

Ctifl



# Expérimentation sur les PNPP

## *Arboriculture fruitière*

Anne DUVAL-CHABOUSSOU

# Déroulé

- Contexte
- Objectifs
- Travaux d'expérimentation sur les PNPP
  - Cadre d'étude
  - Méthodologie et résultats
    - I. Identification du mode d'extraction optimal «à la ferme »
    - II. Résultats d'essais sur la tavelure du pommier
    - III. Résultats d'essais sur l'hoplocampe du pommier
- Conclusion et perspectives



# Contexte



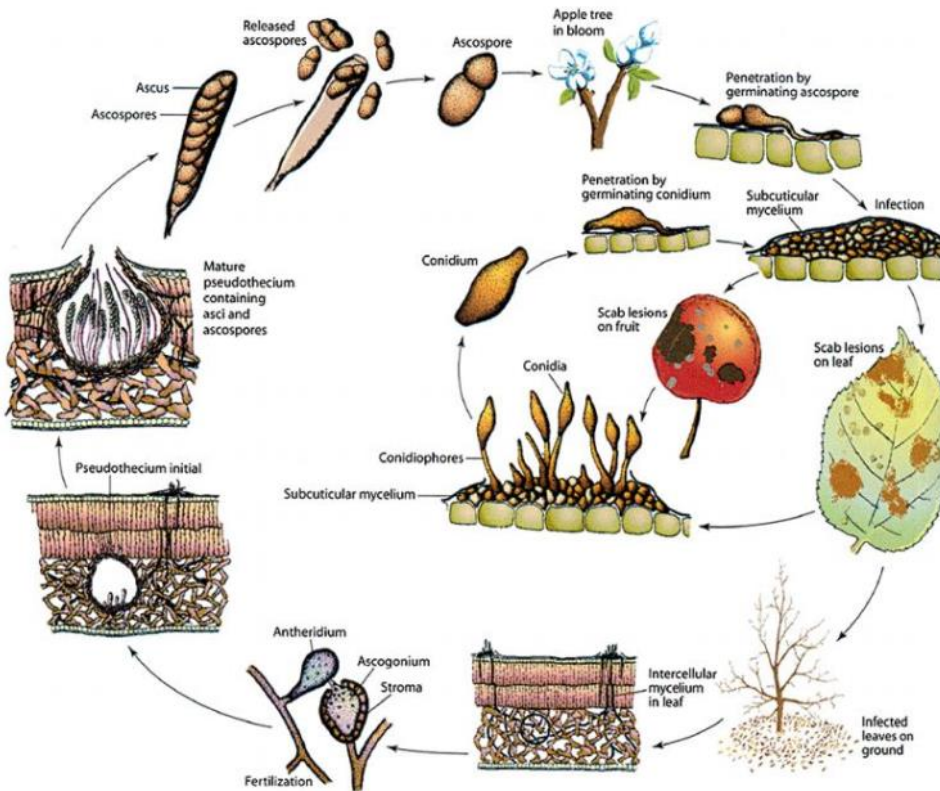
- 🍏 Station d'études et d'expérimentations de la Morinière:
  - 🍏 32 ha de verger (pommes, poires, petits fruits)
- 🍏 21 ETP
- 🍏 Pomme: 1<sup>er</sup> fruit consommé et cultivé en France
- 🍏 Centre Val-de-Loire: 2<sup>ème</sup> bassin de production



# Contexte

🍏 Bioagresseurs majeurs du pommier:

🍏 **Tavelure**



Cycle de vie de *Venturia inaequalis* (tiré de Bowen et al., 2011)

[http://dumas.ccsd.cnrs.fr/docs/00/90/64/38/PDF/Poisson\\_Anne-Sophie\\_Analyse\\_genes\\_pommier\\_Venturia\\_inaequalis\\_.pdf](http://dumas.ccsd.cnrs.fr/docs/00/90/64/38/PDF/Poisson_Anne-Sophie_Analyse_genes_pommier_Venturia_inaequalis_.pdf)



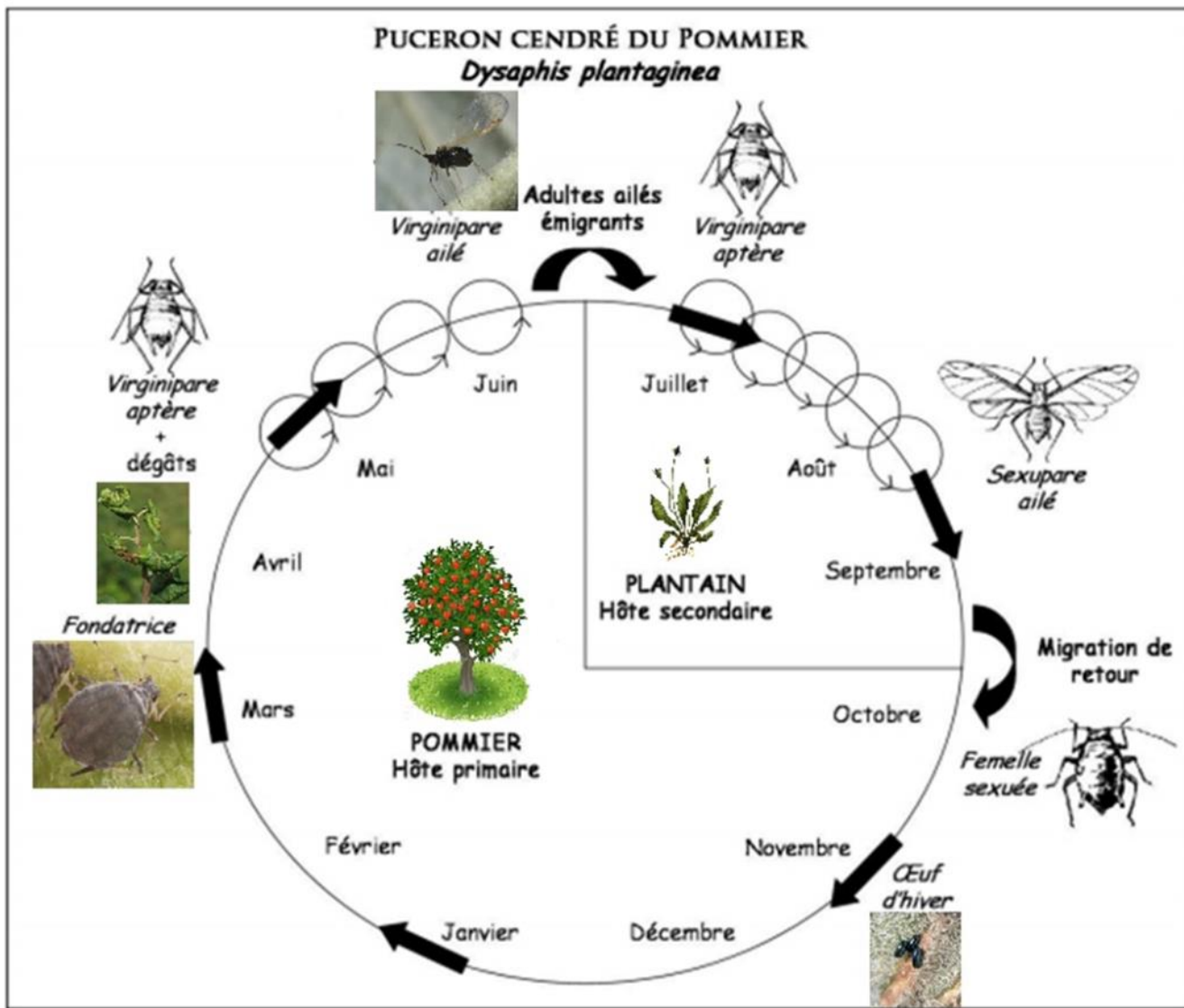
Tache de tavelure sur feuilles  
Source: CTIFL/La morinière



Tache de tavelure sur fruits  
Source: CTIFL/La morinière

→ **20 traitements** en moyenne contre la tavelure en Centre Val de Loire (Agreste, 2015)

# Contexte



Colonie de pucerons cendrés sur feuille de pommiers



Fruits déformés et de petite taille dûs au puceron cendré  
Source: CTIFL/La morinière

→ Insecticides (AB et PFI) remis en questions



# Contexte

🍏 Bioagresseurs mineur du pommier:

🍏 Tavelure

🍏 Pucerons cendrés

🍏 **Hoplocampe**

*Ponte des adultes  
lors de la floraison*



*Dégâts primaires  
(source : Inra)*



*Dégâts  
secondaires*



*Diapause – 9 à 21  
mois*

→ Pas de produit  
homologué en AB  
(Success 4 en  
dérogation)

