Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Département fédéral de l'économie,
de la formation et de la recherche DEFR

Agroscope

Fongicides alternatifs : potentiel de développement, contraintes et perspectives

Katia Gindro, Pierre-Henri Dubuis

& Sylvain Schnee

23.01.2020

Réduction de l'utilisation de fongicides?

- **Nos projets pour lutter contre les maladies fongiques de la vigne dans le cadre du plan d'action national (2017)**

Nouveaux cépages résistants

Début d'Agrometeo

Modélisation des maladies et ravageurs

Fongicides naturels

Dosage adapté et phénologie

Modernisation d'Agrometeo: nouveau site

1996 | 2000 | 2005 | 2006 | 2007 | … | 2020 | ***Constante évolution***

Nouveaux fongicides

- **Les maladies ciblées sur vigne**

Agroscope

Quelques partenaires financiers R&D

Biorem
Sustainable Chemistry Solutions

AGRO SUSTAIN
ACTIVATING THE POWER OF PLANTS

KTI/CTI
DIE FÖRDERAGENTUR FÜR INNOVATION
THE INNOVATION PROMOTION AGENCY

BRIDGE

GIE LES 9

FNSNF
Swiss National Science Foundation

OFEV

Nouveaux fongicides

1) Extraits de champignons: exploiter le monde des composés organiques pour découvrir de nouveaux antifongiques

Métabolites primaires: *essentiels à la vie (assimilation de nourriture, énergie cellulaire, croissance etc…)*

Métabolites secondaires

- Ne sont pas essentiels à la survie mais offre un avantage compétitif très important
- Beaucoup de champignons en produisent
- Structure chimique très intéressante
- Monde encore peu exploré

Agroscope

Nouveaux fongicides: extraits de champignons

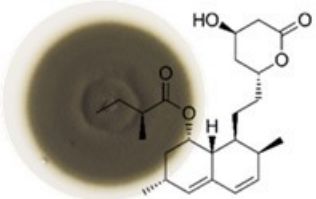
Strobilurines

Strobilurus tenacellus
(antifongique)

Mevastatin

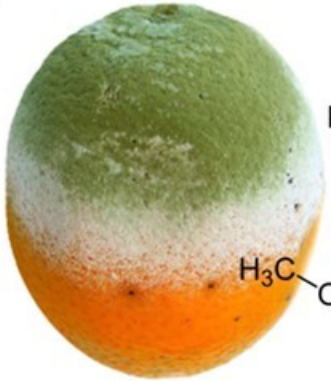
Penicillium sp.
(agents anti-cholestéroliques)

Lovastatin



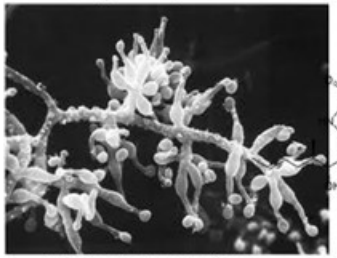
Aspergillus sp.
(agents anti-cholestéroliques)

Griseofulvin



Penicillium griseofulvum
(antifongique en médecine)

Cyclosporins



Tolypocladium inflatum
(immunosupressif, antifongique et antibactérien)

Penicillium chrysogenum
(antibiotique)

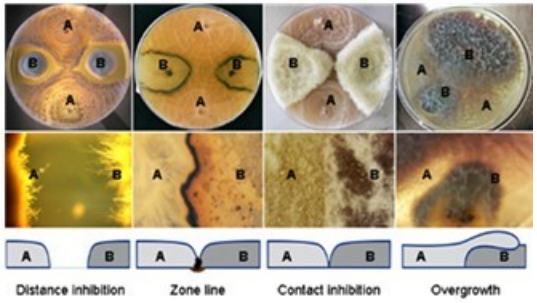
Agroscope

Nouveaux fongicides: extraits de champignons

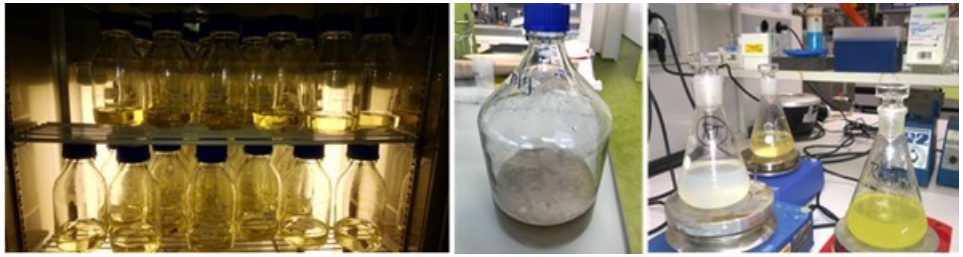
Plusieurs projets permettant de découvrir une nouvelle diversité chimique, par exemple:

