

**AFPP –ONZIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS – 7 AU 9 DÉCEMBRE 2015**

ÉTUDE PRELIMINAIRE DE LA RESISTANCE DE CHAMPIGNONS TELLURIQUES AUX FONGICIDES

S. MEZAACHE-AICHOURE^{(1)*}, N. HAICHOURE⁽¹⁾, A. AKKAL⁽¹⁾, R. MESKINE⁽¹⁾ et M.M. ZERROUG⁽¹⁾.

⁽¹⁾LMA DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE, FACULTÉ SNV, UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS SÉTIF 1 (EL BEZ), SÉTIF 19000, ALGÉRIE. MÉL *: mezaic2002@yahoo.fr

RÉSUMÉ

Notre travail porte sur la mise en évidence de la résistance de champignons telluriques aux fongicides fréquemment utilisés dans la lutte chimique. Nous avons recherché chez des champignons telluriques (*Fusarium* sp. , *Chalara* sp.) issus de champs de céréales, une résistance vis-à-vis de quatre spécialités fongicides couramment utilisés (à base de Propinèbe, Thiophanate-Méthyl, Mancozèbe et Mancozèbe+Cymoxanil). Cette étude est basée sur des tests de contact direct des fongicides avec les champignons sur boîte, permettant de mesurer leur sensibilité. Un des isolats présente une résistance atteignant 500mg/l pour la spécialité à base de Thiophanate-Méthyl.

Mots-clés : résistance, fongicide, sensibilité, champignons telluriques.

ABSTRACT

PRELIMINARY STUDY OF TELLURIC FUNGAL RESISTANCE TO CHEMICAL FUNGICIDES

Our work focuses on the identification of resistance of telluric fungi to commonly used fungicides in chemical control. We investigate the resistance of telluric fungi (*Fusarium* sp. , *Chalara* sp.) from cereal fields to four fungicides (Propinebe, Thiophanate – Méthyl, Mancozebe and Mancozebe-cymoxanil). This study was based on direct contact of the telluric isolates with fungicides on Petri dishes. Four fungicides were used: Propicone, Vapcotop, Curitine V, and Kazir; for which the effect of resistance and susceptibility was observed. One of the isolates showed a high resistance to Vapcotop with 500mg / l.

Keywords: resistance, fungicide, sensitivity, telluric fungi.

INTRODUCTION

Les produits phytosanitaires utilisés en agriculture permettent de limiter le développement d'organismes susceptibles d'affecter les cultures et les récoltes. Les produits chimiques ont été largement utilisés contre les microorganismes phytopathogènes et les insectes ravageurs. La lutte chimique des agents phytopathogènes concerne essentiellement les champignons responsables des maladies fongiques des plantes. Il existe actuellement une large gamme de fongicides permettant de contrôler la plupart des maladies causées par les champignons phytopathogènes, le principal problème étant de retarder le développement des résistances.

En effet, la plupart des fongicides affectent directement des fonctions essentielles, comme par exemple la respiration, la biosynthèse des stérols ou la division cellulaire. Ce type de mode d'action peut entraîner, d'une part, des risques pour l'homme et les organismes non cibles et, d'autre part, le développement de souches fongiques résistantes (Leroux, 2003).

Parmi les fongicides utilisées en Algérie sur différentes cultures, le Vapcotop, à base de Thiophanate-méthyl (famille des benzimidazoles) agit sur les microtubules qui sont les constituants majeurs du cytosquelette et du fuseau achromatique. Il se fixe sur la β -tubuline de nombreux Ascomycètes (*Fusarium* sp.) et Basidiomycètes, mais son interaction est faible avec les Oomycètes (Leroux, 2003). Toute substance susceptible d'interférer avec la formation et/ou le fonctionnement de ces microtubules bloque les divisions cellulaires et l'élongation des hyphes mycéliens (FRAC, 2013). L'usage agricole des benzimidazoles s'est trouvé fortement affecté par la sélection de souches résistantes chez de nombreux champignons phytopathogènes (Leroux, 2003).

