



Utilisation de *Bacillus subtilis* GA1 pour la lutte contre les germes d'altération de la mangue en Côte D'ivoire

Alloue-Boraud W.A. Mireille^{1,3}, Louis Ban Koffi², Dadie A. Thomas¹ Dje K. Marcellin¹, Ongena Marc³

¹Laboratoire de Biotechnologie et Microbiologie des Aliments, Université Nangui Abrogona 02 BP 801 Abidjan 02. Côte d'Ivoire.

²Centre National de Recherche Agronomique, 01 BP 1740 Abidjan 01 Côte d'Ivoire.

³Centre Wallon de Biologie Industrielle (CWBI) Unité de Bio-industries, Université de Liège, Gembloux AgroBio-Tech, Passage des Déportés 2, 5030 Gembloux, Belgique.

Auteur de correspondance : Alloue-Boraud W. Mireille ; courriel : boraudmireille@yahoo.fr ; Cel : +225 03 08 70 00 / +225 49 54 48 46

Mots clés : mangue, biopesticide, *B. subtilis*, champignons

Keywords: mango, biopesticide, *B. subtilis*, mushrooms

1 RÉSUMÉ

Les maladies post-récoltes des mangues dues majoritairement à des champignons microscopiques constituent l'une des principaux risques au cours de la conservation des fruits en Côte d'Ivoire. L'objectif de ce travail est d'identifier la flore d'altération et d'éliminer cette flore par l'utilisation de *Bacillus subtilis* GA1 en vue de parvenir à une meilleure conservation des mangues. Un échantillon de 50 mangues de variété *Kent* collectées au quai fruitier du Plateau, Abidjan, Côte d'Ivoire a été utilisé pour cette étude. Ainsi, 5 mangues altérées et 45 mangues saines ont servi à l'isolement de la flore associée aux mangues et aux autres tests. La flore d'altération naturelle associée aux mangues a été cultivée, isolée, purifiée et identifiée sur le plan phénotypique. Après la mise en évidence de la pathogénicité de cette flore, des essais d'inhibition de croissance en présence de *Bacillus subtilis*.GA1, comme biopesticide, ont été réalisés. Les genres *Colletotrichum sp.* ont eu un fort taux de présence (100 %) et *Candida sp.(a)* avec 80 % de présence sur les mangues altérées tandis que sur les mangues saines, il y a eu 100 % de *Pseudomonas sp.* et de bactéries lactiques, 60 % de *Penicillium sp.* et 40 % de *Candida sp.(s)*. Le test de pathogénicité a montré que l'ensemble des micro-organismes isolés des mangues saines ont été plus ou moins capables de provoquer une altération des mangues. La forte altération a été observée avec *Colletotrichum sp.* Le test antagoniste a révélé que *B. subtilis* GA1 inhibe les microorganismes vecteurs d'altérations avec un taux compris entre 59,37 % et 84,78 %, soit une moyenne de 70,19 %.



Using *Bacillus subtilis* GA1 to fight against mango deterioration pathogens in Ivory Coast

ABSTRACT

Post-harvest mango diseases mainly caused by fungi are one of the main risks in the preservation of fruits in Côte d'Ivoire. The objective of this work is to identify the pathogenic flora and eliminate them by *B. subtilis* GA1 to achieve better conservation of mangoes. A sample of 50 mangoes variety Kent, were collected from dock Plateau, Abidjan, Côte d'Ivoire. Thus, 5 rotting and 45 healthy mangoes were used for the isolation of the pathogenic flora associated with mangoes. The pathogenic flora was cultivated, isolated, purified and identified phenotypically. After the detection of the pathogenicity of this flora, the growth inhibition assays in the presence of *Bacillus subtilis*, as a biopesticide, were performed. The *Colletotrichum sp.* had (100%) presence and *Candida sp.* (a) 80% of presence in the rotting mangoes while on healthy mangoes, there was 100% *Pseudomonas sp.* and lactic acid bacteria, 60% of *Penicillium sp.* and 40% of *Candida sp.* (s). The pathogenicity test showed that all the microorganisms isolated from healthy mangoes were more or less capable of causing rotting of mangoes. Strong alteration was observed with *Colletotrichum sp.* The antagonist test revealed that *B. subtilis* GA1 inhibits microorganisms alterations vectors with a rate of between 59.37% and 84.78%, an average of 70.19%.

2 INTRODUCTION

En Côte d'Ivoire, la principale région de production de la mangue (*Mangifera indica*) est située dans la zone de Korhogo dans la région du Poro à environ 700 km d'Abidjan (capitale administrative de la Côte d'Ivoire) (Braz, 2004). La commercialisation des mangues tient une place importante dans le développement économique de cette région jusqu' alors axé essentiellement sur la culture du coton. La production de mangues était précédemment destinée à la consommation locale aujourd'hui, elle est résolument tournée vers l'exportation. En 1999, la Côte d'Ivoire était le 2ème fournisseur du marché européen (Koffi, 2000) avec plus de 10200 tonnes de mangues exportées. Cependant, les campagnes 2008 et 2009 ont enregistré une forte diminution des quantités de mangues exportées avec respectivement 11250 et 11659 tonnes. La baisse de production constatée est due à la concurrence des autres marchés et, principalement à la qualité des mangues qui s'est trouvée fortement dépréciée par la présence de taches rondes caractéristiques de maladies fongiques notamment l'antracnose, particulièrement remarquée en 2007 sur les fruits

