

# RÉSUMÉ

de la thèse de doctorat:

## EXPLORATION DU POTENTIEL BIOTECHNOLOGIQUE DE PLUSIEURS CHAMPIGNONS ENTOMOPATHOGÈNES EN VUE DE LEUR UTILISATION EN LUTTE BIOLOGIQUE

Doctorant: **DINU Mihaela Monica**

Coordinateur scientifique: **Prof. univ. Dr. Narcisa Băbeanu**

**MOTS-CLÉS:** champignons entomopathogènes, lutte biologique, biotechnologies agricoles

La lutte biologique est une alternative écologique à la protection chimique des cultures et certaines espèces de champignons entomopathogènes sont utilisées avec succès dans la lutte biologique contre certains arthropodes nuisibles.

Le but de cette thèse de doctorat était d'obtenir une source de matériel biologique pour la production de bioproduits à base de souches de champignons entomopathogènes, en vue de leur utilisation dans la lutte biologique contre les ravageurs.

Afin d'atteindre le but visé, les recherches menées dans le cadre de cette thèse de doctorat ont porté sur **les objectifs généraux** suivants:

Objectif 1: Isolement des champignons entomopathogènes;

Objectif 2 : Évaluation des exigences spécifiques de production en masse et de l'activité insecticide des isolats fongiques obtenus;

Objectif 3 : Sélection d'isolats en vue de la production de myco-insecticides;

Objectif 4 : Caractérisation génétique des isolats sélectionnés.

Cette thèse est structurée en sept chapitres. Les chapitres I et II présentent des informations sur le domaine de la lutte biologique, les champignons entomopathogènes, la production et la formulation de bioinsecticides. Les chapitres III à VI présentent les recherches originales, tandis que le chapitre VII expose les conclusions générales, les éléments de nouveauté et les recommandations concernant les futures orientations de la recherche.

Pour identifier les champignons entomopathogènes, 198 échantillons biologiques, comprenant des adultes et des larves d'insectes, des échantillons de sol de différents sites et des fragments végétaux, ont été analysés. Des méthodes microbiologiques classiques d'isolement, de purification et de culture ont été utilisées pour ces types de champignons, conduisant à l'obtention de 26 isolats : 2 par isolement endophyte, 5 par la méthode de lavage du sol, 5 par la méthode des insectes pièges et

14 par isolement direct à partir d'insectes morts. Ces champignons ont été identifiés sur la base de leurs caractéristiques morphologiques comme appartenant à l'Ordre des Hypocreales (genres *Beauveria*, *Metarhizium*, *Lecanicillium* et *Purpureocillium*) et à l'Ordre des Entomophthorales (genres *Pandora* et *Entomophthora*).

Suite à l'évaluation, 12 isolats fongiques entomopathogènes ont été sélectionnés pour l'étape suivante: neuf isolats monosporiques de l'Ordre des Hypocreales, présentant une bonne croissance sur milieu solide et dont les conidies n'ont pas germé à 37°C, ainsi que trois isolats de l'Ordre des Entomophthorales. On a évalué leur croissance végétative, leur capacité de sporulation sur milieux de culture et leur activité insecticide envers des insectes élevés en laboratoire, par des méthodes microbiologiques classiques, en fonction des exigences du groupe taxonomique. Pour les isolats identifiés comme appartenant à l'Ordre des Hypocreales, l'activité insecticide a été évaluée sur les larves de *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae), tandis que pour les isolats appartenant à l'Ordre des Entomophthorales, l'activité insecticide a été évaluée sur les adultes et les larves de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). Les taux de mortalité les plus élevés ont été observés chez les insectes infectés par des champignons appartenant à l'Ordre des Entomophthorales, mais la croissance végétative sur le milieu de culture sélectionné s'est avérée réduite, confirmant ainsi les recherches menées dans ce domaine. Compte tenu des résultats de ce criblage, trois isolats appartenant au genre *Beauveria*, à savoir ICDPP22-1 (isolat directement d'un lépidoptère non identifié), ICDPP22-2 (isolat à partir de plantes de pomme de terre *Solanum tuberosum* L. - croissance endophyte) et ICDPP23-2 (isolat directement d'un adulte de *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coléoptère: Chrysomelidae), ont été sélectionnés pour les études suivantes.

