

Evaluation de biostimulants commerciaux en culture de tomates en sol

Stefano PEDRAZZI, Youness RECHKA, Pegah PELLETERET, Romain CHABLAIS, Julien CROVADORE et François LEFORT, Haute école du paysage, d'ingénierie et d'architecture (hepia), HES-SO//Genève, 1254 Jussy, Suisse
Renseignements: François Lefort, e-mail: francois.lefort@hesge.ch, tél. +41 22 546 68 27, www.hepia-hesge.ch



Récolte des tomates de l'essai biostimulants (photo hepia).

Introduction

L'utilisation intensive de produits chimiques en agriculture entraîne l'appauvrissement biologique des sols, la pollution des nappes phréatiques et le développement de résistances chez les pathogènes et ravageurs des plantes. Pour s'orienter vers un mode de production plus durable, deux catégories de micro-organismes suscitent de l'intérêt: ceux qui ont un effet direct sur la

croissance de la plante, principalement des bactéries identifiées comme *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) et des champignons, et les agents de biocontrôle, des bactéries et champignons antagonistes de pathogènes. L'intégration de ces micro-organismes dans l'agriculture permet de réduire les coûts de production, de gagner en précocité et d'augmenter la part de légumes commercialisables (Gravel *et al.* 2007). Cette étude s'inscrit dans l'évaluation de biostimulants pour

l'horticulture vivrière. Son but était de tester l'effet de biostimulants du commerce contenant quatre espèces de micro-organismes des genres *Pseudomonas*, *Trichoderma* et *Glomus* sur la croissance et le rendement de tomates cultivées en sol sous tunnel froid. Les micro-organismes choisis sont connus pour leurs propriétés de stimulation de croissance et de protection contre les pathogènes. *Pseudomonas* agit en stimulant la croissance par la production ou la régulation de phytohormones (Megha 2007), en contrôlant les pathogènes par la production d'antibiotiques, de sidérophores (Shivakumar 2007) ou d'acide cyanhydrique (Megha 2007), par l'induction de résistance chez la plante et par compétition nutritive. *Trichoderma* colonise le système racinaire et stimule la croissance de la plante, inhibe d'autres champignons par compétition nutritive, par myco-parasitisme (Donzelli et Harman 2001) ou antibiose (Schirmböck et al. 1994) et induit des réactions de défense contre les pathogènes (Harman et al. 2004). *Glomus* augmente la nutrition minérale de la plante (Zare et al. 2011), modifie les racines (endomycorhizes), inhibe les pathogènes par compétition nutritive et induit des réactions de résistance de la plante (Avis et al. 2008).

Matériel et méthodes

Conditions de culture

La culture a été conduite en sol sous tunnel froid dans une exploitation maraîchère de mi-mai à fin octobre 2012, avec la variété Cœur de bœuf Carolina F1 Ducrettet, résistante au virus de la mosaïque du tabac ToMV et aux champignons *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersicii* et *F. oxysporum f. sp. radicus-lypoperfici*. Les conditions de culture des plantules de tomate sont données dans le tableau 1.

Tableau 1 | Conditions de culture des plantules de tomate

	Semis	Repiquage
Date de l'opération	1 ^{er} mars 2012	29 mars 12
Substrat	Brill Typical type 4 soft ¹	Brill Typical type 4 soft ¹
Conteneur	Terrine	Pot
Taille du conteneur	44 x 32 x 8 cm	8 x 8 x 8 cm
Nombre de conteneurs	2	336
Nombre de graines ou plants	500 graines	336 plantules
Profondeur du semis ou du repiquage	1 cm	5 cm
Taille de la serre	3 x 6 x 3 m	6 x 18 x 4 m
Température moyenne entre semis et repiquage	20 °C (minima 16 °C)	
Température moyenne entre repiquage et plantation	23 °C (minima 13–16 °C)	
Humidité relative moyenne entre semis et plantation	44 %	
Fréquence d'arrosage	1–2 fois par semaine	

¹40 % de matière sèche (en masse du produit brut), 90 % de matière organique (en masse de produit sec), rétention d'eau de 700 ml/l, pH eau de 6 et de 45 mS/m.

