



MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION
NATIONALE, DE L'ENSEIGNEMENT
SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

MAISON DE LA
RECHERCHE

AVIS DE SOUTENANCE DE THESE DE DOCTORAT

**Monsieur AJOUZ Sakhr soutiendra une thèse
le 21 décembre 2009 à 14h**

Pôle Agrosciences

SPÉCIALITÉ : SCIENCES AGRONOMIQUES ED 477

Titre de la thèse : **Estimation comparée du potentiel de résistance de *Botrytis cinerea* à des fongicides chimiques et à des biofongicides.**

Membres du jury :

EL MAATAOUI Mohamed, PR Physiologie végétale, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse,
FILLINGER Sabine, CR Biologie moléculaire, INRA Agro-Paris Tech,
BARDIN Marc, CR Pathologie végétale, INRA Avignon,
LOPEZ FERBER Miguel, PR Entomologie, Ecole des Mines d'Alès,
ALABOUVETTE Claude, DR Pathologie végétale, INRA Dijon.

Résumé de la thèse :

La pourriture grise, causée par le champignon *Botrytis cinerea*, est l'une des principales maladies aériennes fongiques sur diverses cultures d'importance agronomique. La diversité génétique de *B. cinerea* est très forte et la capacité rapide d'adaptation de ce champignon à une pression sélective est également avérée. Ce champignon est ainsi capable de développer des résistances à une grande variété de composés fongicides de synthèse ou d'origine naturelle. Des méthodes alternatives de lutte ont de ce fait été développées ces dernières années: divers agents de lutte biologique (ALB) présentant différents modes d'actions ont été identifiés et pour certains d'entre eux commercialisés pour contrôler *B. cinerea*. Cependant la durabilité de la lutte biologique est un domaine encore très peu étudié. La perte d'efficacité d'un ALB pourrait résulter de la préexistence d'isolats moins sensibles de pathogènes dans les populations naturelles et/ou de la capacité de l'agent pathogène à produire, sous une pression de sélection continue exercée par l'ALB, des mutants ayant une sensibilité réduite. L'objectif global de la présente étude est d'évaluer le risque potentiel de perte d'efficacité de la lutte biologique vis-à-vis de *B. cinerea*. Dans cette étude, les efforts ont été concentrés sur la pyrrolnitrine, un antibiotique produit par divers ALBs, dont certains sont efficaces contre *B. cinerea*. Les objectifs spécifiques de l'étude étaient (i) d'évaluer la diversité de la sensibilité à la pyrrolnitrine au sein de la population naturelle de *B. cinerea*, (ii) d'estimer le risque de perte d'efficacité des ALBs produisant la pyrrolnitrine due à la pression de sélection exercée par la pyrrolnitrine et (iii) d'étudier le mécanisme de résistance à la pyrrolnitrine chez *B. cinerea*.

Parmi 204 isolats de *B. cinerea*, une gamme importante de sensibilité à la pyrrolnitrine a été observée, avec un facteur de résistance de 8.4 entre l'isolat le plus sensible et l'isolat le moins sensible. La production de 20 générations successives pour 4 isolats de *B. cinerea*, sur des doses croissantes de pyrrolnitrine, a abouti au développement de mutants avec des niveaux élevés de résistance à l'antibiotique, et à une réduction in vitro de la sensibilité à la bactérie productrice de pyrrolnitrine *Pseudomonas chlororaphis* PhZ24. La comparaison entre les mutants résistants à la pyrrolnitrine et leurs parents sensibles pour la croissance mycélienne, la sporulation et l'agressivité sur plantes a révélé que la résistance à la pyrrolnitrine est associée à un fort coût adaptatif. Des observations cytohistologiques sur tomates ont confirmé que l'isolat sensible à la pyrrolnitrine attaque le pétiole rapidement et envahit la tige, alors que le mutant résistant à la pyrrolnitrine ne s'étend pas au-delà du pétiole. De plus, ce dernier mutant forme un mycélium anormal et des cellules ressemblant à des chlamydozoïdes. Les résultats ont d'autre part révélé que les mutants de *B. cinerea* résistants à la pyrrolnitrine sont résistants au fongicide iprodione, suggérant ainsi qu'une pression exercée par la pyrrolnitrine sur le champignon conduit à une résistance au fongicide.

Réciproquement, la production de générations successives sur iprodione conduit à une résistance à l'antibiotique. Afin d'étudier les déterminants moléculaires de la résistance de *B. cinerea* à la pyrrolnitrine, le gène histidine kinase *Bos1*, impliqué entre autres dans la résistance aux fongicides chez *B. cinerea* a été séquencé chez les souches sensibles et les mutants résistants. La comparaison des séquences a mis en évidence des mutations ponctuelles différentes chez les mutants de *B. cinerea* obtenus sur la pyrrolnitrine et ceux obtenus sur l'iprodione.

De plus, les résistances à la pyrrolnitrine et à l'iprodione ne sont pas systématiquement associées à une mutation ponctuelle dans le gène *Bos1*. Enfin, aucune modification n'a été détectée dans la taille des allèles de neuf locus microsatellites quelle que soit la pression sélective exercée et quelle que soit le phénotype du mutant produit. Cette étude montre qu'un champignon pathogène des plantes est capable de développer progressivement une moindre sensibilité à un agent de lutte biologique mais que cette moindre sensibilité est associée à une forte perte de fitness.

UNIVERSITÉ D'AVIGNON
ET DES PAYS DE VAUCLUSE
COLLEGE DES ETUDES DOCTORALES
CASE 20
74 rue Louis Pasteur
84029 AVIGNON CEDEX 1
<http://www.univ-avignon.fr>
tél : +33(0)4 90 16 25 29
fax : +33(0)4 90 16 27 44
joelle.derbaise@univ-avignon.fr