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

Contribution à l'étude de l'influence d'une souche de bacillus en tant que biopesticide dans le contrôle biologique des maladies de culture de la tomate

Habonimana, Eloi; Sous la direction du : Dr Ir Nihorimbere Venant

2011-08
UB, FABI
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/2243

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

UNIVERSITE DU BURUNDI

FACULTE DES SCIENCES AGRONOMIQUES

B.P.: 2940 BUJUMBURA – BURUNDI





CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'INFLUENCE D'UNE SOUCHE DE *BACILLUS* EN TANT QUE BIOPESTICIDE DANS LE CONTROLE BIOLOGIQUE DES MALADIES DE CULTURE DE LA TOMATE

Par

Eloi HABONIMANA

Sous la direction de:

Dr Ir Venant NIHORIMBERE
Dr Ir Pascal KAKANA

Mémoire présenté et défendu publiquement en vue de l'obtention du grade d'Ingénieur Agronome

Bujumbura, Août 2011

DEDICACE

A Dieu le tout Puissant,

A nos chers parents, MISIGARO Daniel et MINANI Victoire,

A nos frères et sœur Joël, Olivier, Wackson et Anita,

A notre future épouse,

A la famille SPILIOPOULOS,

A la famille BARANDAGIYE Honoré,

A nos chers cousins et cousines,

A tous ceux qui ont contribué pour l'aboutissement de ce travail,

A tous les étudiants de la FACAGRO,

Nous dédions ce mémoire.

REMERCIEMENTS

La réalisation du présent travail a été le fruit de nos efforts, mais il n'aurait jamais abouti sans le concours de plusieurs personnes, à qui, de près ou de loin, nous voudrions présenter nos vifs remerciements.

A vous nos chers parents, pour nous avoir mis au monde d'abord et ensuite avoir choisi et supporté de nous laisser grandir sur le banc de l'école malgré vos moyens modestes. Que ce travail vous apporte toute l'allégresse que vous méritez.

Nos sincères remerciements et sentiments de respects sont adressés au Dr Ir Venant NIHORIMBERE, Promoteur et Directeur de ce travail, qui, en dépit de ses multiples occupations, a proposé le sujet et nous a guidés avec une compétence sans faille. Nous reconnaissons alors que ce travail n'aurait donc vu le jour sans son savoir faire, son courage, son aide et ses remarques pertinentes. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.

Notre grande reconnaissance s'adresse également au Dr Ir Pascal KAKANA, professeur à l'Université du Burundi, faculté des sciences agronomiques (FACAGRO), Co-directeur de ce travail. Sa franche collaboration, ses conseils précieux et ses remarques pertinentes ont été d'une grande utilité. Qu'il soit rassuré de notre profonde estime et notre reconnaissance.

Nous adressons nos vifs remerciements les plus distingués aux familles BARANDAGIYE Honoré ; SPILIOPOULOS, Pasteur Zénon NDAYIZIGA et Pasteur Léopold BANZUBAZE qui nous ont prêté main forte durant toute la période d'expérimentation et de rédaction de ce travail. Qu'ils trouvent dans l'aboutissement heureux de ce travail le couronnement de leurs efforts.

Nous adressons nos remerciements particuliers aux familles Pasteur MPAWENIMANA Dominique et regretté Pasteur Déo HAKIZIMANA d'un suivi rempli d'affection qu'elles ont toujours fait envers nous depuis l'école secondaire. Qu'elles trouvent ici le fruit de leur labeur.

Nos remerciements sont aussi adressés à tous nos éducateurs en général, du primaire à l'université et ceux de la FACAGRO en particulier pour la formation tant morale, humaine et scientifique qu'ils nous ont inculquée et nous a rendu apte à réaliser un tel travail. Qu'ils trouvent ici leur légitime satisfaction.

Enfin, que notre voix de reconnaissance parvienne à la famille Athanase NTIBARUTAYE et à toutes les personnes, qui sans leur affection et leur soutien, ce travail n'aurait pas abouti.

Eloi HABONIMANA

SIGLES ET ABREVIATIONS

T / ha : Tonne par hectare

ANOVA : Analyse de la variance

M.o: Matière organique

E.T: Ecart type

CV : Coefficient de la variance

ISTEEBU : Institut de Statistiques et d'Etudes Economiques du Burundi

CFU: Unités formant des colonies

USA: United State of America

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

Cm: Centimètre

LISTE DES TABLEAUX ET PHOTOS

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Normes d'interprétation des résultats..... 15

Tableau 2 : Dispositif expérimental de l'essai *Bacillus*-tomate-*Fusarium*..... 18

Tableau 3 : Hauteur moyenne des plants de tomate selon qu'ils sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non 21

Tableau 4 : Nombre moyen de feuille par plant (NMFP) selon que les plants sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non..... 22

Tableau 5 : Nombre moyen de fruits par plant (NBMFP) selon que les plants de tomate sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non..... 22

Tableau 6 : Poids moyen en gramme d'un fruit (PMF) selon que les plants de tomate sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non..... 23

Tableau 7 : Diamètre moyen d'un fruit (DMF) selon que les plants de tomate sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non..... 23

Tableau 8 : Rendement obtenu selon que les plants de tomate sont traités ou non..... 24

Tableau 9 : Analyse de la variance pour la hauteur des plants de tomate..... 24

Tableau 10 : Comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5% pour la hauteur des plants de tomate..... 25

Tableau 11 : Analyse de la variance pour le nombre de feuilles des plants de tomate.... 25

Tableau 12 : Comparaison des moyennes selon le Test de Newman-Keuls au seuil de 5% pour le nombre de feuille des plants de tomate..... 25

Tableau 13 : Analyse de la variance pour le poids des plants de tomate..... 26

Tableau 14 : Analyse de la variance pour le nombre de fruits par plant de tomate..... 26

Tableau 15 : Comparaison des moyennes selon le test de Newman –Keuls au seuil de 5% pour le nombre des fruits de tomate..... 27

Tableau 16 Analyse de la variance pour le poids des fruits de tomate..... 27

Tableau 15 : Comparaison des moyennes selon le test de Newman –Keuls au seuil de 5% pour le nombre des fruits de tomate..... 27

Tableau 16 : Analyse de la variance pour le poids des fruits de tomate..... 27

Tableau 17 : Analyse de la variance pour le diamètre des fruits de tomate..... 27

Tableau18 : Comparaison des moyennes selon le test de Newman –Keuls au seuil de 5% pour le diamètre des fruits de tomate..... 28

Tableau 19 : Analyse de la variance pour le rendement en T/ha..... 28

Tableau 20 : Comparaison des moyennes selon le test de Newman –Keuls au seuil de 5% pour le rendement..... 29

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Forme de *Bacillus subtilis*..... 9

Photo 2 : Pépinière de tomate après 10 jours..... 17

Photo 3 : Desséchement généralisé des plants attaqués par la fusariose 30

Photo 4 : Parcelle traitée avec *Bacillus Subtilis* S499 32

Photo 5 : Parcelle non traitée 32

TABLE DES MATIERES

DEDICACES..... i
REMERCIEMENTS..... ii
SIGLES ET ABREVIATIONS..... iii
LISTE DES TABLEAUX..... v
LISTE DES PHOTOS..... vi
TABLE DES MATIERES..... vii
RESUME..... ix
INTRODUCTION GENERALE..... 1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE..... 2
I.1. Avantage des biopesticides..... 2
I.1.1. Conception d'un biopesticide: exemple d'un microorganisme..... 3
I.1.1.1. Choix du microorganisme..... 3
I.1.1.2. Etude du mécanisme d'action d'un biopesticide..... 3
I.1.1.3. Formulation du produit..... 4
I.1.1.4. Enregistrement des biopesticides..... 4
I.2. Désavantage des biopesticides..... 4
I.3. Exemple de biopesticides..... 4
I.4. Les rhizobactéries capables de promouvoir la croissance des plantes..... 5
I.4.1. La rhizosphère et les rhizobactéries..... 5
I.4.2. L'interaction entre les plantes et les rhizobactéries..... 5
I.4.3. Applications dans l'agriculture..... 7
I.5. *Bacillus subtilis*..... 8
I.5.1. Généralités..... 8
I.5.2. *Bacillus subtilis* dans la rhizosphère..... 9
I.5.3. Effets bénéfiques de *Bacillus subtilis* sur les plantes..... 10
I.6. Lipopeptides..... 10
I.6.1. Les antibiotiques produits par *Bacillus subtilis*..... 10
I.6.2. Les différents lipopeptides et leur rôle dans le contrôle biologique..... 11
I.6.2.1. Les surfactines..... 11
I.6.2.2. Les iturines..... 12
I.6.2.3. Les fengycines..... 13
CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES..... 14
II.1. Matériel..... 14
II.1.1. Site de l'expérimentation..... 14
II.1.2. Matériel vegetal..... 14
II.1.3. Les microorganismes utilisés..... 14
II.1.3.1. *Fusarium oxyporum*..... 14
II.1.3.2. *Bacillus subtilis* S499..... 14
II.1.4. Matériel pour installation de l'essai et pour la récolte..... 15
II.1.5. Matériel d'analyse statistique des résultats..... 15
II. 2. Méthodologie de l'expérimentation..... 16
II.2.1. Installation et suivi de l'essai en pépinière..... 16
II.2.1.1. Choix du Site de la pépinière..... 16
II.2.1.2. Installation de la pépinière..... 16
II.2.1.2.1. Préparation des plates-bandes..... 16
II.2.1.2.2. Le semis..... 16
II.2.1.2.3. Conduite des plants en Pépinière..... 17
II.2.2. Méthode d'inoculation des organismes utilisés..... 17

II.2.2. Méthode d'inoculation des organismes utilisés..... 17
II.2.2.1. Méthode d'inoculation de *Bacillus subtilis* S499..... 17
II.2.2.2. Méthode d'inoculation de *Fusarium oxyporum*..... 17
II.2.3. Dispositif experimental..... 18
II.2.4. Transfert des plants..... 19
II.2.5. Les soins culturaux en plein champ..... 19
II.2.6. Collecte des données..... 19
II.3. Détermination du rendement..... 20
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUTION..... 21
III.1. Présentation des résultats..... 21
III.1.1. La taille moyenne des plants..... 21
III.1.2. Le nombre moyen de feuille par plant..... 21
III.1.3. Le nombre moyen de fruits par plant..... 22
III.1.4. Le poids moyen des fruits récoltés à maturité..... 22
III.1.5. Le diamètre moyen des fruist récoltés par parcelle..... 23
III.1.6. Le rendement moyen..... 24
III.2. Analyse statistique des résultants..... 24
III.3. Discussion des résultats..... 29
III.3.1. Comportement des plants après inoculation par *Fusarium oxyporum*..... 30
III.3.2. Les composantes étudiées avant la maturité des fruits..... 31
III.3.2.1. La hauteur des plants..... 31
III.3.2.2. Nombre de feuilles par plant..... 31
III.3.2.3. Poids des plants..... 31
III.3.2.4. Le nombre de fruits par plant..... 31
III.3.3. Les composantes observées après la récolte..... 31
III.3.3.1. Poids moyen de fruits par parcelle..... 31
III.3.3.2. Diamètre du fruit récolté..... 32
III.3.3.3. Le rendement..... 32
CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS..... 33
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... 35
ANNEXE..... 40

R ESUME

La tomate est une culture légumière qui pousse bien dans les différentes zones éco-climatiques et sous une large gamme de type de sol et de pratique culturales. Elle est aussi rentable sur des espaces réduits. Cependant, la tomate accuse une sensibilité importante à de nombreuses maladies qui réduisent considérablement le rendement et la valeur marchande. Pour lutter contre ces maladies, ce sont les pesticides de synthèse qui sont largement utilisés. Il a été remarqué que le recours à ces derniers présente à long terme des effets néfastes sur l'environnement, sur la santé humaine et est à la base d'apparition des mécanismes de résistance chez les pathogènes. Pour cela, le recours à la lutte biologique se présente comme une alternative incontournable pour juguler ce problème.

Dans le présent travail, nous avons mis en évidence l'influence d'une souche de *Bacillus* (*Bacillus subtilis* S499) en tant que biopesticide dans le contrôle biologique de la Fusariose de la tomate. Sachant que cette souche de *Bacillus* est connue depuis longtemps pour sa production de lipopeptides, les travaux d'expérimentations que nous avons réalisés prouvent que ces lipopeptides jouent un rôle d'antibiotiques par induction de la résistance chez la tomate. Les résultats que nous avons obtenus montrent que les plants de tomate des parcelles traitées avec *B. subtilis* S499 ont résisté à la fusariose alors que pour les plants des parcelles témoins ou non traitées, la maladie a évolué rapidement. Enfin, l'objectif de notre travail a été complété par l'évaluation du rendement et les résultats obtenus montrent que l'application de cette souche de *Bacillus* exerce un effet hautement significatif sur le rendement.

Auteur: HABONIMANA ELOI

INTRODUCTION GENERALE

Le Burundi comme les autres pays en voie de développement est un pays à économie essentiellement basée sur l'agriculture. Sa population connaît une croissance galopante. Il est classé parmi les pays les plus densément peuplés d'Afrique avec en moyenne 0,5 ha par ménage (ISTEEBU, 2009). Actuellement, suite aux divers problèmes liés à la dégradation du sol, au morcellement, à l'exiguïté des terres, à la surexploitation des parcelles,... les agriculteurs burundais connaissent des difficultés d'accroître la production agricole et couvrir tous leurs besoins étant donné qu'une grande partie de la population burundaise vit de ce secteur agricole. A cet effet, les cultures légumières en général et la tomate en particulier peuvent constituer une solution à ces problèmes (Chaux et Foury, 1994).

La culture de la tomate est intéressante et est rentable sur des espaces réduits. Cela fait que la tomate possède un marché intérieur et extérieur potentiellement intéressant. Certes, sa productivité ne suffit pas principalement à cause de la présence des agents fongiques qui sont à l'origine des pertes de rendement considérables (Chaux et Foury, 1994). C'est dans ce contexte que nous avons conduit notre recherche dans le but de réduire l'effet des agents pathogènes de la tomate en utilisant des microorganismes antagonistes naturels, représentant un moyen de lutte potentiel alternatif aux produits chimiques. Certaines espèces de *Bacillus* sont parmi les bactéries bénéfiques les plus exploitées comme biopesticides dans la lutte biologique des maladies des plantes (Fravel, 2005).

