

**AFPP – 6^e CONFÉRENCE SUR LES MOYENS ALTERNATIFS DE PROTECTION
POUR UNE PRODUCTION INTÉGRÉE
LILLE – 21, 22 ET 23 MARS 2017**

**ETUDES DES POTENTIALITES DE NOUVELLES BIOMOLECULES POUR LA PROTECTION DES PLANTES
EN AGRICULTURE BIOLOGIQUE**

F. KRIER ⁽¹⁾, F. COUTTE ⁽¹⁾, C. DUTHOO ⁽¹⁾, K. PETIT ⁽²⁾, S. OSTE ⁽²⁾, B. TISSERANT ⁽³⁾, Ph. REIGNAULT ⁽³⁾,
A. SIAH ⁽⁴⁾, P. HALAMA ⁽⁴⁾, S. MEJRI ⁽⁴⁾, D. WERBROUCK ⁽⁵⁾, D. GREBERT ⁽⁵⁾, P. JACQUES ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Université de Lille, INRA, ISA, Université d'Artois, Université du Littoral Côte d'Opale, EA 7394 - ICV - Institut Charles Viollette, *SFR Condorcet FR CNRS 3417*, 59000, France
francois.krier@univ-lille1.fr ; francois.coutte@polytech-lille.fr ; corentin.duthoo@univ-lille1.fr ; philippe.jacques@polytech-lille.fr

⁽²⁾ FREDON Nord Pas-de-Calais - 265 rue Becquerel 62750 Loos-en-Gohelle, France - karine.petit@fredon-npdc.com ; sandrine.oste@fredon-npdc.com

⁽³⁾ Unité de Chimie Environnementale & Interactions sur le Vivant - UCEIV - EA 4492 *SFR Condorcet FR CNRS 3417*, Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO) - CS 80699 62228 Calais cedex, France
benoit.tisserant@univ-littoral.fr ; philippe.reignault@univ-littoral.fr

⁽⁴⁾ Institut Charles Viollette (EA 7394), *SFR Condorcet FR CNRS 3417*, Institut Supérieur d'Agriculture, 48 Bd Vauban, 59046 Lille cedex, France

ali.siah@yncrea.fr ; patrice.halama@yncrea.fr ; samara.mejri@isa-lille.fr

⁽⁵⁾ Pôle Légumes Région Nord - 209 route d'Estaires 62840 Lorgies, France

dominique.werbrouck@agriculture-npdc.fr ; david.grebert@agriculture-npdc.fr

RÉSUMÉ

Le projet NEWBIOPEST rassemble pour la première fois en Région Hauts-de-France un consortium constitué de trois universités et deux stations d'expérimentation agricoles et répond au critère de diminution de l'impact des pratiques agricoles sur la santé humaine et sur l'environnement. Il vise notamment à offrir des solutions pour accélérer, en Région, le développement de l'agriculture biologique.

L'objectif de ce projet est d'étudier les potentialités d'exploitation de molécules naturelles, des lipopeptides produits par la bactérie *Bacillus subtilis*, pour la protection des plantes contre des champignons phytopathogènes. L'efficacité sur des maladies touchant des cultures importantes en Région Hauts-de-France (la septoriose du blé, le mildiou de la pomme de terre, la maladie des racines roses de l'oignon et la fusariose du poireau) a été étudiée.

Mots-clés : lipopeptides, biocontrôle, septoriose, mildiou, fusariose.

ABSTRACT

The NEWBIOPEST project brings together for the first time in the Hauts-de-France Region a consortium of three universities and two agricultural technical institutes and address the question of reduction of the impact of agricultural practices on human health and the environment. In particular, it aims to offer solutions to accelerate the development of organic agriculture in this Region. The objective of this project is to study the potential use of natural molecules, lipopeptides produced by the bacteria *Bacillus subtilis*, for the protection of plants against phytopathogenic fungi. The efficacy against diseases (wheat septoria tritici blotch, potato late blight, pink root disease of onion and leek blight) affecting important crops in the Hauts-de-France Region was studied.

Keywords: lipopeptides, biocontrol, septoria blotch, late blight, fusarium wilt.

INTRODUCTION

La lutte contre les maladies du blé, de la pomme de terre, du poireau et de l'oignon impose l'usage de nombreux intrants d'origine chimique et fait face à une quasi absence de produits biologiques efficaces. En agriculture conventionnelle, l'utilisation de certains de ces intrants représente un réel danger pour la santé humaine lié à leur toxicité aiguë (principes actifs irritants ou neurotoxiques) et chronique (principes actifs cancérigènes ou reprotoxiques, perturbateurs endocriniens). Elle engendre par ailleurs d'importants coûts environnementaux et des déséquilibres entre les populations microbiennes des agro-écosystèmes. De plus, en agriculture biologique, la faible disponibilité de biopesticides limite le développement économique de ces productions, qui peinent à trouver leur place sur le marché.