Par contre, les fongicides multi-sites (Propinèbe, Mancozèbe) affectent les processus respiratoires, et se caractérisent tous par une forte activité préventive. Ces fongicides ont une persistance d'action relativement faible, nécessitant des traitements fréquents, un renouvellement en cas de pluie et des doses élevées (plus 1 à 2 kg de matière active par hectare). En revanche, la quasi-absence de résistance acquise chez la plupart des champignons phytopathogènes permet à ces fongicides multi-sites d'être des partenaires importants des fongicides unisites (Leroux, 2003).

Toutefois, certains fongicides commercialisés ne sont efficaces que sur les champignons qui restent à la surface de la plante ou pénètrent peu. Ce qui suscite parfois chez les agriculteurs une utilisation irraisonnée de ces substances.

L'objectif de ce travail est de rechercher d'éventuelles résistances acquises ou naturelles chez des champignons phytopathogènes telluriques issus de champs de céréales de la région de Sétif vis-à-vis des quatre spécialités fongicides cités et qui sont largement utilisés par les agriculteurs.

MATERIEL ET MÉTHODE

MATERIEL BIOLOGIQUE

Champignons phythopathogènes

Les champignons ont été isolés précédemment par Belatrous (2011) et Sayah (2011) et identifiés par Taoui (2011) tableau I.

Tableau I : Champignons utilisés pour les tests de résistance (Fungi used for the resistance tests).

Champignons	Numéros attribués
<i>Fusarium</i> sp.	2
<i>Fusarium</i> sp.	5
<i>Chalara</i> sp.	8
<i>Fusarium</i> sp.	9
Nd	10
<i>Sporonema</i> sp.	12
Nd	14
<i>Stiebum</i> sp.	15
<i>Didymabotrium</i> sp.	18

<i>Dothichiza</i> sp.	20
<i>Sclerotopsis</i> sp.	28
<i>Fusarium</i> sp.	29

Nd : non déterminé (not determined).

METHODES

Préparation des solutions de fongicides

Des solutions mères de fongicides (Tableau II) sont préparées dans de l'eau distillée stérile : Propicône 7g/l, Vapcotop 0.7 g /l, Curatine V 9.3g/l et Kazir 8g/l. Après agitation et stérilisation par filtration, une série de dilution au demi est effectuée.

Tableau II : Fongicides testés : famille chimique, formulation et concentrations utilisées

Tested fungicides, chemical family, formulation and used concentrations

(Index des produits phytosanitaire à usage agricole, 2011).

Matières Actives	Nom commercial	Pourcentage de Matière active	Famille chimique	Formulation	Concentration des solutions mères	C . finales
Propinèbe	Propicône	70	Dithiocarbamates	PM*	7g/l	210mg/l
Mancozebe	Kazir	80	Dithiocarbamates	PM*	8g/l	80mg/l
Mancozèbe + cymoxanil	Curatine V	46.5+4	Dithiocarbamates + Acétamides	PM*	9.3 g/l + 0.8g/l	46.5mg/l + 4mg/l
Thiophanate – Méthyl	Vapcotop	70	Benzimidazoles	PM*	0.7g/l	3.5mg/l

PM* : Poudre mouillable, C . finales : concentrations finales

Préparation et ensemencement des milieux contenant des fongicides

Pour chaque spécialité fongicide testée, une concentration déterminée de la matière active est rajoutée dans du PDA en surfusion, avant la mise en boîte du milieu. A l'aide d'un emporte-pièce, des disques sont découpés dans une culture mycélienne d'une semaine. Trois ou cinq disques sont déposés de manière équidistante (Magnien, 2012).

