

La réglementation est-elle un frein au développement des microorganismes utiles à l'agriculture?

Claude Alabouvette

INRA MSE Dijon

Réglementation

- Directive 91/414
- Directive 2001/36

Directive 91/414

- Définit les exigences réglementaires pour qu'un produit de protection des plantes puisse être mis sur le marché
- L'annexe I liste les substances actives autorisées dans l'UE
- Les AMM pour les spécialités commerciales sont du ressort des états membres

Directive 91/414

- Son champ d'application inclut tous les PPP y compris les microorganismes cellulaires ou acellulaires (virus)

Directive 2001/36

- Précise les annexes II et III de la directive 91/414 pour la constitution des dossiers relatifs aux microorganismes

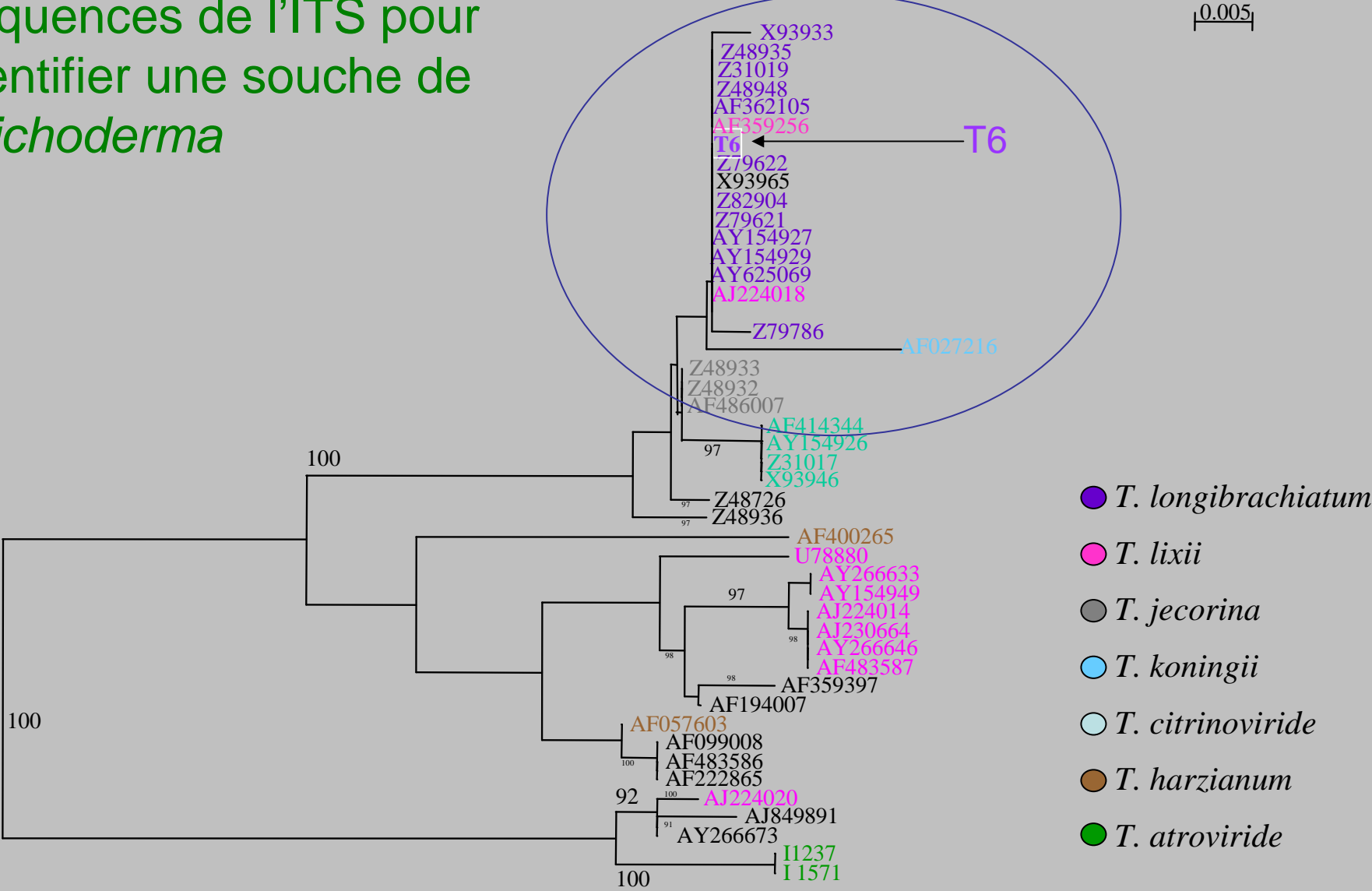
Les grands chapitres

- 1/ Identité : identification caractérisation
- 2/ Propriétés, Biologie
- 3/ Autres informations sur le microorganisme
- 4/ Méthodes d'analyses
- 5/ Effets sur la santé de l'homme
- 6/ Résidus
- 7/ Devenir et comportement dans l'environnement
- 8/ Effets sur les organismes non cibles

Identification caractérisation

- En utilisant les meilleurs outils disponibles
- Problèmes dus à l'évolution des outils de caractérisation