Afin de répondre aux attentes des agriculteurs qu'ils soient conventionnels ou biologiques, la mise sur le marché de molécules naturelles biodégradables et moins toxiques que les molécules actuellement utilisées est donc une piste prometteuse. Ainsi, les lipopeptides produits par des bactéries du genre *Bacillus* sont de bons candidats potentiels pour répondre à cette problématique (Ongena et Jacques, 2008).

Les lipopeptides produits par l'Université Lille1 (Institut Charles Viollette) ont été testés par 4 partenaires (ISA-ICV, FREDON, UCEIV, Pôle Légumes Région Nord) pour leur efficacité à lutter contre la septoriose du blé, le mildiou de la pomme de terre, la maladie des racines roses de l'oignon et la fusariose du poireau en conditions contrôlées, semi-contrôlées et aux champs avec contamination artificielle. Différents lipopeptides ont été évalués seuls ou en association et à différentes concentrations, afin de réaliser un criblage ayant pour objectif de sélectionner les lipopeptides et les concentrations les plus efficaces sur ces différents pathosystèmes.

MATERIEL ET MÉTHODES

1 : Production des lipopeptides

Les différents lipopeptides utilisés dans ces travaux ont été produits en utilisant différentes souches de *B. subtilis* capables de produire chacun des lipopeptides seul ou en mélange. Ces souches ont été préalablement développées à l'ICV de l'Université Lille1. La souche BBG125 a été utilisée pour la production de Mycosubtiline. De même, la souche BBG116 a été utilisée pour la production d'un mélange de Mycosubtiline et de Surfactine (Béchet *et al.*, 2013). Ces deux dernières souches ont été cultivées selon un procédé particulier, appelé Overflowing Exponential Fed Batch Culture, décrit précédemment par Chenikher *et al.*, (2010). La souche BBG131 a été utilisée pour la production de Surfactine (Coutte *et al.*, 2010) et la souche BS2504 pour la production de Fengycine (Ongena *et al.*, 2007). Ces deux dernières souches ont été cultivées dans un procédé intégré de production et de purification, appelé Continuous Bubbleless Membrane Bioreactor, décrit précédemment par Coutte *et al.*, (2013). Une fois produits, les différents lipopeptides ont été purifiés grâce à un procédé séquentiel utilisant des étapes d'ultrafiltration, de diafiltration, d'évaporation et de lyophilisation (Coutte *et al.*, 2013). La pureté des différentes poudres de lipopeptides obtenus a été ensuite vérifiée par RP-HPLC.

2 : Essais *in vitro*

2.1 : Effet sur le développement des 3 champignons (*Fusarium culmorum*, *Pyrenochaeta terrestris* et *Zymoseptoria tritici*) d'une gamme de concentration de différents lipopeptides sur milieu de culture en boîte de Petri.

Des boîtes de Petri ont été préparées avec un milieu de croissance du champignon (Potato Dextrose Agar ou PDA) contenant des concentrations croissantes (2,5 ; 5 ; 10 ; 50 et 100 mg.L⁻¹) de 7

préparations de lipopeptides, seuls ou en mélange : Surfactine (S), Mycosubtiline (M), Fengycine (F), Surfactine-Mycosubtiline (SM 50/50), Surfactine-Fengycine (SF 50/50), Surfactine-Mycosubtiline-Fengycine (SMF 33/33/33) et Surfactine sodique (SNa).

Des explants de champignon de 6 mm de diamètre prélevés par un emporte-pièce sur une culture de *F. culmorum* et de *P. terrestris* ont été déposés sur les différentes boîtes. Pour *Z. tritici*, une goutte de 5 µL d'une suspension de spores ($5 \cdot 10^5$ spores.mL⁻¹) obtenue après culture liquide du champignon a été déposée. La croissance a été évaluée en mesurant le diamètre des cultures issues des patches ou de la goutte, le champignon se développant de manière radiale sur les boîtes. Selon l'espèce de champignon, les mesures ont été faites à des temps différents, en tenant compte de la vitesse de croissance de chacune d'entre elles. *F. culmorum* et *P. terrestris* ont été cultivés à 20°C à l'obscurité et *Z. tritici* à 20°C sous un régime photopériodique de 12h à la lumière et 12h à l'obscurité.

Pour *F. culmorum*, les observations ont été réalisées à 48h, 96h et 9j de culture. Pour *P. terrestris*, elles ont été réalisées à 96h, 8j et 20j et pour *Z. tritici* à 8j et 20j.

