

Des micro-organismes pour protéger les cultures

À l'image de la production agricole dans l'Union Européenne dont la valeur a augmenté de 7,3 % en 2011, l'industrie agricole mondiale est en plein essor. Le défi qui consistera à nourrir bientôt 9 milliards d'êtres humains doit être prochainement relevé. Dans ce contexte, une des préoccupations majeures est de préserver les capacités de production tout en recherchant de nouvelles méthodes de protection des cultures qui préservent l'environnement. L'utilisation de micro-organismes est une des pistes plausibles.

© PHOTOTAKE/KUNKEL/BSIP

Le secteur de l'agriculture est engagé dans une phase de transition cruciale menant à l'intégration progressive de nouvelles pratiques tenant compte non seulement de la dimension environnementale, mais aussi de la dimension socio-économique. La lutte biologique, ou biocontrôle, par utilisation de micro-organismes est une voie possible pour minimiser la pollution associée à l'utilisation de produits chimiques de synthèse et réduire fortement leur impact négatif environnemental.

Le concept de biocontrôle est devenu un enjeu technologique, économique et politique important pour développer une agriculture durable à un moindre coût écologique. À titre d'exemple, les Pays-Bas ont mis en place, dès 1990, le *Multi-Year Crop Protection Plan* qui prévoyait une réduction de l'ordre de 50 % de l'utilisation de pesticides en l'an 2000. Au Canada, des objectifs similaires ont été émis par l'Ontario qui a investi plusieurs millions de dollars pour concrétiser un plan de réduction des produits chimiques phytosanitaires. En France, le plan

Ecophyto 2018 prévoit également une réduction de plus de 50 % des intrants chimiques d'ici cinq ans. Ces mesures illustrent, sans équivoque, une prise de conscience majeure face à l'accumulation de résidus toxiques dans l'environnement et dans tous les maillons de la chaîne alimentaire. Elles indiquent aussi le manque d'alternatives propres à réduire la dépendance du secteur agricole envers les pesticides. Ces alternatives, regroupées sous le vocable générique de « biopesticides », tardent, en effet, à s'implanter fortement sur le marché et sont souvent l'objet de débats, tant sur leur taux de réussite jugé insuffisant qu'en raison des risques biologiques supposés par l'introduction de micro-organismes vivants dans l'environnement.

UN CONCEPT, INITIALEMENT FONDE SUR L'ANTAGONISME

Depuis les premières homologations par l'Environmental Protection Agency américaine, en 1979, pour la bactérie *Agrobacterium radio-*

bacter K84 et pour le champignon *Trichoderma harzianum*, en 1989, plus de 50 micro-organismes – 32 bactéries et 22 champignons et levures – ont été validés. Citons *Coniothyrium minitans*, *Pseudozyma flocculosa* ou *T. harzianum* qui exercent des propriétés antifongiques, les mycoherbicides *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* et *Alternaria destruens*, le nématicide *Paeclomyces lilacinus*, ou encore les entomopathogènes *Verticillium WCS* et *Beauveria bassiana*.

La mise sur le marché d'agents de lutte biologique à base de micro-organismes dans l'Union européenne (UE) a évolué plus lentement et ce n'est qu'en 2007 qu'un regain d'intérêt a vu le jour. Alors que cette année-là, seuls trois champignons étaient inscrits en tant que matière active, on en compte plus d'une trentaine aujourd'hui ayant, pour la plupart, des propriétés antifongiques. Il convient cependant de signaler qu'une substance active inscrite ne signifie pas forcément qu'il existe une préparation commerciale homologuée par l'UE. Ainsi,

Les auteurs

Jonathan Gerbore^{*,****},
Amina Yacoub^{*},
Nicole Benhamou[§],
Essaid Ait Barka^{§§},
Florence Fontaine^{§§} et
Patrice Rey^{**}

* Centre de recherches Inra de Bordeaux-Aquitaine,
** Université de Bordeaux, Institut des sciences de la vigne et du vin, UMR 1065 Santé et agro-écologie du vignoble, Villenave d'Ornon

*** Biovitis, Saint-Étienne-de-Chomeil
§ Centre de recherche en horticulture, Pavillon de l'Environnement, Université Laval, Québec, Canada