Dans notre recherche, nous avons utilisé une souche de *Bacillus subtilis* S499 capable de produire des lipopeptides, molécules élicitrices du phénomène d'induction de la résistance chez les plantes. À cette fin, et sur base des résultats d'autres travaux antérieurs menés *in vitro* et *in planta* en rapport avec la production de ces antibiotiques par cette bactérie, notre travail a été conduit dans le but de voir si, en appliquant cette souche dans la rhizosphère de la tomate en plein champs, celle-ci exercerait un effet de protection de ces plantes vis-à vis des maladies causées par des pathogènes locaux. L'objectif principal de notre travail a été complété par l'évaluation du rendement des plantes traitées avec la souche de *Bacillus* en comparaison avec les plantes non-traitées afin de voir l'effet de l'application de la souche au point de vue agronomique.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

Animaux ravageurs, plantes parasites, micro-organismes pathogènes (bactéries, champignons, mycoplasmes, virus), insectes et nématodes sont responsables, chaque année, des pertes de 20 à 40% du rendement des cultures avant récolte et entre 1 et 20% après récolte aux USA (Wojcieh et Lise, 2002). Actuellement, ce sont essentiellement des pesticides de synthèse qui sont utilisés pour lutter contre ces agents ravageurs.

Ces produits chimiques sont considérés comme l'arme la plus efficace pour faire face à ces problèmes, mais ces substances ont des conséquences néfastes (Kouassi, 2001; Thakore, 2006) sur (1) l'environnement comme l'accumulation de résidus et la pollution des sols, (2) l'apparition et la généralisation des mécanismes de résistance chez les pathogènes, (3) le déséquilibre écologique, dû au fait que beaucoup de ces composés de synthèse ont un large spectre d'action, détruisant non seulement les agents nuisibles, mais également les autres populations de l'écosystème.

Au regard de ces inconvénients, il est important de trouver des solutions alternatives qui permettront de continuer à lutter contre les phytopathogènes tout en diminuant l'emploi de produits chimiques. Celles-ci peuvent faire appel à la rationalisation des pratiques agricoles (fumigation-stérilisation en horticulture, désinfection des graines, rotation des cultures, contrôle du vecteur de la maladie,...), à l'utilisation de variétés végétales résistantes (croisements sélectifs, insertion de gènes,...) ou au développement des biopesticides.

I.1. Avantages des biopesticides

Les biopesticides ou agents de lutte biologique, peuvent être définis comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un organisme vivant ou l'un de ses dérivés. Ils peuvent donc être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes) ou de micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis d'agents phytopathogènes, mais aussi de substances d'origine naturelle telles que des extraits végétaux (Thakore, 2006).

Tout comme les autres agents de lutte biologique, les pesticides microbiens sont écologiquement beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des pathogènes contre lesquels ils sont dirigés. Ils sont par conséquent moins dommageables pour les organismes non ciblés de la microflore endogène qui exerce une action bénéfique sur les plantes. De plus, les biopesticides sont souvent efficaces en faibles quantités et leurs activités protectrices peuvent relever de mécanismes multiples et déclenchent donc rarement des phénomènes de résistance chez le pathogène à cause d'une faible pression de sélection. En outre, ils peuvent compléter les pesticides conventionnels une fois utilisés dans les programmes intégrés de la gestion des parasites (Fravel, 2005; Thakore, 2006).

Par exemple, l'intégration du contrôle biologique avec des fongicides, les pratiques culturales, et d'autres mesures peuvent contribuer au contrôle de mildiou sur la tomate (Lourenco Junior et *al*, 2006). Les biopesticides peuvent donc être complémentaires au traitement chimique. Ces agents microbiens sont utilisés à travers le monde dans les champs et dans les serres (Ji et al, 2006; Lee et *al*, 2006; Minuto et *al*, 2006; Saravanakumar et *al*, 2007) pour combattre un grand nombre de maladies causées par des pathogènes du sol, des feuilles ou de post-récoltes (annexe 2). Ces produits ont été développés pour contrôler de multiples maladies sur diverses céréales, légumes, fruits et fleurs (Paulitz et Bélanger, 2001; Fravel, 2005).

I.1.1. Conception d'un biopesticide: exemple d'un microorganisme

I.1.1.1. Choix du microorganisme

Les étapes préliminaires à la conception d'un nouveau biopesticide consistent généralement à rechercher une souche ayant une activité biologique d'après son lieu d'application. Par exemple, dans l'optique de contrôler une maladie contaminant les pommes après leur récolte, la recherche d'un éventuel biopesticide microbien se réalisera en priorité sur la peau des pommes de terre (Janisiewicz et Korsten, 2002).

Les recherches de biopesticides potentiels peuvent aussi être effectuées dans des sols dits suppresseurs. Ce sont généralement des sols sur lesquels les plantes présentent peu, ou pas, de symptômes de maladies. En effet, malgré l'absence de symptômes, il se peut que les pathogènes soient présents et que leur activité soit réduite grâce à des microorganismes ayant une action de biopesticide (Haas et Défago, 2005).

I.1.1.2. Etude du mécanisme d'action d'un biopesticide

Une fois la souche isolée, la compréhension de son mode d'action doit être entreprise. En effet, un biopesticide est souvent actif sur un phytosystème particulier. Des tests *in vitro* doivent alors être réalisés afin de déterminer les éventuelles autres plantes hôtes ainsi que le pathogène contre lequel il est susceptible d'agir. De plus, pour comprendre son mécanisme d'action, il est nécessaire d'étudier l'influence des paramètres environnementaux sur son activité comme les sources de carbone (sucres, acides organiques, acides aminés), les sources d'azote, la température et le pH de développement optimal, l'humidité ou le type de sol (Fravel, 2005). Les tests *in vitro* seront ensuite confirmés par des tests *in vivo*, en serres puis en champs (Nihorimbere et *al*, 2010). En effet, les essais sont souvent réalisés sur un nombre restreint de plantes ou plantules, ou sur des suspensions de cellules végétales. Par ailleurs, ces essais pourront également être soumis aux variations de température et de photopériode dus aux saisons, ou aux effets de possibles pathogènes initialement présents dans le sol. Par exemple, dans un champ de fraisiers infecté par *Verticillium dahlia* et *Phytophtora cactorum*, la bactérie *Serratia* permet de diminuer l'incidence de la maladie de 60% par rapport à des plants non traités par le microorganisme bénéfique (Kurze et *al*, 2001).

I.1.1.3. Formulation du produit

Le biopesticide microbien peut se présenter sous forme de poudre. Cette formulation présente plusieurs avantages, comme une stabilité du produit, un transport facilité et un allongement de la durée de conservation. Le plus souvent, de tels produits contiennent le microorganisme sous forme de spores. Cependant, dans certains cas, le microorganisme utilisé comme biopesticide ne sporule pas. Des alternatives facilitant son utilisation et la durée de conservation de la souche devront alors être appliquées (Fravel, 2005).

I.1.1.4. Enregistrement des biopesticides

Avant d'être vendu, le produit doit être enregistré auprès d'un organisme de certification. Deux facteurs importants interviennent lors de cette étape: la toxicité du produit et son destin environnemental (Fravel, 2005).

1.2. Désavantage des biopesticides

Malgré les avantages de ces agents biologiques, le marché des biopesticides reste toujours limité à cause de certaines contraintes. Premièrement, l'effet protecteur est parfois insuffisant par rapport aux produits chimiques (Shishkoff et McGrath, 2002) ou n'est parfois pas constant, dépendant notamment des conditions du milieu (la température, sol, humidité, la plante hôte, pH, etc.) (Larkin et Fravel, 2002; Mendoza Garcia et *al*, 2003). Deuxièmement, le coût et le délai sont très élevés pour l'enregistrement en Europe, de même que le coût de la production est élevé pour la plupart des agents de biocontrôle (Larkin et Fravel, 2002). Troisièmement, le conditionnement et la formulation sont très difficiles pour des espèces non sporulantes et même parfois pour les espèces sporulantes (Hjeljord et *al*, 2000; Collins et Jacobsen, 2003). D'autre part, les pesticides chimiques peuvent offrir rapidement une activité beaucoup plus efficace, tandis que les biopesticides peuvent avoir besoin de temps après leur application pour commencer à agir. Ils peuvent aussi provoquer le déséquilibre biologique, effet inattendus à long terme.

1.3. Exemples de biopesticides

Bacillus thuringiensis représente presque 70% des ventes de biopesticides à base de microorganismes. C'est une bactérie gram positive capable de lutter contre des lépidoptères via la production d'une endotoxine. La bactérie sporulée est répandue sous forme de poudre sur la culture et est ingérée par l'insecte attaquant la plante. Les spores ainsi ingérées sécrètent des toxines dans l'estomac, entraînant la mort du lépidoptère après quelques jours. *Bacillus thuringiensis* est également utilisé sur le coton, le riz, la tomate et le chou-fleur (Nihorimbere, 2006). Un autre exemple est celui de *Bacillus subtilis* qui protège les cultures de coton, les légumes, le soja contre *Fusarium* et *Rhizoctonia*. La souche de *Bacillus subtilis* S499 peut également stimuler la croissance de certaines plantes (Emmert et Handelsman, 1999; Nihorimbere, 2006).

Le produit peut aussi se composer de champignons, comme par exemple, les spores de *Beauveria*. Une fois en contact avec la cuticule d'un insecte, les hyphes de *Beauveria* pénètrent la cuticule, utilisent les nutriments de l'insecte et sécrètent des toxines, entraînant rapidement la mort de l'insecte (Thakore, 2006).

I.4. Les rhizobactéries capables de promouvoir la croissance des plantes

Certains microorganismes utilisés comme biopesticides peuvent avoir d'autres effets que ceux cités précédemment. En effet, certaines bactéries, en plus de lutter contre des phytopathogènes, sont également capables de stimuler la croissance de la plante. Ces bactéries sont appelées PGPR, Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (Lepoivre, 2003 ; Bent, 2006).

I.4.1. La rhizosphère et les rhizobactéries

La rhizosphère est la partie du sol directement en contact avec les racines des plantes. C'est aussi une zone riche en nutriments, facilitant le développement de microorganismes. Les exsudats racinaires sécrétés par les racines des plantes sont majoritairement constitués d'acides organiques tels que le citrate, le malate, le succinate, le pyruvate, le fumarate, l'oxalate et l'acétate; ou de sucres comme le glucose, le fructose, le maltose, le saccharose, le galactose et le ribose (Kamilova et *al*, 2006a et b; Lugtenberg et *al*, 1999 et Simons et *al*, 1997). Les plantes excrètent également des composés moins importants, tels que des acides α-aminés, des vitamines (thiamine et la biotine) ou des nucléotides (Haas et Défago, 2005).

La rhizosphère est le siège d'interactions multitrophiques entre les plantes et de nombreux microorganismes bénéfiques ou potentiellement pathogènes. Pour être efficientes, les bactéries bénéfiques doivent efficacement coloniser les racines. Cette compétition du système racinaire est facilitée si la bactérie peut aisément utiliser les exsudats sécrétés par la plante. Le chimiotactisme ou la formation de biofilm peuvent également être des éléments clés pour cette compétition. Les flagelles, les lipopolysaccharides de la bactérie ainsi que le pilus peuvent intervenir dans le processus d'adhésion et de colonisation des racines (Haas et Défago, 2005).

I.4.2. L'interaction entre les plantes et les rhizobactéries

Modes d'action

Les bactéries de la rhizosphère encore appelées PGPR, comprennent entre autre les bactéries endophytes bénéfiques telles que les rhizobiums formant des nodules sur les légumineuses (Antoun et Prévost, 2006). Il existe aussi des PGPF (Plant Growth Promoting Fungi) qui sont l'équivalent fongique des PGPR (Bent, 2006).

Les effets bénéfiques des microorganismes sur les végétaux peuvent être classés en quatre catégories: biofertilisation, biocontrôle, effets hormonaux sur la plante et stimulation des interactions entre le végétal et d'autres organismes bénéfiques (Bent, 2006; Choudhary et Johri, 2008). La biofertilisation regroupe toutes les actions sur la disponibilité d'éléments nutritifs. Parmi les microorganismes agissant selon ce mécanisme se trouvent notamment les bactéries fixatrices d'azote atmosphérique et les mycorhizes (Bent, 2006).

Dans le cadre du biocontrôle, les PGPR peuvent agir de manière directe et indirecte. Dans le premier cas, ils entrent en compétition avec les phytopathogènes ou exercent une antibiose sur ces derniers. Les PGPR agissant de manière indirecte activent des systèmes de défense de la plante (Bent, 2006).

Les microorganismes bénéfiques exercent une antibiose sur les pathogènes lorsqu'ils détruisent ces derniers ou inhibent leur croissance via la libération de substances toxiques ou d'enzymes extracellulaires. Celles-ci incluent notamment des glucanases, des chitinases et des protéases (Choudhary et Johri, 2008). Parmi les substances toxiques sécrétées par les microorganismes de la rhizosphère se trouvent de nombreux anti-microbiens ainsi que divers anti-viraux, antihelminthiques,... (Dilantha Fernando *et al*, 2005).

Les PGPR peuvent entrer en compétition avec les pathogènes pour les ressources et pour l'espace (Choudhary et Johri, 2008). La compétition pour le substrat peut porter sur les rhizo-dépôts et d'autres nutriments tels que le fer contenu dans le sol. Certaines propriétés particulières des microorganismes comme la production de sidérophores peuvent améliorer leur compétitivité dans la rhizosphère (Brimecombe *et al*, 2007).

L'activation d'une réaction de défense d'un végétal peut être réalisée selon deux voies principales, l'ISR (induced systemic resistance) et la SAR (systemic acquired resistance) (Ton *et al*, 2006). Le point commun de ces deux voies est que suite à un contact localisé avec un microorganisme particulier, la plante développe de manière systémique une résistance plus élevée aux infections subséquentes par de réels phytopathogènes. Cette résistance perdure généralement sur le long terme et est efficace contre une gamme relativement large de pathogènes (Ongena & Jacques, 2008; Anderson *et al*, 2006). La molécule microbienne déclenchant la réaction de défense chez le végétal est appelée éliciteur (Nihorimbere et *al*, 2009).

