



Résumé analytique à l'intention des groupes cibles

Numéro de projet	406840_143141
Titre	Des sols sains grâce aux bactéries du sol
Responsable du projet	Monika Maurhofer, EPF Zurich
Autres responsables du projet	Christoph Keel, Université de Lausanne

Contribution à la synthèse thématique :

<input checked="" type="checkbox"/> Sol et production alimentaire	<input type="checkbox"/> Sol et environnement	<input type="checkbox"/> Ressource sol et développement territorial	<input checked="" type="checkbox"/> Informations du sol, méthodes et instruments	<input type="checkbox"/> Vers une politique durable des sols
---	---	---	--	--

Lieu et date : Zurich, le 30 mai 2017

Contexte

Les maladies et autres organismes nuisibles d'origine tellurique, à savoir les champignons attaquant les plantes depuis le sol et les insectes se nourrissant de leurs racines, représentent un problème majeur pour l'agriculture car ils ne peuvent pas être contrôlés par l'usage de pesticides ou de variétés résistantes.

Il existe pourtant dans la microflore du sol des organismes qui sont les adversaires naturels de ces ravageurs, et qui peuvent les tenir en échec. Tous les sols ne sont d'ailleurs pas sujets aux maladies fongiques : certains sols, dits suppressifs, sont totalement résistants à certaines maladies. Cette résistance est due à la présence de micro-organismes spéciaux, qui protègent les plantes des attaques des maladies fongiques. Les plus connus sont les bactéries *Pseudomonas* et *Bacillus*, qui peuvent être utilisées de façon ciblée comme agents de contrôle biologique et introduites en plein champ comme moyens de lutte phytosanitaire. Une autre possibilité, encore très peu utilisée jusqu'à présent, serait de favoriser la prolifération et l'activité des bactéries naturellement présentes dans le sol, par exemple en adaptant les méthodes de culture.

Nous ne disposons encore que de très peu de connaissances en Suisse sur la présence, la diversité et l'activité des bactéries qui peuvent exercer une action utile dans les sols agricoles, c'est-à-dire contre les maladies et les ravageurs. On ne connaît pas non plus l'impact des méthodes agricoles et des systèmes de culture tels que le labour, le labour réduit ou la culture sans labour, la rotation des cultures et la culture biologique sur ces auxiliaires naturellement présents. Enfin, on ignore si ces fonctions microbiennes participent réellement à la résistance naturelle aux maladies dans les sols suisses. Nous voulions donc, en première partie de ce projet, combler ces lacunes de connaissances. La Suisse s'étant donné pour objectif à moyen terme de diminuer massivement l'utilisation de pesticides (cf. « Plan de réduction des pesticides pour la Suisse » et « Plan d'action visant à la réduction des risques et à l'utilisation durable des produits phytosanitaires »), il est urgent de mettre en œuvre de nouvelles méthodes écologiques pour lutter contre les maladies végétales et les ravageurs. Le deuxième but du projet était donc d'évaluer le potentiel que présentent, pour la protection des plantes, les bactéries antagonistes vivant dans les racines et possédant des actions antifongiques et anti-nuisibles, par des essais sous serre et en plein champ lors desquels ces bactéries sont diffusées individuellement et en combinaison avec d'autres organismes de contrôle biologique comme des nématodes entomopathogènes.

But

Les objectifs du projet étaient de :

- Développer des **outils** permettant de quantifier, dans les sols agricoles, des groupes spécifiques de bactéries utiles et leur activité (c'est-à-dire l'expression de gènes antifongiques), ainsi que d'étudier la résistance naturelle des sols face aux maladies fongiques.
- **Caractériser des sols agricoles suisses représentatifs utilisés pour la production de blé**, sur le plan de leur sensibilité ou au contraire de leur résistance face à deux des maladies telluriques les plus graves, et sur le plan de la présence et de l'activité de bactéries *Pseudomonas* dotées de propriétés utiles contre les maladies. La question était de savoir si certains sols ou certaines propriétés de sols favorisent particulièrement ces microbes utiles, et s'il existe un lien réel entre la présence naturelle de ces bactéries et la résistance aux maladies.