2.2 Essais sous serre sur des plantes de blé

Le niveau de protection des lipopeptides a été évalué en serre sur des plantes de blé au stade quatrième feuille sortante, selon le protocole décrit par Siah *et al.* (2010). Les essais ont été réalisés en utilisant la variété Alixan (sensible à la septoriose) et la souche T02596 (isolée en 2014 dans le nord de la France). Les lipopeptides sont tout d'abord solubilisés dans du DMSO à 0,1 % puis dilués dans une solution d'eau distillée pour obtenir les concentrations souhaitées (200, 100 et 50 mg.L⁻¹). Les lipopeptides sont ensuite appliqués 48h avant inoculation à l'aide d'un pulvérisateur manuel après l'ajout de Tween 20 à 0,05% permettant l'adhésion des lipopeptides sur les feuilles de blé. Trente-six plantes (3 pots de 12 plantes) sont utilisées par modalité. Par ailleurs, trois témoins sont intégrés dans l'étude : un témoin non traité non inoculé, un témoin non traité inoculé et un témoin traité avec le Tween 20 seul et inoculé. L'efficacité (réduction des symptômes en valeur relative par rapport au témoin non traité) des produits sur les symptômes (% de surface foliaire malade avec nécroses ou chloroses contenant des pycnides) a été mesurée sur la troisième feuille à 21 jours post-inoculation.

La comparaison des moyennes pour le niveau des symptômes foliaires été réalisée avec le test ANOVA de Tukey à $P = 0,05$, à l'aide du logiciel XLSTAT (Addinsoft).

3. Essais en salle climatisée sur le mildiou de la pomme de terre

L'étude de l'efficacité des lipopeptides contre le mildiou de la pomme de terre causé par *Phytophthora infestans* a été réalisée en salles climatisées. La variété choisie pour l'étude est la Bintje. Cette variété est la plus implantée en région et elle est préconisée par la Commission des Essais Biologiques du fait de sa sensibilité au mildiou (Petitprez, 2002). Les tubercules sont plantés dans des pots de 12 centimètres de diamètre avec du terreau non autoclavé. La température est maintenue à 20°C pendant 2 jours pour permettre une germination rapide puis elle est passée à 15°C afin d'obtenir des plants compacts qui facilitent les manipulations. La photopériode est de 16 heures de jour et de 8 heures de nuit. Une parcelle élémentaire est constituée de 10 plants de pommes de terre. Il y a 4 répétitions, soit 40 plantes par modalité.

Les différentes modalités testées en 2016 sont précisées dans le tableau 1. L'application a lieu à l'aide d'un pulvérisateur à rampe qui simule un traitement au champ. Le volume appliqué est de 300 L/ha.

Tableau I: Modalités testées en 2016 en salles climatisées contre le mildiou de la pomme de terre, *Phytophthora infestans*
 Treatments tested in 2016 in air-conditioned rooms against potato late blight, *Phytophthora infestans*

Modalités testées	Dosage	Additif
Référence chimique : Mancozèbe	6,67 g.L ⁻¹	/
Référence agriculture biologique : Bouillie bordelaise (cuivre)	13,33 g.L ⁻¹	/
Témoin	/	/
Témoin Diméthyl Sulfoxyde (DMSO)	/	DMSO à 0,1%
Fengycine (F)	100 mg.L ⁻¹	DMSO à 0,1%
Fengycine (F)	200 mg.L ⁻¹	DMSO à 0,1%
Surfactine (S)	100 mg.L ⁻¹	DMSO à 0,1%
Mycosubtiline (M)	100 mg.L ⁻¹	DMSO à 0,1%
Mélange F+S	200 mg.L ⁻¹	DMSO à 0,1%
Mélange M+S	200 mg.L ⁻¹	DMSO à 0,1%
Mélange F+S+M	200 mg.L ⁻¹	DMSO à 0,1%

Les lipopeptides sont solubilisés dans une solution de DMSO à 0,1%

L'inoculation a été réalisée à l'aide d'une suspension de spores, deux jours après le traitement. La solution utilisée comprend 64 000 spores.ml⁻¹. Afin de faciliter l'accroche des gouttelettes sur la feuille, du Tween 20 a été utilisé comme agent mouillant. La pulvérisation des spores est réalisée à raison de 10 mL de solution contaminante pulvérisée sur chaque plante. Une fois pulvérisée, la plante est placée sous un sac plastique afin d'optimiser l'hygrométrie. Ce sac est laissé jusqu'à développement des symptômes.

Le traitement des modalités a eu lieu le 18 juillet 2016. La contamination artificielle a eu lieu à T+2 soit le 20 juillet. La notation des symptômes a eu lieu le 28 juillet (T+10 jours).

La notation a consisté en la notation du pourcentage de destruction foliaire sur les 4 feuilles développées de chaque plante. L'analyse statistique est le test de Newman et Keuls (5%) réalisée avec le logiciel STATBOX.

