



Plan Écophyto
Comité consultatif de gouvernance n°

Programme 2014

**Soutien à des projets de recherche issus de l'appel à projets
« Pour et Sur le Plan Écophyto » (PSPE)
Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle**

BIONEMATO

**Optimisation d'un bionématicide à vocation grandes cultures : cas de la culture
de plants de pomme de terre**

Numéro et libellé de l'action dans lequel s'inscrit le projet :

Axe 3 : Innover dans la conception et la mise au point des itinéraires techniques et des systèmes de cultures économes en pesticides.

Actions : ensemble des actions n° 23 à 27, 29, 31 à 33, 70, 72, 88 et 89

Pilote de l'action : MAAF/DGER/SDRCI/BFR

Description du projet :

Résumé du projet :

Dans le cadre de la lutte (prolifération et dissémination) contre les nématodes de quarantaine en culture de plants de pommes de terre, la SIPRE conduit depuis plusieurs années une sélection variétale qui vient de se concrétiser par l'inscription aux catalogues français et hollandais des deux premières variétés de pomme de terre (Stronga et Fritelle) possédant la double résistance aux nématodes à kystes, *Globodera pallida* et *Globodera rostochiensis*. Ces innovations ne peuvent néanmoins pas répondre totalement à cette problématique. Il existe plusieurs produits à effet nématicides dont certains ne sont plus homologués. Les possibilités de lutte chimique se limitent donc à 2 produits commerciaux non exempts d'impact sur l'environnement et l'homme.

En partenariat avec AgroSupDijon (ASD), la SIPRE expérimente depuis 3 ans un bionématicide qui a montré son efficacité sur plusieurs espèces de nématodes (non quarantaine). Le projet BIONEMATO a pour objectifs :

- 1/d'accroître l'efficacité du bionématicide proposé dans ce projet en associant de nouvelles molécules naturelles,
- 2/d'optimiser la rémanence du produit ainsi obtenu,
- 3/de préconcentrer les matières actives,
- 4/d'expérimenter le produit en conditions contrôlées,
- 5/d'appréhender la faisabilité économique et technique de l'exploitation industrielle du produit fini et de son autorisation de mise en marché jusqu'à la commercialisation du produit formulé à grande échelle.

1. Contexte et enjeux scientifiques

Chez la pomme de terre, on distingue 2 types de nématodes de quarantaine : les nématodes à galles et les nématodes à kystes. Les dégâts sont importants lorsque le potentiel infectieux du sol est moyen à élevé. En France, *Meloidogyne chitwoodi* et *M. fallax*, nématodes à galles, ont été détectés sur de nombreuses cultures. Ces deux espèces de nématodes parasitent un très grand nombre de plantes aussi bien les monocotylédones que les dicotylédones. Parmi celles-ci, les pommes de terre, les tomates, les scorsonères, les carottes et les composées (laitues) constituent les plus favorables.

Depuis 1998, ces deux organismes ont un statut d'organisme de quarantaine au sein de l'UE. Dans la directive 2000/29/CE (arrêté du 24 mai 2006) *M. chitwoodi* et *M. fallax* sont classés à l'annexe 1 partie A (organismes nuisibles dont l'introduction et la dissémination doivent être interdites dans tous les états membres) chapitre II (organismes nuisibles présents dans la communauté et importants pour toute la communauté). Ils sont également classés dans l'arrêté du 31 juillet 2000 modifié à l'annexe A (liste des organismes contre lesquels la lutte est obligatoire de façon permanente sur tout le territoire, dès leur apparition, quels que soient les stades de développement et/ou les végétaux sur lesquels ils sont détectés).

De même, la nouvelle directive européenne (2007/33/CE) appliquée en France depuis le 1^{er} juillet 2010 a pour but d'empêcher la dissémination des nématodes à kystes au sein de l'Union Européenne. La lutte contre *Globodera pallida* et *Globodera rostochiensis*, nématodes à kystes spécifiques de la pomme de terre est devenue obligatoire. Elle a pour but de déterminer leur extension, d'essayer de les éradiquer et d'empêcher leur propagation. En conséquence chaque parcelle destinée à la multiplication de plant doit être analysée pour vérifier l'absence de kyste de *Globodera* et de larves de *Meloidogyne*. S'il y a présence d'un kyste dans la parcelle, celle-ci est signalée et aucune culture à racine ne pourra y être cultivée pendant 5 ans. S'il y a présence de larves de *Meloidogyne*, la parcelle est consignée sous forme de jachère noire pendant 2 ans (absence totale de toutes cultures) puis passera en jachère verte pendant 3 ans (possibilité de cultiver des céréales notamment). Passé les 5 ans de consignation, des prélèvements sont effectués pour vérifier l'absence de tout organisme de quarantaine. Si l'absence est validée, la production pourra être relancée. Dans le cas contraire, la parcelle est de nouveau consignée pour une durée de 5 ans. Les conséquences économiques sont donc colossales pour le producteur.