- **Examiner comment les méthodes de culture du blé influencent la présence et l'activité des bactéries vivant naturellement dans le sol et à même de repousser les maladies.** L'objectif était de créer les premières bases d'un contrôle naturel. Nous avons examiné, dans le cadre d'expériences de longue durée menées sur le terrain par le FiBL et par l'Agroscope, si des méthodes agricoles particulières comme le labour, le labour réduit ou la culture sans labour, ainsi que certains systèmes culturaux (culture biologique et conventionnelle) favorisaient les bactéries utiles *Pseudomonas* à propriétés antifongiques, et amélioreraient la santé des plantes.
- **Développer de nouvelles stratégies pour la lutte biologique contre les maladies fongiques et les ravageurs d'origine tellurique, grâce à l'utilisation de bactéries *Pseudomonas*.** L'objectif était ici de tester, sous serre et en plein champ, les capacités d'une sélection de *Pseudomonas* de lutte biologique à contrer les maladies et les ravageurs dans les cultures de blé et de maïs. En outre, il s'agissait d'étudier, en collaboration avec l'Université de Neuchâtel (projet PNR 68 « Nématodes ») et l'Agroscope (projet PNR 68 « Mycorhizes »), l'effet de synergie produit par l'utilisation combinée de *Pseudomonas* et d'autres auxiliaires comme les nématodes entomopathogènes et les champignons mycorhiziens arbusculaires.

Résultats

1. **Outils :** Nous avons développé des méthodes permettant de quantifier les *Pseudomonas* présentes sur les racines de blé et dans le sol à même de produire les substances antifongiques importantes pour la protection des plantes que sont le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), la phénazine (PHZ) et la pyrrolnitrine (PRN). Par ailleurs, nous avons développé des souches qui permettent de mesurer l'activité de ces bactéries utiles, c'est-à-dire l'expression des gènes nécessaires pour la production des substances mentionnées plus haut, grâce à des protéines fluorescentes. La méthode permet de déterminer simultanément pour des milliers de cellules bactériennes dans quelle mesure leur activité est influencée dans différents types de sols. Nous avons également conçu des systèmes simples pour quantifier la résistance des sols agricoles à deux agents pathogènes telluriques importants, celui du piétin-échaudage (*Gaeumannomyces*) et celui de la fonte des semis (*Pythium*). Ces outils permettent d'étudier le lien entre la présence de bactéries *Pseudomonas* utiles et les maladies des plantes dans n'importe quel sol agricole.
2. **Liens entre *Pseudomonas*, caractéristiques pédologiques et résistance aux maladies.** Nous avons examiné dix sols de champs de blé dans différentes régions de Suisse et testé leur résistance face aux maladies telluriques telles que le piétin-échaudage (*Gaeumannomyces*) et la fonte des semis (*Pythium*), quantifié trois gènes antifongiques de *Pseudomonas* (DAPG, PHZ et PRN) dans les sols et mesuré leur expression, c'est-à-dire l'activité des bactéries dans les sols. Une analyse métagénomique a permis d'étudier la diversité des bactéries et des champignons dans ces sols. Nous n'avons constaté aucune corrélation significative entre la résistance aux maladies et les genres de bactéries spécifiques comprenant les bactéries de lutte biologique connues. En revanche, il y avait un lien clair entre des génotypes spécifiques de bactéries et la résistance aux maladies telluriques. Ces corrélations se présentent toutefois différemment pour chaque maladie étudiée. Par exemple, plus les producteurs DAPG sont fréquents dans le sol, moins la population de pathogènes *Pythium* est nombreuse. Les nutriments du sol exercent une forte influence sur la fréquence et l'activité des *Pseudomonas* avec effet antifongique. Dans

l'ensemble, la résistance des sols face aux ravageurs et maladies telluriques ne s'explique pas uniquement par des genres de bactéries particuliers et par certaines fonctions bactériennes spécifiques, mais dépend aussi de l'interaction de nombreux micro-organismes, qui est probablement complètement différente pour chaque maladie. Cette interaction doit être étudiée plus en détail.