exportés (Guerbaud, 2008). L'infection post récolte déprécie la qualité de présentation de la mangue lors de sa commercialisation (Sanders, 1999 ; Diedhiou *et al.*, 2007). De nombreuses recherches existent sur les techniques qui permettent de préserver la qualité du produit. Parmi les solutions proposées on peut citer les atmosphères modifiées, l'addition d'antioxydants (ex : acide ascorbique, acide citrique) et d'agents de raffermissement (ex : calcium) (Tassadit, 2012). Actuellement, ce sont essentiellement des pesticides de synthèse qui sont utilisés pour lutter contre les agents ravageurs. Ces produits chimiques, considérés comme l'arme la plus efficace pour faire face à ces problèmes, provoquent des conséquences néfastes (Kouassi, 2001 ; Thakore, 2006) sur l'environnement par l'accumulation de résidus et la pollution des sols. L'apparition et la généralisation des mécanismes de résistance chez les pathogènes, 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, aussi des problèmes de santé

pour les utilisateurs et les consommateurs, telles sont les factures écologiques et sanitaires que la société est de moins en moins prête à payer. Au regard de ces préoccupations, il est important de trouver des solutions alternatives qui permettront de 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, désinfections 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 (Akram, 2008). Fabriqués à partir d'organismes

vivants ou de produits dérivés de ceux-ci, les biopesticides sont de plus en plus appelés à compléter, voire à remplacer, les pesticides de synthèse. C'est le cas de *Bacillus subtilis* GA1 qui, dans le cadre de cette étude a été utilisé pour son potentiel à contrôler la maladie de la pourriture grise de la pomme causée par *Botrytis cinerea* en Belgique (Touré *et al.*, 2004). L'objectif de ce travail était de tester *Bacillus subtilis* GA1 comme biopesticide contre les germes d'altération des mangues. ce travail consistera à isoler et identifier les micro-organismes sur les mangues altérées ainsi que sur les mangues saines ensuite réaliser des tests de pathogénicité, d'antagonisme, et de protection sur fruits en présence du biopesticide.

3 MATÉRIEL et METHODES

3.1 Matériel végétal et biologique : Le matériel biologique utilisé dans cette étude est constitué des mangues de variété *Kent* (Figure 1). Deux types de mangues ont été utilisés. Il s'agissait des mangues altérées (A) d'une part et des mangues saines (B) d'autre part. La souche de référence *Bacillus subtilis* GA1 CWBI-B637,

provenant de la collection du Centre Wallon de Biologie Industrielle (CWBI) de l'Université de Liège Gembloux Agrobio Tech est conservée à -80°C dans 20% de glycérol. Elle a servi pour les tests d'antagonisme et les tests de protection sur fruits.

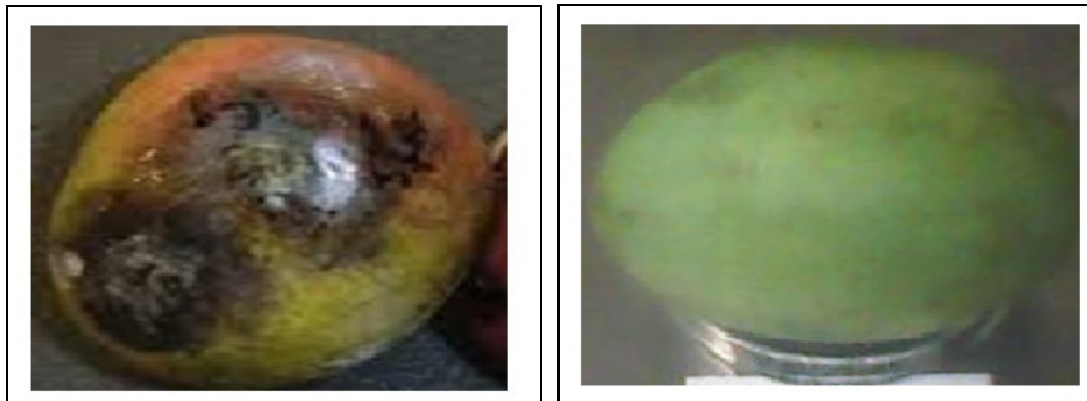


Figure 1 : Variété de mangues Kent saines (B) et altérées.(A)

Figure 1: Variety of healthy (B) Kent mangoes and altered (A)

Le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck, Germany) au chloramphénicol a été utilisé pour l'isolement et les repiquages des levures et des moisissures. Le milieu Man Rogosa and Sharpe (MRS) (Merck, Germany) a servi à l'isolement des bactéries lactiques. La gélose Cétrimide a été utilisée pour l'isolement du genre de *Pseudomonas* tandis que le milieu King B a servi à leur

identification. Le milieu 868 (glucose yeast peptone agar) a servi à faire les tests d'antagoniste ainsi que le repiquage de *B. subtilis* GA1. Le bouillon 863 (le milieu 868 sans agar) a servi à la production de biomasse de *B. subtilis* GA1.

