

ACTION DE CERTAINS PESTICIDES SUR LA CROISSANCE DU CHAMPIGNON ECTOMYCORHIZIEN *PISOLITHUS TINC-TORIUS*

A. BELKOURI^{1,4}, A. ES-SGAOURI², R. AOUADJ², A. DAHCHOUR³

¹Ecole Normale Supérieure, Casablanca, Maroc. Tél. 022544510, Fax 022985326. ²Laboratoire de biotechnologie, Faculté des Sciences, Université Hassan II Aïn Chock, Casablanca, Maroc. ³Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, BP 6202 Rabat-Instituts, Maroc.

⁴Correspondance : belkouri_abdel@yahoo.fr

Résumé

Notre travail consiste à tester l'action de certains pesticides (fongicides, herbicides, insecticides) de grande utilisation au Maroc en pépinières, en foresterie et en agriculture sur la croissance de onze isolats de *Pisolithus tinctorius* provenant des reboisements d'eucalyptus de la région de Sidi Yahia. Les différents isolats réagissent différemment aux xénobiontes testés. En général l'effet toxique dépend de la nature et de la concentration des molécules testées et il s'amplifie avec l'élévation des concentrations. Egalement, il y a une réponse différentielle au niveau des isolats ainsi on a pu déceler des isolats sensibles, tolérants vis à vis des pesticides étudiés. En ce qui concerne la nature de substances chimiques essayées, il s'est avéré que les fongicides sont plus toxiques que les herbicides et les insecticides. En fin ce travail de criblage a permis de déceler des isolats tolérants aux différents pesticides expérimentés et de ce fait peuvent être intégrés dans un programme de mycorhization contrôlée de l'eucalyptus.

Summary

Our work consists in testing the action of some pesticides (fungicides, herbicides, insecticides) of big use in Morocco in nurseries, in forests and in agriculture on the growth of eleven isolates of *Pisolithus tinctorius* coming from the reforestation of eucalyptus of the region of Sidi Yahia. The different isolates react differently to the pesticides tested, the toxic effect in general depends of the concentration of the molecules tested and augment with her, there is also a differential answer to the level of the isolates so one could discover some isolates sensitive, tolerant screws has screw of the pesticides tested with regard to the nature of chemical substances tried it proved to be that fungicides are more toxic than the herbicides and insecticides in end this work of sifting has permitted to discover tolerant isolates to the different studied pesticides and that make possible to be integrated in a program of controlled mycorrhization of the eucalyptus.

Keywords

Pisolithus tinctorius, pesticides, fongicide, herbicide, insecticide, Sumisclax, Clincher, Granstar, Pirimor, sensitivity, tolerance, controlled mycorrhization

Introduction

Dans les conditions naturelles la plupart des végétaux s'associent avec les champignons du sol pour former des structures symbiotiques les mycorhizes (FRANCK, 1885). *Pisolithus tinctorius* est un champignon ectomycorhizien cosmopolite, qui forme des ectomycorhizes avec plus de 70 espèces

différentes (Marx 1977). Il n'est plus à démontrer que les champignons mycorhiziens améliorent le statut hydrique de leurs hôtes (Safir et coll. 1971, Allen et coll. 1981, Ellis et coll. 1985). Et procurent une meilleure nutrition minérale (Lapeyrie et coll. 1984, Ho. et coll. 1979, Bjorkman 1970, Botton. et coll.1970, Calleja .et coll.1980, Mousin et coll. 1988, Strullu 1991. Egalement elles leur apportent une certaine tolérance aux différents stress

biotiques et abiotiques. (Marx 1972, Perrin et Garbay 1982, Dehne 1982, Stack et coll. 1975).

Actuellement avec l'intensification de l'utilisation massive des pesticides pour le contrôle phytosanitaire des végétaux et leur accumulation dans la biosphère, les champignons mycorhiziens comme le reste du monde vivant subissent l'action néfaste de ces xénobiontes que ça soit en pépinières, sur les sites de reboisement ou en forêts.