# Objectifs

- ✓ Recherche croissante de solutions alternatives à l'utilisation de pesticides dans la protection des cultures: biocontrôle et PNPP
- ✓ Demande des familles professionnelles CTIFL d'évaluer les substances naturelles et en particulier les PNPP
  1. Evaluation de produits PNPP commercialisés
  2. Evaluation de produits fabriqués « à la ferme »

# Travaux d'expérimentation sur les PNPP

- Cadre d'étude
- Méthodologie
- Résultats
- Bilan





# Cadre d'étude des PNPP

## *Extraits végétaux*

### 1. Plantes ou parties de plantes:

1. Substances de base
2. Substances Naturelles A Usages Biostimulants
3. Parties alimentaires de plantes
4. Substances ayant un potentiel d'inscription dans l'une des catégories

→ Armoise, absinthe, rue, tabac... proscrites

### 2. Solvant: eau et alcool

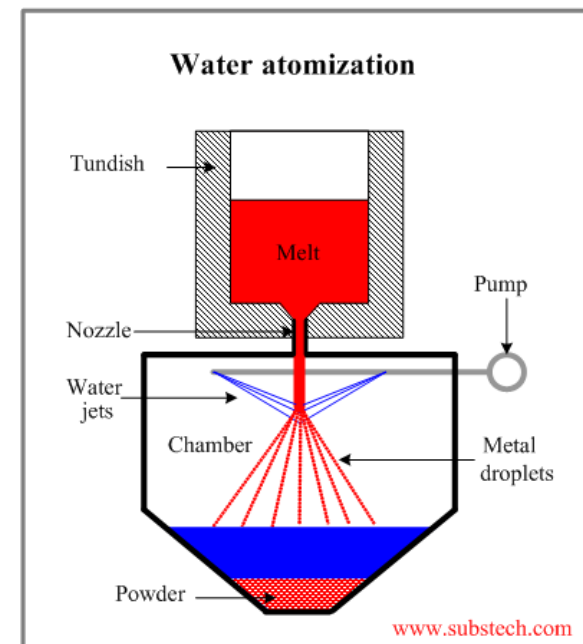
→ Méthanol, hexane... proscrits

# Cadre d'étude des PNPP

## *Extraits végétaux*

3. Modes d'extraction définis : infusion, décoction, macération à froid, extrait fermenté, huiles essentielles

Procédés : centrifugation,  
atomisation, lyophilisation ...  
« accessible par tout utilisateur  
final »



# Cadre d'étude des PNPP

## Extraits végétaux

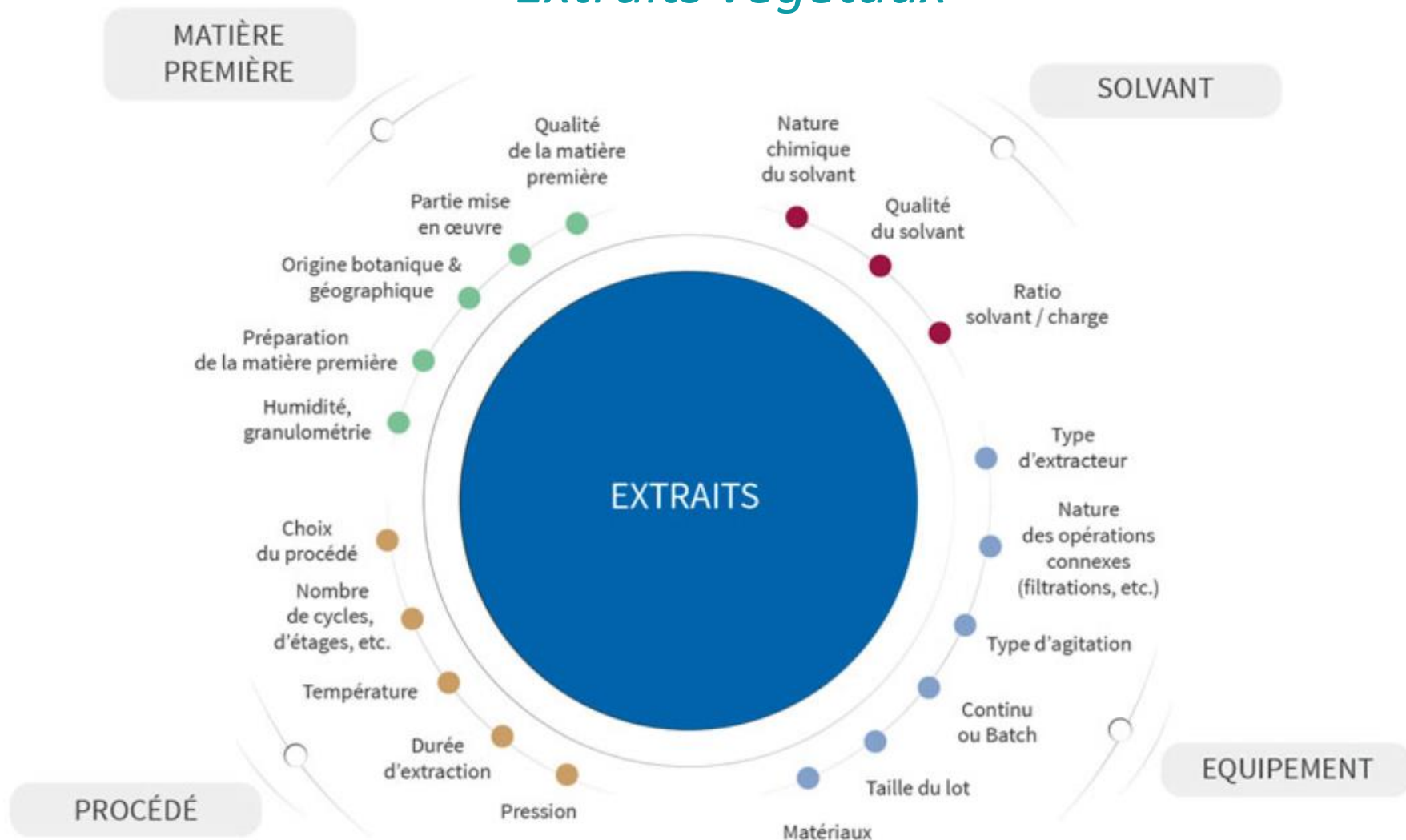


Schéma des paramètres influençant la qualité des extraits – Source: [www.berkem.com](http://www.berkem.com)

# Cadre d'étude des PNPP

## *Extraits végétaux*

- Matière première et solvant



# Cadre d'étude des PNPP

## *Extraits végétaux*

- Procédés et équipements



# Méthodologie d'étude des PNPP



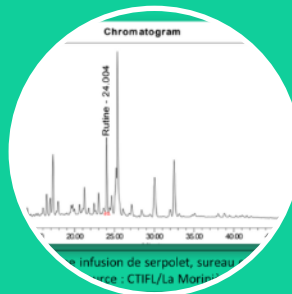
**Identification des  
plantes**

**Critères de  
durabilité**



**Extraction**

**Conservation**



**Analyse  
phytochimique  
Identification de  
traceurs/  
principes actifs**



**Screening *in  
vivo* et *in  
vitro***

**Evaluation  
mode  
d'actions**



**Essais au champ**





# I. Identification des plantes



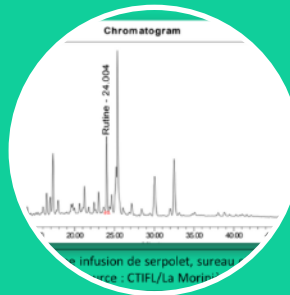
**Identification des  
plantes**

**Critères de  
durabilité**



**Extraction**

**Conservation**



**Analyse  
phytochimique  
Identification de  
traceurs/  
principes actifs**



**Screening *in  
vivo* et *in  
vitro***

**Evaluation  
mode  
d'actions**



**Mode  
d'application au  
champ**

# Bibliographie populaire

- ✓ Entretien avec arboriculteurs pratiquants
- ✓ Lecture de livres de vulgarisation
- ✓ Echanges de pratiques sur les forums