3.2 Enquêtes sur les marchés d'Abobo gare et du quai fruitier du Plateau : Deux sites d'enquête ont été choisis. L'enquête a



été réalisée dans le mois de Juillet 2014 sur le grand marché d'Abobo gare (Une commune d'Abidjan) et du quai fruitier du Plateau (Quartier Administratif d'Abidjan). Un total de 20 commerçantes de mangues a été interrogé sur le grand marché d'Abobo gare et le quai fruitier du Plateau à l'aide d'un questionnaire. Les questions ont porté entre autres sur les variétés de mangues vendues, leur lieu de provenance, la durée de conservation des mangues et la cause de leur altération.

3.3 Analyses microbiologiques

3.3.1 Prélèvement des échantillons : Les fruits matures de variété de mangue Kent ont été prélevés au hasard à raison de 5 fruits par échantillon dont 5 mangues altérées et 45 mangues saines. Parmi les mangues saines, 5 ont été utilisées pour les tests d'identification et 40 pour les tests de pathogénicité et de protection. Elles sont transportées dans une glacière contenant du carboglace jusqu'au laboratoire du département de microbiologie du CNRA à Adiopodoumé (Commune de Yopougon, Abidjan) pour les différentes analyses microbiologiques dans un délai de 24 heures. Au total 50 mangues Kent ont été collectées pour cette étude. Les manipulations ont été réalisées en double.

3.3.2 Isolement et identification des levures et moisissures : Les levures et moisissures ont été isolées par contact direct sur gélose PDA tel que décrit par **Djossou (2011)**. Ainsi, les fruits altérés ont été lavés à l'eau de robinet, rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile et désinfectés par usage du papier essuie tout imbibé d'éthanol à 70%. Les fragments prélevés (morceau de mangue) sur chaque fruit ont étéensemencés sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA) au Chloramphénicol (CHL). Les boîtes ont été ensuite incubées à 27°C durant 24 à 72h. Pour obtenir une souche pure, plusieurs repiquages sur milieu PDA au CHL ont été effectués. Leur identification a été réalisée par aspect macroscopique et microscopique. D'une part, la levure ou la moisissure sélectionnée est soumise à une identification macroscopique par un examen de la culture sur PDA au CHL (**Botton et al., 1990**). Les caractères culturaux déterminés ont

été la texture et la couleur du thalle, la couleur du revers de la culture. D'autre part, toutes les levures et moisissures isolées ont été soumises à une identification morphologique réalisée par observation microscopique. Un frottis a été réalisé à l'aide d'une goutte d'eau distillée stérile sur une lame porte-objet. Le frottis séché a été fixé à l'alcool au-dessus d'une flamme de bec-bunsen. La morphologie du mycélium (absence ou présence de cloisons, la couleur, différenciation) et des spores (forme, couleur, texture des parois) a été déterminée par observation microscopique à l'huile à immersion à l'objectif x 100 (**Guiraud, 1998**).

3.3.3 Isolement et identification des bactéries lactiques : L'isolement des bactéries lactiques s'est réalisé par contact direct sur gélose MRS (Man Rugosa sharpe) tel que décrit par **Djossou (2011)**. Ainsi, les fruits altérés ont été lavés à l'eau de robinet, rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile et désinfectés à l'éthanol 70%. Des morceaux de mangue de variété Kent ont été prélevés à l'aide d'un scalpel et d'une pince préalablement stérilisés. Les fragments prélevés sur chaque fruit ont étéensemencés sur milieu MRS et incubés à 37°C pendant 24 à 72h. Les colonies caractéristiques de bactéries lactiques sont de couleur blanchâtre, bombées, crémeuses et isolées. Trois colonies caractéristiques sur gélose MRS ont été utilisées pour l'identification. Ainsi, pour obtenir une souche pure, plusieurs repiquages ont été effectués sur milieu MRS. La morphologie et le mode de groupement ont été déterminés par la coloration de Gram.

3.3.4 Isolement et identification des *Pseudomonas* sp. : L'isolement de *Pseudomonas* s'est réalisé par contact direct sur gélose Cétrimide tel que décrit par **Djossou (2011)**. Ainsi, les fruits altérés ont été lavés à l'eau de robinet, rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile et désinfectés par usage du papier essuie tout imbibé d'éthanol à 70%. Les fragments prélevés sur chaque fruit ont étéensemencés sur milieu Cétrimide. Les boîtes ont été ensuite incubées à 30 °C durant un à trois jours. Pour obtenir une souche pure, plusieurs repiquages ont été effectués sur milieu Cétrimide.



L'identification de *Pseudomonas* sp. a été faite à partir des milieux King B, la coloration de Gram ainsi que le test de la catalase.

3.3.5 Test de pathogénicité : Les isolats fongiques et bactériens issus de la variété Kent ont été inoculés artificiellement sur des mangues saines de variété Kent physiologiquement matures en raison de deux fruits par micro-organisme. Trois types de tests ont été réalisés selon la méthode de «l'inoculation brutale» (Régnier *et al.*, 2008). Le premier test a consisté à inoculer des micro-organismes deux à deux, le second avec l'ensemble de tous les micro-organismes isolés et le troisième test avec tous les isolats et *B. subtilis* GA1. Les fruits inoculés artificiellement ont été conservés à la température ambiante (25 ° C) pendant cinq jours. Les formulations qui ont développé des symptômes ou de pathologies sur les mangues ont été retenues pour une identification des microorganismes comme décrit précédemment.