En plus certains de ces microorganismes dégradent les substances organiques nocives et de ce fait peuvent être exploités dans les projets de phytoremédiation et de dépollution de sites contenant ces xénobiontiques (Langlois 1998, Joner et Leyal. 2003.).

Notre travail a consisté en l'étude de comportement de certains isolats marocains de *Pisolithus tinctorius* vis à vis de quelques pesticides : fongicides, herbicides et insecticides de grande utilisation au Maroc en vue de caractériser la sensibilité de ce champignon, la variabilité intra spécifique des souches de notre mycothèque et la recherche d'éventuels isolats tolérants aux pesticides testés, et susceptibles d'être intégrés dans un programme de mycorhization contrôlée de *Eucalyptus*, ou utilisés dans un projet de phytoremédiation.

Matériels et méthodes

Matériel fongique

Le champignon ectomycorhizien utilisé pour cette étude est : *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker and Couch [Syn.p P. arhizus (Scop.: Pers.) Rauschert]. Les différents isolats de ce champignon, ont été prélevés dans la forêt de Sidi yahya (Nord-est de Rabat) le long d'un transect d'une trentaine de Km. Pour cette étude on a utilisé onze isolats de ce champignon répertoriés sous les numéros suivants. 1,3,8,9,10,14,15,16,24,25,27.

Milieus de culture

Pour l'entretien, ainsi que pour le suivi de la croissance des isolats de *Pisolithus tinctorius* le

milieu de culture utilisé est celui de Melin et Norkrans modifié par Marx (1969) « MNM » dont la composition est comme suit:

CaCl₂ 0.05g/L, NaCl 0.025g/L, KH₂PO₄ 0.5g/L, MgSO₄•7H₂O 0.015g/L, FeCl₃ 0.012g/L, NH₄,NO₃ 0.15g/L, Thiamine 0.0001g/L, Glucose 10g/L, Extrait de Malt 3g/L, Eau distillée q.s.p. 1 L. Le pH est ajusté à : 5.5 avant autoclavage. Le mélange est stérilisé par autoclavage à 120°C et à deux bars pendant 20 minutes, les pesticides testés sont ajoutés au milieu de culture à différentes concentrations. Après refroidissement partielle le milieu est coulé dans des boites de pétri préalablement stérilisées à l'étuve à 180°C pendant 2 heures. Après ensemencement les boites sont incubées à 26°C à l'obscurité, la mesure de la croissance des mycéliums est effectuée à la fin de la troisième semaine d'incubation.

Les pesticides utilisés

Sumisclex 50%

Matière active : Procymidone (50%) : C₁₃H₁₁Cl₃NO₂⁻ ou N-(3'-5'dichlorophényl)-1,2-diméthyl cyclopropane-1,2-dicarboximide. C'est un fongicide.

Clincher 200 g/l

Matière active : Cyhalofop butyle appartenant à la famille des Aryloxyphenoxy propionate. C'est un herbicide.

Granstar 75

Matière active : 50% Tribénuron méthyle C₁₅H₁₇N₅O₂S, appartenant à la famille des Sulfonylurées. C'est un herbicide sélectif.

Pirimor 50%

Matière active : Pyrimicarbe (50%): C₁₁H₁₈N₄O₂ ou (N,N-diméthyl carbamate) c'est un insecticide.

Le tableau (Tableau I) nous résume les propriétés biologiques, la nature de la matière active ainsi que les concentrations utilisées dans ce travail.

