

**Projet 4P: « Evaluation des caractéristiques et de l'intérêt agronomique de préparations simples de plantes, pour des productions fruitières, légumières et viticoles économes en intrants »**

**RAPPORT TECHNIQUE DETAILLE**



Avec la contribution financière  
du compte d'affectation spéciale  
«développement agricole et rural»



***Rapport technique soumis à la DGER du Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, financeur du programme CASDAR 4096\_4P.  
Porteur du projet : ITAB***

# Contexte et problématique abordée

## **Préambule**

Le titre, « Evaluation des caractéristiques et de l'intérêt agronomique de préparations simples de plantes, pour des productions fruitières, légumières et viticoles économes en intrants » fait références aux « tisanes de plantes » utilisées en « protection des cultures » autant en Biodynamie que par certains expérimentateurs.

Ce projet porte sur la recherche d'alternatives à l'utilisation de pesticides en s'appuyant sur l'évaluation de préparations à base de plantes (infusions, décoctions) dans un objectif de protection des plantes contre les bioagresseurs.

S'appuyant sur les pratiques et les observations empiriques des agriculteurs qui utilisent ce type de préparation et sur les quelques travaux réalisés dans ce domaine, ce projet s'organise autour de deux grands objectifs :

- Améliorer les connaissances sur les propriétés et les modes d'action de ces préparations végétales (efficacité, composition, toxicité...) ;
- Optimiser leur utilisation (dosage, durée de conservation, conditions d'applications...)

Pour les aspects concernant la composition chimique et l'écotoxicité, les recherches seront menées en laboratoire. L'étude des efficacités s'appuiera sur des expérimentations de terrain réalisées sur un réseau de parcelles.

Ce programme pluridisciplinaire concerne les productions de fruits et légumes et la viticulture, domaines pour lesquels les questions de protection sont particulièrement préoccupantes.

Cette convention est intervenue, peu avant la promulgation d'un cadre réglementaire national (décrets et arrêtés) relatif à la mise sur le marché de préparations naturelles peu préoccupantes ou « PNPP » à usage phytopharmaceutique.

## **Objet de la convention**

Les objectifs poursuivis dans ce projet sont :

- ✓ Approfondir les connaissances sur la composition, l'efficacité et les modalités d'application de préparations de plantes (issues d'au moins 5 plantes différentes) dans un usage de protection des cultures, afin de mieux comprendre leurs modes d'action et d'optimiser leur utilisation,
- ✓ Fournir aux agriculteurs des références scientifiques leur permettant d'améliorer leurs pratiques quant à l'usage de ces produits
- ✓ Effectuer une première approche des risques de toxicité (organismes aquatiques, auxiliaires, abeilles),

- ✓ Rendre reproductible l'efficacité au champ de ces préparations,
- ✓ Apporter des éléments concrets sur la méthodologie d'évaluation des préparations naturelles végétales.

Une meilleure connaissance de ces préparations devrait également permettre de réduire le nombre et/ou les doses des traitements phytopharmaceutiques -dont les toxicités ne sont pas anodines pour les utilisateurs, les consommateurs ou l'environnement- tout en maintenant les niveaux de production (en qualité et en quantité) et en assurant une protection satisfaisante des cultures.

---

## Résumé

Ce projet 4P « Protection des Plantes Par les Plantes » porte sur la recherche d'alternatives à l'utilisation de pesticides en s'appuyant sur l'évaluation de préparations à base de plantes (infusions, décoctions de prêle, armoise, absinthe et saule) dans un objectif de protection des plantes (bio-agresseurs en arboriculture, maraichage et viticulture). Le 4P se focalise sur l'étude des propriétés fongistatiques ou fongicides, la composition chimique et l'écotoxicité de ces extraits. L'étude des efficacités s'appuie sur des expérimentations de terrain réalisées sur un réseau de parcelles. Ce programme pluridisciplinaire s'inscrit également dans le contexte de la parution du cadre réglementaire pour les Préparations Naturelles Peu Préoccupantes, et l'effort sur le Bio-contrôle. Les résultats sont encourageants, et bien que morcelés et partiels, ils sont en cours de valorisation effective. Il a pu mettre en évidence l'intérêt de ces préparations, définir les usages les plus caractéristiques (Bonnes Pratiques Agricoles), en particulier en viticulture dans la réduction des doses de cuivre et en arboriculture pour la réduction des doses de soufre.

**Mots-clés :** extraits de plantes, prêle *Equisetum arvense*, saule blanc *Salix alba*, armoise *Artemisia vulgaris*, absinthe *Artemisia absinthium*, menthe poivrée *Mentha piperita*, décoction, extraits hydro alcooliques, activité antifongique, mildiou, oïdium, tavelure et cloque.

# Enjeux

Aujourd'hui un certain nombre d'agriculteurs biologiques mais également conventionnels utilisent de façon plus ou moins empirique des préparations simples de plantes (infusions, décoctions, macérations), avec comme objectif de conférer aux plantes cultivées une meilleure résistance aux attaques des bio-agresseurs et/ou de réduire les traitements phytopharmaceutiques (nombre, fréquence, doses...).

Les connaissances scientifiques concernant le mode préparatoire de ces produits et leurs modalités d'utilisation étaient rares et partielles. Or, pour que ces préparations puissent être utilisées avec une efficacité reproductible, il est primordial de comprendre -même partiellement- leur mode d'action de façon à pouvoir optimiser l'extraction des substances actives, le processus de fabrication, la stabilisation de ces préparations, les dates et les doses d'application, c'est-à-dire protéger qualitativement et quantitativement les cultures de façon satisfaisante.

En effet, la mise en place de programmes de protection des plantes, intégrant largement ces préparations naturelles, ne doit pas se faire au détriment des rendements ni en hypothéquant les capacités de l'outil de production.

La « rationalisation » de l'usage de ces produits devrait permettre de répondre à une des demandes sociétales majeure de notre époque à savoir la production d'aliments sains, non seulement pour les consommateurs (pas de résidus de pesticides) mais également pour l'environnement (pas de pollution des eaux et des sols, respect des équilibres naturels) et les utilisateurs (risques moindres voire nuls pour la santé de l'agriculteur qui utilise ce produit).

Un autre enjeu de ces produits est de parvenir à protéger les cultures avec une utilisation minimale d'intrants énergétiquement et écologiquement coûteux, dans une perspective certes lointaine mais inéluctable de la réduction des réserves pétrolières. Il importe alors d'anticiper et de mettre en place de nouveaux moyens et systèmes de protection des plantes répondants à la fois aux enjeux à la fois sociétaux et économiques de notre siècle.

## 1 - les objectifs

Rappelons que ce projet porte sur la recherche d'alternatives à l'utilisation de pesticides en s'appuyant sur l'évaluation de préparations à base de plantes (infusions, décoctions) dans un objectif de protection des plantes contre les bio-agresseurs. Il s'organise autour de deux grands objectifs :

- ✓ Améliorer les connaissances sur les propriétés et les modes d'action de ces préparations végétales (efficacité, composition, toxicité...)
- ✓ Optimiser leur utilisation (dosage, durée de conservation, conditions d'applications...)

Pour les aspects concernant la composition chimique et l'écotoxicité, les recherches sont menées en laboratoire, l'étude des efficacités se fait par des expérimentations en stations

d'expérimentation et sur des parcelles d'agriculteurs biologiques. Ce programme pluridisciplinaire concerne les productions de fruits et légumes et la viticulture, domaines pour lesquels les questions de protection sont particulièrement préoccupantes.

## 2 - les partenaires du 4 P

Partenaire Impliqué	Tâche (Axe 2)	
	Cultures	Cibles
IFV Institut français de la Vigne et du Vin	Viticulture	essai oïdium essai mildiou
Chambre d'Agriculture 71	Viticulture	essai oïdium essai mildiou
Chambre d'Agriculture 77	Maraîchage	essai brémia
Chambre d'Agriculture 82	Arboriculture	essai monilia sur abricotier
GRAB Groupement Régional en Agriculture Biologique	Arboriculture	essai monilia sur abricotier
	Viticulture	essai mildiou/
	Maraîchage	essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons
SERAIL / CTIFL	Maraîchage	essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons
ADABIO	Maraîchage	essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons
	Arboriculture	essai tavelure du pommier et puceron cendré
	Viticulture	essai mildiou/oïdium
FREDON NPdC	Maraîchage	essai en conditions contrôlées sur les pucerons de la laitue
	Arboriculture	essai tavelure du pommier et puceron cendré
Civam Bio 66	Maraîchage	essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons
InterBioBretagne P.A.I.S.	Maraîchage	essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons

### Les partenaires financés par France Agrimer

Partenaire Impliqué	Tâche (Axe 2)	
	Cultures	Cibles
GRAB Groupement Régional en Agriculture Biologique	Arboriculture	essai monilia sur abricotier
	Viticulture	essai mildiou
	Maraîchage	essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons
ADABIO	Maraîchage	essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons
	Arboriculture	essai tavelure du pommier et puceron cendré
	Viticulture	essai mildiou/oïdium, essai Black-rot
Civam Bio 66	Maraîchage	essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons
Lycée horticole de Lhomme EPLEFPA (59)	Maraîchage	essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons
AgroBioPérigord	Viticulture	essai cicadelle verte

« Programme 4P Evaluation des caractéristiques et de l'intérêt agronomique de préparations simples de plantes, pour des productions fruitières, légumières et viticoles économes en intrants 2009/2013 »

### **3 - les axes de recherche**

Ce projet ne comprend qu'une seule action qui se décompose en trois axes :

- ✓ le premier porte sur l'approfondissement des connaissances sur les caractéristiques et les propriétés des préparations (infusions et décoctions) de plantes, choisies (y compris des aspects écotoxicologiques). Les partenaires impliqués dans cet axe sont l'université de Perpignan, SupAgro Montpellier et l'INRA d'Avignon,
- ✓ le second concerne le test au champ des effets de ces préparations sur les bio-agresseurs. Les partenaires chargés de la réalisation de cet axe sont les chambres d'agriculture 71, 77 et 82, le GRAB d'Avignon, IBB, la FREDON Nord pas de Calais, ADABIO, le CivamBio66, l'IFV, la SERAIL,
- ✓ le dernier axe est consacré aux aspects de coordination et de diffusion. L'ITAB a la charge de la coordination administrative et technique du projet, il est également responsable des tâches de diffusion et de valorisation en association avec ADABIO, l'IFV, le GRAB, la chambre d'agriculture 71, la SERAIL, IBB, la FREDON NPdC et l'Université de Perpignan.

#### **Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d'action des préparations végétales**

Cet axe étant consacré aux travaux de recherche en laboratoire, seuls les organismes de recherche publique. Cette axe 1 comprenait deux parties une étude en laboratoire des activités biologiques; et une étude toxicologique sur abeilles et phytoséides.

Les activités biologiques sur différentes espèces de champignons phytopathogènes, des préparations de plantes issues de deux extractions différentes (extraction aqueuse et extraction organique) ont été évaluées (effets sur la croissance du mycélium et sur la germination des spores). Parallèlement, une analyse chromatographique a été menée. Les profils chromatographiques HPLC-DAD-DEDL permettent d'obtenir des informations pour aider à la caractérisation et pour comprendre les activités de chaque extrait végétal.

L'étude toxicologique sur les 4 préparations a concerné:

- ✓ la toxicité aiguë, la toxicité sub-chronique (mode continu d'intoxication) et la toxicité induite (exposition à des doses répétées orales ou de contact) par les doses réitérées sur abeille. Etude menée par l'INRA d'Avignon ;
- ✓ une évaluation des effets des préparations sur *Typhlodromus pyri*, acariens prédateurs présents dans les vignes et les vergers. Ces évaluations de toxicité directe ont été effectuées par le laboratoire de SupAgro Montpellier à partir de la méthode CEB N° 167 de Kreiter et Sentenac (2004).

La présentation des travaux et les résultats complets, sont détaillés dans les comptes-rendus techniques des partenaires. Ils sont également été présentés et discutés lors la réunion plénière annuelle des partenaires du programme.

#### **Axe 2 : Evaluation et optimisation de l'utilisation de préparations végétales**

L'axe 2 de la convention porte sur l'établissement d'un programme opérationnel de travail pour Toutes les préparations naturelles utilisées lors de cette 1<sup>ère</sup> année du projet (aussi

bien pour l'axe 1 que le 2) ont été réalisées par les expérimentateurs selon une recette commune, et partir de plantes sèches issues des mêmes lots et des même fournisseurs (commandes collectives). C'est une préparation sous forme de tisane (les plantes séchées sont mise à infuser dans le l'eau bouillante pendant un temps donné), qui a été adoptée.

Tous les essais ont été menés selon des protocoles communs élaborés lors des réunions préparatoires. Les préparations naturelles ont été réalisées par les expérimentateurs le jour même où la veille du traitement.

Pour les essais viticulture (mildiou et oïdium) et arboriculture (tavelure), les préparations ont été testées en association avec de faibles doses de cuivre et/ou de soufre.

### **Axe 3 : Coordination générale et diffusion / transfert**

Le travail de coordination a consisté en l'établissement des conventions avec tous les partenaires et à l'organisation des réunions de travail (voir modalités de suivi), la rédaction et la diffusion des comptes-rendus et à assurer le lien et la communication entre les différents partenaires, et les axes 1 et 2.

Pour cette première année du programme, il y a eu peu d'action de communication et de diffusion, car les connaissances disponibles sur l'usage des préparations sont essentiellement de nature empirique et un important travail pour formaliser ces données en question de recherche a dû être fait en amont. Une information générale sur l'existence et le contenu du programme a été faite dans les réseaux de partenaires, surtout auprès des techniciens, conseillers et expérimentateurs, notamment au sein des groupes de travail nationaux existants (intrants INAO, produits alternatifs Ctifl, protection de la vigne ITAB...), et des administrations (MEDDLT, DGAL) mais il est prématuré de communiquer sur les résultats. Plusieurs organismes ont émis le souhait de pouvoir mener des essais en suivant les protocoles en utilisant les mêmes préparations que dans le programme 4P (Lycée agricole de Lomme, SEDARB BioBourgogne). L'ITAB se charge de faire le lien entre le programme 4P et ces « partenaires associés ».