3.3.6 Test d'antagonisme : Le test est effectué pour vérifier l'existence d'une éventuelle action inhibitrice de *B. subtilis* GA1 envers un ou plusieurs isolats. À l'aide d'une anse de platine stérile, *B. subtilis* GA1 est inoculée sous forme d'une strie rectiligne qui partage la boîte de pétri en deux parties égales. Deux disques, ayant chacun le diamètre du bout d'une pipette Pasteur, obtenus à l'emporte-pièce d'une culture de champignon ou de bactérie sur milieu 868. Ils sont déposés de part et d'autre de la strie à 1 cm du bord de la boîte. Les boîtes témoins ne sont pasensemencées avec *B. subtilis* GA1. Lorsque le

champignon ou la bactérie de la boîte témoin a recouvert le milieu de culture (Bezert *et al.*, 1996), le pourcentage de croissance du champignon dans les autres boîtes est déterminé à l'aide de la méthode de Korsten et Jager (1995) puis le taux d'inhibition est déduit selon la formule 1.

$$\text{Taux d'inhibition} = \left[\frac{(R-r)}{R} \right] \times 100 \quad (1)$$

r : La croissance radiale du micro-organisme avec antagoniste

R : La croissance radiale du micro-organisme sans confrontation d'antagoniste

3.3.7 Test de protection des fruits : Ce test de protection sur fruits s'est fait par immersion (Cissé, 2012). Il consiste à immerger les fruits dans un récipient contenant la solution de biomasse. Le temps d'immersion n'est pas important mais il faut s'assurer du bon mouillage de toute la surface du fruit. Ainsi deux mangues mûres de variété Kent ont été soigneusement lavées à l'eau de robinet et rincées trois fois avec de l'eau distillée stérile et désinfectées par usage du papier essuie-tout imbibé d'éthanol à 70 %. Elles sont par la suite plongées dans une solution de biomasse de *B. subtilis* GA1 et séchées à l'air libre. Les fruits après immersion ont été conservés à la température ambiante (25°C) pendant cinq jours.

4 RÉSULTATS

4.1 Enquêtes sur le grand marché d'Abobo et sur le quai fruitier du plateau : Les délais de conservation de la mangue rapportés varient de 1 à 4 jours (Tableau 1). Ils ne dépendent ni de la variété, ni de la provenance (Korhogo, Séguéla, Ferkessédougou). Selon les commerçantes, le temps de conservation diminue lorsque la durée du transport est longue (plus de deux à trois jours de route). Aussi, d'autres facteurs tels que les conditions de cueillette, de manipulation, de stockage ainsi que l'état de maturation influencent fortement la durée de

conservation des mangues. Sur les deux sites, la conservation des mangues est faite dans des cartons ou bassines en aluminium puis emballés avec du papier ciment et entreposés à l'air libre ou dans des magasins. Les commerçantes peuvent perdre plus d'un carton entier ou quelques mangues des cartons et/ou des bassines en aluminium.

4.2 Microorganismes isolés et identifiés sur les mangues : La moisissure *Colletotrichum* sp. et la levure *Candida* sp (a) ont été isolées respectivement avec un taux de 80 et 100% sur

les mangues altérées (**Figure 2**), tandis que les genres *Penicillium sp.*, (60 %), *Candida sp.*(s) (40%), *Pseudomonas sp.* (100%) qui est une bacille Gram négative, Catalase positive et les bactéries

lactiques (100%) qui sont des Bacilles Gram positive, Catalase négative ont été isolées sur les mangues saines.

Tableau 1 : Durées de conservation des mangues Kent et Keitt

Table 1: Storage times of mangoes Kent and Keitt

Variétés de mangues	Durée de conservation des mangues en jour	
	Abobo	Quai fruitier
Kent	Non mûres : 6 à 9	Non mûres : 6 à 9
	Mûres : 1 à 4	Mûres : 1 à 3
Keitt	Non mûres : 6 à 9	Non mûres : 6 à 9
	Mûres : 1 à 4	Mûres : 1 à 4