Résumé Des biostimulants bactériens (*Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*) et fongiques (*Trichoderma harzianum*, *Glomus intraradices*) ont été appliqués à une culture de tomates en pleine terre sous tunnel, en conditions de production commerciale. Leurs effets ont été mesurés sur la croissance de la plante, la hauteur de la plante, le diamètre de tige, la floraison, la fructification, les rendements commercialisables et non commercialisables et le rendement total pendant la phase de production. Les traitements avec *T. harzianum* seul, *Pseudomonas* spp. combinées avec *G. intraradices*, ou avec *G. intraradices* et *T. harzianum*, ont montré de plus fortes croissances cumulées. Le traitement *Pseudomonas* spp. avec *G. intraradices* et *T. harzianum* a stimulé la floraison. Trois combinaisons ont permis un gain d'une semaine sur la croissance des plantes. La combinaison de *Pseudomonas* spp., *T. harzianum* et *G. intraradices* a induit une augmentation significative du rendement (40 %) et une réduction de la variabilité du poids par fruit. Malgré la variabilité inhérente aux situations de production, les améliorations des différentes variables montrent une efficacité de ces biostimulants dans les conditions de la pratique.

L'itinéraire technique était le suivant: stérilisation du sol à la vapeur avant plantation, labour à 30 cm de profondeur suivi d'un fraissage à 15–20 cm, épandage >

de granulés de bovins (666 g/m²), apport de 41,66 g/m² d'engrais composé NPK 15-3-20 (+ MgO 3 % + SO₃ 25 % + 0,02 % Bore).

Traitements

Les micro-organismes sont conditionnés en poudres mouillables. *P. fluorescens*, *P. putida*, et *T. harzianum* proviennent de Biovitis (F) et *G. intraradices* (MYC800) de Lallemand Plant Science (F). Pour les huit traitements (42 plantes chacun), l'inoculation a été faite par arrosage (100 ml par plante) et répétée trois fois. Les détails des traitements sont donnés dans le tableau 2. Pour chaque traitement et chaque application, 84 g de poudre de chaque produit étaient dilués dans 4,2 l d'eau. Les essais conduits en blocs aléatoires complets étaient répartis en six blocs de 48 plantes sur 192 m², chaque bloc ayant reçu huit traitements. L'unité expérimentale comptait six plantes.

Tableau 2 | Variantes d'inoculation des plantes de tomate

		Micro-organismes			
		<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>G. intraradices</i>
Concentration par g de produit		10 ⁷ UFC	10 ⁷ UFC	5 x 10 ⁵ UFC	800 spores
Traitement	1 (témoin)	–	–	–	–
	2	X	X	–	–
	3	–	–	X	–
	4	–	–	–	X
	5	X	X	X	–
	6	X	X	–	X
	7	–	–	X	X
	8	X	X	X	X

Mesures et analyses statistiques

La croissance des plantes a été évaluée au cours du cycle de culture en mesurant la taille de la plante, le nombre de feuilles et fleurs par plante, le poids frais et sec des pousses (Mouria *et al.* 2007), le rendement total et commercialisable en tomates, la longueur des racines (Gravel *et al.* 2007), le nombre et le poids des fruits par plante (Attia *et al.* 2004), le nombre de fleurs par inflorescence et la durée du changement de couleur vert à rouge (Wahundeniya *et al.* 2006). Les caractères suivants ont été mesurés chaque semaine: hauteur des plants de fin mars à début mai; croissance de la plante de début mai à mi-juillet; diamètre de la plante de début mai à mi-juillet; nombre total de fleurs par grappe au stade pleine floraison du 17 au 31 mai; nombre total de fleurs par grappe au stade nouaison; poids de chaque tomate par grappe et par plante, mesuré deux fois par semaine à la récolte entre le 7 juillet et le 26 octobre. Les fruits commercialisables et non commercialisables ont été différenciés. Le traitement statistique des données a été effectué avec le logiciel Minitab 16.

