

Efficacité d'une souche de *Bacillus velezensis* dans le biocontrôle de la pourriture racinaire de la betterave à sucre due à *Sclerotium rolfsii*

M. G. S. BIDIMA^{1*}, N. CHTAINA¹, B. EZZAHIRI¹, M. EL GUILLI², A. KHEZANE¹, I. BARAKAT¹

(Reçu le 19/08/2022; Accepté le 30/09/2022)

Résumé

Dans une précédente étude, *Bacillus velezensis* NC318, une souche bactérienne antagoniste isolée de la rhizosphère du sol d'une culture de palmier dattier dans la région du Tafilalet, a montré un haut potentiel antagoniste *in vitro* contre la pourriture racinaire de betterave sucrière causée par *Sclerotium rolfsii* Sacc. Le présent travail consistait à évaluer *in vivo* l'incidence et la sévérité de la maladie sur plants de betteraves sucrières en pot sous serre. 147 jours après le semis dans un sol infesté par les sclérotos de ce pathogène (40 sclérotos /250 g de sol), les résultats ont montré que la bactérie appliquée par la bactérisation des semences ou dans le sol naturellement infesté a pu inhiber totalement la germination des sclérotos et par la suite aucune infection des plantes de betteraves sucrières n'a été observée. Aussi une amélioration des paramètres de croissance des plants (le poids frais de la partie aérienne des plants, le poids frais des racines, la longueur des pousses et le nombre de feuilles) des plantes issues de semences traitées avec la souche NC318 a été enregistrée. Le test de la viabilité de la souche antagoniste NC318 sur les semences bactériées et stockées à 4 °C, a montré que cet antagoniste est resté viable après cinq mois de conservation et a préservé son potentiel antagoniste contre *S. rolfsii* testé *in vitro*. Ces résultats suggèrent que la souche NC318 pourrait potentiellement être un agent de biocontrôle pour lutter contre *S. rolfsii* avec un effet biostimulateur de la croissance des plantes.

Mots clés: Biocontrôle, *Sclerotium rolfsii*, *Bacillus velezensis*, betterave à sucre, pourriture racinaire

Efficacy of a *Bacillus velezensis* strain in the biocontrol of sugar beet root rot caused by *Sclerotium rolfsii*

Abstract

In a previous study, *Bacillus velezensis* NC318, an antagonistic bacterial strain isolated from the rhizosphere of the soil of a date palm crop in the Tafilalet region, showed a high *in vitro* antagonistic potential against sugar beet root rot caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. The present work consisted in evaluating *in vivo* the incidence and severity of the disease on sugar beet plants in pots under a greenhouse. 147 days after sowing in a soil infested with sclerotia of this pathogen (40 sclerotia /250 g of soil), the results showed that the bacterium applied by bacterization of the seeds or in the naturally infested soil was able to totally inhibit the germination of the sclerotia and subsequently no infection of sugar beet plants was observed. Moreover, an improvement of plant growth parameters (fresh weight of the aerial part of the plants, fresh weight of the roots, length of the shoots and, the number of leaves) of plants from seeds treated with strain NC318 was recorded. Viability testing of the antagonist strain NC318 on treated seeds stored at 4 °C, showed that this antagonist remained viable after five months of storage and preserved its antagonistic potential against *S. rolfsii* tested *in vitro*. These results suggest that strain NC318 could potentially be a biocontrol agent to control *S. rolfsii* with a biostimulator effect on plant growth.

Keywords: Biocontrol, *Sclerotium rolfsii*, *Bacillus velezensis*, sugar beet, root rot

INTRODUCTION

La lutte biologique est une stratégie agroécologique visant à lutter contre les maladies causées par les pathogènes des plantes et permet de minimiser les interventions chimiques et leurs impacts négatifs sur la santé et l'environnement (Caulier *et al.*, 2018). Les microorganismes naturels bénéfiques, également appelés agents de biocontrôle, permettent une gestion plus rationnelle et plus sûre des maladies causées par les pathogènes des plantes (Karimi *et al.*, 2016). Plusieurs études ont signalé l'utilisation potentielle des bactéries de la rhizosphère, en particulier les PGPR, pour stimuler la croissance des plantes et les protéger contre les pathogènes fongiques (Rabbee *et al.*, 2019). Parmi ces bactéries, les espèces du genre *Bacillus* ont été signalées efficaces pour le contrôle de plusieurs maladies des plantes causées par les agents pathogènes fongiques du sol (Carmona-Hernandez *et al.*, 2019). Ces espèces se prêtent très bien à une utilisation dans l'agriculture vu leurs aptitudes à former des spores résistantes aux rayons ultraviolets, à la chaleur et à la sécheresse. Cela leur permet de résister à des conditions environnementales défavorables et facilite leur préparation à des fins commerciales (Tiago *et al.*, 2004).

