



**HAL**  
open science

## Le Chitosane : une molécule biosourcée d'intérêt pour la protection des cultures

Craquelin Mathie, Nicolas Joly, Patrick Martin, Béatrice Randoux, Maryline Magnin-Robert

► **To cite this version:**

Craquelin Mathie, Nicolas Joly, Patrick Martin, Béatrice Randoux, Maryline Magnin-Robert. Le Chitosane : une molécule biosourcée d'intérêt pour la protection des cultures. Congrès National de la Recherche des IUT, Université de Haute-Alsace (UHA) Mulhouse - Colmar [Université de Haute-Alsace (UHA)], Mar 2024, Mulhouse, France. hal-04619739

**HAL Id: hal-04619739**

**<https://hal.science/hal-04619739v1>**

Submitted on 21 Jun 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

---

## Le Chitosane : une molécule biosourcée d'intérêt pour la protection des cultures

---

Mathie Craquelin<sup>1,2</sup>

mathie.craquelin@univ-artois.fr

Béatrice Randoux<sup>2</sup>

beatrice.randoux@univ-littoral.fr

Patrick Martin<sup>1</sup>

patrick.martin@univ-artois.fr

Maryline Magnin-Robert<sup>2</sup>

maryline.magnin-robert@univ-littoral.fr

Nicolas Joly<sup>1</sup>

nicolas.joly@univ-artois.fr

<sup>1</sup>Unité Transformations & Agroressources - ULR7519, UniLasalle, Université d'Artois, 62408 Béthune

<sup>2</sup>Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UR 4492), Université du Littoral-Côte d'Opale, CS 80699, 62228 Calais CEDEX

**Thèmes** – Chimie - Biologie - Environnement

**Résumé** – Dans un contexte de développement durable, la recherche de solutions alternatives aux pesticides est primordiale. Depuis quelques années, de nouveaux produits moins nocifs pour la santé humaine et l'environnement, et à base de molécules d'origine naturelle, apparaissent sur le marché. A ce titre, le chitosane est une molécule d'intérêt. C'est un polymère biosourcé, co-produit de l'industrie agroalimentaire. Deux caractéristiques du chitosane sont connues pour jouer un rôle sur l'activité biologique du polymère : son degré de désacétylation (DA) et son degré de polymérisation (DP). Afin de déterminer les DA et DP présentant les meilleures activités contre l'oïdium, une maladie du blé causée par le champignon *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, des modifications chimiques et enzymatiques du polymère sont proposées. Des premiers résultats encourageants démontrent une efficacité protectrice du chitosane vis-à-vis de l'oïdium du blé.

**Mots-Clés** – Chitosane, SDP, Biocontrôle, Blé, Oïdium

## 1 Introduction

La Région Hauts-de-France est l'une des principales régions productrices de blé tendre en France, mais ce blé est sujet à de nombreuses maladies comme l'oïdium qui est une maladie d'origine fongique. L'organisme qui en est responsable est un champignon biotrophe, c'est-à-dire qu'il se développe au détriment des tissus vivants de la plante hôte.

Aujourd'hui, cette maladie est traitée avec des produits phytosanitaires présentant un risque aussi bien pour l'environnement que pour la santé animale et humaine. Dans ce contexte de prise de conscience écologique et sanitaire, de nouveaux produits dits de biocontrôle sont au cœur de la recherche dans ce domaine. C'est dans cette optique que le chitosane peut être retenu comme une molécule de biocontrôle d'intérêt. Il s'agit d'un polymère composé de deux types d'unités monomériques, une désacétylée : la glucosamine ( $C_6H_{13}NO_5$ ) et une autre acétylée : la N-acétylglucosamine ( $C_8H_{15}NO_6$ ). Si on dénombre plus d'unités désacétylées qu'acétylées, alors le polymère est sous sa forme chitosane, à l'inverse, on parle de chitine. C'est une molécule biosourcée, disponible en grande quantité notamment sous sa forme chitine qui est le deuxième biopolymère le plus abondant sur Terre après la cellulose et qu'il est notamment un co-produit de l'industrie agro-alimentaire. On retrouve principalement dans la carapace des crustacés ou dans la paroi cellulaire des champignons.