3. **Influence des méthodes culturales sur les bactéries utiles et sur la résistance des sols aux maladies.** Dans cette partie du projet, nous avons étudié la fréquence et l'activité des *Pseudomonas* efficaces contre les maladies, ainsi que la résistance des sols aux maladies, sur des parcelles accueillant des essais en plein champ de longue durée. Différents systèmes culturaux ont été comparés, comme la culture biologique, la culture conventionnelle, les systèmes sans labour et le labour intensif. Nous avons constaté des différences manifestes entre ces systèmes. Des groupes particuliers de bactéries, par exemple celles qui peuvent produire le DAPG, substance antifongique très efficace, étaient clairement plus représentés sur les parcelles cultivées de façon conventionnelle mais non labourées. Le sol le plus résistant à la fonte des semis (*Pythium*, qui attaque les racines) se trouvait en revanche sur les parcelles cultivées biologiquement. Les différents systèmes de culture n'avaient pas d'influence sur l'activité des bactéries. Ici aussi, on a vu que ni les bactéries *Pseudomonas* dans leur ensemble, ni des groupes spécifiques au sein de ces bactéries, ne peuvent être utilisés comme indicateurs uniques de la résistance des sols aux maladies, mais que cette résistance est influencée par de nombreux facteurs microbiens.
4. **Amélioration de la résistance aux maladies végétales grâce aux *Pseudomonas* et à d'autres organismes de lutte biologique.** En collaboration avec les projets PNR 68 « Nématodes » et « Mycorhizes », nous avons mené plusieurs essais en plein champ et sous serre, dans le but d'étudier certaines souches choisies de *Pseudomonas* tant individuellement qu'en combinaison avec des nématodes entomopathogènes et des champignons mycorhiziens, en particulier leur capacité à favoriser la croissance et la santé des cultures en plein champ. Pour ce faire, les *Pseudomonas* ont été intégrées au sol avec les semis. Trois essais en plein champ avec du blé d'été, près de Changins, ont apporté la preuve que les bactéries *Pseudomonas* pouvaient être intégrées avec succès à la microflore du sol déjà présente. Elles ont nettement amélioré la croissance et le rendement des plants de blé après une grosse attaque de ravageurs (oscinie ; 2014). En l'absence de stress dû aux ravageurs (2015), aucun effet positif significatif n'a pu être observé. La combinaison avec d'autres auxiliaires n'a montré aucun effet synergique évident. Les *Pseudomonas*, les nématodes et les mycorhizes ont été testés lors d'essais en plein champ (2015-2017) dans la région de Columbia (Missouri, USA) contre la tristement célèbre chrysomèle des racines du blé (*Diabrotica virgifera virgifera*). Les larves de cet insecte provoquent des dégâts considérables dans les cultures de maïs en se nourrissant des racines, aux Etats-Unis mais aussi depuis peu en Europe. Dans le cadre d'essais en plein champ, de grandes quantités d'œufs de cet insecte ont été intégrées artificiellement aux champs de maïs. Si l'infestation artificielle de chrysomèles a échoué en 2015 à cause d'une inondation, les bactéries et les nématodes ont eu malgré tout un effet positif sur le rendement des plantes. L'année suivante, en 2016, l'infestation artificielle a pu être menée à bien, et les *Pseudomonas* et les nématodes ont permis de limiter les dégâts. En outre, sur les parcelles inoculées par des bactéries, moins de larves d'insectes nuisibles ont survécu sur les racines de maïs. Ces résultats en plein champ ont pu être confirmés lors d'essais sous serre effectués par l'Université de Neuchâtel. Les résultats des essais en plein champ de 2017

ne sont pas encore connus. Les sources de *Pseudomonas* sélectionnées montrent donc un potentiel évident de contrôle biologique des insectes nuisibles problématiques.

Implication pour la recherche

Cette étude est la première à avoir comparé les résultats de l'expression de différents gènes de contrôle biologique dans plusieurs sols agricoles. En outre, elle contient la première recherche effectuée sur les liens entre les facteurs pédologiques, la fréquence des bactéries de contrôle biologique (*Pseudomonas*), leur activité et la résistance aux maladies de différents sols. Elle a montré, dans des conditions de plein champ, que des groupes choisis de *Pseudomonas* peuvent contribuer à limiter les insectes nuisibles dans les cultures arables. De manière générale, de nouvelles connaissances majeures ont été acquises sur l'écologie des *Pseudomonas* agissant contre les maladies et sur leur interaction avec les caractéristiques pédologiques et d'autres auxiliaires.

Pour la recherche, les découvertes suivantes sont importantes :

- La fréquence des *Pseudomonas* actives contre les maladies est influencée par d'autres facteurs pédologiques que leur activité ou l'expression de gènes importants pour la protection des végétaux.
- On ne constate de corrélations significatives entre la résistance à une maladie végétale spécifique et les bactéries du sol qu'au niveau de génotypes bactériens très spécifiques, mais pas au niveau de groupes de bactéries plus larges (genres, ordres).
- La résistance à différentes maladies végétales dépend de divers facteurs microbiens. On ne peut toutefois pas utiliser de groupe précis de bactéries comme indicateurs de résistance des sols aux maladies.
- Les différentes méthodes de culture peuvent influencer de diverses manières aussi bien la résistance d'un sol aux maladies que la présence de groupes spécifiques de bactéries utiles.
- Certains groupes précis de *Pseudomonas*, de par leur compétitivité et les armes efficaces qu'elles possèdent contre les champignons et insectes nuisibles, présentent un potentiel évident pour la lutte biologique, aussi bien contre les champignons ravageurs des plantes que contre les insectes herbivores.