Utilisation des séquences de l'ITS pour identifier une souche de *Trichoderma*



Identification spécifique d'une souche

Utilisation de marqueurs spécifiques
Specific Characterised Amplified Region
Exemple d'un travail réalisé avec une souche de
Trichoderma

*Cordier et al., Journal of Microbiological Methods (in
press)*

Identification – développement d'outils de caractérisation souche-spécifique

M : 1kb DNA ladder

Lane 1-8 :

***T. atroviride* strains**

T1

ATCC 28036

ATCC 36042

ATCC 42831 (*)

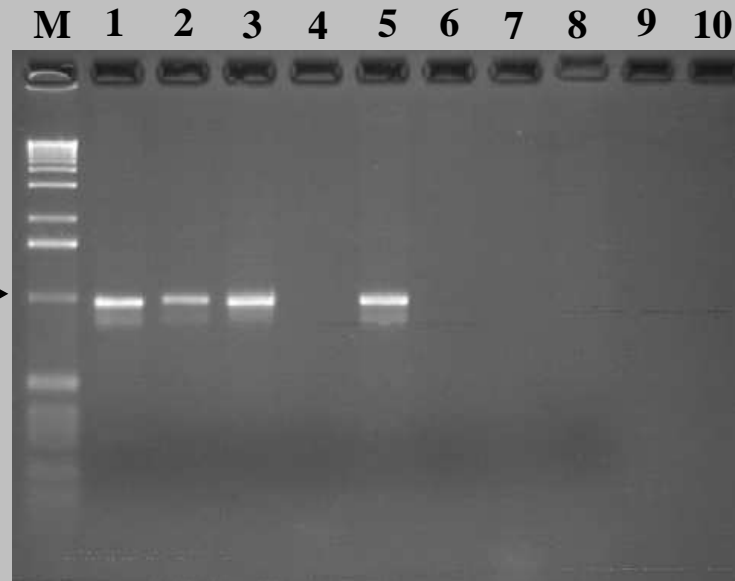
ATCC32173

CBS 18569

CBS 35093

CBS 47094

1 kbp →



Lane 9 :

***T. harzianum* T39**

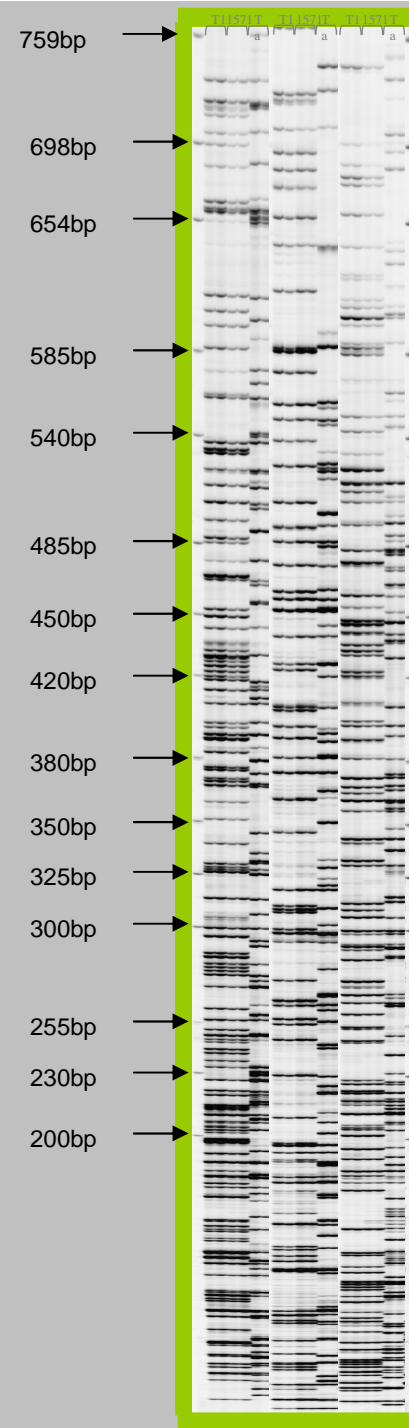
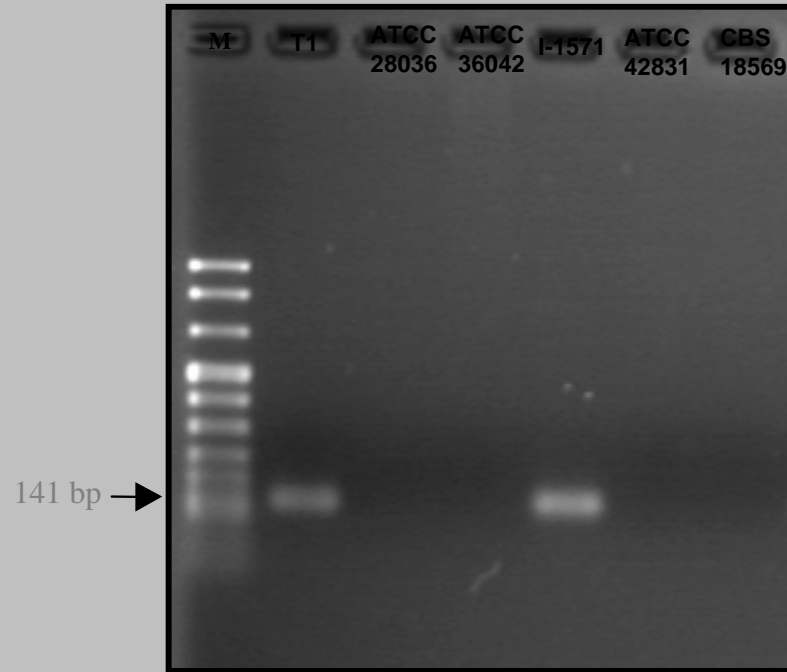
Lane 10 :