Nouvelles communautés

Guerre chimique

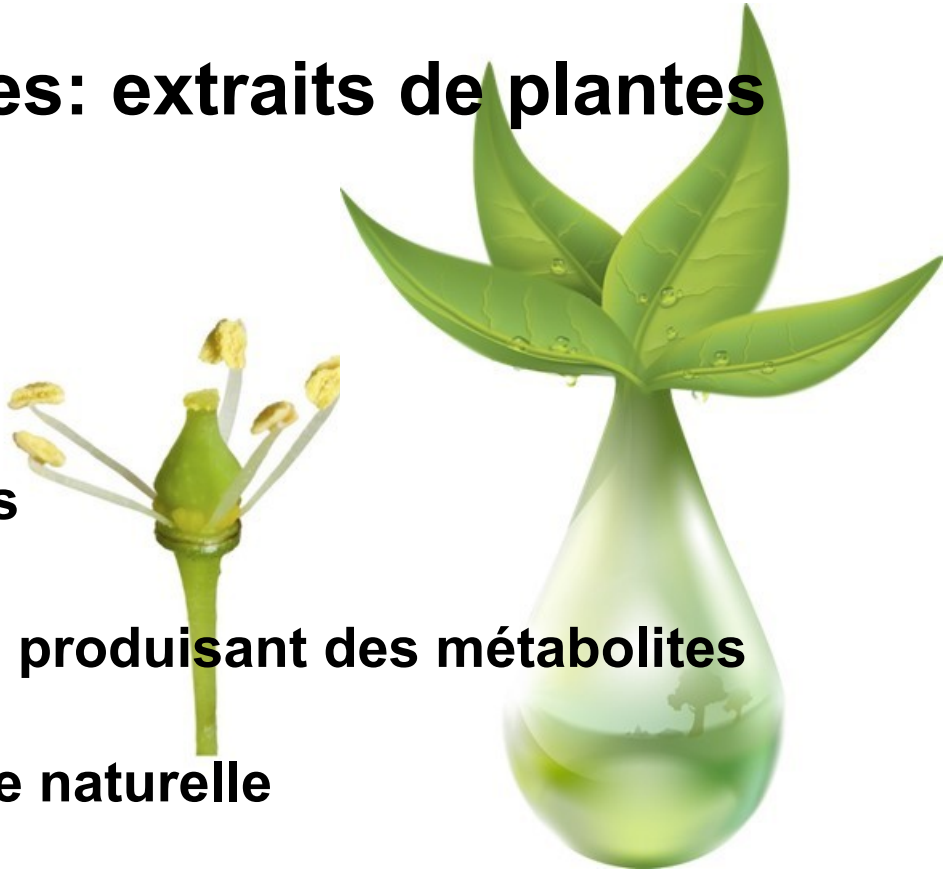


Biotransformation



Agroscope

Nouveaux fongicides: extraits de plantes



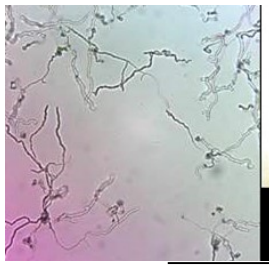
2) Extraits de plantes

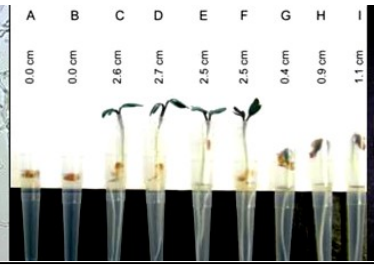
- 150 extraits développés
- Exploitation de plantes produisant des métabolites secondaires de défense naturelle
- Plantes de la pharmacopée
- Plantes utilisées pour leur vertu antifongique

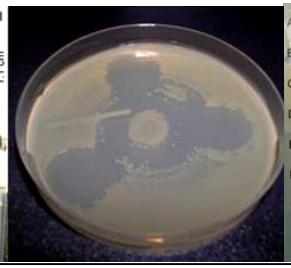
Nouveaux fongicides: stratégie

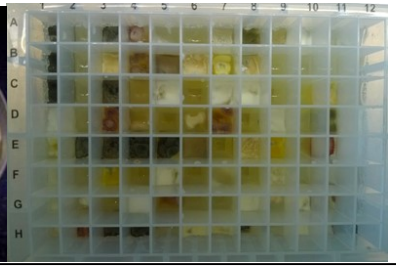
Extraction

Extraits bruts



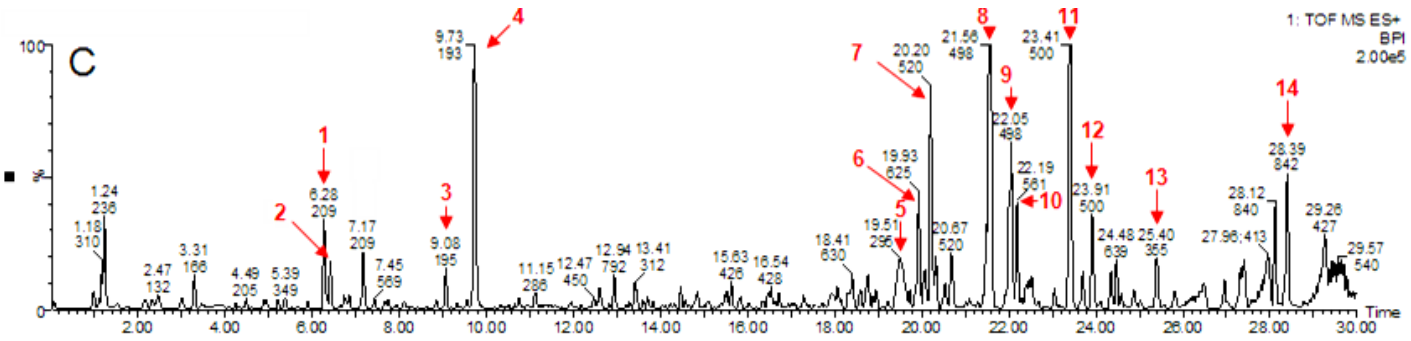




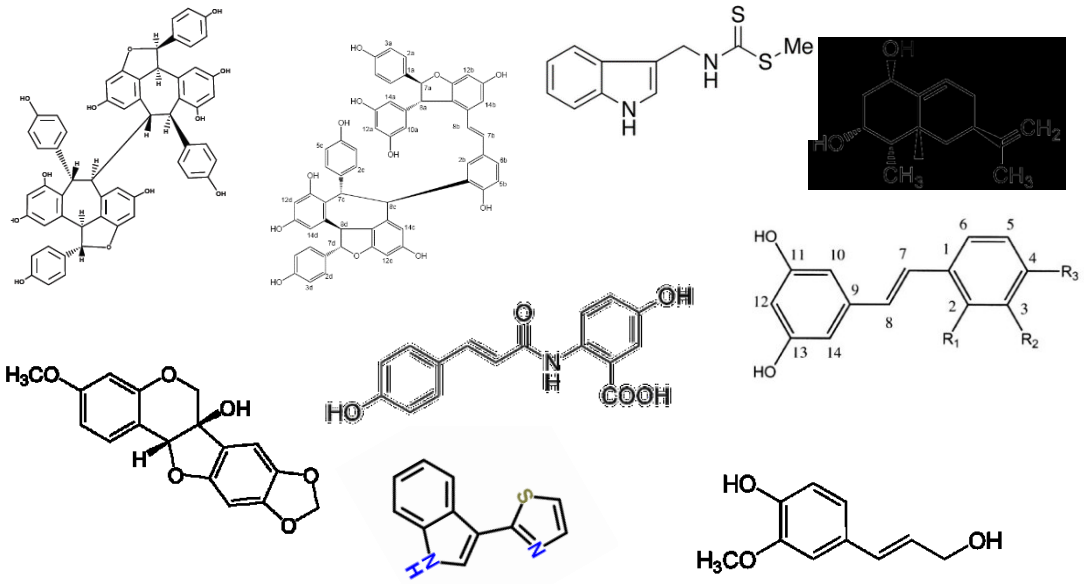


Activités biologiques

Nouveaux fongicides: stratégie



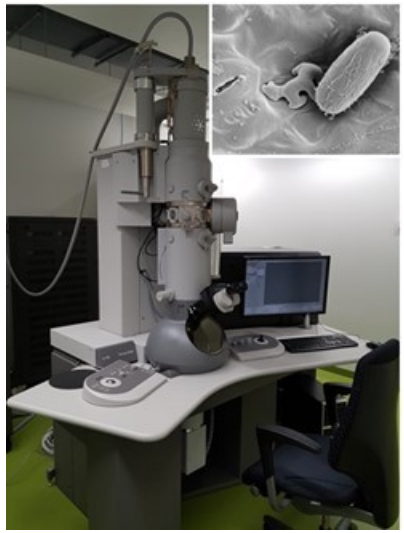
Séparation
Identification



Molécule active?
Famille de molécule?