Arbo  
io **B** Infos





# Choix des extraits n°1

**Bibliographie littérature  
populaire**



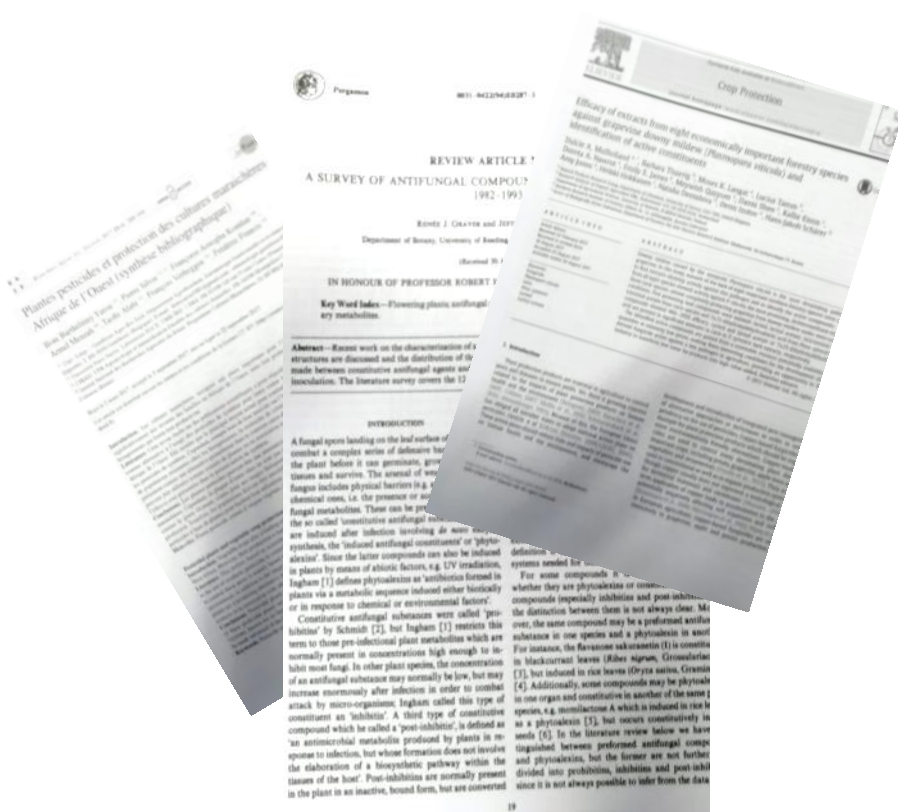
**Identification des extraits**



Plantes sèches pour extraits  
végétaux. CTIFL/La Morinière,  
2018

Plantes	Partie de la plante	Mode opératoire
Origan Clou de girofle	Plante entière	<i>Huile essentielle (HE)</i>
Ortie	Racine	<i>Décoction</i>
Serpolet, Sureau, clou de girofle	Feuilles Feuilles	<i>Infusion</i>
Prêle	Partie aérienne stérile	<i>Décoction</i>

# Bibliographie scientifique



→ Une centaine de publications étudiées

→ Grille de sélection:

- ✓ protocole
- ✓ mode d'extraction des extraits
- ✓ dosage phytochimique



# Choix des extraits n°2

**Bibliographie littérature  
scientifique**



**Identification des  
extraits**

Plantes	Partie de la plante	Mode opératoire
Jonc	Plante entière	Infusion
Lierre	Feuilles	Infusion
Bouleau	Feuilles	Infusion
Peuplier	Bourgeons	Macération alcoolique

Exemples de nouveaux extraits identifiés par la bibliographie.  
CTIFL/La Morinière, 2018.

## II – Extraction



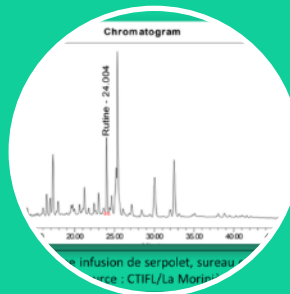
**Identification des  
plantes**

**Critères de  
durabilité**



**Extraction**

**Facilité  
d'extraction  
Conservation**



**Analyse  
phytochimique  
Identification de  
traceurs/  
principes actifs**



**Screening *in  
vivo* et *in  
vitro***

**Evaluation  
mode  
d'actions**



**Mode  
d'application au  
champ**



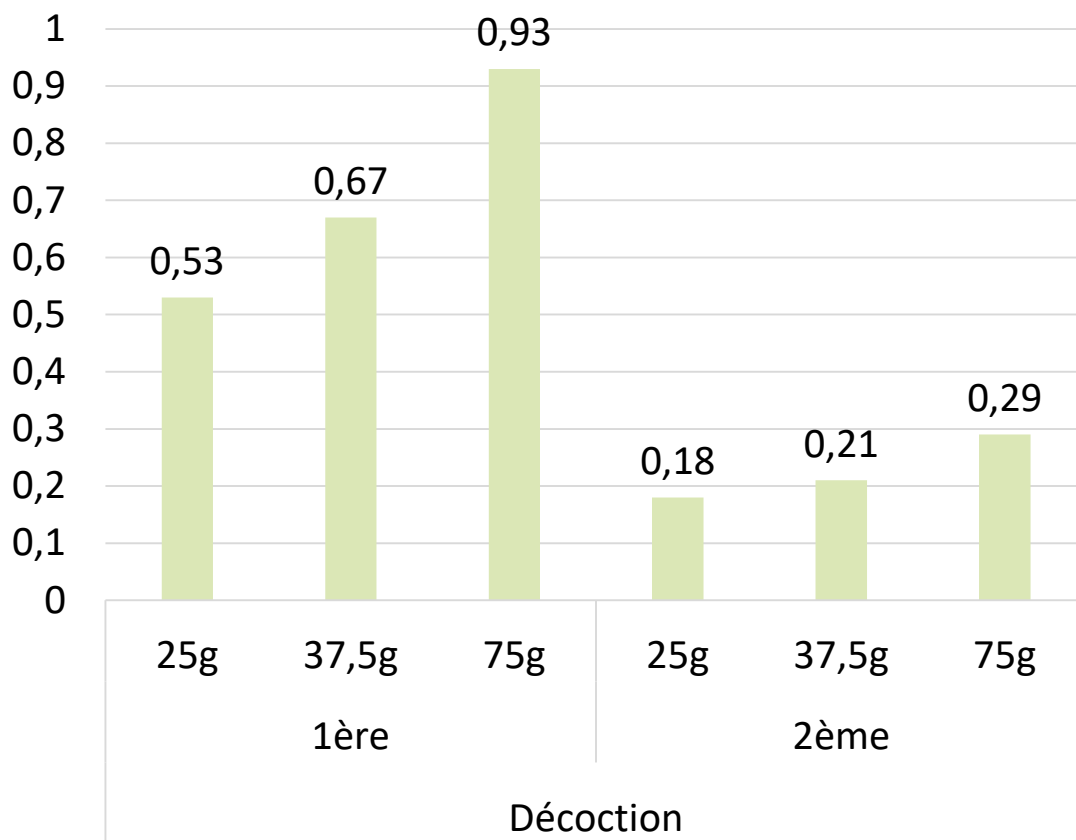
# Intérêt de 2 décoctions successives ?

## Effet du grammage de plante ?

**Augmentation du grammage = augmentation du résidu sec.**

La **deuxième décoction** parvient à **extraire environ 30%** du solide extrait lors de la première décoction.

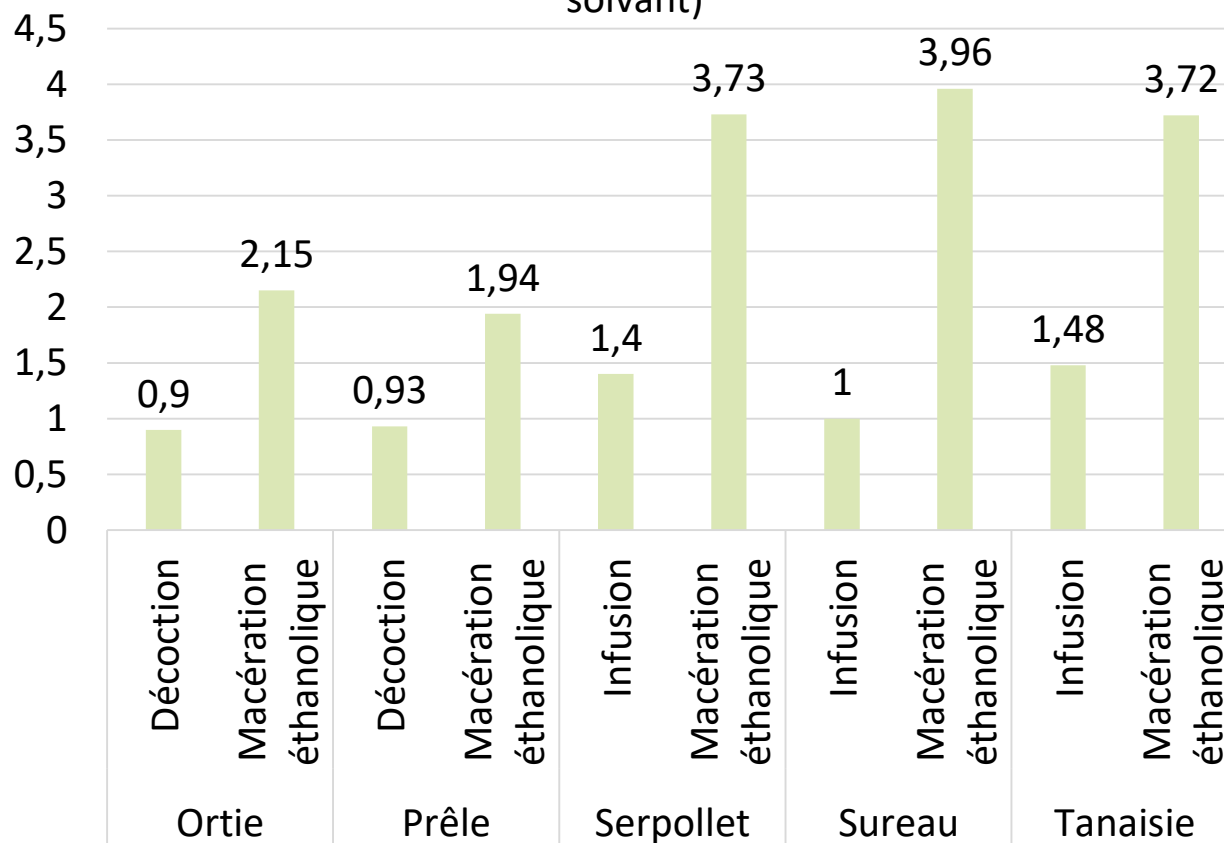
**Variabilité des résidus secs d'extraits de prêle selon l'extraction**



# Extraction aqueuse ou hydroalcoolique ?

Une macération éthanolique à 40° permet de **gagner + de 50% de résidus secs**, et donc de matières solides dans l'extract.