Implication pour la pratique

La lutte biologique contre les maladies telluriques à l'aide de micro-organismes antagonistes se présente selon deux principes différents en agriculture. D'une part, il s'agit d'appliquer directement des pesticides biologiques sous forme d'organismes de contrôle biologique en grandes quantités, avec le but d'amplifier dans la zone traitée les populations antagonistes déjà présentes naturellement (« augmentation biocontrol »). D'autre part, on peut favoriser par des pratiques de culture particulières les organismes de contrôle biologique naturellement présents dans le sol, de sorte à augmenter leur nombre et leur effet protecteur contre les champignons telluriques (« conservation biocontrol »). Le projet s'est intéressé aux deux approches.

Augmentation biocontrol : les essais en plein champ menés en collaboration avec les projets « Nématodes » et « Mycorhizes » ont montré que les bactéries *Pseudomonas*, les nématodes insecticides et les champignons mycorrhiziens pouvaient être aisément combinés. L'utilisation de bactéries *Pseudomonas* dans les champs de blé montre que les bactéries peuvent rendre les plantes

plus résistantes aux ravages des insectes. Comme en témoignent les essais en plein champ et en pots sur la chrysomèle des racines du blé *Diabrotica*, des groupes spécifiques de *Pseudomonas* exerçant une action non seulement antifongique mais également anti-insectes, peuvent réduire les dégâts causés par des insectes ravageurs actifs sous terre et notoirement difficiles à combattre. La combinaison avec d'autres auxiliaires, en particulier les nématodes entomopathogènes, renforce encore cet effet.

Les *Pseudomonas* peuvent améliorer la croissance et la santé du blé et du maïs. Dans les conditions de culture en Suisse, leur effet positif ne se fait probablement pas sentir chaque année, mais lorsque les plantes cultivées sont sous stress, par exemple lors de sévère infestation parasitaire ou de carence en éléments nutritifs. Certains représentants des *Pseudomonas*, utilisés aujourd'hui par l'agriculture uniquement à des fins de contrôle biologique des maladies végétales ou comme engrais biologique, sont aussi efficaces contre des insectes – comme l'oscinie de l'avoine et la chrysomèle des racines du maïs. Etant donné que l'effet provoqué par les *Pseudomonas* seules est vraisemblablement insuffisant ou trop peu constant, il pourrait s'avérer plus efficace d'appliquer une stratégie consistant à les combiner avec d'autres organismes de contrôle biologique, par exemple d'autres groupes de bactéries, des nématodes entomopathogènes ou des champignons.

Conservation biocontrol : l'utilisation ou la stimulation ciblées de micro-organismes naturellement actifs contre les maladies, que ce soit par des méthodes de culture adaptées ou par le choix de variétés végétales adéquates, n'est de loin pas encore une réalité. Bien que les expériences aient montré qu'on peut exercer une influence sur la résistance du sol et la présence de certains groupes de bactéries utiles, l'agriculture suisse n'offre probablement que très peu de possibilités d'application. Le problème principal à nos yeux est le fait que, pour chaque plante cultivée et chaque maladie tellurique, il faudrait selon toute vraisemblance favoriser dans le sol d'autres groupes essentiels de micro-organismes utiles. Avec les systèmes de rotation des cultures en vigueur en Suisse, cela ne paraît réalisable que de manière très limitée. Ce qui pourrait éventuellement être efficace, c'est l'utilisation de variétés végétales adaptées, qui interagiraient au mieux avec des organismes utiles du sol et des racines. Cela suppose qu'on veille à favoriser au stade de la sélection des caractéristiques donnant aux plantes la capacité d'héberger dans leur rhizosphère et leur phyllosphère un plus grand nombre de bactéries et organismes utiles, et de soutenir au mieux leur activité.

Nos recherches montrent qu'il n'y a pas, à l'heure actuelle, d'indicateurs fiables de la résistance générale des sols. Même les groupes de bactéries dont on a prouvé qu'ils étaient utiles, comme les *Pseudomonas* de lutte biologique, ne nous permettent pas de tirer de conclusions universellement valables sur la capacité d'un sol à favoriser la croissance et la santé des plantes, sur la base de leur présence, de leur fréquence et de leur activité. Jusqu'à présent, nous n'avons pu attribuer de rôle important dans la résistance aux maladies qu'à certains groupes de micro-organismes du sol utiles, et seulement dans certains sols suppressifs très bien étudiés. Quant à savoir quels organismes composent un microbiome utile dans les sols agricoles courants et comment ce microbiome devrait être décliné selon les différents sols, plantes et ravageurs, il est tout simplement encore impossible de le dire. Pour pouvoir améliorer la résistance des sols par la stimulation ciblée d'une microflore tellurique bénéfique en se fondant sur des bases solides, il faut donc effectuer des études plus nombreuses et surtout plus complètes sur les liens entre les méthodes de culture, les micro-organismes auxiliaires, les plantes cultivées et les ravageurs et maladies.