L'objectif principal de cette thèse est d'étudier le chitosane et ses dérivés en tant que produits de biocontrôle chez le blé, en testant leur capacité à protéger le blé vis-à-vis de l'oïdium, puis de mettre en exergue ses propriétés biologiques pouvant être de plusieurs natures :

- Fongistatiques ou fongicides : la molécule entrave le développement du champignon,
- Stimulatrices de défense des plantes (SDP), aidant la plante à se défendre contre une agression à venir [1]. Ce potentiel effet SDP est lié au fait que le chitosane est une molécule naturellement libérée lors de l'attaque d'une plante par un agent pathogène fongique. La plante attaquée produit des enzymes qui dégradent la paroi cellulaire du champignon, libérant des fragments de chitosane qui sont reconnus par des récepteurs membranaires des cellules végétales, permettant l'activation des défenses de la plante.

## 2 Résultats

### 2.1 Effet du chitosane sur l'oïdium

Des premiers essais ont été réalisés à partir de chitosane commercial ( $M = 100 - 300$  kDa, DA = 16 %, Acros Organics). Ces essais visent à déterminer si le chitosane peut jouer un rôle protecteur chez le blé vis-à-vis de l'oïdium. Le chitosane n'étant soluble qu'en milieu acide,

il a été dissout au préalable dans une solution diluée d'acide acétique. Deux conditions contrôles sont donc indispensables : un contrôle sans traitement et un contrôle où les plantes seront traitées avec de l'acide acétique pour étudier son impact sur le développement de la maladie chez le blé. En plus des contrôles et de l'effet du chitosane dissout en milieu acide, un autre traitement a été réalisé, celui de la glucosamine (brique constitutive du polymère) en milieu acide. Pour éviter l'influence du pH, celui-ci a été régulé à 5,6 pour tous les traitements. Ces traitements ont été réalisés 2 jours avant l'inoculation par les spores de l'agent pathogène. L'évaluation des symptômes se fait par comptage du nombre moyen de pustules qui correspondent à des conidies (chaînettes de spores du champignon responsable de l'oïdium) qui se sont formées suite à l'inoculation des feuilles de blé par les spores du champignon. Le taux de protection a été calculé pour chaque condition par rapport aux plantes contrôle « sans traitement » (Figure 1).

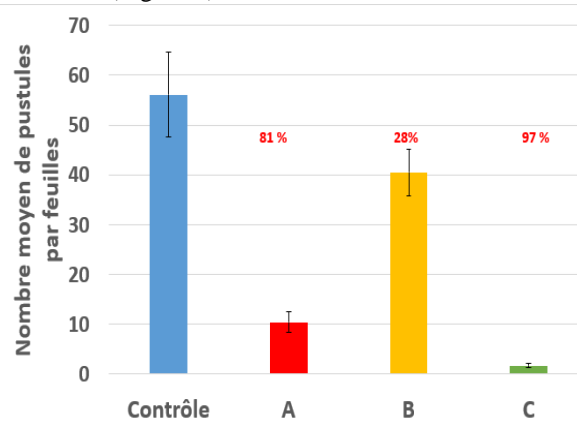


Figure 1 – Nombres de pustules selon les traitements et taux de protection (%); A : Acide acétique ; B : Glucosamine + Acide acétique ; C : Chitosane + Acide acétique

Le traitement par l'acide acétique a démontré une réduction importante du nombre de pustules ainsi qu'un taux de protection de 81 %. Sur les feuilles, cela se traduit par une diminution aussi bien du nombre de pustules mais également de la taille de celles-ci.

En revanche, la glucosamine en mélange avec l'acide acétique, conduit à un taux de protection réduit par rapport au traitement seul de l'acide, passant de 81 % à 28 %.

Enfin, le traitement avec le chitosane est celui présentant le plus haut taux de protection (97 %). Sur les feuilles, on constate la quasi-disparition des pustules (en moyenne 2 par feuille) et surtout la présence de tâches de nécrose, observées au microscope optique (Figure 2).

Au niveau des nécroses, il est possible d'observer le champignon à différents stades de croissance allant de la spore germée au développement de conidies en chaînettes, ces conidies sont des spores de multiplication directe permettant la propagation du champignon par le vent.

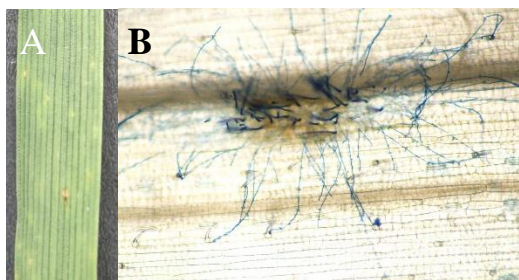


Figure 2 – Tâches nécrotiques sur blé traité par du chitosane et de l'acide acétique en présence du champignon responsable de l'oïdium ; A : Feuilles de blé avec des nécroses ; B : Nécrose avec mycélium (grossissement x10)

## 2.2 Effet direct du chitosane sur le champignon responsable de l'oïdium

Dans un second temps, l'effet fongicide ou fongistatique du chitosane sur les spores du champignon a été testé. Les mêmes traitements que précédemment ont été mélangés à de la gélose pour les différentes conditions, toujours avec un pH régulé à 5,6. Puis les spores ont été déposées à la surface. Après 24 h d'incubation, l'évolution des spores a été observée par microscopie optique. Les spores ont été classées en 5 catégories : spores non-germées, spores avec un petit Tube Germinatif Appressorial (TGA, permettant au champignon de pénétrer entre les cellules végétales), avec un long TGA, plusieurs TGA ou des TGA avortés (Figure 3).

