

 MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION	Appel à projets de recherche « Pour et Sur le Plan Ecophyto » Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2	
--	--	---

Modèle rapport final PSPE2

En 5 parties :

1. Fiche de synthèse à diffusion publique : *modèle « Ecophyto » (Cf colloque Ecophyto Recherche) jointe au mail.*

2. Rapport d'activité : doit permettre de juger

- de l'exécution du projet (par tâche, par partenaire),

Le projet BIOLIM a été déposé en mai 2014 par l'ACTA, et rassemblait les partenaires suivants : Université de Rennes I, Arvalis, De Sangosse, Phyteurop et Bayer autour de la mise en œuvre du biocontrôle vis-à-vis des limaces nuisibles aux grandes cultures.

Les moyens alloués à l'université de Rennes I ont servi à réaliser une approche de type méta-analyse sur les produits de biocontrôle à partir des données bibliographiques et une étude spécifique d'écologie chimique sur les relations trophiques entre les limaces et les plantules de colza. Ces études bibliographiques et de laboratoire ont été réalisées à l'université de Rennes I pendant les 10 premiers mois du projet. Le projet BIOLIM a permis d'employer une contractuelle et une stagiaire de Master 2 Patrimoine Naturel et Biodiversité de Rennes.

L'ACTA s'est occupé de l'animation générale du projet pendant toute sa durée, du suivi de la méta-analyse en collaboration avec l'université de Rennes I et a réalisé une série d'essais de laboratoire. Arvalis a réalisé une importante série d'essais sur les substances naturelles et les plantes de services. Les partenaires (De Sangosse, Phyteurop) ont contribué aux études en fournissant des moyens et du matériel biologique. Ils ont également participé à la conception des études et à la synthèse des résultats.

- des moyens (humains et techniques) effectivement mis en œuvre,

ACTA André CHABERT : 35 jours, 12,5 jours assistance suivi administratif et financier
Université de Rennes I

Myriam TAMINE : 20 jours, Elmina MOTTIN : 330 jours, encadrées par Maryvonne Charrier
DE SANGOSSE, Marion PUYSSERVERT : 8,5 jours

PHYTEUROP, Corinne LAJOIE : 13 jours

ARVALIS : Pierre TAUPIN 17 jours, Raphaël DUCERF 19 jours, Jean-Baptiste THIBORD 7 jours,
Autres personnel : 25 jours.

BAYER : abandon rapide du projet.

- de la réalisation des jalons et de la production des livrables annoncés,

Le projet s'est déroulé du 20 avril 2015 au 19 avril 2018

André Chabert de l'ACTA a participé à l'analyse de la bibliographie, à l'animation, à l'organisation des réunions et à la rédaction des comptes rendus. Il a également contribué à l'analyse des méthodes d'études des limaces, à la mise en place des essais sur les substances naturelles de type caféine, saponines avec le soutien pendant deux mois d'un stagiaire de BTSA Agronomie - Productions végétales : Remi Corozier.

L'approche de type méta-analyse des méthodes de biocontrôle a fait l'objet du mémoire de Myriam Tamine encadrée par Elmina Mottin, puis la mise en place de l'étude sur l'écologie chimique des relations trophiques entre les limaces et les plantes a donné lieu au rapport de stage M2 de Myriam Tamine encadrée par Maryvonne CHARRIER.

Pierre Taupin et Raphaël Ducerf ont participé aux différentes réunions, aux analyses méthodologiques, et à la mise en place des essais sur les cultures intermédiaires et les extraits végétaux.

Les agents de De Sangosse, et de Phyteurop ont participé aux réflexions méthodologiques, à l'analyse des données et aux études en collaboration avec l'université de Rennes (fourniture de matériel biologique...)

La société Bayer a abandonné le projet en 2016 suite à l'absence de projet de développement de produits phytosanitaires de biocontrôle sur cette thématique et à de faibles efficacités constatées avec leurs produits.

Les principaux livrables actuels sont :

- Livrables base Mendeley avec les 310 publications
 - Base de données de types Excel avec l'analyse d'une centaine de publications
 - Diverses présentations à des séminaires
 - Articles dans Phytoma
 - Le compte rendu intermédiaire, le présent rapport
- [de la collaboration effective à l'intérieur du projet et, éventuellement, entre projets,](#)

Année 2014 : Dépôt du projet

Le projet BIOLIM a été conçu au sein de l'équipe animatrice du projet CasDAR 2012 RESOLIM « Evaluation et prévision du risque lié aux populations de limaces nuisibles aux grandes cultures : constitution d'un réseau expérimental permettant de comprendre l'impact des pratiques agricoles et des facteurs environnementaux »

Année 2015 : Lancement du projet

- 30 juin : réunion du comité de pilotage RESOLIM, échange sur l'organisation de BIOLIM
- 16 septembre : réunion de lancement du projet BIOLIM
- 18 et 19 novembre : réunion sur les aspects méthodologique

En 2015, s'ajoutent des réunions d'échanges sur les méthodes à mettre en œuvre selon les différents objectifs visés.

