



(12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 33707 B1** (51) Cl. internationale : **A01G 1/04**
(43) Date de publication : **01.11.2012**

-
- (21) N° Dépôt : **33415**
(22) Date de Dépôt : **10.12.2010**
(71) Demandeur(s) : **UNIVERSITE CADI AYYAD, BOULEVARD PRINCE MY ABDELLAH, B.P. 511 MARRAKECH 40000 (MA)**
(72) Inventeur(s) : **EL FELS LOUBNA ; DUPONNOIS ROBIN ; MOHAMED HAFIDI**
(74) Mandataire : **BENCHANAA M'BAREK**

-
- (54) Titre : **AMELIORATION DE LA PRODUCTIVITE DES PERIMETRES MARAICHERS PAR L'UTILISATION DE BIOPESTICIDES ISSUS DE SOUS-PRODUITS FONGIQUES D'UNE PRODUCTION DE CHAMPIGNONS COMESTIBLES**
(57) Abrégé : **DANS LA LITTÉRATURE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE, DE NOMBREUX RÉSULTATS ATTESTENT DE L'IMPORTANCE DES CHAMPIGNONS SAPROPHYTES COMESTIBLES (EX: AGARIQUE, PLEUROTE, ETC) EN TANT QUE PRODUIT ALIMENTAIRE MAIS AUSSI POUR LEUR PROPRIÉTÉS BIOCHIMIQUES SUSCEPTIBLES D'ÊTRE VALORISÉES EN PHARMACOLOGIE, COSMÉTOLOGIE, ETC. PARADOXALEMENT, LES RÉSIDUS DE PRODUCTION DE CHAMPIGNON OBTENU EN FIN DE CYCLE DE FRUCTIFICATION (SUBSTRAT ORGANIQUE COLONISÉ PAR LE MYCELIUM DU CHAMPIGNON) NE SONT PAS À NOTRE CONNAISSANCE RECYCLÉS. EN EFFET, LES MULTIPLES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES QUE POSSÈDENT CES MICROORGANISMES (EX: CELLULASE, PECTINASE, ETC) ONT ÉTÉ GÉNÉRALEMENT DÉCRITES POUR DÉFINIR LE TYPE DE SUBSTRAT ORGANIQUE PERMETTANT UN DÉVELOPPEMENT OPTIMAL DE LA SOUCHE FONGIQUE. L'IMPACT DE CES ACTIVITÉS FONGIQUES SUR LA QUALITÉ DU SUBSTRAT EN FIN DE CYCLE DE PRODUCTION (EX: TENEURS EN AZOTE, PHOSPHORE, ETC) AINSI QUE LES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES PROPRES DU MYCELIUM EN FIN DE CYCLE DE PRODUCTION DES CARPOPHORES (EX: ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE, CHITINOLYTIQUE, ETC) ONT GÉNÉRALEMENT ÉTÉ IGNORÉES DANS LES ÉTUDES RELATIVES À CE SUJET ET IL N'EXISTE PAS À NOTRE CONNAISSANCE DE RÉSULTATS MONTRANT L'INTÉRÊT D'UTILISER LES**