Tableau I : Récapitulatif des pesticides utilisés

Pesticide	Propriétés	Matière active	Concentration
SUMISCLEX 50%	Fongicide	Procymidone	0.1 à 0.5g/L
CLINCHER200	Herbicide	Cyhalofop butylique	0.01 à 0.05g/L
GRANSTAR 75	Herbicide	Tribénuron methyl	0.1à 0.5g/L
PIRIMOR 50%	Insecticide	Pyrimicarbe	0.1 à 0.75g/L

Résultats et discussion

Action d'un fongicide

Procymidone

Les essais préliminaires ont montré que l'action inhibitrice dépend de la concentration du fongicide dans le milieu avec les concentrations inférieures à 0.5 g/L tous les isolats testés peuvent pousser mais l'inhibition est fonction de la concentration jusqu'à 0.5 g/l qui constitue la concentration létale pour la plupart des isolats.

Les résultats de l'action inhibitrice de la procymidone sur la croissance des différents isolats de *Pisolithus tinctorius* sont portés sur la Figure 1.

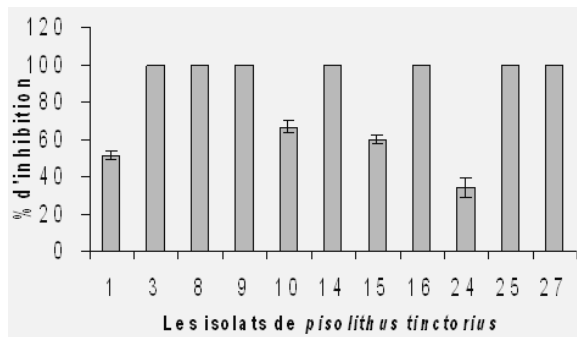


Figure 1: Action de la procymidone sur la croissance radiale de *Pisolithus tinctorius*.

On constate qu'avec 0.5 g/L de Sumisclex, on observe une inhibition totale pour les isolats 3, 8, 9, 14, 16, 25 et 27, tandis ce que la croissance des autres isolats est seulement ralentie. A noter pour les isolats 3 et 14, la croissance du champignon se fait seulement sur l'inoculum, il subsiste sur les restes de la culture mère, En effet la concentration 0.5g/l représente une concentration létale pour la plupart des isolats. *Pisolithus tinctorius* présente une sensibilité vis-à-vis de cette concentration du Procymidone, Le sumisclex est un fongicide qui inhibe la croissance des champignons. On observe également une variabilité intra spécifique au sein des isolats en effet L'isolat 24 s'avère le plus tolérant aux concentrations très élevées testées de Procymidone, les isolats 1, 10 et 15 présentent également une certaine tolérance mais moins marquée que la 24.

L'effet collatéral de l'utilisation des fongicides est connu depuis longtemps les champignons mycorhiziens en général sont touchés lorsque on traite contre des pathogènes (Iyer et Wild 1965 ;

Dehne 1984). L'action inhibitrice dépend de la nature de la substance active .O'Neil et .Mitchel en 2000 ont montré que le Benomyl est plus toxique que le Captane sur le développement des champignons mycorhiziens et sur les mycorhizes. Egalement il y a un effet concentration et nature de traitement.Laatikainen. et Heinonen-Tanski en 2002 ont montré que les fongicides sont plus toxiques que les autres pesticides vis a vis des champignons ectomycorhiziens et même au niveau de ces champignons il y a un comportement différentielle certains sont plus sensibles que d'autres on constate même un effet stimulateur pour les faibles concentrations, résultats similaires obtenues avec les endomycorhizes Turk et coll. 2006.

En ce qui concerne les concentrations utilisées qui sont élevées il ne faut tenir compte de la formulation du produit qui est de 50% de matière active et de la faible solubilité de cette matière active dans l'eau.

Action d'herbicides

Cyhalophop buthyl

Les essais préliminaires avec les concentrations 10 et 50 mg/l, ont montré qu'il n'y a pas de grande différence de croissance du champignon à ces concentrations. Les cas de tolérance sont apparus après application de concentrations inférieures ou égales à 75mg/L. Cette concentration a été retenue pour la suite des essais. La Figure 2 représente les résultats obtenus du criblage des isolats.