Les phytopathogènes du sol comme *Sclerotium rolfsii* sont très difficiles à contrôler. Ce champignon du sol à la capacité de former des sclérotos qui peuvent survivre pendant plusieurs années dans le sol dans des conditions environnementales difficiles. *S. rolfsii* est responsable de sérieux dégâts sur de nombreuses cultures agricoles, horticoles et arboricoles (Leoni *et al.*, 2014). Les conditions chaudes et humides favorisent la croissance de ce pathogène, avec des températures optimales se situant entre 25 et 30 °C pour la croissance des hyphes et la germination des sclérotos (Punja, 1985). Au Maroc, il est l'agent causal principal de la pourriture des racines de la betterave à sucre (*Beta vulgaris*), principalement dans la région irriguée de Doukkala. Cette culture industrielle occupe une place importante dans le périmètre irrigué de Doukkala, en effet sa contribution à la production nationale est de 42 % (Redani, 2015). Cet agent pathogène a été rapporté comme étant très virulent dans cette région et attaque les tubercules de la betterave à sucre quelques semaines avant la récolte causant jusqu'à 80 % de pertes de rendement, de qualité de la récolte et de teneur en sucre des plantes ce qui entraîné des pertes économiques considérables (Khattabi *et al.*, 2004). Bien que de nombreux fongicides soient efficaces *in vitro* et

¹ Département de Production, Protection et Biotechnologie Végétales, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc

² Institut National de la Recherche Agronomique, station de Menzeh, Kénitra, Maroc

comme traitement des semences contre *S. rolf sii*, leur utilisation dans la pratique n'est pas justifiée d'un point de vue économique, ou environnemental, car les traitements doivent être répétés au moins trois fois sans que le contrôle soit garanti (Khattabi *et al.*, 2004). En outre, la pourriture apparaît en fin de saison de la culture de betterave sucrière ils pourraient avoir des risques de résidus de pesticides dans les tubercules. Dans ces conditions la lutte contre *S. rolf sii* ne peut pas se faire à travers une seule méthode mais plutôt grâce à la combinaison de plusieurs méthodes de lutte dans le contexte d'une approche intégrée (rotation, labour profond, solarisation du sol visant à réduire la capacité de survie des sclérotés dans le sol, semis précoce, utilisation de microorganismes antagonistes) (Ezzahiri, 2021). L'utilisation de microorganismes tels que les bactéries PGPR, capable de protéger et de stimuler la croissance des plantes est une stratégie qui fait partie d'une production durable et écologique et qui peut être adoptée dans un programme de lutte contre *S. rolf sii*.

Dans le cadre de la recherche de mesure de lutte efficace mais aussi respectueuse de l'environnement contre *S. rolf sii*, une bactérie antagoniste *B. velezensis* NC318, isolée de la rhizosphère du sol, s'est montré efficace contre le pathogène dans les essais *in vitro* (Bidima *et al.*, 2021). Cette inhibition a été induite par les mécanismes liés aux métabolites secondaires et aux composés organiques volatiles produits par la bactérie qui ont été mis en évidence dans les études précédentes. Cependant, l'utilisation de cette bactérie en pratique nécessite qu'elle soit adaptée à l'environnement dans lequel elle pourra être utilisée. Dans ce contexte, l'objectif principal de la présente étude était donc (i) d'évaluer à petite échelle dans des conditions sous serre l'effet de la souche NC318 dans le biocontrôle de la pourriture dans un sol naturellement infesté par les sclérotés et (ii) d'évaluer la capacité de cette bactérie à stimuler la croissance des plantes de betteraves sucrières.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Microorganisme et conditions de culture

La souche bactérienne antagoniste *Bacillus velezensis* NC318 utilisée dans cette étude a été isolée de la rhizosphère d'une culture de palmier dattier dans la région du Tafilalet dans une précédente étude (Bidima *et al.*, 2021). La souche NC318 a été cultivée sur milieu PDA (Potato dextrose agar) à 28 °C avant toute utilisation expérimentale.