### **Plantes testées dans le cadre du projet**

Nom commun	Nom latin	Partie de la plante
Armoise commune	<i>Artemisia vulgaris</i>	Feuilles et fleurs
Menthe poivrée	<i>Mentha piperita</i>	Feuilles
Prêle des champs	<i>Equisetum arvense</i>	Feuilles
Prêle des champs	<i>Equisetum arvense</i>	Feuilles
Saule blanc	<i>Salix alba</i>	Feuilles
Saule blanc	<i>Salix alba</i>	Ecorce

*Remarque : les écorces de saule n'ont été testées que dans le cadre de l'axe 1, elles n'ont pas été testées dans l'axe 2, mais les résultats obtenus en laboratoire serviront à alimenter les travaux menés en 2011.*

### **Précisions**

L'extrait de prêle a été choisi comme premier projet (pilote), dans le programme opérationnel. C'est un extrait végétal fréquemment utilisé sur le terrain, qui fait l'objet

d'études dans le cadre du programme 4P (CASDAR) et dont l'amorce du dossier a été constituée à l'Itab par Isabella Tomasi et Monique Jonis et ensuite finalisé par Patrice Marchand dans la convention ITAB-MEDDE PNPP.

### Rappels règlementaires

Le ou les éléments naturels non génétiquement modifiés, à partir desquels sont élaborées les préparations naturelles peu préoccupantes, doivent :

- ✓ avoir fait l'objet d'une procédure d'inscription (approbation) sur la liste communautaire des substances actives ;

## **4 - les réalisés**

### Les Essais

#### Les tests en laboratoire

Cet axe était consacré aux travaux de recherche en laboratoire, à savoir ceux réalisés par les organismes de recherche publique (SupAgro Montpellier et Université Perpignan). Cet axe comprenait deux parties une étude en laboratoire des activités biologiques des extraits hydroalcooliques; et une étude toxicologique sur abeilles et phytoseïdes (acariens prédateurs). Une série de tests *in vitro* ont été réalisés en complément des actions terrain initialement prévues. Les résultats ont été ajoutés intentionnellement aux actions de cet axe même si l'approche est intermédiaire entre essais sur le terrain et essais en laboratoire.

#### Les auxiliaires.

Des mesures de toxicité aiguë sur abeilles ont été réalisées par l'INRA d'Avignon.

Une autre évaluation en Tour de Potter des effets toxicologiques des extraits éthanoliques a également eu lieu sur *Typhlodromus pyri*, acariens prédateurs présents dans les vignes et les vergers afin d'évaluer les effets indirects des extraits sur la fécondité des femelles et de leur descendance.

Des notations et comptages ont eu lieu, permettant de déterminer pour chacune des plantes (armoïse, menthe poivrée, prêle et saule) un niveau de mortalité induite pour les typhlodromes. Ces évaluations de toxicité directe ont été effectuées par le laboratoire de SupAgro Montpellier à partir de la méthode CEB N° 167 de Kreiter et Sentenac (2004).

#### Les test *in vitro*.

Une série de test *in vitro* a également été mise en place pour la première fois par l'IFV sur mildiou de la vigne en compléments des essais d'efficacité au vignoble. Trois types de tests ont ainsi été effectués sur feuilles détachées ou disques foliaires, provenant du vignoble aquitain de l'IFV : anti-germinatif, curatif et préventif.

Les activités biologiques des extraits de plantes ont été testées en laboratoire. Tout d'abord l'activité antifongique testée sur différentes espèces de champignons phytopathogènes (*Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea*), agents de la pourriture de nombreux fruits et légumes et également présents sur vigne ; et parallèlement, l'activité antibactérienne d'une souche pathogène de nombreux fruits et légumes, *Pectobacterium atrosepticum* ou *Pectobacterium carotovorum* ssp *atrosepticum* responsable de la pourriture molle. Une série de tests *in vitro* de mobilisation (stimulation) des défenses des plantes a été réalisée par le CESN (Centre d'étude des Substances Naturelles), pour déterminer la possible action élicitrice des préparations.

Enfin, l'étude toxicologique des 5 préparations hydroalcooliques par l'Université de Perpignan a concerné plusieurs modèles biologiques d'invertébrés aquatiques, aériens et prédateurs naturels des ravageurs. Pour les organismes aquatiques, deux modèles ont été utilisés : l'artémie *Artemia salina* et la daphnie *Daphnia pulex*.

### Les analyses des extraits.

L'étude en laboratoire de l'activité des extraits hydroalcooliques comprend une série de test de caractérisation des composés actifs par chromatographie. Ces profils chromatographiques HPLC-DAD-DEDL permettent d'obtenir des informations pour aider à la caractérisation des différentes classes de composés polyphénoliques et pour comprendre les activités de chaque extrait végétal. L'autre partie de l'étude en laboratoire concerne la stabilité dans le temps des extraits de plantes. Une Etude cinétique de la photodégradation des composés a été menée. Des prélèvements ont eu lieu pendant 8h toutes les 2 heures afin de caractériser l'évolution des concentrations en polyphénols totaux dans les extraits de plantes soumis à un éclairage (indice UV 4). Une étude de l'activité antioxydante des extraits a également été menée par dosage colorimétrique.

### Les essais en pots

#### En viticulture.

L'efficacité des produits alternatifs a été testée au Grab dans des dispositifs en bloc à 4 répétitions dans des vignobles français, de 2010 à 2012, sur des vignes en pot sous ombrière.

### Les essais en plein champs

Les essais ont révélés de grandes lacunes en phytothérapie à application agricole, une méconnaissance des plantes et de leur niveau d'efficacité.

#### En viticulture.

##### Synthèse de 3 années d'essai sur 5 sites en France

Le but était la maîtrise du mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*, Pv.), notamment en agriculture biologique. Les essais ont été effectués en association avec une faible dose de cuivre, une comparaison à une référence cuivre régionale (400 à 600 g de cuivre métal par hectare), un témoin non traité et modalité faible dose de cuivre (150 g de cuivre métal par hectare) : la fréquence et l'intensité d'attaque du mildiou sur feuilles et sur grappes ont été mesurées.

#### En arboriculture.

L'objectif était la protection des arbres fruitiers et la recherche d'alternatives à l'utilisation du cuivre et du soufre.

#### En maraîchage.

Le phytopathogène le plus redouté sur salade, notamment en AB, est le mildiou (*Bremia*), les dégâts pouvant être très importants, parfois dès la pépinière ; deux facteurs principaux expliquent ce problème: le contournement récurrent des résistances génétiques par de nouvelles souches pathogènes (28 races déterminées), et la faiblesse des méthodes de lutte biologique possibles.

# 2010

## 1 - Déroulement du projet : tâches effectuées à l'issue de l'année 1

Toutes les préparations naturelles utilisées lors de cette 1<sup>ère</sup> année du projet (aussi bien pour l'axe 1 que le 2) ont été réalisées par les expérimentateurs selon une recette commune, et partir de plantes sèches issues des mêmes lots et des même fournisseurs (commandes collectives). C'est une préparation sous forme de tisane (les plantes séchées sont mise à infuser dans le l'eau bouillante pendant un temps donné), qui a été adoptée.

### Plantes testées dans le cadre du projet

Nom commun	Nom latin	Partie de la plante
Armoise commune	<i>Artemisia vulgaris</i>	Feuilles et fleurs
Menthe poivrée	<i>Mentha piperita</i>	Feuilles
Prêle des champs	<i>Equisetum arvense</i>	Feuilles
Prêle des champs	<i>Equisetum arvense</i>	Feuilles
Saule blanc	<i>Salix alba</i>	Feuilles
Saule blanc	<i>Salix alba</i>	Ecorce

*Remarque : les écorces de saule n'ont été testées que dans le cadre de l'axe 1, elles n'ont pas été testées dans l'axe 2, mais les résultats obtenus en laboratoire serviront à alimenter les travaux menés en 2011.*

## 2 - Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d'action des préparations végétales

Cet axe étant consacré aux travaux de recherche en laboratoire, seuls les organismes de recherche publique. Cette axe 1 comprenait deux parties une étude en laboratoire des activités biologiques; et une étude toxicologique sur abeilles et phytoséides.

Les activités biologiques sur différentes espèces de champignons phytopathogènes, des préparations de plantes issues de deux extractions différentes (extraction aqueuse et extraction organique) ont été évaluées (effets sur la croissance du mycélium et sur la germination des spores). Parallèlement, une analyse chromatographique a été menée. Les profils chromatographiques HPLC-DAD-DEDL permettent d'obtenir des informations pour aider à la caractérisation et pour comprendre les activités de chaque extrait végétal.

L'étude toxicologique sur les 4 préparations a concerné:

- ✓ la toxicité aiguë, la toxicité sub-chronique (mode continu d'intoxication) et la toxicité induite (exposition à des doses répétées orales ou de contact) par les doses réitérées sur abeille. Etude menée par l'INRA d'Avignon ;

- ✓ une évaluation des effets des préparations sur *Typhlodromus pyri*, acariens prédateurs présents dans les vignes et les vergers. Ces évaluations de toxicité directe ont été effectuées par le laboratoire de SupAgro Montpellier à partir de la méthode CEB N° 167 de Kreiter et Sentenac (2004).

La présentation des travaux et les résultats complets, sont détaillés dans les comptes-rendus techniques des partenaires. Ils sont également été présentés et discutés lors la réunion plénière annuelle des partenaires du programme.

### 3 - Axe 2 : Evaluation et optimisation de l'utilisation de préparations végétales

Tous les essais ont été menés selon des protocoles communs élaborés lors des réunions préparatoires. Les préparations naturelles ont été réalisées par les expérimentateurs le jour même ou la veille du traitement.

Pour les essais viticulture (mildiou et oïdium) et arboriculture (tavelure), les préparations ont été testées en association avec de faibles doses de cuivre et/ou de soufre.

Partenaire Impliqué	Tâche de l'axe 2 réalisée en 2010
IFV	<b>Viticulture</b> : 1 essai oïdium en conditions contrôlées à l'IFV de Nîmes - Rodilhan en station et 1 essai mildiou à l'IFV de Bordeaux sur la parcelle d'un vigneron biologique
CA 71	<b>Viticulture</b> : 1 essai oïdium en conditions contrôlées sur une parcelle AB du lycée agricole de Davayé et 1 essai mildiou en conditions contrôlées sur la parcelle d'un vigneron biologique.
CA 77	<b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia sur la parcelle d'un maraîcher biologique
CA 82	<b>Arboriculture</b> : 1 essai monilia abricotier sur la parcelle d'un arboriculteur biologique du Tar et Garonne
GRAB	<b>Arboriculture</b> : 1 essai monilia abricotier sur la parcelle d'un arboriculteur biologique du Vaucluse <b>Viticulture</b> : 1 essai mildiou/oïdium sur la parcelle d'un vigneron biologique du Diois <b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons sur une parcelle de la station du GRAB à Avignon
SERAIL	<b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons sur une parcelle de la station de la SERAIL à Brindas (69)
ADABIO	<b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons sur la parcelle d'un maraîcher biologique de l'Ain. <b>Arboriculture</b> : 1 essai tavelure du pommier et puceron cendré sur la parcelle d'un arboriculteur biologique de Haute Savoie <b>Viticulture</b> 1 essai mildiou/oïdium sur la parcelle d'un vigneron biologique de Savoie
FREDON NPdC	<b>Maraîchage</b> : 1 essai en conditions contrôlées (laboratoire de la FREDON) pour tester l'effet des préparations sur les pucerons de la laitue <b>Arboriculture</b> : 1 essai tavelure du pommier et puceron cendré sur la parcelle d'un arboriculteur biologique du Nord.
Civam Bio 66	<b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons sur une parcelle de la station BioPhyto à Alenya (66)
IBB	<b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons sur une parcelle de la station PAIS sur le site du Lycée agricole de Suscinio-Morlaix

La présentation des essais et les résultats complets, sont détaillés dans les comptes-rendus techniques des partenaires. Ils sont également été présentés et discutés lors la réunion plénière annuelle des partenaires du programme.

#### **4 - Axe 3 : Coordination générale et diffusion / transfert**

Le travail de coordination a consisté en l'établissement des conventions avec tous les partenaires et à l'organisation des réunions de travail (voir modalités de suivi), la rédaction et la diffusion des comptes-rendus et à assurer le lien et la communication entre les différents partenaires, et les axes 1 et 2.

Pour cette première année du programme, il y a eu peu d'action de communication et de diffusion, car les connaissances disponibles sur l'usage des préparations sont essentiellement de nature empirique et un important travail pour formaliser ces données en question de recherche a dû être fait en amont. Une information générale sur l'existence et le contenu du programme a été faite dans les réseaux de partenaires, surtout auprès des techniciens, conseillers et expérimentateurs, notamment au sein des groupes de travail nationaux existants (intrants INAO, produits alternatifs Ctifl, protection de la vigne ITAB...), et des administrations (MEDDLT, DGAL) mais il est prématuré de communiquer sur les résultats. Plusieurs organismes ont émis le souhait de pouvoir mener des essais en suivant les protocoles en utilisant les mêmes préparations que dans le programme 4P (Lycée agricole de Lomme, SEDARB BioBourgogne). L'ITAB se charge de faire le lien entre le programme 4P et ces « partenaires associés ».

#### **5 - Modalités de suivi**

##### Etat du conventionnement du chef de file avec les partenaires du programme

Chaque partenaire bénéficiaire de fonds du CAS DAR a participé au programme ainsi qu'annoncé.

Les conventions ont été signées.

Chaque partenaire a bénéficié du versement du premier acompte, correspondant à la signature de la convention avec l'ITAB.

##### Modalités de pilotage ; calendrier des réunions

Afin d'assurer circulation de l'information efficace et satisfaisante, il a été décidé de faire une réunion annuelle rassemblant l'ensemble des partenaires du programme, couplé si possible avec un comité de pilotage afin de limiter les déplacements. Ensuite des réunions (physiques et téléphoniques) ainsi que des échanges bilatéraux entre les partenaires du programme se font autant que nécessaires.

