

RÉSUMÉ

de la thèse de doctorat

RECHERCHE SUR LA CONTAMINATION DU BLÉ PAR LES ESPÈCES DE *FUSARIUM* DANS LES CONDITIONS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE

Doctorant: **URSAN (DINCĂ) Mihaela Daniela**

Coordinateur scientifique: **Prof. univ. Dr. CORNEA Călina Petruța**

MOTS-CLÉS: blé, *Fusarium* spp., conditions climatiques, fongicides, biocontrôle

Le blé est la culture la plus répandue dans le monde et représente la matière première majeure pour l'industrie alimentaire, ainsi qu'un intérêt essentiel pour le secteur agricole. La fusariose est une maladie qui affecte les céréales lorsque la température et l'humidité augmentent. C'est pourquoi des recherches spécialisées et l'identification de méthodes de lutte contre cette maladie sont nécessaires à la suite de changements climatiques de plus en plus défavorables.

La thèse de doctorat intitulée «**RECHERCHE SUR LA CONTAMINATION DU BLÉ PAR LES ESPÈCES DE *FUSARIUM* DANS LES CONDITIONS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE**» comprend deux parties totalisant 5 chapitres. La première partie présente l'état actuel des recherches sur la contamination des cultures de blé par *Fusarium*, et la deuxième partie comprend nos propres recherches.

LE CHAPITRE I aborde des questions issues de la littérature spécialisée et représente la première partie de la thèse. Il s'intitule "ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR LA FUSARIOSE DU BLE" et, dans les pages de ce chapitre, les éléments de pathologie, d'écologie et de gestion des espèces de *Fusarium* sont présentés, accompagnés d'images suggestives. De plus, dans le même chapitre, des informations sont ajoutées concernant les mycotoxines associées aux espèces du genre *Fusarium*.

La II^e Partie de la thèse détaille en 4 chapitres le cadre dans lequel a été réalisée la recherche *in vivo* sur la contamination du blé par les espèces de *Fusarium* (CHAPITRE II), ainsi que la recherche *in vitro* sur la contamination des caryopses du blé par les espèces de *Fusarium* (CHAPITRE III), suivies de recherches sur la sélection de faibles doses de fongicides pour lutter contre les champignons du genre *Fusarium* (CHAPITRE IV) et l'utilisation de souches microbiennes pour inhiber le développement de champignons phytopathogènes (CHAPITRE V).

Dans le CHAPITRE II de la thèse, intitulé «**RECHERCHE *IN VIVO* SUR LA CONTAMINATION DU BLÉ PAR LES ESPÈCES DE *FUSARIUM***», sont présentées les deux localités où la recherche a eu lieu : la commune Unirea, le département de Brăila, et la commune Topolovătu Mare, le département de Timiș, et les conditions climatiques spécifiques à la période de recherche, 2017-2020, dans laquelle 4 variétés de l'espèce *Triticum aestivum* (blé tendre d'automne) sont analysées. L'expérience a été bifactorielle, en trois répétitions, organisée dans deux locations différentes du point de vue pédoclimatique. Parmi les quatre variétés de blé étudiées, la plus sensible à l'attaque de la fusariose a été la variété Miranda, et la plus résistante a été la variété Glosa, suivie des variétés Apache et PG101. Lorsqu'elle est traitée avec des fongicides, les meilleurs résultats pour limiter l'attaque ont été observés chez la variété Glosa, suivie par la variété Apache et PG101. Les productions moyennes obtenues dans les deux champs expérimentaux ont été comprises entre 4854 kg/ha (variété Miranda, non traitée) et 7187 kg/ha (variété Glosa, traitée avec la dose habituelle), à Unirea - le département de Brăila, et entre 4602 kg/ha (variété Miranda, non traitée) et 7513 kg/ha (variété Apache, traitée avec la dose habituelle), à Topolovătu Mare - le département de Timiș.

Les corrélations entre les doses de fongicides appliquées et les productions obtenues dans les variétés étudiées dans les deux champs expérimentaux ont été nettement négatives (plus la dose est faible, plus le nombre d'épis attaqués par la fusariose est élevé).