Nouveaux fongicides: stratégie

Extraits les plus intéressants à grande échelle



Agroscope

Nouveaux fongicides: stratégie

Les extraits bruts ne sont pas utilisés: non stables, non homogènes, trop de molécules à activités toxiques pour la santé humaine et animale

Aucun extrait n'a montré pour le moment le niveau d'efficacité d'un produit classique (Agroscope + international)

Nécessité d'enrichir l'extrait en composés actifs

Les groupes de molécules actives doivent être stabilisés (formulation)…Différents partenaires

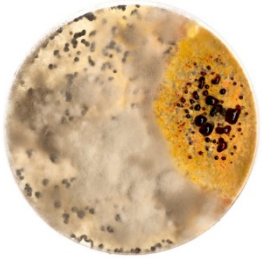
Agroscope

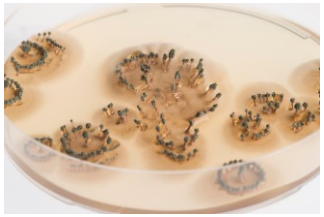
Nouveaux fongicides: stratégie

Pour obtenir un produit concurrentiel, frais de production doivent être bas.

Extraction ou synthèse? … Dépend du cas de figure

- Matière première en abondance
- Extraction simple
- Fraction active obtenue facilement





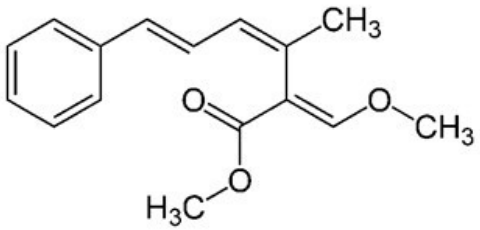
- Matière première rare ou induite
- Extraction en plusieurs étapes
- Une molécule active

Agroscope

Nouveaux fongicides: stratégie

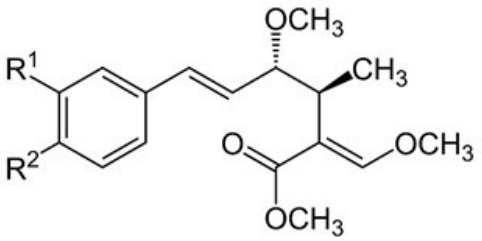
Synthèse, chimie combinatoire: compétence des firmes agrochimiques: exemple…

Strobilurus tenacellus
Collybie tenace



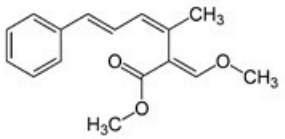
Strobilurine A découverte en 1977

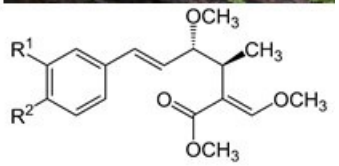
Oudemansiella mucida
Mucidule visqueuse

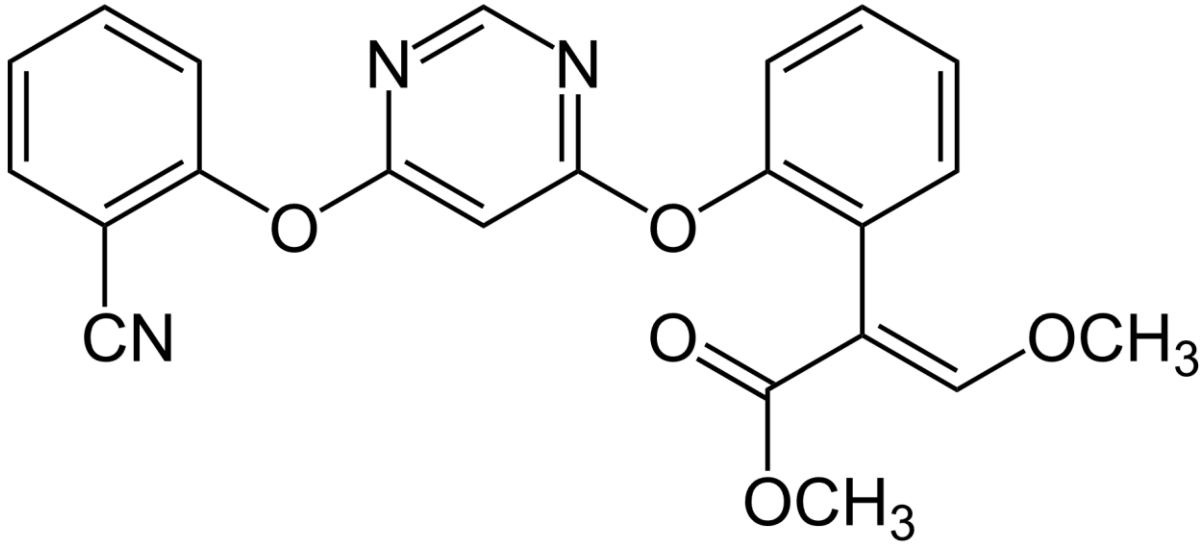


Oudemansine A découverte en 1977

Agroscope







Azoxystrobine

Nouveaux fongicides: où en sommes-nous?

Production de la/les molécules actives en grande quantité à faible coûts

Homogénéisation et enrichissement de l'extrait actif

***Challenge* :**

Stabilisation par formulation: **Activité**
Stabilité
Rémanence

Où en sommes nous, 2 exemples

Agroscope

Projets : fongicides alternatifs

- Recherche du cumul d'activités biologiques
  - ✓ identifier de nouvelles molécules fongicides
  - ✓ induction des mécanismes naturels de défense de la vigne
- Impact toxicologique/écotoxicologique le plus faible possible
- Élaboration d'un produit pilote, évalué au champ

