtilis strain QST 713). EFSA Journal. 19:1.6381. doi: 10.2903/j.efsa.2021.6381

Arias L.A., Bojacá C. R., Ahumada D. A. et Schrevens E. 2013. Monitoring of pesticide residues in tomato marketed in Bogota, Colombia. Food Control 35. 213-217

Arora N. K., Verma M., Prakash J. et Mishra J. 2016. Regulation of Biopesticides: Global Concerns and Policies. Springer India. 283-299

Aurore B., 2022. Détermination et utilisation des facteurs de transformation des résidus de pesticides suite au processing de fruits et légumes. Prom. : Bragard, Claude ; Hanot, Vincent http:// hdl.handle.net/2078.1/118324

Bachir B. S., 2017. Etude In vitro et In vivo du pouvoir pathogène de Fusarium oxysporum sur variétés fixes et hybrides de tomate (Lycopersicon esculentum Mill). 84p. Mémoire de master en Protection des cultures, Université Abdelhamid Ibn Badis.

Baldi I., Cordier S., Coumoul X., Elbaz A., Payrastre G. L., Lebailly P., Multigner L., Rahmani R., Spinosi J. et V. Maele-Fabry G., 2019. Pesticides : Effets sur la santé. Inserm. ISBN 978-2-85598-906-X

BASF 2019. Résistance aux produits phytosanitaires : qu'est-ce qu'un mode d'action ? In Site français pour les professionnels de l'agriculture.

https://www.agro.basf.fr/fr/produits/prevention_des_resistances_aux_produits/qu_est_ce_qu_un_mode_d_action/#:~:text=Action%20multiples-,Les%20principaux%20modes%20d'action%20fongicides,fongicides%20utilis%C3%A9es%20sont%20des%20unisites.

Baud M., Cohen R., Dumont G., Mercier M., Naudin C. et VassaulP A., 1989. Protocoles d'évaluation de la limite de détection d'une méthode analytique. ImmunoanaL BioL Sp~c. (1989) 14, 17-27

Bayer 2021. Tous les fongicides. In site de Bayer-agri.fr. https://www.bayer-agri.fr/produits/tous-les-fongicides/

Beaune P. 2001. Alimentation et cancer : interactions entre génétique et xénobiotiques. Gastroenterol Clin Biol . 25:B20-B25

Belhamel K., 2016. First International Congress of Biotoxicology and Bioactivity. Algerian Journal of Natural Products. 4 :2. ISSN: 2353-0391

Belpoggi F., Soffritti M., Guarino M., Lambertini M., Cevolani D., et Maltoni C., 2002. Results of Long-Term Experimental Studies on the Carcinogenicity of Ethylene-bisDithiocarbamate (Mancozeb) in Rats. Ann New York Academy of Sciences 982: 123–136

Bénard C. 2009. Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. 260p. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques, Nancy Université.

Bessadat N., 2014. Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* responsables des altérations des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. 213p. Thèse de doctorat en microbiologie dans l'option de contrôle microbiologique et hygiène alimentaire, Université D'ORAN ES-SENIA.

Blancard D., 1988. Maladies de la tomate. Observer, identifier, lutter. INRA éditions. Paris. 203p.

Blancard D., 2013. Biologie, épidémiologie. site de INRA. http://ephytia.inra.fr/fr/C/5170/Tomate-Biologie-epidemiologie

Blanchet P. et Multigner L., 2008. Pesticides et cancer de la prostate. Progrès en Urologie - FMC 18 : 3. F19-F21

Blanc-Lapierre A., Bouvier G., Garrigou A., Canal-Raffin M., Raherison C., Brochard P., Baldi I., 2011. Effets chroniques des pesticides sur le système nerveux central : état des connaissances épidémiologiques. Revue d'épidémiologie et de Santé Publique. 60. 389–400.