Efficacité des fongicides

La résistance à des concentrations croissantes de fongicide a été évaluée. Deux répétitions ont été effectuées (Trois à cinq disques sont déposés par boîte, selon l'espèce fongique). Les boîtes ensemencées sont alors randomisées et incubées à température ambiante pendant six jours à l'obscurité. Les diamètres de croissance sont alors mesurés et comparés au témoin sans fongicide. La sensibilité (efficacité) du fongicide sur la croissance mycélienne a été déterminée par le calcul du pourcentage d'inhibition comparativement aux témoins sans fongicide, selon la formule:

$$\% I = (C - C_t) / C$$

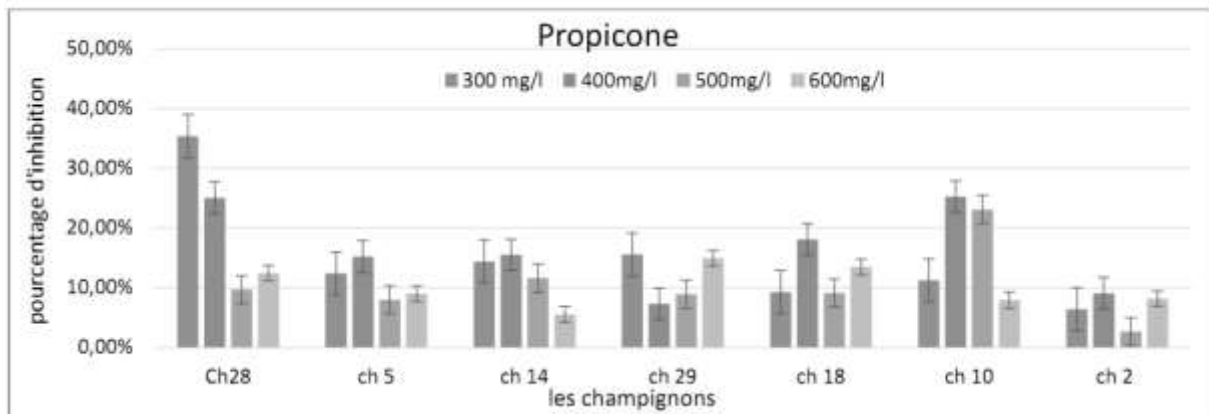
Où : %I est le pourcentage d'inhibition. C le diamètre de la colonie du contrôle (témoin) et C_t le diamètre de la colonie dans le milieu avec traitement fongicide (Trivedi, 2008).

RESULTATS

EFFET DU PROPICONE (PROPINEBE) SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE

Avec le propicône, le champignon 2 a montré la plus grande résistance avec une concentration minimale inhibitrice de 500 mg/l (CI50 460 mg/l), alors que le champignon 28 a montré la plus grande sensibilité avec une CMI de 300 mg/l (CI50 360 mg/l) (figure 1).

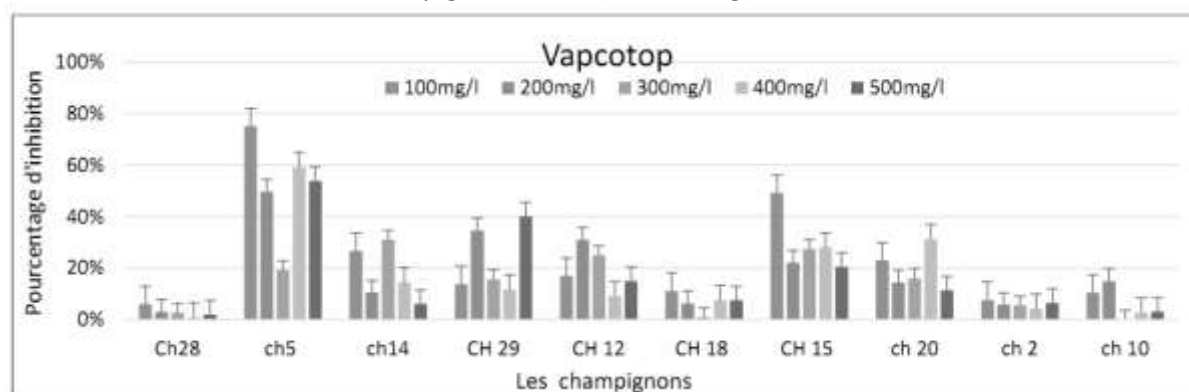
Figure 1 : Inhibitions fongique en fonction de concentrations croissantes de Propicône
(Fungal inhibitions according to increasing concentrations of Propicône)
Ch 28, Ch 5...Ch 2: champignons testés(tested fungi) .