La SAR est généralement déclenché suite à une infection par un pathogène peu virulent (Ton *et al*, 2006). Cependant, le phénomène semble également pouvoir être causé par des rhizobactéries non-pathogènes (Ongena et Jacques, 2008). La plante peut détecter la présence des pathogènes grâce à des récepteurs reconnaissant des motifs conservés, les PAMPs (Pathogen associated molecular patterns) (Livaja *et al*, 2008). La SAR peut également être déclenchée dans le cadre de la relation gène pour gène (reconnaissance spécifique entre la plante hôte et le pathogène) (Ton *et al*, 2006).

La signalisation intracellulaire de la SAR peut être réalisée par l'intermédiaire de formes actives de l'oxygène (ROS, reactive oxygen species) tel que le peroxyde d'hydrogène et de l'acide salicylique (Lepoivre, 2003; Ton *et al*, 2006). Ces molécules peuvent également déclencher des modifications dans les cellules voisines à la cellule élicitée (Lepoivre, 2003). La SAR est généralement accompagné d'une réaction hypersensible, c'est à dire de l'apoptose des cellules végétales de la zone infectée (Lepoivre, 2003). Le signal systémique de la SAR est actuellement encore mal connu. (Ton *et al*, 2006).

L'ISR est généralement causée par des PGPR et des PGPF (Bent, 2006). Certains lipopolysaccharides (LPS), sidérophores et antibiotiques peuvent notamment déclencher ce phénomène en tant qu'éliciteurs (Ton *et al*, 2006). Par différence avec la SAR, la signalisation intracellulaire de l'ISR est généralement basée sur une sensibilisation à l'éthylène et au jasmonate. Le signal systémique de l'ISR reste également à être identifié (Ongena & Jacques, 2008).

Généralement, l'ISR ne cause pas de réaction de défense immédiate mais repose plutôt sur la notion de "priming", c'est à dire que la plante exprimera plus rapidement une réaction de défense, similaire à celle observée dans le cas de la SAR, si une infection par un pathogène survient (Ongena et Jacques, 2008, Nihorimbere et *al*, 2010). Il est à noter que les gènes de défenses activés par les deux types de résistances induites sont généralement différents. Ceci entraîne que les pathogènes peuvent être sensibles à l'ISR, à la SAR ou aux deux phénomènes (Ton *et al*, 2006).

En réponse à l'élicitation, le végétal fortifie généralement les parois de ses cellules à l'aide de lignine ou de la cellulose par exemple. La plante peut également synthétiser diverses substances antimicrobiennes telles que les phytoalexines. Les phytoalexines sont des toxines végétales produites de manière inductible par opposition à celles produites constitutivement. Des protéines PR (Pathogenesis Related), dommageables aux phytopathogènes, sont habituellement produites par les végétaux élicités. Ces molécules incluent notamment des chitinases, protéases et des protéines inactivant les ribosomes des espèces éloignées dont les ribosomes fongiques (Lepoivre, 2003).

Il est à noter que les divers mécanismes de promotion de croissance des plantes peuvent se confondre au niveau des effets. Une amélioration de la nutrition peut, par exemple, conduire à une résistance accrue du végétal aux dégâts causés par un pathogène, indépendamment d'un antagonisme direct ou d'une stimulation du potentiel immunitaire de l'hôte végétal (Bent, 2006, Nihorimbere et *al*, 2009).

I.4.3. Applications dans l'agriculture

Divers produits à base de PGPR sont déjà commercialisés et de nombreux autres sont en développement. Parmi les microorganismes bénéfiques commercialement utilisés, le cas particulier de *Trichoderma harzianum* peut être pris comme exemple (Jijakli, 2003).

Aux Etats-Unis, l'utilisation de plusieurs souches de ce PGPF est autorisée dans la lutte contre divers pathogènes fongiques en horticulture et/ou agriculture. Les principaux modes d'action sont l'antibiose et la compétition pour la niche (Jijakli, 2003).

Un succès commercial frappant est celui du produit Kodiak à base *Bacillus subtilis*. Ce biopesticide visant des pathogènes tels que *Fusarium sp.* et *Rhizoctonia sp.* est appliqué sur environ 70% des cultures de coton aux USA. Le mécanisme impliqué semble être une compétition directe avec le pathogène (U.S. Environmental Protection Agency, 2009).

Diverses approches sont envisagées afin d'améliorer les produits commerciaux à base de PGPR. La sélection de microorganismes plus performants est une option évidente (Jijakli, 2003). Une autre possibilité est l'ajout de divers additifs tels que des molécules facilitant l'adhésion du PGPR sur les feuilles ou les fruits (Rabindran et Vidhyasekaran, 1996). Il est également possible de combiner un programme de lutte par des biopesticides avec des pesticides classiques (Jijakli, 2003).

Plusieurs souches ou espèces de PGPR peuvent être mélangées dans un pesticide commercial. Cette approche permet de combiner divers mécanismes d'action dans un seul produit et donc de toucher un plus large spectre de plantes hôtes et de pathogènes. Un autre avantage est la possibilité de combiner des souches adaptées à des conditions écologiques différentes afin d'assurer l'efficacité du produit dans une diversité de conditions (Jijakli, 2003). De plus, il a été démontré lors de diverses études que des synergies peuvent exister entre les organismes PGPR. Cependant, dans d'autre cas, la combinaison de plusieurs PGPR a conduit à l'absence d'effet PGPR voir même à des effets délétères (Whipps, 2001). Cette dernière approche a pour inconvénient de nécessiter l'homologation individuelle de chaque souche.

I.5. *Bacillus subtilis*

I.5.1. Généralités

Les bactéries du genre *Bacillus* sont des eubactéries de la famille des *Bacillaceae*. Elles sont présentes dans des milieux très diversifiés tels que l'eau douce, l'eau de mer, le sol, etc. Il s'agit de bactéries en bâtonnet de type Gram+. La plupart de ces bactéries possèdent un métabolisme chimio-hétérotrophe et sont saprophytes.

Les bactéries du genre *Bacillus* sont généralement capables de se maintenir efficacement dans les sols cultivés. Certaines de leurs caractéristiques sont particulièrement utiles à cette fin. Ces bactéries peuvent notamment sécréter divers antibiotiques afin d'inhiber des microorganismes concurrents (McSpadden Gardener, 2004; Nihorimbere et *al*, 2005). De plus, dans des conditions défavorables telles que le manque de nutriments, les bacilles possèdent la capacité de sporuler. Les spores sont résistantes à divers facteurs environnementaux et peuvent présenter un fort pouvoir d'adhésion. *Bacillus subtilis* est une bactérie fréquemment trouvée dans les sols.

Elle est anaérobie facultative, c'est-à-dire qu'elle se développe en présence et en absence d'oxygène (Nihorimbere et *al*, 2009). Cette bactérie est capable de se déplacer grâce à des cils répartis sur sa surface selon une disposition péritriche (Fujii *et al*, 2008). La photo 1 montre une vue de *Bacillus subtilis* au microscope.

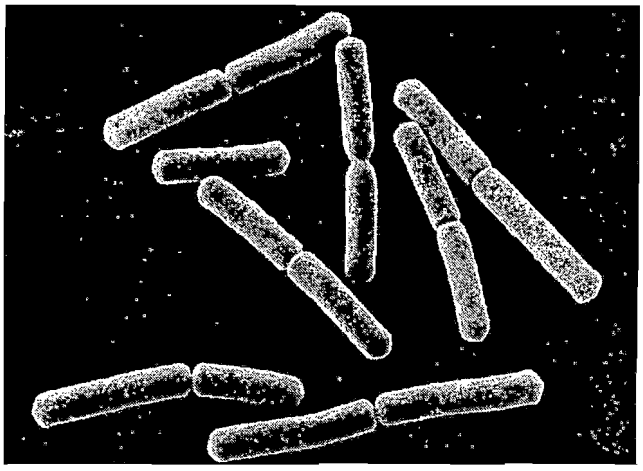


Photo 1. ***Bacillus subtilis*****, image capturée par microscopie électronique à balayage.**
Source : **(http://www.nasa.gov/mission_pages/station/science/experiments/POEMS_prt.htm).**

Bacillus subtilis qui est reconnue comme organisme non-pathogène présente un certain potentiel d'application industrielle, partiellement réalisé dans les domaines du contrôle biologique de pathogènes animaux et végétaux, ainsi que le cadre de la biofertilisation (Balcazar *et al*, 2007; Choudhary et Johri, 2008; Guo *et al*, 2006; U.S. Environmental Protection Agency, 2009).

I.5.2. *Bacillus subtilis* dans la rhizosphère

Généralités

Les bactéries du genre *Bacillus* se retrouvent à des populations de l'ordre 10^3 à 10^6 CFU/g dans le sol (Nihorimbere, 2011). Les espèces isolées classiquement du sol sont *B. subtilis et B.cereus* mais d'autres sont fréquemment présentes telles que *B. mycoides, B. megaterium,* etc. Parmi toutes ces espèces, une diversité au niveau des souches peut être constatée (McSpadden Gardener, 2004). Cette diversité se manifeste notamment par la capacité d'une souche à exercer un rôle d'agent de biocontrôle dans un pathosystème particulier. Il faut noter que *B. subtilis* peut être présente sur la partie aérienne des plantes et même en tant qu'endophyte (Liu *et al,* 2009). Dans le sol, son abondance et son importance parmi la communauté microbienne globale est variable et est influencée par divers facteurs tels que le type de sol, le système de rotation, l'espèce et le cultivar végétal (McSpadden Gardener, 2004).

I.5.3. Effets bénéfiques de *Bacillus subtilis* sur les plantes

Comme les autres PGPR, *Bacillus subtilis* peut inhiber les phytopathogènes par antagonisme direct ou en stimulant les mécanismes de défenses des végétaux. Dans le premier cas, cette bactérie peut agir via la sécrétion de substances antimicrobiennes diverses ou via une compétition pour la niche (Choudhary et Johri, 2008; Nihorimbere et *al*, 2010). Divers types d'éliciteurs de la résistance des plantes sont produits par *B. subtilis*. Parmi ceux-ci, il faut distinguer deux catégories principales, les lipopeptides et le 2,3-butanediol (Ongena *et al*, 2007; Nihorimbere et *al*, 2010). Cette dernière substance est une molécule volatile produite par *B. subtilis* dans le cadre du métabolisme anaérobie (Choudhary et Johri, 2008). Le 2,3-butanediol a également des effets de promotion de croissance sur les végétaux (Choudhary et Johri, 2008).

Bien que le 2,3-butanediol soit principalement produit en condition anaérobie, il peut être impliqué dans la promotion de croissance en champs. En effet, la disponibilité en oxygène dans le sol varie dans le temps et l'espace permettant l'existence de zones anaérobies (Nakano et Hulett, 1997). En absence d'oxygène, *Bacillus subtilis* peut maintenir son activité métabolique via une respiration du nitrate ou via une fermentation (Nakano et Hulett, 1997). Le premier cas est peu favorable à l'agriculture alors que le second apporte des avantages grâce à la production de 2,3-butanediol.

I.6. Lipopeptides

I.6.1. Les antibiotiques produits par *Bacillus subtilis*

Une très large gamme d'antibiotiques a été identifiée parmi les métabolites de *Bacillus subtilis*. La plupart de ces molécules sont de nature peptidique et sont synthétisées par les voies ribosomiques et non-ribosomiques (Stein, 2005). Cependant, divers antibiotiques non peptidiques incluant notamment des amicoumacins et un phospholipide ont été observé chez cette espèce (Pinchuk *et al*, 2001).

Chaque souche de *Bacillus subtilis* n'est capable de produire qu'un certains nombres des antibiotiques synthétisés par l'espèce. Cependant, 4 à 5 % du génome de chaque souche sont dévolus à la production de ces substances. Il est intéressant de noter que ces dernières exercent parfois d'autres rôles en plus de leur fonction dans les phénomènes d'antiobiose (Stein, 2005).

Les antibiotiques peptidiques identifiés chez *Bacillus subtilis* sont généralement résistants aux protéases et à l'oxydation. Ces propriétés découlent de caractéristiques particulières telles que la cyclisation du peptide, la présence dans la chaîne d'acides aminés D ou la formation de liens thioester internes. L'incorporation de ces structures inhabituelles dans le peptide est réalisée grâce à la synthèse non-ribosomique ou à des modifications post-traductionnelles (Stein, 2005).

Les lantibiotiques sont des antibiotiques peptidiques se distinguant par la présence de liens thioether internes. Cette catégorie d'anti-microbien se divise en deux sous-groupes possédant des modes d'action distincts. Une partie de ces antibiotiques cause la formation de pores dans la membrane cytoplasmique de bactéries Gram+ alors que l'autre inhibe la biosynthèse de la paroi bactérienne. Chez certaines souches, ces antibiotiques sont également impliqués dans le quorum sensing (Stein, 2005).

Les peptides non-ribosomiques incluent les lipopeptides mais également d'autres antibiotiques tels que la bacilysin, un dipeptide qui comporte un acide aminé inhabituel l'anti-capsin (Stein, 2005; Steinborn et *al*, 2005). *B. subtilis* produit également un anti-microbien de nature phospholipidique, la bacilysocine ainsi que des amicoumacins qui possèdent des propriétés anti-bactériennes et anti-inflammatoires (Pinchuk et *al*, 2001).

I.6.2. Les différents lipopeptides et leur rôle dans le contrôle biologique

Les lipopeptides sont synthétisés par de nombreuses souches de *Bacillus subtilis*. Cette classe d'antibiotiques regroupe les iturines, les surfactines et les fengycines. Ces molécules sont toutes composées d'un peptide, contenant généralement des acides aminés chargés, lié à un acide ß-hydroxylé pour former une structure cyclique via une liaison lactone. Ces molécules sont donc amphiphiles (Ongena et Jacques, 2008) et elles possèdent une structure (annexe 1) et une biosynthèse particulière.