Il existe peu de solutions nématicides de synthèse et celles-ci ne sont pas sans impact sur l'environnement.

Les enjeux scientifiques du projet sont d'utiliser et de combiner des extraits végétaux présentant des effets nématicides et némostatique, de concentrer les molécules d'intérêt de ces extraits via le développement d'une nouvelle technologie de piégeage sélectif afin d'en améliorer l'efficacité et la rémanence.

2. Objectifs du projet

Le premier objectif est d'accroître l'efficacité du bionématicide en associant de nouvelles molécules naturelles nématicides en parallèle avec une rémanence adaptée à la durée de la culture. Cette dernière constitue le second objectif d'optimisation par utilisation de microparticules de biocarbone expansé chargées en matières actives naturelles et relarguant progressivement celles-ci dans le sol. Enfin, le troisième objectif consiste en la mise au point de MIPs (Molecular Imprinted Polymer) permettant la pré-concentration des matières actives rendant ainsi la lutte plus spécifique en enrichissant le bionématicide en molécules d'intérêt.

Pour pouvoir réaliser les travaux expérimentaux d'efficacité, la SIPRE s'est dotée d'un bâtiment (laboratoires, serres et phytotrons) de confinement de niveau 3 permettant la détention et la manipulation d'organismes de quarantaine. Cet outil de travail résulte de la volonté des 450 producteurs du Comité Nord Plants de Pommes de Terre de la région Nord (CNPPT) de trouver des solutions à la problématique des nématodes de quarantaine de plus en plus préoccupante (*Méloïdogyne chitwoodi* et *fallax*). Ces équipements permettront d'expérimenter les produits bionématicides décrits ci-dessus sur pomme de terre et autres cultures.

Le quatrième et dernier objectif s'effectuera en partenariat avec la société Syngenta France. Cet objectif permettra d'appréhender au mieux la faisabilité économique et technique de l'exploitation industrielle du produit fini, de son autorisation de mise en marché jusqu'à la commercialisation du produit formulé à grande échelle.

3. Originalité et caractère novateur du projet

Le projet s'appuie dans un premier temps sur l'efficacité nématocide reconnue de molécules naturelles comme les glucosinolates des crucifères. Leur caractère plus ou moins volatil en fait de bonnes molécules pour la biofumigation mais cette propriété diminue leur efficacité dans le temps même si les glucosinolates ajoutés (GLN et GLP) à radical phényle ou benzyle apportent de la rémanence. Pour augmenter celle-ci, l'utilisation en synergie d'autres molécules bionématicides et peu volatiles a été développée. L'originalité de notre démarche est donc d'allier :

- des matières premières de concentration connue avec peu de variabilité. La poudre de graines de moutarde relargue ainsi les isothiocyanates (ITC) dès que le milieu est favorable (humidité) à l'hydrolyse enzymatique. Cette humidité du sol est aussi le facteur qui déclenche la reproduction et les agressions des nématodes synchronisant ainsi l'activité du produit et le cycle biologique des ravageurs.

- une plus grande variété de molécules naturelles candidates (autres que les glucosinolates) déjà testées *in vitro* et efficaces en association. Ces molécules sont issues d'autres espèces végétales.

- une rémanence accrue par la fixation des composés sur micro-granules de biocarbone expansé accessible à l'enzyme thioglucosidase (myrosinase) et de grande surface spécifique. Ce défi pour une rémanence accrue s'appuiera aussi sur une meilleure spécificité des molécules.

- l'utilisation de MIPs permettra aussi de répondre à ce problème. Les MIPs sont des matériaux renfermant des cavités spécifiques à l'image d'une molécule empreinte et de ses analogues structuraux. Ces polymères peuvent être obtenus en particulier à partir de silicates ce qui permettrait de piéger et concentrer les molécules actives des extraits les rendant ainsi plus spécifiques.

4. Intérêt pour le plan Écophyto

Les recherches devraient permettre d'optimiser le bionématicide assurant ainsi la diminution de la part d'intrants de synthèse consacrés à des ravageurs de quarantaine en constante augmentation. Outre le caractère naturel des matières actives, il possède un pouvoir nématocide en plus d'être némostatique. Les deux produits de synthèse actuellement utilisés (Nemathorin et Vydate) ne sont applicables que tous les 3 ans et sur sol non drainé alors que le bionématicide pourrait être appliqué chaque année faisant ainsi baisser graduellement la charge en organismes de quarantaine. Les deux produits de synthèse sont classés comme toxiques pour l'homme et très toxiques pour les écosystèmes aquatiques alors que le bionématicide a pour matières actives des molécules également utilisées en industries agro-alimentaires et en cosmétique. Ceci permettra d'obtenir une analyse des risques toxicologiques simplifiée lors de la demande d'AMM. Quant au support de piégeage/relargage de ces molécules, il est constitué actuellement de biocarbone expansé sous forme de microparticules. La pré-concentration des matières actives biologiques par les microparticules à empreintes moléculaires polymérisées (MIP) inoffensifs pour l'environnement assurera une meilleure spécificité et surtout une meilleure régularité de la rémanence. Celle-ci