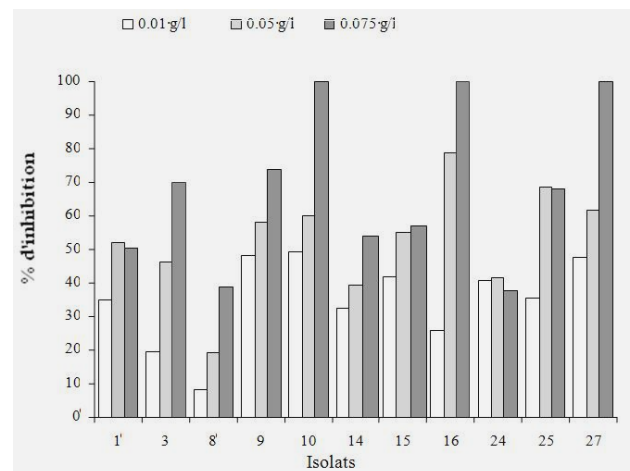


Figure 2 : Action inhibitrice de Clincher

Ainsi on remarque une hétérogénéité de réponse des isolats vis-à-vis de l'herbicide testé, et un effet d'inhibition corrélé à la concentration. Les taux

d'inhibition les plus élevés sont obtenus pour 75mg/L à cette concentration, les isolats 10, 16 et 27 se sont montrés les plus sensibles ($I= 100\%$), alors que les isolats 8 et 24 étant les plus tolérants.

Les autres isolats présentent une sensibilité intermédiaire et on peut les classer par ordre de sensibilité croissante comme suit : 1, 14, 15, 25, 3, 9.

Tribenuron methyle (TBM)

Les essais préliminaires ont permis de cerner la sensibilité des isolats de *Pisolithus* à l'égard du TBM. En effet l'inhibition commence à partir de 0.5 g/L, et augmente avec la concentration. La valeur de 1g/L qui est une teneur en pesticide intermédiaire a été retenue pour discriminer la réponse des isolats. Les taux d'inhibition obtenus sont présentés dans la Figure 3.

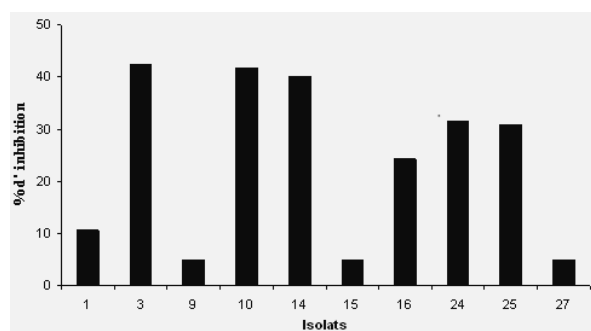


Figure 3 : Taux d'inhibition des Isolats en présence de Granstar.

Les taux d'inhibition ne sont pas très élevés comme ceux des autres pesticides testés. Le pourcentage d'inhibition des isolats 9, 15, 27 et 1 ne dépasse pas 15%, et sont donc plus tolérants que les autres isolats pour les quels les pourcentages d'inhibition ont varié de 30.8 à 42.2% pour les isolats 25 et 3 respectivement.

Les faibles taux d'inhibition enregistrés pour le TBM peuvent être dus à la dégradation plus ou moins partielle du produit par autoclavage. En effet cet herbicide appartient à la famille des sulfonyles urées réputés pour leur faible stabilité aux températures élevées.

Action d'insecticide

Action du perimicarbe (Pirimor)

Pour cet insecticide les essais préliminaires de suivi de croissance des isolats : 1, 3, 10, 15, 16 et 24 a été réalisé avec une gamme de trois concentrations : 0,1 g/l, 0.25 g/l et 0.5 g/l.