I.6.2.1. Surfactine

La surfactine possède une conformation dans l'espace tel que les acides aminé se trouva du coté opposé de la molécule par rapport à la chaîne aliphatique. Cette structure confère un caractère fortement amphiphile à ce lipopeptide (Nihorimbere et *al*, 2010). Cela implique un pouvoir moussant et émulsifiant élevé mais également une capacité à interagir avec les membranes biologiques ainsi qu'un pouvoir mouillant (Ongena et Jacques, 2008; Leclère V. et *al*, 2006). De part cette diversité d'effets, la surfactine contribue à de nombreux mécanismes assurant la survie de *B. subtilis* dans son environnement (Ongena et Jacques, 2008, Nihorimbere et *al*, 2009).

Il a été démontré que la surfactine est un élément essentiel dans la formation de biofilms chez *Bacillus subtilis* en culture liquide et dans la rhizosphère (Ongena et Jacques, 2008). De plus, la surfactine joue un rôle important dans le phénomène de swarming chez *B. subtilis*. Ce phénomène contribue à la colonisation de nouvelles niches par la bactérie sur la racine (Ongena et Jacques, 2008). D'une manière générale, les lipopeptides peuvent favoriser "l'étalement" des colonies de *Bacillus subtilis* grâce à une amélioration de la mouillabilité du support (Leclère *et al*, 2006). Les interactions entre la surfactine et les membranes biologiques dépendent du rapport molaire existant entre les lipides membranaires et la surfactine (ratio molaire surfactine sur lipides dans la membrane = Rb).

Si la concentration en surfactine est faible (Rb<0.04), cette dernière ne s'insère que dans la couche supérieure de la membrane lipidique. Pour des valeurs de Rb comprises entre 0.05 et 0.1, des pores peuvent se former de manière transitoire dans la membrane plasmique mais la cellule ne subit pas de dommages permanents. Dans le cas d'une concentration en surfactine élevée (Rb 0.1–0.2), des pores permanents se forment dans la cellule causant la mort de cette dernière. A des valeurs proches de la CMC (concentration micellaire critique: la concentration à laquelle le tensioactif forme spontanément des micelles) (Rb 0.22), les membranes biologiques sont solubilisées par la surfactine avec la formation de micelles mixtes (Leclère et *al*, 2006).
La surfactine possède un fort potentiel antibiotique. Elle présente un effet antibactérien, antiviral, anti-mycoplasmique et hémolytique. Cependant, elle n'a presque pas d'effet toxique sur les organismes fongiques (Ongena et Jacques, 2008, Nihorimbere, 2011). Ceci s'explique probablement par le fait que la capacité de la surfactine à se lier aux membranes biologiques dépend notamment de la composition en stérols de ces dernières (Bonmatin et *al*, 2003).

Un autre effet de la surfactine est son influence directe sur la plante hôte. En effet, la surfactine est un éliciteur de l'ISR. *In vitro*, un effet éliciteur sur le tabac a pu être observé (Bonmatin *et al*, 2003). *In vivo*, le déclenchement de ce phénomène par la surfactine a été démontré notamment sur les haricots et les tomates (Nihorimbere et *al*, 2010). Dans ces deux cas, le rôle de la surfactine a été démontré d'une part par l'application d'un mélange de lipopeptides purifiés sur les plantes et d'autre part par l'application aux végétaux d'une bactérie naturellement non productrice de lipopeptides transformée afin de la rendre productrice de surfactine. Il est intéressant de remarquer que la surfactine est capable de déclencher l'ISR chez ces deux végétaux distants taxonomiquement alors qu'elle ne produit pas d'effets connus sur la pomme de terre qui est pourtant plus proche de la tomate (Ongena et Jacques, 2008).

I.6.2.2 Iturines

Les iturines possèdent également un potentiel antibiotique. Elles tuent les cellules en formant des pores conducteurs d'ions, ce qui perturbe l'équilibre osmotique de la cellule ciblée (Aranda et *al*, 2005). Il est à noter que l'interaction des iturines avec les membranes biologiques est fortement influencée par la composition en stérols de ces dernières et plus particulièrement de la présence d'ergostérol, un stérol typique des champignons et des levures (Bonmatin *et al*, 2003). Les iturines sont donc essentiellement fongitoxiques. Elles possèdent également un effet hémolytique mais ne présentent qu'une faible activité antibactérienne et aucune activité antivirale (Stein, 2005; Ongena et Jacques, 2008).

L'effet des iturines contre divers phytopathogènes a été démontré *in vivo*. Dans le cadre de la phyllosphère, il a été démontré que les iturines inhibent le pathogène *Podosphaera fusca* sur les plantes de melon (Touré *et al.*, 2004).
Concernant les pathogènes de la rhizosphère, l'inhibition de *Rhizoctonia solani* ainsi que de *F. oxysporum* par l'iturine A sur les tomates a été montré (Asaka et Shoda, 1996). Un effet éliciteur de l'iturine sur les végétaux ne semble pas avoir été observé.

Ceci pourrait s'expliquer par une incapacité des iturines à interagir avec les membranes végétales (Ongena et Jacques, 2008). Il a été démontré que la mycosubtiline n'est pas impliquée dans la formation d'un biofilm à l'interface air-eau en culture liquide. Cependant, de par sa nature de tensio-actif, cette molécule influence l'étalement des colonies sur les milieux solides, le spreadin (Leclere *et al*, 2006).

I.6.2.3. Fengycines

Le potentiel antibiotique des fengycines concerne essentiellement les organismes fongiques avec un effet plus marqué sur les champignons filamenteux. L'effet hémolytique de ces molécules est 40 fois plus faible que celui de la surfactine. A des faibles concentrations, les fengycines s'insèrent peu profondément dans la membrane plasmique. A une concentration plus élevée, ces lipopeptides forment des amas qui s'enfoncent profondément dans la membrane et causent des fuites (Touré *et al*, 2004).

L'effet fongitoxique des fengycines peut protéger les plantes contre certains phytopathogènes. L'inhibition de *Podosphaera fusca* sur les feuilles de melon grâce à une souche de *B. subtilis* productrice de fengycine a pu être établie (Romero *et al*, 2007). L'effet inhibiteur des fengycines à également pu être montré dans le cadre de maladie post-récolte sur pommes due à *Botrytis cinerea* (Touré *et al*, 2004). Dans ce dernier cas, il a été démontré que l'application des spores de *B. subtilis* S499 ou des lipopeptides partiellement purifiés produits par cette souche permet d'inhiber le pathogène (Nihorimbere et *al*, 2009). Dans le cas des pommes inoculées avec des endospores de *B. subtilis*, des fengycines ont pu être isolées des fruits en quantité inhibitrice, les surfactines et iturines étant peu ou pas présentes. Il a aussi été démontré que les fengycines peuvent modifier le métabolisme de certains pathogènes.

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Site de l'expérimentation

L'essai a été installé à l'Université du Burundi dans les champs expérimentaux de la Faculté des Sciences Agronomiques (FACAGRO).

II.1.2. Matériel végétal

La variété de tomate qui a fait l'objet de notre étude est Floradel, qui est une variété à port indéterminé. Cette variété a été choisie de par sa disponibilité car elle est beaucoup cultivée au Burundi.

II.1.3. Les microorganismes utilisés

II.1.3.1. *Fusarium oxyporum*

Fusarium oxyporum est l'agent causal de la fusariose, une des maladies de la tomate graves et fréquentes en différentes zones éco-climatique du Burundi. Le champignon qui cause la fusariose pénètre à travers les racines et monte dans le xylème de la tige. Il y produit des substances toxiques qui bloquent partiellement les faisceaux vasculaires. La réduction de la circulation d'eau est probablement la cause principale du flétrissement (Messiaen et Lafon, 1989).

Les souches utilisées lors de notre expérimentation (F_1 et F_3) étaient préalablement préparées et conservées sous forme de solution. (Nihorimbere et *al*, 2009). Les souches viennent du laboratoire du CWBI (Centre Wallon de Biologie Industrielle) de la Faculté universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique).

II.1.3.2. *Bacillus subtilis* S499

Bacillus subtilis est une bactérie Gram+ dont le génome a été entièrement séquencé. Il est également reconnu comme organisme non pathogène pour l'homme car non producteur d'endotoxines (Lepoivre, 2003). Il a été donc objet de notre étude pour étudier son effet comme agent de biocontrol dans la lutte contre les maladies de la tomate et plus particulièrement contre la fusariose de la tomate.

La souche de *Bacillus* que nous avons utilisée lors de notre expérimentation vient du laboratoire du CWBI (Centre Wallon de Biologie Industrielle) de la Faculté universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique). La souche se présentait sous forme de poudre et l'avons mise en solution pour tremper les graines de tomate.

II.1.4. Matériel pour installation de l'essai et pour la récolte

Le matériel utilisé pour la préparation du terrain choisi pour l'expérimentation et la mise en place de la pépinière était constitué par :

- Une houe pour le labour et la trouaison
- Un râteau pour l'émiettement du sol
- Piquets et décamètre –ruban
- Balance électronique pour la pesée des fruits récoltés à la maturité
- Balance sensible pour la pesée de la quantité en poudre de *Bacillus Subtilis* S499
- Fûts pour emmagasiner l'eau d'arrosage
- Tuyau en plastic pour arrosage
- Bassins et caisses en carton pour le transport des fruits récoltés.

II.1.5. Analyse statistique des résultats

L'analyse statistique des résultats a été faite à l'aide du logiciel Minitab. L'analyse de la variance pour différentes variables nous a permis de déterminer les niveaux de signification des différences entre les facteurs étudiés. Le test de Newman-Keuls au seuil de 5% nous a permis de ranger les moyennes en différents groupes homogènes. Les variables considérées sont : nombre de feuilles par plant, taille ou hauteur des plants, poids de certains plants aléatoires, poids des racines des plants, nombre des fruits par plant, poids des fruits à la maturité, diamètre des fruits. Le tableau ci-après nous donne les normes d'interprétation des résultats.

Tableau 1: Normes d'interprétation des résultats

Probabilité	Appellation pour le test de Fisher	Notation
<0,001	Très hautement significative	***
Comprise entre 0,001 et 0,01	Hautement significative	**
Comprise entre 0,01 et 0,05	Simplement significative	*
>0,05	Non significative	NS

Source : Dagnelie, 1973

II. 2. Méthodologie de l'expérimentation

II.2.1. Installation et suivi de l'essai en pépinière

II.2.1.1. Choix du Site de la pépinière

Nous avons installé notre pépinière à proximité du terrain préparé pour l'expérimentation, pour nous faciliter le transport des plantules. Notre pépinière était aussi tout près d'un point d'eau pour faciliter l'arrosage.

II.2.1.2. Installation de la pépinière

II.2.1.2.1. Préparation des plates-bandes

Après les travaux de labour du terrain choisi pour l'expérimentation, nous avons procédé à la délimitation du terrain à l'aide du décamètre-ruban. Puis, de plates-bandes de 5 m de longueur et 1,5 m de large ont été aménagées dans la pépinière. Ces plates- bandes étaient séparées par une allée pour faciliter les travaux d'entretien, notamment l'arrosage et le sarclage.

II.2.1.2.2. Le semis

Avant le semis, nous avons d'abord tracé, sur chaque plate-bande, des sillons espacés de 20 cm avec une profondeur de 8 mm comme l'exige le projet maraîcher de Ngagara. Signalons que ce projet envisage une profondeur de semis qui varie de 0,5 à 1 cm soit 5 mm à 10 mm. Pour notre cas, nous avons choisi une valeur intercalée entre les deux limites, soit 8 mm. Nous avons ensuite procédé à l'inoculation des grains par *Bacillus subtilis* S499. Après inoculation, les grains traités ont été déposés dans chaque sillon d'une plate-bande. Pour l'autre plate-bande, nous avons semé des grains de tomate non traités qui donneront des plants non traités. Après le dépôt des grains de tomate dans les sillons, nous avons recouvert ces grains avec une couche fine de terre.

Par la suite nous avons mis une couche très légère de la paille, cela pour diminuer les effets de battance de goutte d'eau de pluie ou d'arrosage mais aussi pour favoriser la germination. Dans les conditions normales, la levée chez la tomate se fait 6 à 8 jours après le semis (Chaux et Foury, 1994). Dans notre expérimentation, nous avons enlevé la paille 3 jours avant la levée, cela pour éviter que les jeunes plantules ne soient étouffés.

II.2.1.2.3. Conduite des plants en Pépinière

Concernant la conduite des plants en pépinière, nous avons essentiellement fait l'arrosage, le sarclage et élimination des plants non vigoureux. Les deux dernières opérations sont indispensables pour favoriser la croissance des plants vigoureux et éviter la concurrence en éléments nutritifs entre les jeunes plantules et les mauvaises herbes. L'arrosage se faisait chaque fois le matin et le soir, sauf en cas de pluie. Pour cette opération nous nous sommes servis d'un tuyau arroseur qui amenait l'eau du robinet vers les fûts installés dans le champ pour stockage d'eau pour enfin arroser les plants en pépinière à l'aide des arrosoirs disponible à la FACAGRO. La photo 2 montre les plants de tomate dix jours après le semis.



Photo 2. Les plants de tomate 10 jours après le semis en pépinière

Signalons qu'au cours de nos travaux expérimentaux, aucune maladie n'a été identifiée en pépinière sauf qu'on pouvait déjà remarquer des différences au niveau de la taille des plants et du nombre de feuilles entre les plantules des deux plates-bandes.

II.2.2. Méthode d'inoculation des organismes utilisés

II.2.2.1. Méthode d'inoculation de *Bacillus subtilis* S499

La bactérie utilisée dans notre expérimentation était sous forme de poudre. Pour favoriser son adhérence sur les grains de tomate, on a préparé une suspension d'eau contenant la bactérie. Pour ce faire, nous avons procédé par dilution (à 1 g/ l d'eau) et nous avons trempé les grains à traiter dans cette suspension pendant 30 min avant le semis. Les grains non traités ont été simplement trempés dans de l'eau de robinet pour servir de témoin.