4. Essais aux champs sur la fusariose du poireau

Les lipopeptides ont été évalués aux champs sur la fusariose du poireau. Les essais sont menés avec une variété de poireau sensible, le Krypton. Plusieurs modalités (des lipopeptides purs ou en mélange), du PRESTOP (*Gliocladium catenulatum* J1446) utilisable en agriculture biologique et du TOPSPIN (Thiophanate-méthyl) utilisable en agriculture conventionnelle ainsi qu'un témoin contaminé et un non contaminé ont été comparées et sont présentées tableau II.

Tableau II. Modalités utilisées dans les essais de lutte contre la fusariose du poireau
Treatments tested against leek fusarium basal plate rot

	Modalité	
Produit Seul Mycosubtiline	100 mg.L ⁻¹	200 mg.L ⁻¹
En Mélange Surfactine + Fengycine	100 mg.L ⁻¹	200 mg.L ⁻¹
Surfactine + Mycosubtiline	100 mg.L ⁻¹	200 mg.L ⁻¹
PRESTOP (<i>Gliocladium catenulatum</i> J1446) : Réf bio	Dose Trempage : 5 g.L ⁻¹ d'eau Dose pulvérisation : 5 kg/ha	
TOPSIN (Thiophanate-méthyl) : Réf conventionnelle	En arrosage (Apport en localisé au trou) 1 g. L ⁻¹ d'eau	

Les poireaux ont été semés en tunnel en mars 2016. Les plants ont été arrachés le 16 juin 2016 puis stockés au froid pendant 15 jours pour vieillissement. Le 4 juillet 2016, les poireaux ont été trempés dans une solution de lipopeptides pendant 1 heure. Ils ont ensuite été égouttés puis plantés le lendemain. La contamination des plants a lieu 10 jours après plantation par une solution de 50 litres d'eau préparée avec le contenu de 12 boîtes de *F. culmorum* et 12 boîtes de *P. terrestris*. Onze parcelles (8 modalités et 3 témoins) de 60 poireaux ont ainsi été préparées avec 4 répétitions. L'évaluation de l'efficacité des molécules testées est réalisée par l'analyse du rendement commercialisable, les pertes à la récolte et le poids des racines.

RESULTATS DISCUSSION

1.1. Effet sur le développement des 3 champignons (*Fusarium culmorum*, *Pyrenochaeta terrestris* et *Zymoseptoria tritici*) d'une gamme de concentrations de différents lipopeptides sur milieu de culture en boîte de Petri.

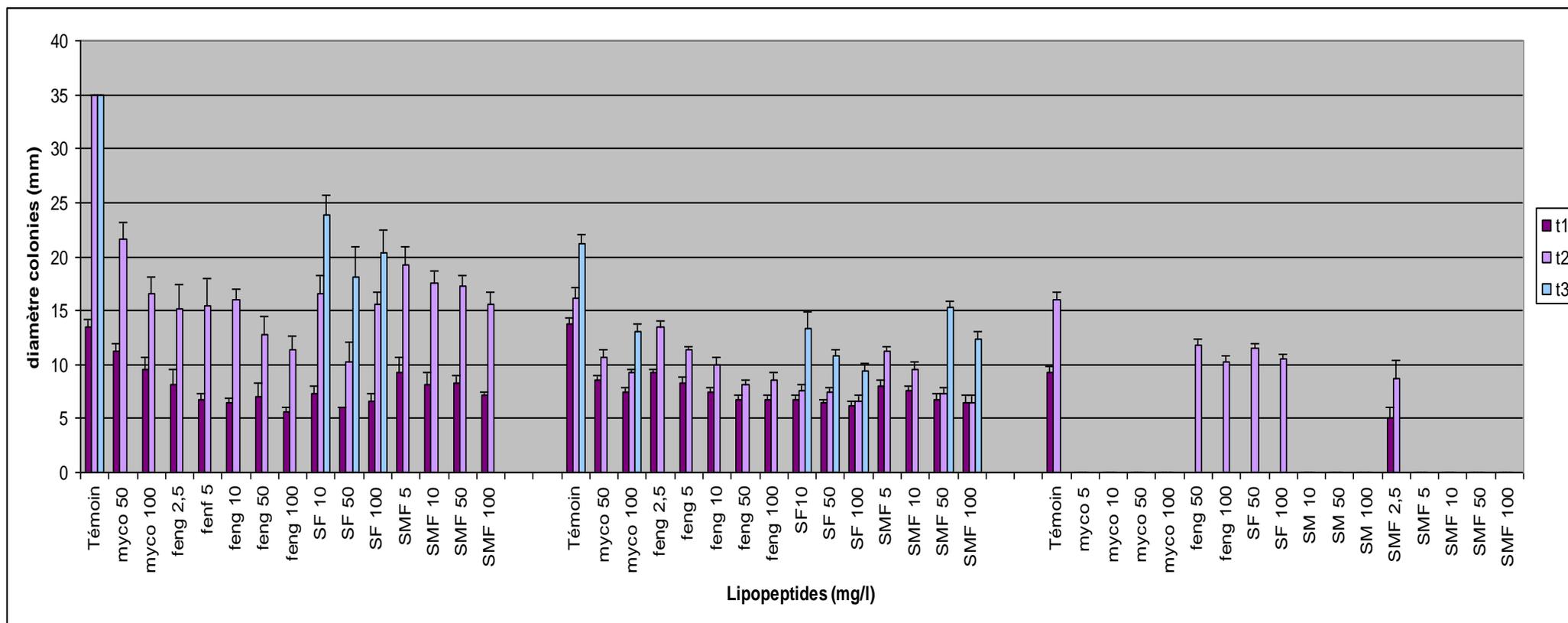
Les résultats présentant la croissance des champignons exprimés par le diamètre de cultures sont présentés figure 1.

