



UNIVERSITE TUNIS EL MANAR  
Faculté des Sciences de Tunis El Manar  
Département des Sciences Biologiques

THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES BIOLOGIQUES

## Lutte biologique contre les moisissures toxigènes

Présentée par Mayssa ARFAOUI

Soutenue le 10 Juin 2019 devant le jury composé de

- Président : Pr Aly RAIES (FST)
- Rapporteur : Pr Najoua KARRAY-BOUROUUI (FST)
- Rapporteur : Pr Mohammed Rabah HAJLAOUI (INRAT)
- Examineur Pr Moncef MRABET (CBBC)
- Directeur de thèse : Pr Najla SADFI-ZOUAOUI (FST)
- Co-Directeur de thèse :
- Pr Patrice REY (Bordeaux Sciences Agro)

### Résumé

Les champignons phytopathogènes attaquant les fruits en récolte et en post-récolte constituent une menace majeure pour le secteur alimentaire mondial. En particulier, les espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* qui, outre leur capacité à causer la pourriture, menacent la santé publique humaine et animale à cause de leurs productions de toxines, en particulier l'ochratoxine A (OTA). Cette mycotoxine a un impact économique important et pose un grave problème de santé humaine, elle attire de plus en plus l'attention dans le monde entier afin d'en réduire les risques d'exposition pour les consommateurs. L'objectif de cette thèse porte principalement sur l'élaboration de méthodes de contrôle visant à limiter les espèces ochratoxigéniques qui peuvent coloniser les parties endommagées des plantes et ainsi contaminer la chaîne alimentaire.

Dans un premier temps, un isolement de souches d'*Aspergillus* à partir de baies de raisin de deux vignobles parmi les plus producteurs en Tunisie (Mornag et Zaghouan) a été effectué. Sur le même thème, un isolement à partir de pommes pourries a permis d'obtenir différentes espèces fongiques dont la plupart étaient des souches de *Penicillium*. Ces champignons ont été identifiés au niveau morphologique et moléculaire. Une quantification de l'OTA a permis de sélectionner les souches les plus productrices, i.e. deux souches d'*Aspergillus* ASP31 (*A. carbonarius*) et ASP73 (*A. ochraceus*) et une souche de *Penicillium verrucosum*.

Dans une deuxième étape, la microflore bactérienne colonisant les rhizosphères des vignobles Tunisiens a été étudiée afin de sélectionner des souches ayant un caractère antagoniste. Un total de 39 souches bactériennes a été isolé et identifié à l'aide du séquençage des gènes d'ADNr 16S et rpoB: 35 étaient des *Bacillus* sp., 2 souches étaient des *Brevibacterium* sp., 1 était *Paenibacillus* sp. et 1 souche était *Microbacterium oxydans*. Les criblages biochimiques et microbiologiques ont révélé que ces 39 souches (i) métabolisaient différemment les sources de carbone, (ii) possédaient des gènes d'antibiotiques et (iii) produisaient des sidérophores et solubilisait les phosphates. Sur la base de leurs caractéristiques PGP (Plant Growth Promoting), 21 souches ont été sélectionnées pour tester leurs activités antifongiques vis-à-vis des trois agents pathogènes sécréteurs d'OTA.

Par la suite, afin de trouver des agents de lutte potentiels, les 21 souches bactériennes retenues ont été testées in vitro pour leur effet antagoniste contre les trois agents pathogènes fongiques, *A. ochraceus*, *A. carbonarius* et *P. verrucosum*. Toutes les souches bactériennes ont été en mesure de réduire la croissance mycélienne fongique des trois champignons ochratoxinogènes. En effet, *Bacillus amyloliquefaciens* (I2) était le plus efficace contre *A. ochraceus*. Dans le cas d' *A. carbonarius* le meilleur résultat a été obtenu avec *Bacillus pumilus* (G3AX). Cette même souche était également la plus efficace contre *P. verrucosum*. Lors du test in vitro avec des baies détachées, les résultats ont montré la capacité de la souche G3AX de *B. pumilus* à inhiber les contaminations par *Aspergillus* spp. à la surface de la baie allant jusqu'à 77% pour *A. carbonarius* et 50% pour *A. ochraceus*. L'efficacité des souches bactériennes dépendait fortement de la présence ou de l'absence de blessures. Une réduction significative de 87% de la pourriture causée par *Penicillium* sur les pommes avec cette même souche de *Bacillus pumilus* a été notée. Le niveau de protection par les souches antagonistes dépendait significativement de la souche bactérienne, de l'espèce de champignon pathogène ciblée et de l'organe végétal hôte.

**Mots clés :** Activité antifongique, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus ochraceus*, *Bacillus* spp., *Bacillus pumilus*, Biocontrôle, ochratoxine A, *Penicillium verrucosum*.