Résultats

Effet sur la croissance et le diamètre

Trois semaines après le repiquage, les traitements 5, 6, et 7 affichent des croissances significativement supérieures au témoin (de 16 à 29 %). A la 4^e semaine, la croissance moyenne des traitements 2, 6, 7 et 8 est supérieure de 35-43 %. A la 5^e semaine, tous les traitements présentaient une croissance moyenne supérieure au témoin, maximale chez les traitements 6, 7 et 8 (de 80 à 124 %) (point A sur la fig. 1). La culture a tra-

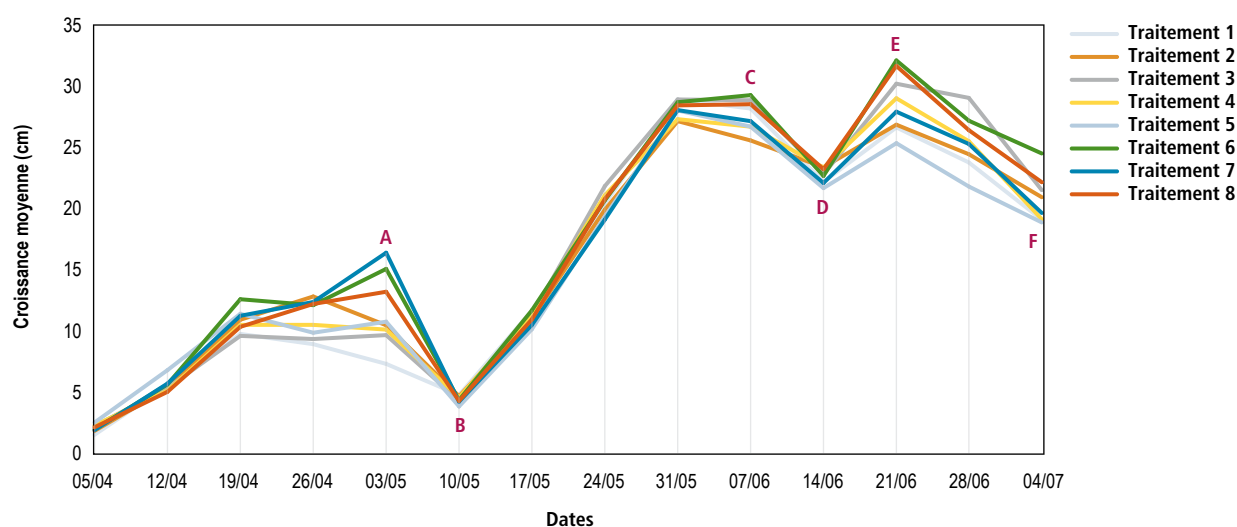


Figure 1 | Croissance moyenne hebdomadaire par traitement. A: repiquage; A–B: faible croissance liée à l'adaptation au climat de la serre froide; C–D: faible croissance liée à une chute de température; E–F: faible croissance liée à une température très élevée.

versé trois phases de ralentissement de croissance (fig. 1, points B, D, F) dans tous les traitements, liées à des facteurs climatiques (froid, chaleur), en notant une tendance à mieux résister à la chaleur des traitements 3, 6 et 8, de façon non significative. Début juillet, tous les traitements ont eu une croissance cumulée supérieure au témoin, notamment les traitements 6 et 8 qui