Blogowski A., 2021. PESTICIDES. Site Universalis.fr. https://www.universalis.fr/encyclopedie/pesticides/6-les-modes-d-action-des-pesticides/

Boland J., Koomen I., Joep V.D.J. et Oudejans J., 2004. Les pesticides : composition, utilisation et risques. Pays Bas. Jeroen Boland, Irene Koome. 124p.

Boutoumou H. et Boumaza M. 2016. Etude de l'activité de *Trichoderma sp*. contre l'Alternariose de la tomate. 64p. Mémoire de master en sciences de la nature et de la vie, Université des Frères Mentouri Constantine.

Bretveld R. W., Thomas C. M.G, Scheepers P. T.J., Zielhuis G. A et Roeleveld N. 2006. Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted? BioMed Central. 4:30. 1-14

Brodeur J. C., Poliserpi M. B., Andrea M. F. et Sánchez M. 2014. Synergy between glyphosate- and cypermethrin-based pesticides during acute exposures in tadpoles of the common South American Toad Rhinella arenarum. Chemosphere 112. 70–76

Burchat C. S., Ripley B. D., Leishman P. D., Ritcey G. M., Kakuda Y. et Stephenson G. R. 1998. The distribution of nine pesticides between the juice and pulp of carrots and tomatoes after home processing. Food Additives and Contaminants 15:1. 61-71

Caburet A., Daly P., De Bon H., Huat J., Langlais C., Lyannaz J.P., Ryckewaert (2014). « Les légumes ». Memento de l'agronome. CIRAD – GRET. Quae éditions. P. 1023-1050.

Carisse O., 2008. Comment bien utiliser ses fongicides – systémiques, translaminaires et cie – dans l'oignon. Agriculture et agroalimentaire canada. https://www.agrireseau.net/legumeschamp/documents/Texte Odile Carisse JH 2008_Comment bien utiliser ses fongicides.pdf

Caron M., 2018. Culture de la tomate au jardin. In futura planète. https://www.futura-sciences.com/planete/dossiers/botanique-tomate-reine-legumes-fruits-1675/page/7/#:~:text=Exigences%20de%20la%20tomate,chlorose%2C%20donnant%20un%20feuillage%20jaun%C3%A2tre.

Castronovo V. 2003. Alimentation et cancer. Rev Med Liege; 58 : 4 : 231-239

CCM Benchmark. 2021. Dictionnaire français. In linternaute. https://www.linternaute.fr/dictionnaire/fr/definition/fructification/

CDP 2016. FICHE DIAGNOSTIC. L'alternariose de la tomate. https://www.cliniquedesplantes.fr/fiches/lalternariose-de-la-tomate -:~:text=Il%20se%20transmet%20par%20la,matinales%20ou%20des%20faibles%20pr%C3%A9cipitations.

Ceballos L. et Kastler G. 2004. OGM, sécurité, santé. Ce que la science révèle et qu'on ne nous dit pas. Editions Nature & Progrè. ISBN : 2-904738-25-8

Charlier, C. & Plomteux, G. 2002. Effets perturbateurs endocriniens des pesticides organochlorés. Acta clinica belgica. 2002 :1. 44-49

Chasles V., 2018. Cancers du testicule et expositions précoces aux pesticides. Les Cahiers de la Recherche N° 5 - Santé, Environnement, Travail. 30-32

Cherina P., Voronska E., Fraoucene N. et de Jaeger C., 2012. Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme. Médecine & Longévité 4. 68—74

Daroodi Z., Taheri P. et Tarighi S. 2021. Direct antagonistic activity and tomato resistance induction of the endophytic fungus *Acrophialophora jodhpurensis* against *Rhizoctonia solani*. Biological Control 160. 104696 https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104696

Davet P., Khatib H. et Sardy G., 1972. Les Principaux Problèmes Phytopathologiques de la Culture de la Tomate au Liban.