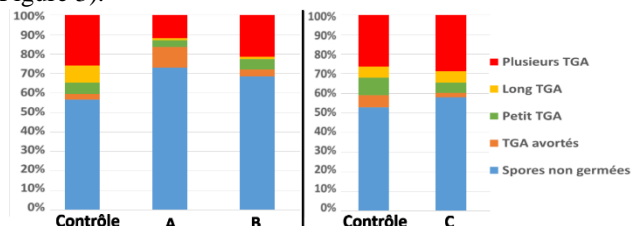


Figure 3 – Effets directs des traitements sur la germination des spores ; A : Acide acétique ; B : Glucosamine + Acide acétique ; C : Chitosane + Acide acétique

- Lors d'ajout d'acide acétique dans le milieu, on dénombre 16 % de spores supplémentaires qui n'ont pas germé par rapport à celles en condition contrôle, ainsi qu'une augmentation de 8 % des spores présentant des TGA avortés. La longueur du TGA et leur quantité sont également impactées. Une diminution d'environ 8 % du nombre de spores comportant un long TGA et de 12 % pour celles ayant plusieurs TGA sont aussi observées.

- En présence de glucosamine avec de l'acide acétique, les résultats concernant la longueur des TGA sont similaires à ceux de l'acide acétique. En revanche, il y a moins de spores avec TGA avortés et plus de spores présentant plusieurs TGA.

- En revanche, les résultats concernant le chitosane avec l'acide acétique sont similaires à ceux du contrôle. Le chitosane n'a pas d'impact sur la germination des spores du champignon.

## 3 Discussion

L'acide acétique permet de diminuer de manière significative la présence de pustules sur les feuilles ainsi que leur taille. Les effets directs ont démontré que l'acide acétique jouait un rôle sur la germination des spores, augmentant significativement le nombre de spores non-germées mais également diminuant ceux ayant un long tube germinatif. Il semble donc qu'il présente des propriétés fongistatiques directes, ce qui pourrait pour partie expliquer la diminution du nombre de pustules observées sur la plante lors des tests de protection, certaines spores n'ayant pas réussi à germer en présence d'acide acétique.

En ce qui concerne la glucosamine, les résultats peuvent s'expliquer par le fait que l'acide acétique interagit avec la fonction  $-NH_2$  de la glucosamine et donc diminue le nombre de fonction acide libre dans la solution.

Le chitosane, mélangé à l'acide acétique, ne semble pas avoir d'effet sur la germination des spores. Il ne possède donc pas d'effet antigerminatif sur les spores du champignon. La diminution des symptômes observés sur plantes traitées par le chitosane pourraient donc être liée à une réaction de défense de la plante vis-à-vis de l'agent pathogène. La présence de nécroses dans les tissus végétaux au point de pénétration du TGA des spores bloquerait la progression du champignon. En effet ce champignon est biotrophe et nécessite des tissus vivants pour se développer. La mort cellulaire engendrée par le chitosane limiterait ainsi le développement du champignon.

## 4 Conclusions

Le chitosane, appliqué de façon préventive sur des plantules de blé, pourrait donc être inducteur des défenses des plantes et posséder un rôle de SDP. Les mécanismes d'action de la molécule sur la plante sont en cours, via un suivi de l'expression de gènes marqueurs d'induction de défenses

## 5 Remerciements

Les auteurs expriment leur remerciement envers la Région Hauts-de-France, l'Université d'Artois et l'Université Littoral-Côte d'Opale pour le financement de cette thèse.

## Références

- [1] El Hadrami, Abdelbasset, et al., *Chitosan in Plant Protection*, Marine Drugs, vol. 8, n° 4, p. 968-87, 2010.
- [2] Shahrajabian, Mohamad Hesam, et al., *Sustainable Agriculture Systems in Vegetable Production Using Chitin and Chitosan as Plant Biostimulants*, Biomolecules, vol. 11, n° 6, p. 819, 2021.