Outre les partenaires impliqués dans le programme le comité de pilotage est composé d'experts en matière d'extraits naturels et d'évaluation des substances (Anses) de protections des plantes, ainsi que des représentants des Administrations (MEDDLT, DGAL, INAO..).

Date	Qui ?	Objet
20 janvier 2010	L'ensemble des partenaires du projet	Réunion de lancement du programme. Initialement il s'agissait d'une réunion physique à Paris, mais en raison des intempéries (tempêtes de neige) elle a dû être annulée et remplacée par une réunion téléphonique, il a en effet été impossible de trouver une date commune dans des délais convenables (avant 1 <sup>er</sup> février). L'objet était de réunir l'ensemble des partenaires autour des objectifs du projet, définir les protocoles par cultures, définir la recette de la préparation, effectuer les commandes groupées des plantes, préciser les articulations de travail entre les trois axes.
1 <sup>er</sup> mars 2010	Les partenaires de l'axe 2, effectuant des essais viticulture	Réunion physique à Montpellier. Il s'agissait de finaliser les protocoles communs et adopter les modalités communes à évaluer.
11 juin 2010	Les partenaires de l'axe 2 effectuant des essais maraîchage	Réunion téléphonique. Premier bilan des essais monilia/abricotiers et tavelure/pucerons/pommiers.
6 juillet 2010	Les partenaires de l'axe 2 effectuant des essais arboriculture	Réunion téléphonique. Premier bilan des essais sur Brémia et pucerons de la laitue, afin de préparer les essais qui seront mis en place cet automne.
23 novembre 2010	L'ensemble des partenaires du projet	Réunion physique à Paris. L'objet de cette réunion était de faire le bilan des travaux réalisés dans l'année, de partager et analyser les résultats obtenus et de définir les orientations de travail pour 2011.
24 novembre 2010	Le comité de pilotage + quelques partenaires du projet	Réunion physique à Paris. Le comité de pilotage, n'ayant pas pu être réuni en début d'année. Il s'agissait de faire part à ses membres du déroulement de la 1 <sup>ère</sup> année du projet et de recueillir leurs commentaires et avis sur le travail effectué, les résultats obtenus et sur les orientations 2011 définies la veille.

Ces différentes réunions ont donné lieu à des comptes-rendus diffusés aux participants, ils sont également disponibles auprès de l'ITAB. De nombreux échanges lors de conversations téléphonique ou de courriel permettent la circulation de l'information et assurent la cohérence entre les différents axes et entre les partenaires du projet.

## 1 - Déroulement du projet : tâches effectuées à l'issue de l'année 2

Toutes les préparations naturelles utilisées lors de cette 2ème année d'essais (aussi bien pour l'axe 1 que le 2) ont été réalisées par les expérimentateurs selon une recette commune, et partir de plantes sèches issues des mêmes lots et du même fournisseur. Pour cela, les besoins ont été évalués lors des réunions bilan de fin d'année et une commande collective a été passée auprès d'un unique producteur, qui a fourni toutes les plantes. Les plantes ont ensuite été traitées par un prestataire afin de réaliser l'extraction hydroalcoolique des composés. Les lots de plantes ont ensuite été évalués par l'Université de Perpignan qui a fait part aux partenaires expérimentation du dosage de préparation mère à utiliser pour procéder aux pulvérisations au champ (1g matière sèche par litre). A la différence de 2010, les préparations de plantes n'ont pas été faites sous forme de tisanes mais d'extraits hydroalcooliques ou éthanoliques (95°), plus stables. Ce type de préparation présente l'avantage d'avoir des concentrations plus élevées en métabolites secondaires (*a priori* les composés responsable de l'activité élicitrice et/ou directe des préparations), et réduit la difficulté pour les expérimentateurs de préparer leurs infusions et permet d'avoir des solutions identiques pour tous (pas de variations possibles dans les recettes).

Au lieu de laisser les plantes séchées infusées dans l'eau bouillante, elles ont été traitées dans un mélange eau + ethanol. Les mélanges ont ensuite été formatés afin de répondre aux normes de concentration voulues.

### Les 5 plantes ou parties de plantes testées dans le cadre du projet en 2011 et 2012 :

Nom commun	Nom latin	Partie de la plante
Armoise commune	<i>Artemisia vulgaris</i>	Feuilles et fleurs
Absinthe	<i>Artemisia absinthium</i>	Feuilles
Prêle des champs	<i>Equisetum arvense</i>	Feuilles
Saule blanc	<i>Salix alba</i>	Feuilles
Saule blanc	<i>Salix alba</i>	Ecorce

*Remarque : la menthe poivrée a été remplacée par l'absinthe (Artemisia absinthium), sauf lors des essais sur typhlodromes.*

## 2 - Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d'action des préparations végétales

Cet axe était consacré aux travaux de recherche en laboratoire, à savoir ceux réalisés par les organismes de recherche publique (SupAgro Montpellier et Université Perpignan). Cet axe 1 comprenait deux parties une étude en laboratoire des activités biologiques des extraits hydroalcooliques; et une étude toxicologique sur abeilles et phytoseïdes (acariens prédateurs). Une série de tests in vitro ont été réalisés cette année en complément des actions terrain initialement prévues. Le compte-rendu a été ajouté intentionnellement aux actions de cet axe 1 même si l'approche est intermédiaire entre essais terrain et essais labo.

L'étude en laboratoire de l'activité des extraits hydroalcooliques comprend une série de test de caractérisation des composés actifs par chromatographie (Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) et Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse : LC-MS). Ces profils chromatographiques HPLC-DAD-DEDL permettent d'obtenir des informations pour aider à la caractérisation des différentes classes de composés polyphénoliques et pour comprendre les activités de chaque extrait végétal.

L'autre partie de l'étude en laboratoire concerne la stabilité dans le temps des extraits de plantes. Une Etude cinétique de la photodégradation des composés a été menée. Des prélèvements ont eu lieu pendant 8h toutes les 2 heures afin de caractériser l'évolution des concentrations en polyphénols totaux dans les extraits de plantes soumis à un éclairage (indice UV 4). Une étude de l'activité antioxydante des extraits a également été menée par dosage colorimétrique.

Les activités biologiques des extraits de plantes ont été testées en laboratoire. Tout d'abord l'activité antifongique testée sur différentes espèces de champignons phytopathogènes (*Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea*), agents de la pourriture de nombreux fruits et légumes et également sur vigne ; et parallèlement, l'activité antibactérienne d'une souche pathogène de nombreux fruits et légumes, *Pectobacterium atrosepticum* ou *Pectobacterium carotovorum ssp atrosepticum*.

L'étude toxicologique des 5 préparations hydroalcooliques a concerné plusieurs modèles biologiques d'invertébrés aquatiques, aériens et prédateurs naturels des ravageurs. Pour les organismes aquatiques, deux modèles ont été utilisés : *Artemia salina* et *Daphnia pulex*.

Ces évaluations en laboratoire ont été réalisées par l'Université de Perpignan.

Une autre évaluation des effets toxicologiques des extraits éthanoliques a également eu lieu sur *Typhlodromus pyri*, acariens prédateurs présents dans les vignes et les vergers afin d'évaluer les effets indirects des extraits sur la fécondité des femelles et de leur descendance. Les populations de typhlodromes ont été suivies pendant 15 jours après traitement en Tour de Potter. Des notations et comptages ont eu lieu, permettant de déterminer pour chacune des plantes (armoise, menthe poivrée, prêle et saule) un niveau de mortalité induite pour les typhlodromes. Ces évaluations de toxicité directe ont été effectuées par le laboratoire de SupAgro Montpellier à partir de la méthode CEB N° 167 de Kreiter et Sentenac (2004).

Les mesures sur abeille de toxicité aiguë, toxicité sub-chronique (mode continu d'intoxication) et toxicité induite n'ont pas pu être réalisées du fait du retrait de l'INRA d'Avignon. Pour 2012, il est prévu que les actions de l'INRA d'Avignon soient reprises par SupAgro Montpellier. Un engagement écrit de reprise du budget prévu initialement pour l'INRA d'Avignon a été conclu.

La présentation des travaux et les résultats complets pour toutes ces mesures en laboratoire, sont détaillés dans les comptes-rendus techniques de SupAgro Montpellier et de l'Université de Perpignan. Ils sont également été présentés et discutés lors la réunion technique annuelle des partenaires du programme le 27 octobre 2011.

Une série de test in vitro a également été mise en place cette année pour la première fois par l'IFV sur mildiou de la vigne en compléments des essais d'efficacité au vignoble. Trois types de tests ont ainsi été effectués sur feuilles détachées ou disques foliaires, provenant du vignoble aquitain de l'IFV : anti-germinatif, curatif et préventif. Même si dans certains cas le nombre de répétition était sans doute trop faible pour conclure, les travaux menés en 2011 ont permis de construire une méthodologie qui sera utile pour les prochaines années et les prochains programmes. Certains résultats sont encourageants notamment l'effet anti-germinatifs sur les spores de champignons concernés, mais les tests de 2011 sont à approfondir pour bien identifier les doses efficaces (courbes doses-réponses).

### 3 - Axe 2 : Evaluation et optimisation de l'utilisation de préparations végétales

Comme en 2010, tous les essais ont été menés selon des protocoles communs élaborés lors des réunions préparatoires. Les préparations naturelles ont été réalisées par les expérimentateurs eux-mêmes le jour de réception des lots de préparations hydroalcooliques. Ce mode de préparation rend les préparations de plantes beaucoup plus stables dans le temps contrairement aux tisanes qu'il faut réaliser peu de temps avant le traitement.

Pour les essais viticulture (mildiou et oïdium) et arboriculture (tavelure et cloque), les préparations ont été testées en association avec de faibles doses de cuivre et/ou de soufre. Ces doses de soufre et de cuivre ont été raisonnées selon les pratiques locales.

Partenaire Impliqué	Tâche de l'axe 2 réalisée en 2011
IFV	<b>Viticulture</b> : 1 essai oïdium en conditions contrôlées à l'IFV de Nîmes en station pour saule, prêle, armoise et absinthe et soufre mouillable à 0,2N- Rodilhan en station et 1 essai mildiou à l'IFV de Bordeaux sur la parcelle d'un vigneron biologique pour Armoise, Saule (écorce), Prêle et Absinthe avec 100 g/ha Cu métal <b>Viticulture</b> : Essais <i>in vitro</i>
CA 71	<b>Viticulture</b> : 1 essai oïdium et 1 essai mildiou en conditions contrôlées sur la parcelle d'un vigneron biologique de bourgogne pour écorce de saule, prêle et absinthe avec 200g/ha Cu Métal et 1,6kg Soufre.
CA 82	<b>Arboriculture</b> : 1 essai cloque sur pêcher sur la parcelle d'un arboriculteur biologique du Tarn et Garonne pour armoise et prêle avec cuivre métal (1/2 dose producteur)
GRAB	<b>Arboriculture</b> : 1 essai cloque du pêcher sur la parcelle d'un arboriculteur biologique de PACA pour saule, prêle, menthe, armoise en infusion <b>Viticulture</b> : 1 essai mildiou/oïdium sur la parcelle d'un vigneron biologique du Diois pour saule écorce et saule feuille, prêle et absinthe avec 150g/ha Cu métal. <b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade pour saule écorce et prêle, avec observation secondaire sur les pucerons sur une parcelle de la station du GRAB à Avignon
SERAIL	<b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade pour saule écorce, saule feuille et prêle, 1 essai pucerons sur une parcelle de la station de la SERAIL à Brindas (69) pour armoise et absinthe
ADABIO	<b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade, avec observation secondaire sur les pucerons sur la parcelle d'un maraîcher biologique de l'Ain. <b>Arboriculture</b> : 1 essai tavelure du pommier avec notation sur puceron cendré et oïdium sur la parcelle d'un arboriculteur biologique de Haute Savoie pour armoise, absinthe, prêle, saule écorce et saule feuille. <b>Viticulture</b> 1 essai mildiou/oïdium sur la parcelle d'un vigneron biologique de

	Savoie pour saule écorce et saule feuille, prêle et absinthe avec 150g/ha Cu métal et 4kg/ha Soufre. Des notations ont également eu lieu sur black rot de la vigne.
FREDON NPdC	<b>Maraîchage</b> : 2 essais en conditions contrôlées (laboratoire de la FREDON) pour tester l'effet des préparations sur les pucerons de la laitue pour armoise et absinthe <b>Arboriculture</b> : 1 essai tavelure du pommier et puceron cendré sur la parcelle d'un arboriculteur biologique du Nord pour armoise et prêle
Civam Bio 66	<b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade pour saule écorce et saule feuille et prêle, et avec observation secondaire sur les pucerons sur une parcelle de la station BioPhyto à Alenya (66)
IBB	<b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade pour saule écorce, saule feuille et prêle, avec observation secondaire sur les pucerons sur une parcelle de la station PAIS sur le site du Lycée agricole de Suscinio-Morlaix

La présentation des essais et les résultats complets, sont détaillés dans les comptes-rendus techniques des partenaires. Ils sont également été présentés et discutés lors la réunion plénière annuelle des partenaires du programme.

En plus des essais prévus dans le programme France AgriMer, d'autres essais assez similaires ont été faits à partir des préparations de plantes par d'autres partenaires d'expérimentation et de recherche du réseau national Agriculture Biologique en parallèle des essais 4P et souvent selon les mêmes protocoles. Leurs conclusions pourront être reprises lors des publications et communications de fin de projet.

Pour 2011, deuxième année du programme CASDAR 4P, un **complément de financement national FranceAgrimer** a pu être obtenu permettant de multiplier le nombre de sites d'expérimentations de terrain et d'associer de nouveaux partenaires de recherche et expérimentation, travaillant sur les mêmes problématiques (AgroBioPérigord, Lycée horticole de Lomme). Ce dispositif n'est valable que pour 2011 et permet des expérimentations complémentaires. Le montant de la convention passée entre l'ITAB et FranceAgrimer est de 150 925,70 euros. 6 partenaires ont bénéficié de ce complément de financement à savoir l'ITAB, le GRAB, l'ADABIO, le CivamBio66 ainsi que 2 nouveaux partenaires (AgroBioPérigord et EPLEFPA - Lycée horticole de Lomme). Le montant total de la subvention perçue est de 47 719,19 euros sur une assiette de dépenses éligibles de 128 204,754 euros.