Dans l'étape suivante, l'influence des facteurs abiotiques sur le nombre de propagules, la germination des spores et l'activité insecticide sur l'insecte *Tenebrio molitor* L. (Coléoptère: Tenebrionidae) a été évaluée. Afin d'évaluer l'influence du milieu de culture sur la production de propagules, huit sources de carbone (mélasse, glucose, fructose, maltose, amidon, arabinose, cellulose) et cinq sources d'azote (peptone, son de blé, extrait de maïs, extrait de levure et tourteau de lin) ont été testées. Le milieu à base de mélasse s'est révélé être la source de carbone la plus efficace pour les isolats analysés, et l'utilisation de différentes sources d'azote n'a pas modifié de manière significative la concentration en propagules des isolats testés. Au fur et à mesure du développement des colonies fongiques, l'influence du milieu est devenue plus marquée.

Afin d'évaluer l'impact du pH initial du milieu sur la production de propagules, le pH a été ajusté dans l'intervalle de 4,0 à 6,5, en maintenant la température constante à 24°C. L'étude a révélé que le pH optimal pour la production de propagules, pour les trois isolats analysés, se situait entre 5,0 et 5,5. L'intervalle de pH optimal pour la production de propagules était similaire pour les trois isolats, se situant entre 5,0 et 6,5, sans différence significative entre eux. La germination des spores a été évaluée à des températures comprises entre 5°C et 35°C et aux humidités relatives suivantes:

29,8%, 52,6%, 75,3%, 84,7%, 92,7% et 100%. L'intervalle de température optimale pour la germination, pour tous les isolats étudiés, était compris entre 20°C et 22°C, avec des taux de germination maximaux (>99%). L'isolat ICDPP21-1 a démontré une adaptation aux températures élevées (28°C, 30°C), tandis que les isolats ICDPP22-2 et ICDPP23-2 ont montré une capacité de germination accrue à 15°C. Les conidies des isolats fongiques n'ont pas germé à 5°C, 10°C et 35°C. La germination des conidies a débuté à une humidité relative égale ou supérieure à 52,6%. L'analyse de l'activité insecticide d'isolats fongiques cultivés dans différents milieux liquides a révélé un impact significatif de la source de carbone sur la mortalité des insectes, mais l'analyse statistique n'a pas mis en évidence de différences significatives entre les trois souches fongiques.

Les analyses moléculaires ont confirmé l'appartenance des trois isolats entomopathogènes, initialement identifiés sur la base de leurs caractéristiques morphologiques, au genre *Beauveria*. Les résultats du séquençage des régions ITS de l'isolat ICDPP22-1 ont permis de l'identifier comme appartenant à l'espèce *Beauveria pseudobassiana* S.A. Rehner & Humber. Par ailleurs, le séquençage des régions ITS et du domaine D1/D2 de la grande sous-unité (26S) de l'ARN ribosomique (ADNr) des isolats ICDPP22-2 et ICDPP23-2 a conduit à la conclusion que ces isolats sont génétiquement très similaires et pourraient être des clones d'une même souche de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. L'isolat endophyte a été obtenu à partir de jeunes plants de pomme de terre, à une période où aucune infestation par *L. decemlineata* n'était observée dans la culture.

**Les éléments de nouveauté** de la thèse de doctorat intitulée „Exploration du potentiel biotechnologique de plusieurs champignons entomopathogènes en vue de leur utilisation en lutte biologique” sont les suivants (1) Isolement, identification et caractérisation de trois nouvelles souches fongiques entomopathogènes autochtones, à potentiel biotechnologique pour le développement de bio-insecticides; (2) Caractérisation du potentiel biotechnologique d'une souche fongique entomopathogène colonisant les plants de pomme de terre, identifiée pour la première fois en Roumanie; (3) C'est la première étude en Roumanie à décrire pas à pas l'isolement, l'identification et la sélection de souches fongiques entomopathogènes ayant un potentiel biotechnologique pour être utilisées dans la lutte biologique contre les ravageurs.