Matériel végétal et substrat du sol

Des semences monogermes de betteraves sucrières de la variété «Casablanca» ont été utilisées dans tous les essais. Les semences ont été désinfectées superficiellement avec de l'hypochlorite de sodium (NaClO) à 1 % pendant trois minutes puis rincées trois fois avec de l'eau distillée stérile et séchées à l'air libre sous hotte à flux laminaire. Le sol utilisé lors de l'expérimentation a été prélevé à la station expérimentale de mise en valeur agricole (SEMVA) de Doukkala dans une parcelle fortement infestée par *S. rolf sii* (une moyenne de 40 sclérotés /250 g de sol). Le sol avait une texture limoneuse (limon: 64,3 %, sable: 23,6 %, argile: 12,2%), avec 3,4 % de matière organique, un pH de 7,98 et une conductivité électrique de 0,128 mS/cm.

Traitement des semences

Préparation des suspensions bactériennes

B. velezensis NC318 a été cultivée sur milieu PDA et incubée pendant 48 heures à 28 °C. La biomasse de la souche a été grattée délicatement à la surface de la culture et mise en suspension dans des flacons stériles contenant 250 ml du milieu liquide LB (Lysogeny broth). Les flacons ont été incubés à 28 °C dans une chambre de culture à l'obscurité et sous agitation continue (75 rpm) durant 72 heures. Les suspensions bactériennes ont été ajustées à une concentration de 10⁸ cfu/ml par mesure spectrophotométrique (DO 600 nm).

Bactérisation des semences de betteraves sucrières

Les semences de betteraves sucrières désinfectées ont été délicatement trempées dans les suspensions bactériennes puis agitées pendant 30 minutes pour assurer une uniformité des cellules bactériennes sur la surface des semences. Elles ont été ensuite séchées sur du papier filtre stérile sous une hotte à flux laminaire durant 4 heures. Des semences non bactérisées trempées dans le milieu LB ont servi de témoin.

Effet de la souche NC318 sur la pourriture racinaire de la betterave sucrière causée par *Sclerotium rolf sii*

Le sol prélevé de la SEMVA a été broyé, tamisé (maille 7 mm de diamètre) et placé dans des pots en plastiques ovales de 30 cm de diamètre et 40 cm d'hauteur à raison de 10 kg par pot. Les semences bactérisées et non bactérisées ont été semées dans un plateau alvéolé puis repiquées dans les pots en plastiques 10 jours après le semis. Tous les pots ont été placés dans une serre à température ambiante, et arrosés tous les 2 jours. 100 jours après le semis, un traitement tardif et un traitement de rappel ont été appliqués au niveau des racines des plantes, avec une quantité de 100 ml (10⁸ cfu/ml) de suspension bactérienne. 100 ml de milieu LB ont été ajoutés aux plants de betterave en pots servant de témoin. Les différents traitements ont été faits comme suit: T0: semences non bactérisées (témoin), T1: semences non bactérisées + traitement tardif; T2: semences bactérisées; T3: semences bactérisées + traitement de rappel. Le dispositif expérimental était disposé en bloc aléatoire complet, chaque traitement a fait l'objet de 4 répétitions et l'essai a été conduit 2 fois.

Incidence et sévérité de la pourriture de betteraves sucrières

La pourriture racinaire n'apparaît que lorsqu'on assiste à une température élevée couplée à une humidité du sol élevée. Lors des essais, les plantes ont été régulièrement suivies pour le développement des symptômes de la pourriture et l'arrachage a été fait 147 jours après le semis (environ 5 mois). Puis l'incidence de la maladie a été déterminée par la formule suivante:

$$\text{Incidence (\%)} = \frac{\text{Nombre de plantes atteintes}}{\text{Nombre de plantes observées}} * 100$$

La sévérité de la maladie a été évaluée pour toutes les plantes à l'aide d'une échelle allant de 0 à 4. Classification de la maladie, 0: plante saine avec une racine saine; 1: plante symptomatique et entre 0 % à 25 % de lésion sur la racine; 2: plante symptomatique et entre 25 % à 50 % de lésion sur la racine; 3: plante symptomatique et entre 50 %

à 75 % de lésion sur la racine; 4: plante morte. La sévérité a ensuite été déterminée à l'aide de la formule établie par McFadden *et al.* (1989) comme suit:

$$\text{Sévérité (\%)} = \frac{\sum ab}{AK} * 100$$

a: nombre de plante avec le même degré d'infestation

b: degré d'infestation (échelle de classification de la maladie)

A: nombre total de plante

K: degré d'infestation le plus élevé

Effet de la souche NC318 sur la croissance des plantes de betteraves sucrières

Des semences de betteraves sucrières bactériées et non bactériées mises en germination dans un plateau alvéolé ont été transplantées 10 jours après le semis, dans des pots de 30 cm contenant du sol stérile (autoclavé deux fois à 121 °C pendant 1 heure à 24 heures d'intervalle). Les plantes ont été placées sous serre à température ambiante et arrosées régulièrement. Chaque traitement a fait l'objet de 4 répétitions à raison de 3 pots par traitements. 80 jours après le semis, les paramètres de croissance des plantes (le poids des plantes fraîches, le poids des racines fraîches, la longueur des pousses des plantes et le nombre de feuilles) ont été mesurés. Les paramètres de croissance issues des semences bactériées ont été comparés aux plantes témoins issus des semences non bactériées.