§§ Université de Reims Champagne Ardenne, UR Vignes et vins de Champagne, EA 4707 Laboratoire Stress, défenses et reproduction des plantes, Reims

en France, seuls 9 champignons et 7 bactéries possèdent une autorisation de mise sur le marché en tant que biopesticide. Force est donc de constater que le nombre de produits de lutte biologique commercialisés en Europe est nettement plus restreint qu'aux États-Unis. Comment expliquer une telle différence ? Si sur les deux continents, le processus d'homologation d'un micro-organisme inclut des exigences communes, comme l'identification et la caractérisation de la substance active, la compréhension de son activité biologique et la démonstration de son innocuité envers la santé humaine et l'environnement, d'autres critères contraignants sont exigés par les agences de réglementation européennes. L'efficacité du produit formulé sur différentes cultures et dans différentes zones géographiques, par exemple, est un des critères les plus importants en vue d'une homologation. Plusieurs candidats potentiels peuvent dès lors être éliminés car ils ne répondent pas à ce critère de manière satisfaisante. Malgré toutes ces contraintes, la lutte biologique à l'aide de micro-organismes, d'abord ressentie comme une contrainte économique par les producteurs, gagne du terrain et suscite un intérêt croissant.

DES AVANTAGES... ET DES INCONVÉNIENTS

Le biocontrôle des agents phytopathogènes via l'utilisation de micro-organismes présente des avantages mais aussi certaines limites. La question de leur innocuité pour l'environnement ne se pose généralement pas, ces micro-organismes n'occasionnant que rarement des dommages, mais peut être complexe, comme le montrent les deux exemples suivants. Le champignon *C. minitans* a une toxicité aiguë très faible et n'est ni mutagène, ni carcinogène, ni tératogène. Ces propriétés le dispensent donc de classement toxicologique. Au niveau écotoxicologique, il présente une faible toxicité contre plusieurs organismes aquatiques et n'a pas d'effet sur la faune du sol ou les abeilles. La souche *P. flocculosa* PF-A22 UL peut, quant à elle, causer des irritations au niveau des yeux et une gêne au niveau pulmonaire chez les animaux. Lors du dossier

d'homologation de ce champignon, la société commercialisant ce produit a dû réaliser des études complémentaires afin de satisfaire aux exigences d'innocuité du champignon sur les poumons de l'homme. Il est aussi important de rappeler que tous les micro-organismes sont potentiellement allergènes. Au final, même si un agent de biocontrôle est un micro-organisme naturel, son innocuité sur les organismes non ciblés doit être systématiquement vérifiée.

Il existe d'autres limites au biocontrôle. Une des plus importantes est liée à la persistance du micro-organisme sur la plante, qui peut être responsable de la grande variation des niveaux de protection obtenus selon les plantes et les zones géographiques. Si un agent ne s'adapte pas à un environnement, c'est-à-dire s'il ne colonise pas et ne persiste pas sur la plante, la protection ne sera, dans ce cas, pas effective. Pour résoudre ce problème, certains chercheurs conseillent d'isoler des bactéries ou des champignons à partir du végétal et de l'écosystème qu'ils souhaitent protéger (1). Pour la même culture, les résultats de protection peuvent aussi varier d'une année à l'autre. Ce phénomène est, là encore, souvent imputé à la non persistance du micro-organisme sur la plante. Certaines souches restent actives sur de larges gammes de températures et/ou de stress hydriques, d'autres perdent toute efficacité. Une bonne connaissance du cycle biologique du micro-organisme ainsi que des facteurs favorisant sa persistance sur le végétal, permettra de résoudre ce problème.

BIOLOGIE ET CHIMIE SONT-ELLES COMPATIBLES ?

L'idée que les luttes biologique et chimique s'opposent est présente dans de nombreux esprits. Les deux méthodes peuvent pourtant être employées et même combinées dans les mêmes itinéraires techniques pour protéger les cultures. En fait, ces deux méthodes sont difficilement comparables. Pour mémoire, la matière active d'un pesticide est une molécule chimique, tandis que pour un agent de biocontrôle, c'est un micro-organisme. Une bactérie

ou un champignon sont des organismes vivants avec des spécificités et des potentialités qu'une molécule chimique classique n'a pas. Ils ne peuvent donc pas être vendus comme un produit phytosanitaire classique. Une action immédiate est recherchée avec les pesticides alors qu'avec les agents de biocontrôle, l'objectif est plus subtil. Son action bénéfique et durable peut être observée après plusieurs applications sur une période de temps plus ou moins longue, le micro-organisme établissant alors des relations dynamiques avec son environnement.