Davy A., 2016. Rappel sur le comportement des différents fongicides et impacts pratiques sur leur utilisation. Site de l'Institut Français de la vigne et du vin. https://www.vinopole.com/uploads/tx_vinoexperimentation/Comportement_fongicides_Impacts_pratiques_IFV_Vinopole_2016.pdf

de Córdova M.L.F. & Martínez E.J.L., 2021. Protocols for Extraction of Pesticide Residues. Springer Nature. Switzerland. 48. 77-128

De Lannoy C., 2001. « Les légumes ». Agriculture en Afrique tropicale. Romain H. R. Bruxelles : Goekint Graphics. P. 421-546.

Debbarh I., Titier K., Deridet E., and Nicholas 2004. Identification and Quantitation by High-Performance Liquid Chromatography of Mancozeb Following Derivatization by 1,2-Benzenedithiol. Journal of Analytical Toxicology. 28. DOI: 10.1093/jat/28.1.41

Demeule E., 2020. Effet répressif de *Bacillus subtilis* et de *Bacillus pumilus* envers *Rhizoctonia solani* sur tomate et concombre de serre. Mémoire de master en biologie végétale ; Université Laval. 53p.

Deuse J.P.L., Schiffers B.C., Cooper J.F., Jourdain D., et Wynn N.R. 1996. La situation actuelle de l'utilisation des pesticides dans les pays du sud: problèmes et solutions. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent. 61 : 2b. 663- 668. https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/120013/1/MedFacLandbouww.1996.B.Schiffers.pdf

Doolittle S.P., Taylor A.L., Danielson L. L 1993. Les maladies de la tomate. prophylaxie et traitement. Paris. Centre Régional d'éditions Techniques. 128p.

Duval, J. 1991. Les fusarioses de la tomate. In site de Ecological Agriculture Projects. https://eap.mcgill.ca/agrobio/ab320-05.htm

EPA, 2012. Biopesticide registration action document *Bacillus subtilis* strain QST 713. PC Code 006479.

Essalmani H. et Lahlou H., 2003. Mécanismes de bioprotection des plantes de lentille par *Rhizobium leguminosarum* contre *Fusarium oxysporum* f. *sp. lentis*. C. R. Biologies 326. 1163–1173

Fabre M., 2020. [La mondialisation dans l'assiette] la tomate industrielle, un concentré de dérives. In Novethic. https://www.novethic.fr/actualite/environnement/agriculture/isr-rse/la-mondialisation-dans-l-assiette-la-tomate-industrielle-un-concentre-de-derives-148857.html

FAO 1983. Recueil et évaluation des données sur les pertes de céréales vivrières causées par les ravageurs et maladies avant la récolte. Rome : FAO. 124p.

FAO 2012. Techniques de production de semences de tomate au Sénégal. DAKAR. http://www.fao.org/3/a-az783f.pdf

FAO 2017. Soumission et l'évaluation des données sur les résidus de pesticides aux fins de l'estimation de limites maximales de résidus dans les denrées alimentaires et aliments pour animaux. 3ème édition. Rome : M. Kevin Bodnaruk. 314p.

FAO 2019. La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture. Aller plus loin dans la réduction des pertes et gaspillage de denrées alimentaires. Rome. 175p. http://www.fao.org/3/ca6030fr/ca6030fr.pdf

Farr S. L. , Cooper G. S., Cai J., Savitz1 D. A. et Sandler D. P., 2004. Pesticide Use and Menstrual Cycle Characteristics among Premenopausal Women in the Agricultural Health Study. American Journal of Epidemiology. 160:12. 1194–1204.

Fatima, K. 2019. Identification et caractérisation du *phytophthora infestans* agent pathogène du mildiou de la pomme de terre et essai de lutte biologique. Thèse de doctorat en phytopathologie, Université d'Oran-1. Ahmed Ben Bella. 54p.

Fishel F. M. et Dewdney M., M. 2015. Fungicide Resistance Action Committee's (FRAC) Classification Scheme of Fungicides According to Mode of Action. In site de UF/IFAS Extension. https://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/PI/PI13100.pdf

Gölles M., Bravin E., Kuske S. et Naef A., 2015. Enjeux de la production de pommes sans résidus. Recherche Agronomique Suissee 6 : 1. 12–19.