Extrait de sarment de vigne

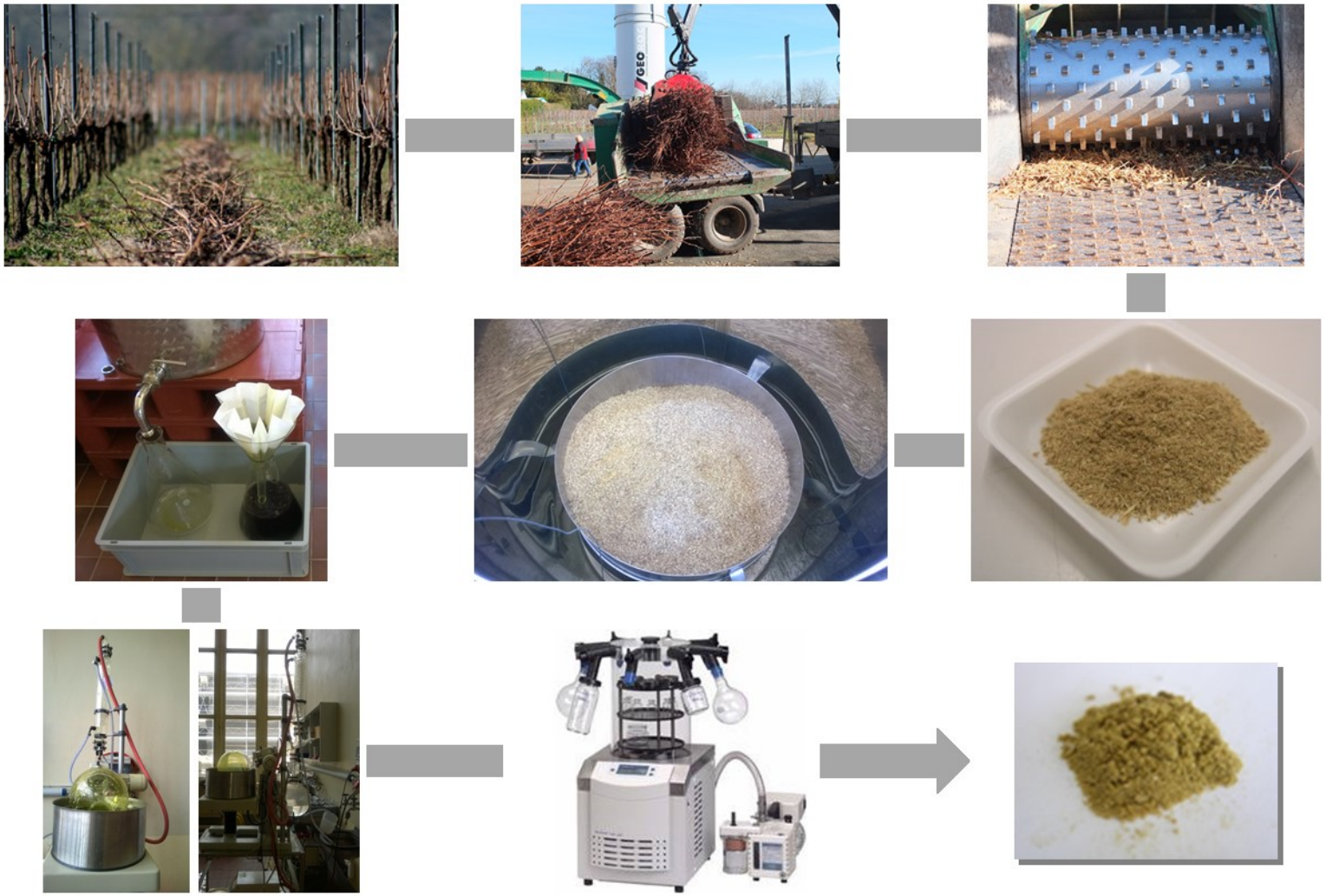
GIE LES 9

Biorem

Biorem Sustainable Chemistry Solutions

Agroscope

Processus d'extraction du sarment



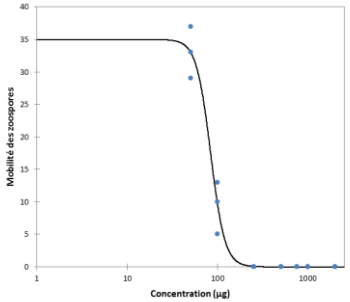
Agroscope

Evaluation de l'activité antifongique

Plasmopara viticola

→ Mobilité des zoospores

→ Sporulation (7 jpi)

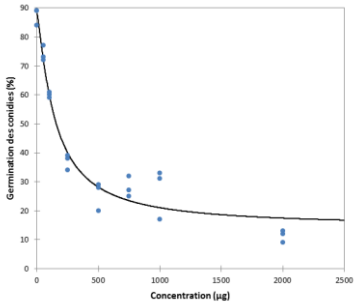


CI_{50} = **85** mg l^{-1}
(R^2 = 98%)

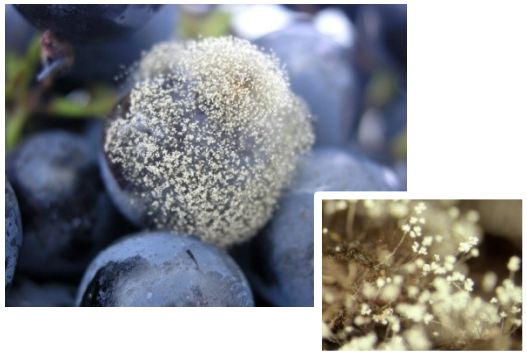
CI_{50} = **83** mg l^{-1}
(R^2 = 99%)

Erysiphe necator

→ Taux de germination des conidies (48 hpi)

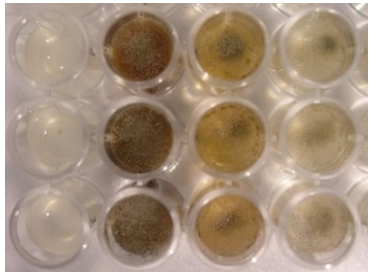


CI_{50} = **148** mg l^{-1}
(R^2 = 96%)



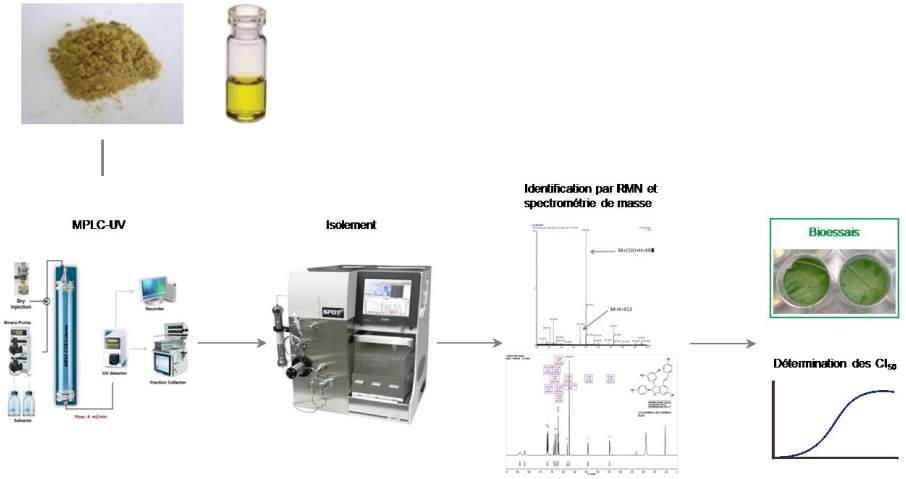
Botrytis cinerea

→ Développement du mycélium (5 jpi)