F. culmorum est très sensible à la Fengycine et aux mélanges contenant la Fengycine même aux plus faibles concentrations à 48h et 96h puisqu'un fort pourcentage d'inhibition de la croissance du champignon est observé. En revanche, après 9j, l'effet est beaucoup moins visible et même absent pour le mélange SMF. La Mycosubtiline a un effet moindre et visible seulement pour les concentrations les plus élevées (50 et 100 mg.L⁻¹). Un petit effet est observé pour la Surfactine à 96h pour les concentrations les plus élevées.

P. terrestris est également très sensible à la Fengycine et aux mélanges contenant la Fengycine dès les plus faibles concentrations. Le mélange Surfactine-Fengycine est le plus efficace. Comme pour *F. culmorum*, l'effet sur la croissance du champignon s'estompe avec le temps puisqu'à 20 jours le pourcentage d'inhibition de la croissance a diminué. Un léger effet de la Mycosubtiline est observé aux concentrations les plus élevées.

Z. tritici est très sensible à la Mycosubtiline puisqu'à partir de 5 mg.L⁻¹, une inhibition totale de la croissance du champignon est observée. Les mélanges contenant la Mycosubtiline ont le même effet. Au cours du temps, la Fengycine semble retarder la croissance du champignon aux concentrations les plus élevées.

Figure 1 : Effet des différentes concentrations des lipopeptides sur la croissance de *Fusarium culmorum*, *Pyrenochaeta terrestris* et *Zymoseptoria tritici* après différents temps d'observation t1, t2 et t3 : *F culmorum* 2j, 4j et 9j; *P. terrestris* 4j, 8j et 20j ; *Z. tritici* 8j et 20j. Les valeurs correspondent à la moyenne de 3 répétitions . Pour *Zymoseptoria* les plages sans histogrammes correspondent à une inhibition totale du champignon.
 Effect of different lipopeptides concentration on growth of *Fusarium culmorum*, *Pyrenochaeta terrestris* and *Zymoseptoria tritici* after different observation times t1, t2 and t3 : *F culmorum* 2d, 4d and 9d; *P. terrestris* 4d, 8d and 20d; *Z. tritici* 8d and 20d. Values are the mean of 3 repetitions. For *Zymoseptoria*, no histogram means a total inhibition.



Fusarium culmorum

Pyrenochaeta terrestris

Zymoseptoria tritici

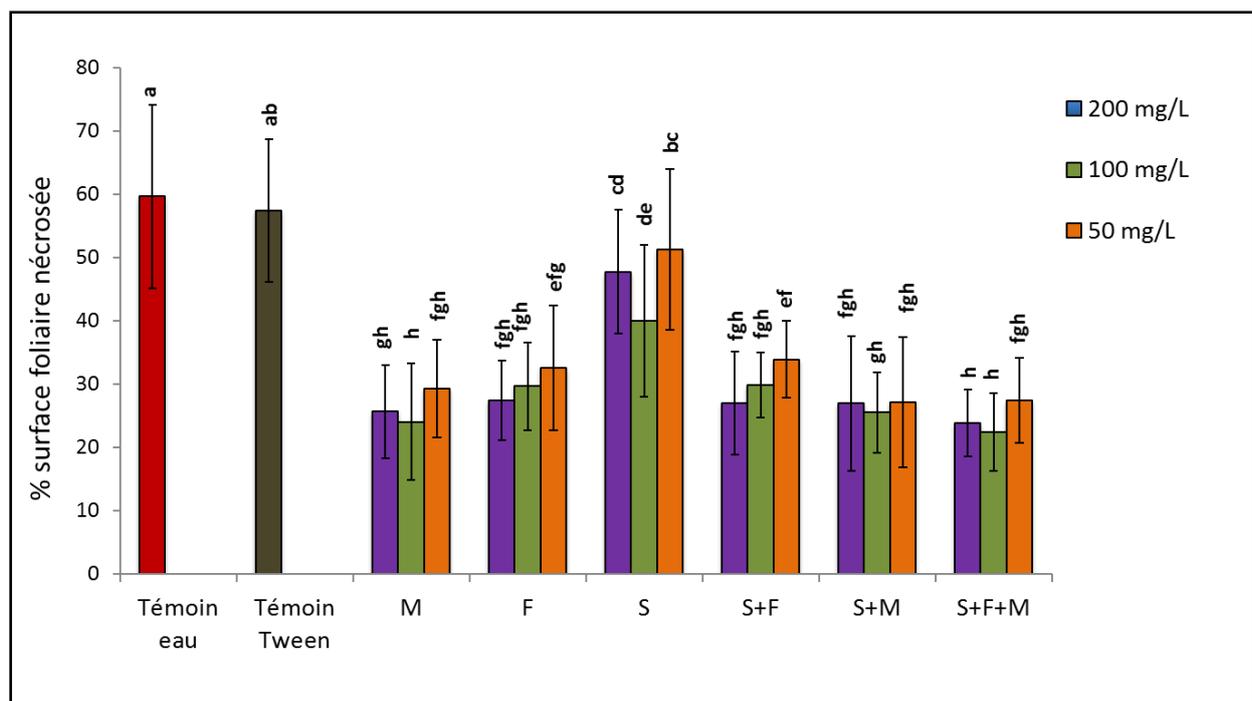
Certains lipopeptides ont un effet parfois très important sur la croissance des 3 champignons phytopathogènes testés et l'activité inhibitrice est espèce-dépendante. C'est pourquoi pour chaque organisme fongique, il conviendra de tester le lipopeptide le plus efficace.