Gosselin A. et Trudel M.J., 1984. Interactions between root-zone temperature and light levels on growth, development and photosynthesis of lycopersicon esculentum mill. Cultivar 'vendo. Scientia Horticulturae. 23 :1984. 313-321.

Gupta S. et Dikshit A.K. 2010. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. Journal of Biopesticides 3 (1 Special Issue) 186 – 188

Hafizi R., Salleh B. et Latiffah Z. 2013. Morphological and molecular characterization of *Fusarium. solani* and *F. oxysporum* associated with crown disease of oil palm. Brazilian Journal of Microbiology 44:3. 959-968.

Hamini N., 2011. Diversité génétique des populations de Fusarium pathogène de la tomate sur le pourtour méditerranéen. 31p. Thèse de doctorat en microbiologie, Université d'Oran.

Hefni M. A., Bhaumik J., El-Toukhy T., Kho P., Wong I., Abdel-Raxik R. et Davies A. E., 2005. Safety and Efficacy of Using LigaSure Vessel Sealing System for Securing the Pedicles in Vaginal Hysterectomy: Randomised Controlled Trial. Gynecology. 112:359-377

Herzine, A. 2016. Etudes des effets neurodéveloppementaux induits par l'exposition périnatale à un pesticide, le glufosinate d'ammonium De la neurogenèse au comportement. 190p. Thèse de doctorat en sciences biologiques et chimie du vivant ; Université d'Orléans.

Hodgson L. et Cadorette M., 2019. Une brosse à dents pour polliniser vos tomates? Pourquoi pas! site les radieuses magazine. https://lesradieuses.com/une-brosse-a-dents-pour-polliniser-vos-tomates-pourquoi-pas/

HRAC 2021. About Herbicide Resistance Action Committee. Site du comité de resistance aux herbicides. https://www.hracglobal.com/who-we-are/about https://www4.unfccc.int/sites/SubmissionsStaging/NationalReports/Documents/095643 7821_Burundi-NC3-1-Burundi TNC_FINAL.pdf

Imane G. et Lanez T. 2014. Evaluation de risque mutagene et cancerogene de pesticide Dicofol utilisés par les agriculteurs dans la région d'El-oued. Inesma. 1. 43-47

INPN 2020a. *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. Taxonomie. Site naturefrance. https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/868728/tab/taxo

INPN 2020b. *Fusarium oxysporum* f. hyalinum Brunaud. Taxonomie. https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/869983/tab/taxo?lg=fr

IRIIS 2021. Fusariose des racines et du collet – Tomate. In site du CRAAQ. https://www.iriisphytoprotection.qc.ca/Fiche/Champignon?imageId=8224

IUPAC, 2007. Glossary of terms used in toxicology, 2nd edition. Pure Appl. Chem. 79:7. 1153–1344.

Kansie Y.J., 2017. Evaluation de l'aptitude à la production en saison humide et des qualités organoleptiques de variétés de tomates (*Solanum lycopersicum* L.) au Burkina Faso. 52p. Mémoire du cycle ingénieur en développement rural, option d'agronomie. Université Nazi Boni.

Kesse-Guyot E., Péneau S., Méjean C. , de Edelenyi F.S. , Galan P. , Hercberg S. , Lairon D. 2013. Profiles of Organic Food Consumers in a Large Sample of French Adults: Results from the Nutrinet-Sante Cohort Study. PLoS ONE 8(10): e76998 doi:10.1371/journal.pone.0076998

Konfe Z., Zonou B. et Hien E. 2019. Influence d'intrants innovants sur les propriétés du sol et la production de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) et d'aubergine (*Solanum melongena* L.) sur un sol ferrugineux tropical en zone soudano-sahélienne au Burkina Faso. International Journal of biological and chemical sciences. 13 :4. 2129-2146.