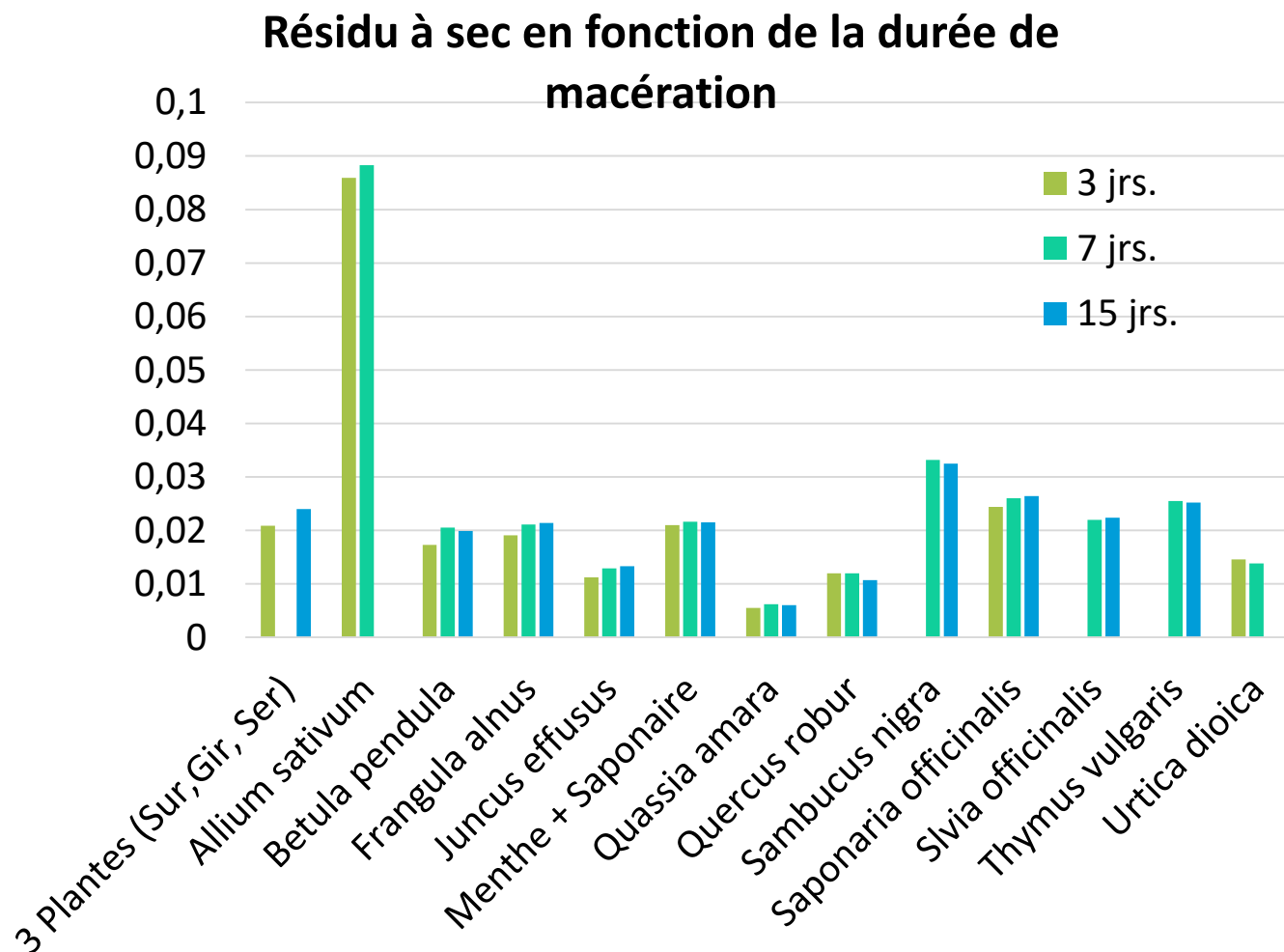
**% de résidu sec en fonction de la plante et du mode d'extraction** (75g de plante sèche par litre de solvant)



# Durée de la macération ?

Impact de la durée de macération très faible: entre **0,1% et 0,5%**

Pas de recul sur d'éventuelles influences sur les molécules extraites



# III - Analyses phytochimiques



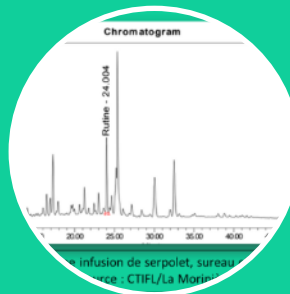
**Identification des plantes**

**Critères de durabilité**



**Extraction**

**Conservation**



**Analyse  
phytochimique  
Identification de  
traceurs/  
principes actifs**



**Screening *in vivo* et *in vitro***

**Evaluation  
mode  
d'actions**

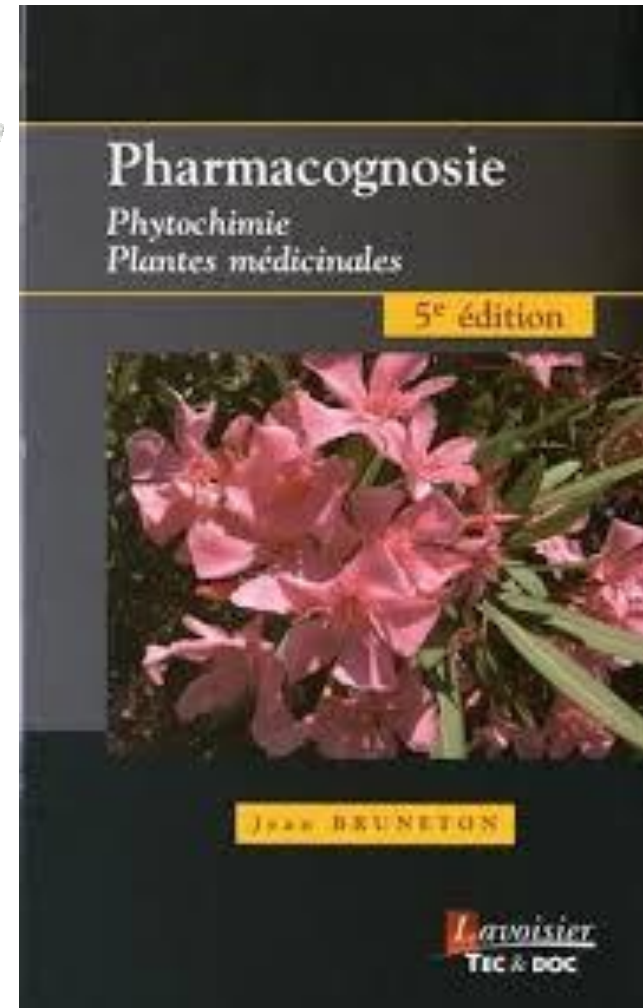
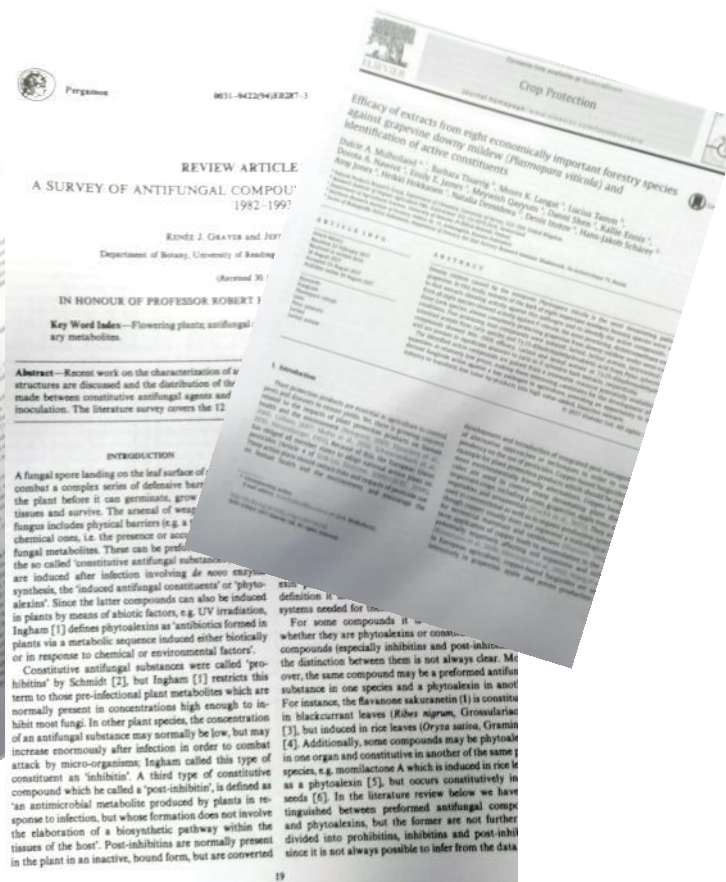