Année 2016 : Expérimentation et analyses des données

- 28 et 29 janvier : séminaire d'analyse des résultats et préparation du séminaire de restitution
- 18 mars : colloque de restitution du projet RESOLIM (150 personnes) présentation du projet BIOLIM et des travaux en cours.
- 27 juin : réunion BIOLIM avec copil RESOLIM

Année 2017 : Expérimentation et analyses des données

- 17 janvier : réunion téléphonique de préparation, compte rendu final puis échanges en bilatéral jusqu'à fin octobre 2018.
- 26 janvier : présentation des résultats du projet RESOLIM et BIOLIM à une journée Terres Inovia à Evreux (environ 100 personnes).
- 2 février : présentation des résultats des projets RESOLIM et BIOLIM à l'Assemblée Générale des producteurs d'oléagineux belges (APPO) (environ 250 personnes).

Année 2018 : Bilan

- 7 mars : réunion de bilan et synthèses des résultats
- des liens établis avec les acteurs du plan Ecophyto, en particulier du ou des dispositifs concernés,

Des contacts ont été établis avec différents acteurs du plan Ecophyto lors des présentations des résultats : i) au séminaire PSPE le 2 décembre 2017, ii) à une journée avec des agriculteurs à Bourges en janvier 2017, iii) à des animateurs d'un projet Écophyto (action 30 000) sur la réduction de l'usage des anti-limaces, le 10 septembre 2018.

- des différents produits du projet (à lister)

Participation aux colloques de restitution du projet RESOLIM, le 18 mars 2016, (150 personnes) et les power point ont été diffusés via le serveur ARVALIS.

Articles et rapports de stage

- Mottin E., Tamine M., Chabert A. et Charrier M. (2016) État des connaissances sur le biocontrôle vis-à-vis des limaces, *Phytoma*, 694 : 34-37.
- Tamine M. (2015) Quels moyens de biocontrôle pour les ravageurs de culture ? Le cas des limaces. Master 2 Patrimoine naturel et Biodiversité Université Rennes I, 21 pp.
- Tamine M. (2016) Étude expérimentale de l'interaction trophique entre le colza et son ravageur, la limace grise *Deroceras reticulatum* : facteurs stimulant la nutrition et réponses métaboliques interspécifiques. Master 2 Patrimoine naturel et Biodiversité Université Rennes I, 25 pp.
- Van Der Linde M. (2017) Sélection gustative de métabolites du colza par la limace grise *Deroceras reticulatum* et devenir des phytohormones dans les tissus de la limace. Master 1 Patrimoine naturel et Biodiversité Université Rennes I, 15 pp.
- Tamine M., Jonard C., Van Der Linde M. & Charrier M. Discrimination of oilseed rape seedlings by the field slug *Deroceras reticulatum* and storage of salicylic acid in its digestive gland. *In preparation*

3. Rapport scientifique : 10 à 15 pages en format à peu près libre

En repartant des objectifs et hypothèses initiaux, il s'agit de montrer en quoi le projet a fait avancer la connaissance, évoluer les concepts, a fourni des réponses, des méthodes ou des outils et posé de nouvelles questions.

Plan classique suggéré :

- *Introduction rappelant la problématique, les enjeux et l'état de l'art*

Contexte

Le plus souvent, les limaces préfèrent les parties vertes des végétaux, mais parfois elles s'attaquent aux semences et aux tubercules. Comme tous les phytophages, elles sont elles-mêmes des proies de prédateurs, des hôtes de parasites ou de pathogènes et peuvent être sensibles à différentes substances d'origine végétale ou minérale. Ainsi l'amélioration des connaissances de ces facteurs de régulation peut ouvrir de nouvelles voies de recherche.

Par ailleurs, l'accélération des découvertes dans les domaines de la biologie moléculaire et de l'écologie chimique devrait conduire à moyen terme à l'élaboration de produits de biocontrôle. Au-delà de l'identification des solutions particulières de lutte, des combinaisons de mesures défavorables aux limaces ou d'évitement des attaques, même d'efficacité partielle, pourraient aussi largement contribuer à la réduction de l'usage de ces produits phytosanitaires.

Ainsi, pour l'ensemble des moyens potentiels de biocontrôle, une meilleure compréhension des interactions trophiques entre les limaces et les plantes doit être recherchée afin de mieux définir les stades sensibles et d'évaluer leur potentiel d'efficacité pratique. Vu que cette efficacité varie grandement selon les conditions climatiques, agronomiques et locales, leur influence doit être également cernée.