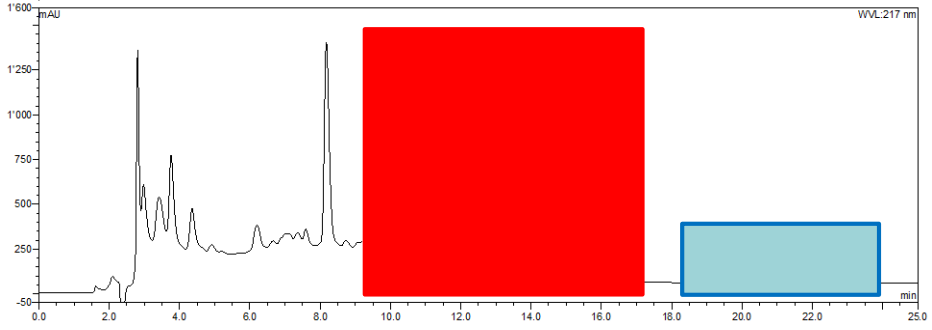


CI_{50} entre 4 et 5 g l^{-1}

Molécules antifongiques de l'extrait de sarment de vigne



Profil chromatographique (HPLC-UV-DAD-MS-ELSD)



Composés anti-oïdium

Boehmenan (712 g mol^{-1})	**Inconnus**
Boehmenan X (682 g mol^{-1})	(652 g mol^{-1})
Lupeol (426 g mol^{-1})	(746 g mol^{-1})
	(732 g mol^{-1})

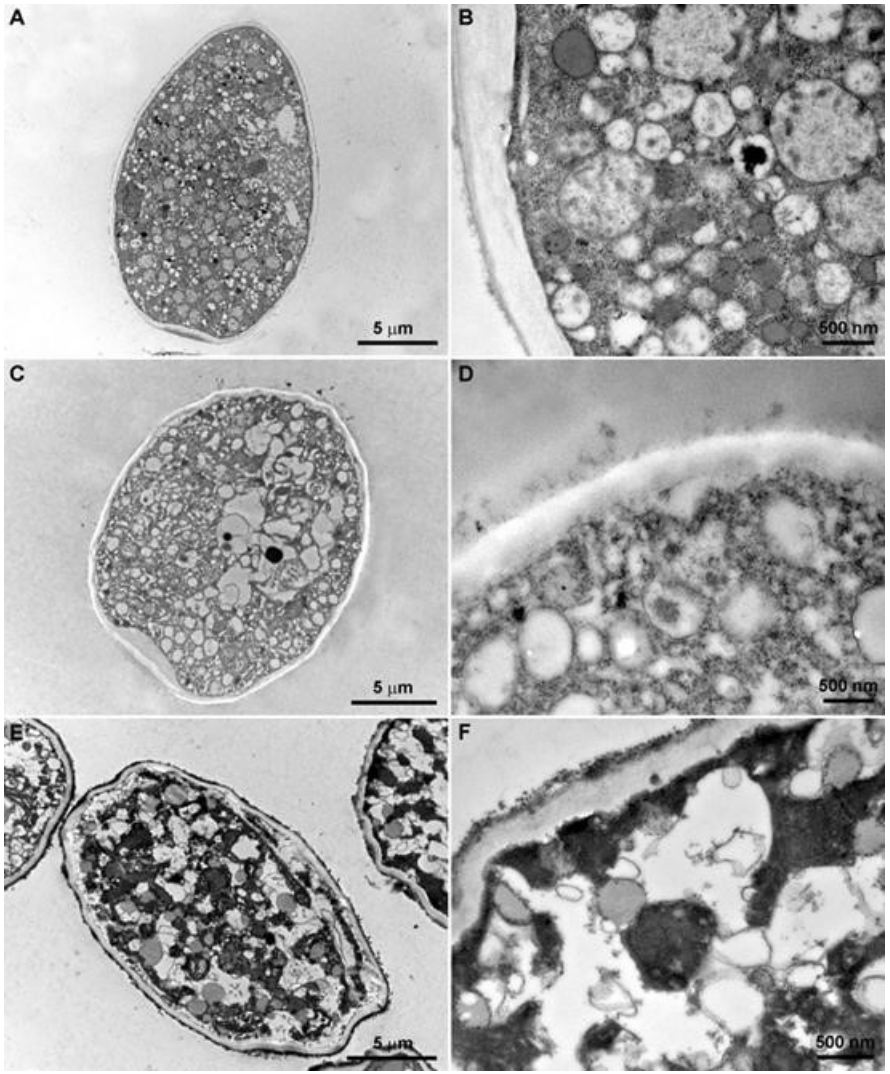
Composés anti-mildiou

Ampelopsin A (470 g mol^{-1})	CI_{50} = 124 µM
Hopéaphénol (906 g mol^{-1})	CI_{50} = **17** µM
Isohopéaphénol (906 g mol^{-1})	CI_{50} = 45 µM
***trans*-Resveratrol** (228 g mol^{-1})	CI_{50} = 122 µM
Ampelopsin H (906 g mol^{-1})	CI_{50} = 92 µM
***trans*-ε-Viniferin** (454 g mol^{-1})	CI_{50} = 66 µM
***E*-Vitisin B** (906 g mol^{-1})	CI_{50} = **13** µM
Miyabenol C (680 g mol^{-1})	CI_{50} = 103 µM
R2-viniferin (906 g mol^{-1})	CI_{50} = **20** µM

Schnee et al., 2013, Gabaston et al, 2017

Iprovalicarb (Melody Combi)	CI_{50} = 2 µM

Microscopie électronique : effet cytologique

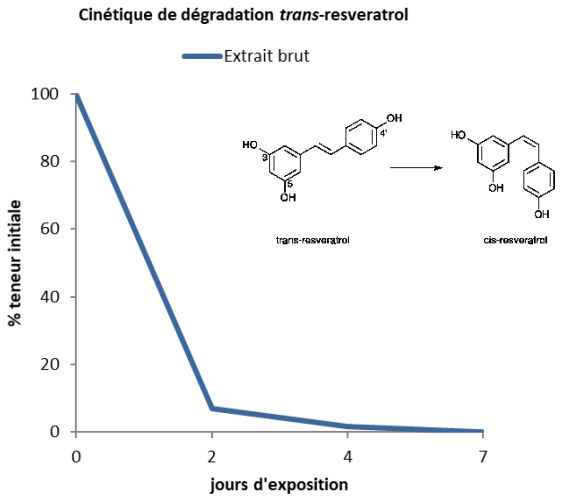


Contrôle

MelodyCombi®
Iprovalicarb 9% + Folpet 56%, Bayer

Extrait de sarment
1g l $^{-1}$

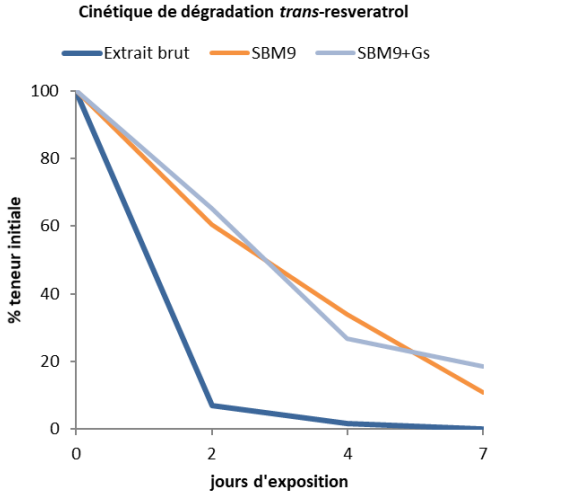
Stabilité de l'extrait ? Evaluation de la photoprotection