RÉSIDUS DE CULTURES DE CHAMPIGNONS SAPROPHYTES POUR AMÉLIORER LA CROISSANCE DES PLANTES MARAÎCHÈRES ET LEUR ÉTAT PHYTOSANITAIRE. LES CULTURES MARAÎCHÈRES REPRÉSENTENT UNE ACTIVITÉ AGRICOLE IMPORTANTE EN AFRIQUE DU NORD. AFIN DE MAINTENIR LA FERTILITÉ DES SOLS ET DE COMBATTRE LES PRINCIPAUX PATHOGÈNES DES PLANTES CULTIVÉES (EX: NÉMATODES PHYTOPARASITES, ETC) DANS LES PÉRIMÈTRES MARAÎCHERS, LES TECHNIQUES CULTURALES ADOPTÉES ONT GÉNÉRALEMENT RECOURS À DES INTRANS CHIMIQUES SOUVENT ONÉREUX MAIS SURTOUT NÉFASTES POUR L'ENVIRONNEMENT. L'ADOPTION ET LE RESPECT DES CRITÈRES TECHNIQUES VISANT À METTRE EN PLACE UNE AGRICULTURE DURABLE ET RESPECTUEUSE DE L'ENVIRONNEMENT NÉCESSITE LA DÉFINITION D'APPROCHES CULTURALES INNOVATRICES REPOSANT SUR L'UTILISATION « D'OUTILS » BIOLOGIQUES GARANTISSANT LA QUALITÉ SANITAIRE DES PÉRIMÈTRES CULTURAUX (ABSENCE DE RÉSIDUS CHIMIQUES TOXIQUES) TOUT EN RESTANT INOFFENSIFS POUR LES CULTIVATEURS ET LES CONSOMMATEURS. DANS CE CONTEXTE D'AGRICULTURE BIOLOGIQUE, NOUS PROPOSONS UNE TECHNIQUE DE RECYCLAGE DU COMPLEXE SUBSTRAT ORGANIQUE/CHAMPIGNON COMESTIBLE SAPROPHYTE OBTENU EN FIN DE CYCLE DE FRUSTIFICATION EN L'INCORPORANT DANS DES MINI-MOTTES DE COMPOST OÙ SERONT PLACÉ DE JEUNES SEMIS D'ESPÈCES MARAÎCHÈRES (EX: TOMATES, OIGNON, ETC). CETTE TECHNIQUE PERMETTRA D'AMÉLIORER (I) LA BIODISPONIBILITÉ D'ÉLÉMENTS MAJEURS POUR LA CROISSANCE DE LA PLANTE TELS QUE L'AZOTE ET LE PHOSPHORE, (II) AMÉLIORER LA MOBILISATION DE NUTRIMENTS (EX: P) À PARTIR D'AMENDEMENTS INORGANIQUES (EX: PHOSPHATE NATUREL) DU FAIT DES PROPRIÉTÉS ENZYMATIQUES DU CHAMPIGNON COMESTIBLE (EX: PHOSPHATASE) ET (III) ASSURER UNE PROTECTION PHYTOSANITAIRE POUR LES JEUNES PLANTS APRÈS LEUR TRANSFERT AU CHAMP, EN PARTICULIER CONTRE LES NÉMATODES PHYTOPARASITES (PRINCIPAUX PATHOGÈNES DES CULTURES MARAÎCHÈRES EN MILIEU MÉDITERRANÉEN) EN VALORISANT LES ACTIVITÉS CHITINOLYTIQUES DÉVELOPPÉES PAR LE CHAMPIGNON.

INTRODUCTION

Dans la littérature scientifique et technique, de nombreux résultats attestent de l'importance des champignons saprophytes comestibles (Ex : Agarique, pleurotes, etc) en tant que produit alimentaire mais aussi pour leur propriétés biochimiques susceptibles d'être valorisées en pharmacologie, cosmétologie, etc. Paradoxalement, les résidus de production de champignon obtenu en fin de cycle de fructification (substrat organique colonisé par le mycelium du champignon) ne sont pas à notre connaissance recyclés. En effet, les multiples activités enzymatiques que possèdent ces microorganismes (Ex : cellulase, pectinase, etc) ont été généralement décrites pour définir le type de substrat organique permettant un développement optimal de la souche fongique.

L'impact de ces activités fongiques sur la qualité du substrat en fin de cycle de production (Ex : teneurs en azote, phosphore, etc) ainsi que les activités enzymatiques propres du mycelium en fin de cycle de production des carpophores (Ex : activité phosphatasique, chitinolytique, etc) ont généralement été ignorées dans les études relatives à ce sujet et il n'existe pas à notre connaissance de résultats montrant l'intérêt d'utiliser les résidus de cultures de champignons saprophytes pour améliorer la croissance des plantes maraîchères et leur état phytosanitaire. Les cultures maraîchères représentent une activité agricole importante en Afrique du Nord. Afin de maintenir la fertilité des sols et de combattre les principaux pathogènes des plantes cultivées (Ex : nématodes phytoparasites, etc) dans les périmètres maraîchers, les techniques culturales adoptées ont généralement recours à des intrants chimiques souvent onéreux mais surtout néfastes pour l'environnement. L'adoption et le respect des critères techniques visant à mettre en place une agriculture durable et respectueuse de l'environnement nécessite la définition d'approches culturales innovatrices reposant sur l'utilisation « d'outils » biologiques garantissant la qualité sanitaire des périmètres culturaux (absence de résidus chimiques toxiques) tout en restant inoffensifs pour les cultivateurs et les consommateurs.