D'après ces résultats, on a constaté une inhibition à partir de 0.1 g/l qui sera plus marquée à 0.25 g/l. En revanche, une inhibition totale avec 0.5 g/l a été obtenu avec tous les isolas testés.

Pour une bonne discrimination le criblage des isolats sera suivi en présence de 0.1 g/l et 0.25 g/l de perimicarbe. La Figure 4 montre les résultats obtenus.

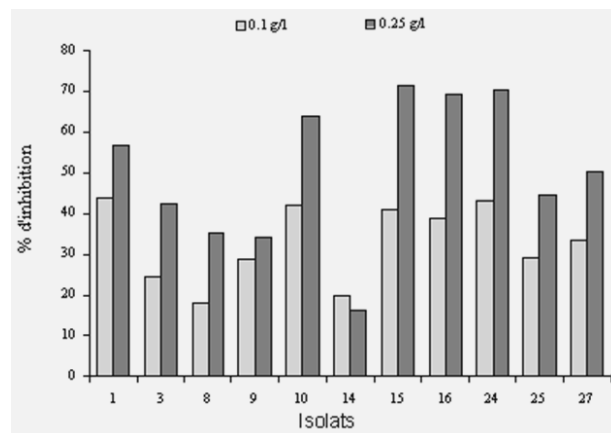


Figure 4 : Taux d'inhibition des isolats en présence de Pirimor.

On constate une inhibition plus importante en présence de 0.25g/L de Pirimor pour tous les isolats testés par rapport à celle en présence de 0.1 g/l, dont le taux d'inhibition pour chaque concentration est indiqué dans le graphe 4.

Les isolats 14, 8, 9 et 3 sont les plus résistants, alors que les isolats 16, 24 et 15 sont les plus sensibles par rapport aux autres isolats.

La concentration 0.5 g/l de Pirimor représente la concentration inhibitrice pour tous les isolats ; alors qu'en présence de 0.1 g/l et de 0.25 g/l, la croissance des isolats est hétérogène, c'est-à-dire que les isolats ont un comportement différent vis-à-vis de Pirimor.

Des résultats trouvés, on peut dire que les souches testées présentent une variabilité de comportement vis-à-vis des pesticides testés. En plus de la variabilité à l'égard de chaque pesticide testé, les différentes souches se comportent différemment vis-à-vis des autres pesticides. Ceci peut laisser suggérer une variabilité de comportement avec d'autres pesticides non testés. Les cas d'inhibition totale n'ont été observés que pour des concentrations très élevées non rencontrées dans la pratique. La tolérance observée peut être due en partie à la dégradation du produit sous l'effet de l'autoclavage ou à sa métabolisation par les champignons. Des cas de métabolisation de pesticides comme le 2.4D et le 2,4,6 trinitrotoluène

ont été rapportés (Meharg et coll. 1997; Scheibner et coll.1997).

Ce comportement tolérant de la majorité des isolats peut encourager l'usage des pesticides dans des programmes de mycorhization contrôlée, pour des projets de reforestation, ou utilisés à des fins de dépollution et de phytoremédiation de sites pollués par des substances organiques.

Références

Frank, A. B., 1885-on the root symbiosis depending nutrition through hypogeous fungi of certain tree.*Ber. dt. bot. Ges.*, 3 : 128-145.

Marx DH., 1977 - Tree host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. *Can. J. Microbiol.* 23: 217–223.

Safir, G.R., Boyer, J.S. et Gerdemann, J.W.,1971. Mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Science*, 172 : 581 -583.

Ellis, J.R., Larsen, H.J. et Boosalis, M.G., 1985. Drought resistance of wheat plants inoculated with vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Plant Soil*, 86 : 369-378.

Allen, M.F., Smith, W.K., Moore, T.S. et Christensen, M. (1981). Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis*. *NewPhytologist*, 88 : 683-693.

Lapeyrie F., Chilvers G.A. & Douglas P.A., 1984. Formation of metachromatic granules following phosphate uptake by mycelial hyphae of an ectomycorrhizal fungus. *New Phytol.* 98 : 345-360.