Le tableau ci-dessous présente les essais réalisés notamment grâce aux financements FranceAgrimer (**en vert/gras**) :

Systeme de production	Cible de l'essai / Lieu de l'essai
<i>Maraîchage</i> (12 essais)	<p><b><i>Puceron/mildiou (brémia) sur laitue</i></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ GRAB (1 essai) : sur le domaine d'un maraîcher bio de Provence</li> <li>◆ FREDON NPdC (1 essai) : en station la 1ère année et sur le domaine d'un maraîcher bio du NPdC, les années suivantes</li> <li>◆ SERAIL (2 essais) : station expérimentale de la SERAIL. Rhône</li> <li>◆ <b>ADABIO (2 essais): sur deux parcelles de maraîchers AB</b></li> <li>◆ CA 75 (1 essai): sur le domaine d'un maraîcher bio dans le Val d'Oise ou les Yvelines</li> <li>◆ <b>CivamBio 66 (2 essais): station expérimentale Biophyto. Pyrénées Orientales</b></li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ IBB (2 essais) : station expérimentale PAIS-Susciniio dans le Finistère</li> <li>◆ Lycée de Lomme (EPLEFPA 59) (1 essai) : parcelle biologique de la ferme du lycée</li> </ul>
Arboriculture (4 essais)	<p><b>Puceron/tavelure sur pommier</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ ADABIO (1 essai): sur le domaine d'un arboriculteur bio de Savoie</li> <li>◆ FREDON NPdC (1 essai): sur le domaine d'un arboriculteur Arboriculture bio du NPdC</li> </ul> <p><b>Puceron/moniliose sur abricotier</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ GRAB (1 essai) : sur le domaine d'un arboriculteur bio de Provence</li> <li>◆ CA 82 (1essai): sur le domaine d'un arboriculteur bio du Tarn et Garonne</li> </ul>
Viticulture (10 essais)	<p><b>Mildiou/oïdium/black rot/cicadelle verte sur vigne</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ GRAB (2 essais) : <ul style="list-style-type: none"> <li>- en station sur jeunes plants en pot en conditions contrôlées (sous abri)</li> <li>- en parcelle producteur AB en Rhône Alpes.</li> </ul> </li> <li>◆ ADABIO (3 essai) : sur la parcelle d'un vigneron bio de Rhône-Alpes</li> <li>◆ IFV (2 essais) : station IFV Bordeaux - Blanquefort. Gironde et station IFV de Gaillac. Tarn (sous réserve)</li> <li>◆ CA 71 (1 essai) : domaine du Lycée agricole de Davaye. Saône et Loire</li> <li>◆ IFV (1 essai) : station IFV Nîmes - Rodilhan. Gard</li> <li>◆ CA 71 (1 essai) : domaine expérimental CA 71 Lugny. Saône et Loire</li> <li>◆ AgroBioPérigord (1 essai) sur des parcelles de vigneron biologiques (Bergeracois)</li> </ul>

#### 4 - Axe 3 : Coordination générale et diffusion / transfert

Le travail de coordination a consisté à l'organisation des réunions de travail à savoir 4 réunions téléphoniques par filières (viticulture, arboriculture et maraichage + essais laboratoire) le 13 septembre 2011 ainsi qu'à la préparation et la tenue d'une réunion technique nationale le 27 octobre afin de faire le point sur les essais 2011 et les problèmes rencontrés. Le travail de rédaction et de diffusion des comptes-rendus a permis de communiquer sur les résultats de l'année 2011 auprès des différents partenaires, et entre les axes 1 et 2.

En 2011, un travail de coordination avec d'autres programmes nationaux menés par l'ITAB (Convention PNPP avec le Ministère de l'Ecologie) a permis de valoriser les résultats acquis en laboratoire et au champ à travers le montage d'un dossier technique pour la Prêle. Ce dossier d'inscription européenne a été présenté aux autorités françaises en charge des produits de protection des plantes et soumis à la DG SANCO pour évaluation dans le cadre de la procédure d'inscription de la nouvelle réglementation RCE n°1107/2009. A terme, d'autres dossiers techniques devraient être proposés, reprenant les données produits par les partenaires du projet 4P pour les autres plantes sur le même modèle que la Prêle.

Lors de cette deuxième année du programme, les actions de communication ont surtout eu lieu lors de réunions techniques de travail et de réunion bout de champ. Etant donné le contexte climatique très particulier et la valeur statistique des résultats, il était difficile de communiquer beaucoup plus sur les résultats. Néanmoins, quelques fiches techniques ont été produites notamment sur la Prêle et l'Ortie, reprenant les données du programme 4P.

Une information générale sur l'existence et le contenu du programme a été faite dans les réseaux de partenaires, surtout auprès des techniciens, conseillers et expérimentateurs, notamment au sein des groupes de travail nationaux existants (groupe intrants de l'INAO, produits alternatifs Ctifl, protection de la vigne ITAB,...), et des administrations (MEDDTL, DGAL) mais il est encore prématuré de communiquer sur les résultats.

## 5 - Modalités de suivi

### Etat du conventionnement du chef de file avec les partenaires du programme

Contrairement à 2010, tous les partenaires engagés au départ n'ont pas participé aux actions d'expérimentation et recherche en 2011.

L'INRA d'Avignon s'est officiellement désengagé du projet dès 2011. Les actions seront reprises par SupAgro Montpellier pour 2012. Un avenant à la convention a été signé début 2012. La Chambre d'Agriculture d'Ile de France n'a pas fait les essais maraichage prévus faute de personnel non remplacé pour 2011. La Chambre d'Agriculture du Tarn et Garonne a également fait savoir qu'elle ne demanderait aucun financement pour 2011 et 2012.

Le bilan financier général tiendra compte de ces changements et devrait permettre de réorienter certains des financements pour 2012, sur avis du Comité de Pilotage.

### Modalités de pilotage ; calendrier des réunions

Afin d'assurer la circulation de l'information, il a été décidé de faire une réunion annuelle technique rassemblant l'ensemble des partenaires du programme, Cette réunion n'a pas pu être couplée en 2011 avec le comité de pilotage. La réunion du Comité de Pilotage devrait avoir lieu en Mai 2012 une fois le rapport rendu et le bilan financier réalisé pour les années 2010 et 2011. Cette réunion devrait permettre de présenter un état des lieux des actions réalisées et des actions restant à mener avant la fin du programme. Des réunions (physiques et téléphoniques) ainsi que des échanges bilatéraux entre les partenaires du programme se feront autant que nécessaires.

Outre les partenaires impliqués dans le programme le comité de pilotage est composé d'experts en matière d'extraits naturels et d'évaluation des substances (ANSES) de protections des plantes, ainsi que des représentants des Administrations (MEDDTL, DGAL, INAO..).

Date	Qui ?	Objet
Janvier 2011	Certains partenaires	Dépôt d'une demande de compléments de financement à France AgriMer
Avril - Mai 2011	ITAB	Reprise des actions du CASDAR 4P par Côme Isambert, nouvellement arrivé à l'ITAB en remplacement de Monique Jonis. Changement également pour de nombreux partenaires (CA 71, SERAIL, INRA Avignon)
13 Septembre 2011	L'ensemble des partenaires du projet	Réunions téléphoniques d'1h30 pour chacune des 3 filières et les partenaires labo. Bilan des essais du début 2011 et préparation des essais qui seront mis en place cet automne.

Date	Qui ?	Objet
Novembre - Décembre 2011	L'ensemble des partenaires du projet	Evaluation des besoins en plantes pour la campagne 2012 et commande
Reportée en Juin 2012	Le comité de pilotage + quelques partenaires du projet	Réunion physique prévue à Paris mais décalée faute de date commune. Elle devait cependant avoir lieu en Mai 2012. L'objet de cette réunion était de faire le bilan des travaux réalisés dans l'année et le bilan financier, de partager et analyser les résultats obtenus et d'envisager d'éventuels essais complémentaires pour 2012 (mesures SDN). Réunion physique à Paris.

Ces différentes réunions ont donné lieu à des comptes-rendus diffusés aux participants, ils sont également disponibles auprès de l'ITAB. De nombreux échanges lors de conversations téléphoniques ou de courriels permettent la circulation de l'information et assurent la cohérence entre les différents axes et entre les partenaires du projet.

## **1 - Déroulement du projet : tâches effectuées à l'issue de l'année 3**

Toutes les préparations naturelles utilisées lors de cette 2ème année d'essais (aussi bien pour l'axe 1 que le 2) ont été réalisées par les expérimentateurs selon une recette commune, et partir de plantes sèches issues des mêmes lots et du même fournisseur. Pour cela, les besoins ont été évalués lors des réunions bilan de fin d'année et une commande collective a été passée auprès d'un unique producteur, qui a fourni toutes les plantes. Les plantes ont ensuite été traitées par un prestataire afin de réaliser l'extraction hydroalcoolique des composés. Les lots de plantes ont ensuite été évalués par l'Université de Perpignan qui a fait part aux partenaires expérimentation du dosage de préparation mère à utiliser pour procéder aux pulvérisations au champ (1g matière sèche par litre) comme en 2011.

## **2 - Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d'action des préparations végétales**

Cet axe était consacré aux travaux de recherche en laboratoire, à savoir ceux réalisés par les organismes de recherche publique (SupAgro Montpellier). Cet axe 1 comprenait deux parties une étude en laboratoire des activités biologiques des extraits hydroalcooliques; et une étude toxicologique sur abeilles en 2012. Une série de tests in vitro ont été réalisés par le CESN cette année en complément des actions terrain initialement prévues. Il était en effet intéressant d'effectuer des tests de mobilisation des défenses des plantes pour savoir si l'hypothèse de stimulation de ces défenses était recevable.

Le compte-rendu a été ajouté intentionnellement aux actions de cet axe 1 même si l'approche est intermédiaire entre essais terrain et essais labo.

L'étude en laboratoire de l'activité des extraits hydroalcooliques comprend une série de test de caractérisation des composés actifs par chromatographie (Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) et Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse : LC-MS). Ces profils chromatographiques HPLC-DAD-DEDL permettent d'obtenir des informations pour aider à la caractérisation des différentes classes de composés polyphénoliques et pour comprendre les activités de chaque extrait végétal.

L'autre partie de l'étude en laboratoire concerne la stabilité dans le temps des extraits de plantes. Une Etude cinétique de la photodégradation des composés a été menée. Des prélèvements ont eu lieu pendant 8h toutes les 2 heures afin de caractériser l'évolution des concentrations en polyphénols totaux dans les extraits de plantes soumis à un éclairage (indice UV 4). Une étude de l'activité antioxydante des extraits a également été menée par dosage colorimétrique.

Les activités biologiques des extraits de plantes ont été testées en laboratoire par l'IFV. Tout d'abord l'activité antifongique testée sur différentes espèces de champignons phytopathogènes (*Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea*), agents de la pourriture de

nombreux fruits et légumes et également sur vigne ; et parallèlement, l'activité antibactérienne d'une souche pathogène de nombreux fruits et légumes, *Pectobacterium atrosepticum* ou *Pectobacterium carotovorum ssp atrosepticum*.

Une autre évaluation des effets toxicologiques des extraits éthanoliques a également eu lieu sur *Apis mellifera*, l'abeille domestique présents dans les vignes et les vergers afin d'évaluer les effets indirects des extraits sur la mortalité. Les mesures sur abeille de toxicité aiguë, toxicité sub-chronique (mode continu d'intoxication) et toxicité induite n'ont pas pu être réalisées du fait du retrait de l'INRA d'Avignon. Pour 2012, ces actions de l'INRA d'Avignon ont été reprises par SupAgro Montpellier.

Une série de test *in vitro* a été mise en place cette année par l'IFV sur mildiou de la vigne en compléments des essais d'efficacité au vignoble. Trois types de tests ont ainsi été effectués sur feuilles détachées ou disques foliaires, provenant du vignoble aquitain de l'IFV : anti-germinatif, curatif et préventif.

#### Résultats des tests préventifs

Statistiquement, il n'y a pas de différence entre les modalités plantes et le témoin alcool. On observe néanmoins des tendances pour la modalité absinthe et saule, mais elles sont hétérogènes et ne dépassent pas 10 à 20% d'efficacité. On ne retrouve pas les efficacités quasi-totales sur les tests « anti-germinatifs ».

### **3 - Axe 2 : Evaluation et optimisation de l'utilisation de préparations végétales**

Comme en 2011, tous les essais ont été menés selon des protocoles communs élaborés lors des réunions préparatoires. Les préparations naturelles ont été réalisées par les expérimentateurs eux-mêmes le jour de réception des lots de préparations hydroalcooliques. Ce mode de préparation rend les préparations de plantes beaucoup plus stables dans le temps contrairement aux tisanes qu'il faut réaliser peu de temps avant le traitement.

Pour les essais viticulture (mildiou et oïdium) et arboriculture (tavelure et cloque), les préparations ont été testées en association avec de faibles doses de cuivre et/ou de soufre. Ces doses de soufre et de cuivre ont été raisonnées selon les pratiques locales.