Kulimushi P.Z., 2017. Potentiel de *Bacillus amyloliquefaciens* pour lutter contre les maladies fongiques endémiques du maïs au sud Kivu: efficacité et mode d'action. Thèse de doctorat en sciences agronomiques et ingénierie biologique, Université De Liège Gembloux Agro-Bio Tech. 161p.

Lande A., 1979. Possibilités de réduction des quantités de produits phytosanitaires utilisés en agriculture. Luxembourg. Office des publications officielles des communautés européennes. 168p.

Laterrot H. 2013. Production et données économiques de la tomate. Editions Quae INRAE. http://ephytia.inra.fr/fr/C/4945/Tomate-Production-et-donnees-economiques-de-la-tomate

Laure G. 1994. La tomate en révolution permanente. Semences et Progrès. 78 : 20-34. http://biblio.rsp.free.fr/Pdf/SemEtProgres/Tomates.pdf

Leroux P. 2003. Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes. Comptes rendus biologies. 326 : 2003. 9–21.

Leveau P. 2016. Intoxications aiguës par des produits phytosanitaires chez l'enfant. Journal Européen des Urgences et de Réanimation. 203 : 7. https://doi.org/10.1016/j.jeurea.2016.09.002

LFDA 2002. Conférence de presse du 20 septembre 2002. Homme, nature et pesticides. Paris.

Lisa 2016. Burundi: les agriculteurs mis en garde contre l'utilisation "erronée" des pesticides sur la tomate. In site French.CHINA.ORG.CN. Burundi: les agriculteurs mis en garde contre l'utilisation "erronée" des pesticides sur la tomate (china.org.cn)

Liu Y. et Gunten H.R.V. 1988. Migration Chemistry and Behaviour of Iodine Relevant to Geological Disposal of Radioactive Wastes A Literature Review with a Compilation of Sorption Data.

Loiseau E. 2010. Alternariose de la Tomate *(alternaria solani*). In Promété. http://www.promete.fr/

Loudjani. A.A.E. 2018. Etude Expérimentale et Modélisation de l'effet du sel sur l'équilibre liquide-liquide des systèmes ternaires (Eau + Acide Acétique + Solvant). Thèse de doctorat en Chimie Industrielle.

Lugtenberg B. et Kamilova F. 2009. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. Annu. Rev. Microbiol. 2009. 63:541–56. Doi : 10.1146/annurev.micro.62.081307.162918 .

Marete G M., Shikuku V. O., Lalah J.O., Mputhia J. et. Wekes V. W., 2020. Occurrence of pesticides residues in French beans, tomatoes, and kale in Kenya, and their human health risk indicators. Environ Monit Assess. 192: 692

Mbeguie-a-mbeguie, D. 2013. Physiologie de la Maturation du Fruit et Elaboration de la Qualité. 47p. Mémoire présenté pour obtenir : l'habilitation à diriger des recherches. Institut polytechnique de Toulouse.

Ministère de l'agriculture et de l'élevage & la FAO-Burundi 2013. Cadre stratégique pour le développement de l'horticulture au Burundi. Rome : FAO. 90p.

Ministère français de l'agriculture et de l'alimentation 2020. À partir du 1er janvier 2019, seuls les produits phytopharmaceutiques d'origine naturelle seront disponibles pour les jardiniers amateurs. Site du ministère français de l'agriculture et de l'alimentation. https://agriculture.gouv.fr/jardiner-avec-des-produits-dorigine-naturelle

Ministère français des solidarités et de la santé 2019. Une réglementation stricte pour maîtriser les risques des pesticides. In site du ministère français des solidarités et de la santé. https://solidarites-sante.gouv.fr/sante-et-environnement/risques-microbiologiques-physiques-et-chimiques/pesticides/article/une-reglementation-stricte-pour-maitriser-les-risques-des-pesticides

Mohammed, A. 2017. Caractérisation et lutte biologique vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*. 83p. Thèse de doctorat en microbiologie. Université d'Oran 1. 83p.