Dans ce contexte d'agriculture biologique, nous proposons une technique de recyclage du complexe substrat organique/champignon comestible saprophyte obtenu en fin de cycle de fructification en l'incorporant dans des mini-mottes de compost où seront placés de jeunes semis d'espèces maraîchères (Ex : tomates, oignon, etc). Cette technique permettra d'améliorer (i) la biodisponibilité d'éléments majeurs pour la croissance de la plante tels que l'azote et le phosphore, (ii) améliorer la mobilisation de nutriments (Ex : P) à partir d'amendements inorganiques (Ex : phosphate naturel) du fait des propriétés enzymatiques du champignon comestible (Ex : phosphatase) et (iii) assurer une protection phytosanitaire pour les jeunes plants après leur transfert au champ, en particulier contre les nématodes phytoparasites (principaux pathogènes des cultures maraîchères en milieu méditerranéen) en valorisant les activités chitinolytiques développées par le champignon.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

Production du complexe substrat organique/champignon

Les isolats fongiques sont entretenus dans des boîtes de Petri sur un milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar) et conservés à 4°C. Les inocula fongiques sont produits dans des bocaux de 1 litre remplis par des grains hydratés de céréale (Ex : maïs) ou un substrat inerte humidifié par une solution nutritive (Ex : moût de brasserie). Ce substrat sera préalablement stérilisé à la chaleur (120°C, 60 min). Après s'être assuré du refroidissement du milieu de culture, le substrat est inoculé en conditions aseptiques par un implant de mycelium. Les bocaux sont conservés à 25°C et à l'obscurité pendant 15 jours afin d'assurer une complète colonisation du milieu par le mycelium avant leur utilisation pour inoculer le substrat organique.

Production de carpophores

Le substrat de culture des champignons est obtenu à partir de résidus de culture (Ex : paille de blé, résidus de presse issu de la production d'huiles essentielles, etc) amendé avec des composés organiques susceptibles de catalyser les activités enzymatiques fongiques (Ex : résidus de l'industrie de la pêche, phosphate naturel, etc). Le substrat est immergé dans de l'eau pendant une nuit et ensuite amendé avec de la chaux (30% m:m matière sèche) et autoclavé pendant 2 h à 120°C. Le substrat est ensuite réparti dans de sachets à raison de 1 kg par sachet puis inoculé avec du blanc de semis en couches alternées avec le substrat en terminant par une couche de substrat organique. Les sachets sont soudés et mis à l'obscurité à 25°C jusqu'à la colonisation totale du substrat par le champignon. Lorsque la colonisation est achevée, les sachets contenant les souches sont directement exposés à la lumière de jour et cultivés à température ambiante (environ 25 °C). Ces sachets sont placés dans une salle de culture pendant environ un mois, période durant laquelle la récolte des fructifications est opérée.

Amendement des mini-mottes

A la fin de la phase de fructification, le substrat colonisé par la souche fongique est homogénéisé et mélangé à un compost couramment utilisé en culture maraichère au ratio de 1 :100 et 3 :100 (v:v). Ce mélange est ensuite amendé ou non par une poudre de phosphate naturel à raison de 1 :100 (v:v). Les mélanges ainsi obtenus sont humidifiés à la capacité au champ et utilisés pour la conception de mini-mottes (4 x 4 x 4 cm). Dans chaque mini-motte est planté un jeune semis de l'espèce végétale cultivée. Après 15 jours de croissance, les mini-mottes portant un plant sont transférées en pleine terre et les plants sont entretenus selon les méthodes classiques appliquées dans les systèmes maraîchers.

Les cultures maraîchères sont généralement pratiquées de manière artisanale dans la majeure partie des pays d'Afrique du Nord. La part de l'innovation technologique dans les itinéraires culturaux se résume à la sélection de variétés particulièrement adaptées aux conditions environnementales rencontrées dans ces régions. Les engrais chimiques étant onéreux et peu accessibles pour la majorité des producteurs, les sols sont généralement enrichis avec des matières organiques ou des déchets domestiques dont la qualité est rarement contrôlée. Les principales pathologies sont contrôlées par quelques pesticides dont le coût prohibitif ne permet pas leur utilisation de manière intensive. De plus, ces pesticides étant particulièrement toxiques pour l'environnement et pour les utilisateurs, leur utilisation devient de plus en plus critiquée par les associations de consommateurs et l'utilisation intensive de la majorité de ces produits chimiques est remise en cause par les autorités régulatrices du marché.