L'utilisation d'un micro-organisme vivant comme biopesticide nécessite une approche globale prenant en considération la complexité des interactions existant au sein de l'agrosystème (figure ci-contre). Dans le cas de son introduction au niveau des racines d'une plante, par exemple, pour s'implanter dans cet écosystème, le micro-organisme doit s'adapter au type de sol dans lequel il est introduit, interagir avec la microflore, l'agent pathogène cible et le végétal. Il peut alors agir, selon les mécanismes mis en jeu, de différentes manières : soit directement sur l'agent pathogène, via une action de mycoparasitisme et/ou d'antibiose et/ou par compétition nutritive, soit indirectement contre la maladie, en stimulant les systèmes de défenses de la plante (induction de résistance).

AMÉLIORER L'EFFICACITÉ ET LA DURABILITÉ DE LA LUTTE BIOLOGIQUE

Améliorer l'efficacité d'une approche de lutte biologique et en réduire sa variabilité est un défi auquel sont confrontés de nombreux chercheurs de par le monde. Plusieurs solutions ont été proposées mais quatre d'entre elles retiennent particulièrement l'attention.

La première concerne l'utilisation de mélanges de souches d'une même espèce. Elle a notamment été utilisée avec l'agent de biocontrôle *Pythium oligandrum*. Une équipe regroupant des chercheurs de l'Université européenne de Bretagne, de l'Université de Brest, de l'Eastern Cereal and Oilseed Research Centre, au Canada, et de l'Inra de Bordeaux

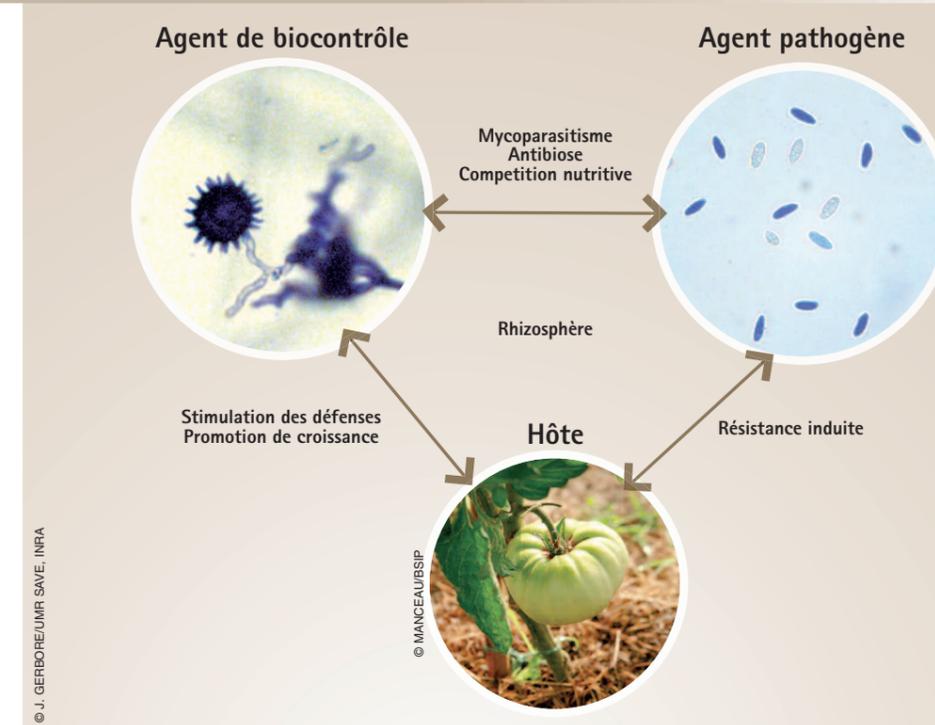
a réalisé un essai portant sur la sélection de trois souches de cet oomycète*1 selon trois critères : la production d'oospores – l'organe de conservation de l'oomycète –, de tryptamine – un dérivé auxinique*2 dont la synthèse par *P. oligandrum* stimule la croissance de jeunes plants de tomate – et d'oligandrine – une glycoprotéine qui stimule les mécanismes de défenses de la plante (2). L'inoculation d'un mélange des trois souches dans la rhizosphère de plants de tomate sous serre a permis une bonne colonisation et la persistance des trois souches au niveau des racines (rhizosphère) durant toute la période culturale, soit sept mois.