***T. viride* S17a.**

(*) ATCC 42831 : *T. atroviride* – Genbank Z48811 : *T. harzianum*/*T. atroviride*

Specificité du marqueur SCAR

T. atroviride strains



Biologie, modes d'action

- Bonne connaissance des modes d'action:
 - Compétition
 - Antibiose
 - Parasitisme
 - Induction de résistance
- Ne doit pas produire de mycotoxines

Autres propriétés

- Fonctions
- Usages revendiqués
- Méthode de production
- Stabilité

Effets sur la santé de l'homme

- Résultats des essais de toxicité aïgue
- Résultats des essais de génotoxicité
- Résultats des essais de toxicité chronique

Problèmes: méthodes standardisées définies pour l'étude de la toxicité de molécules de synthèse, parfois inadaptées à l'étude d'organismes vivants

Méthodes d'analyse

- Toutes les méthodes permettant d'identifier l'organisme, de détecter les contaminants , les métabolites secondaires, les résidus doivent être décrites avec précision

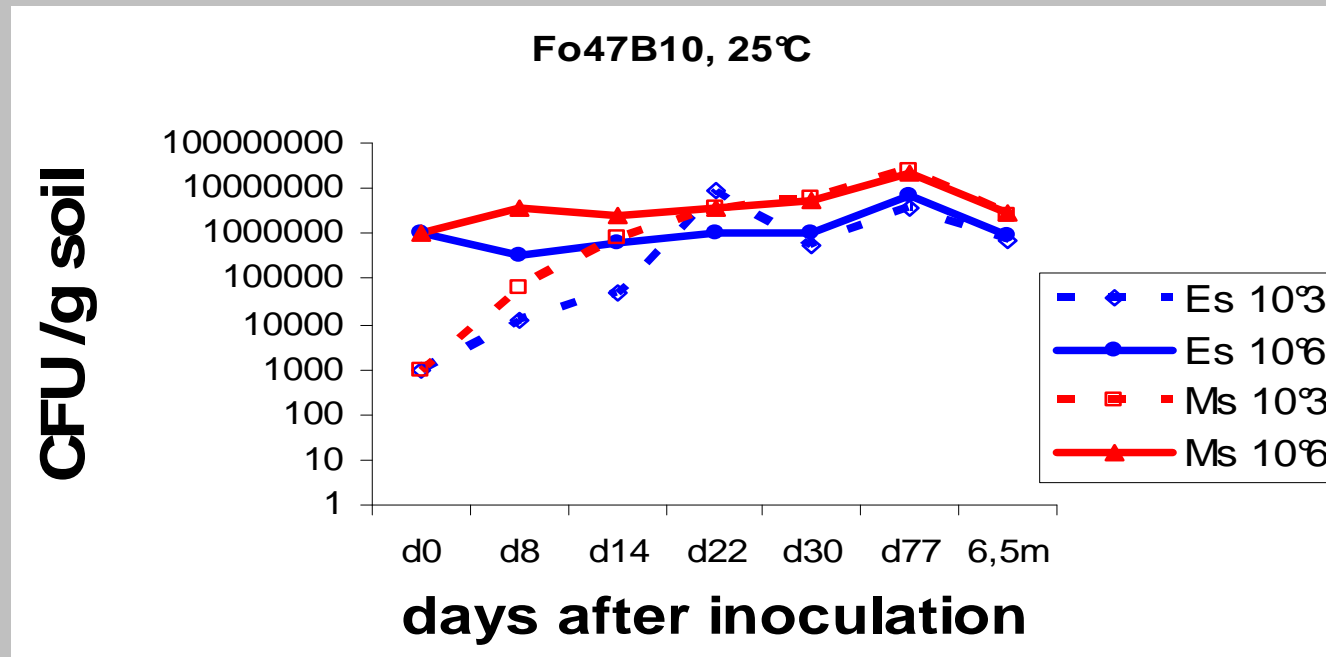
Résidus

- Dans le cas des microorganismes les résidus sont généralement les microorganismes eux-mêmes