**Essais au champ**





# Composition phytochimique



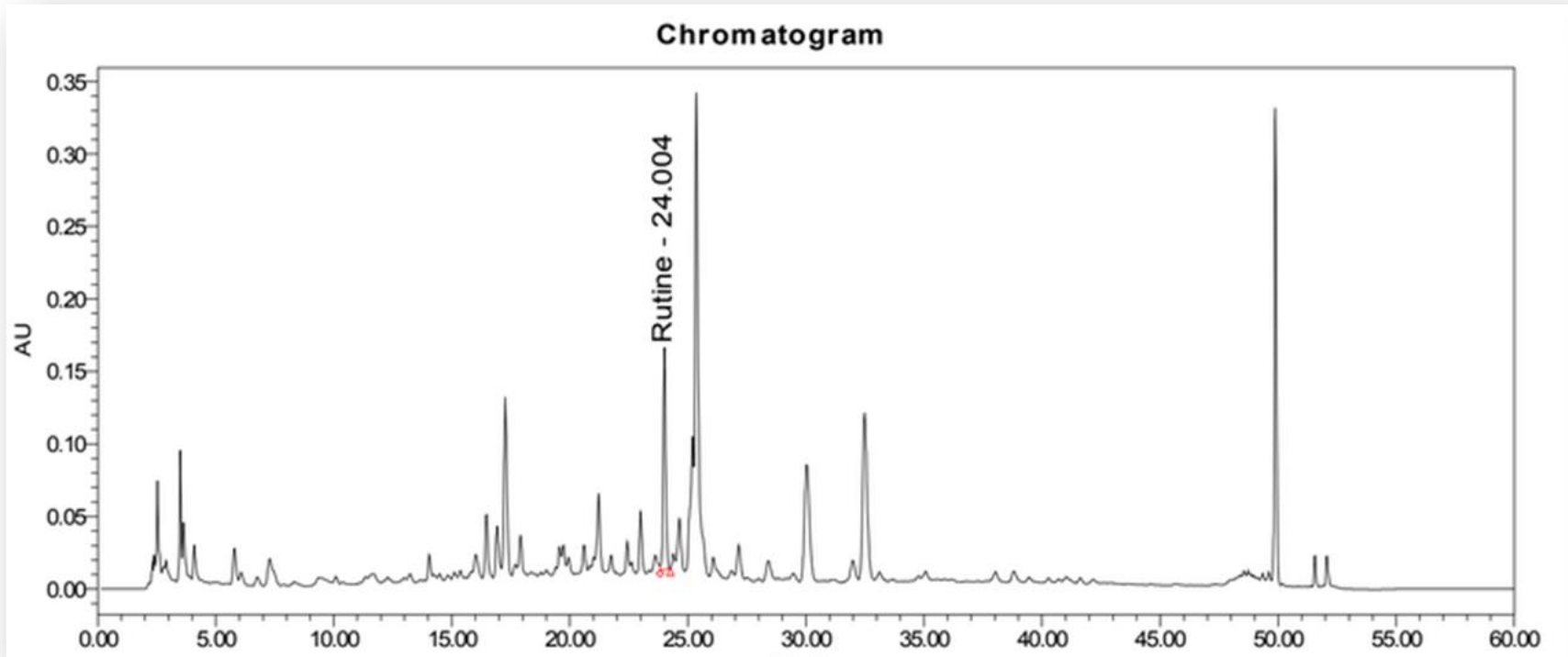
# Quelles analyses s'appuyer ?

- Analyses effectuées par Indena<sup>®</sup> et l'université de Tours.
- Taux de matières sèches et analyses HPLC.





# Composition phytochimique



Chromatogramme d'une infusion de serpolet, sureau et clou de girofle (HPLC).  
Source : CTIFL/La Morinière

→ Identification d'un traceur par plante

26/11/2019

# Extraction aqueuse ou hydroalcoolique ?

*Tableau présentant des données et des appréciations extraites de rapports d'analyses HPLC. Rapport écrit par l'université de Tours. Echantillons d'extraits végétaux fabriqués à la Morinière.*

Plante	Extraction	Nombre de composés identifiés dans l'extrait	Observations des analystes
Sureau ( <i>Sambucus nigra</i> )	Aqueuse	16	x 1
	Ethanolique (40°)	16	x 10
Serpolet ( <i>Thymus serpyllum</i> )	Aqueuse (Infusion)	17	Traces
	Ethanolique (40°)	15	Quantifiables

# Identification des plantes

- Décoction de racines d'ortie à l'eau à 95°C pendant 30 min
  - quantité plante/solvant
  - nombre de digestion

Quantité de plantes	Quantité de solvant	Digestion	Traceur	Valeur traceur	Résidus à secs (%)
75g	1,5L	1ère	scopoletine	non détecté	0,9
75g	1,5L	2ème		non détecté	0,25
37,5g	1L	1ère		non détecté	0,65
37,5g	1L	2ème		non détecté	0,18
25g	1L	1ère		non détecté	0,51
25g	1L	2ème		non détecté	0,15

→ Contrôle de la qualité fournie

# Quelle extraction standard?

## Matériel végétal

**Plantes sèches**, pour conservation et utilisation facile.

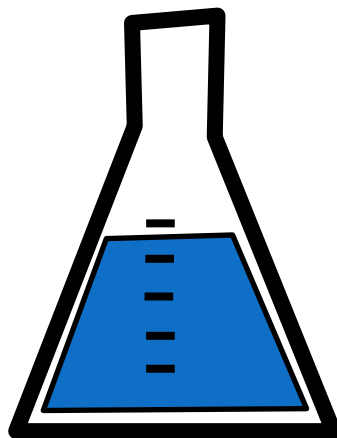
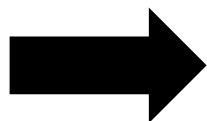
Cailleau Herbio® ou autre, mais **fournisseur unique** par soucis d'homogénéité des conditions de production.

## Solvant

**Alcool, éthanol à 40°.**  
Respect du cahier des charges PNPP, accessibilité, faible dangerosité.

## Durée avant filtration

**Macération pendant 7 jours:** pratique et extrait une quantité suffisante de matières solides. Dans verrerie opaque/à l'ombre, à T° ambiante.