Ho I. et Zak B., 1979. Acid phosphatase activity of six ectomycorrhizal fungi. *Can J. Bot.*, 57 : 1203-1205.

Bjorkman E., 1970. Mycorrhiza and tree nutrition in poor forest soils. *Sutd. For. Suec.*, 83 : p:1- 24.

Botton B., El Badaoui K. et Martin F., 1986- Induction of extracellular protease in the Ascomycete *Cenococcum geophilum*. éd. INRA, Paris, 403- 406.

Calleja M., Mousain D., Lecouvreur B. et D'Auzac J., 1980. Influence de la carence phosphatée sur les activités phosphatases acides de trois champignons ectomycorhiziens : *Hebeloma edirum* Metrod, *Suillus granulatus* (L. Ex. Fr.) O. Kuntze et *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Crouch. *Physiol.vég.*, 18 :499-504.

Mousain D., Bousquet N. & Polard C., 1988- Comparaison des activités phosphatases d'Homobasidiomycètes ectomycorhiziens en culture in vitro. *Eur. J. For. Pathol.*, 18 : 299- 309.

Strullu, D.G., 1991. *Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées*. Collection Tec. & Doc., Lavoisier, Paris.

MarxD.H., 1972- ectomycorhizae as a biological deterrents to pathogenic root infections.*A.Rev.Phytopath.*,10:429- 454.

Perrin R et Garbaye J.,1982- Influence of ectomycorhizae on infectivity of phytium infested soils and substrats . *Plant Soil.* 71:453- 470.

Dehne, H.W., 1982- Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology.*, 72: 1115-1119.

Stack R.W. et Sinclair W. A., 1975 - Protection of Douglas fir seedlings against *Fusarium* root rot by a mycorrhizal fungus in the absence of mycorrhizae formation. *Phytopathology.*, 65 : 468-472.

Langlois.E., 1998- Biodegradation des composés nitroaromatiques. mémoire présenté a la faculté des études supérieures de l'université de LAVAL.

Joner; E.J. et Leyval. C., 2003- Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants:a new aspect of rhizosphere interactions. *Agronomie* 23: 495-502.

Marx D.H., 1969-The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of Pine roots to pathogenic infection .I .Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic infection. II. production, identification and biological activity of abiotics produced by *leucopaxillus cerealis* var.piceina; *Phytopathology*,59:153-163et411-454.

Iyer,.G. et Wild,S.A. 1965- Effet of vapam biocide on the growth of red pine seedlings. *J.For.* 63 : 703-704.

Dehne, H.W 1984- Comportement et effet secondaire des pesticides dans le sol .colloque de l'I.N.R.A n° 31 Ed.

O'neil J.J.M et Mitchell D.T., 2000-Effet of benomyl and captan on on growth and mycorrhizal colonization of Sitka-spruce (*Picea sitchensis*) and ash(*Fraxinus excelsior*) in Irish nursery soil. *European Journal of Forest Pathology.* Vol .30 Issue 3:165.

Laatikainen T.; Heinonen-Tanski H., 2002- Mycorrhizal growth in pure cultures in the presence of pesticides. *Microbiological Research*, Vol. 157, Number 2, 127-137.

Turk .M.A., Assaf .T.A,Hameed.K.Met AL Tawaha.A.M., 2006- World journal of agricultural sciences2(1):16-20.

Meharg A.A., CairnyJ.W.G, MaguirN., 1997- mineralization of 2,4 dichlorophenol by ectomycorhizal fungi in axenic culture and in symbiosis with pine, *Chemosphere*34:2495-2504.

ScheibnerK.. HofrichterM.. Michel J.;FritscheW., 1997- Screening for fungi intensively mineralizing 2,4,6trinitrotoluene, *Appl.Microbiol.Biotechnol* 47 : 452-457.