Suivi de la survie de la souche NC318 sur les semences bactériées

Les tests de viabilité de la souche NC318 sur les semences de betteraves sucrières ont été évalués après 5 mois de conservation à 4 °C. La méthode consiste à placer 5 semences de betteraves sucrières dans des boîtes de pétri contenant du milieu PDA puis à incuber les boîtes à 28 °C pendant 24 heures.

Analyse statistique

Les données ont été saisies sur fichier Excel 2019 et ont été analysées avec le logiciel SPSS (version 20). L'analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée et une comparaison des moyennes des différents traitements a été effectuée par le test de Tukey à $p < 0,05$.

RÉSULTATS

Efficacité de la souche NC318 dans le contrôle biologique de *Sclerotium rolfii*

B. velezensis NC318 a été testée pour sa capacité à réduire ou à inhiber le développement de la pourriture racinaire causée par *S. rolfii*. L'essai a été réalisé sous serre sur plants de betterave à sucre en pots. La souche NC318 a montré une réduction significative ($p < 0,05$) de l'incidence et de la sévérité de la maladie sur les plantes de betteraves sucrières par rapport au témoin non traité (T0) (Figure 1). L'effet protecteur de la souche NC318 était plus prononcé dans les traitements T3 où les semences ont été bactériées avec l'application d'un traitement de rappel au cours du cycle. L'incidence de la maladie pour les traitements T3 était nulle et aucun symptôme de la pourriture n'a été observé sur les plants de betteraves sucrières

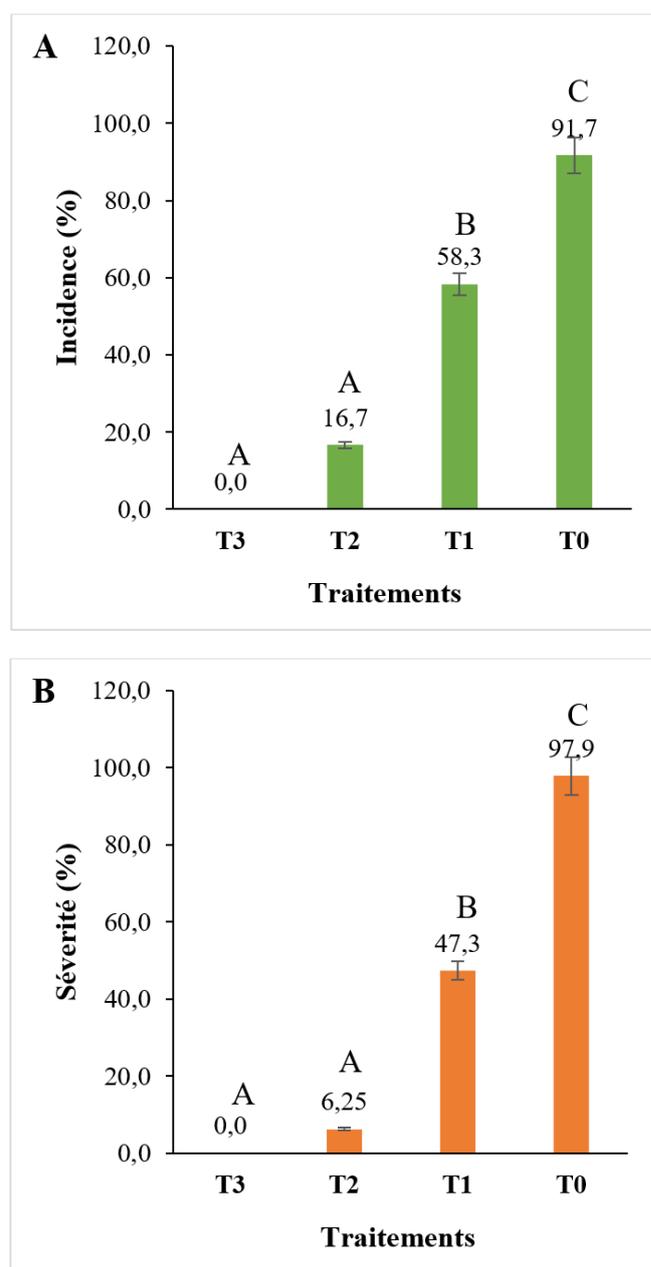


Figure 1: Biocontrôle de la pourriture à *S. rolfii* par *B. velezensis* NC318. A: Incidence de la pourriture. B: Sévérité de la pourriture. T0: semences non bactériées (témoin) T1: semences non bactériées + traitement tardif, T2: semences bactériées, T3: semences bactériées + traitement de rappel
Les barres indiquent l'erreur standard des moyennes. Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes avec le test de Tukey à $p < 0,05$