# IV - Essais *in vitro* et *in vivo*



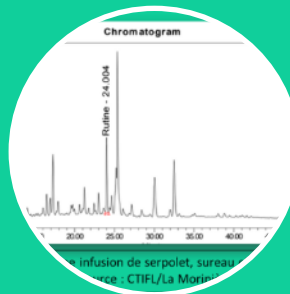
**Identification des  
plantes**

**Critères de  
durabilité**



**Extraction**

**Conservation**



**Analyse  
phytochimique  
Identification de  
traceurs/  
principes actifs**



**Screening *in  
vivo* et *in  
vitro***

**Evaluation  
mode  
d'actions**

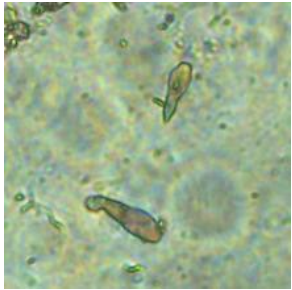


**Travaux au  
champ**

# Travaux en laboratoire

## *Tavelure du pommier*

- Méthodologies de screening *in vitro* et *in vivo*



Suspensions de spores



Plaque de puits



Boîtes de pétri



Semis

**Taux de germination des conidies et fréquence des symptômes sur semis**



# V - Essais au champ



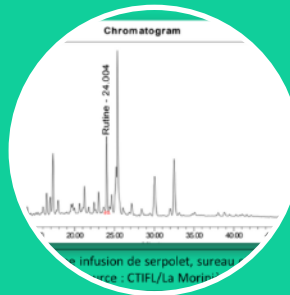
**Identification des  
plantes**

**Critères de  
durabilité**



**Extraction**

**Conservation**



**Analyse  
phytochimique  
Identification de  
traceurs/  
principes actifs**



**Screening *in  
vivo* et *in  
vitro***

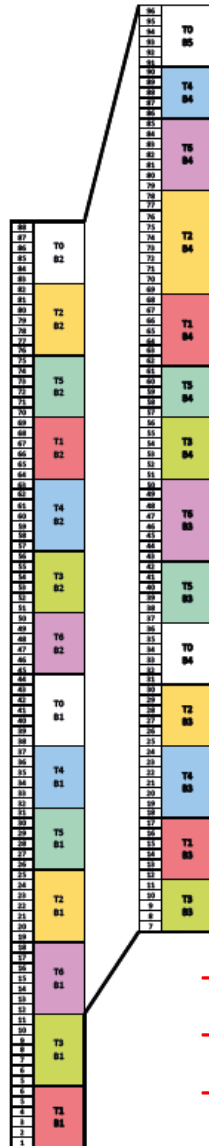
**Evaluation  
mode  
d'actions**



**Essais au champ**



# Application au verger



T0	TEMOIN NON TRAITE
T1	REFERENCE BIO
T2	1/2 REFERENCE BIO
T3	T2 + HE origan et HE clou de girofle
T4	T2+ Décoction de racines d'ortie
T5	T2 + infusion de feuilles de sureau, serpolet et clou de girofle
T6	T2+ Décoction de prêle

- Quelle quantité de plantes/ha?
- Quelle dilution?
- Quel adjuvant?

Figure 10 : Plan de l'expérimentation au verger menée à la Morinière  
source : Charlotte BODART, 2018



Atomiseur autonome Yonisos,  
*Station La Morinière*

# Dosage plantes/ha



## CRITERES:

Quantité de  
plantes/ha: de 1 à  
5kg

Quantité  
plante/solvant:10%

Quantité  
extrait/volume de  
bouillie: 10%

Adjuvant: Héliosol

Données de base		
Qt de plante / ha (g)	5000	
Qt bouillie / ha (l)	500	
Volume mort bouillie (l)	75	
Surface à traiter (ha)	1	
	Volume (L)	Quantité de plantes (kg)
Qt pour traitement	500,00	5,0
Qt à préparer avec volume mort	575,00	5,8
Qt de solvant de départ pour extraction	57,50	
Qt estimée d'extrait récupéré à diluer	43,13	insérer si mesuré
Concentration matière sèche extrait (%)	0,11%	Si analyses dispo
Concentration en traceur / extrait sec (%)	5,00%	
Quantité MS du traitement (kg)	0,041	
Quantité traceur du traitement (kg)	0,0024	
Dose en kg d'extrait sec / ha	0,041	
Dose en kg de traceur / ha	0,002	

# Essai substances naturelles sur la tavelure du pommier – 2019

- Caractéristiques de la parcelle (PFI):



<b>Variété :</b>	<b>Galaval (mutant de Gala)</b>
<b>Porte-greffe :</b>	<b>Emla</b>
<b>Distances de plantation :</b>	<b>4,00 m x 1,25 m (2000 arbres/ha)</b>
<b>Date de surgreffage :</b>	<b>2015 sur plantation 2002</b>
<b>Irrigation :</b>	<b>goutte à goutte</b>

# Essai substances naturelles sur tavelure du pommier - Gala

TNT	Témoin non traité		
T1	Référence cuivre + soufre		
T2	Référence cuivre allégée + soufre		
T3	T2	+	Huiles Essentielles d'origan ( <i>Origanum vulgare</i> ) et clou de girofle ( <i>Syzygium aromaticum</i> ) fournies par Golgemma®
T4	T2	+	Infusion 3 plantes : sureau ( <i>Sambucus nigra</i> ), serpolet ( <i>Thymus serpyllum</i> ), clou de girofle ( <i>Syzygium aromaticum</i> )
T5	T2	+	Quercynol®
T6	T2	+	ISR®
TVA	T2	+	Lactoserum (fourni par le GAEC des Frisonnes (37160))
TVA1	T2	+	Macération de chêne préparée sur la station de la Morinière avec des écorces de chêne de chez Herbio Cailleau®
TVA2	T2	+	Kanne Brottrunk®

Au total, la modalité référence cuivre a reçu **2 kg/ha** de cuivre métal contre **0.8 kg/ha** de cuivre métal sur les modalités T2, T3, T4, T5, T6, TVA, TVA1 et TVA2.