Partenaire Impliqué	Tâche de l'axe 2 réalisée en 2012
IFV	<b>Viticulture</b> : 1 essai oïdium en conditions contrôlées à l'IFV de Nîmes en station pour saule, prêle, armoise et absinthe et soufre mouillable à 0,2N- Rodilhan en station et 1 essai mildiou à l'IFV de Bordeaux sur la parcelle d'un vigneron biologique pour Armoise, Saule (écorce), Prêle et Absinthe avec 100 g/ha Cu métal
	<b>Viticulture</b> : Essais <i>in vitro</i>
CA 71	<b>Viticulture</b> : 1 essai oïdium et 1 essai mildiou en conditions contrôlées sur la parcelle d'un vigneron biologique de bourgogne pour écorce de saule, prêle et absinthe avec 200g/ha Cu Métal et 1,6kg Soufre.
CA 82	<b>Arboriculture</b> : 1 essai cloque sur pêcher sur la parcelle d'un arboriculteur biologique du Tarn et Garonne pour armoise et prêle avec cuivre métal (1/2 dose producteur)

GRAB	<p><b>Arboriculture</b> : 1 essai cloque du pêcher sur la parcelle d'un arboriculteur biologique de PACA pour saule, prêle, menthe, armoise en infusion</p> <p><b>Viticulture</b> : 1 essai mildiou/oïdium sur la parcelle d'un vigneron biologique du Diois pour saule écorce et saule feuille, prêle et absinthe avec 150g/ha Cu métal.</p> <p><b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade pour saule écorce et prêle, avec observation secondaire sur les pucerons sur une parcelle de la station du GRAB à Avignon</p>
SERAIL	<p><b>Maraîchage</b>: 1 essai brémia salade pour saule écorce, saule feuille et prêle, 1 essai pucerons sur une parcelle de la station de la SERAIL à Brindas (69) pour armoise et absinthe</p>
ADABIO	<p><b>Maraîchage</b> : Pas d'essais en 2012 (certificat)</p> <p><b>Arboriculture</b> : 1 essai tavelure du pommier avec notation sur puceron cendré et oïdium sur la parcelle d'un arboriculteur biologique de Haute Savoie pour armoise, absinthe, prêle, saule écorce et saule feuille.</p> <p><b>Viticulture</b> 1 essai mildiou/oïdium sur la parcelle d'un vigneron biologique de Savoie pour saule écorce et saule feuille, prêle et absinthe avec 150g/ha Cu métal et 4kg/ha Soufre. Des notations ont également eu lieu sur black rot de la vigne.</p>
FREDON NPdC	<p><b>Maraîchage</b> : 2 essais en conditions contrôlées (laboratoire de la FREDON) pour tester l'effet des préparations sur les pucerons de la laitue pour armoise et absinthe</p> <p><b>Arboriculture</b> : 1 essai tavelure du pommier et puceron cendré sur la parcelle d'un arboriculteur biologique du Nord pour armoise et prêle</p>
Civam Bio 66	<p><b>Maraîchage</b> : Pas d'essais en 2012</p>
IBB	<p><b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade pour saule écorce, saule feuille et prêle, avec observation secondaire sur les pucerons sur une parcelle de la station PAIS sur le site du Lycée agricole de Suscinio-Morlaix</p>
CA IdF	<p><b>Maraîchage</b> : 1 essai brémia salade en 2012 (batavia, laitue, laitue rouge) pour saule écorce, saule feuille, prêle, armoise et absinthe chez un producteur à Cergy (95) par la CA IdF</p>

La présentation des essais et les résultats complets, sont détaillés dans les comptes-rendus techniques des partenaires. Ils ont également été présentés et discutés lors la journée du 10 avril 2013 au cœur des Journées sur les Substances naturelles organisées par l'ITAB et le GRAB.

En plus des essais prévus dans le programme, d'autres essais assez similaires ont été faits à partir des préparations de plantes par d'autres partenaires d'expérimentation et de recherche du réseau national Agriculture Biologique en parallèle des essais 4P et souvent selon les mêmes protocoles. Leurs conclusions ont être reprises en partie lors des exposés et des communications les 9 et 10 avril.

Pour 2012, dernière année du programme CASDAR 4P, aucun **complément de financement national FranceAgrimer** n'a pu être obtenu. **Nous regrettons fortement ce manque de soutien.**

#### **4 - Axe 3 : Coordination générale et diffusion / transfert**

##### Coordination générale

La coordination générale a été effectuée en tenant compte de nombreuses contraintes météorologiques, humaines, conceptuelles et techniques. L'ensemble du projet a pu ainsi faire travailler, échanger et progresser ensemble les acteurs de terrains avec les acteurs de la recherche scientifique. Le chef de projet a pu alternativement diriger le projet mais aussi favoriser l'échange de l'information entre les partenaires. Les conclusions tirées de la coordination de ce projet déboucheront sur un document guide « Conduire des essais d'expérimentation avec des extraits de plantes » prévu pour la fin 2013 qui n'était pas un livrable de départ mais qui s'avère nécessaire et utile à l'aune des écueils rencontrés.

## 5 - Modalités de suivi

### Etat du conventionnement du chef de file avec les partenaires du programme

Tous les partenaires engagés au départ n'ont pas participé aux actions d'expérimentation et recherche en 2012. La Chambre d'Agriculture d'Île de France n'a pas fait les essais maraichage prévus faute de personnel non remplacé en 2011, elle prendra en charge les analyses complémentaires métabolomiques du CESN.

Le bilan financier général tiendra compte de ces changements et devrait permettre de réorienter certains des financements pour 2012, sur avis du Comité de Pilotage et validation des partenaires.

### Modalités de pilotage ; calendrier des réunions

Côme Isambert a été remplacé par Patrice Marchand. Le projet n'a pas subi de conséquences négatives suite au changement du chef de projet. En particulier, les expérimentations n'ont pas souffert du changement de chef de projet dans le sens où les prévisions ont été réalisées. Outre les partenaires impliqués dans le programme, le comité de pilotage est composé d'experts en matière d'extraits naturels et d'évaluation des substances (ANSES) de protection des plantes, ainsi que des représentants des Administrations (MEDDE, DGAL, INAO...).

Date	Qui ?	Objet
Juin 2012	Le comité de pilotage	Réunion physique à Paris. Peu de participants
Septembre 2012	ITAB	Reprise des actions du CASDAR 4P par Patrice Marchand
Novembre 2012	L'ensemble des partenaires du projet	Demande de prolongation jusqu'à fin avril 2013

Ces différentes réunions ont donné lieu à des comptes-rendus diffusés aux participants, ils sont en annexe. De nombreux échanges téléphoniques ou par courriels ont permis non seulement une bonne circulation de l'information mais aussi ont assuré la cohérence entre les différents axes et entre les partenaires du projet.

# 2013

## **1 - Déroulement du projet : tâches effectuées à l'issue de l'année 3+**

La question a été abordée en Comité de Pilotage en juin 2012, il a été décidé de demander la prolongation pour finir les expérimentations (en particulier en laboratoire). Un avenant de prolongation ayant été signé fin 2012 avec la DGER, le programme CASDAR 4P a été prolongé jusqu'à fin avril 2013 afin de pourvoir :

✓ Traiter les essais *in vitro* de tests de mobilisation métabolique. La question de tests complémentaires de mesure de l'activité élicitrice des préparations se pose en 2012 d'autant que la SERAIL est engagé dans le programme DefiStim portant sur la mesure de ces composés éliciteurs dans le végétal. Le COPIL a sollicité des partenaires, des recommandations de laboratoire ; la SERAIL et le LCBE/LPVD ont suggéré le CESN, la proposition a été validée par l'ITAB,

✓ Inclure dans le temps du programme la journée de restitution. Les journées Substances naturelles en protection des cultures ont été programmées les 9-10 avril 2013 à Paris. Une demi-journée complète a été dédiée au programme CASDAR 4P en 3 présentations distinctes pour les problématiques viticulture, maraichage, arboriculture et conjointes pour chaque filière.

## **2 - Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d'action des préparations végétales**

Cet axe était consacré aux travaux de recherche en laboratoire, en 2012-2013 ont été réalisés des essais *in vitro* pour déterminer la possible action élicitrice des préparations. Les analyses concernant le déclenchement du métabolome se sont conclues par une absence d'effet éliciteur de ces préparations, pour les quatre extraits de plantes : armoise, absinthe, prêle et saule.

## **3 - Axe 2 : Evaluation et optimisation de l'utilisation de préparations végétales**

Les commentaires des partenaires, les retours sur expérience des expérimentateurs terrain et les conclusions du chef de projet ont été clairs sur ce point, le programme 4P a généré de nombreuses questions, plus peut être qu'il n'a proposé de réponse et en particulier une saine critique sur les initiaux du programme.

En effet, si les conclusions des expérimentations terrains sont plutôt positives, nombre de questions *a posteriori* se sont faites jour. La question de la formulation, des mélanges et des capacités intrinsèque des préparations reste posée.

## **4 - Axe 3 : Coordination générale et diffusion / transfert**

### **Coordination générale**

La coordination générale en 2013 a consisté en l'organisation du comité de pilotage de fin janvier et des journées Substances Naturelles de l'Itab et du Grab les 9 et 10 avril 2013.

### **Diffusion**

La diffusion des résultats outre les rapports finaux au ministère a été effectuée par les journées Substances Naturelles de l'Itab et du Grab les 9 et 10 avril 2013. Les résultats et les présentations ainsi que les posters sont en accès libre sur le site de l'ITAB.

Dans le cadre du programme 4 P, la totalité des rapports, ordonnés sera disponible en ligne à la fin du programme.

### **Transfert**

En 2011, un travail de coordination avec d'autres programmes nationaux menés par l'ITAB (Convention PNPP avec le Ministère de l'Ecologie) a permis de valoriser les résultats acquis en laboratoire et au champ à travers le montage d'un dossier d'approbation pour la Prêle. Ce dossier d'inscription européenne a été présenté aux autorités françaises en charge des produits de protection des plantes et soumis à la DG Sanco pour évaluation dans le cadre de la procédure d'inscription de la nouvelle réglementation CE n°1107/2009. En 2012, d'autres dossiers techniques concernant les 3 autres plantes du 4P (testées en 2011 et 2012) ont été proposés, reprenant les données produits par les partenaires du projet 4P pour les autres plantes sur le même modèle que la Prêle.

Ces quatre dossiers sont actuellement entre les mains de la DGSanco, le dossier pilote Prêle a été soumis en première instance le 16-17 mai 2013 au CPCASA (Comité Permanent de la Chaîne Alimentaire et de la Santé Animale). Le vote, s'il a lieu, n'interviendra que vers la fin 2013, sur la base de l'avis de l'EFSA. Cet avis, EN-425 sur *Equisetum* (Prêle) accessible en ligne, est très négatif, sans préjugé de l'accueil réservé aux substances de base par les Etats Membres.

Une information générale sur l'existence et le contenu du programme a été faite dans les réseaux de partenaires, surtout auprès des techniciens, conseillers et expérimentateurs, notamment au sein des groupes de travail nationaux existants (commission intrants de l'INAO, produits alternatifs Ctifl, protection de la vigne ITAB, GT Intrants alternatifs DGAL...), et des administrations (MEDDE, DGAL).

En particulier, le chef de file ITAB a publié des fiches d'information correspondantes à certain des extraits utilisés dans le 4 P (Prêle).

Une restitution du programme 4P et les possibilités réglementaires « d'homologations » a eu lieu lors des journées Substances Naturelles de l'Itab et du Grab les 9 et 10 avril 2013.

## **5 - résultats et état de l'avancement de l'homologation des extraits**

« Programme 4P Evaluation des caractéristiques et de l'intérêt agronomique de préparations simples de plantes, pour des productions fruitières, légumières et viticoles économes en intrants 2009/2013 »  
Rapport technique à la DGER (Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt)

## Dossiers de Substances de Bases

Statut	Plante Plant	Nom latin	Parties	s.a. Substance(s) active(s) ou toxicolo- giquement importante	Action (I, F)	Cible	Usage
Finalisé Approuvé le 20 mars 2014	Prêle Horsetail	<i>Equisetum arvense</i>	aériennes	silice acide nicotinique	F	tavelure	Arbo
						mildiou	Viti
							Arbo
						alternariose	Maraich
Admissible En cours d'évaluation	Saule/osier Willow	<i>Salix (alba)</i>	écorces et feuilles	acide salicylique	F	mildiou	Viti
Admissible En cours d'évaluation	Armoise Commune Wormwood	<i>Artemisia vulgaris</i>	feuilles et fleurs	tuyone	F	mildiou	Viti
						puceron vert	Arbo
						mites	Viti
En cours d'évaluation	Absinthe Absinth	<i>Artemisia absinthium</i>	feuilles	tuyone	I	nématodes	Maraich
					F	doryphore	PdT
						rouille brune	blé

## 6 - Modalités de suivi

### Etat du conventionnement du chef de file avec les partenaires du programme

La plupart des partenaires engagés au départ ont participé à l'actions de valorisation/restitution en 2013, soit directement (présentation orale, poster), soit indirectement puisque les présentations ont été regroupées en 4 présentations (1 laboratoire et 3 filières arboriculture, maraichage et viticulture), avec 1 ou deux intervenant par présentation, mais correspondant à un travail collectif de conclusion par filière.

### Modalités de pilotage ; calendrier des réunions

Le comité de pilotage de janvier a été le point clef de mise en place des interventions aux Journée Substances naturelles en protection des cultures d'avril.

Date	Qui ?	Objet
24-25 Janvier 2013	Le comité de pilotage	Réunions physique à Paris.
Février-Mars 2013	L'ensemble des partenaires du projet	Finalisation des Journées substances naturelles : présentations par filière
10 Avril 2013	L'ensemble des partenaires du projet	Journée Substances naturelles en protection des cultures, exposé du programme 4 P

Ces différentes réunions ont donné lieu à des comptes-rendus diffusés aux participants, ils sont en annexe. De nombreux échanges téléphoniques ou par courriels ont permis non seulement une bonne circulation de l'information mais aussi ont assuré la cohérence entre les différents axes et entre les partenaires du projet.

# Conclusions

## 1 - Déroulement du projet

La coordination générale a été effectuée en tenant compte de nombreuses contraintes météorologiques, humaines, conceptuelles et techniques. L'ensemble du projet a pu ainsi faire travailler, échanger et progresser ensemble les acteurs de terrains avec les acteurs de la recherche scientifique. Le chef de projet a pu alternativement diriger le projet mais aussi favoriser l'échange de l'information entre les partenaires. Le programme 4P a clairement généré de nombreuses questions, plus peut être, qu'il n'a proposé de réponse et en particulier une saine critique sur les initiaux du programme. En effet, si les conclusions des expérimentations terrains sont plutôt positives, nombre de questions *a posteriori* se sont fait jour, en particulier la problématique de stabilité des extraits.