(Figure 2). Par contre, l'incidence de la maladie dans les traitements témoin (T0) était de 91,7 % avec une sévérité de la maladie de 97,9 %. L'observation des racines montraient un mycélium blanc cotonneux avec des sclérotés matures (Figure 2).

La réduction des symptômes de la pourriture a été observée pour les traitements tardifs (T1) et cette réduction était beaucoup plus importante pour les traitements avec des semences bactériées sans rappel (T2). L'incidence de la maladie était respectivement de 16,7 et 58,3 %. Une différence significative entre les différents traitements dans la sévérité de la maladie a été observée (Figure 1).

Effet de la souche NC318 sur la croissance des plantes de betterave à sucre

L'effet de la stimulation de la croissance des betteraves sucrières par la souche NC318 a été évalué 80 jours après le semis dans un sol stérile. Les paramètres de croissance, à savoir le poids des plantes fraîches, le poids des racines fraîches, la longueur des pousses et le nombre de feuilles ont été significativement améliorés ($p < 0,05$) comparativement aux plantes non traitées avec la souche NC318 (Tableau 1).

La souche NC318 a permis une augmentation de la croissance des plantes de betteraves sucrières par rapport au contrôle négatif (Figure 3).



Figure 3: Effet de *B. velezensis* NC318 sur les paramètres de croissance de la betterave à sucre par rapport au témoin 80 jours après semis