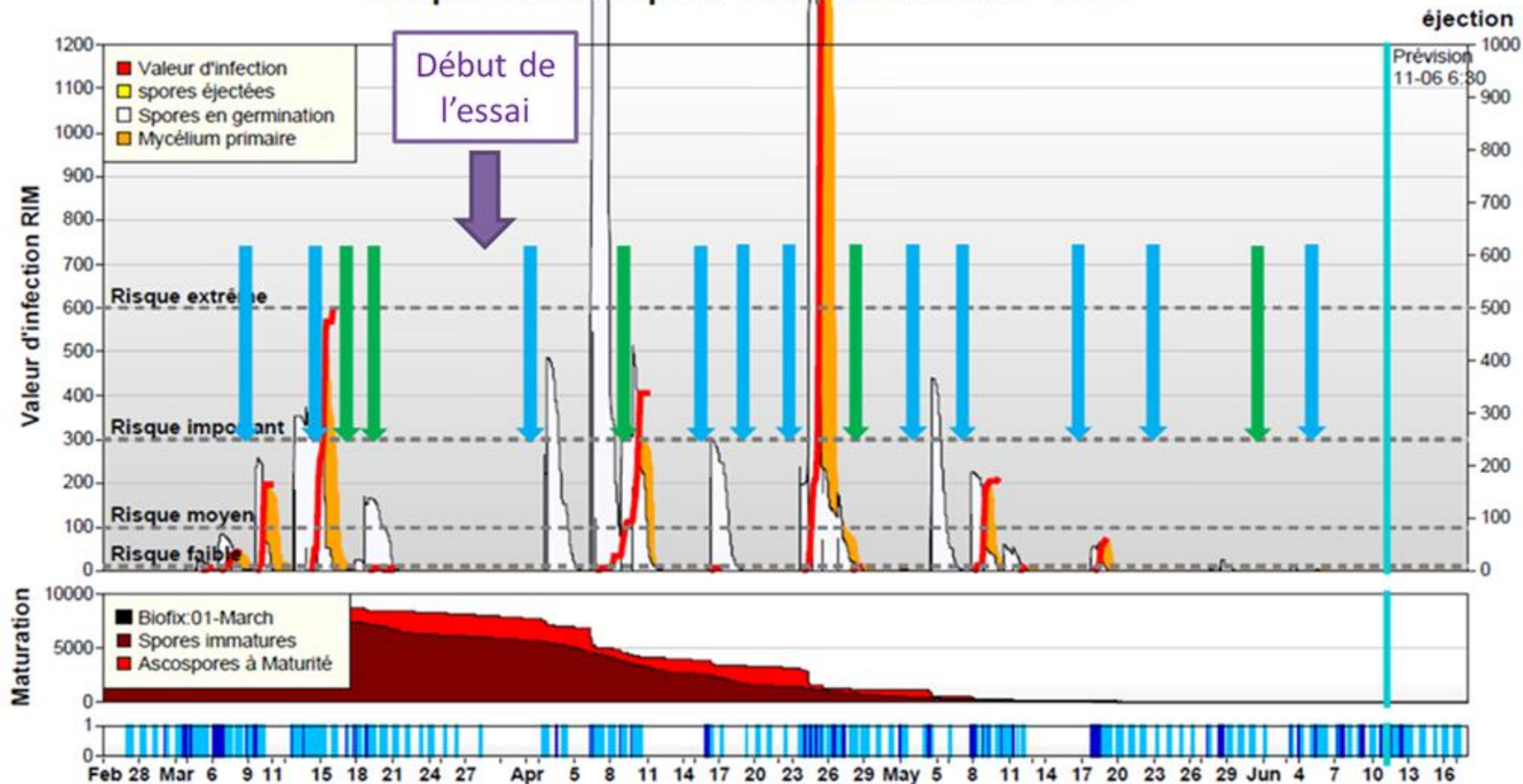
# Préparation et doses

Modalité	Produits
<b>T1</b>	Bouillie bordelaise Macclesfield 80 à 1kg/ha (soit 200g de cuivre métal) par traitement + 4 kg de soufre
<b>T2</b>	Bouillie bordelaise Macclesfield 80 à 0.25, 0.33 ou 0.5 kg/ha (soit entre 50 et 100 g de cuivre métal/ha) + 4 kg de soufre. Doses en fonction du RIM : 0.5 kg/ha pour un RIM>500, 0.33 kg/ha pour un 300<RIM<500 et 0.25 kg/ha pour un RIM<300.
<b>T3</b>	T2+ 200 mL/ha d'huiles essentielles dont 1/3 d'origan et 2/3 de clou de girofle. Ces huiles sont mélangées à la même quantité d'huile végétale (colza) et à quelques gouttes de liquide vaisselle afin de faciliter la dispersion dans l'eau, soit 0,04%.
<b>T4</b>	T2 + infusion de sureau, serpolet et clou de girofle est préparée à raison de 5 kg/ha de plantes sèches avec 1/3 de plantes chacune. Les plantes sont mises dans de l'eau (1v de plantes pour 10v d'eau). La préparation est chauffée jusqu'à 95°C puis refroidie à température ambiante, et filtrée.
<b>T5</b>	T2 + extrait de Quercynol® est préparé avec 350 g/ha d'extrait sec dilué directement dans l'eau.
<b>T6</b>	T2 + 1 L/ha d'ISR®
<b>TVA</b>	T2 + 50L/ha de lactosérum stocké au froid à 1°C (durée de stockage entre 1 et 10 jours).
<b>TVA1</b>	T2 + macération de chêne a été réalisée avec 5kg/ha d'écorces. Les écorces sont mises pendant 3 jours à macérer dans l'eau (1v d'écorces pour 10v d'eau) à température ambiante, puis la préparation est filtrée.
<b>TVA2</b>	T2 + 50 L/ha de Kanné Brottrunk®

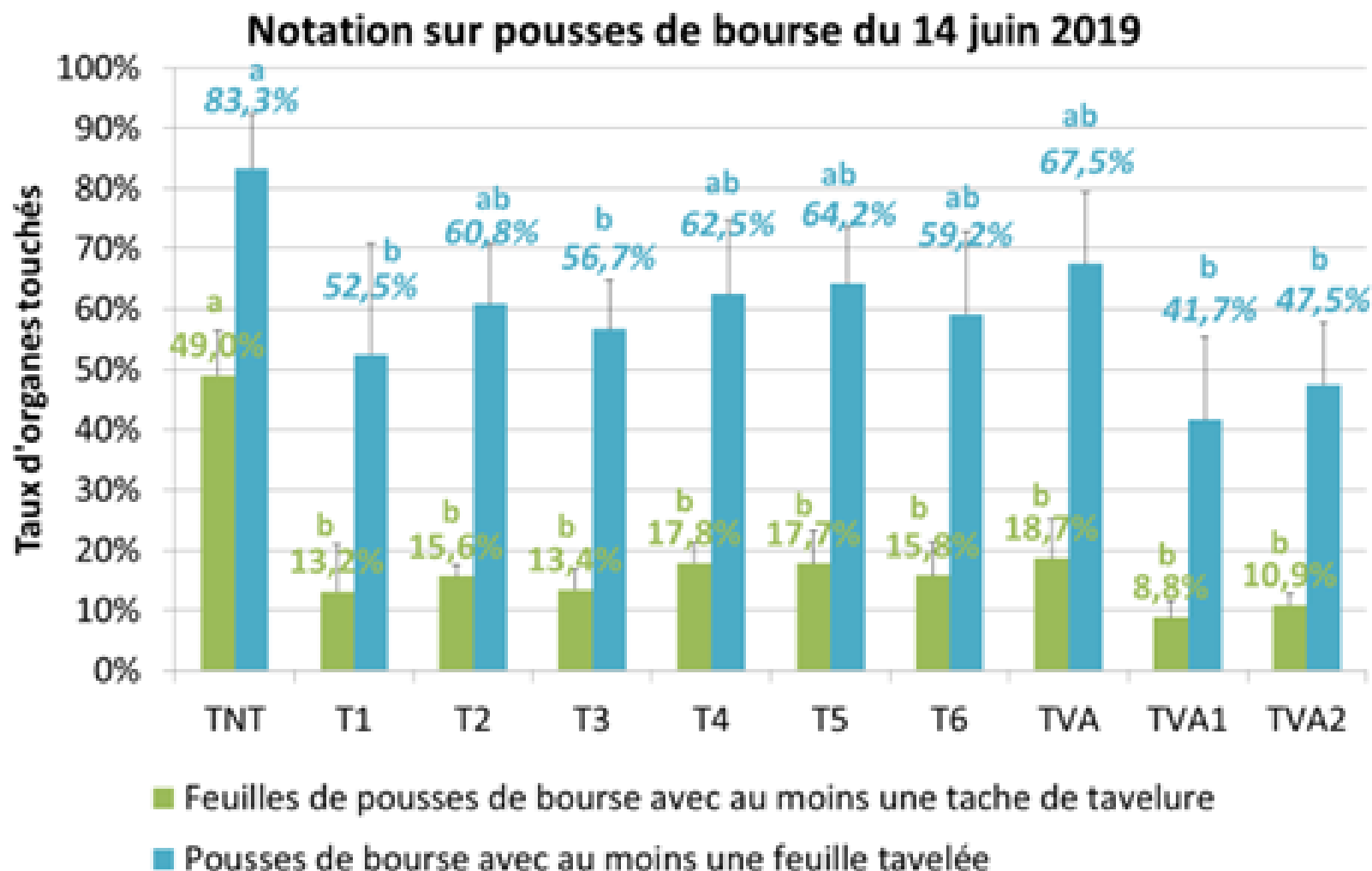


# Positionnement des traitements

RIMpro-Tavelure pour LaMoriniereCimel - 2019

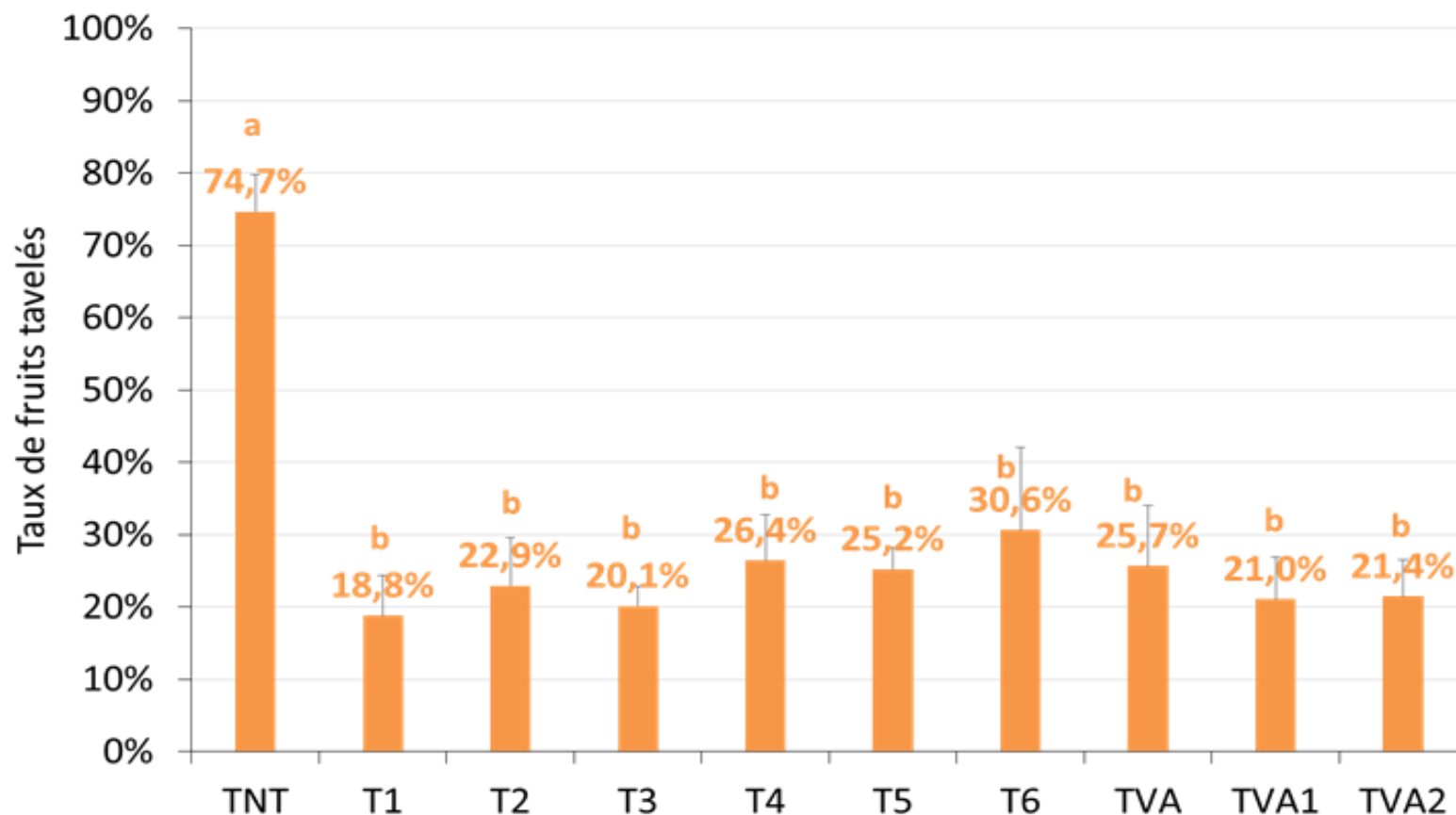


# Résultats sur pousses – 14 juin 2019



# Résultats sur fruits – 14 juin 2019

Notation sur fruits du 14 juin 2019



# Bilan des essais sur tavelure

- Efficacité très faible des PNPP testées
- D'autres essais de PNPP commercialisées montrent des efficacités importantes quand les **décoctions sont concentrées** (plus de 30x) ou quand les **huiles essentielles** sont mises à plus de **5% du volume de bouillie**