## 2 - Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d'action des préparations végétales

Cet axe était consacré aux travaux de recherche en laboratoire pour améliorer les connaissances sur les propriétés de ces préparations végétales (efficacité, composition, mode d'action, toxicité...).

- ✓ Les essais in vitro pour déterminer les modes d'action
- ✓ Les essais de caractérisation des extraits de plantes en laboratoire
- ✓ Les essais de détermination de la toxicité sur les auxiliaires

### 2.1. Les essais in vitro pour déterminer les modes d'action

- ✓ L'absence d'action élicitrice (déclenchement du métabolome) de ces préparations a été conclue pour les quatre extraits de plantes : armoise, absinthe, prêle et saule.
- ✓ Les analyses de ces préparations a par contre montré un effet antifongique avéré sur la germination des champignons pour les quatre extraits : armoise, absinthe, prêle et saule. Nos choix de plantes au départ sont donc validés. On remarque ensuite que le témoin alcool (concentration en éthanol supérieure ou égale à celle des PNPP employées) présente des résultats très similaires au témoin non traité.

#### Efficacité des PNPP contre *P.viticola*

Action \ Plante	Absinthe	Armoise	Consoude	Prêle	Saule
Antigerminatif	■	■	■	■	■
Curatif	■	■	■	■	■
Préventif	■	■	■	■	■

Tableau 5 : Efficacité des PNPP contre *P.viticola* ; ■ Efficacité avérée; ■ Efficacité légère ; X Sans efficacité

## 2.2. Les essais de caractérisation des extraits de plantes en laboratoire

L'étude en laboratoire de l'activité des extraits hydro-alcooliques comprend une série de tests de caractérisation des composés actifs par chromatographie. Ces profils chromatographiques HPLC-DAD-DEDL permettent d'obtenir des informations pour aider à la caractérisation des différentes classes de composés polyphénoliques et pour comprendre les activités de chaque extrait végétal.

L'autre partie de l'étude en laboratoire concerne la stabilité dans le temps des extraits de plantes. Une étude cinétique de la photodégradation des composés a été menée. Des prélèvements ont eu lieu pendant 8h toutes les deux heures afin de caractériser l'évolution des concentrations en polyphénols totaux dans les extraits de plantes soumis à un éclairage (indice UV 4). Une étude de l'activité antioxydante des extraits a également été menée par dosage colorimétrique.

La caractérisation des différentes classes de composés pour la composition de chaque extrait végétal, et la stabilité des extraits ont été effectués et sont présentés dans le tableau 3.

Extrait	Protides	Lipides + Stérols + Terpènes	Glucides + polyols	Cendres	Polyphénols	Total caractérisé après analyse
Feuille saule	2	5	18	1	19	45%
Ecorce saule	1	0	4	0,5	62	68%
Prêle	13	34	38	18	5	100%
Absinthe	6	10	21	3	6	46%
Armoise	3	24	28	3	8	66%

Tableau 3 : Composition des extraits, % respectifs de masse sèche, des familles des composés.

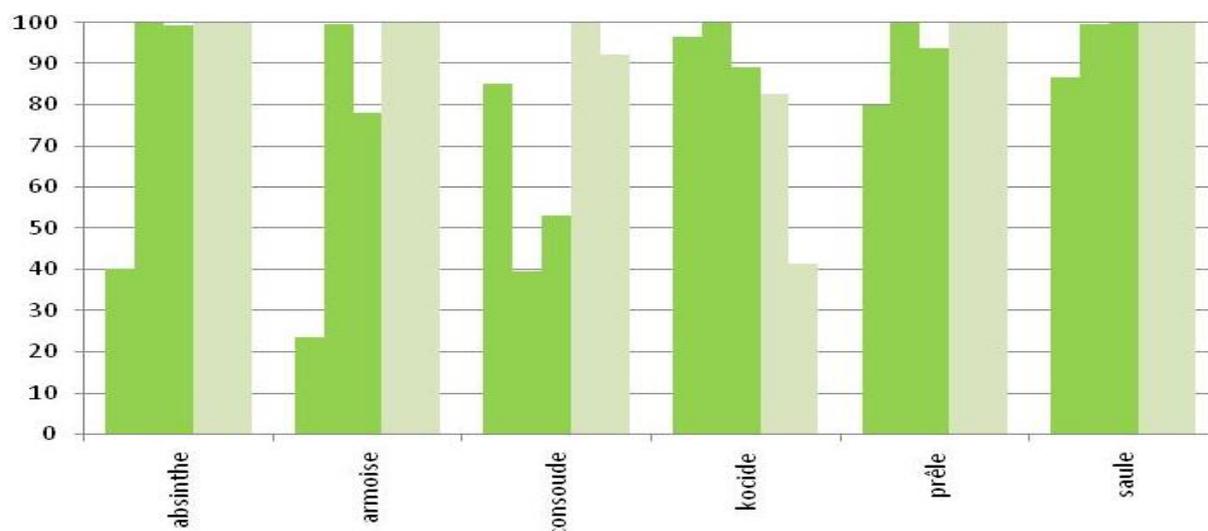
### Les tests *in vitro*.

La caractérisation des effets inhibiteurs réalisée avec une seule dose (1000ppm), montre que seuls les extraits d'écorce de saule et d'absinthe présentent des activités intéressantes sur les souches étudiées dans ces conditions (tableau 4).

Extrait	Ecorce saule	Feuille saule	Prêle	Absinthe	Armoise
<b>Bio agresseur</b>					
<i>Botrytis allii</i> (24h)	40 ± 9%	0%	0%	30 ± 5%	0%
<i>Botrytis cinerea</i> (48h)	35 ± 9%	15%	10 ± 1%	40 ± 6%	15%
<i>Penicilium expansum</i> (48h)	30 ± 4%	10%	10%	40%	10%

Tableau 4 : Activité inhibitrice des extraits hydro alcooliques (1000 ppm) sur la croissance mycélienne de différences souche fongiques.

Même si dans certains cas le nombre de répétition est sans doute trop faible pour conclure, les travaux menés ont permis de construire une méthodologie qui sera utile pour les prochaines années et les prochains programmes. Certains résultats sont encourageants notamment l'effet anti-germinatifs sur les spores de champignons concernés, mais les tests sont à approfondir pour bien identifier les doses efficaces (courbes doses-réponses).



**Figure 3 :** Représentation des efficacités relatives antigerminatives (% par rapport au témoin alcool) obtenues avec les produits sur les 5 tests anti-germinatifs (en clair les essais avec dose adaptée)

Par contre, les analyses du CESN concernant le déclenchement du métabolome concluent à une absence d'effet éliciteur de ces préparations sur les salades, pour les quatre extraits de plantes : armoise, absinthe, prêle et saule.

### **2.3. Les essais de détermination de la toxicité sur les auxiliaires**

Cet axe était consacré aux travaux de recherche en laboratoire, à savoir ceux réalisés par les organismes de recherche publique (SupAgro Montpellier et Université Perpignan). Cet axe comprenait deux parties : une étude en laboratoire des activités biologiques des extraits hydro-alcooliques et une étude toxicologique sur abeilles et phytoseïdes (acariens prédateurs). Une série de tests *in vitro* ont été réalisés en complément des actions de terrain initialement prévues. Les résultats ont été ajoutés intentionnellement aux actions de cet axe même si l'approche est intermédiaire entre essais sur le terrain et essais en laboratoire.

Les mesures de toxicité ont été effectuées sur abeilles (*Apis mellifera*), typhlodromes (acarien prédateur *Typhlodromus pyri* Scheuten).

- ✓ Les essais sur abeilles

Les résultats obtenus (INRA Avignon) avec la prêle, l'armoise et le saule, montrent que la surmortalité à 4 jours pour les abeilles ne dépasse jamais les 4% ; avec la menthe, la

surmortalité atteint 12,6% à la dose D 8/10. Bien que la toxicité des préparations ne soit pas élevée, différents profils de toxicité peuvent être observés : une absence de relation dose-mortalité cohérente avec l'armoise, une courbe dose-mortalité en cloche pour la menthe et le saule, et une courbe cloche triphasique avec la prêle. Ainsi, pour la menthe, le saule et la prêle, la toxicité est plus élevée à la dose D 8/10 qu'aux doses plus élevées D et 2D. Les résultats obtenus montrent une faible toxicité sur abeille des infusions d'armoise, de menthe, de prêle et de saule, même lorsque celles-ci sont utilisées à la dose double (Figure 1)

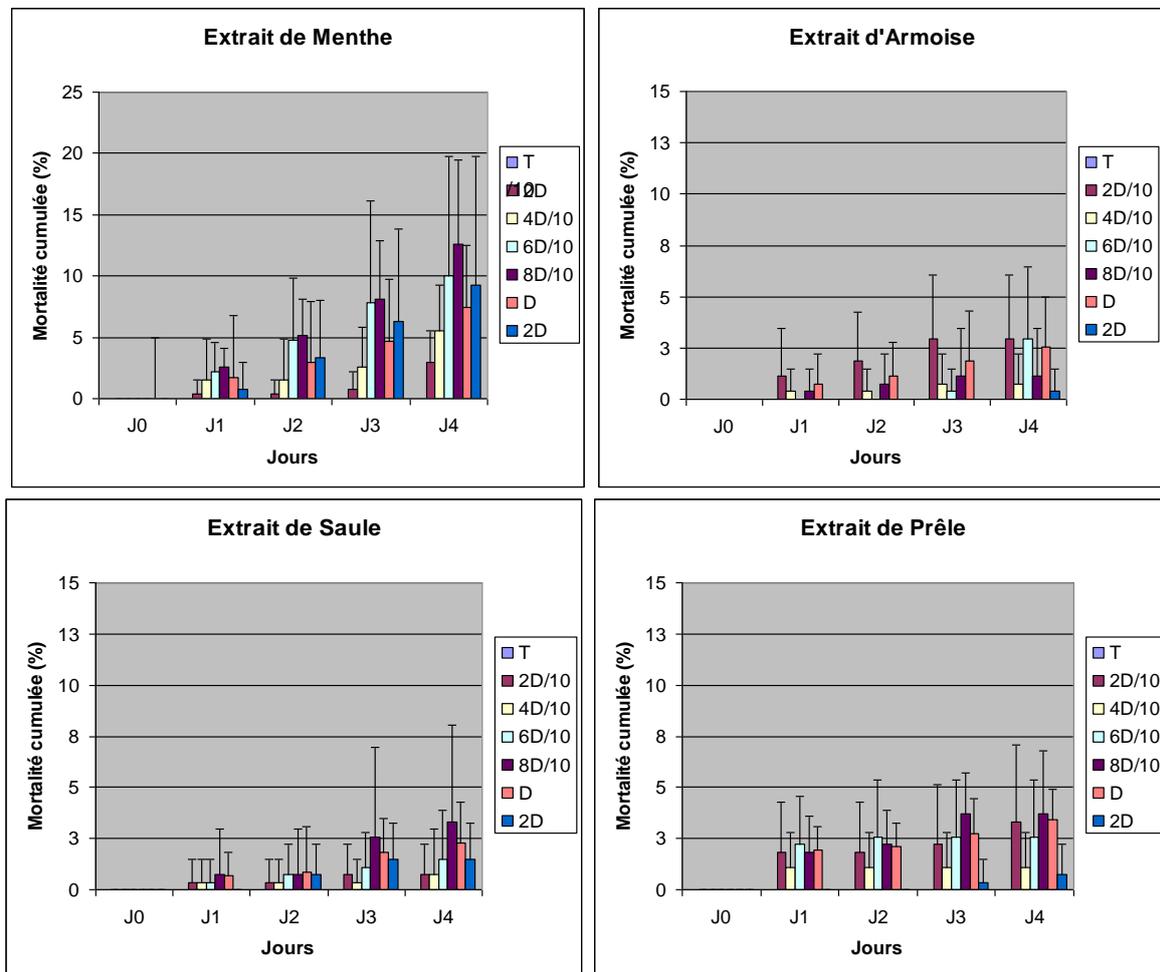


Figure 1 : Toxicité des préparations de plantes pour les abeilles.

Parmi les différents extraits végétaux testés, seule l'écorce de saule (LAB 22) ne présente pas de toxicité sur abeilles aux doses (D) utilisées en plein champ que ce soit par contact ou par ingestion. Les feuilles de saule (LAB 20) présentent une toxicité qui est fortement en relation avec la dose utilisée tandis que les profils toxicologiques de l'armoise et de l'absinthe montrent une mortalité des abeilles qui dépend plus du temps d'exposition que de la concentration en extrait végétal. L'extrait de prêle semble induire une mortalité sur les abeilles qui dépend autant de la dose utilisée que du temps d'observation, en particulier pour ce qui est de la toxicité orale. Ces différents résultats doivent être mis en regard des véritables concentrations de substances exposées aux abeilles en milieu naturel. En effet, la présence dans

la nourriture de concentrations de l'ordre de 10% du sirop de nourrissage suppose une forte dose d'extraits végétaux hydro-alcooliques appliquée à proximité directe de la ruche.

En pratique, les extraits hydro-alcooliques montrent une toxicité relative plus grande que les extraits aqueux, il conviendra d'en tenir compte dans les futures perspectives d'homologation.

Ces différents résultats doivent être mis en regard des véritables concentrations de substances exposées aux abeilles en milieu naturel. En effet, la présence dans la nourriture de concentrations de l'ordre de 10% du sirop de nourrissage suppose une forte dose d'extrait végétal appliquée à proximité directe de la ruche.

De même les extraits dont la toxicité se révèle après plusieurs jours d'exposition (LAB 41 (Armoise) et LAB 43 (Absinthe)) pourraient ne présenter que peu de risques pour les colonies en milieu naturel si la quantité de substance baisse rapidement après un traitement ponctuel.

Ainsi en ajustant la dose d'extrait qui peut se retrouver au contact des abeilles ou de leur nourriture et en maîtrisant le temps de rémanence de ces substances dans l'environnement immédiat des colonies, il est possible d'utiliser ces extraits végétaux en protection des plantes sans engendrer d'impact majeurs pour les colonies d'abeilles se trouvant à proximité.