Nimpagaritse D., 2019. Guide de bonnes pratiques de production des fruits et légumes. Shanhua : world vegetable center.79p.

Niyongere C., Mbonihankuye C., Mutshail G.et Yamuremye A. 2015. Utilization of pesticides in smallholder horticulture production pinpoint the need for cropping system changes in Burundi. ISHS. 213-220. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1105.30

Okonya S.J., Petsakos A., Suarez V., Nduwayezu A., Kantungeko D., Blomme G., Legg J. P. et Kroschel J. 2019. Pesticide Use Practices in Root, Tuber, and Banana Crops by Smallholder Farmers in Rwanda and Burundi. International journal of envirnemental reseach and publication health. 16 : 400. http://dx.doi.org/10.3390/ijerph16030400

OMS, 1989. Effets sur la santé de l'exposition professionnelle à des agressions multiples. Suisse. OMS. 88p

OMS, 1997. Guide pour le calcul prévisionnel des quantités de résidus de pesticides apportées par l'alimentation. Révision. Suisse. OMS. 37p.

Ongena, M. et Jacques, 2007. Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. Trends in Microbiology. 16 : 3. 115-125

Ooreka 2020. Alternariose de la tomate. In site des experts en jardinage. https://jardinage.ooreka.fr/astuce/voir/462517/alternariose-de-la-tomate -:~:text=Alternariose%20de%20la%20tomate%20%3A%20sympt%C3%B4mes,d%C3%A9veloppement%20des%20taches%20est%20concentrique

Payrastre G. et Lukowicz C. 2017. Les effets des mélanges de pesticides. Cahiers nutrition diététique. 52 : 2017. 234-238. http://dx.doi.org/10.1016/j.cnd.2017.03.002

Payrastre G. L., Lukowicz C. 2017. Les effets des mélanges de pesticides. Cahiers de nutrition et de diététique. 52. 232-234

Payrastre, G. L. 2011. Effets physiopathologiques des mélanges de pesticides. Cahiers de nutrition et de diététique. 46. 82-85

Pérez-Garcıá A., Romero D. et de Vicente A., 2011. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. Current Opinion in Biotechnology 22. 187-193. http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2010.12.003

Petit J., 2014. Identification et validation fonctionnelle de gènes candidats contrôlant la composition de la cuticule chez le fruit de tomate. 168p. Thèse de doctorat en Sciences de la vie et de la santé. Université de Bordeaux I.

Pflieger M., 2009. Etude de la dégradation photochimique des pesticides adsorbés à la surface de particules atmosphériques. 261p. Thèse de doctorat en sciences de l'environnement. Université de Provence.

PNUE, FAO et OMS 1989. Guide pour le calcul prévisionnel des quantités de résidus de pesticides apportés par l'alimentation. Génève. OMS.28p.

Rakotoarimanga N., Zananirina J., Ramamonjisoa D. et 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.

Rick A. Relyea, 2004. Synergistic impacts of malathion and predatory stress on six species of north american tadpoles. Environmental Toxicology and Chemistry. 23 : 4.1080–1084

Rizzati V. , Briand O. , Guillou H. , Payrastre G. L., 2016. Effects of pesticide mixtures in human and animal models: An update of the recent literature. Chemico-Biological Interactions 254. 231-246

Rurema D.G., 2019. Troisième communication nationale sur les changements climatiques. Bujumbura. Fem.