1.2. Efficacité de protection en serre du blé contre *Z. tritici*

Les notations ont révélé une réduction significative des symptômes sporulant sur toutes les plantes traitées avec les lipopeptides, mais les réductions les plus importantes sont obtenues avec les formulations contenant la Mycosubtiline (Figure 2). Toutefois, la Fengycine, seule ou en association avec la Surfactine, a également montré un bon niveau d'efficacité. Les efficacités observées ne sont pas influencées de façon très marquée par les différentes concentrations utilisées.

Figure 2 : Pourcentage de surface foliaire avec symptômes (nécroses et chloroses) sporulant sur les plantes traitées ou non avec les lipopeptides. Les barres présentant des lettres communes ne sont pas significativement différentes d'après de test ANOVA de Tukey à $P = 0,05$. M : Mycosubtiline ; F : Fengycine ; S : Surfactine.

Percentage of leaves surface with sporulating symptoms (necroses and chloroses) on the treated and non-treated plants with lipopeptides. The bars with common letters are not significantly different according to an Tukey ANOVA test with $P = 0.05$. M : Mycosubtiline ; F : Fengycine ; S : Surfactine.



Cette étude a mis en évidence un bon niveau d'efficacité de protection pour la Mycosubtiline (seule ou en association avec la Surfactine et la Fengycine) sur blé contre la septoriose, avec des réductions de la maladie allant jusqu'à 60% par rapport au témoin non traité. Les travaux de caractérisation *in vitro* et *in planta* suggèrent que le mode d'action de ce lipopeptide est essentiellement basé sur un effet bio-fongicide direct sur le champignon : effet sur la germination des spores et sur la croissance mycélienne (non montré).

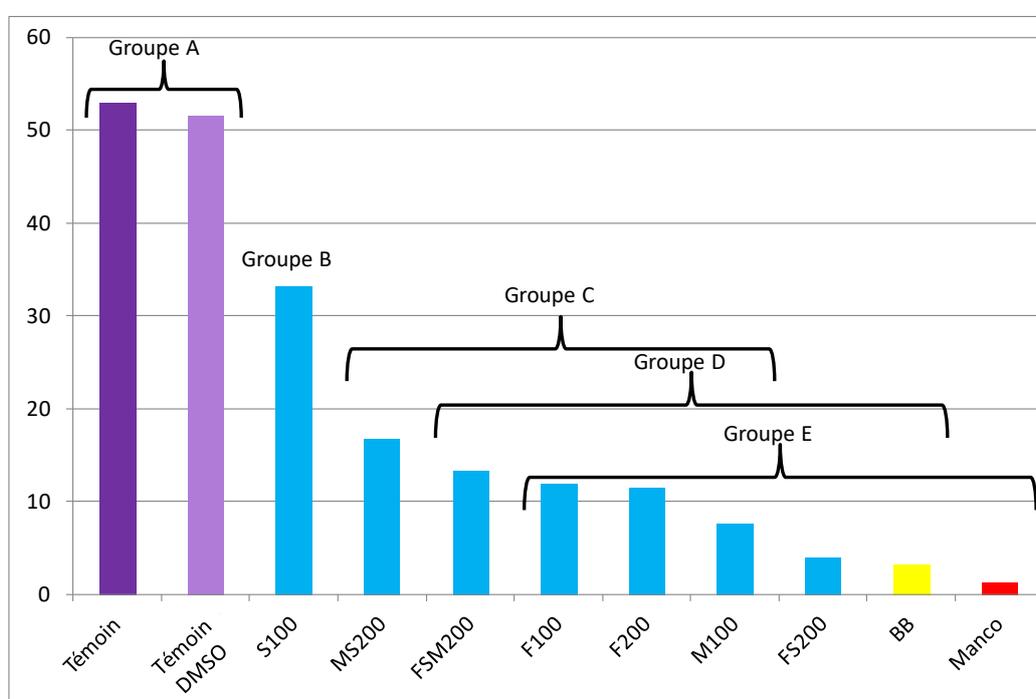
La Fengycine, seule ou en association avec la Surfactine, a également montré des niveaux significatifs de protection, avec des réductions de la maladie allant jusqu'à 55 % par rapport au témoin non traité. Le mode d'action de ce lipopeptide serait dû à un effet stimulateur de défenses de la plante car aucun effet biocide direct n'a été détecté pour cette molécule en conditions *in vitro* et *in planta*