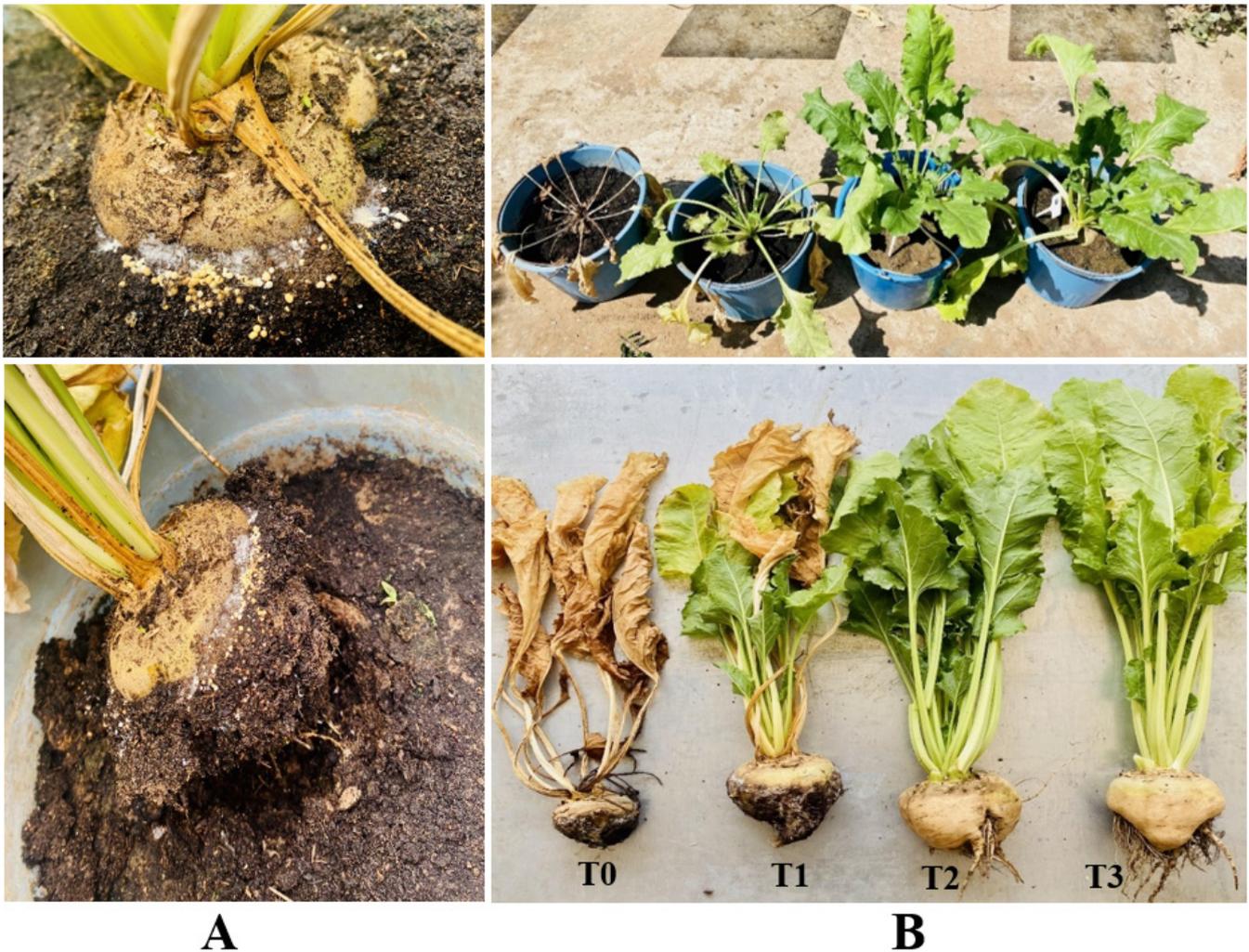


Figure 2: Essai de biocontrôle de *S. rolfsii* par la souche NC318, racines de betteraves sucrières après 147 jours de semis. A: Symptômes de la pourriture dans les traitements témoins (T0) avec apparition du mycélium et des sclérotés; B: Racines de betteraves à sucre issues des différents traitements, T0: semences non bactériées (témoin); T1: semences non bactériées + traitement tardif; T2: semences bactériées; T3: semences bactériées + traitement de rappel

Tableau 1: Paramètres de croissance des betteraves à sucre après traitement des semences avec *B. velezensis* NC318 comparativement aux semences non traitées

Traitements	Poids des plantes fraîches (g)	Poids des racines fraîches (g)	Longueur des pousses (cm)	Nombres de feuilles
<i>B. velezensis</i> NC318	635,6 ± 4,02	361,5 ± 12,5	40,7 ± 4,6	27,2 ± 1,3
Témoin	193,8 ± 1,87	158,9 ± 3,9	14,7 ± 7,8	11,6 ± 0,9

Suivi de la vitalité de la souche NC318 sur les semences bactérisées

Des tests de viabilité de semences bactérisées avec une suspension bactérienne de la souche NC318 ont été menés après de 5 mois de conservation à 4 °C. Les résultats suggèrent que la conservation des semences n'a pas affecté la viabilité de la bactérie sur les semences après 5 mois de conservation (Figure 4).



Figure 4: Test de viabilité sur des semences bactérisées par *B. velezensis* NC318 après 5 mois de conservation à 4°C

DISCUSSION

L'utilisation des agents de biocontrôle dans la lutte contre les pathogènes du sol est devenue une alternative prometteuse aux pesticides chimiques conventionnels. Les bactéries du genre *Bacillus* représentent les espèces les plus exploitées en tant qu'agents de biocontrôle ou comme biopesticides (Lengai *et al.*, 2018). Différentes propriétés, dont la capacité à former des endospores, à produire une grande variété de métabolites secondaires ayant des effets entre autres fongicides et à stimuler la croissance des plantes, ont fait du genre *Bacillus* un agent de lutte biologique prometteur (Mutlu *et al.*, 2020). Plusieurs souches bactériennes ont été signalées comme agent bio protecteurs des plantes contre divers pathogènes du sol, en particulier les champignons phytopathogènes (Dawar *et al.*, 2010; Alamri *et al.*, 2015; Caulier *et al.*, 2018). Diverses spécialités commerciales à base de souches de *Bacillus* sont déjà homologuées pour lutter contre certaines maladies cryptogamiques (ONSSA, 2022).

Dans cette étude, il a été démontré que *B. velezensis* NC318 est capable d'inhiber la germination des sclérotés et de réduire l'incidence et la sévérité de la maladie causée par le pathogène du sol *S. rolfssii* sur betterave à sucre. Les résultats des essais sur plants en pots sous serre ont révélé que la bactérie a pu inhiber de manière significative ($p < 0,05$), avec une efficacité de biocontrôle de 100 %, le développement du pathogène en empêchant la germination des sclérotés et donc l'infection et la propagation de la maladie sur les tubercules des plants de la betterave à sucrière. Les résultats ont montré que l'incidence de la maladie était nulle, lorsque que les semences de betteraves