II.2.2.2. Méthode d'inoculation de *Fusarium oxyporum*

Signalons avant tout qu'il n'existe pas de différence remarquable entre les deux souches de *Fusarium oxyporum* utilisées (F_1 et F_3) en ce qui concerne le niveau d'action et la virulence car elles agissent de la même façon au stade d'infection (Nihorimbere et *al*, 2009). Lorsque les plants de tomate avaient 4 à 5 feuilles après repiquage, nous avons procédé à l'opération de contamination des plants de tomate avec le pathogène (*Fusarium oxyporum*).

Pour ce faire, comme le pathogène était en suspension, nous avons procédé directement à l'infection des plants en déposant facilement une goutte de pathogène sur la feuille de tomate. Cette goutte était prélevée dans un tube contenant le pathogène à l'aide d'une tige en verre disponible au laboratoire de microbiologie de la FACAGRO. Nous avons par la suite mené des observations sur le comportement des plants infectés par le pathogène et préalablement traités par *Bacillus subtilis S499* comparativement à celui des plants infectés mais non traités. Signalons que, quelle que soit la forme du pathogène, il adhère sur les surfaces auxquelles il est déposé (Lepoivre, 2003).

II.2.3. Traitements et Dispositif expérimental

II.2.3.1. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental de notre essai était le bloc aléatoire complet. Il comptait 24 parcelles dont chaque parcelle était répétée 4 fois. Le dispositif coptait 4 blocs (B1, B2, B3, B4), comme le modèle ci-après le montre.

Tableau 2 : Dispositif expérimental de l'essai *Bacillus*-tomate-Fusarium

B1	**B2**	**B3**	**B4**
BF_0	BF_1	BF_3	BF_0
BF_1	bF_3	BF_0	bF_3
bF_1	BF_0	BF_1	bF_1
bF_0	BF_3	bF_0	BF_3
bF_3	bF_1	bF_3	bF_0
BF_3	bF_0	bF_1	BF_1

Légende : B: Plantes inoculées avec *Bacillus subtilis* S499, **b**: Plantes non inoculées avec *Bacillus subtilis* S499, $\mathbf{F_0}$: Plantes non contaminées avec *Fusarium*, $\mathbf{F_1}$: Plantes contaminées avec *Fusarium* « 1 », $\mathbf{F_3}$: Plantes contaminées avec *Fusarium* « 3 ».

II.2.3.2. Traitements

Lors de la présentation des résultats, nous avons regroupé les parcelles en 6 niveaux de traitement: T1 (b F_0), T2 (B F_0), T3 (b F_1), T4 (B F_1), T5 (b F_3), T6 (B F_3).

II.2.4. Transfert des plants (Repiquage)

La transplantation a été effectuée le 29 Avril 2010 soit 30 jours après la mise en place de la pépinière. La transplantation se faisait à la fin de la journée dans l'après midi et dans les poquets préalablement préparés. Lors du repiquage, les plants avaient déjà 15 cm de haut avec 5 à 6 feuilles pour les plants traités et 3 à 4 feuilles pour les plants non traités (témoins). Les plants venant de la plate-bande traitée avec *Bacillus subtilis* S499 ont été transférés dans les parcelles BF_0, BF_1 et BF_3, tandis que les plants de la plate-bande non traitée étaient transférés dans les parcelles bF_0, bF_1 et bF_3 comme le montre le plan d'expérience. Dans notre expérimentation, nous avons travaillé en condition naturelle du sol. Nous n'avons pas ajouté dans notre champ expérimental ni fumure organique ni fumure inorganique.

II.2.5. Les soins culturaux en plein champ

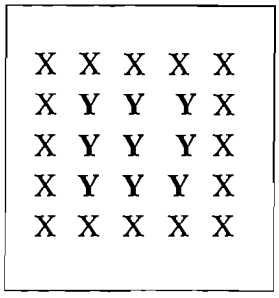
La tomate est très sensible aux stress tant biotitiques qu'abiotiques. Ainsi, une des possibilités pour limiter les dégâts est de procéder aux soins culturaux. En saison sèche, l'arrosage doit être journalier surtout au moment du développement et du grossissement des fruits. Le sarclage est aussi important pour éliminer les mauvaises herbes car ces dernières peuvent constituer le support des insectes nuisibles à la culture de la tomate mais aussi, elles peuvent concurrencées les cultures de tomate en éléments nutritifs.

II.2.6. Collecte des données

Les données ont été collectées dans le champ expérimental installé dans le site d'expérimentation de la FACAGRO sur la variété Floradel achetée dans le projet maraîcher de Ngagara et sur base des symptômes externes observés sur les feuilles de la tomate. Nos observations ont commencés 10 jours après le repiquage lorsque nous avions procédé à la contamination des plants de tomate avec le pathogène (*Fusarium oxyporum*).

La collecte des données a été faite en visitant plant par plant dans chaque parcelle élémentaire pour chaque variable étudiée. Chaque parcelle élémentaire comptait cinq lignes avec 25 plants, mais seuls neufs plants des trois lignes centrales intéressaient notre étude. Nous tenons aussi à signaler que lors de la collecte des données, nous avons ignoré les plants de la bordure de parcelle pour éviter l'effet de bord pouvant influencer par suite nos résultats.

Le modèle ci-après illustre les plants sur lesquels ont porté nos observations dans la parcelle élémentaire.



Schema : Le modèle des parcelles de notre expérience

Y : Plants de tomate qui ont fait objet de nos observations.
X : Plants de bordure
: Zone non plantée

La collecte des données s'est faite en différentes période. Dans la première période nous avons évalué les variables telles que :

- La hauteur des plants par parcelle ;
- Le nombre de feuilles par plant et par parcelle ;
- Le poids de tige de certains plants choisis aléatoirement par parcelle ;
- La pesée de la partie racinaire de certains plants choisis aléatoirement par parcelle ;
- suivie de l'évolution des nécroses après contamination.

Dans la deuxième période, nos observations étaient basées sur le bourgeonnement et la fructification. Pour ces variables nous avons analysé les paramètres comme :

- La date d'apparition des premières inflorescences pour les plants traités avec *Bacillus subtilis* S499 et ceux non traités ;
- Le nombre de fruits par plant et par parcelle ;
- Le poids des fruits à maturité récoltés par parcelle ;
- Le diamètre de fruits récoltés par parcelle.

Enfin, nous avons associé tous les critères et nous avons fait des comparaisons de résultats obtenus dans les différentes parcelles (Traitées ou non) pour enfin mener une discussion sur l'efficacité d'utilisation de *Bacillus subtilis* S499. Les observations ont été faites d'une façon échelonnée en différentes périodes et suivant les variables à étudier.

II.3. Détermination du rendement

Pour cette variable, tous les fruits récoltés ont été pesés à l'aide d'une balance. Le rendement global a été déterminé par le poids de tous les fruits récoltés dans une parcelle élémentaire, converti par la suite à l'hectare. Pour ce, après le calcul du poids moyen de fruits récoltés sur une superficie de 6,25 m^2 nous avons ramené la production obtenue à une superficie de 1ha et nous avons obtenu le rendement en tonne par hectare (T/ ha).

CHAPITRE III : PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS

III.1. Résultats.

III.1.1. La taille moyenne des plants de tomate

La mesure de la hauteur des plants de tomate a été faite dès la transplantation jusqu'à la récolte. Nous avons mesuré la hauteur des plants par parcelle à la transplantation après un mois car c'est le temps qu'il faut pour que les plants s'adaptent à ce nouveau terrain (Chaux et foury, 1994). Par après, nous avons évalué la croissance des plants tous les 10 jours.

Le tableau 3 montre la taille moyenne des plants par traitement, observé pour différentes périodes selon que les plants sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non.

Tableau 3 : Hauteur moyenne des plants de tomate selon qu'ils sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non

Parcelles traitées avec *B.subtilis* S499	La taille moyenne/ plant	Parcelles non traitées	La taille moyenne/ plant
T_6	107,1667	T_5	72,5000
T_4	97,000	T_3	71,4167
T_2	96,0833	T_1	69,6667
Moyenne	100,0833	Moyenne	71,1944

Moyenne générale : 85,64

Pour cette variable nous avons calculé une moyenne générale de la taille des plants qui est de 85,64 et les plants traités avec *Bacillus subtilis* S499 possèdent une moyenne supérieure à la moyenne générale, tandis que les plants témoins possèdent une taille inférieure à la moyenne générale.

III.1.2. Le nombre moyen de feuille par plant.

Le tableau 4 montre le nombre moyen de feuille par plant selon que les plants de tomate sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non.

Tableau 4 : Nombre moyen de feuille par plant (NMFP) selon que les plants de tomate sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non

Parcelles traitées avec *B.subtilis* S499	Nombre moyen de feuilles/ plant	Parcelles non traitées	Nombre moyen de feuilles/ plant
T_2	22	T_3	14
T_6	21	T_1	13
T_4	19	T_5	12
Moyenne	21	Moyenne	13

Moyenne générale : 17,25

Il ressort de ce tableau précédent, que les plants traités avec *Bacillus subtilis* S499 possèdent une moyenne supérieure à la moyenne générale calculée qui est de 17,25, tandis que les plants témoins possèdent une moyenne inferieure à la moyenne générale.

III.1.3. Le nombre moyen de fruits par plant

Tableau 5 : Nombre moyen de fruits par plant (NBMFP) observés pendant la période de floraison optimale selon que les plants de tomate sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non

Parcelles traitées avec *B.subtilis* S499	Nombre moyen de fruits/ plant	Parcelles non traitées	Nombre moyen de fruits/ plant
T_6	7,5417	T_5	4,5208
T_4	7,5417	T_1	4 ,5208
T_2	6,8750	T_3	4,0222
Moyenne	7	Moyenne	4

Moyenne générale : 5,860

Il ressort de ce tableau, que les plants de tomate traités avec *Bacillus subtilis* S499 possèdent un nombre moyen de fruit supérieur à la moyenne générale tandis que les plants non traités enregistrent une moyenne inférieure à la moyenne générale calculée pour ce paramètre.

III.1.4. Le poids moyen des fruits récoltés à maturité

Le tableau 6 montre le poids moyen en grammes selon que les plants den tomate sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non. La moyenne générale des fruits récoltés a été analysée dans différents niveaux de traitement au cours de notre expérimentation.

Tableau 6 : Poids moyen en gramme (g) d'un fruit (PMF) selon que les plants de tomate sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non

Parcelles traitées avec *B.subtilis* S499	Poids moyen d'un fruit / plant	Parcelles non traitées	Poids moyen d'un fruit/ plant
T_6	116,3743	T_3	97,9855
T_4	103,8608	T_1	92,7358
T_2	101,7986	T_5	87,9850
Moyenne	107,3445	Moyenne	92,9021

Moyenne générale : 100,120g

De ce tableau, nous constatons que les plants de tomate traitées avec *Bacillus subtilis* S499 possèdent une moyenne supérieure à la moyenne générale tandis que les plants de tomate non traités possèdent une moyenne inférieure à la moyenne générale calculée.

III.1.5. Le diamètre moyen d'un fruit récolté par Parcelle.

Le diamètre moyen d'un fruit pour différentes parcelles est donné par le tableau 7.

Tableau 7 : Diamètre moyen d'un fruit (DMF) selon que les plants de tomate sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non

Parcelles traitées avec *B.subtilis* S499	Diamètre moyen d'un fruit/ plant	Parcelles non traitées	Diamètre moyen d'un fruit/ plant
T_4	10,3248	T_3	8,6579
T_6	9,6820	T_1	8,0466
T_2	9,5112	T_5	7,9817
Moyenne	9,8393	Moyenne	8,2287

Moyenne générale : 9,04

De ce tableau, nous remarquons que les plants de tomate traités avec *Bacillus subtilis* S499 enregistrent une moyenne supérieure à la moyenne générale calculée pour différents niveaux de traitement alors que les plants de tomate non traités possèdent une moyenne inférieure à la moyenne générale calculée pour ce paramètre.

III.1.6. Le rendement moyen

Le tableau 8 montre le rendement moyen obtenu pour les différents niveaux de traitements selon que les plants de tomate sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non.

Tableau 8 : Rendement obtenu selon que les plants de tomate sont traités ou non

Parcelles traitées avec *B.subtilis* S499	Rendement moyen en T/ha	Parcelles non traitées	Rendement moyen en T/ ha
T_2	3,56	T_5	2,90
T_6	3,43	T_3	2,83
T_4	3,35	T_1	1,59
Moyenne	3,45	Moyenne	2,44

Moyenne générale : 2,96 T/ha

Pour ce paramètre, nous remarquons que ce sont les plants de tomate traités avec *Bacillus subtilis* S499 qui ont montré un rendement moyen supérieur à la moyenne générale calculée pour différents niveaux de traitement tandis que les plants de tomate non traités ont montré une moyenne inférieure à la moyenne générale.

III.2. Analyse statistique des résultats

Tableau 9: Analyse de la variance pour la hauteur des plants de tomate

Source de variation	SCE	ddl	CM	Test de Fisher	Moyenne générale	Probabilité	E.T	C.V
Variation factorielle	15979,44	5	3195,889	23	85,64	0,000		
Variation résiduelle	9145,167	66	138,563				18,81	22%
Variation totale	25124,61	71						

De ce tableau, nous observons que l'étude de la variance montre que le traitement faite exerce un effet très hautement significatif sur la taille des plants. Cela peut être justifié par le fait que l'application de *Bacillus subtilis* S499 sur la culture de tomate a montré une grande taille des plants des différents traitements en comparaison avec les plants non traités.

Tableau 10 : Comparaison des moyennes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5% pour la hauteur des plants

Niveaux de traitement	Hauteur des plants (Moyenne)	Groupes homogènes
T_6	107,1667	A
T_4	97,000	A
T_2	96,0833	A
T_5	72,5000	B
T_3	71,4167	B
T_1	69,6667	B

Dans ce tableau, il ressort 2 groupes homogènes A et B qui sont statiquement différents. T_6, T_4 et T_2 traités avec *Bacillus subtilis* S499 viennent en tête avec des moyennes supérieures à la moyenne générale et les autres étant inférieurs à la moyenne générale calculée.