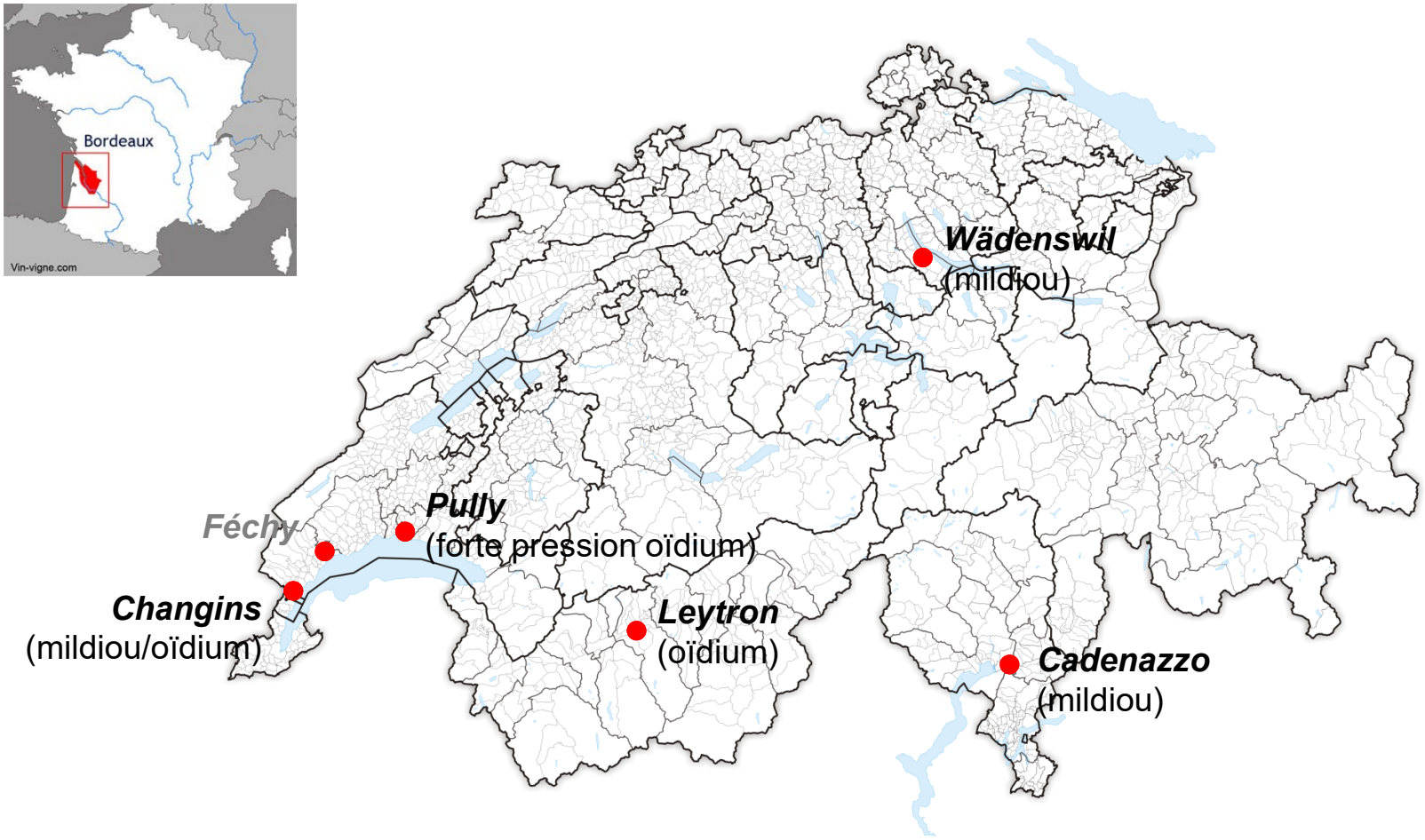
Cahier des charges de la formulation

- Adhérence au feuillage,
- Résistance au lessivage,
- Solubilisation dans l'eau,
- Qualité de dispersion dans un grand volume d'eau,
- Photoprotection,
- Co-formulants classés les moins toxiques et écotoxiques (si possible d'origine naturelle),
- Coût de la formulation.

15-043-A	SC-03	SC-04	SC-06	SC-07	SC-08	SC-09	SC-10
Composant	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L
Extrait de sarment de vigne	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Glycerine	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
TiO2	100,00	100,00	54,00	54,00	54,00	54,00	54,00
Solaveil XT-40W-LQ-(CQ)	-	-	100,00	0,00	-	-	70,00
Solaveil XT-300	-	-	-	100,00	-	-	100,00
Hostavin 3310 P	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00