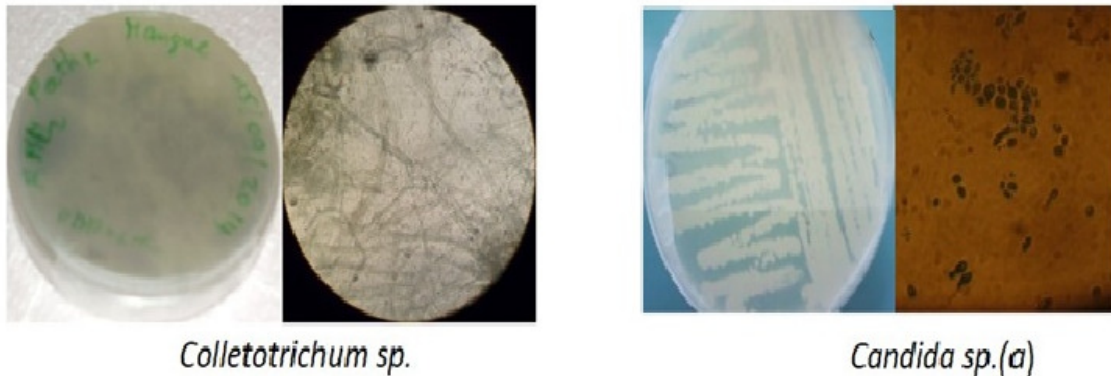


Figure 2 : Champignons isolés sur les mangues altérées

Figure 2: Fungi isolated on altered mangoes

4.3 Test de pathogénicité : Cinq jours après l'inoculation artificielle des mangues, seul le fruit inoculé avec *Colletotrichum sp.* présentait une importante altération, ce qui n'est pas le cas de *candida sp.(a)* isolée de la mangue altérée (**Figure 3**). *Penicillium sp.* et *candida sp.* isolées de la mangue altérée ont provoqué une faible altération du fruit. Toutefois, les bactéries lactiques et *Pseudomonas sp* individuellement n'ont induit de pourritures. Les combinaisons avec différents micro-organismes

isolés des mangues altérées comme saines ont présenté des pourritures et parfois des pourritures molles avec dégagement d'odeurs désagréables. Cependant, les combinaisons réalisées en présence de *Bacillus subtilis* GA1 n'ont présenté de signes d'altération qu'après une semaine avec une légère tache au tour de la partie inoculée alors que les autres parties du fruit demeuraient fermes (**Figure 4**).



Figure 3 : Mangues inoculées artificiellement avec les champignons

(C) : inoculation avec *Colletotrichum* sp ; (D) inoculation avec *Candida* sp (a) a : altérée

Figure 3: Mangoes artificially inoculated with the fungi

(C): inoculation with *Colletotrichum* sp ; (D) Inoculation with *Candida* sp (a) a: altered

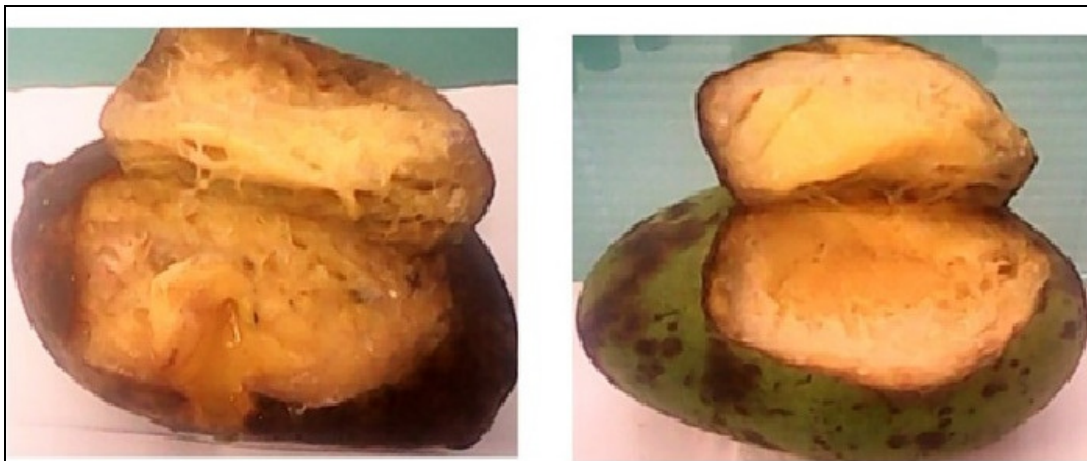


Figure 4 : Aspects des mangues en présence ou absence de *B. subtilis* GA1

(E) : après inoculation artificielle avec tous les isolats ; (F) inoculation artificielle avec tous les isolats et *B. subtilis* GA1

Figure 4: Mango Aspects in the presence or absence of *B. subtilis* GA1

(E): after artificially inoculation with all the isolates; (F) artificially inoculation with all the isolates and *B. subtilis* GA1

4.4 Test d'antagoniste : Le développement de *B. subtilis* GA1 inhibe la croissance de *Colletotrichum* sp. à 60,50% et *Candida* sp.(a) à

84,78% isolées de la mangue altérée (**Figure 5**) et des bactéries, moisissures et levures isolées des mangues saines.