sucrières ont été bactérisées et combiné à une application par arrosage d'une suspension bactérienne (10^8 cfu/ml) au niveau des tubercules des plantes. Dans une étude de Chen *et al.* (2020), une souche de *B. velezensis* LHSB1 a été efficace dans la lutte contre la pourriture de la tige de l'arachide, causée par *S. rolfssii*, dans des expériences conduites sur plants en pots sous serre. La souche LHSB1 a réduit de manière significative l'incidence de la maladie et la gravité de la pourriture des tiges ($p < 0,05$) par rapport aux témoins, et l'efficacité du biocontrôle a atteint 70,8 %. D'autres souches bactériennes ont été signalées efficaces dans le contrôle de la pourriture racinaire de la betterave à sucre dû à *S. rolfssii*. Le traitement du sol avec une bactérie *Pseudomonas fluorescens* SBHRPF2 a réduit l'incidence de la pourriture racinaire de la betterave sucrière à un taux de 70,82 % (Paramasivan *et al.*, 2019). Gholami *et al.* (2014) ont signalé que *B. subtilis* subsp. *Subtilis*, *B. atrophaeus* et *B. subtilis* subsp. *Spizizenii* ont réduit la sévérité de la maladie de pourriture racinaire dû *S. rolfssii* de plus de 50 % et ces souches ont permis la stimulation de la croissance des plantes de haricots dans des essais sous serres.

Les résultats de nos essais ont révélé que la souche NC318 a permis la stimulation de la croissance des plantes de betteraves sucrières. Une amélioration des paramètres de croissance (le poids des plantes fraîches, le poids des racines fraîches, la longueur des pousses et le nombre de feuilles) a été enregistrée. Dans la littérature, plusieurs souches de *B. velezensis* ont déjà été signalées comme des rhizobactérie favorisant la croissance des plantes (PGPR) entre autres, *B. velezensis* BAC03 sur culture de radis (Meng *et al.*, 2016), *B. velezensis* CMRP 4490 sur culture de soja (Teixeira *et al.*, 2021) et *B. velezensis* NKG-2 sur culture de tomate (Myo *et al.*, 2019). Les mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes sont liés aux métabolites secondaires et/ou aux composés volatiles organiques qu'ils produisent qui sont également impliqués dans l'induction des mécanismes de défense (Gond *et al.*, 2015). Dans les études précédentes, il a été démontré que la souche NC318 produit de puissants composés antifongiques entre autres la surfactine, l'iturine, la fengycine et la bacillibactine. Ces composés ont été signalés dans plusieurs études comme étant des inducteurs et des activateurs des mécanismes de la résistance systémique et de la stimulation de la croissance des plantes (Rabbee *et al.*, 2019). Les résultats obtenus montrent que la souche NC318 a un grand potentiel pour être utilisée comme agent de biocontrôle dans la lutte contre la pourriture causée par *S. rolfssii*.

CONCLUSION

Cette étude a décrit que la souche NC318 de *B. velezensis* a permis le biocontrôle de la pourriture racinaire de la betterave à sucre dû à *S. rolfssii*. Le traitement des plants par bactérisation des semences et/ou traitement du sol par une suspension de la souche NC318 a réduit significativement l'incidence et la sévérité de la maladie *in vivo* sur plants en pots sous serre en plus de sa capacité de stimuler de la croissance des plantes de betteraves sucrières. À l'avenir, des essais au champ devraient être menés pour préciser le mode d'application de l'antagoniste et étudier le potentiel antagoniste de la souche NC318 contre la pourriture racinaire de la betterave causée par *S. rolfssii* dans les conditions réelles de terrain.