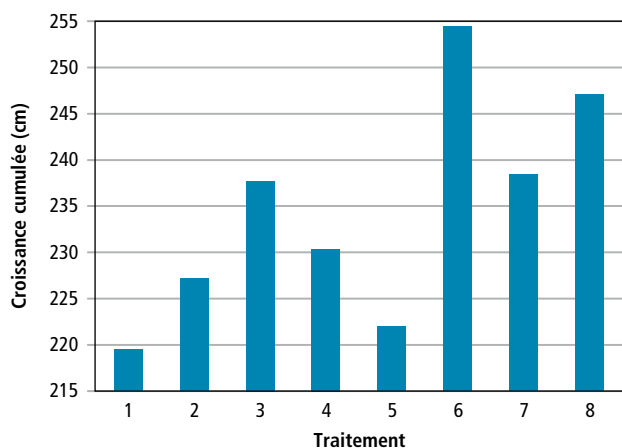


Figure 2 | Croissance cumulée des plantes par traitement.

dépassaient respectivement de 15 et 12 % le témoin (fig. 2). Les diamètres hebdomadaires des tiges des plantes des sept traitements ne différaient pas significativement au seuil de 5 %, même si les diamètres des traitements 3, 6 et 8 étaient déjà supérieurs au témoin quatre semaines après plantation.

Production de tomates

Rendement total et pourcentage de déchet

Les données de la production totale de tomates par plante indiquent que le rendement du traitement 8 (P+T+G) est significativement supérieur à celui du témoin ($p_{\text{val}} = 0,074 < 0,10$; tabl. 3). Le pourcentage de fruits non commercialisables s'élève à 4 % en moyenne. Pour le rendement total par plante en fonction de la date, aucune différence significative n'apparaît entre les différents traitements. Cependant, les traitements 3, 4, 6 et 8 enregistrent des rendements supérieurs au témoin (fig. 3), significatifs au seuil de 10 %.

Poids moyen et nombre de fruits par plante

Le nombre de fruits par plante et le poids moyen par plante ne se distinguent pas significativement au seuil

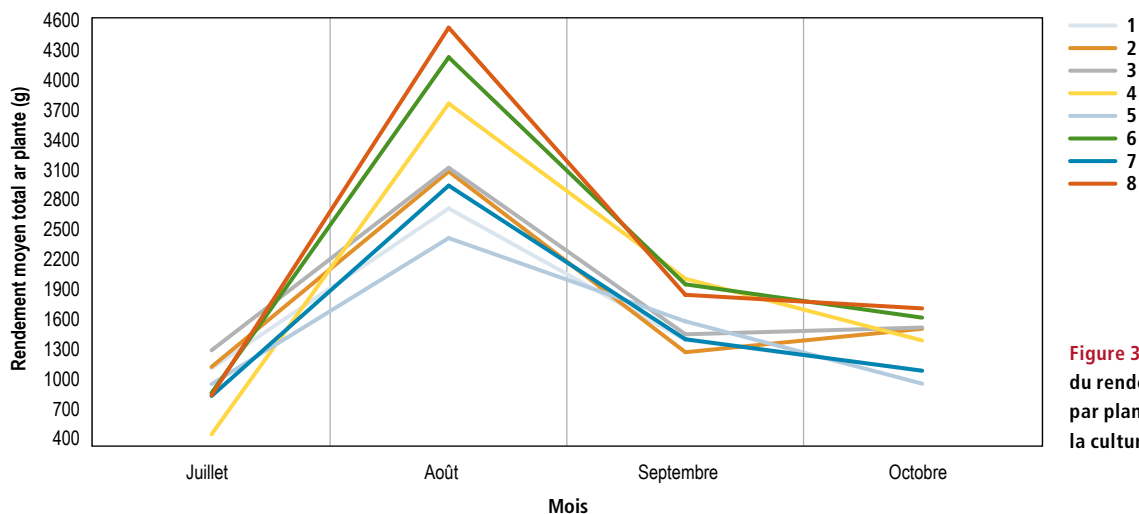


Figure 3 | Evolution du rendement total par plante durant la culture.