EFFET DU VAPCOTOP (THIOPHANATE- METHYL) SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE

Avec le thiophanate-méthyl, le champignon 10 a montré la plus grande résistance avec une concentration minimale inhibitrice de 500 mg/l et une CI50 de 490 mg/l, alors que le champignon 5 a montré la plus grande sensibilité avec une CMI de 100 mg/l (figure 2).

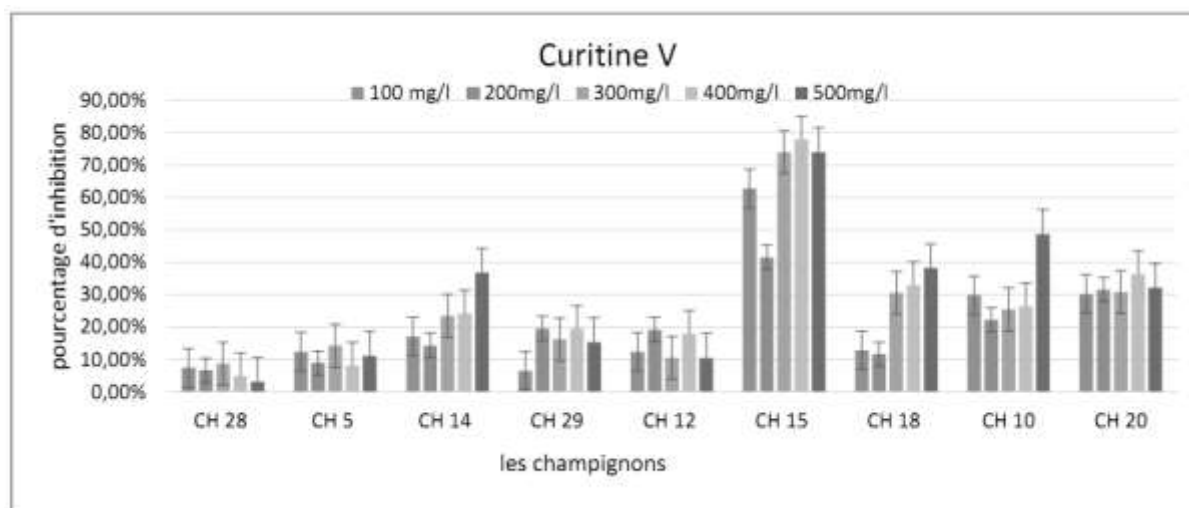
Figure 2 : Inhibitions fongique en fonction de concentrations croissante du Vapcotop
(Fungal inhibitions according to increasing concentrations of vapcotop).
Ch 28, ch5,...Ch10 : champignons testés (tested fungi).



EFFET DU CURITINE V (MANCOOZEBE-CYMOXANIL) SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE

La Curitine V a montré avec le champignon 28 la plus grande résistance avec une concentration 500mg/l, alors que le champignon 15 a montré la plus grande sensibilité avec une concentration de 400mg/l (figure 3) et une CI50 de 322 mg/l pour le champignon 15.

Figure 3 : Inhibitions fongique en fonction de concentrations croissante au Curatine V
(Fungal inhibitions according to increasing concentrations of Curatine V).
Ch 28, Ch 5,...Ch20 : champignons testés (tested fungi).



EFFET DU KAZIR (MANCOZEBE) SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE

Avec le Kazir le champignon 20 a montré la plus grande résistance avec une concentration de 30 mg/l, alors que le champignon 14 a montré la plus grande sensibilité avec une concentration de 20mg/l (figure 4), avec des CI50 de 40 et 28 mg/l respectivement.

