

Dans le contexte du Green Deal et du plan Farm to Fork de l'Union européenne, il importe de développer des solutions innovantes naturelles pour protéger les plantes contre leurs pathogènes et ravageurs tout en limitant le recours aux produits phytopharmaceutiques de synthèse. Des bactéries et champignons utiles au biocontrôle ont été isolés des agroécosystèmes belges, mis en collection au laboratoire de Santé végétale (SAVE) de l'Earth and Life Institute (ELI) à l'UCLouvain et caractérisés pour leurs activités naturelles antagonistes diverses dans le cadre de plusieurs projets de recherche – projets WACOBI, PROBIOM et ANTAGONIST en collaboration avec le laboratoire de microbiologie alimentaire et environnementale (ELI, UCLouvain) et le Centre wallon de Recherches agronomiques (CRA-W) – financés par le Service Public de Wallonie (SPW). La valorisation de ce matériel biologique en produits de biocontrôle tels que des biofongicides nécessite l'approbation des micro-organismes ou des substances actives qu'ils produisent par l'Europe et le développement de formulations à base de ceux-ci, qui devront ensuite être autorisées à être mises sur le marché en Belgique. Le projet **ADINBIO** s'inscrivait dans ce contexte en proposant de participer au développement de produits phytopharmaceutiques à base de substances actives biologiques et d'adjuvants biosourcés en collaboration avec la Haute Ecole Provinciale de Hainaut (HEPH)-Condorcet, et les sociétés BiocSol, Minagro et Tensiofix.

Les **objectifs spécifiques** du projet étaient les suivants :

- identifier les besoins spécifiques fongicides des producteurs en agriculture biologique par le biais d'une approche participative,
- valoriser la collection établie à l'UCLouvain, en collaboration avec la jeune start-up wallonne BiocSol,
- optimiser la formulation des biofongicides proposés à l'aide de co-formulants bio-basés produits par des entreprises wallonnes actives dans le domaine (Minagro, Tensiofix).

Evaluation des besoins

Une enquête réalisée début 2023 auprès des acteurs de terrain en région wallonne a permis de mettre en avant certaines tendances concernant l'adoption de biopesticides. Les principaux freins à leur utilisation étaient liés à leur manque d'efficacité, le manque d'information, leur prix et l'offre restreinte. Dans ce contexte, le projet ADINBIO visait à améliorer l'offre de biofongicides ciblant des pathosystèmes majeurs impliquant des pathogènes fongiques et des agents de mildiou. Trois systèmes ont été sélectionnés dans le cadre du projet : *Phytophthora infestans* responsable du mildiou sur pomme de terre et tomate, *Alternaria solani* responsable de l'alternariose sur les Solanacées, et *Plasmopara viticola* responsable du mildiou sur la vigne.

Sélection et production des biofongicides

Trois substances actives, à activité naturelle biofongicide, ont ensuite été sélectionnées : deux prototypes de produits en cours de développement, ci-après dénommés BCL A et B, constitués de mélanges aqueux de substances naturelles actives, produites par fermentation microbienne, et une bactérie du genre *Bacillus*. Ce genre de bactéries est associé à la production de nombreuses substances d'intérêt, notamment pour le biocontrôle, et présente la particularité de produire des spores assurant la survie de la bactérie. Cette propriété étant utile pour le stockage d'un éventuel produit à base de cellules bactériennes du genre *Bacillus* a motivé sa sélection dans le cadre du projet. Les biofongicides BCL A et BCL B, utilisés dans le cadre des essais, ont été produits par la société BiocSol et fournis non formulés. La bactérie du genre *Bacillus* était quant à elle conservée dans la collection du laboratoire SAVE. Un protocole a été mis en place dans le cadre du projet pour développer la production des spores de *Bacillus*, disponibles sous la forme de poudre après lyophilisation. Cette troisième substance active a été dénommée SPORE-Ba.

Les essais de production de SPORE-Ba ont permis d'établir les conditions de production et l'efficacité d'un cycle de production. De plus, les essais de conservation des spores à 4, 22 et 50 °C ont révélé que la conservation dans ces conditions donne des taux de reprise et de croissance comparables quelle que soit la température.

Les spectres d'activités antagonistes des trois substances actives naturelles ont été évalués *in vitro* contre une gamme de souches représentatives des agents pathogènes fongiques. Des taux d'inhibition intéressants ont été observés pour les trois substances, mais variables selon les organismes cibles.

Caractéristiques des co-formulants et adjuvants

Avant d'être appliqués comme biofongicides, les trois composés actifs, qu'il s'agisse d'une bactérie ou non, doivent être préparés sous une forme liquide afin de pouvoir être facilement pulvérisés par les agriculteurs. Il convient à cet effet de les formuler avec des adjuvants ou co-formulants qui assureront l'homogénéité de la formulation et la conservation de la substance active pendant plusieurs mois, tout en garantissant un bon pouvoir de recouvrement du matériel végétal, son adhérence, sans provoquer de phytotoxicité.

Plusieurs co-formulants et adjuvants ont été sélectionnés et évalués pour le développement de formulations bio-basées des trois substances actives. Notamment, des adjuvants bio-basés fournis par la société Minagro, mais aussi des adjuvants conventionnels produits par la société Tensiofix, afin de développer des formulations spécifiques et adaptées aux produits à base des substances actives BCL A et B ou de spores de *Bacillus*. Des tests ont été réalisés afin d'évaluer la concentration adéquate à inclure dans les formulations, sans impact sur la reprise de croissance des spores de SPORES-Ba. L'absence d'effet inhibiteur d'une partie des adjuvants biosourcés sur la croissance des trois pathogènes fongiques de phyla distincts a été confirmée. Des courbes dose-réponses ont été produites pour les autres adjuvants afin d'identifier les concentrations sans effet sur une série d'espèces fongiques. Le pouvoir tensioactif des co-formulants et adjuvants a aussi été caractérisé afin de mettre en évidence leur potentiel d'étalement sur une surface hydrophobe et leur pouvoir de dispersion. Des tests de phytotoxicité ont également été mis en place sur laitue en conditions contrôlées afin de déterminer les concentrations et/ou composés sans effet.