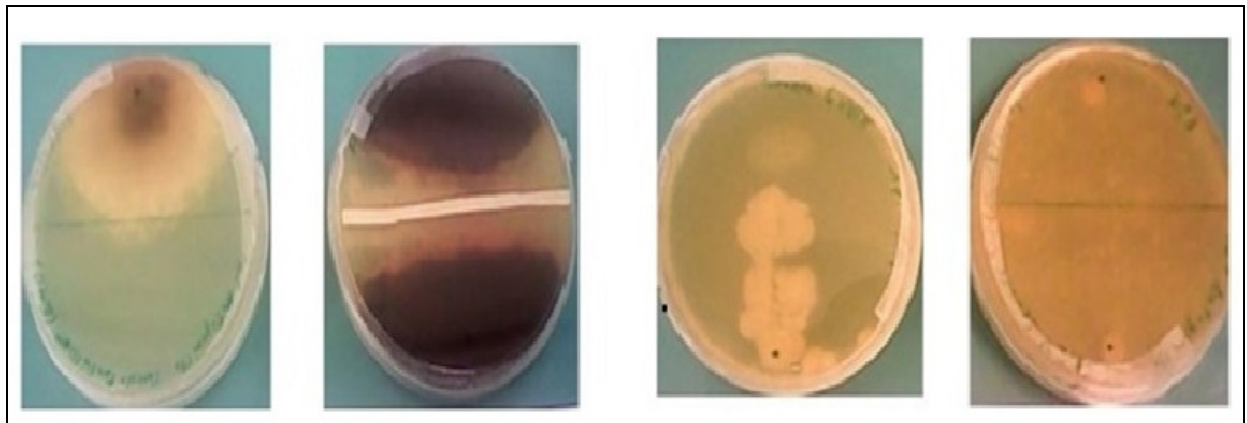


Figure 5 : Confrontation entre champignons et *B. subtilis* GA1

(G) culture de *Colletotrichum sp* (témoin) et en présence de *B. subtilis* GA1 ;(H) culture de *Candida sp* (témoin) et en présence de *B. subtilis* GA1

Figure 5: Confrontation between fungi and *B. subtilis* GA1

(G) Culture of *Colletotrichum sp* (control) and in the presence of *B. subtilis* GA1; (H) culture of *Candida sp* (control) and in the presence of *B. subtilis* GA1

Les taux d'inhibition calculés pour les différentes confrontations (champignons et *B. subtilis* ou bactérie et *B. subtilis* GA1) sont indiqués dans le **Tableau 2**. *B. subtilis* a montré une action antagoniste envers *Colletotrichum sp.*, *Candida sp.*

Penicillium sp., *Pseudomonas sp.*, et *Candida sp.* et une bactérie lactique avec plus de 50 % de taux d'inhibition pour chaque isolat. Le fort taux d'inhibition a été obtenu avec *Candida sp.*(a) (84,78%).

Tableau 2 : Taux d'inhibition des confrontations avec *B.subtilis*

Table 2: Confrontations inhibition rate with *B. subtilis*

Microorganismes isolés	Taux d'inhibitions de <i>B. subtilis</i> GA1 (%)
<i>Colletotrichum sp.</i>	60,5±1,1
<i>Candida sp.</i> (a)	84,78±2,2
<i>Penicillium sp.</i>	61,36±1,2
<i>Pseudomonas sp.</i>	70,72±0,7
<i>Candida sp.</i> (s)	59,37±1.2
Bactérie lactique	73,41±1,1

4.5 Test de protection sur fruit : Les mangues plongées dans la biomasse de *B. subtilis* GA1 et entreposées au laboratoire n'avaient pas présentées de signes d'altération après une semaine. Les signes d'altération sont apparus dix jours après traitement avec des taches noires sur

les fruits. Toutefois, l'intérieur de ces mangues présentait une absence de levures et de moisissures avec conservation de la couleur de la pulpe (**Figure 6**), de l'odeur et de la forme du fruit.



Figure 6 : Pulpes des mangues après traitement avec *B. subtilis* GA1

(I) la partie interne des pulpes des mangues ; (J) recherche de microorganismes dans la pulpe de mangue.

Figure 6: mango pulp after treatment with *B. subtilis* GA1

(I) the internal part of the pulp of mango; (J) microorganism research in mango pulp.

5 DISCUSSION

Les mangues sont des produits très vulnérables à la contamination microbienne depuis la cueillette jusqu'à la conservation. En effet selon la **FAO (1995a, b)**, les microorganismes tels que les moisissures pourraient infecter les mangues et provoquer leur altération lorsque les conditions de cueillette, de transport et de conservation sont réalisées sans précaution. *Colletotrichum sp.* et *Candida sp.* (a) ont été isolés sur les mangues altérées. *Colletotrichum sp.* provoque des altérations plus importantes et dans un court délai par rapport à *Candida sp.* (a). Cela pourrait s'expliquer par le fait que *Colletotrichum sp.* serait le principal agent d'altération des mangues. Cette observation a été faite par **Kouamé et al. (2011)**, **N'guettia et al. (2013)** qui l'ont même identifié comme l'agent responsable de l'antracnose et le principal pathogène des mangues au cours du stockage en Côte d'Ivoire. Ces résultats confirment ceux obtenus par **Erika et al. (2009)** sur des mangues et des tomates en Colombie. La présence de *Candida sp.* sur les mangues altérées et saines témoigne d'une contamination humaine. En effet, le genre *Candida sp.* qui a généralement pour habitat les muqueuses, la peau, les phanères (**Rispail, 2008**) pourrait infecter les mangues au cours de la cueillette ou lors des manipulations

par les commerçantes et la clientèle. **Rao et al. (2008)** ont isolé en le genre *Candida sp.* sur des mangues, des papayes, des raisins et des goyaves en Inde. L'absence de *Penicillium sp.* sur la mangue altérée serait due à l'effet des substances inhibitrices sécrétées par certains microorganismes (*Colletotrichum sp.*) au cours de leur développement (**Tabuc, 2007**). *Candida sp.* et *Penicillium sp.* isolés de la mangue saine n'avaient pas provoqué d'altération. Cela pourrait s'expliquer par la présence de bactérie lactique sur les mangues saines qui exerceraient des activités antifongiques (**Djossou, 2011**). Aussi les substances antimicrobiennes présentes à la surface des mangues pourraient être la cause de cette absence d'altération (**Alzamora et al., 1995**). L'altération induite par *Penicillium sp.* lors du test de pathogénicité pourrait être due à une présence de lésions sur la mangue saine, car ils sont des microorganismes de blessures. Les bactéries lactiques et *Pseudomonas sp.* n'ont pu provoquer de pourriture, sans doute à cause du taux élevé de l'acidité et du sucre ou, constitueraient une flore de protection naturelle des mangues. Les altérations provoquées par les bactéries lors du consortium de micro-organisme seraient dues à l'activité de certaines moisissures