(sauf pour le mélange S+F *in vitro*). L'effet stimulateur de défenses des plantes de toutes les formulations testées sera évalué ultérieurement à l'aide de marqueurs biochimiques et moléculaires afin d'identifier les voies de défense potentiellement élicitées par les traitements.

2. Effet des lipopeptides contre le mildiou de la pomme de terre causée par *Phytophthora infestans*

L'infestation de l'essai a été validée avec des témoins présentant en moyenne 53 et 51 % de surface foliaire atteinte par le mildiou. Les résultats montrent que le traitement préventif avec les différents lipopeptides testés en 2016 a permis de réduire la sévérité de la maladie de manière statistiquement significative (figure 3).

Figure 3 : Pourcentage moyen de surface foliaire détruite par le mildiou de la pomme de terre, *Phytophthora infestans*, pour chaque modalité testée
Average percentage of leaf area destroyed by potato late blight, *Phytophthora infestans*, in each treatment



Les moyennes qui n'ont aucune lettre en commun peuvent être considérées comme significativement distinctes selon ce test. La Surfactine à une concentration de 100 mg.L⁻¹ a permis de réduire de 37 % les symptômes. Ce lipopeptide est celui qui a eu le moins d'effet dans les conditions de cette étude et qui est statistiquement inférieur à la référence chimique et la référence agriculture biologique. Les traitements avec les autres lipopeptides ont eu une action qui a permis de réduire de 69 à 92 % l'impact de la maladie. Leur effet n'est pas statistiquement distinguable les uns des autres du fait de la superposition des groupes issus du test de Newman et Keuls (5 %). Ces résultats encouragent à poursuivre les études sur ces lipopeptides.

3. Essais aux champs sur la fusariose du poireau

L'infection des plants de poireaux a été très faible lors des essais réalisés en 2015 et 2016. Par conséquent, il est difficile d'évaluer l'activité des lipopeptides sur la fusariose du poireau. Néanmoins, les modalités à base de lipopeptides permettent de dégager des tendances positives sur les rendements de poireaux commercialisables par rapport au témoin sans lipopeptide (figure 4). Cette tendance se confirme aussi sur le rendement de matière sèche. De plus, pour l'ensemble des

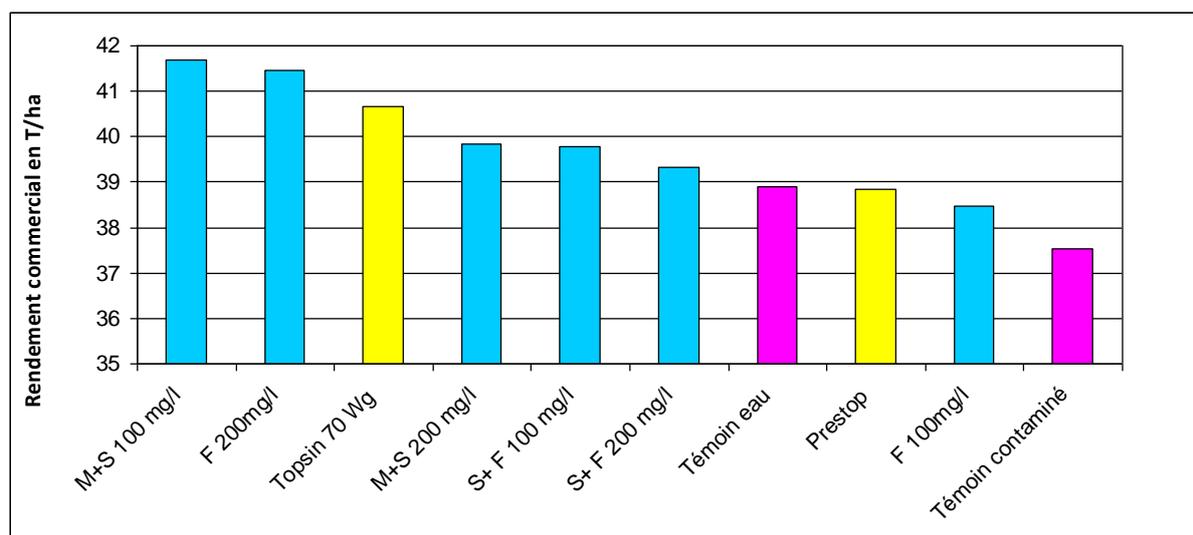
modalités traitées avec des lipopeptides, le système racinaire est également plus développé, ce qui se traduit par un poids de racines supérieur à celui des témoins (non montré).