Tableau 3 | Rendement moyen total par plante et pourcentage de fruits non commercialisables

Traitement	1	2	3	4	5	6	7	8
Poids total par plante (g)	6587 A	7020 A	7670 A	7783 A	6168 A	8675 A	6564 A	9202 B
Non commercialisable %	4,7 A	1,8 A	4,2 A	4,7 A	5,9 A	3,3 A	2,6 A	4,7 A

Les valeurs munies de lettres différentes se distinguent significativement au seuil de 5 %.

Tableau 4 | Nombre de fruits et poids des fruits pour les huit traitements

Traitement	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre moyen/plante	33	34	34	35	30	38	35	37
Poids moyen (g)	199	210	224	220	204	227	187	249

de 5 % entre les huit traitements, mais les traitements 8 (P+T+G) et 6 produisent davantage de fruits d'un poids moyen supérieur (fig. 4).

Poids par grappe, nombre et calibre moyens des fruits

Les poids moyens par grappe et par plante ne diffèrent pas statistiquement entre les huit traitements au seuil de 5 % ($p_{\text{val}} = 0,285$; tabl. 5), mais le poids moyen par grappe des traitements 6 et 8 dépasse de 200 et de 250 g respectivement celui du témoin, par leur nombre moyen supérieur de fruits par grappe (38 et 37 contre 34 pour le témoin), mais aussi par le poids moyen plus élevé du fruit (tabl. 5).

Discussion

Les micro-organismes ont stimulé la croissance des plants, avec un gain de taille de 7 à 26 % par rapport au témoin à la 5^e semaine. Ces effets, plus marqués avec les traitements 7 (T+G), 6 (P+G) et 8 (P+T+G), s'expliquent probablement par une nutrition minérale accrue, effet connu des genres *Glomus*, *Trichoderma* et *Pseudomonas* et/ou par la production de composés phytostimulants (*Pseudomonas*, *Trichoderma*) et/ou l'augmentation de l'absorption d'eau de la plante (*Glomus*) (Avis et al. 2008).

Les différents traitements et le témoin n'ont pas significativement différencié pour les facteurs diamètre, floraison et nouaison. Les traitements 3 (T), 6 (P+G) et 8

(P+T+G) ont montré une croissance supérieure des pousses (significative au seuil de 10 %) d'environ un mois par rapport au témoin. Ce résultat rejoint les observations de Saldajeno et Hyakumachi (2011) (mélange de *Glomus etunicatum* et *P. fluorescens*) et de Mouria et al. (2007) (*Trichoderma*). Le nombre de fleurs ouvertes le 31 mai (un mois après plantation), plus élevé dans le traitement 8 (P+T+G) que dans le témoin, va dans le sens des observations de Regvar et al. (2003) sur poivron.

Le traitement 8 (P+T+G) a produit 40 % de tomates de plus que le témoin ($p_{\text{val}} = 0,1$ %). Ce gain semble lié à la fois au nombre accru de tomates par plante et au calibre supérieur (au seuil de 10 %) des fruits. Le rendement en tomates vertes en fin de culture dépassait également celui du témoin, de manière non significative. Sristava et al. (2010) rapportent de même l'efficacité d'un mélange P+T+G sur l'augmentation du rendement. Les rendements des autres traitements ont aussi significativement surpassé celui du témoin, au seuil de 10 %, les traitements 6 (P+G) et 3 (T) de respectivement 31 et 16 %, en accord avec les travaux de Gamalero et al. (2004) et de Mouria et al. (2007), tandis que le traitement 2 (*P. fluorescens* + *P. putida*) le surclassait de 6 %, conformément à ce qu'observent Gravel et al. (2007) en culture hors-sol sur substrat organique. Pour le poids en tomates commercialisables, aucune différence entre les traitements n'a été constatée, alors que Gravel et al. (2007) rapportent une augmentation de ce poids avec *T. atroviride*.