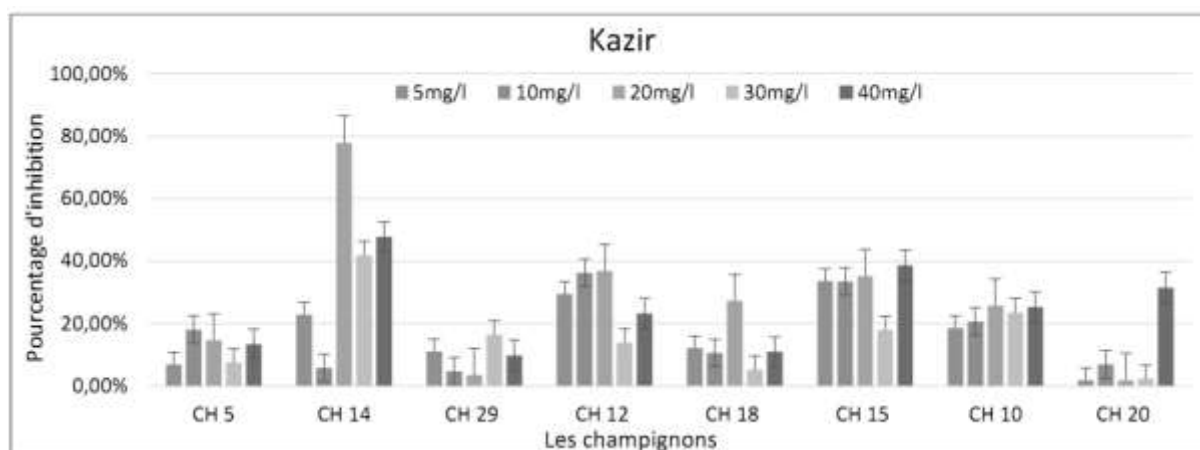


Figure 4 Inhibitions fongique en fonction de concentration croissante au Kazir (Fungal inhibitions according to increasing concentrations of Kazir).
Ch 5, Ch14,...Ch20 : champignons testés (tested fungi).

DISCUSSION

La résistance aux fongicides a été définie par Leroux (1985) comme : (i) la résistance physiologique, et (ii) la résistance en pratique. La résistance pratique est observée suite à une perte d'efficacité du fongicide appliqué par l'apparition d'individus résistants. Les individus résistants augmentant, une telle résistance peut avoir un impact variable sur l'efficacité pratique au champ. Ainsi, toute résistance détectée au niveau individuel n'induit pas forcément des pertes d'efficacité du fongicide concerné (résistance au champ) (Walker *et al.*, 2012).

C'est l'isolat 2 (*Fusarium* sp.) qui a montré la plus importante résistance avec le Propiconazole avec une CI50 de 460mg/l suivi de l'isolat 28 (*Sclerotopsis* sp.) avec 360mg/l. En revanche, pour le Vapocotop l'isolat 10 a été résistant avec une CI50 largement supérieure à 500mg/l, et l'isolat 5 (*Fusarium* sp.) avec une CI50 de 490 mg/l.

Ils convient d'indiquer que les espèces *F. culmorum*, *F. graminearum*, et *F. avenaceum* sont naturellement moins sensibles aux benzimidazoles que *F. nivale*. En outre, la résistance acquise de ces champignons du groupe *Fusarium* demeure exceptionnelle. Par contre, de nombreux cas de résistance aux benzimidazoles ont été signalés pour *F. nivale* (Maufras *et al.*, 2002). Cette résistance acquise est liée à la faible affinité de ces fongicides pour la β -tubuline, qui résulte de mutations dans les codons 198 ou 200. Toutefois, cette mutation de la β -tubuline en 198 lorsqu'elle survient présente une sensibilité accrue aux phénylcarbamatés (Leroux, 2003).