Ainsi, le projet PSPE2 BIOLIM consacré spécifiquement aux produits de biocontrôle des limaces a permis de faire un panorama des connaissances actuelles et de lancer quelques nouvelles expérimentations à ce sujet. Il a également permis de revisiter l'efficacité des leviers agronomiques prophylactiques vis-à-vis des limaces.

LES METHODES DE LUTTE ACTUELLES

La lutte chimique contre les limaces repose actuellement sur deux molécules : le métaldéhyde et l'ortho-phosphate de fer. Elles doivent être incorporées dans des granulés pour que les limaces les ingèrent. Cette méthode d'application rend la lutte difficile car une part importante des populations reste cachée dans les sols ou dans la végétation présente et ne consomme pas les granulés. Dans les sols, les individus de petite taille sont très difficiles à détecter et sont peu sensibles à ces méthodes de lutte.

Les fluctuations thermiques et hydriques ont des effets très significatifs sur l'activité des limaces et sur les processus d'intoxication. Sur le plan méthodologique, la répartition spatiale agrégative des limaces rend les essais au champ assez aléatoires. Leur élevage en conditions artificielles est assez complexe à réaliser à moyen terme, ce qui rend la standardisation des études de laboratoire assez délicate. De plus, les réponses des études de laboratoire ne sont pas toujours transposables aux conditions de la pratique agricole. Ainsi, l'évaluation de l'efficacité des moyens de lutte contre les limaces est assez complexe.

Dans la pratique, ces ravageurs restent encore partiellement contrôlés, mais les produits phytosanitaires destinés à limiter leurs attaques sont appliqués sur de vastes surfaces agricoles : les traitements effectués sur le colza et le blé sont de l'ordre de 2 à 3 millions d'hectares chaque année. De par leur importance économique, il est vraiment regrettable que ces bioagresseurs soient si peu étudiés.

UNE NOUVELLE VOIE DE RECHERCHE DEPUIS LE DÉPÔT DU DOSSIER INITIAL

Au-delà des produits de biocontrôle classiques, au fil des recherches effectuées dans le cadre du projet BIOLIM, nous avons identifié de nouvelles données scientifiques concernant les interactions chimiques entre plantes et phytophages. Approfondir les mécanismes de défense associés à ces interactions, nous a semblé une voie de recherche privilégiée pour mettre au point de nouveaux produits de biocontrôle.

La principale limace nuisible aux cultures *D. reticulatum* présente une stratégie originale pour contrer le principal mécanisme de défense chimique de la plante (Figure 1). En effet, la plante attaquée utilise la voie des jasmonates qui lui permet de synthétiser des glucosinolates répulsifs ou toxiques pour les phytophages. Or, *D. reticulatum* produit de l'acide salicylique dans son mucus de locomotion (Kästner et al. 2014, Tamine 2016), ce qui inhibe la voie du jasmonate et réduit la synthèse de glucosinolates.

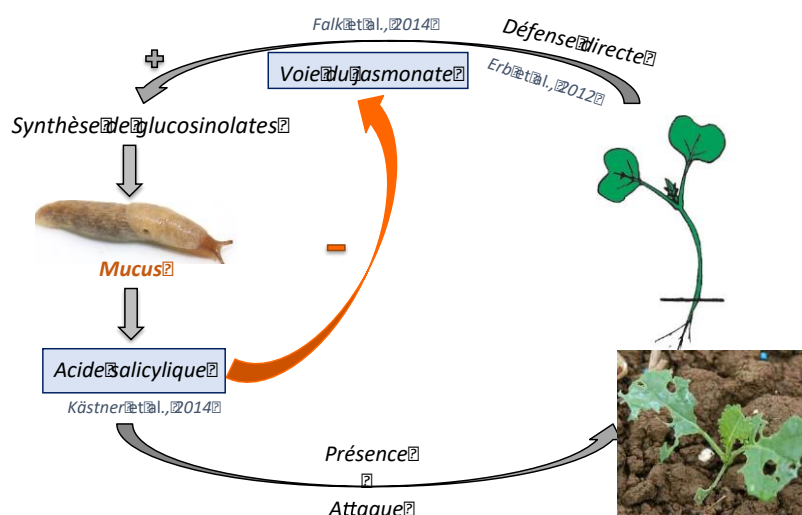


Figure 1 : Interactions chimiques entre une plante, le colza, et la limace *Deroceras reticulatum* conduisant à des dommages sur la plante malgré la mise en place de défenses chimiques par la plante

On peut espérer qu'en approfondissant ces connaissances, nous pourrions identifier au sein des plantes des composés chimiques ou des voies de synthèse capables de stopper ou de réduire les attaques de limaces. Une fois ces facteurs identifiés, nous pourrions conseiller l'usage de plantes munies de ces atouts comme plantes de service (dans un usage de cultures intermédiaires pièges à nitrates) ou proposer le développement de lignées aptes à se défendre.