Tableau 11: Analyse de la variance pour le nombre de feuilles des plants de tomate

Source de variation	SCE	ddl	CM	Test de Fisher	Moyenne générale	Probabilité	E.T	C.V
Variation factorielle	1097,833	5	219,567	30,211	17,25	0,000		
Variation résiduelle	479,667	66	7,268				4,71	27%
Variation totale	1577,500	71						

Dans le tableau ci-haut, on remarque que la probabilité est plus petite que 0,001 et par conséquent l'étude de la variance montre que les traitements faits, exercent un effet très hautement significatif sur le nombre de feuilles des plants.

Tableau 12 : Comparaison des moyennes selon le Test de Newman-Keuls au seuil de 5% pour le nombre de feuille des plants

Niveau de traitement	Nombre de feuilles	Groupes homogènes
T_2	22,0833	A
T_6	21,5833	A
T_4	19,5000	A
T_3	14,1667	B
T_1	13,2500	B
T_5	12,9167	B

Le test de Newman-Keuls au seuil de 5% montre pour ce paramètre l'existence de deux groupes homogènes A et B statistiquement différent.



Les plants traités avec *Bacillus Subtilis* S499 viennent en tête avec des moyennes supérieurs à la moyenne générale comparativement à ceux non traités. L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif pour cette variable. Cela peut être justifié par le fait que les plants de cette parcelle n'ont pas été contaminés avec *Fusarium oxyporum* et par conséquent, on pourrait admettre que *Bacillus Subtilis* S499 agit favorablement sur les plants de tomate et influence alors le nombre de feuille.

Tableau 13 : Analyse de la variance pour le poids des plants

Source de variation	SCE	ddl	CM	Test de Fisher	Moyenne générale	Probabilité	E.T	C.V
Variation factorielle	10775,95	5	2155,192	1,165	127,6	0,336		
Variation résiduelle	122046,92	66	1849,196				43,25	34%
Variation totale	132822,88	71						

Pour cette variable, on remarque que la probabilité est supérieure à 0,05 et par conséquent l'analyse de la variance montre que les traitements faits exercent un effet non significatif.

Le test de Newman-Keuls au seuil de 5% montre un seul groupe homogène A. On conclut que les métabolites produits par *Bacillus subtilis* S499 n'influencent pas le poids des plants de tomate.

Tableau 14 : Analyse de la variance pour le nombre de fruits par plant

Source de variation	SCE	ddl	CM	Test de Fisher	Moyenne générale	Probabilité	E.T	C.V
Variation factorielle	645,082	5	129,016	16,112	5,86	0,000		
Variation résiduelle	2234,019	279	8,007				9,18	54%
Variation totale	2879,102	284						

L'étude de la variance à travers ce tableau d'analyse montre que le traitement fais avec *Bacillus subtilis* S499 exerce un effet très hautement significatif. Cela peut être expliqué par le fait que l'utilisation de *Bacillus Subtilis* 499 influe sur le nombre des fruits des plants ce qui est l'indicateur de l'effet bénéfique de cette bactérie sur la production.

Tableau 15 : Comparaison des moyennes selon le test de Newman –Keuls au seuil de 5% pour le nombre des fruits de tomate

Niveau de traitement	Nombre de fruits	Groupes homogènes
T_6	7,5417	A
T_4	7,5417	A
T_2	6,8750	A
T_5	4,5208	B
T_1	4 ,5208	B
T_3	4,0222	B

Le test de Newman –Keuls au seuil de 5% montre qu'il existe 2 groupes homogène A et B statistiquement différents. Les plants traités avec Bacillus subtilis S499 se trouvent dans un même groupe homogène et possèdent des moyennes supérieures à la moyenne générale calculée comparativement à ceux non traités.

Tableau 16: Analyse de la variance pour le poids des fruits de tomate

Source de variation	SCE	ddl	CM	Test de Fisher	Moyenne générale	Probabilité.	E.T	C.V
Variation factorielle	5848,252	5	1169,650	1,000	100,12	0,425		
Variation résiduelle	77208,477	66	1169,825				34,20	34%
Variation totale	83056,729	71						

L'étude de la variance montre à travers ce tableau que le traitement fait exerce un effet non significatif sur le poids des fruits. Le test de Newman- Keuls au seuil de 5% a montré pour ce paramètre, qu'il n'existe qu'un seul groupe homogène A. Par conséquent, l'utilisation de *Bacillus subtilis* S499 n'a pas eu d'influence sur le poids des fruits de tomate.

Tableau 17 : Analyse de la variance pour le diamètre des fruits de tomate

Source de variation	SCE	ddl	CM	Test de Fisher	Moyenne générale	Probabilité.	E.T	C.V
Variation factorielle	54,451	5	10,890	3,443	9,04	0,008		
Variation résiduelle	208,755	66	3,163				1,93	21%
Variation totale	263,206	71						

L'étude de la variance montre à travers ce tableau que le traitement exerce un effet hautement significatif sur le diamètre des fruits de la tomate.

Tableau 18 : Comparaison des moyennes selon le test de Newman –Keuls au seuil de 5% pour le diamètre des fruits

Niveau de traitement	Diamètre de fruits	Groupes homogènes
T_4	10,3248	A
T_6	9,6820	AB
T_2	9,5112	AB
T_3	8,6579	AB
T_1	8,0466	B
T_5	7,9817	B

Le test de Newman-Keuls au seuil de 5% montre l'existence de deux groupes homogènes A et B statistiquement différents mais qui se chevauchent. T_4 vient en tête avec une moyenne supérieure à la moyenne générale calculée. Pour cette variable l'analyse de la variance montre un effet très significatif. Cela peut être justifié par le fait qu'après contamination des plants avec *Fusarium sp*, il y a eu antagonisme entre les deux organismes.

Tableau 19 : Analyse de la variance pour le rendement en T/ha

Source de variation	SCE	ddl	CM	Test de Fisher	Moyenne générale	Probabilité.	E.T	C.V
Variation factorielle	17,7843	5	1,5677	1,100	2,96	0,009		
Variation résiduelle	7,8383	66	0,2716				1,04	17,6%
Variation totale	25,6226	71						

L'analyse de la variance montre à travers ce tableau que le traitement fais avec le *Bacillus subtilis* S499 exerce un effet hautement significatif sur le rendement.

Tableau 20 : Comparaison des moyennes selon le test de Newman –Keuls au seuil de 5% pour le rendement

Niveau de traitement	Rendement en T/ha	Groupes homogènes
T_2	3,56	A
T_6	3,43	A
T_4	3,35	A
T_5	2,90	B
T_3	2,83	B
T_1	1,59	B

Le test de Newman-Keuls au Seuil de 5% montre l'existence de deux groupes homogènes A et B statistiquement différents. Les plants traités avec *Bacillus subtilis* S499 viennent en tête avec des moyennes supérieures à la moyenne générale calculée comparativement à ceux non traités.

III.3. Discussion des résultats

Après la présentation des résultats, nous allons discuter les résultats obtenus en mettant un accent sur l'effet bénéfique de *Bacillus subtilis* S499 pour l'amélioration de la santé des plants de tomate et l'induction de la résistance contre différents ennemis.

III.3.1. Comportement des plants après inoculation de *Fusarium oxyporum*

Notre travail a commencé par la mise en place d'une pépinière. Lorsque les plants de tomate étaient âgés de 30jours, nous les avons transférés dans le champ d'expérimentation pour le suivi.

L'objectif principal de notre travail était d'analyser si l'efficacité de *Bacillus subtilis* mise en évidence *in vitro* par les recherches antérieures sur *Fusarium sp* (Nihorimbere et *al*, 2010 ; Stein, 2005 ; Ongena et Jacques, 2008), reste démontrée en plein champs. Les plants de tomate traités avec la souche de *Bacillus subtillis* S499 ont été contaminés au stade de 3-4 feuilles avec *Fusarium oxyporum*. Après cette opération, il a fallu suivre le comportement des plants traités avec *Bacillus subtilis* S499 et ceux non traités face à cet organisme pathogène. Ce n'est qu'après 3 semaines que nous avons fait les observations suivantes :

- Pour les parcelles traitées avec *Bacillus subtilis* S499 seulement (Parcelles BF_0), les plants de tomate se sont montrés très vigoureux. Ce sont ces parcelles par ailleurs qui ont donné un rendement élevé comparativement aux parcelles non traitées. L'analyse de la variance a montré que l'application de *Bacillus subtilis* S499 sur la culture de la tomate a un effet hautement significatif pour les différentes variables étudiées.

Cela serait dû aux métabolites produits par *Bacillus subtilis* S499 qui stimulent la croissance de la plante d'une part et qui servent d'antibiotiques contre les ennemis de celle-ci en réduisant l'effet de la maladie d'autre part.

- Dans les parcelles bF_0, nous avons constaté sur les plants de tomate, des symptômes de fusariose et d'autres maladies comme les mildious, les viroses et d'autres que nous n'avons pas identifié. Cela nous a donc amené à conclure que l'agent causal de la fusariose existe dans la nature et il suffit qu'il y ait présence d'une plante hôte pour se développer.

- Pour les parcelles BF_1, trois semaines après inoculation de *Fusarium oxyporum*, nous avons remarqué des nécroses sur les feuilles, dont les diamètres n'ont pas évolué. Cela nous a amené à conclure que les lipopeptides produits par *Bacillus subtilis* S499 ont été efficaces pour empêcher l'évolution de la maladie (fusariose).

- Les constatations ont été les même pour les traitements BF_3 .Les diamètres de nécrose n'ont pas évolué après contamination. Cela suggère l'efficacité d'utilisation de *Bacillus subtilis* S499.

- Dans les parcelles bF_0, bF_1 et bF_3 non traitées, les plants de tomate ont été sévèrement attaqués contrairement aux parcelles traitées. Les parcelles non traitées, sont aussi appelées des parcelles témoins. Ces parcelles ; sont indispensables pour notre expérimentation, car les données récoltées sur ces dernières, ont été comparées à celles des parcelles traitées avec *Bacillus subtilis* S499 pour enfin en tirer des conclusions. Ainsi, une attaque très sévère des plants de tomate par la fusariose a été remarquée dans les parcelles non traitées, ce qui nous a amené à confirmer l'activité protectrice de *Bacillus subtilis* S499 contre les organismes pathogènes de la tomate.

La photo 3 montre qu'en absence de tout traitement la maladie évolue très rapidement et la plante se dessèche complètement.

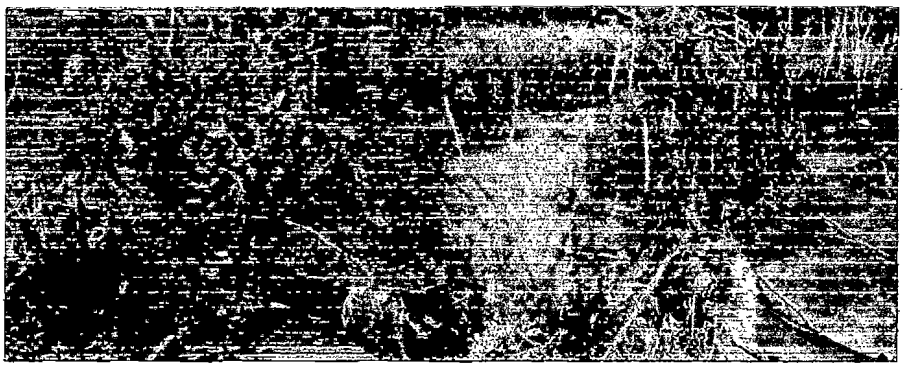


Photo 3 : Desséchement généralisé des plants de tomate attaqués par fusariose.

III.3.2. Les composantes étudiées avant la maturité des fruits

III.3.2.1. La hauteur des plants

Après l'analyse des résultats, nous avons trouvé que la taille moyenne des plants de tomates varie très significativement quand les plants sont traités avec *Bacillus Subtilis* S499 comparativement à ceux non traités (Témoins). Cela montre que *Bacillus subtilis* S499 a eu un effet positif sur la croissance des plants de tomate.

III.3.2.2. Nombre de feuilles par plant

Pour cette variable, ce sont les parcelles BF_0 qui présentent une moyenne plus élevée de nombre de feuilles comparées aux autres parcelles. On remarque qu'après l'inoculation de *Bacillus subtilis* S499 aux plants de tomate, ces derniers n'ont pas été contaminés par *Fusarium oxyporum*. Donc, *Bacillus subtilis* S499 a participé au renforcement de la résistance des plants de tomate inoculés.

Quand nous avons comparé les résultats obtenus sur les plants des parcelles BF_0 traités avec *Bacillus subtilis* S499 avec ceux des parcelles bF_0 témoins, nous avons confirmé l'influence du *Bacillus subtilis* S499 sur le nombre de feuilles des plants en comparaison avec les plants non traités. L'analyse statistique des résultats a aussi montré pour cette variable, un effet hautement significatif pour les différents niveaux de traitements.

III.3.2.3. Poids des plants

Pour cette variable, l'analyse de la variance a montré un effet non significatif pour les différents traitements effectués. Nous pouvons donc conclure que l'utilisation de *Bacillus subtilis* S499 n'a pas eu d'influence remarquable vis-à-vis de ce paramètre.

III.3.2.4. Le nombre de fruits par plant

Pour cette variable, l'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif pour les différents traitements de notre expérimentation. Nous remarquons une différence élevée du nombre moyen de fruits par plants selon que les plants sont traités avec *Bacillus subtilis* S499 ou non. Cela suggère un effet bénéfique de *Bacillus subtilis* S499 sur la production de fruit chez la tomate en champ. Globalement, les parcelles (BF_3) se montrent plus performantes comparativement aux autres parcelles.

III.3.3. Les composantes observées après la récolte

III.3.3.1. Poids moyen de fruits par parcelle

Le poids moyen d'un fruit variait selon que les parcelles sont traitées ou non. Ici, nous avons remarqué que le traitement des plants de tomate avec *Bacillus subtilis* S499 n'a pas eu

d'influence remarquable sur le poids des fruits. Pour cette variable, l'analyse de la variance a montré un effet non significatif sur le poids d'un fruit pour différents niveaux de traitements. Cela nous a alors amené à penser que, les facteurs environnementaux (pH, T^0, texture et structure du sol,...) seraient à l'origine de cette variance.