L'isolat 20 (*Dothichiza* sp.) en présence du Kazir un dithiocarbamate, a présenté la plus importante résistance avec une CI50 de 40mg/l, par contre la plus importante sensibilité est observée avec le champignon 14 qui a une CI50 de 28mg/l. Les dithiocarbamatés sont considérés en tant que groupe à faible risque de résistance ayant une activité anti-énergétique multi-sites (Leroux *et al.*, 2006). Ces fongicides présentent un large champ d'action, incluant des Ascomycètes et les Basidiomycètes, par inhibition de la germination des spores ; ou encore les Oomycètes par immobilisation des zoospores (Leroux, 2003). D'autre part, l'isolat 28 a montré une résistance au Curitine V (association de Dithiocarbamate et Acétamides) avec une CI50 supérieure à la plus haute concentration testée (500mg/l). En revanche, le plus sensible est le champignon 15 (*Stiebum* sp.) Avec une CI50 de 322 mg/l. Les Acétamides font partie des fongicides qui agissent sur la paroi cellulaire. Toutefois et selon FRAC (2013) le site d'action précis est mal connu. Des études plus approfondies sont nécessaires pour la détermination du mécanisme de résistance, et par conséquent éviter l'utilisation de fongicides inefficaces et nuisibles pour la santé de l'homme et de l'animal.

CONCLUSION

Les fongicides constituent un important moyen de lutte contre les champignons phytopathogènes. L'apparition de la résistance peut être plus ou moins rapide selon la famille chimique et le pathogène concerné. Les résultats de notre travail montrent la présence de résistances chez les champignons telluriques (phytopathogène ou non) issus de champs de céréales de la région de Sétif. Toutefois, cette résistance a varié d'un champignon à un autre et d'un composé à un autre. Cette résistance semble toucher des produits à faible risque comme le Kazir, et des champignons non ciblés par les traitements tels que le champignon 28 identifié comme *Sclerotopsis* sp. qui n'est pas un pathogène responsable de pertes économiques. Ceci explique une fois de plus l'utilisation abusive de ces fongicides, de coût élevé, parfois inutile.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique pour son soutien financier dans le cadre des programmes de recherche "CNEPRU N° F01220100022, F01220130088 et PNR1/u19/332".

BIBLIOGRAPHIE

- Belatrous Z Contribution à l'étude des sols suppressifs de la région de Ain Oulmene , pour l'obtention du master en microbiologie université de FERHAT Abbes Sétif 1, p :26 , 2011.
- FRAC List of plant pathogenic organisms resistant to disease control agents, Revised January p: 5, 2013.
- Leroux P Les phénomènes de résistance des champignons phytopathogènes aux fongicides, t. 1, 19-45. Prem. Journées études maladies plantes, A.N.P.P., Versailles, pp : 22-27, février 1985.
- Leroux P Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes, Académie des sciences/Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS.C. R. Biologies 326 9–21, 2003.
- Leroux, P., C. Albertini, J. Bach, D. Debieu, Fillinger S and Walker A.S Modes d'action des fongicides inhibiteurs de la biosynthèse des stérols et phénomènes de résistance. : AFPP – 8^{ème} conférence internationale sur les maladies des plantes. Tours, France 2006.
- Magnien C, Remuson F, LE Guellec M, Micoud A and Grosman J La résistance de *Plasmopara viticola* aux fongicides, résultats des plans de surveillance de la sous-direction de la qualité et de la protection des végétaux de 2009 à 2011, AFPP – 10^e conférence internationale sur les maladies des plantes tours –3, 4 décembre , pp :290-298 , 2012.
- Maufras J.Y, Maumené C, Henriot F, Grosson G. Caron D and Cauvreur F Fongicides céréales et protéagineux ITCF : pp : 14-65, 2002.
- Sayah N Contribution à l'étude des sols suppressifs de la région d'Ain Azel , pour l'obtention du master en microbiologie université de FERHAT Abbes Sétif 1, p :20 , 2011.
- Taoui S Identification de quelques champignons telluriques de la région de Ain Oulmene, pour l'obtention du master en microbiologie université de FERHAT Abbes Sétif 1, pp ;24-30, 2011.
- Trivedi P, Pandey A and Palni L. M. S In vitro evaluation of antagonistic properties of *Pseudomonas corrugata*, Microbiological Research 163 - 329—336, 2008.
- Walker A.S, Leroux P, Couleaud G and Maumene C Evolution de la résistance de type MDR chez l'agent de la septoriose du blé et évaluation du risque en pratique, AFPP- 10^e conférence internationale sur les maladies des plantes Tours- 3, 4 et 5 Décembre, pp : 307-315, 2012.