• Les approches scientifiques et techniques utilisées

Action 1 : Meta-analyse des moyens de biocontrôle existants

1- Faire l'inventaire et analyser des moyens de biocontrôle existants et rechercher de nouveaux moyens adaptés aux différents stades des limaces : éclosion, reproduction-fécondité, alimentation,

comportement, longévité. (Action 1 changement de l'ordre de présentation Action 1. 1 et Action 2.1 par rapport au dossier initial)

Objectif : faire un inventaire exhaustif des moyens de biocontrôle possibles sur les différents traits de vie des limaces et adaptés aux différentes conditions de milieu.

Les bases de données bibliographiques, telles que Web Of Science et PubMed, ont permis l'acquisition de publications internationales référencées sur le sujet. Notre base débute en 1992 car cela correspond à la parution de l'ouvrage de South intitulé « Terrestrial slugs. Biology, ecology and control » qui est une synthèse des connaissances sur le sujet et qui retrace tous les moyens de contrôle des limaces au cours du XXe siècle. Grâce au logiciel de gestion des données bibliographiques Mendeley, les publications rassemblées en fichiers PDF ont été triées puis classées selon 10 critères combinant les aspects méthodologiques (type d'étude, famille de biocontrôle, ravageurs concernés, cultures utilisées), biogéographiques (origine des auteurs, saison d'étude) et scientifiques (hypothèses et conclusions sur les niveaux d'efficacité). Ainsi, un total de 230 publications parues entre 1992 et 2015 a été répertorié sur l'étude des moyens de biocontrôle existants contre les limaces des cultures. Ce travail bibliographique a fait l'objet d'un mémoire de Master 2 (Tamine, 2015). Depuis cette date, une mise à jour a été faite et actuellement la base de données sur Mendeley comporte 310 références (ouvrages, synthèses et articles).

2- Caractériser les spécificités des traits de vie de ce ravageur du point de vue de leur sensibilité au biocontrôle et selon les conditions de milieu (pédoclimatiques). (Action 1 .changement de l'ordre de présentation Action 1. 1 et Action 2.1 par rapport au dossier initial)

Objectif : trouver les stades les plus sensibles des limaces et les conditions de milieu pour que les conditions d'efficacité des méthodes de biocontrôle soient les plus efficaces possible.

Nous avons identifié les périodes où les différentes méthodes de biocontrôle des limaces pourraient être les plus efficaces sur les populations de ce ravageur à partir des études entreprises dans le projet RESOLIM :

- i) lors de la conception de l'outil d'évaluation multicritères DEXi Limaces qui permet de caractériser les facteurs déterminants des systèmes de cultures sur les populations de limaces,
- ii) lors de la caractérisation des traits de vie de la limace grise en grandes cultures.

Ainsi, à partir de ces bases nous avons croisé les possibilités de mise en œuvre des moyens de biocontrôle identifiés dans l'action 1.

Action 2 : Tester une gamme de solutions de biocontrôle identifiées ci-dessus en prenant en compte les spécificités des traits de vie des limaces : au laboratoire, en conditions semi-contrôlées et au champ.

Objectif : faire l'inventaire des techniques d'évaluation (avantages et limites) les tester et proposer les plus adaptées, constituer un réseau d'essai.

Suite aux premières présentations de l'action 1 et aux échanges entre les participants au projet, les thèmes les plus prometteurs à travailler pour l'ensemble du groupe ont été les suivants :

- Recherche de plantes à installer en interculture en vue d'un effet défavorable aux limaces destiné à limiter le développement des populations de limaces ;
- Recherche de plantes pour réaliser des semis associés ou sous couvert ;
- Identifier différentes substances naturelles pour leur potentiel de maîtrise des attaques.

Les principales expérimentations ont été destinées à comparer des appétences ou des comportements de limaces vis-à-vis de différentes variétés de moutarde. En comité de suivi du projet, il a été décidé de traiter principalement les substances naturelles et les plantes répulsives ou attractives. En effet, le thème faune auxiliaire (principalement les carabes) est expérimenté dans le projet CasDAR ARENA (en cours) sur la régulation naturelle des ravageurs par la faune auxiliaire en grandes cultures.

En comité de suivi, il a été décidé de développer une étude expérimentale sur les capacités de discrimination gustative par les limaces. En effet, cette approche pourrait déboucher sur l'usage de plantes d'interculture riches en composés répulsifs pour les limaces et semées à grande échelle ou sur le développement de variétés capables de se défendre efficacement contre les populations de limaces. La méthodologie est décrite dans le rapport de Tamine M. (2016).