III.3.3.2. Diamètre d'un fruit récolté

L'analyse de la variance pour cette variable, montre que le traitement fait avec *Bacillus subtilis* S499 exerce un effet très significatif sur le diamètre des fruits de tomate. Les résultats obtenus lors de notre expérimentation montrent que ce sont les plants traités avec *Bacillus subtilis* S499 qui donnent de gros fruits comparativement aux fruits récoltés des plants non traités. Cela serait du aux métabolites produit par *Bacillus subtilis* S499 qui favorise le grossissement des fruits de tomate.

III.3.3.3. Le rendement

Pour cette variable l'analyse de la variance a montré que *Bacillus subtilis* S499 exerce un effet hautement significatif sur le rendement pour les différents niveaux de traitements. La raison à cela est simple, car les lipopeptides produits par *Bacillus Subtilis* S499 induisent une résistance aux plants de tomate. Ce qui fait que la maladie ne se développe pas et la santé des plantes est donc améliorée. C'est pourquoi les plants de tomate des parcelles traitées avec *Bacillus subtilis* S499 présentent un rendement supérieur à la moyenne qui est de 2,960 T/ ha alors que les plants des autres parcelles possèdent un rendement inférieur à la moyenne générale calculée. D'une façon générale, l'utilisation de *Bacillus subtilis* S499 a exercé un effet protecteur sur les plants de tomate ce qui fait que la maladie ne se développe pas et la santé des plantes est donc améliorée. Par conséquent la productivité augmente. Les photos ci-après montrent la différence entre les plants traités et ceux non traités à 4 semaines après repiquage:

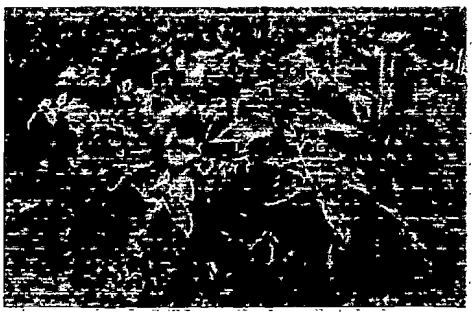


Photo 4 : plants de tomate traités Avec *B. subtilis* S499 à 4 semaines



Photo 5 : Plants de tomate non traités à 4 semaines

Pour la photo 4 on ne remarque pas des symptômes de fusariose. Par contre, la photo 5 montre que les plants de tomate ont été attaqués sévèrement par la fusariose. Cela suggère que le trempage des semences dans une suspension de *B. subtilis* S499 a induit la résistance de tomate à la fusariose.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Conclusions

Le présent travail avait pour objectif général d'étudier l'influence d'une souche de *Bacillus subtilis* S499 en tant que biopesticide dans le contrôle biologique des maladies de la tomate en général et de la fusariose en particulier.

Pour que notre objectif soit atteint, nous avons d'abord trempé les grains de tomate dans une suspension de *B. subtilis* S499 avant le semis et la confrontation avec *Fusarium oxyporum* a été réalisée sur la tomate en plein champ.

Les résultats obtenus au cours de nos travaux expérimentaux ont montré d'une part que *B. subtilis* S499 a été adapté en condition de culture et a exercé une action antagoniste vis-à-vis de *Fusarium oxyporum* sur la tomate. C'est-à-dire que tous les plants de tomate qui ont été traités avec *B. subtilis* S499 ont montré une résistance élevée à la fusariose, alors que pour les plants non traités, la maladie a évolué rapidement et la destruction a été presque totale. D'autre part, les résultats ont montré que le trempage des grains de tomate pendant 30 minutes dans une suspension de *B. subtilis* S499 induit une certaine résistance de la tomate à la fusariose. Aussi, il a été remarqué que l'introduction de *B. subtilis* S499 sur les racines de tomate, favorise la croissance et la vigueur de plants de tomate au stade végétatif.

De ce qui précède alors et vu les défis révélés par la lutte chimique dans les différents secteurs (environnement, santé, économie,...), nous concluons d'une façon générale, que l'utilisation de *B. subtilis* S499 comme biopesticide sur la culture de tomate pour lutter contre la fusariose, produit un effet bénéfique sur la santé de la plante, la croissance et surtout sur le rendement, qui est d'ailleurs plus visé dans le secteur agricole sans porter atteinte à la santé humaine et à l'équilibre écologique de la biosphère.

Recommandations

Au terme de ce travail, nous voudrions formuler des recommandations à l'endroit des chercheurs et des autres intervenants dans l'adoption et la promotion du secteur agricole en général et du maraîchage de la tomate en particulier pour que l'utilisation de *B. subtilis* S499 comme biopesticide soit une réalité au Burundi pour contourner les défis de la lutte chimique :

- Aux Chercheur

  - De mener une étude sur l'efficacité des lipopeptides produits par *B. subtilis* S499 vis-à-vis d'autres maladies de la tomate. Pour ce, l'ISABU qui est la plus grande institution de recherche agricole au Burundi, devrait à travers son programme Horto-Fruiticulture, accorder une place importante à la culture de tomate et de promouvoir la lutte biologique dans la lutte contre les maladies de la tomate en utilisant le *Bacillus subtilis* S499 comme biopesticide car nous

avons dû démontrer tous ses effets bénéfiques sur la santé et l'amélioration de la production de la tomate.

- De tester l'efficacité des lipopeptides produits par d'autres souches de *B. subtilis* vis-à-vis de différentes maladies de la tomate ainsi que celles d'autre cultures d'importance économique au Burundi.

- De continuer la recherche pour d'autres maladies de la tomate tout en mettant une grande importance sur la lutte biologique. Sachant que notre recherche s'est limitée seulement à l'influence de *Bacillus subtilis* S499 sur la fusariose de la tomate.

❖ Au gouvernement :

- De soutenir la recherche en matière de lutte biologique afin que les problèmes de pollution de l'environnement soient réduits au maximum, sachant que la recherche a déjà relevé les défis de la lutte chimique.

- De mobiliser les fonds pour faciliter la production de cette bactérie non pathogène en quantité suffisante et permettre par suite, sa vulgarisation auprès des exploitants agricole. Ici, ce sont les ministères ayant l'agriculture et l'environnement dans leurs attributions ainsi que les organisations à vocation de protection de l'environnement qui sont les plus visées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AMAMOORTHY, V., VISWANATHAN, R., RAGUCHANDER, T., PRAKASAM, V. and SAMIYAPPAN, R., 2001: Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. Crop Protect. 20(1): 1-11.

2. ANDERSON, A. J., BLEE, K. A. and YANG, K.-Y., 2006: Commercialization of plant systemic defense activation: theory, problems and successes'. *In:* Tuzun, S. and Bent, E., eds. Multigenic and Induced Systemic Resistance *in Plants*. New York: Springer Science+Business Media, Inc., 386-414.

3. ANTOUN, H. and PREVOST, D., 2006: Ecology of plant growth promoting rhizobacteria'. In SIDDIQUI Z. A. (eds.), 2006. *PGPR:* Biocontrol and Biofertilization. Nederlands: Springer, 257–296.

4. ARANDA, F. J., TERUEL, J. A. and ORTIZ, A., 2005: Further aspects on the hemolytic activity of the antibiotic lipopeptide iturin A, Biochimica et Biophysica Acta, 1713: 51-56.

5. ASAKA, O. and SHODA, M., 1996: Biocontrol of Rhizoctonia solani damping-off of tomato with Bacillus subtilis RB14." Appl. Environ. Microbiol. 62: 4081-4085.

6. BALCAZAR, J. L., ROJAS-LUNA, T. and CUNNINGHAM, D. P.,2007: 'Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*', Journal of Invertebrate Pathology, 96(2): 147-150.

7. BENT, E., 2006: Induced systemic resistance mediated by plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Fungi (PGPF)'. In: Tuzun, S. and Bent, E., eds. Multigenic and Induced Systemic Resistance *in Plants*. New York: Springer Science+Business Media, Inc. 225-258

8. BONMATIN, J. M., LAPREVOTE, O. and PEYPOUX, F., 2003: Diversity among microbial cyclic lipopeptides: Iturins and surfactins. Activity-structure relationships to design new bioactive agents', Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening, 6(6): 541-556.

9. BRIMECOMBE, M. J., LEIJ, F. A. and LYNCH J, M., 2007: Rhizodeposition and microbial populations.' *In:* PINTON, R., VARANINI, Z. and NANNIPIERI, P., eds. The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. 2 éd. Abingdon, United Kingdom: CRC Press, 73-110.

10. CHAUX C. et FOURY. C., 1994: Production légumière. Tomme3, légumineuse potagères, légumes, fruit, Paris : 375 p

11. CHOUDHARY D.K. J. and OHRI B.N., 2008: Interactions of Bacillus spp. and plants- with special reference to induced systemic resistance (ISR). Microbiol. Res. 164: 493-513

12. COLLINS, D.P. and JACOBSEN, B.J., 2003: Optimizing a Bacillus subtilis isolate for biological control of sugar beet Cercospora leaf spot. Biol. Control. 26(2): 153-161.

13. DAGNELIE, P., 1973: Théorie et méthode statistique : Application agronomique ; Gembloux-Belgique, 378 p

14. DILANTHA FERNANDO, W. G., NAKKEERAN, S. and ZHANG, Y., 2005: Biosynthesis of antibiotics by PGPR and its relation in biocontrol of plant diseases.' I Siddiqui Z. A. (eds.), 2006. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Nederlands: Springer, 257–296.

15. EMMERT E.A.B. and HANDELSMAN J., 1999: Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. FEMS Microbiology Letters 171: 1- 9.

16. FRAVEL, D. R., 2005: Commercialization and implementation of biocontrol. Annu. Rev. Phytopathol. 43: 337-359.

17. FUJII, M., SHIBATA, S. and AIZAWA, S., 2008: Polar, peritrichous, and lateral flagella belong to three distinguishable flagellar families', Journal of Molecular Biology, 379(2): 273-283.

18. GUO, X. H., Li, D. F., Lu, W. Q., PIAO, X. S. and CHEN, X. L., 2006: Screening of Bacillus strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the in vivo effectiveness of Bacillus subtilis MA139 *in* pigs', Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, 90(2): 139-146 p.

19. HAAS D. and DÉFAGO G., 2005: Biological control of soil-borne pathogens by *Fluorescent pseudomonads*. Nature Reviews Microbiology 3: 307-319.

20. HJELJORD, L.G., STENSVAND, A. and TRONSMO, A., 2000: Effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial Trichoderma products to control Botrytis cinerea and Mucor piriformis in greenhouse strawberries. Biol. Control. 19(2): 149-160.

21. ISTEEBU, 2009 : Annuaire des statistiques agricoles, Année 2008. Bujumbura, Rapport, Novembre, 2009

22. JANISIEWICZ W. and KORSTEN, L., 2002: Biological control of postharvest diseases of fruits. Annual Review of Phytopathology 40: 411-441.

23. JI, P., CAMPBELL, H.L., KLOEPPER, J.W., JONES, J.B., SUSLOW, T.V. and WILSON, M., 2006: Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. Biol. Control. 36(3): 358-367.

24. JIJAKLI, M. H., 2003 : La lutte biologique en phytopathologie.' *In* : Lepoivre P., eds. Phytopathologie, bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. 1 éd. Bruxelles : Editions De Boeck Université, 289-317.

25. KAMILOVA F., KRAVCHENKO L.V., SHAPOSHNIKOV A.I., AZAROVA T., MAKAROVA N. and LUGTENBERG B., 2006a: Organic acids, sugars, and L-tryptophane in exudates of vegetables growing on stonewool and their effects on activities of rhizosphere bacteria. Molecular Plant-Microbe Interactions 19(3): 250-256.

26. KAMILOVA F., KRAVCHENKO L.V., SHAPOSHNIKOV A.I., MAKAROVA N. and LUGTENBERG B., 2006b: Effects of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and of the biocontrol bacterium *Pseudomonas fluorescens* WCS365 on the composition of organic acids and sugars in tomato root exudates. Molecular Plant-Microbe Interactions 19(10): 1121-1126.

27. KOUASSI, M., 2001 : La lutte biologique: une alternative viable à l'utilisation des pesticides. Vertigo, 235 p.

28. KURZE S., BAHl H., DAHL R. and BERG, G., 2001: Biological control of fungal Strawberry diseases by *Serratia plumuthica* HRO-C18. *Plant. Dis.* 85: 529-53.

29. LARKIN, R.P. and FRAVEL, D.R., 2002: Effects of varying environmental conditions onbiological control of Fusarium wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. Phytopathology. 92(11): 1160–1166.

30. LECLERE, V., MARTI, R., BECHET, M., FICKERS, P. and JACQUES, P., 2006: The lipopeptides mycosubtilin and surfactin enhance spreading of *Bacillus subtilis* strains by their surface-active properties', Archives of Microbiology, 186(6): 475-483.

31. LEE, J.P., LEE, S.W., KIM, C.S., SON, J.H., SONG, J.H., LEE, K.Y., KIM, H.J., JUNG, S.J. and MOON, B.J.,2006: Evaluation of formulations of Bacillus licheniformis for the biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea*. Biol. Control. 37(3): 329-337.

32. LEPOIVRE, P., 2003 : Les mécanismes de résistance et la spécificité parasitaire'. *In :* Lepoivre, P., eds. Phytopathologie, bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. 1 éd. Bruxelles : Editions De Boeck Université, 161-191.

33. LIU, B., QIAO, H. P., HUANG, L. L., BUCHENAUEr, H., HAN, Q. M., KANG, S. G and ONG, Y. F.,2009: Biological control of take-all in wheat by endophytic *Bacillus subtilis* E1R-j and potential mode of action', Biological Control, 49(3): 277-285.

34. LIVAJA, M., ZEIDLEr, D., VON RAD, U. and DURNER, J., 2004: Transcriptional responses of *Arabidopsis thaliana* to the bacteria-derived PAMPs harpin and lipopolysaccharide', Immunobiology, 213(3-4): 161-171.

35. LOURENCO JUNIOR, V., MAFFIA, L.A., ROMEIRO, R.d.S. and MIZUBUTI, E.S.G.; 2006: Biocontrol of tomato late blight with the combination of epiphytic antagonists and rhizobacteria. Biol. Control. 38(3): 331-340.