Survie et comportement dans l'environnement

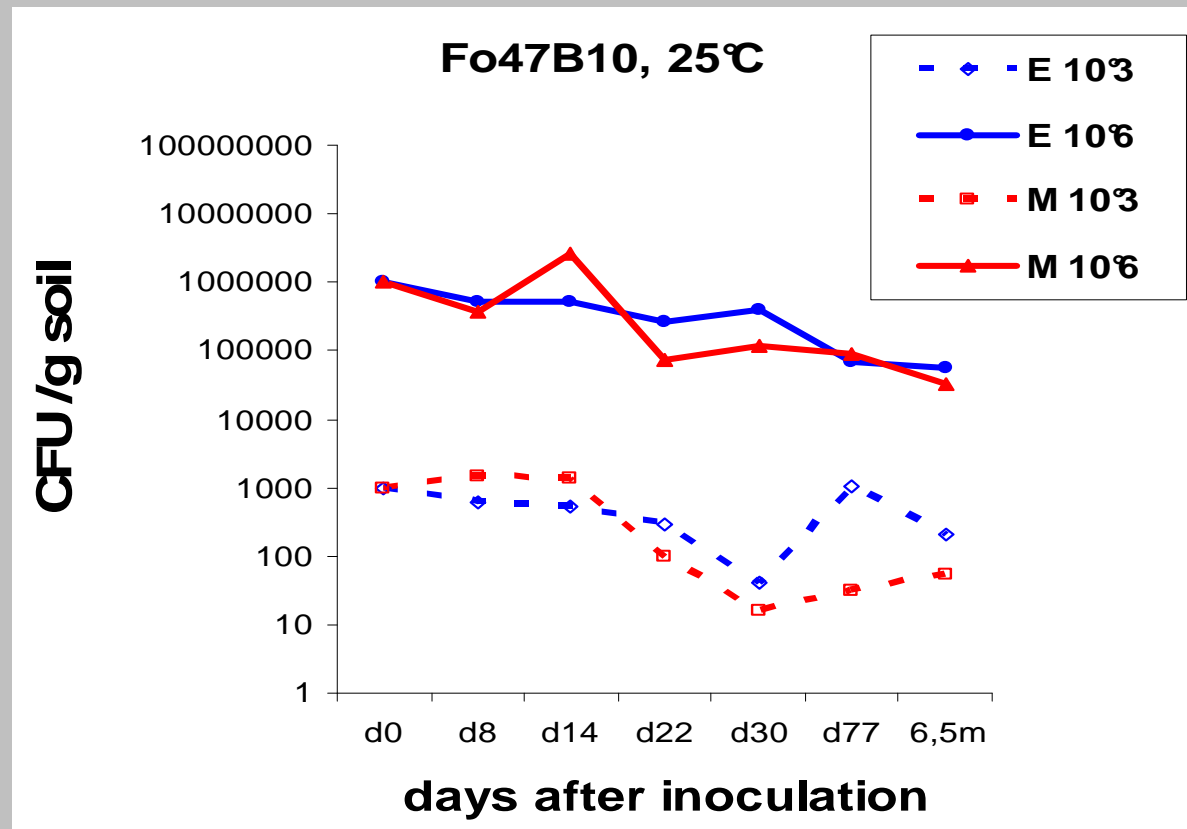
- Dynamique des populations dans l'environnement, difficile à appréhender avec des souches sauvages pré-existantes dans l'environnement
- Utilisation de souches marquées (résistance antibiotique)
- Utilisation de marqueurs moléculaires (scar)
- Nécessité de disposer de marqueurs