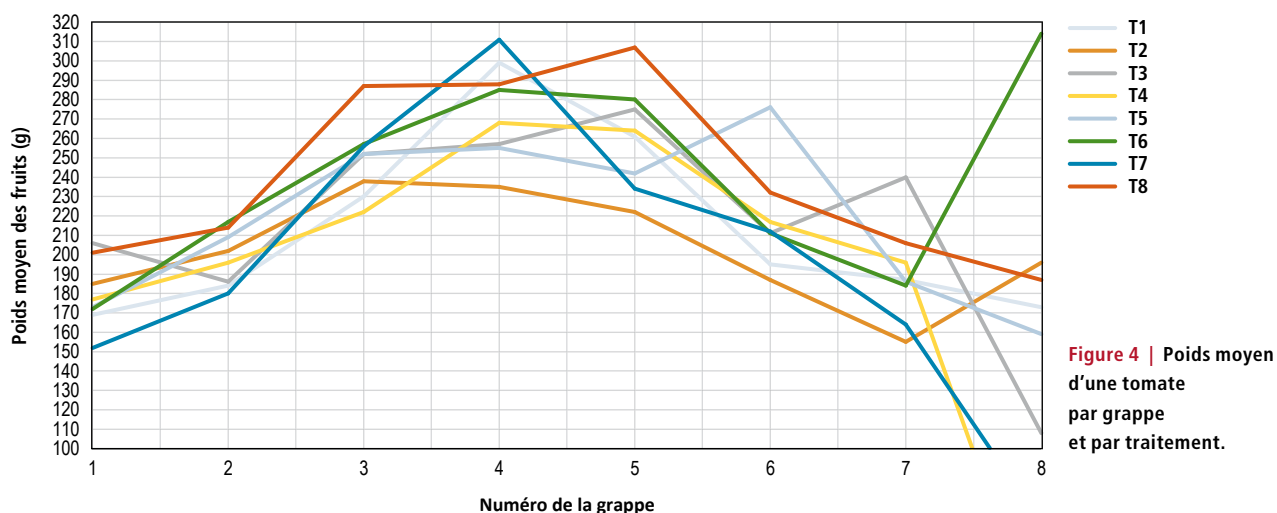


Figure 4 | Poids moyen d'une tomate par grappe et par traitement.

Tableau 5 | Poids moyen par grappe, nombre de fruits et poids moyen par fruit

Traitement	1	2	3	4	5	6	7	8
Poids moyen/grappe (g)	873	877	987	949	825	1073	890	1112
Nombre moyen/grappe	4,2	4,3	4,4	4,4	3,8	4,7	4,3	4,5
Poids moyen/fruit (g)	210	205	226	217	218	228	208	245

Les augmentations de rendement indiquent probablement que la colonisation de la rhizosphère (et donc la qualité et la quantité des exsudats), la concurrence avec la microfaune et la température du sol, ont été favorables à la culture. La variété testée Carolina répond le mieux à l'inoculation du mélange *Pseudomonas-Trichoderma-Glomus* (P+T+G). Ces résultats ne peuvent être extrapolés à d'autres variétés, car Tucci *et al.* (2011) montrent dans une expérience similaire l'existence d'un lien strict entre le génotype de la plante et sa réponse à l'inoculat.

Conclusions

- Les traitements avec les micro-organismes ont induit une stimulation de la croissance des tomates dès le semis.
- A la transplantation à cinq semaines, les plants traités étaient déjà plus grands, ce qui a conduit à des plantes plus grandes.
- Trois combinaisons de micro-organismes ont permis un gain d'une semaine sur la croissance des plantes par rapport au témoin.
- Les conditions de production commerciale ont généré une grande variabilité qui a limité le seuil de significativité des variables mesurées à 10 %.
- Les traitements avec *Trichoderma harzianum* seul, *Pseudomonas* spp. et *Glomus intraradices* ou *G. intraradices* et *T. harzianum* sont ceux qui ont généré les plus fortes croissances cumulées.
- La floraison a été stimulée par le traitement *Pseudomonas* spp. + *Glomus intraradices* + *Trichoderma* spp., avec plus de fleurs ouvertes.
- Le rendement en tomates obtenu avec *Pseudomonas* spp. + *T. harzianum* + *G. intraradices* dépasse de 40 % celui du témoin, tout en réduisant la variabilité du poids par fruit.
- Les biostimulants testés se sont montrés efficaces en conditions de production réelle, actuellement peu documentées. ■

Remerciements

Merci à M. Andreas Wigger (CFPNE Lullier) pour la traduction du résumé en allemand.