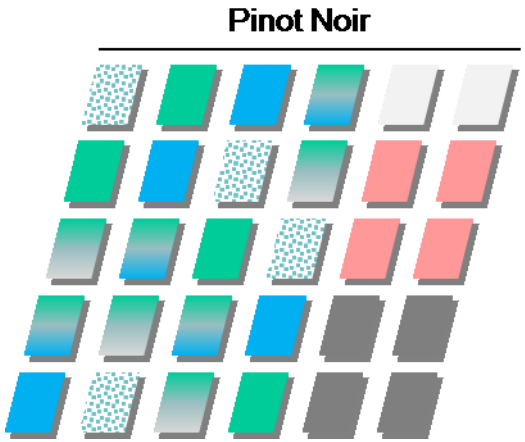


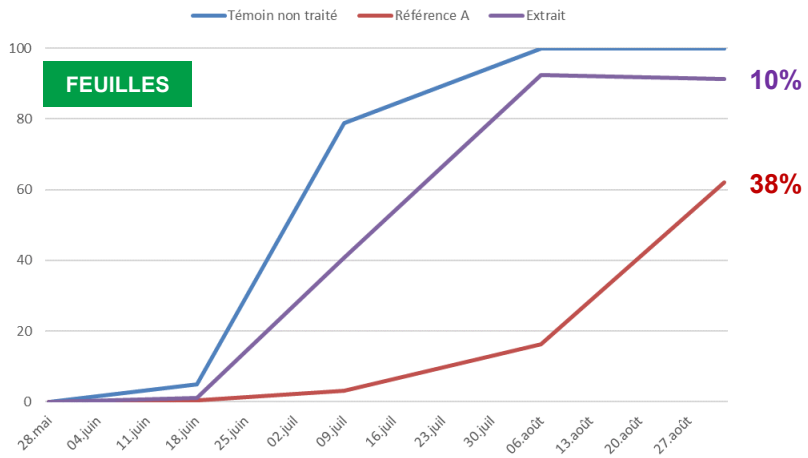
Parcelles expérimentales

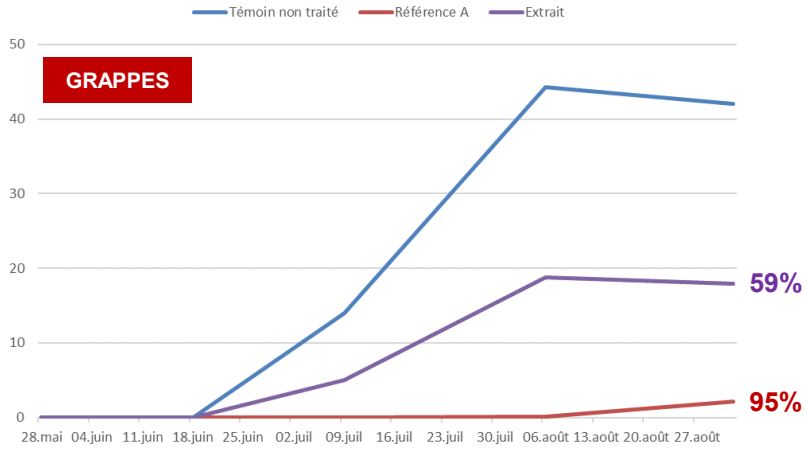


Dispositif Leytron 2015 (Pinot Noir) - Oïdium

Référence 1 (témoin «Stratégie»)
Extrait
Référence 2
«Stratégie» + Extrait
Témoin non traité
Cuivre-Soufre ½ dose + Extrait
Gluconate de Cu + Chitosan
Cuivre-Soufre ½ dose