Population dynamics of Fo47b10 in sterilized **Epoisses** and **Morvan** soils

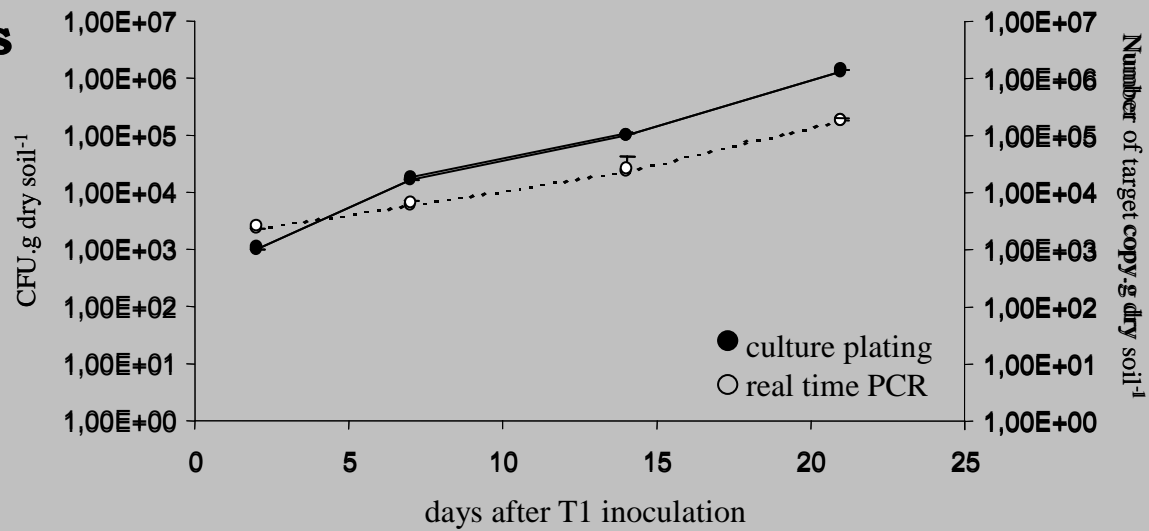


Fo47b10 is a mutant of Fo 47 resistant to Benomyl

Population dynamics of Fo47b10 in **Epoisses** and **Morvan** soils

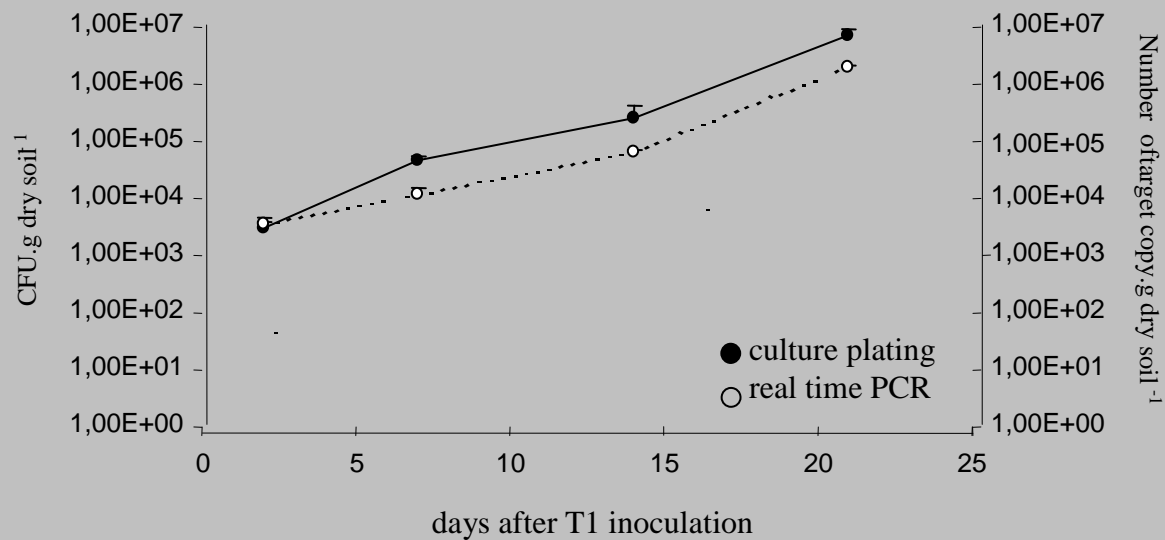


Epoisses