Figure 4 : Rendement commercial en Tonnes/hectare des poireaux traités avec des lipopeptides.

M : Mycosubtiline ; F : Fengycine ; S : Surfactine.

Commercial performance in Tonnes/hectare of leeks treated with lipopeptides.

M : Mycosubtiline ; F : Fengycine ; S : Surfactine.



CONCLUSION

Les différents résultats obtenus dans le cadre du projet NEWBIOPEST concernant l'utilisation des lipopeptides produits par *Bacillus subtilis* comme futurs biopesticides sont très prometteurs. L'efficacité de ces molécules a été montrée sur différentes maladies des plantes ou sur les microorganismes qui en sont responsables, à l'échelle du laboratoire, sous serres ou en salles climatisées et au champ. La nature des molécules ou des mélanges a été déterminant sur le développement de 3 champignons phytopathogènes : *Fusarium culmorum*, *Pyrenochaeta terrestris* et *Zymoseptoria tritici*. Un effet de protection des feuilles de blé vis-à-vis de la septoriose et des feuilles de pomme de terre vis-à-vis du mildiou a été montré avec comme principal résultat une réduction significative de la surface foliaire avec symptômes. Il n'a pas été possible de conclure sur la fusariose du poireau car le niveau d'infection était faible lors des essais. Néanmoins, une augmentation des rendements commerciaux à l'hectare a été obtenue avec les lots traités par des lipopeptides.

Ces résultats encourageants confirment l'utilisation potentielle en tant qu'outils de biocontrôle des lipopeptides issus de *Bacillus subtilis*. Ceci permet d'envisager l'utilisation de ces molécules dans la lutte contre des agents phytopathogènes présentant un impact économique non négligeable sur les cultures.

REMERCIEMENTS

Remerciements à Martine Deguette, Thibaut Delannoy, Maxime Delcroix, Laetitia Durlin et Arthur Quennesson de la FREDON Nord Pas-de-Calais pour l'aide apportée au cours de cette étude.

FINANCEMENT :

Cette étude a été réalisée avec le soutien financier du Conseil Régional Hauts-de-France.

BIBLIOGRAPHIE

Béchet M., Castéra-Guy J., Guez J. S., Chihib N. E., Coucheney F., Coutte F., Jacques P., 2013. - Production of a novel mixture of mycosubtilins by mutants of *Bacillus subtilis*. *Bioresource technology*, 145, 264-270.

Chenikher S., Guez J. S., Coutte F., Pekpe M., Jacques P., Cassar J. P., 2010 - Control of the specific growth rate of *Bacillus subtilis* for the production of biosurfactant lipopeptides in bioreactors with foam overflow. *Process Biochemistry*, 45, 11, 1800-1807.

Coutte F., Lecouturier D., Ait Yahia S., Leclere V., Bechet M., Jacques P., Dhulster P., 2010 - Production of surfactin and fengycin by *Bacillus subtilis* in a bubbleless membrane bioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, 2, 499-507.

Coutte F., Lecouturier D., Leclère V., Béchet M., Jacques P., Dhulster P., 2013 - New integrated bioprocess for the continuous production, extraction and purification of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* in membrane bioreactor. *Process Biochemistry*, 48, 1, 25-32.

Ongena M., Jourdan E., Adam A., Paquot M., Brans A., Joris B., Thonart, P., 2007 - Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. *Environmental microbiology*, 9, 4, 1084-1090.

Ongena M., Jacques P., 2008 - *Bacillus* lipopeptides : versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiology*, 16, 115-125.

Petitprez J., 2002 - Méthode d'essai d'efficacité pratique de produits fongicides destinés à combattre le mildiou de la pomme de terre, *Phytophthora infestans* Mont de Bary, avec ou sans contamination artificielle. Commission des Essais Biologiques, AFPP, méthode n°006, 13 p.

Siah A., Deweer C., Duyme F., Sanssené J., Durand R., Halama P., Reignault Ph., 2010 - Correlation of *in planta* endo-beta-1,4-xylanase activity with the necrotrophic phase of the hemibiotrophic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Plant Pathology*, 59, 661-670.