BIBLIOGRAPHIE

- Backman, P.A., Wilson, M. & Murphy, J.F. (1997). Bacteria for biological control of plant diseases. In: Rechcigl, N.A., Rechcigl, J.E. (Eds.), *Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control*. CRC Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 95-109.
- Duponnois, R., Bâ, A.M. & Mateille, T. (1998). Effects of some rhizosphere bacteria for the biocontrol of nematodes of the genus *Meloidogyne* with *Arthrobotrys oligospora*. *Fundamental and Applied Nematology*, 21 (2): 157-163.
- Duponnois, R., Kisa, M. & Plenchette, C. (2006). Phosphate-solubilizing potential of the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Journal of Plant Nutrition & Soil Science*, 169 : 1-3.
- Duponnois, R., Mateille, T. & Gueye, M. (1995). Biological characteristics and effects of two strains of *Arthrobotrys oligospora* from Senegal on *Meloidogyne* species (with reference to *M. mayaguensis*) parasitizing tomato plants. *Biocontrol Science and Technology*, 5: 517-525.
- Duponnois, R., Sene, V., Sawadogo, A. & Mateille, T. (1997). Effectiveness of different species of *Arthrobotrys* sp. on the development of *Meloidogyne mayaguensis* in West Africa. *Entomophaga*, 41 (3/4): 475-483.
- Giannakou, I.O. & Anastasiadis, I. (2005). Evolution of chemical strategies as alternatives to methyl bromide for the control of root-knot nematodes in greenhouse cultivated crops. *Crop Protection*, 24: 499-506.
- Gilreath, J.P., Santos, B.M., Motis, T.N., Noling, J.W. & Mirusso, J.M. (2005). Methyl bromide alternatives for nematode and *Cyperus* control in bell pepper (*Capsicum annuum*). *Crop Protection*, 24: 903-908.
- Gueye, M., Duponnois, R., Samb, P.I. & Mateille, T. (1997). Etude de trois souches d'*Arthrobotrys oligospora* : caractérisation biologique et effets sur *Meloidogyne mayaguensis* parasite de la tomate au Sénégal. *Tropicicultura*, 15 (3): 109-115.
- Hutchinson, C.M., McGiffen, M.E., Ohr, H.D., Sims, J.J. & Becker, J.O. (1999). Efficacy of methyl iodide soil fumigation for control of *Meloidogyne incognita*, *Tylenchulus semipenetrans* and *Heterodera schachtii*. *Nematology*, 1: 407-414.

- MA Nico, A.L., Jimenez-Diaz R.M. & Castillo, P. (2004). Control of root-knot nematodes by composted agro-industrial wastes in potting mixtures. *Crop Protection*, 23 : 581-587.
- 33707B1
- Siddiqui, I.A. & Shaukat, S.S. (2003). Effects of *Pseudomonas aeruginosa* on the diversity of culturable microfungi and nematodes associated with tomato : impact on root-knot disease and plant growth. *Soil Biology and Biochemistry*, 35: 1359-1368.
- Sikora, R.A. & Fernandez, E. (2005). Nematode parasites of vegetables. In : Luc, M., Sikora, R.A., Bridje, J. (Eds.). *Plant-Parasitic nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. 2nd Edition. CABI Publishing, Wallington, UK, pp. 319-392.
- US Environmental protection Agency (1999). Protection of stratospheric ozone: incorporation of Montreal protocol adjustment for a 1999 interim reduction in class I, group VI controlled substances. *Federal Register*, 64: 29240-29245.
- Varsha, N. & Patel, H.H. (2000). *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer. *Soil Biology & Biochemistry*, 32: 559-565.

1. Procédé permettant d'améliorer la productivité d'un périmètre maraîcher en favorisant la nutrition minérale de la plante et en assurant leur protection phytosanitaire en ayant recours à un biopesticide naturel respectueux des règles de l'agriculture durable à faibles apports d'intrans
2. Une méthode selon la revendication 1, caractérisée par la culture de la composante fongique reposant sur l'utilisation de résidus organiques issus de diverses cultures vivrières et céréalières
3. Un procédé selon les revendications 1 et 2, caractérisé par une amélioration des qualités chimiques, biochimiques et microbiologique du substrat de culture du champignon *via* l'ajout dans le substrat de culture du champignon de composés organiques (Ex : résidus de l'industrie de la pêche) et/ou inorganiques (Ex : phosphate naturel)
4. Un procédé selon les revendications 1, 2 et 3 utilisant les produits finaux récupérés en fin de cycle de production du champignon pour améliorer la qualité chimique et microbiologique du substrat utilisé dans la confection de mini-mottes
5. Un procédé, selon les revendications 1, 2, 3 et 4, caractérisé par la culture de jeunes plants d'espèces maraîchères dans des mini-mottes fabriquées à base d'un substrat amélioré
6. Un procédé, selon la revendication 5, susceptible d'optimiser les pratiques d'amendements de composés organiques et inorganiques réalisées au champ grâce à la composition microbiologique des mini-mottes (Ex : activité solubilisatrice de phosphates complexes exercée par le champignon saprophyte présent dans les mini-mottes)