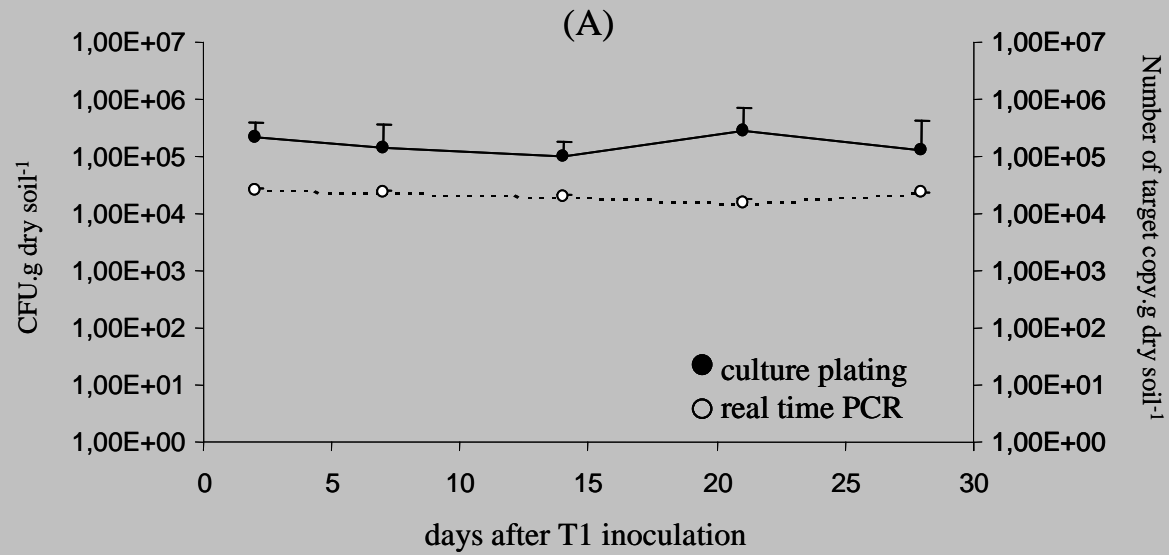


Dynamique de la population de T1 en sol désinfecté

Morvan

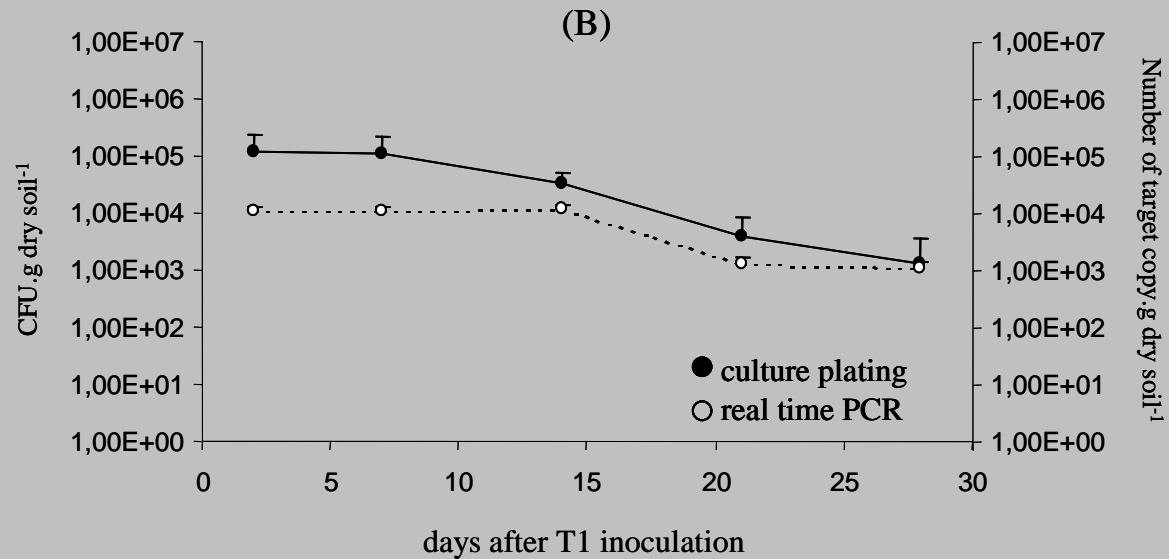


Epoisses



Dynamique de la population de T1 en sol naturel

Morvan



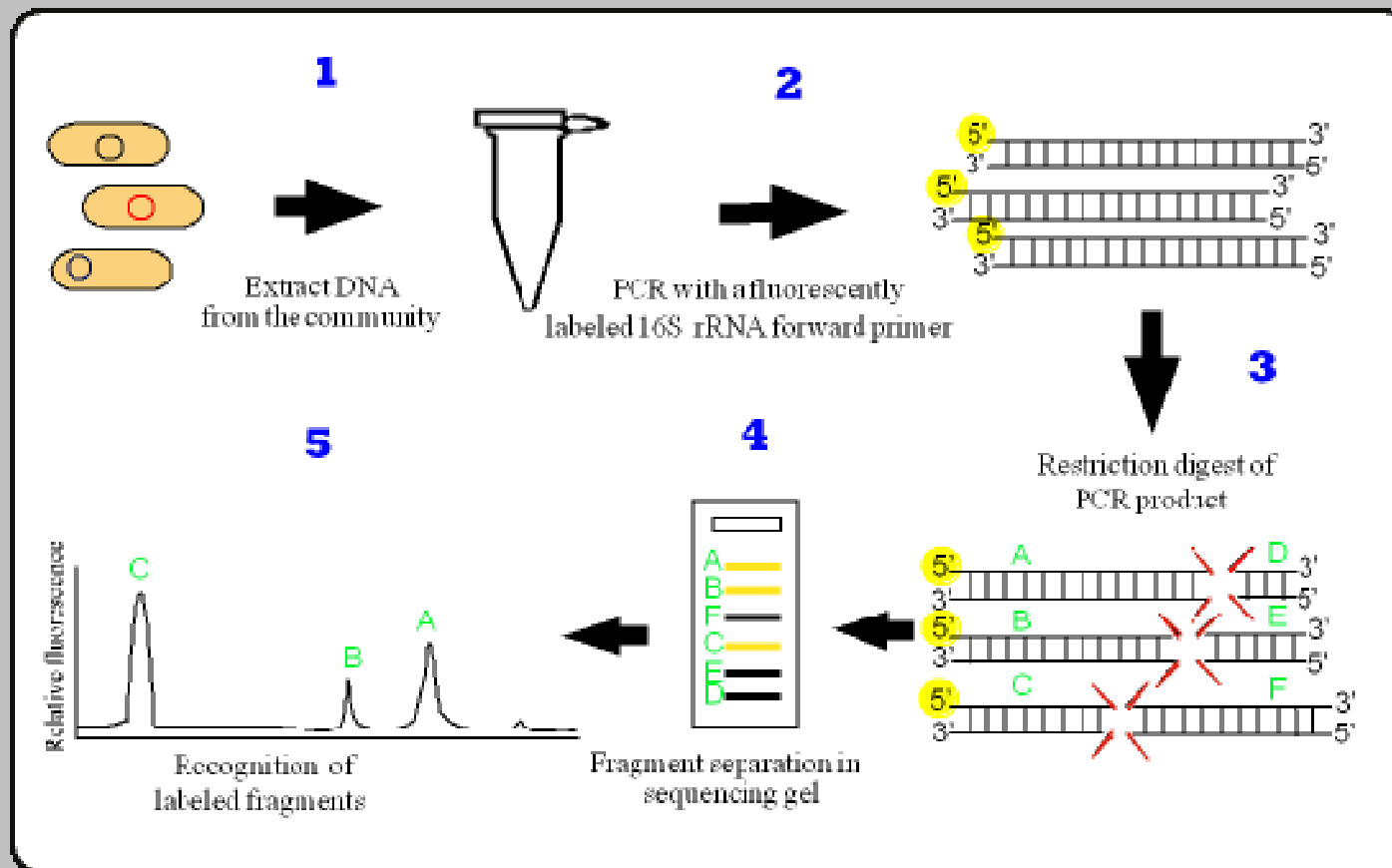
Effets sur les organismes non cibles

- Organismes aquatiques
- Abeille