3. Synthèse des résultats

Objectif : Synthétiser les résultats expérimentaux pour établir un cahier des charges pour le développement des méthodes de biocontrôle performantes et les accompagner de conseils adaptés.

La démarche réalisée a fait l'objet d'un travail de synthèse collective. L'efficacité des produits expérimentés dans le projet et les efficacités issues de la bibliographie pour les produits non expérimentés ont été comparées aux performances des principaux leviers agronomiques pour lutter contre les limaces. Ainsi, en mettant en parallèle l'évolution des populations de limaces et les itinéraires techniques les plus classiques, nous pouvons discuter leur évolution potentielle et estimer les périodes et les conditions où les méthodes de biocontrôle sont les plus efficaces.

- *Résultats obtenus*

Action 1 : Meta-analyse des moyens de biocontrôle existants

Les chercheurs du Royaume-Uni ont réalisé 50 % des études menées entre 1992 et 2015 et 25 % d'entre elles sont issues de chercheurs nord-américains. D'autres pays (Chili, Brésil, Australie, Nouvelle Zélande) ont développé des travaux à partir des années 2000 qui reflètent l'expansion récente des ravageurs dans leurs régions agricoles et les préoccupations occasionnées par les pertes de production. Une trentaine d'espèces de limaces ont été étudiées dans les publications réunies mais seules 16 espèces ont fait l'objet de plus de deux publications. La limace grise *Deroceras reticulatum* (Müller) a été l'espèce la plus étudiée. 70 % des études ont été réalisées en laboratoire, contre 25 % faites sur le terrain, le résiduel (5 %) représentant des conditions semi-contrôlées en mésocosmes. Les familles de biocontrôle les plus étudiées ont été les macroorganismes (70 %) et les substances naturelles (20 %). Les macroorganismes regroupent les prédateurs et les parasites des limaces dont les taxons principaux sont les Carabidés et les Nématodes, respectivement.

Parmi les substances naturelles, les publications ont porté pour moitié sur celles d'origine végétale alors que les substances d'origines minérale et animale ont représenté respectivement 38 et 9 % des publications. Enfin, les microorganismes utilisés comme moyen de lutte anti-limaces ont été à 90 % des bactéries.

Avec seulement 310 articles identifiés sur la période 1992-2018, la thématique peut être considérée comme orpheline comparativement aux études de biocontrôle ciblant des insectes, tels que les pucerons. De plus, si le moteur de recherche 'google scholar' affiche 3400 articles avec les mots-clés « Biocontrol and slugs » et 1100 avec les mots-clés « Biopesticides and slugs », il s'avère après consultation desdits articles que seuls 10% concernent des études directes sur les limaces. 90% des travaux portent en fait sur les insectes et concluent que les résultats pourraient s'appliquer à

d'autres ravageurs, tels que les limaces. Ce déficit de publications ayant trait aux Gastéropodes terrestres est alarmant.

L'inventaire bibliographique a aussi permis d'identifier une revue de synthèse récente (Howlett 2012) qui fournit une analyse détaillée des acquis obtenus sur les macroorganismes comme agents de biocontrôle, à savoir les Nématodes, Diptères et Carabidés. De ce fait, l'approche quantitative de l'efficacité des méthodes de biocontrôle n'a pas été menée dans Biolim, car (i) le nombre trop faible d'études concernant les moyens de biocontrôle autres que les macroorganismes et (ii) l'hétérogénéité des méthodologies conduisaient à des résultats peu exploitables et peu comparables.

D'un point de vue qualitatif, de nombreuses méthodes de biocontrôle présentées dans les publications (1992-2018) ont montré des niveaux d'efficacité variables sur des populations *in situ* ou ont semblé peu utilisables sur de grandes surfaces. Ces travaux sont illustrés par les figures 1 et 2 et les tableaux 1 et 2.