Une seconde stratégie consiste à combiner différentes espèces ayant des modes d'actions différents, chacune apportant ses propriétés. Cette approche a, par exemple, été évaluée en combinant trois agents de biocontrôle : *P. oligandrum*, *T. harzianum* et *Fusarium oxysporum*. En confrontation *in vitro*, ces micro-organismes se parasitent l'un l'autre, mais appliqués dans la rhizosphère, ils persistent car leurs niches écologiques sont différentes. Dans ce cas, en termes de protection, aucun effet additif n'a été observé, mais plutôt un effet relais (3). Une équipe de chercheurs chinois et britanniques a élaboré des modèles afin de déterminer la stratégie de biocontrôle la plus efficace et ainsi comparer l'utilisation de ces micro-organismes seule ou combinés (4). Selon leurs modèles, un agent ayant un seul mode d'action serait moins efficace pour diminuer l'incidence d'une maladie qu'un homologue en combinant plusieurs. La combinaison de deux micro-organismes ayant des modes d'actions différents serait dès lors moins efficace que l'application d'un seul agent possédant les deux modes.

Une bonne connaissance des propriétés biologiques d'un micro-organisme permet également d'augmenter les niveaux d'efficacité. Par exemple, lorsque le mode

*1 Phylum intermédiaire entre algues et champignons

*2 L'auxine est une hormone de croissance des végétaux, produite aussi par plusieurs micro-organismes



d'action principal est la compétition nutritive, un certain ratio antagoniste/pathogène doit être respecté afin d'obtenir une protection élevée. Dans le cas où le mode d'action est l'antibiose, il est important de considérer que la production d'antibiotiques est généralement faible et que leur diffusion se fait sur une courte distance autour du micro-organisme. Enfin, une solution réside dans la multiplication du nombre d'applications pour favoriser l'implantation de l'agent de biocontrôle. Le coût engendré peut cependant rapidement devenir exorbitant. Pour contourner le problème, des chercheurs ont mis au point l'EcoSoil Systems BioJect, un appareil qui injecte régulièrement le micro-organisme *Pseudomonas putida* dans le sol (5). Un procédé économiquement viable d'après ses créateurs.

QUEL IMPACT ET QUELLES PERSPECTIVES ?

Les systèmes d'homologation mis en place par les agences de réglementation ont souvent généré des contraintes qui font que le marché des agents de biocontrôle tarde à s'imposer. Parce que les agents de lutte biologique sont des organismes vivants dont la croissance est étroitement liée à une variété de paramètres biologiques et physico-chimiques (température, humidité, pH du

sol...), il est impensable que de tels agents puissent être fonctionnels dans toutes les conditions, sur toutes les cultures et dans tous les systèmes agricoles comme peuvent l'être certains fongicides systémiques. Une telle spécificité d'action limite d'autant les possibilités d'extension des marchés potentiels en phytoprotection. C'est la raison pour laquelle une plus grande attention est accordée aujourd'hui aux stratégies d'amélioration de l'efficacité des agents existants. De telles stratégies, plus généralistes, doivent cependant tenir compte de la diversité biologique, considérée comme un critère essentiel de la stabilité des agroécosystèmes.

Malgré les progrès remarquables accomplis ces dernières années, bon nombre de questions restent encore à élucider avant d'aboutir à une généralisation du biocontrôle en agriculture. L'effort commun des intervenants du secteur agricole (scientifiques, gouvernements, entreprises) rappelle que relever le défi de protéger les plantes cultivées contre leurs bioagresseurs, tout en préservant le patrimoine environnemental, nécessite non seulement de renforcer les approches pluridisciplinaires visant le développement de méthodes biologiques fiables, durables, et rentables, mais aussi de promouvoir un changement radical dans les pratiques culturales traditionnelles. ■

Interaction du micro-organisme de biocontrôle avec la plante qu'il doit protéger dans le cadre d'une introduction au niveau des racines.

(1) Vallance J et al. (2011) *Agron Sustain Dev* 31, 191-203

(2) Vallance J et al. (2009) *Appl Environ Microbiol* 75, 4790-800

(3) Le Floch G et al. (2006) *Phytopathology* 96, S65

(4) Xu XM et al. (2011) *Phytopathology* 101, 1024-31

(5) Steddom K et al. (2002) *Phytopathology* 92, 850-6