Bibliographie

- Attia M., Hamed H. A. & Turky A. S., 2004. Influence of root colonization with *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizae on promoting tomato seedling yield, and protection against *Fusarium* crown and root rot. *Bull. Nat. Res. Cent.* (Cairo). **29**, 347–360.
- Avis T. J., Gravel V., Antoun H. & Tweddell R. J., 2008. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil Biol. Biochem.* **40**, 1733–1740.
- Donzelli B. G. & Harman G. E., 2001. Interaction of ammonium, glucose and chitin regulates the expression of cell wall-degrading enzymes in *Trichoderma atroviride* strain P1. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 5643–5647.
- Gamalero E., Trotta A., Massa N., Copetta A., Martinotti M. G. & Berta G., 2004. Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition. *Mycorrhiza* **14**, 185–192.
- Gravel V., Antoun H. & Tweddell R. J., 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biol. Biochem.* **39**, 1968–1977.
- Harman G. E., Howell C. R., Viterbo A., Chet I. & Lorito M., 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* **2**, 43–56.
- Megha Y. J., Alagawadi A. R. & Krishnaraj P. U., 2007. Diversity of fluorescent pseudomonads isolated from the forest soils of the Western Ghats of Uttara Kannada. *Curr. Sci.* **93**, 1433–1437.
- Mouria B., Ouazzani-Touhami A. & Douira A., 2007. Effect of *Trichoderma* strains on the growth of tomato plants in greenhouses and their aptitude to colonize roots and substrate. *Phytoprotection* **88**, 103–110.
- Regvar M., Vogel-Mikuš K. & Ševerkar T., 2003. Effect of AMF inoculum from field isolates on the field of green pepper, parsley, carrot, and tomato. *Fol. Geobot.* **38**, 223–234.
- Saldajeno M. G. B. & Hyakumachi M., 2011. Arbuscular mycorrhizal interactions with rhizobacteria or saprotrophic fungi and its implications to biological control of plant diseases. In: Fulton S. M. (ed.) *Mycorrhizal fungi: soil, environmental and implications*. Nova Science Publishers, New York (USA), 187–212.
- Schirmböck M., Lorito M., Wang Y.-L., Hayes C. K., Arisan-Atac I., Scala F., Harman G. E. & Kubicek C. P., 1994. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 4364–4370.
- Shivakumar B., 2007. Biocontrol potential and plant growth promotional activity of fluorescent Pseudomonads of Western Ghats. Thesis for the Master of Science in Agricultural Microbiology. M.Sc. Dissertation. University of Agricultural Sciences Dharwad, India, 88 p.
- Tucci M., Ruocco M., De Masi L., De Palma M. & Lorito M., 2011. The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Mol. Plant Pathol.* **12**, 341–354.
- Wahundeniya W. M. K. B., Ramanan R., Wickramatunga C. & Weerakkodi W. A. P., 2006. Comparison of growth and yield performances of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) varieties under controlled environment conditions. *Ann. Sri Lanka Dept. Agric.* **8**, 251–262.
- Zare M., Ordoookhani K. & Alizadeh O., 2011. Effects of PGPR and AMF on growth of two bred cultivars of tomato. *Adv. Environ. Biol.* **5** (8), 2177–2181.