Recommandation

La Suisse s'est donné pour objectif de réduire massivement l'emploi de pesticides pour protéger les consommateurs et l'environnement, et de rendre l'utilisation de ces produits aussi viable que possible (cf. « Plan de réduction des pesticides pour la Suisse » et « Plan d'action visant à la réduction des risques et à l'utilisation durable des produits phytosanitaires »). De plus en plus de composants synthétiques sont interdits, y compris pour l'enrobage des semences, et il va donc devenir de plus en plus difficile de lutter efficacement contre certains insectes et certaines maladies fongiques. L'utilisation d'antagonistes naturels, considérée jusqu'à présent comme une solution alternative souhaitable, devient par manque de solutions chimiques un élément essentiel et absolument nécessaire de la protection des végétaux.

A court et moyen termes, nous considérons que l'utilisation de pesticides biologiques présente un potentiel considérable. Les recherches menées sur les *Pseudomonas* à propriétés antifongiques et anti-insectes ont montré que dans les cultures de blé et de maïs étudiées, ces bactéries pouvaient améliorer la santé des plantes et étaient combinables avec d'autres auxiliaires. Etant donné que les *Pseudomonas* ne sont vraisemblablement pas suffisamment efficaces utilisées seules, nous recommandons d'investir avant tout dans le développement de combinaisons d'auxiliaires à mécanismes et spectres d'action variés. Le projet « Lutte biologique contre les parasites » de la phase II du PNR 68 se penche sur l'utilisation de combinaisons de *Pseudomonas* à propriétés antifongiques et anti-insectes avec des nématodes entomopathogènes pour lutter contre les insectes nuisibles du sol. Dans ce cadre, nous évaluons de nouvelles techniques d'application, qui consistent à associer bactéries et nématodes dans des petites billes d'alginate, et à répandre ces dernières dans les cultures directement lors du semis. Par ailleurs, nous testons aussi des combinaisons de *Pseudomonas* et de champignons insecticides contre les ravageurs des racines. Les ravageurs du sol sont très difficiles à combattre, et seront encore plus compliqués à contrôler une fois interdit l'enrobage des semences avec les néonicotinoïdes, extrêmement efficaces. C'est la raison pour laquelle l'utilisation combinée d'auxiliaires en tant qu'alternative écologique va prendre de plus en plus d'importance. Nous recommandons par conséquent d'encourager la recherche appliquée dans ce domaine, c'est-à-dire les tests en plein champ de différentes combinaisons d'auxiliaires sur différentes plantes cultivées, ainsi que le développement des techniques d'application de ces combinaisons.

Dans une agriculture comme la nôtre, basée sur la rotation des cultures, faire du contrôle biologique de conservation – c'est-à-dire favoriser de façon ciblée les auxiliaires dans le sol – le pilier d'une stratégie écologique de protection des végétaux, ne peut être qu'un objectif à long terme et n'est réalisable que de façon limitée. Les résultats que nous avons obtenus montrent qu'un microbiome utile est constitué de micro-organismes divers, selon les propriétés du sol, le type de plantes cultivées et le type de maladie ou de ravageur. Il sera difficile d'identifier des organismes précis qui puissent servir d'indicateurs de la résistance des sols en général. Afin de mieux comprendre les interactions entre le microbiome bénéfique, le génotype des plantes, la résistance/le comportement des plantes face au stress, les organismes nuisibles et les caractéristiques pédologiques, il est nécessaire d'intensifier la recherche, et qu'elle englobe et compare une large palette de types de sols, de plantes cultivées, d'organismes nuisibles et de méthodes culturales. Nous ne disposons pas non plus de connaissances suffisantes quant à l'influence que peuvent avoir sur la résistance des sols l'ajout de substances organiques, comme le compost de qualité, ou certaines cultures intercalaires et certains mélanges de variétés. Ces approches doivent être prises en compte dans les futurs projets de recherche. Nous recommandons également de porter l'attention sur la sélection, et d'introduire comme nouveau critère la capacité

des plantes à recruter des auxiliaires. Là aussi, il nous manque actuellement les connaissances de base, à savoir quels sont les micro-organismes naturellement présents à même d'offrir la meilleure protection à une variété particulière de plantes cultivées contre les maladies et les ravageurs les plus graves.