LE CHAPITRE III, intitulé « RECHERCHE *IN VITRO* SUR LA CONTAMINATION DES CARYOPSES DE BLÉ PAR LES ESPÈCES DE *FUSARIUM* », présente le matériel et les méthodes par lesquelles les contaminants fongiques potentiels ont été détectés et isolés à partir des et sur les caryopses de blé récoltés dans les deux zones climatiques pendant 2017 - 2020, des variétés mentionnées précédemment. Deux milieux de culture semi-sélectifs ont été utilisés pour les espèces de *Fusarium* : le milieu PPA et le milieu MGA, tous deux supplémentés en antibiotiques. Il a été constaté que la morphologie des colonies varie à la fois d'un isolat à l'autre, dans le cas d'une culture sur un même substrat, et en fonction du substrat nutritif, dans le cas d'une même souche cultivée sur des milieux nutritifs différents. Ainsi, le milieu MGA s'est avéré plus efficace pour l'isolement des souches de *Fusarium* sp., avec moins de contaminants que le PPA. Pour l'identification des contaminants isolés du caryopse du blé, on utilise aussi bien des méthodes microbiologiques classiques (mettant en évidence certains caractères microscopiques des isolats fongiques) que des méthodes basées sur une série de caractéristiques biochimiques (système BIOLOG) ou moléculaires (PCR avec amorces spécifiques à l'espèce).

Ce chapitre a abouti à la détection, l'isolement et l'identification biochimique et moléculaire de 9 souches appartenant à ce genre. Les souches isolées ont été caractérisées en termes de morphologie, de taux de croissance et de pigmentation. Pour les 9 isolats obtenus à partir du matériel végétal, les résultats ont été différents : parmi les souches analysées, seules deux ont été classées comme espèce *F.graminearum* (souches E25A F1-10/ Sp2 et E28A 2-1/ Sp7+Sp8 P2 B), et deux comme espèce *F. culmorum* (souches marquées E25A F1-10/Sp3 et E28A F2-1/Sp7+Sp8 P2 A).

Le IV^{ème} CHAPITRE, intitulé « RECHERCHE SUR LA SÉLECTION DE QUELQUES DOSES RÉDUITES DE FONGICIDES POUR LA LUTTE CONTRE LES CHAMPIGNONS DU GENRE *FUSARIUM* », a été réalisé en raison du contexte européen actuel, dans lequel il existe une demande de réduction de la quantité de pesticides utilisés en agriculture. Les recherches *in vitro* ont poursuivi l'efficacité de trois fongicides commerciaux appliqués à faibles doses pour inhiber la croissance mycélienne de six souches appartenant aux espèces *F. culmorum* et *F. graminearum*. Ainsi, les souches de *F. culmorum* testées se sont révélées sensibles en présence de doses réduites dans le cas des produits CF2-F (triadiménol + spiroxamine + tébuconazole) et CF3-FP (prothioconazole, spiroxamine et tébuconazole), par rapport au produit CF1 -NP (trifloxystrobine et prothioconazole). Les résultats obtenus lors des expérimentations, après 5, 7 et 10 jours d'incubation, ont montré que la souche *Fusarium graminearum* Fg96 était la plus tolérante à tous les pesticides utilisés. La souche Fg96 a montré une croissance mycélienne dans toutes les variantes traitées avec le pesticide aussi bien à la faible dose qu'à la dose d'application recommandée, n'étant pas inhibée en présence des trois produits testés, quelle que soit la dose utilisée.

Le dernier chapitre, CHAPITRE V, intitulé « RECHERCHE *IN VITRO* SUR L'UTILISATION DE CERTAINES SOUCHES MICROBIENNES POUR INHIBER LE DÉVELOPPEMENT DE CERTAINS CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGÈNES » met en évidence la possibilité de réduire la contamination des cultures de blé par les mycotoxines avec des produits phytopharmaceutiques biologiques.

Au sein des essais conduits, on a poursuivi la mise en évidence de l'activité antifongique contre *Fusarium* sp. de certaines souches microbiennes, la mise en évidence de l'effet de biostimulation du développement des plantes de blé par les souches microbiennes bénéfiques, mais aussi l'isolement et la caractérisation de nouvelles souches bactériennes du genre *Streptomyces* aux propriétés anti-*Fusarium*. Six souches bactériennes ont été utilisées, provenant principalement de la collection de la Faculté de Biotechnologie de l'USAMV Bucarest, ainsi qu'une souche de *Trichoderma pseudokonigii*. A celles-ci ont été ajoutées quatre souches appartenant au genre *Streptomyces*, isolées du sol au cours des recherches.