et levures qui utilisent les acides organiques, provoquant ainsi une baisse de l'acidité et une augmentation du pH qui favoriseraient le développement des bactéries. Selon **Kim. (2001)**, leur présence sur la mangue n'est possible qu'après l'infection par les souches pathogéniques. **Sanders et Korsten. (2003a)** expliquent la faible virulence de certaines souches par le fait que ces souches sont des pathogènes secondaires. En revanche, l'absence d'altération après dix jours de traitement des mangues en présence de *B. subtilis* démontre la capacité de cette bactérie à ralentir ou inhiber la croissance des champignons et bactéries, avec des taux d'inhibition variant de 59,37 % à 84,78 %. Ces résultats sont proches de ceux obtenus par **Bezert et al. (1996)** pour qui les taux d'inhibition sont compris entre 65 % et 82 %. En effet les travaux de **Touré et al. (2004)** ont permis de montrer que *Bacillus subtilis* GA1 a la capacité d'inhiber 70% de la croissance de *Botrytis cinerae*, germe responsable de la pourriture grise des pommes. La pourriture très avancée induite par l'ensemble des isolats pourrait être due à un mécanisme propre aux pathogènes. En effet, les pathogènes ont appris à masquer leur présence en interférant avec les voies de défense des fruits. Cette désactivation s'effectue via la sécrétion par le pathogène d'effecteurs appelés protéines d'avirulence qui sont directement injectées dans la cellule hôte par un système spécifique (*Type Three Secretion System*, TTSS) (**Abramovitch et**

Martin, 2004). Leur rapidité et les dégâts induits aux mangues pourraient confirmer le court temps de stockage post-récolte des mangues exprimé par les femmes lors des enquêtes. Le test de protection sur fruit a révélé que *B. subtilis* exerce une action inhibitrice sur les pathogènes. Ce qui a permis d'empêcher la prolifération des agents pathogènes à l'intérieur des fruits et à conserver la fermeté du fruit de même que ses caractéristiques organoleptiques. Cependant, les signes d'altération observés sur les fruits après dix jours pourraient être liés aux agents pathogènes qui, familiarisés au milieu du substrat constitueraient la flore naturelle des mangues. Ceux-ci s'adaptent plus facilement au produit contrairement à *B. subtilis* qui a besoin d'un temps d'adaptation. L'inhibition de la flore d'altération par *B. subtilis* proviendrait de sa capacité à produire des lipopeptides ayant des propriétés antibactériennes et antifongiques par l'éclatement de la paroi cellulaire des champignons (**Ongena, 2014**). Une des caractéristiques principales des lipopeptides de *B. subtilis* réside dans leurs propriétés tensioactives qui s'expliquent par la diminution de la tension de surface, de la modification et la perturbation des bicouches lipidiques (**Deleu et al., 2003 ; Heerklotz et Seelig, 2007**). La protection obtenue est encourageante pour la mise au point d'une méthode de lutte biologique contre le complexe parasitaire.

6 CONCLUSION

L'utilisation de *B. subtilis* GA1 pour la conservation des mangues avait pour but de déterminer la capacité que présente cette souche en tant que biopesticide dans la lutte contre la flore d'altération des mangues. Au cours de cette étude, des micro-organismes tels que *Colletotrichum sp.*, *Candida sp.(a)*, *Penicillium sp.*, *Candida sp.(s)*, *Pseudomonas sp.* et une bactérie lactique ont été isolés des mangues. Les espèces

les plus incriminées dans l'altération des mangues en Côte d'Ivoire sont *Colletotrichum sp.* et *Candida sp.(a)*. Cependant l'utilisation de *Bacillus subtilis* GA1 comme biopesticide a permis d'inhiber les différents micro-organismes et à conserver les mangues sur plus de dix jours. Ainsi, *Bacillus subtilis* GA1 pourrait faire office d'un bon biopesticide pour la conservation des mangues en Côte D'ivoire.

7 REMERCIEMENTS

Ce travail est le fruit de la collaboration entre le Centre national de recherche agronomique (CNRA) de Côte d'Ivoire et le laboratoire de

Biotechnologie et Microbiologie des Aliments de l'Université Nangui Abrogoua. Les auteurs remercient le Laboratoire de Bioindustrie de



l'Université de Liège Gembloux AgroBio tech (Belgique) pour son assistance technique.