S.F. 2021. Données statistiques sur les pesticides. In site du sénat français. https://www.senat.fr/rap/l02-215-2/l02-215-239.html

Sainte-agathe 2020. Les maladies cryptogamiques de la tomate. In aujardin.info. https://www.aujardin.info/fiches/maladies-cryptogamiques-tomate.php

Sanssené, J. Selim, S. Roisin-Fichter C. Didier-Laurent L. Dubournet P. Maumené, C. 2008. Le test ADN « qPCR » pour l'efficacité des fongicides. Perspectives agricoles. 35

Shoda M., 2000. Bacterial Control of Plant Diseases. Journal of Bioscience And Bioengineering. 89 : 6. 515-521

Spooner D.M., Anderson G.J., et Jansen R.K., 1993. Chloroplast DNA evidence for the interrelationships of tomatoes, potatoes, and pepinos (Solanaceae). American Journal of Botany 80: 6. 676-688

Stummer B.E, Zhang X. , Yang H. et Harvey P.R., 2022. Co-inoculation of *Trichoderma gamsii* A5MH and *Trichoderma harzianum* Tr906 in wheat suppresses in planta abundance of the crown rot pathogen *Fusarium pseudograminearum* and impacts the rhizosphere soil fungal microbiome. Biological Control 165. 104809

Sylviane N. 2020. Questions remises à la présidence du Sénat ✳ RÉPONSES des ministres aux questions écrites. In site du journal officiel du sénat de la république française. 32 :2020. 3421-3545. https://www.senat.fr/questions/jopdf/2020/2020-08-06_seq_20200032_0001_p000.pdf

Tewari S. N. et SINGHz R. 1978. Thin-layer chromatographic technique for the separation and identification of carbamate pesticides in post mortem materiai.

Thevenin N., 2017. Compréhension et optimisation d'un procédé de biodégradation d'effluents agricoles composés de pesticides en mélange. 291p. Thèse de doctorat en Biologie des organismes. UNIVERSITE DE HAUTE-ALSACE.

Thomas C.S., et Ralf I. N., 2015. Mode of action classification and insecticide resistance management. Pesticide biochemistry and physioly. 121 : 122-128. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.014

Tivoli, B. 1988. Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de Fusarium rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. Agronomie 8 : 3. 211-222

Toni H. et Djossa B. A. 2019. Pollinisation de la tomate dans la commune de Kétou. Rev. Ivoir. Sci. Technol. 32 :1. 239 – 258.

Toufouti, Z.H. 2013. Contribution à l'étude des maladies bactériennes de la tomate (Lycopersicon esculentum Mill) cultivée en serres dans l'Est Algérien. 89p. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie Appliquée dans l'option de Microbiologie appliquée, Université Constantine-1.

Toussaint A. et Baudoin J.P. 2010. Biodiversité chez la tomate, stratégie de conservation et valorisation de la collection ''Luc Fichot''. Gembloux Agro Bio Tech.

Trottin-caudal Y., Grasselly D., Millot P. 1995. Maitrise de la protection sanitaire. Paris. Laboureur Issoudun. 174p.

Van der Vliet L., Taylor L., Scroggings R., Harwood M., Michaud J., Acreman J. 2007. Methode d'essai biologique : Essai d'inhibition de la croissance d'une algue d'eau douce. Ottawa (Ontario) : Environnement Canada. 2eme édition. 80p. ISBN 978-0-662-73858-9.

WHO et FAO 2015. Textes du Codex concernant la résistance aux antimicrobiens d'origine alimentaire. Rome. 223p.

Wolterink G., Mahieu K., Kesteren P. V., Graven C., MetruccioF. , Tosti L. , Galbusera C., Galimberti F., Angeli K., Auvray S., Charles S., Jobard J., Fastier A., Gouze M.E., Klegou G., Mercier T. et Printemps N.2016. Toxicological data collection and analysis to support grouping of pesticide active substances for cumulative risk assessment of effects on the nervous system, liver, adrenal, eye, reproduction and development and thyroid system. GP/EFSA/PRAS/2013/02.

Zhou Y., Shie F.S., Piccardo P., Montine T. J., et Zhang J., 2004. Proteasomal Inhibition Induced By Manganese Ethylenebis-Dithiocarbamate: Relevance To Parkinso. Neuroscience 128 (2004) 281–291