✓ Les essais sur typhlodromes

Pour les plantes considérées, prêle (Sicarappam), menthe poivrée, saule et armoise. L'effet global est NEUTRE. Ces plantes n'altèrent ni la mortalité, ni la fécondité des femelles, ni la viabilité des descendants, en comparaison avec le témoin à l'eau.

✓ Les essais sur espèces aquatiques : (la toxicité augmente quand la CE diminue)

2a sur <i>Artemia salina</i>		2b sur <i>Daphnia pulex</i>	
Extrait	CE <sub>50</sub> (mg/mL)*	Extrait	CE <sub>50</sub> (mg/mL)
Ecorce de saule	3,1	Ecorce de saule	215
Feuille de saule	3,7	Feuille de saule	222
Prêle	8,9	Prêle	55
Absinthe	3,5	Absinthe	172
Armoise	3,6	Armoise	69
Fongicide nitré aliphatique	> 0,05 <sup>£</sup>	Triazole benzoylurées	de 0,051 à 0,0000225

**Tableau 2** : CE<sub>50</sub> concentration efficace (immobilisation) des organismes aquatiques par les différents extraits.

\* la toxicité augmente quand la concentration efficace diminue ; £ pour référence, non testé dans l'essai.

*Artemia s.* : On peut voir que pour nos extraits, d'après ces résultats, la prêle semble être l'extrait le moins toxique pour les larves de crevettes, puisque cet extrait présente la CE<sub>50</sub> la plus élevée.

*Daphnia p.* : Pour aucun des extraits n'a été constatée une variation de pH supérieure à 1,5 unité, conformément à la réglementation de l'OCDE. Les extraits d'écorce de saule et d'absinthe, qui ont la meilleure activité antibactérienne sur *Erwinia atrosepticum* sont également parmi les moins toxiques pour *Daphnia pulex*

### 3 - Axe 2 : Evaluation et optimisation de l'utilisation de préparations végétales

- ✓ Optimiser leur utilisation (dosage, durée de conservation, conditions d'applications...)

#### 3.2 Les essais en pots

##### En viticulture.

Les résultats de l'essai 2011 sur des vignes en pot au GRAB (84) montrent une bonne efficacité de la prêle, associée à une faible dose de cuivre, équivalente à celle de la référence cuivre (résultats significatifs).

L'efficacité de ces mélanges est supérieure à celle du cuivre faible dose, laissant envisager un effet de synergie entre la plante et le cuivre.

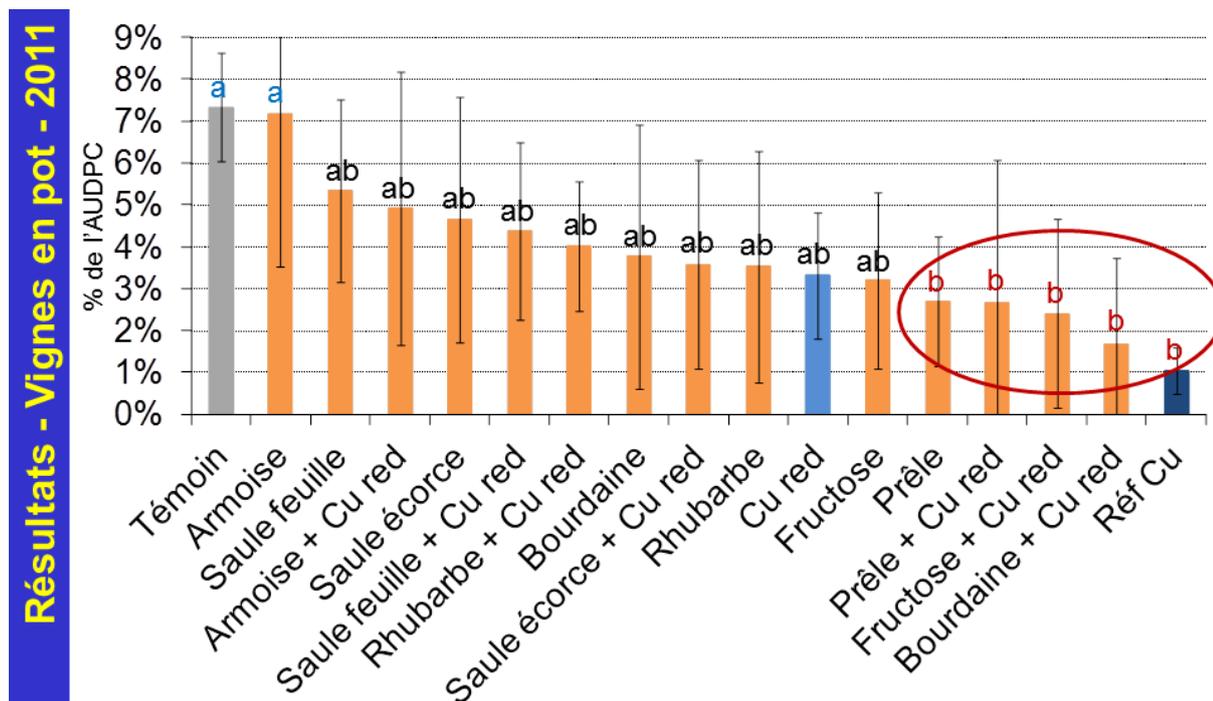


Figure 4 : Intensité d'attaque de mildiou sur feuille (ANOVA  $p < 0.05$ , Test de Newman-Keuls à 5%)

### 3.3 Les essais en plein champs

#### En viticulture.

Le saule associé à une faible dose de cuivre a une action intermédiaire (non significatif). Les résultats de l'essai réalisé en 2011, année à faible pression mildiou, l'absinthe associée à une dose réduite de cuivre présente 91% d'efficacité au niveau de la fréquence d'attaque sur grappes, le 04/08/11 (résultat significatif), cette bonne efficacité est comparable à celle de la référence cuivre. En 2012, année à forte pression mildiou, les modalités alternatives décrochent assez vite.

Sur grappes, seul l'extrait hydro-alcoolique de prêle a permis de réduire significativement la gravité des dégâts, fin-juin, par rapport à la dose réduite de soufre mouillable solo, gain totalement effacé à la mi-juillet. Cet extrait de prêle semblerait donc pouvoir constituer une solution alternative envisageable, mais exclusivement en situation de pression parasitaire modérée mais en sachant que l'estimation de cette dernière se fait, dans le cas de l'oïdium, généralement *a posteriori*...

#### En arboriculture.

L'intérêt des extraits alcooliques d'armoise, d'absinthe, de prêle et de saule blanc (feuille ou écorce) sur contaminations primaires de tavelure du pommier est validé. Il est noté des effets très intéressants des extraits alcooliques d'armoise, d'absinthe, de saule blanc feuille sur contaminations primaires sur la tavelure du poirier. Sur la rouille du poirier, l'intérêt antifongique (observations primaires) des extraits alcooliques de l'armoise et du saule blanc feuille est validé. Sur la rouille de l'abricotier, l'intérêt des infusions d'armoise et de menthe poivrée est validé. Nous avons par ailleurs étudié les effets potentiels sur les insectes nuisibles (observations secondaires, nous n'avons pas observé d'effet limitant sur *Monilia l.* sur abricotier, sur cloque et monilioses pêcher, ni sur puceron cendré et puceron vert du pommier (1 seule année).

#### Légende

 Infusion (I)	 Extrait alcoolique (EA)	 I et EA	 Non testé	Intérêt	
				Validé ✔(cible)	Non-Validé ✘(cible)

Situation / pression				Comparaison par rapport au témoin		
faible	f	Forte	F	témoin non traité	témoin cuivre	témoin alcool
moyenne	m	inoculations	I	TNT	TC	TA

Année	2010				2011				2012			
	Pommier		Abricotier		Pommier		Pêcher		Poirier	Pommier	Pêcher	
Bio agresseur	Tavelure		Monilioses, Rouille		Tavelure		Cloque		Tavelure, Rouille	Tavelure	Cloque, Monilioses	
Partenaire	Adabio	Fredon	CA 82	Grab	Adabio	Fredon	CA 82	Grab	Adabio	Fredon	CA 82	Grab
Avec ½Cuivre	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-
Armoise	ST	X	X	X	ST	ST	X	X	ST	ST	X	
Prêle	ST	X	X	X	ST	ST	X	X	X	ST	X	X
Menthe poivrée	ST	X	X	X				X				
Saule blanc Feuilles	ST	X	X	X	ST			X	ST	ST	X	TC
Ecorce					ST				ST	ST	X	X
Absinthe					ST				X	ST	X	X
Comparaison	TNT TC	TNT TC	TNT	TNT TC	TNT TC	TNT	TC TA	TC	TC	TNT	TNT TC	TNT
Situation (M)	f	f	F	F	f	I	f	F	F	F	F	m
Situation (P)	F	-		-	X	f				X		

Tableau 6 : Efficacité des PNPP contre les champignons en arboriculture

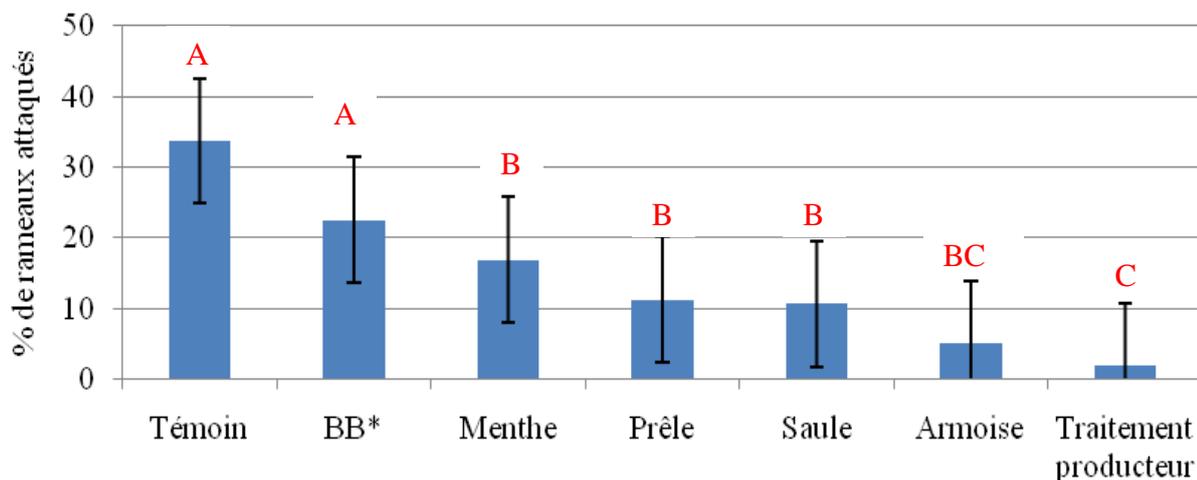


Figure 5 : Fréquence moyenne de tavelure au 2<sup>ème</sup> comptage (pic des projections primaires), essai de l'ADABIO en Savoie en 2010 : comparaison d'infusions de plantes avec ajout de demi-dose de cuivre correspondant à la modalité Bouillie Bordelaise. Les lettres A, B, BC et C correspondent aux groupes statistiques d'une anova (risque 5%).

### En maraîchage.

On note une **efficacité relative** des préparations végétales: la prêle est intéressante en protection contre le mildiou mais résultats instables. Pour les activités insecticides, l'armoise vulgaire est intéressante contre le puceron de la salade et l'armoise et l'absinthe contre *M. persicae* sur salade.

### Légende

■ Infusion (I) ■ Extrait alcoolique (EA) □ Non testé

### Intérêt

Validé Non-Validé

Situation pression M/P				Comparaison par rapport au témoin			
faible	f	Forte	F	témoin eau	témoin non traité	témoin cuivre	témoin alcool
moyenne	m	inoculations	I	TE	TNT	TC	TA

Partenaires	I : IBB P.A.I.S.	F : Fredon NPDC	S : Serail	G : GRAB	75 : CA 75	C : CIVAM Bio 66	A : ADABio										
Année	2010					2011					2012						
Culture Bio agresseur	Salade (Laitue)																
	Mildiou ( <i>Bremia lactucae</i> ) de la salade (M), avec observation secondaire sur les pucerons (P)																
Partenaire	I	F	S	G	A	C	I	F	S	G	A	C	I	F	S	G	75
Armoise	X	XP	X <sub>P</sub>	X	X	X		♻P	♻P		♻M		X	♻P	XM		X
Prêle	X	XP	X	X	X		X		♻M	X	♻M	X		X	XM	M	X
Menthe poivrée	X	XP	X	X	X	X											
Saule blanc Feuilles	X	XP	X	X	X		X		XM		♻M	X	X	X	XM	XM	X
Ecorce							X		XM	X		X	X	X	XM	XM	X
Absinthe								♻P	XP		♻M		X	♻P	XM		X
Comparaison	TN T TC	TN T	T C TE	TN T TE TC	TN T	TN T TC	TN T TA TC	TN T TA TE	TN T TA TC	TN T TA TC	TN T	TN T TC TA	TN T TC	TN T TA TE	TN T TA TC	TN T TA TC	TN T
Situation (M)	f		f	F		-	f		f	m	f	F	I	F	f	F	m
Situation (P)	f		-	-		F	-	f	-	f	-	-	-			F	-

Tableau 7 : Efficacité des PNPP contre les champignons et les pucerons en maraichage

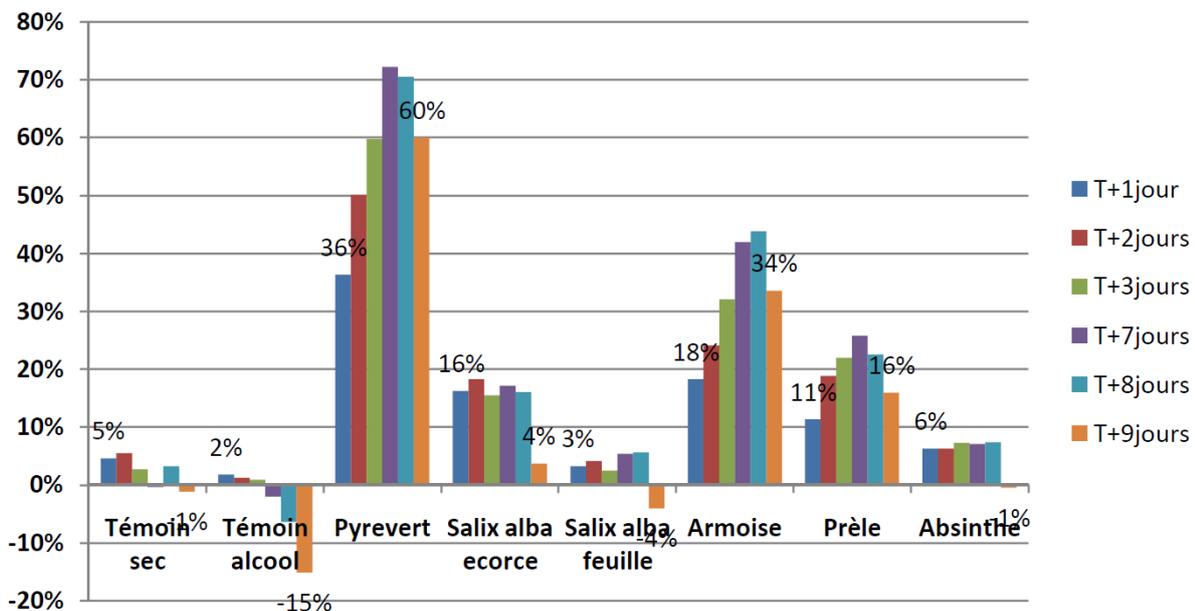


Figure 8 : Evolution de l'efficacité insectifuge sur puceron de la laitue *N. ribisnigri* par rapport au témoin eau.