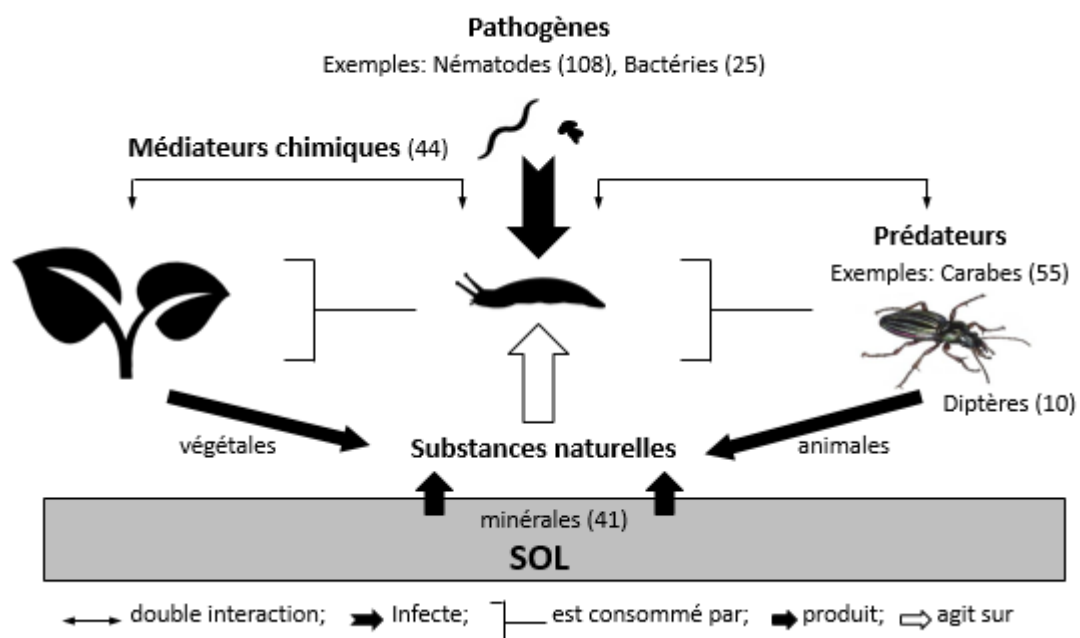


Figure 2 : Relations biotiques et abiotiques de la limace avec son environnement. Le nombre d'articles répertoriés entre 1992 et 2018 est affiché entre parenthèses pour chaque moyen de biocontrôle.

Tableau 1 : Inventaire des principales familles de méthodes de biocontrôle identifiées dans le projet BIOLIM : mode d'action, utilisation potentielle et efficacité. Couleurs de fond : macroorganismes = **jaune** ; microorganismes = **bleu**, médiateurs chimiques = **gris**, substances naturelles d'origine végétale=**vert**, substances minérales = **orange** .

Organismes ou Substances	Mode d'action	Utilisation potentielle in situ en champ	Fiabilité, efficacité d'application
Acarions	Ectoparasites	Faible	Pas de technique d'élevage de masse. Nématodes : technique au point mais onéreuse Carabidés utilisés sont omnivores, alors qu'il faudrait des prédateurs malacophages
Araignées et Opilions	Prédateurs	Favoriser présence naturelle	
Carabidés	Prédateurs	Favoriser présence naturelle	
Nématodes	Parasites	Efficace mais coûteux et difficile à utiliser	
Diptères Sciomyzidés	Prédateurs et parasitoïdes	Favoriser présence naturelle	
Mycorhizes	Symbiotes	Favoriser la protection des plantes	Pas de références
Bactéries	Pathogènes	Souvent en lien avec nématodes	Techniques de production à développer
Acide salicylique dans le mucus	Réduit les défenses de la plante		Développer des recherches sur les interactions trophiques
Alcaloïdes Caféine Glucosinolates	Métabolites secondaires synthétisés par les plantes Pour leur défense contre phytophages	Développer des variétés qui en sont riches aux premiers stades subissant les dégâts des limaces, mais dont la synthèse s'affaiblira avec l'âge de la plante car toxiques sur les humains et les bovins.	Tester les effets de ces métabolites sur la nutrition des limaces Caféine toxique aussi sur d'autres taxons ! Dével. Glucosinolates aliphatiques car plus répulsifs sur limaces
Carvone (terpène)	Terpènes	Problème car très volatil	Piste difficile à suivre
Saponine	Perturbe le système digestif des mollusques	En pulvérisation pour la protection des plantes Usage de plantes riches en saponine	Piste à approfondir
Huiles essentielles	Action en général répulsive	En pulvérisation sur les plantes sensibles	Résultats en général peu validés
Bicarbonate de soude	Agit comme répulsif	En pulvérisation sur des plantes à protéger	Attention cela peut être phytotoxique
Sel	Action de dessèchement des limaces	Non à fortes doses	Actif à des doses trop élevées
Métaux, fer, aluminium, cadmium, plomb, le zinc cuivre	Action par ingestion et directement sur les œufs	Problèmes environnementaux non maîtrisés	Spectre trop large, espèces non cibles atteintes
Phosphate de fer	Action par ingestion de granulés puis destruction de la glande digestive	Commercialisé à 1 % et 3 %	Efficacité démontrée

Les moyens de biocontrôle spécifiques contre les limaces sont très diversifiés et reflètent les relations existantes entre la limace et son environnement (figure 2): i) des macroorganismes : prédateurs comme les carabes, les staphylins et les araignées, ou parasites comme les nématodes ii) des substances naturelles d'origine minérale ou végétale aux propriétés toxiques et répulsives, iii) l'usage de plantes de services.