- Arthropodes autres que l'abeille en particulier insectes auxiliaires
- Vers de terre
- Microflore du sol

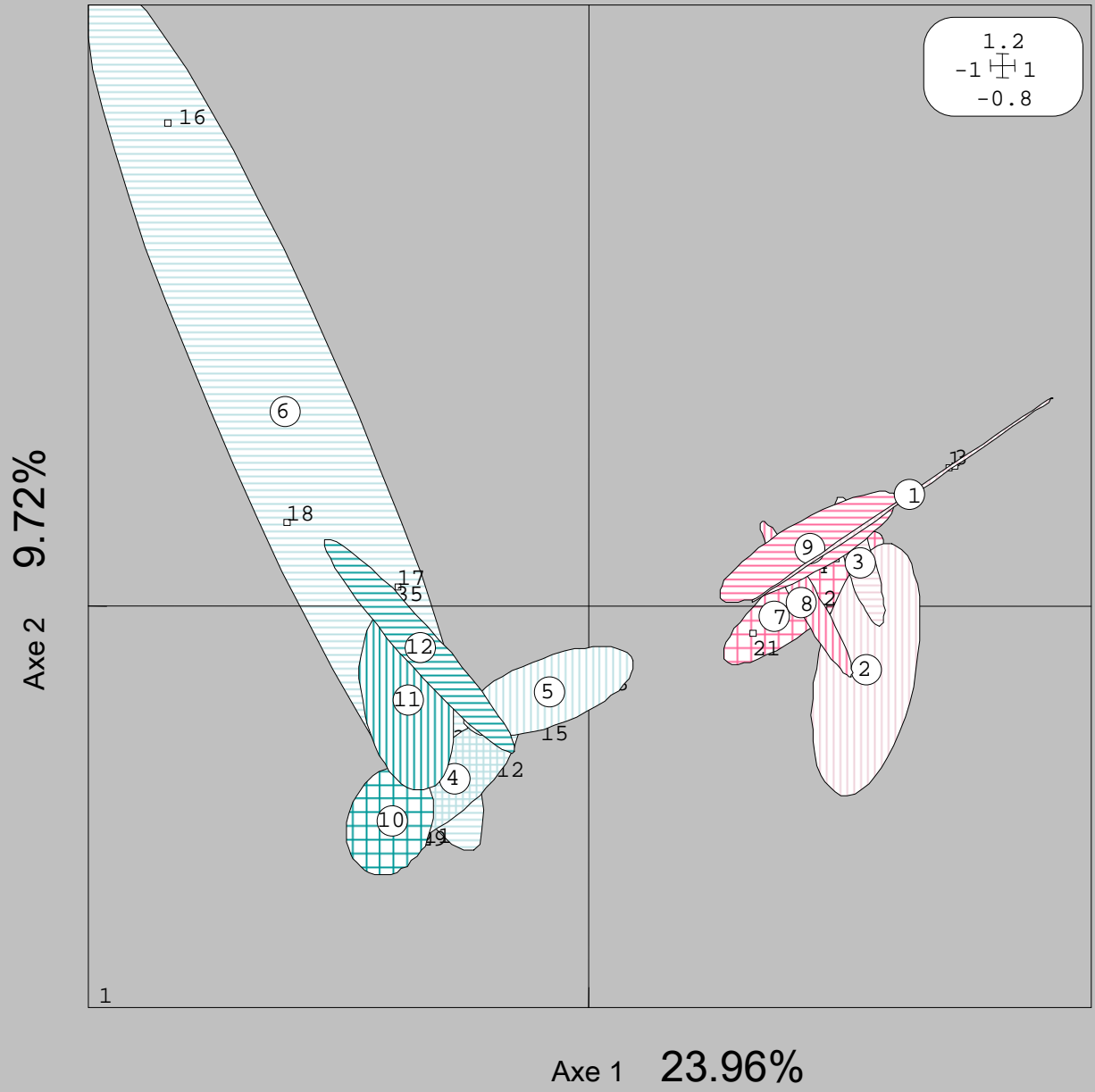
Effets non intentionnels sur la microflore tellurique

Structure des communautés bactériennes et fongiques

- Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP)