On observe un intérêt insectifuge pour les extraits hydro-alcooliques d'armoise et de prêle, et d'écorce de saule dans une moindre mesure sur t. A remarquer, le témoin alcool assez négatif.

## **4. Analyse des résultats**

Les résultats obtenus est conforme aux attentes, avec une efficacité réelle mais difficilement répétable et reproductible. Comme toute solution alternative, les potentiels de remplacement des pesticides synthétiques sont faibles, et les efficacités réelles en condition d'unicité de traitement (sans autre complément ex. cuivre) toutes relatives. Malgré tout, les produits alternatifs récents, homologués, sont du même ordre d'efficacité. La littérature de départ, relativement générale, a pu être agrémentée de données précises propres à générer des homologations. Ce n'est donc pas par hasard que ces solutions ont été choisies, et les résultats *in vitro* confortent partiellement ces choix. L'évolution du projet vers les extraits hydro alcooliques légèrement plus efficaces est à compenser avec la valeur moyenne des témoins non traités alcool (jusqu'à -25% !).

### **Efficacité**

Clairement, l'efficacité des préparations à base de plantes dépend de plusieurs facteurs : origine, âge et terroir des plantes sélectionnées, mode préparatoire (température, concentration, conservation...), conditions d'application. Les difficultés pour mesurer les efficacités sont importantes, voir insurmontables dans les essais en agriculture biologique chez le producteur, car le témoin traité (réf. chimique) est interdit sur ces parcelles AB. Pour les salades en maraichage, si les préparations ont montrées une efficacité *in vitro*, elles n'ont pas mis en action les défenses des plantes (effet SDP). En plein champ, les résultats quoique intéressants et positifs, sont non reproductibles d'une année sur l'autre et d'une station à l'autre. En viticulture et arboriculture, elles se sont révélées plus efficaces, même avec une reproductibilité partielle, confirmant les utilisations régulières pratiquées sur le terrain. Ces préparations sont surtout intéressantes en complément des traitements habituels en AB, dans l'accompagnement des réductions de doses appliquées (de façon volontaire (soufre) ou obligatoire (cuivre)) ou le remplacement de produits par des solutions renouvelables et durables permettant d'augmenter l'autonomie des exploitations.

### **Evaluation**

Les préparations ont été évaluées au laboratoire pour leur composition, évolution et dégradation dans le temps en fonction du type d'extraction (aqueuse ou hydro-alcoolique). Ces 2<sup>èmes</sup> sont plus effectivement stables que les tisanes.

### **Impact environnemental**

Les tests de toxicité de ces extraits, effectués sur les insectes non-cibles (abeilles, phytoséides...), ont montré une relative innocuité de ces préparations : d'un impact nul à de très faibles surmortalités. L'application au champ après dilution et la faible rémanence de ces tisanes et décoctions ne devraient pas entraîner d'impact négatif.

## Conclusion générale

La coordination générale a été effectuée en tenant compte de nombreuses contraintes météorologiques, humaines, conceptuelles et techniques. L'ensemble du projet a pu ainsi faire travailler, échanger et progresser ensemble les acteurs de terrains avec les acteurs de la recherche scientifique. Le chef de projet a pu alternativement diriger le projet mais aussi favoriser l'échange de l'information entre les partenaires. Les commentaires des partenaires, les retours sur expérience des expérimentateurs terrain et les conclusions du chef de projet ont été clairs sur ce point, le programme 4P a généré de nombreuses questions, plus peut être, qu'il n'a proposé de réponse et en particulier une saine critique sur les initiaux du programme. En effet, si les conclusions des expérimentations terrains sont plutôt positives, nombre de questions *a posteriori* se sont fait jour.

## Perspectives

---

- ❖ Les conclusions tirées de la coordination de ce projet déboucheront sur un document guide « Conduire des essais d'expérimentation avec des extraits de plantes » prévu, à l'initiative de l'ITAB, pour 2014 qui n'était pas un livrable de départ mais qui s'avère nécessaire et utile à l'aune des écueils rencontrés. Il profitera au Casdar Huiles Essentielles.
  - ❖ Les problèmes de mesure d'efficacité ont conduit à envisager des déclinaisons estampillées Bio-contrôle dans les essais CEB (en cours de soumission à l'Appel A Projet Ecophyto 2014).
  - ❖ Les extraits hydro-alcooliques trouveront sans doute des difficultés à générer des metteurs en marché privés potentiels (durée 5 ans, coût >300k€, redevance >40k€, AMM = 2k€). C'est pour cette raison que, malgré l'absence de résultats concordant, répétables et reproductibles, l'ITAB a proposé de procéder à la régularisation des usages des tisanes/décoctions aqueuses, dans la catégorie des Substances de base, au règlement phytopharmaceutique CE n° 1107/2009. Ces dossiers sont en cours de traitement la Commission.
- 

## Remerciements

*Le projet 4P a été financé en partie par le Casdar/DGER, et par France-Agrimer pour certains partenaires dont le Lycée EPLEFPA des Flandres (Philippe Parent).*

## Références bibliographiques

Bertrand B., Collaert JP., Petiot E. 2003. Purin d'orties & Cie. Les plantes au secours des plantes, Editions de Terran, p.95

Bertrand C, *et al* 2008 "From allelopathy to agrochemistry: a new approach for the valorisation of invasive plants". *Planta Medica*. 74

EPPO 2000 Efficacy evaluation of plant protection products. Side effects on honey bees. Directive PP 1/170 (3).

Fiedler L. 1987 Assessment of chronic toxicity of selected insecticides to honeybees. *J Apic Res* 26, 115-122.

Hsieh, T. F., Huang, J. H., Hsieh, L. J., Hu, M. F., Ko, W. H. 2005 Antifungal effect of plant extracts on phytopathogenic fungi. *Plant Pathology Bulletin*, Vol 14, No 1, p 59-66

Lagow, B. 2004. Horsetail, *Equisetum arvense*. PDR for Herbal Medicines, third edition, Montyale (NJ). ISBN 1-56363-512-7.

La Torre, A.; Spera, G.; Lolletti, D. 2004 Activity of natural products against courgette powdery mildew. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. 69(4), 671-678

La Torre A; Talocci S; Spera G; Valori R. 2008 Control of downy mildew on grapes in organic viticulture. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. 73(2), 169-78.

Milovanovic V., Radulovic N., Todorovic Z., Stankovic M., Stojanovic G. 2007 Antioxidant, antimicrobial and Genotoxicity Screening of Hydro-alcoholic Extracts of Five Serbian Equisetum Species. *Plant Foods Human Nutrition*, vol 62, pp 113-119.

Petiot E. Les soins naturels aux arbres. Ed. Terran. 184 pages.

Villar Morales C. et Ayala Orduno J. L. et al. 1990 Use of plant infusions and aqueous extracts for the control of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (*Lepidoptera: Noctuidae*) in San Luis Potosi. *Revista Chapingo*, 15, (67-68), 105-107.

### Sur le programme 4 P

Approbation communautaire :

[http://www.itab.asso.fr/downloads/com-intrants/bsa-equisetum\\_dec\\_2013.pdf](http://www.itab.asso.fr/downloads/com-intrants/bsa-equisetum_dec_2013.pdf)

Règlement d'exécution CE n°XXX/2014 active substance Extract of *Equisetum arvense* L.

Journées Substances Naturelles 2013 <http://www.itab.asso.fr/publications/jt-intrants2013.php>

### Publications

Andreu V., Bertrand C. Etude du potentiel antifongique et antibactérien d'extraits végétaux couramment utilisés en agriculture. Avril 2013, GFP, Albi.

Andreu V., Amiot A., Calvayrac C., Simon-Levert A., Bertrand C. Antifungal activities of plants extracts traditionally used in organic agriculture. Natural Products and Biocontrol, Septembre 2013, Perpignan, France.

Marchand P.A., Isambert C.A., Jonis M., Parveaud C-E., Chovelon M., Gomez C., Lambion J., Ondet S.J., Aveline N., Molot B., Berthier C., Furet A., Clerc F., Rey A., Navarro J-F., Bidault F., Maille E., Bertrand C., Andreu V., Treuvev N., Pierre S. P., Coulon A., Chaput C., Arufat A., Brunet J-L., Belzunces L., Bonafos R., Guillet B., Conseil M., Tournant L., Oste S., Larrieu J-F. 2014 Évaluation des caractéristiques et de l'intérêt agronomique de préparations simples de plantes, pour des productions fruitières, légumières et viticoles économes en intrants, *Innovation Agronomiques*, 34 (2014), 83-96

## **Sommaire**

Contexte et problématique abordée.....	2
■ Préambule .....	2
■ Objet de la convention .....	2
■ Résumé .....	3
Enjeux .....	4
■ 1 – les objectifs .....	4
■ 2 – les partenaires du 4 P .....	5
■ 3 – les axes de recherche.....	6
■ 4 – les réalisés.....	8
2010.....	10
■ 1 - Déroulement du projet : tâches effectuées à l’issue de l’année 1.....	10
■ 2 - Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d’action des préparations végétales.....	10
■ 3 - Axe 2 : Evaluation et optimisation de l’utilisation de préparations végétales.....	11
■ 4 - Axe 3 : Coordination générale et diffusion / transfert .....	12
■ 5 – Modalités de suivi .....	12
2011.....	14
■ 1 - Déroulement du projet : tâches effectuées à l’issue de l’année 2.....	14
■ 2 - Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d’action des préparations végétales.....	14
■ 3 - Axe 2 : Evaluation et optimisation de l’utilisation de préparations végétales.....	16
■ 4 - Axe 3 : Coordination générale et diffusion / transfert .....	18
■ 5 – Modalités de suivi .....	19
2012.....	21
■ 1 - Déroulement du projet : tâches effectuées à l’issue de l’année 3.....	21
■ 2 - Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d’action des préparations végétales.....	21
■ 3 - Axe 2 : Evaluation et optimisation de l’utilisation de préparations végétales.....	22
■ 4 - Axe 3 : Coordination générale et diffusion / transfert .....	23
■ 5 – Modalités de suivi .....	24
2013.....	25
■ 1 - Déroulement du projet : tâches effectuées à l’issue de l’année 3+.....	25

■ 2 - Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d'action des préparations végétales.....	25
■ 3 - Axe 2 : Evaluation et optimisation de l'utilisation de préparations végétales.....	25
■ 4 - Axe 3 : Coordination générale et diffusion / transfert.....	26
■ 5 – résultats et état de l'avancement de l'homologation des extraits.....	26
■ 6 – Modalités de suivi.....	28
Conclusions.....	29
■ 1 - Déroulement du projet.....	29
■ 2 - Axe 1 : Amélioration des connaissances sur les propriétés et les modes d'action des préparations végétales.....	29
■ 2.1. Les essais in vitro pour déterminer les modes d'action .....	29
■ 2.2. Les essais de caractérisation des extraits de plantes en laboratoire .....	30
■ 2.3. Les essais de détermination de la toxicité sur les auxiliaires .....	31
■ 3 - Axe 2 : Evaluation et optimisation de l'utilisation de préparations végétales.....	34
■ 3.2 Les essais en pots.....	34
■ 3.3 Les essais en plein champs .....	35
■ 4. Analyse des résultats .....	38
■ Efficacité .....	38
■ Evaluation .....	38
■ Impact environnemental .....	38
■ Conclusion générale .....	39
■ Perspectives.....	39
■ Remerciements.....	39
■ Références bibliographiques .....	39
■ Sommaire.....	41
■ LISTE DES ANNEXES (fichier PDF et envoi par courrier) .....	43
Annexe 1.....	44
Annexe 2.....	45
Annexe 3.....	47
Annexe 4.....	48
Annexe 5.....	49
Annexe 6.....	50

---

**■ LISTE DES ANNEXES (fichier PDF et envoi par courrier)**

- *Annexe 1 : Les comptes-rendus des Comités de Pilotage,*
  - *Annexe 2 : Le tableau complet des rapports, synthèse sur 3 ans,*
  - *Annexe 3 : Rapports annuels des partenaires*
  - *Annexe 4 : Dossiers BSA (Basic Substance Application) de la Prêle (Equisetum),*
  - *Annexe 5 : Les articles dans AlterAgri,*
  - *Annexe 6 : Programmes et présentations correspondant au programme 4P des Journées Substances Naturelles en protection des cultures Itab/Grab à Paris*
-