Relations proie-prédateur :

Les carabes sont reconnus comme étant des prédateurs particulièrement importants des limaces. La famille des Carabidae, à laquelle ils appartiennent, comporte plus de mille espèces en France dont une centaine sont présentes dans les champs cultivés ou dans leur bordure. Ces espèces de carabes sont généralement des prédateurs polyphages et opportunistes qui se déplacent rapidement à la surface du sol et trouvent leurs proies chez les différents invertébrés présents, dont les limaces. Vivant dans les sols, les larves de carabes sont également de redoutables prédateurs, mais très mal connues.

Selon leur taille au stade adulte, les carabes vont préférentiellement s'attaquer à des limaces de stades de croissance déterminés. En effet, les carabes sont limités à certaines tailles de proies selon la taille de leurs mandibules et un autre facteur connu comme influent sur le choix de la proie est le bénéfice entre le coût de capture et la profitabilité de la proie. (Cross et al., 2001 ; Mair et al., 2001 ; McKemey et al., 2003, Oberholser et Franck, 2003)

Fréquente dans les parcelles cultivées l'espèce *Pterostichus menalarius* est une espèce relativement de grande taille (11-17 mm) dont la dimension des mandibules la rend susceptible d'attaquer des œufs et des jeunes limaces.

Ainsi toute mesure qui permettrait de favoriser la présence d'espèces prédatrices de limaces pourrait, par voie de conséquence, limiter leurs pullulations dans les champs cultivés. Ces auteurs indiquent également que les jeunes limaces ne sont pas forcément disponibles pour les carabes car elles peuvent être dans les fins interstices du sol. Une concordance entre la période d'activité des carabes et la présence des jeunes limaces est donc nécessaire. Elle ne se réalise pas toujours du fait de la biologie respective de ces deux espèces. En effet, nous rencontrons dans les champs cultivés de jeunes limaces juste avant, pendant ou juste après l'hiver, période où généralement les carabes sont peu actifs. Par contre, les œufs et les nouveau-nés de début d'été ou de fin d'été pourraient être nettement plus consommés par ces prédateurs. Un autre inconvénient est que nombre de carabes sont opportunistes et ne choisissent pas des proies « limaces » autant que nécessaire pour réduire les populations.

La famille des Sciomyzidés est la famille de Diptères la plus étroitement associée aux Gastéropodes. Cinq espèces du genre *Tetanocera* ont été recensées comme parasitant exclusivement les limaces et comme étant des agents de biocontrôle potentiels (Barker, 2004 ; Murphy et al., 2012). Les adultes pondent leurs œufs sur les limaces et les larves se nourrissent de leur hôte, entraînant sa mort. Ces diptères ont le potentiel, en termes de biocontrôle, d'avoir plusieurs générations par an et de pouvoir être élevés en masse au laboratoire.

Relations hôte-parasites

Les limaces sont parasitées par plusieurs espèces de Nématodes (Barker, 2004) dont *Phasmarhabditis hermaphrodita* qui est commercialisé depuis 1994 comme agent de biocontrôle (Nemaslug®). Seul le stade larvaire L3 de *P. hermaphrodita* infecte les limaces en pénétrant par la région postérieure du manteau (Tan et Grewal, 2001). Suite à l'infection, cette région du manteau gonfle et la limace meurt au bout de 7 à 21 jours. Les Nématodes adultes produits se nourrissent sur le cadavre jusqu'à l'épuisement de la ressource, et engendrent de nouvelles générations de juvéniles qui iront à la recherche de nouveaux hôtes. Dans plusieurs expérimentations au champ sur

différentes cultures, une diminution des dégâts a été constatée après l'application des Nématodes, mais seules des concentrations très élevées de l'ordre de 100 000 nématodes/m² ont une bonne efficacité (Wilson *et al.*, 2000 ; Georgis *et al.*, 2006). Cette contrainte rend le coût de production des Nématodes très onéreux comme agent de biocontrôle. Cependant, si ces Nématodes sont bien des parasites de limaces, ils n'en sont pas les seuls acteurs. En effet, *P. hermaphrodita* est associé de manière symbiotique à la bactérie *Moraxella osloensis* qui provoque la mort des limaces via la sécrétion d'une endotoxine de type lipopolysaccharide (LPS) (Tan *et al.*, 2001)

Moyens de défense des plantes : substances naturelles d'origine végétale :

Les végétaux sont capables de produire des métabolites secondaires de défense contre les phytophages, tels que des alcaloïdes, des glucosinolates ou des huiles essentielles. Nombre d'études ont montré leur effet répulsif ou toxique sur les ravageurs, comme l'huile de goudron de bouleau (Linqvist *et al.*, 2010), les alcaloïdes (Aguar et Wink, 2005), la caféine (Hollingsworth *et al.*, 2002). Les graines de cumin produisent de la carvone qui a des propriétés similaires. Des expériences de choix entre un compost traité à la carvone et un compost non-traité ont montré que les limaces se nourrissaient significativement plus sur des laitues déposées sur le compost non-traité (Frank *et al.*, 2002). Cependant, même si cette substance a un effet molluscicide, son caractère volatil rend son application au champ complexe et pas aussi efficace qu'en laboratoire.