16S



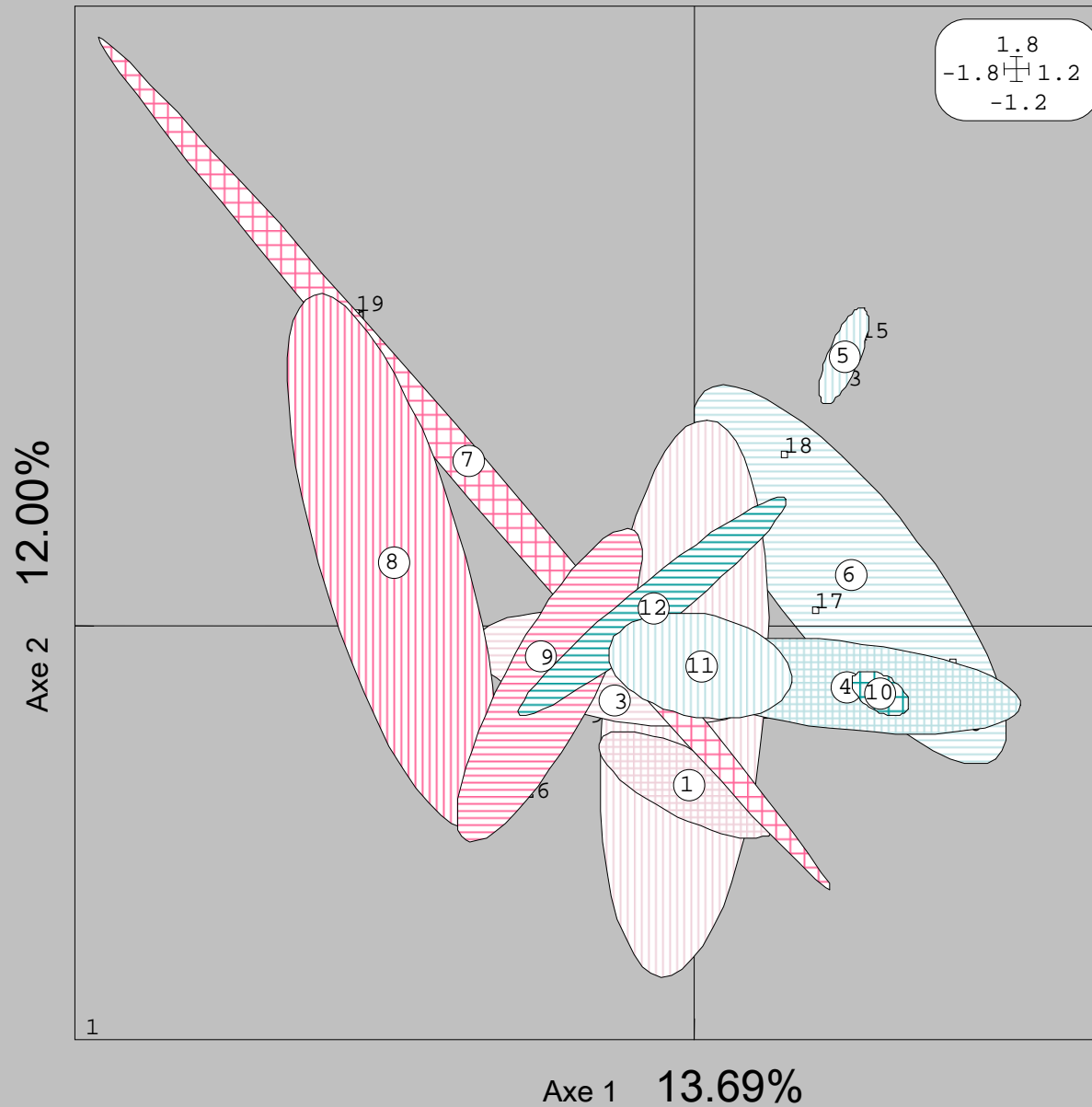
24h

- 1 Dijon Témoin
- 2 Dijon A6r6
- 3 Dijon Fo47
- 4 Saint-Usage Témoin
- 5 Saint-Usage A6r6
- 6 Saint-Usage Fo47

30j

- 7 Dijon Témoin
- 8 Dijon A6r6
- 9 Dijon Fo47
- 10 Saint-Usage Témoin
- 11 Saint-Usage A6r6
- 12 Saint-Usage Fo47

18S



24h

- 1 Dijon Témoin
- 2 Dijon A6r6
- 3 Dijon Fo47
- 4 Saint-Usage Témoin
- 5 Saint-Usage A6r6
- 6 Saint-Usage Fo47

30j

- 7 Dijon Témoin
- 8 Dijon A6r6
- 9 Dijon Fo47
- 10 Saint-Usage Témoin
- 11 Saint-Usage A6r6
- 12 Saint-Usage Fo47

**La réglementation est-elle un frein
au développement des
microorganismes utiles à
l'agriculture?**

Doit-on la modifier?

Comment peut-on la rendre plus
“facile”?



REBECA

*Regulation of
Biological Control Agents*



REBECA is an EU policy support action to review possible risks of biocontrol agents, compare regulation in the EU and the USA and to propose alternative, less bureaucratic and more efficient regulation procedures maintaining the same level of safety for human health and the environment but accelerating market access and lowering registration costs.