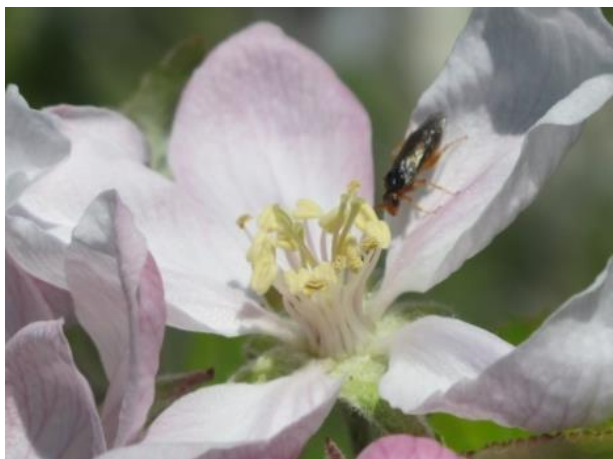
→ **Coût?**

→ **Mode d'extraction?**

- Perspectives:
  - Identifier un mode d'extraction et de concentration simple à faire « à la ferme »
  - Tester des programmes selon le mode d'action des extraits: préventif/curatif/stimulateur des défenses/fertilisant...



# *Quassia Amara*– Lutte contre l'hoplocampe du pommier



Benjamin Gandubert

- *Fredon Nord Pas-de-Calais, CRA-W, 2005 à 2007 : Efficacité de décoctions de Quassia amara sur l'hoplocampe du pommier*
- *Kienzle et al., 2006 : Efficacy of Quassia extract on the apple sawfly hoplocampa testudina Klug*
- *Psota et al., 2010 : Control of hoplocampa testudinea using the extract from Quassia amara*
- *IFPC, CA Normandie, 2014 : L'hoplocampe, un ravageur en progression dans les vergers cidricoles*



Résultats liés à la qualité de la matière première et à celle de l'extraction

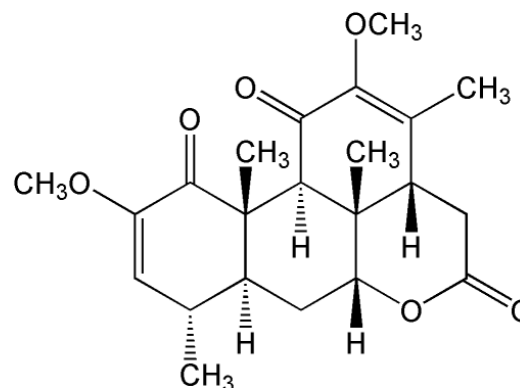
# Extraction

*Quassia amara*



« Totum de molécules »

*Quassine/Néoquassine*



Arôme alimentaire (amertume)... mais aussi propriétés  
Insectifuge/insecticide

Test d'un produit dosé en quassine



# Essais microparcelle

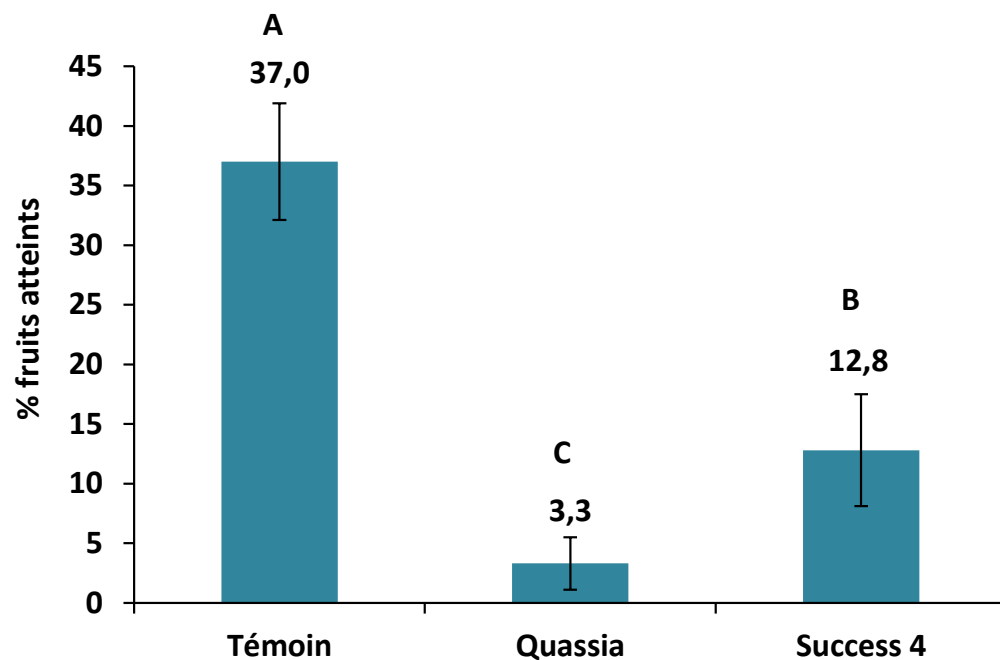


- ✓ Variété Pirouette
- ✓ Microparcelles 5 arbres / 4 blocs
- ✓ Témoin inclus
- ✓ Applications Atomiseur à dos SOLO à 500 L/ha
- ✓ Notations sur 100 fruits/bloc

# Essai microparcelle 2014

Produit	Dose /ha	Dose Quassine/ha
Témoin	-	-
Quassia (5 %)	320 g	16 g
Success 4	0.2 L	-

**3 applications :  
11, 14 et 16 avril**

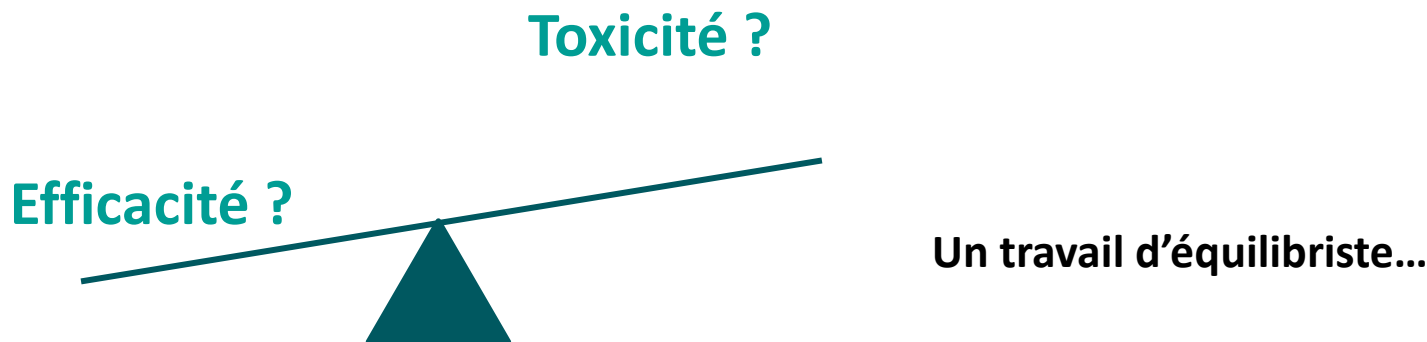


Efficacité Quassia > Efficacité  
Success 4

# Expérimentation PNPP

## *Conclusion et perspectives*

- Qualité de la matière première: dosage d'un traceur
- Dose par hectare: identifier la dose efficace → concentrer au maximum
- Identifier les modes d'actions des extraits végétaux (préventif/curatif/stimulation des défenses) et faire un programme



# Expérimentation PNPP

## *Conclusion et perspectives*

Alternatives aux pesticides → une combinaison de leviers

- Variétés peu sensibles
- Produits de biocontrôle
- PNPP
- Aménagements agroécologiques
- Gestion de la fertilisation/ de la charge

***Bonne connaissance des cycles et besoins des bio-agresseurs***



Merci de votre attention