L'efficacité de deux souches de *B. amyloliquefaciens* et de la souche de *T. pseudokonigii* Td85 pour inhiber la croissance mycélienne de l'isolat 183 de *F. graminearum* a été obtenue. Ce potentiel n'a pas été observé dans le cas de la souche 1T2 de *Bacillus endophyticus*. Le mécanisme d'action de ces souches a été mis en évidence au niveau des hyphes mycéliens du pathogène testé, qui ont montré des modifications spécifiques. Dans le cas

de l'isolat *Trichoderma pseudokonigii* Td85, l'examen microscopique a également certifié le mécanisme du mycoparasitisme. Toutes les souches de *B. amyloliquefaciens* testées se sont également révélées efficaces pour inhiber la croissance mycélienne des souches de *Fusarium* sp. isolées au cours de la recherche, avec des efficacités comprises entre 61,9% et 84,4%, l'efficacité la plus élevée étant enregistrée pour la souche BPA.

Afin de tester l'antagoniste potentiel, 60 nouvelles souches bactériennes du genre *Streptomyces* ont été isolées du sol et du compost, plus de 78% ayant une action inhibitrice sur certains isolats pathogènes: *Alternaria* spp., *F. graminearum*, *F. culmorum*, *R. solani*, *F. oxysporum* et *S. bataticola*. Quatre isolats (SS16, S15, Str S1 et Str S4) ont été caractérisés comme efficaces contre tous les pathogènes testés, mettant en évidence le mécanisme d'action : la lyse des hyphes (due à l'action d'un complexe d'enzymes lytiques) et le mycoparasitisme. Les quatre souches de *Streptomyces* sp. ont eu la capacité de produire des amylases, des protéases, des CMC-ases, des chitinases et des lipases et de solubiliser le phosphate.

En ce qui concerne le processus de germination, il a été constaté que la plupart des traitements par micro-organismes appliqués aux graines de blé entraînaient un retard de germination par rapport au témoin non traité. Les exceptions étaient les souches *A. brassilense* Sp7 et *B. amyloliquefaciens* BW, qui ont accéléré le processus de germination d'un jour. Tous les micro-organismes appliqués ont stimulé la croissance des pousses et des racines en longueur, en quantité de biomasse, en poids frais et en poids sec. Les deux indices de vigueur des graines ont été améliorés lors de l'application de traitements microbiens. Les meilleurs résultats d'un point de vue pratique ont été obtenus avec les souches *A. brassilense* Sp7 et *B. amyloliquefaciens* BW, qui ont déterminé une augmentation de la vigueur des graines de plus de 50%, ce qui représente une augmentation de la productivité et de la qualité des productions obtenues.

Concernant les aspects de nouveauté, dans le cadre de la thèse, une série de souches de champignons filamenteux du genre *Fusarium*, isolées du matériel végétal, similaires aux espèces *F. crookwellense*, *F. chlamydosporium* ou *F. tricinctum*, ont été identifiées par des méthodes microbiologiques et moléculaires, ainsi que *F. graminearum* et *F. culmorum*, ce qui suggère un changement dans les types d'espèces de *Fusarium* qui contaminent habituellement le blé en Roumanie, probablement en raison des conditions climatiques de ces dernières années. Aussi, suite aux essais, quatre souches bactériennes du genre *Streptomyces* sp. ont été sélectionnées. Avec une activité antifongique prononcée, dont deux, à savoir les souches SS16 et Str S4, sont capables non seulement d'inhiber le développement des champignons cibles, mais également de provoquer une réduction du niveau de ZEA produit par les champignons mycotoxigènes.

Afin de prévenir la contamination des cultures de blé par des mycotoxines, outre l'amélioration génétique des variétés de blé en ce qui concerne la résistance à l'attaque d'agents pathogènes, une série d'autres mesures intégrées sont recommandées, qui incluent les technologies agricoles à travers les liens technologiques de la culture, l'application de fongicides, le contrôle moléculaire et le contrôle biologique.