RÉFÉRENCES

- Alamri S.A. (2015). Enhancing the efficiency of the bioagent *Bacillus subtilis* JF419701 against soil-borne phytopathogens by increasing the productivity of fungal cell wall degrading enzymes. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48: 159-170.
- Bidima M.G.S., Chtaina N., Ezzahiri B., El Guilli M. (2021). Evaluation of the Antagonistic Potential of bacterial strains isolated from Moroccan soils for the biological control of *Sclerotium rolfsii* Sacc. *International Journal of Food Science and Agriculture*, 5: 608-616.
- Carmona-Hernandez S., Reyes-Pérez J.J., Chiquito-Contreras R.G., Rincon-Enriquez G., Cerdan-Cabrera C.R., Hernandez-Montiel L.G. (2019). Biocontrol of postharvest fruit fungal diseases by bacterial antagonists: a review. *Agronomy*, 9: 121.
- Caulier S., Gillis A., Colau G., Licciardi F., Liépin M., Desoignes N., Modrie P., Legrève A., Mahillon J., Bragard C. (2018). Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. *Frontiers in microbiology*, 9: 143.
- Chen L., Wu Y.D., Chong X.Y., Xin Q.H., Wang D.X., Bian K. (2020). Seed-borne endophytic *Bacillus velezensis* LHSB1 mediate the biocontrol of peanut stem rot caused by *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Applied Microbiology*, 128: 803-813.
- Dawar S., Wahab S., Tari, M., Zaki M. J. (2010). Application of *Bacillus* species in the control of root rot diseases of crop plants. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 43: 412-418.
- Ezzahiri B. (2021). Guide de protection phytosanitaire de la betterave à sucre au Maroc. *Dar Qalam*, 204.
- Gholami M., Khakvar R., Niknam G. (2014). Introduction of some new endophytic bacteria from *Bacillus* and *Streptomyces* genera as successful biocontrol agents against *Sclerotium rolfsii*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47: 122-130.
- Gond S. K., Bergen M. S., Torres M. S., White Jr J. F. (2015). Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defense gene expression in maize. *Microbiological research*, 172: 79-87.
- Karimi E., Safaie N., Shams-Baksh M., Mahmoudi B. (2016). *Bacillus amyloliquefaciens* SB14 from rhizosphere alleviates *Rhizoctonia* damping-off disease on sugar beet. *Microbiological research*, 192: 221-230.
- Khattabi N., Oihabi A., Louali L., Ezzahiri B. (2004). Antagonistic Activity of *Trichoderma* Isolates against *Sclerotium rolfsii*: Screening of Efficient Isolates from Morocco Soils for Biological Control. *Phytopathologia Mediterranea*, 1000-1009.
- Lengai G.M., Muthomi J. W. (2018). Biopesticides and their role in sustainable agricultural production. *Journal of Biosciences and Medicines*, 6: 7.
- Leoni C., Ter Braak C. J., Gilsanz J. C., Dogliotti S., Rossing W. A., Van Bruggen A. H. (2014). *Sclerotium rolfsii* dynamics in soil as affected by crop sequences. *Applied soil ecology*, 75: 95-105.
- McFadden W., Hall R., Phillips L. G. (1989). Relation of initial inoculum density to severity of *Fusarium* root rot of white bean in commercial fields. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 11: 122-126.
- Meng Q., Jiang H., Hao J. J. (2016). Effects of *Bacillus velezensis* strain BAC03 in promoting plant growth. *Biological Control*, 98: 18-26.
- Mutlu A., Kaspar C., Becker N., Bischofs I. B. (2020). A spore quality–quantity tradeoff favors diverse sporulation strategies in *Bacillus subtilis*. *The International Society for Microbial Ecology*, 14: 2703-2714.
- Myo E.M., Liu B., Ma J., Shi L., Jiang M., Zhang K., Ge B. (2019). Evaluation of *Bacillus velezensis* NKG-2 for bio-control activities against fungal diseases and potential plant growth promotion. *Biological Control*, 134: 23-31.
- ONSSA : Office National de Sécurité Sanitaire des Produits Alimentaires. (2022). Index phytosanitaire. (Cité le 08 Août 2022). Disponible sur : <http://eservice.onssa.gov.ma/IndPesticide.aspx>
- Paramasivan M., Thaveedu S., Jhonson I., Karthikeyan M. (2019). Screening of rhizosphere and phylloplane bacterial antagonist against *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) in tropical sugar beet ecosystems. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 6: 947-952.
- Punja Z.K. (1985). The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*. *Annual Review of Phytopathology*, 23: 97-127.
- Rabbee M.F., Ali M.D., Choi J., Hwang B.S., Jeong S.C., Baek K.H. (2019). *Bacillus velezensis*: a valuable member of bioactive molecules within plant microbiomes. *Molecules*, 24: 1046.
- Redani L. (2015). Compétitivité, valorisation des ressources et objectifs de sécurité alimentaire pour la filière sucrière au Maroc. Thèse de doctorat. Gembloux Agro-Bio Tech Université de Liège, Gembloux (Belgique), 166.
- Teixeira G.M., Mosela M., Nicoletto M.L.A., Ribeiro R.A., Hungria M., Youssef K., Higashi A.Y., Mian S., Perreira A.S. De Oliveira A.G. (2021). Genomic insights into the antifungal activity and plant growth-promoting ability in *Bacillus velezensis* CMRP 4490. *Frontiers in microbiology*, 11: 3495.
- Tiago I., Teixeira I., Silva S., Chung P., Verissimo A., Manaia C.M. (2004). Metabolic and genetic diversity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from composted municipal sludge on poly- ϵ -caprolactones. *Current Microbiology*, 49: 407-414.