devrait être augmentée significativement assurant ainsi une meilleure couverture de la saison végétative. Le bionématicide doit offrir dans les années à venir une alternative ou un complément biologique aux nématicides de synthèse. Si l'objet de l'étude concerne la pomme de terre, d'autres cultures comme la betterave sucrière peuvent être concernées par le développement de ce bionématicide.

5. Structuration du projet et méthodologie mise en œuvre

Les quatre volets de ce programme s'articulent globalement suivant une progression amont-aval avec en amont la synthèse des polymères suivie par la formulation et production, l'expérimentation en serres et enfin la faisabilité de sa mise en marché (homologation, expérimentations au champ, production à grande échelle...). Cependant, pour éviter les attentes de résultats en vue de poursuivre, plusieurs opérations seront menées simultanément.

- **ASD PhysicoChimie**

Synthèse des polymères à empreintes moléculaires

Nous proposons de synthétiser différents polymères (MIP) en utilisant comme molécules empreintes spécifiques les glucosinolates. L'effet de plusieurs paramètres sera étudié : la nature et la quantité du solvant de polymérisation, de l'agent réticulant ainsi que le mode de polymérisation.

- **ASD Agrochimie**

Formulation, production

Cette partie est à l'interface entre la synthèse physico-chimique et la partie expérimentation. Elle bénéficie de plus de trois années d'expériences en ce qui concerne le choix des matières premières, leur extraction pour certaines, la fixation sur biocarbone et le contrôle qualité. Les cultivars de moutardes noire et brune sont sélectionnés pour leur forte teneur en glucosinolates. La poudre obtenue par broyage constitue la principale source de myrosinase, enzyme indispensable à l'hydrolyse des glucosinolates (sinigrine essentiellement). Pour améliorer la fumigation et sa rémanence, des extraits déshydratés d'autres crucifères, obtenus à partir de plantes brutes sont ajoutés à la composition. Le même procédé est appliqué aux plants de tagetes.

Enfin, une partie de cette production est solubilisée, fixée sous vide sur biocarbone et enfin déshydratée.

La formulation consiste à mélanger de façon homogène et en équilibrant la teneur des différentes molécules. Cet assemblage nécessite une analyse du taux de matières actives.

Ce contrôle qualité se fait par HPLC suivant la norme en vigueur sur le dosage des glucosinolates ou les techniques afférentes aux autres composés.

- **SIPRE**

Expérimentations

La SIPRE a pour objectif de comparer l'efficacité des différentes formulations proposées par ASD avec les produits de synthèse actuellement utilisés. La mise en place des pathosystèmes pour tester l'efficacité des différents produits sera basée sur les protocoles utilisés pour l'étude de la résistance des variétés de pommes de terre. Les analyses réalisées seront basées sur les protocoles des méthodes officielles.

- **Syngenta France**

Faisabilité technique et économique

Cette partie sera menée de manière longitudinale au cours du projet via l'expérience de Syngenta France sur les différentes phases du cycle de vie d'un produit phytopharmaceutique. Ainsi, il sera étudié les modalités d'obtention de l'autorisation de mise en marché du produit final et ainsi garantir les exigences en terme réglementaire. Au travers de ses réseaux d'expérimentation, Syngenta pourra sous réserve d'obtention du permis d'expérimenter, mener les essais d'efficacité et

de sélectivité nécessaires à la validation plein champ des résultats obtenus en conditions contrôlées. Le cas échéant, d'autres cultures pourront être intégrées au criblage notamment les betteraves.

Il sera également apporté un soutien sur le travail de formulation du produit fini et sur la faisabilité technique de l'utilisation finale du produit formulé avec le parc agricole existant. Enfin, la faisabilité de production industrielle à grande échelle sera questionnée notamment sur l'utilisation des MIPs et la pré-concentration en glucosinolates rémanents dans le produit final.

6. Résultats et livrables attendus. Valorisation au bénéfice du plan Écophyto

Année 2014 : Pour anticiper ce projet, la formulation et la production du bionématicide sera disponible fin 2014. De même des élevages de nématodes ont été mis en place pour ce projet et seront maintenus tout au long du projet.