36. LUGTENBERG B., KRAVCHENKO L.V. and SIMONS M.; 1999: Tomato seed and root exudate sugars: composition, utilization by *Pseudomonas* biocontrol strains and role in rhizosphere colonization. Environmental Microbiology 1: 5, 439-446.

37. McSPADDEN GARDENER, B. B., 2004: Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. in agricultural systems., Phytopathology, 94, 1252-1258.

38. MENDOZA GARCIA, R.A., MARTIJN TEN HOOPEN, G., KASS, D.C.J., SANCHEZGARITA, V.A. and KRAUSS, U., 2003: Evaluation of mycoparasites as biocontrol agents of Rosellinia root rot in cocoa. Biol. Control. 27(2): 210-227.

39. MESSIAEN, C. and LAFON, 1989. The topical vegetable garden: Principles for improvement and increased production, with application to the main vegetable types, Paris, 514 p

40. MINUTO, A., SPADARO, D., GARIBALDI, A. and GULLINO, M.L., 2006: Control of soilborne pathogens of tomato using a commercial formulation of Streptomyces griseoviridis and solarization. Crop Protect. 25(5): 468-475.

41. NAKANO MM. and ZUBER P., 1989: Cloning and characterization of srfB, a regulatory gene involved in surfactin production and competence in *Bacillus subtilis.* Journal of Bacteriology 171: 5347-5353

42. NIHORIMBERE, V., XIAOPING, Y., JING, W. and HUIYUAN, Y., 2005: Separation and identification of endoxylanases from *Bacillus subtilis* and their actions on wheat bran insoluble dietary fibre. Process Biochemistry, 40: 2339-2343.

43. NIHORIMBERE, V., 2006 : Etude de l'influence du quorum-sensing sur la sporulation chez les bactéries du genre *Bacillus.* Diplôme d'études approfondies préalable au doctorat, Faculté Universitaire des sciences agronomiques de Gembloux, Gembloux-Belgique, 75p.

44. NIHORIMBERE, V., FICKERS, P., THONARt, P. and ONGENA, M., 2009: Ecological fitness of *Bacillus subtilis* BGS3 regarding production of the surfactin lipopeptide in the rhizosphere. Environmental Microbiology Report, 1: 124-130.

45. NIHORIMBERE, V., ONGENA, M., C.AWOY, H., BROSTAUX, Y., KAKANA, P., JOURDAN E. and ART, P., 2010: Beneficial effects of *Bacillus subtilis* on field-grown tomato in Burundi: Reduction of local *Fusarium* disease and growth promotion. African Journal of Microbiology Research 4: 1135-1142.

46. NIHORIMBERE, V., 2011: Rhizosphere-driven lipopeptide production by different strains of Bacillus spp. as mechanism involved in biological control of plant pathogens. Ph.D. Thesis. University of Liège - Gembloux Agro-Bio Tech, Belgium, 139 p.

47. ONGENA, M. and JACQUES, P., 2008: Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol', Trends in Microbiology, 16(3): 115-125.

48. PAULITZ, T.C. and BÉLANGEr, R.R., 2001: Biological control in greenhouse systems. Annu. Rev. Phytopathol. 39: 103-133.

49. PINCHUK,I.V., BRESSOLLIER,P., VERNEUIL,B., FENET B., SOROKULOVA I. B., MEGRAUD F. and Urdaci, M.C., 2001: *In vitro* anti-helicobacter pylori activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 3 is due to secretion of antibiotics, Antimicrobial agents and chemotherapy, 45(11): 3156-3161.

50. RABINDRAN, R. and VIDHYASEKARAN, P., 1996: Development of a formulation of *Pseudomonas fluorescens* PfALR2 for management of rice sheath blight. Crop protection, 15(8): 715-721.

51. SARAVANAKUMAR, D., VIJAYAKUMAR, C., KUMAR, N. and SAMIYAPPAN, R., 2007: PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. Crop Protect. 26(4): 556-565.

52. SHISHKOFF, N. and McGRATH, M.T., 2002: AQ10 biofungicide combined with chemical fungicides or AddQ spray adjuvant for control of cucurbit powdery mildewin detached leaf culture. Plant Dis. 86: 915-918.

53. SIMONS M., PERMENTIEr H.P., DE WEGER L.A., WIJFFELMAN C.A. and LUGTENBERG, B., 1997: Amino acid synthesis is necessary for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens* strain WCS365. Molecular Plant-Microbe Interactions 10(1): 102-106.

54. STEIN, T., 2005: *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions, Molecular Microbiology, 56(4): 845-857.

55. STEINBORN, G., HAJIREZAEI M.R. and HOFMEISTER, J., 2005: Bac genes for recombinant bacilysin and anticapsin production in *Bacillus* host strains' Archives of microbiology, 183(2): 71-79.

56. THAKORE, Y., 2006: The biopesticide market for global agricultural use. Industrial Biotechnology 2(3): 294-308.

57. TON, T., PIETERSE, C. M. J. and VAN LOON, L.C., 2006: The relationship between basal and induced resistance in Arabidopsis' *In:* Tuzun S. and Bent E., eds. Multigenic and Induced Systemic Resistance *in Plants.* New York: Springer Science+Business Media, Inc., 386-414.

58. TOURÉ, Y., ONGENA, M., JACQUEs, P., GUIRO, A.T.and HONARt, P., 2004: Role of caused by *Botrytis cinerea* on apple, Journal of Applied Microbiology, 96(5): 1151-1160.

59. U.S. Environmental Protection Agency; 2009: *Biopesticide Active Ingredient Fact Sheets.* http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/ingredients/index_ab.htm#b (consulté le 12/ 08/ 10).

60. WHIPPS, J.M., 2001: Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. J. Exp. Bot. 52: 487-511.

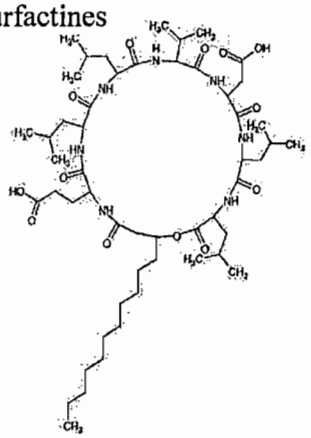
61. WOJCIEH, J. J. and LISE, K., 2002: Biological control of postharvest diseases of fruits. Annu. Rev. Phytopatol. 40: 411-441.

ANNEXES

Annexe 1

Structures des lipopeptides produits par *B. subtilis* (Ongena & Jacques, 2008)

Surfactines

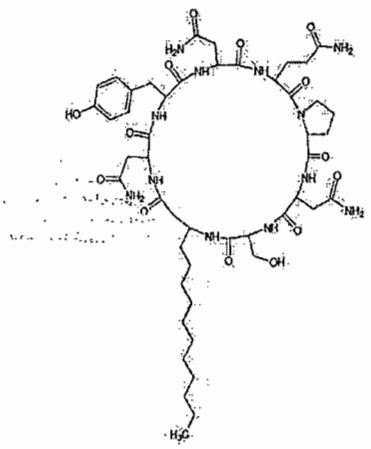


Variants		Lenght and branching of the acyl chain
Esperin**	L-Glu-L-Leu-D-Leu-L-Val-L-Asp-D-Leu-L-Leu-COOH	
Lichenysin***	L-XL_1-L-XL_2-D-Leu-L-XL_4-L-Asp-D-Leu-L-XL_7	*i*-C_{13}, *ai*-C_{13}, *n*-C_{14}, *i*-C_{15}, *ai*-C_{15}
Pumilacidin	L-Glu-L-Leu-D-Leu-L-Leu-L-Asp-D-Leu-L-XP_7	
Surfactin	L-Glu-L-XS_2-D-Leu-L-XS_4-L-Asp-D-Leu-L-XS_7	*i*-C_{14}, *n*-C_{14}, *i*-C_{15}, *ai*-C_{15}

** the β-carboxyl of Asp_5 is engaged in the lactone
*** or halobacillin
XL_1 = Gln or Glu ; XL_2 = Leu or Ile ; XL_4 and XL_7 = Val or Ile ;
XP_7 = Val or Ile ;
XS_2 = Val, Leu or Ile ; XS_4 = Ala, Val, Leu or Ile ; XS_7 = Val, Leu or Ile

n, linear
i, iso
ai, anteiso

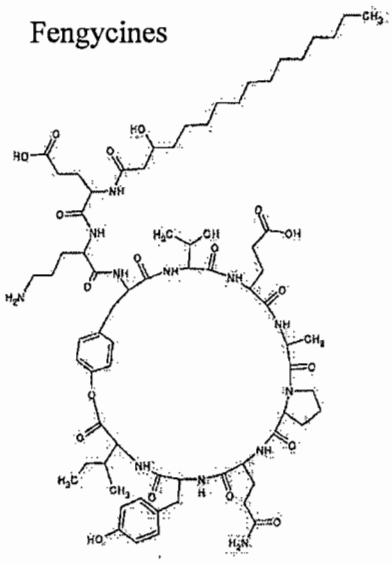
Iturines



Bacillomycin D	L-Asn-D-Tyr-D-Asn-L-Pro-L-Glu-D-Ser-L-Thr	*n*-C_{14}, *i*-C_{15}, *ai*-C_{15}
Bacillomycin F	L-Asn-D-Tyr-D-Asn-L-Gln-L-Pro-D-Asn-L-Thr	*i*-C_{16}, *i*-C_{17}, *ai*-C_{17}
Bacillomycin L	L-Asp-D-Tyr-D-Asn-L-Ser-L-Gln-D-Ser-L-Thr	*n*-C_{14}, *i*-C_{15}, *ai*-C_{15}
Bacillomycin LC*	L-Asn-D-Tyr-D-Asn-L-Ser-L-Glu-D-Ser-L-Thr	*n*-C_{14}, *i*-C_{15}, *ai*-C_{15}, *i*-C_{16}
Iturin A	L-Asn-D-Tyr-D-Asn-L-Gln-L-Pro-D-Asn-L-Ser	*n*-C_{13}, *i*-C_{15}, *ai*-C_{15}
Iturin A_L	L-Asn-D-Tyr-D-Asn-L-Gln-L-Pro-D-Asn-L-Ser	*n*-C_{15}, *i*-C_{16}
Iturin C	L-Asp-D-Tyr-D-Asn-L-Gln-L-Pro-D-Asn-L-Ser	*n*-C_{14}, *i*-C_{15}, *ai*-C_{15}
Mycosubtilin	L-Asn-D-Tyr-D-Asn-L-Gln-L-Pro-D-Ser-L-Asn	*n*-C_{16}, *i*-C_{16}, *ai*-C_{17}

* or bacillopeptin

Fengycines



Fengycin A**	L-Glu-D-Orn-D-Tyr-D-aThr-L-Glu-D-Ala-L-Pro-L-Glu-L-Tyr-L-Ile	*ai*-C_{15}, *i*-C_{16}, *n*-C_{15}
Fengycin B**	L-Glu-D-Orn-D-Tyr-D-aThr-L-Glu-D-Val-L-Pro-L-Glu-L-Tyr-L-Ile	*ai*-C_{15}, *i*-C_{16}, *n*-C_{15}, C_{17}
Plipastatin A	L-Glu-D-Orn-L-Tyr-D-aThr-L-Glu-D-Ala-L-Pro-L-Gln-D-Tyr-L-Ile	*n*-C_{15}, *ai*-C_{17}
Plipastatin B	L-Glu-D-Orn-L-Tyr-D-aThr-L-Glu-D-Val-L-Pro-L-Gln-D-Tyr-L-Ile	*n*-C_{16}, *ai*-C_{17}

** double bond between carbons 2-3, 3-4 or 13-14 were reported for some acyl chains

Annexe 2

Les microorganismes inscrits en tant que biopesticides à l'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (EPA) (Fravel, 2005).

Agent de biocontrôle	Année d'enregistrement	organisme ou maladie ciblée	Cultures concernées
Agrobacterium radiobacter strain K84	1979	*Agrobacterium tumefaciens*	Plantes ornementales, fruits, noix
Agrobacterium radiobacter Strain K1026	1999	*Agrobacterium tumefaciens* and *A. rhizogenes*	Plantes ornementales, fruits, noix
Ampelomyces quisqualis isolate M-10	1994	Powdery mildew	Fruits, légumes et plantes ornementales
Aspergillus flavus strain AF36	2003	*Aspergillus flavus*	Coton
Aspergillus flavus NRRL 21,882	2004	*Aspergillus flavus*	Cacahuète
Bacillus licheniformis Strain SB3086	2003	Les pathogènes et rouilles foliaires	plantes ornementales et gazon ornemental
Bacillus pumilus Strain GB 34	2002	*Rhizocotonia, Fusarium*	Soja
Basillus subtilis GBO3	1992	*Rhizocotonia, Fusarium Aspergillus* et d'autres	Coton, arachides, soja, blé, orge, pois et haricots
Basillus subtilis MBI 600	1994	*Rhizocotonia, Fusarium, Alternaria* et *Aspergillus*	Coton, haricot, orge, blé, corn, pois, arachides et soja
Bacillus subtilis Strain QST 713	2000	Pathogènes, pourriture et rouilles foliaires	Cerises, courges, raisins, légumes foliaires, poivres, pommes de terre, tomates et noix
Bacillus subtilis var. amyloliquefaciens strain FZB24	2000	*Rhizoctonia* et *Fusarium*	arbres d'ombre et des forêts, plantes ornementales et arbustes
Candida oleophila isolate I-182		Maladies après la récolte	Divers fruits, légumes, fleurs, plantes ornementales et d'autres
Conlothyrium minitants CON/M/91-08	2001	*Sclerotinia sclerotiorum* et *Sclerotinia minor*	Sol agricole
Gliocadium catenulaum strains JI446	1998	Pathogènes du sol	Légumes, herbes, épices, gazon, arbres et arbustes
Gliocadium virens GL-21	1990	Pathogènes du sol	Plantes ornementales, légumes, coton
Killed *Myrothecium verrucaria* : fermantation solids and solubles	1996	Nématodes parasite de la plante	Plantes alimentaires, plantes à fibres et plantes ornementales
Pseudomonas chlororaphis strain 63-28	2001	*Pythium, Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum*	Légumes et plantes ornementales en serre