8 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abramovitch R. B., Martin G. B., (2004). Strategies used by bacterial pathogens to suppress plant defenses. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 356-364
- Akram A., (2008). Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non-pathogènes. Thèse de doctorat, Université de Liège, 161p
- Alzamora S. M., Cerrutti P., Guerrero S., López-Malo A., (1995). Minimally processed fruits by combined methods. In *Food preservation by moisture control-fundamentals and applications*. Editions. Welti-Chanes, J. and Barbosa-Cánovas G., Technomic Publishing Co. Lancaster, USA, 463-492
- Bezert G., Chappe P., Mourey A., Loubinoux B., (1996). Action de bacillus et d'actinomycètes sur les champignons du bleuissement du bois. Bulletin des Académies et Sociétés Lorraines des Sciences n°3, 35p
- Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J. P., Reymond P., Sanglier J. J., Vayssier Y., Veau P., (1990). Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Edition Masson, Paris, 512p
- Braz J., (2004). Panorama du marché international de la mangue : cas de la filière d'exportation du Brésil. Série « Master of Science » n° 68, Institut Agronomique Méditerranéen de Montpellier, 68p
- Cissé M., (2012). Immobilisation d'un système lactoperoxyde dans un enrobage de chitosane dans le but de prolonger la conservation des mangues. Thèse de doctorat, Université Montpellier Supagro, 159p
- Deleu M., Bouffieux O., Razafindralambo H., Paquot M., Hbid C., Thonart P., (2003). Interaction of surfactin with membranes: a computational approach. *Langmuir*, 19 (8):3377-3385
- Diedhiou P. M., Mbaye N., Dramé A. and Samb P. I., (2007). Alteration of post harvest diseases of mango *Mangifera indica* through production practices and climatic. *African Journal of Biotechnology*, 6: 1087-1094
- Djossou O., (2011). Mycoflore post-récolte du café robusta et utilisation des bactéries pour le contrôle des moisissures mycotoxynogènes et de l'Ochratoxine A, Thèse de doctorat. Université Paul Cezanne AIX Marseille III, 123p
- Erika P. M., Juan C. H., Jairo A. O., María F. T., (2009). Identification of *Colletotrichum* species causing anthracnose on Tahiti lime, tree tomato and mango. *Agronomía Colombiana*, 27(2):211-218
- FAO., (1995a). Fruit and vegetable processing. Agricultural Services Bulletin 119, Rome, 50 (3): 245-255
- FAO., (1995b). Small scale post-harvest handling practices - A manual for horticulture crops 3rd Edition, Series n° 8, Rome.231p
- Gerbaud P., (2008). Les dossiers de fruitrop, fiche de pays producteur : la Côte d'Ivoire, Fruitrop, Version française, n° 153
- Guiraud J. P., (1998). Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. 652p
- Heerklotz H., Seelig J., (2007). Leakage and lysis of lipid membranes induced by the lipopeptide surfactin. *European Biophysics Journal*, 36(5):305-314
- Kim W. G., Lee B. D., Cho W-D., Shin D. B., (2001). Anthracnose of *Perilla* Caused by *Colletotrichum spp.* And *Glomerella cingulata*. *Plant Pathology*, 17: 236-241
- Koffi K. M., (2000). Le commerce, l'environnement et le développement durable en Afrique de l'ouest et du centre dans une perspective sectorielle : cas de la production et de l'exportation de



- Pananas, de la banane et de la mangue de Côte d'Ivoire, 314p
- Korsten L., Jager E. S. D., (1995). Mode of action of *Bacillus subtilis* for control of avocado postharvest pathogens. *South African Avocado Grower's Association Yearbook*, 18:124-130
- Kouamé G. K., Sorho F., Koné D., Bomisso L. E., Aké S., Yatty J., (2011). Activité pathologique comparée de deux isolats de *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) sur deux variétés de mangues (*magnifera indica* L.). *Agronomie Africaine*, 23(1) :33-41
- Kouassi M., (2001). La lutte biologique : une alternative viable à l'utilisation des pesticides ? *Vertigo*, 2(2) :4000-4101
- N'Guettia M. Y., Diallo A. H., Kouassi N., Coulibaly F., (2013). Diversité morphologique et pathogénique des souches de *Colletotrichum sp.* responsables de l'anthracnose de la mangue en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 18(3) :2775-2784
- Ongena M., (2014). Biopesticides : une protection plus naturelle pour les cultures. Université de Liège - <http://reflexions.ulg.ac.be>. 10p
- Regnier T., Plooy W., Combrinck S., B. Botha., (2008). Fungitoxicity of *Lippias caberrima* essential oil and selected terpenoid components on two mango postharvest spoilage pathogens. *Postharvest Biology and Technology*, 48:254–258
- Rao R. S., Bhadra B., Shivaji S., (2008). Isolation and characterization of ethanol-producing yeasts from fruits and tree barks. *Letters in Applied Microbiology* 47 : 19-24
- Rispail P., (2008). Epidémiologie et diagnostic biologique des candidoses muqueuses et cutanéophanéennes. Module Intégré 5 Dermatologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes. 10p
- Sanders G. M., Korsten L., (2003a). Comparison of cross inoculation potential of South African avocado and mango isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Microbiological Research*. 158: 143-150
- Tabuc C., (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 190p
- Thakore Y., (2006). The biopesticide market for global agriculture use. *Industrial Biotechnology*, 2:194-208
- Touré Y., Ongena M., Jacques P., Guiro A. and Thonart P., (2004) Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. *Journal of Applied Microbiology* 96: 1151–1160