Sur base de ces résultats, des formulations bio-basées adaptées aux trois biofongicides ont été développées. Des expériences *in vitro*, en boîtes de Petri, réalisées avec deux formulations du BCL A ont démontré que ces produits inhibent fortement la croissance de *P. infestans*. Les traitements combinant une demi-dose de cuivre avec une demi-dose des deux formulations fournissent tous une inhibition totale de la croissance de *P. infestans*.

Sur le plan de la stabilité physique des formulations, il apparaît que les formulations conventionnelles ont été plus stables dans le temps que les formulations biosourcées. Celles-ci ont montré un processus de décantation plus rapide et le développement de contaminations après quelques semaines. Cela peut s'expliquer par le fait que les formulations conventionnelles sont formulées dans une matrice huileuse, qui ne constitue pas un milieu propice au développement de contaminations. À l'inverse, les formulations biosourcées sont préparées avec de l'eau, offrant ainsi un environnement plus adéquat au développement de contaminations. L'ajout d'un agent conservateur biologique a été envisagé, mais n'a pas été mis en œuvre durant cette période d'étude.

La survie des spores d'une souche bioactive SPORE-Ba dans les diverses formulations a été étudiée dans plusieurs conditions pour simuler des périodes de conservation prolongées. Les résultats ont montré que dans les deux types de formulations testées à base de spores, les quantités de spores vivantes évoluent relativement peu au cours du temps. Les deux types de formulations voient leur quantité de spores vivantes diminuer d'un facteur de 2 sur la période d'étude de 193 jours (= plus de

six mois), ce qui est finalement assez limité compte tenu du nombre très élevé des spores dans les formulations (de l'ordre de 10^8 CFU/mL).

Efficacité des produits in planta, en conditions contrôlées et en champs

Deux essais ont permis d'évaluer l'efficacité des biofongicides BCL A formulés de façon biosourcée ou conventionnelle contre *P. infestans*. Ces deux formulations ont engendré des niveaux de protection important (jusque 75% de protection) mais variables selon les essais et les étages foliaires.

Concernant le produit BCL B, des essais sur tomate en conditions contrôlées ont permis de déterminer les concentrations efficaces contre *A. solani*. L'efficacité des traitements BCL B formulés de façon biosourcée ou conventionnelle a été évaluée dans deux essais. Les deux formulations se sont montrées efficaces, avec des niveaux de protection estimés allant jusqu'à 75 et même 90% selon l'étage foliaire. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les types de formulation.

Pour la substance active SPORE-Ba, des essais ont permis d'identifier deux adjuvants compatibles avec l'activité des spores bactériennes, n'altérant dès lors pas l'activité du biopesticide. Des tests d'efficacité de l'action biofongicide de la bactérie pour le contrôle de l'alternariose de la tomate ont aussi été menés. L'application de la bactérie sous forme de spores (SPORE-Ba) ou de culture bactérienne a permis de réduire de manière significative la progression de la maladie. Aucune différence significative n'a pu être observée entre ces modes d'application, démontrant que les spores sont aussi actives que les bactéries en croissance. Ce résultat confirme l'intérêt des spores bactériennes pour le stockage et la conservation de ce type de biopesticide. Un essai de traitement foliaire ou racinaire des plantes a révélé que ce dernier induit également une diminution de la sévérité de l'alternariose. L'efficacité des deux formulations de SPORE-Ba, biobasées et conventionnelles, a par ailleurs été testée contre *P. viticola*, l'agent responsable du mildiou de la vigne. Des niveaux de protection similaires ont été obtenus avec la formulation conventionnelle et un traitement à base de cuivre. La formulation biosourcée a malheureusement provoqué une phytotoxicité importante sur disque foliaire de vigne. L'efficacité de cette formulation sur ce pathosystème n'a dès lors pas été évaluée.

Des essais en champs ont enfin été réalisés en 2024 et 2025. En 2024, un effet inhibiteur significatif de la formulation biosourcée du produit BCL A sur le développement du mildiou de la pomme de terre a été observé sur la variété résistante Allians. En outre, l'alternance de ce produit sous la forme conventionnelle ou biosourcée avec du cuivre, a permis de limiter le développement du mildiou de façon comparable au cuivre seul. Un second essai au champ a été réalisé en 2025 afin de comparer l'efficacité des produits BCL A conventionnel et biosourcé par rapport à des doses pleines et diminuées de Cu pour lutter contre le mildiou de la pomme de terre sur deux variétés de pomme de terre. Cependant, le mildiou n'a pas été observé sur la parcelle expérimentale.

Conclusion

Le projet ADINBIO a permis de progresser dans la recherche et le développement de formulations biobasées adaptées aux exigences liées à des substances actives naturelles ou à des spores de *Bacillus*. Les connaissances acquises tant sur les compatibilités d'adjuvants biosourcés que conventionnels sont utiles au développement de nouvelles formulations de biofongicides pour lutter contre des maladies fongiques ou causées par des agents de mildiou. De nouveaux adjuvants biosourcés, dont les propriétés sont comparables aux adjuvants conventionnels, sont à présent aussi accessibles et promettent un développement d'une panoplie plus large de produits complètement biosourcés.