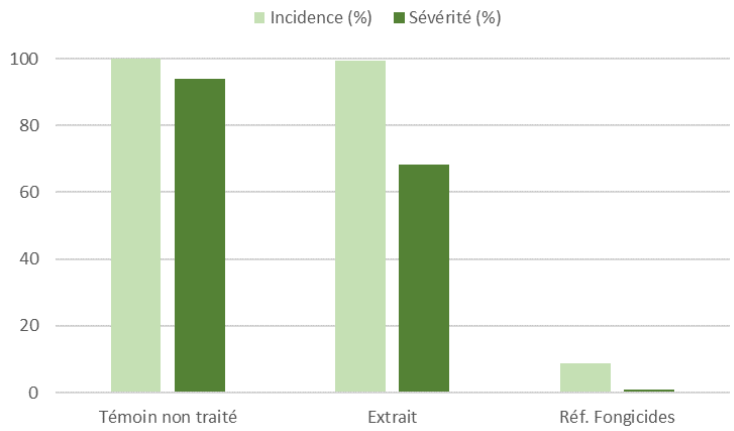




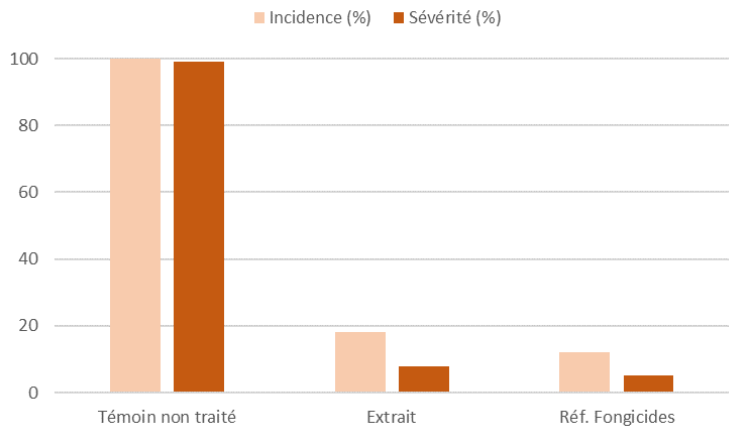
Agroscope

Cadenazzo 2016 (Merlot) - Mildiou

FEUILLES

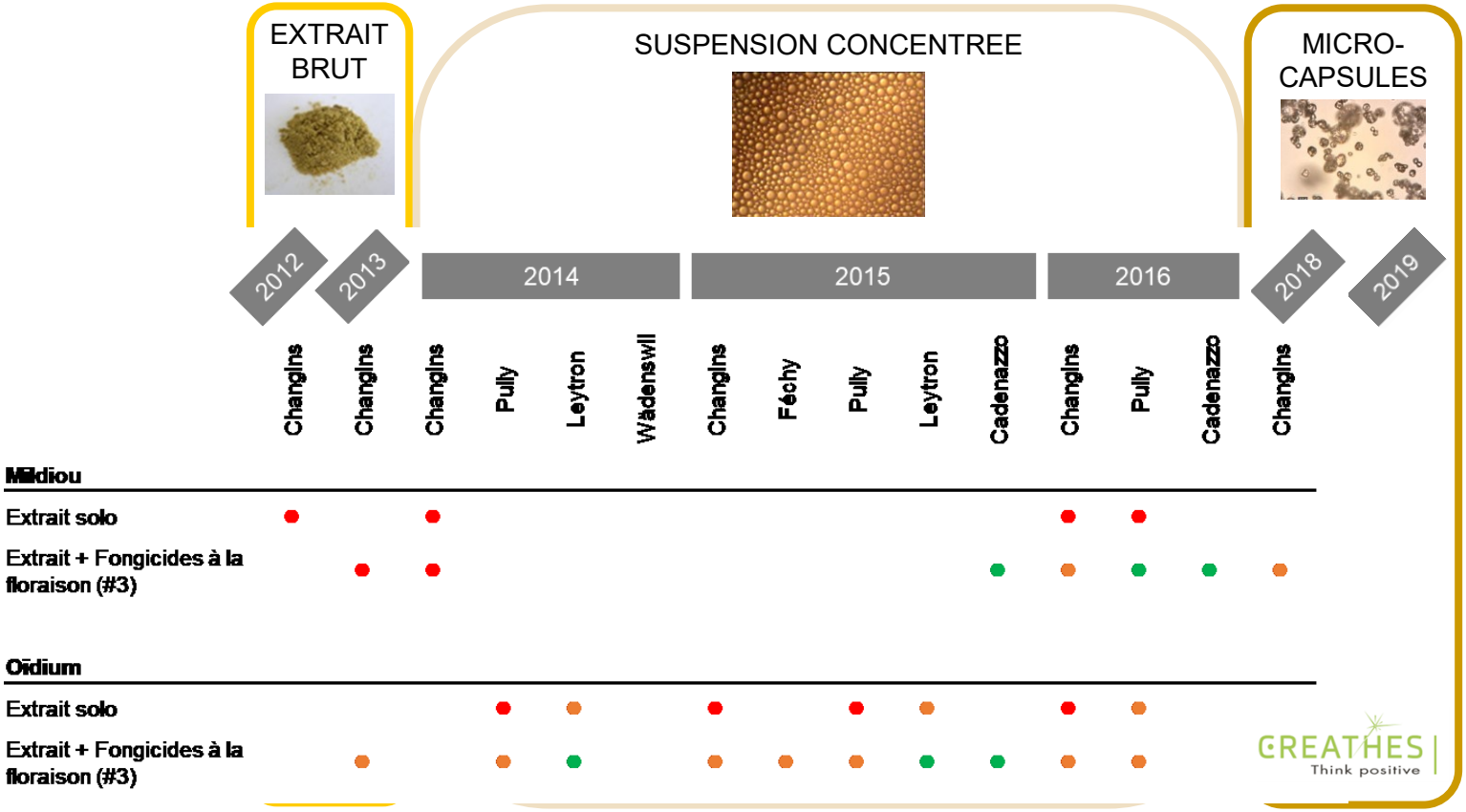


GRAPPES



Agroscope

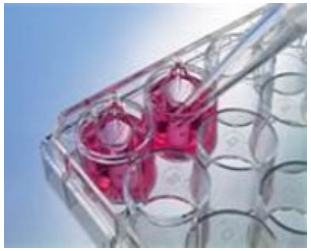
Bilan expérimentations au champ



- L'extrait formulé ne présente pas une efficacité suffisante en solo
- L'association avec des produits conventionnels présente une efficacité correcte en cas de faible/moyenne pression de maladie

Agroscope

Profil toxicologique / écotoxicologique de l'extrait



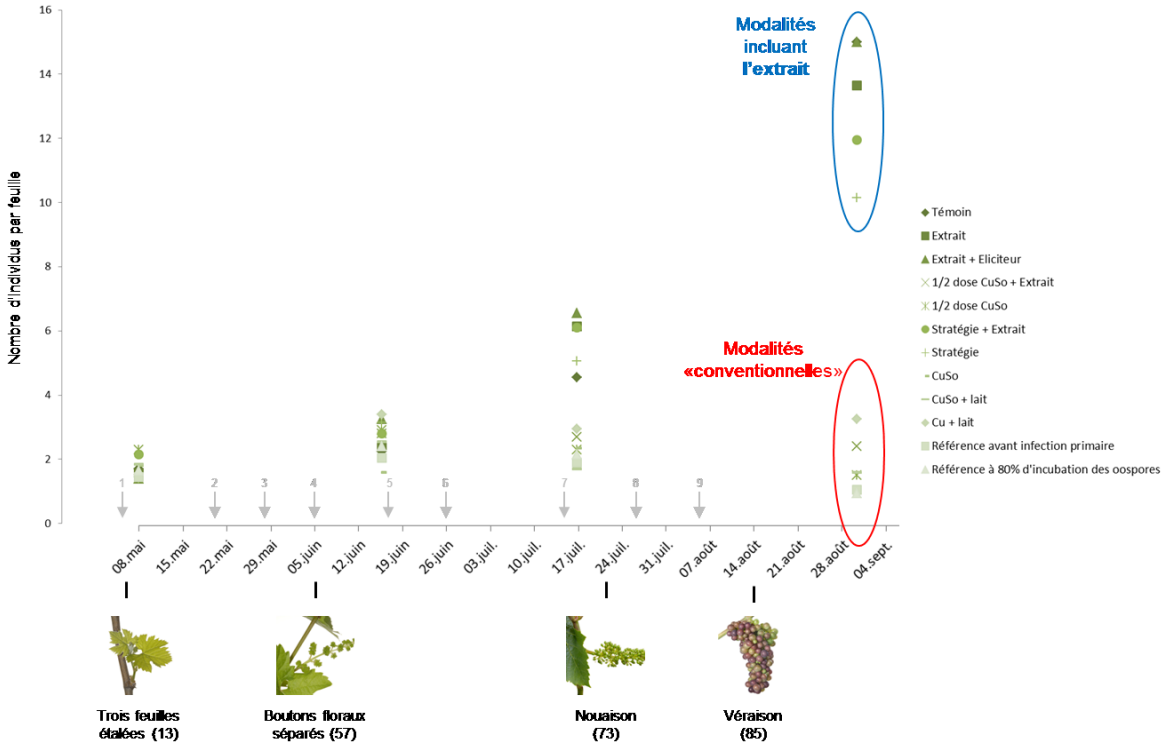
Incubation d'une culture cellulaire de foie en présence de l'extrait :

Viabilité cellulaire : 114% à 100%

→ aucune toxicité

→ pas d'induction de la quinone réductase

Typhlodromus pyri



Cristal Biorem

- Structure **cristalline**
- **Brevet** déposé
- Très bonne **solubilité** dans l'eau : 870 g/l
- Poudre stable chimiquement
- **Biosourcé**
- **0 résidus** sur les produits agricoles traités

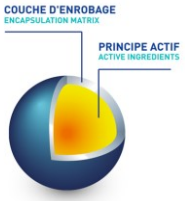
Synthèse et perspectives

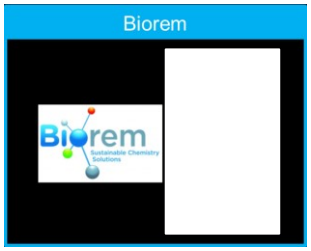
- Extrait : Mélange complexe de molécules actives à spectre spécifique
- Matière première disponible à un coût réduit voire nulle
- Produit positionnable en cas de pression de maladie faible à moyenne
- Innocuité des substances actives - pas de préoccupations concernant les résidus !

- Polyphénols antioxydants photosensibles – point crucial à solutionner !

2020 Microencapsulation

CREATHES Think positive





- Très bonne efficacité du Biogel contre l'oïdium avec un niveau de contrôle similaire aux fongicides conventionnels
- Innocuité des substances actives - pas de préoccupations concernant les résidus !

- Seuil étroit entre efficacité et phytotoxicité (ex: mildiou)
- Persistance du produit

2020

- Etude de la rémanence du produit
- Formulation finale

Remerciements

Partenaires Techniques

Partenaires Scientifiques

Agroscope

- **Groupe Mycologie et Biotechnologie**

Avec la participation :

- Entomologie (Christian Linder)
- Qualité des vins (Agnès Dienes-Nagy, Frédéric Vuichard)
- Œnologie (Johannes Rösti et Gilles Bourdin)
- Viticulture (équipes de Pully, Leytron et Cadenazzo)

Marilyn Cléroux

MERCI DE VOTRE ATTENTION

Agroscope