Summary

Evaluation of commercial biostimulants in a soil tomato culture

Commercial biostimulants containing bacteria (*Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*) and fungi (*Trichoderma harzianum*, *Glomus intraradices*) were applied to a commercial tomato culture on soil under cold tunnel. The effects of microorganisms were measured on plant growth, plant height, stem diameters, flowering, fruit set, marketable, non-marketable and total yield during the production. Treatments with *T. harzianum* alone, *Pseudomonas* spp. in combination with *G. intraradices* or with *G. intraradices* and *T. harzianum*, showed higher cumulated growths. Flowering was stimulated by *Pseudomonas* spp. with *G. intraradices* and *T. harzianum*. Three combinations resulted in a gain of one week in the growth of the plants. The combination of *Pseudomonas* spp., *T. harzianum* and *G. intraradices* increased tomato yield of 40 % and reduced the fruit weight variability. Despite the variability due to commercial production conditions, the increase of all measured variables, mainly of the yield, suggests that these biostimulants were efficient in such conditions.

Key-words: *Glomus intraradices*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, tomato, *Trichoderma harzianum*.

Zusammenfassung

Bewertung von biostimulierenden Produkten in einer Bodenkultur von Tomaten

Biostimulierende Produkte, bakterieller (*Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*) oder pilzlicher (*Trichoderma harzianum*, *Glomus intraradices*) Natur, wurden in Tomatenkulturen unter Praxis-Bedingungen in einem Tunnel im Boden eingesetzt. Folgende Versuchs-kriterien wurden gemessen: das Pflanzenwachstum, die Pflanzenhöhe, der Stammdurchmesser, die Blütenbildung, die Fruchtentwicklung, das Gewicht der verkäuflichen wie unverkäuflichen Ware sowie der Gesamtertrag während der Produktionsperiode. Die Versuche mit *T. harzianum* alleine, *Pseudomonas* spp. kombiniert mit *G. intraradices* oder mit *G. intraradices* und *T. harzianum*, haben das grösste Pflanzenwachstum bewirkt. Der Versuch *Pseudomonas* spp. kombiniert mit *G. intraradices* und *T. harzianum* hat die Blütenbildung stimuliert. Drei Versuche bewirkten einen Wachstumsvorsprung einer Woche. Die Kombination *Pseudomonas* spp., *T. harzianum* und *G. intraradices* hat das grösste signifikante Ertrags-ergebnis sowie die kleinste Variation im Gewicht der Früchte ergeben. Trotz der veränderlichen Bedingungen, verbunden mit der Produktionstechnik, kann gesagt werden, dass die biostimulierenden Produkte einen positiven Effekt auf die Pflanzenentwicklung in dem beschriebenen Rahmen haben können.

Riassunto

Valutazione di biostimolanti in una coltura commerciale di pomodori nel suolo

Dei prodotti biostimolanti batterici (*P. fluorescens* e *P. putida*) e funghi (*Trichoderma harzianum*, *Glomus intraradices*) sono stati utilizzati in una coltura di pomodori in suolo sotto tunnel freddo plastico, in condizioni di produzione commerciale. I loro effetti sulla crescita e l'altezza delle piante, sul diametro del fusto, sulla fioritura, sulla fruttificazione, sui rendimenti commercializzabili e non, e sul rendimento totale durante la produzione sono stati misurati. I trattamenti con *T. harzianum* solo, *Pseudomonas* spp. con *G. intraradices* o con *G. intraradices* e *T. harzianum* hanno portato alle maggiori crescite cumulate. Il trattamento *Pseudomonas* spp. con *G. intraradices* e *T. harzianum* ha stimolato la fioritura. Tre combinazioni hanno permesso un guadagno di una settimana sulla crescita delle piante. La combinazione di *Pseudomonas* spp. con *T. harzianum* e *G. intraradices* ha portato ad un aumento significativo del rendimento e ad una riduzione della variabilità del peso per frutto. Malgrado la variabilità propria delle condizioni di produzione, gli aumenti delle diverse variabili considerate mostrano che l'uso di questi biostimolanti sarebbero efficaci in queste condizioni.