Année 2015 : tests en serres en 2015 pour vérifier si l'efficacité et la rémanence ont été renforcées dans la nouvelle composition. Parallèlement, la synthèse des MIPs débutera en début d'année. Fin 2015, nous devrions savoir si la synthèse des MIPs est effective et connaître le taux d'efficacité de la formulation ainsi que sa rémanence. Ces deux résultats entraîneront une nouvelle formulation et la caractérisation des MIPs.

Année 2016 : la caractérisation des MIPs sera suivie par la première phase d'extraction, elle-même suivie de la préconcentration et du contrôle qualité de l'extrait. La nouvelle formulation sera de nouveau testée en serres pour caler la composition définitive à soumettre au rééquilibrage par l'intermédiaire des MIPs en fin d'année 2016. A cette date, la validation de la préconcentration sera effectuée et la base de la formulation définitive sera connue. Le process de fabrication, l'étude de validation industrielle pourra ainsi démarrer.

Année 2017 : le produit enrichi sera enfin testé sous sa forme définitive, sa rémanence sera évaluée. Des ajustements de concentration peuvent être à prévoir et dépendront de la souplesse d'utilisation des MIPs. Cet élément fera partie d'une étude de brevetabilité en cas de succès.

Le volet 'faisabilité technique et économique' sera mené de manière longitudinale au cours du projet via l'expérience de Syngenta France sur les différentes phases du cycle de vie d'un produit phytopharmaceutique.

Notre projet est d'aboutir à un bionématicide permettant de réguler au mieux les nématodes, ravageurs de la pomme de terre. Il s'agit donc d'apporter une solution de substitution ou de complément aux pesticides de synthèse et à la gestion des itinéraires culturaux. Dans un deuxième temps, l'effet nématocide sera aussi testé sur d'autres nématodes parasites de grandes cultures (betterave par exemple) ou de serres (tomates, laitues...).

7. Partenaires, compétences et moyens humains

<i>Partenaire</i>	<i>Nom Prénom</i>	<i>Emploi actuel</i>	<i>Discipline</i>	<i>Personne mois/an</i>	<i>Rôle/Responsabilité dans le projet</i>
SIPRE	Gobert Deveaux Virginie	Directrice R et D	Management Projet	0,3	Coordination du projet
	Beury Amélie	Ingénieur de Recherche	Phytopathologie	1,3	Evaluation de l'efficacité du bionématicide. Tests en serres, analyses nématologiques.
	Dewaegeneire Pauline	Ingénieur d'Etudes		2	
	Dupré David	Technicien Expérimentations		1	
	A recruter	Technicien Recherche		4	
AgroSupDijon (ASD) PhysicoChimie	Cayot Philippe	Professeur	Physico-Chimie	1	Synthèse et caractérisation des MIP Tests d'efficacité
	Bou-Marroun Elias	Maître de Conférences		2	
	Lafarge Céline	Ingénieur de Recherche		1	
AgroSupDijon (ASD) AgroChimie	Alcaraz Gérard	Professeur	Agronomie, Protection des cultures, biochimie	3 (2015) suivi en 2016 et 2017	Formulation et production du bionématicide, contrôle qualité et rémanence des produits
SYNGENTA	Thomas Gérard	Directeur Technique	Management projet	6 jours	Coordination du projet
	De Bastard Laure	Responsable Homologations,	Réglementation Fr et EU	20 jours	Cahier des charges homologation
	Bouriot Laurent	Contrôleur finances	Finances	3 jours	Validation analyse financière

Echéancier de l'action de recherche :

Date de démarrage : après notification de la convention par l'ONEMA

Durée prévisionnelle de l'action : 36 mois

Points d'étape : Bilan mi-parcours

Modalités de compte rendu sur l'avancée de l'action :

Livrables attendus :

Rapport mi-parcours

Rapport final

Séminaire mi-parcours et colloque de restitution « Écophyto recherche », organisé par la DGER.

Ces rapports ainsi que toute valorisation du projet seront accessibles librement sur le site internet EcoPhytoPIC.

Structure responsable de la validation :

La direction pilote de l'axe 3 du plan Écophyto.

Bénéficiaire de la convention avec l'ONEMA :

Organisme porteur du projet :

SIPRE (Semences Innovation Protection Recherche Environnement)

Rue des Champs Potez

62217 ACHICOURT

Coordinateur scientifique : Dr. Virginie Gobert Deveaux

Email : virginie.deveaux@comitenord-sipre.fr

Tel : 03 21 60 46 68 / 06 78 52 65 02

Plan de financement :

Coût total prévisionnel (TTC)	323 223 €
Montant de l'assiette subventionnable	205 123 €
Montant demandé pour attribution de la redevance	103 486 €
Avis du Conseil Consultatif de Gouvernance	€
Montant proposé pour attribution de la redevance	€