Culture intermédiaire et plante de service

Le Programme d'Action de la Directive Nitrates rend obligatoire la couverture automnale des sols en zones vulnérables par des Cultures Intermédiaires Pièges à Nitrates (CIPAN). Très peu d'informations sont disponibles quant à l'impact de ces couverts sur les bioagresseurs. Différentes expertises insistent pourtant sur le besoin actuel de mener des travaux importants pour mieux les cerner, via des méthodes adaptées. Il est difficile à l'heure actuelle d'apprécier les conséquences de l'insertion des CI dans la succession sur la prolifération des limaces. En effet, leur cycle est favorisé par les couverts intermédiaires, en raison de l'alimentation et de l'abri qu'ils peuvent fournir à ces ravageurs. Ainsi, les possibilités d'insertion dans les systèmes de culture, de plantes de service qui seraient défavorables au développement des limaces, sont certainement une voie d'avenir, que ce soit des cultures intermédiaires, des plantes associées au semis ou des plantes pour biofumigation.

Moyens d'évitement des prédateurs/parasites :

En laboratoire, la limace grise *D. reticulatum* évite les zones parcourues par des individus de l'espèce de carabes *P. melanarius*. Cette limace est donc capable de détecter la présence d'un prédateur grâce aux empreintes chimiques qu'il a déposé sur son passage. Si la nature des signaux chimiques détectés n'est pas encore précisément définie, l'hypothèse d'allomones de carabes refoulant les limaces peut être évoquée (Armstrong *et al.*, 2005).

Tableau 2 : Substances naturelles ayant le potentiel de devenir des produits de biocontrôle vis-à-vis des limaces.

L'identification des gastéropodes terrestres d'Europe, reprise par Welter-Schultes (2012) corrige quelques erreurs : **Deroceras panormitanum* a été confondue avec *D. invadens* et ** *Arion lusitanicus* se réfère à *A. vulgaris*.

Welter-Schultes F. (2012) *European non-marine molluscs, a guide for species identification*. Planet Poster Ed. p. 467 et p. 477.

Substances naturelles d'origine végétale	Ail	Silicium	Huile de Goudron de Bouleau (birch tar oil)	Caféine	Lavande	Extrait de Saponines	Carvone (extrait de graines de cumin)
Mode application	Pulvérisation solution à 2,5 %	Pulvérisation solution(s)	huile	Pulvérisation solution de 0,01 à 2%	Pulvérisation solution à base d'huile	Injection orale	solution
Ravageur(s) ciblé(s)	<i>Deroceras panormitanum</i> *	<i>Deroceras reticulatum</i>	<i>Arion lusitanicus</i> **	<i>Veronicella cubensis</i>	<i>Deroceras reticulatum</i>	<i>Deroceras reticulatum</i>	<i>Arion lusitanicus</i> **
Efficacité sur mortalité	Non		Non	Oui		Oui	Oui
Efficacité par protection des plantes (anti-feeding)	Oui (réduction 95 %)	Oui	Oui	Oui	Moyen	Oui	Oui
Phytotoxicité				Non	Oui		
Appétence							
Répulsivité	Oui (65 %)		Oui	Oui			Oui
Prédation							
Spécificité aux mollusques				Non (grenouille)			
Publications	Schüder & al, 2003	Griffin & al, 2015	Linqvist & al, 2010	Hollingworth & al, 2002	Grusbisic & al, 2003	Gonzalez-Cruz & San Martin, 2013	Frank & al, 2002

Agents de biocontrôle abiotiques

De nombreuses substances naturelles d'origine minérale montrent des effets irritants voire toxiques sur les limaces. Il est admis par exemple que certains métaux, comme l'aluminium, le cadmium, le plomb, le zinc et le cuivre sont toxiques seulement à hautes concentrations. (Scüder *et al.*, 2004). En effet, les gastéropodes terrestres ont une glande digestive capable de piéger puis évacuer de nombreux métaux. Les protéines impliquées dans ce mécanisme sont les métallothionines.

Les métaux réduisent l'activité locomotrice et la distance de déplacement des limaces et peuvent causer la mort de celles-ci suite à la pénétration des métaux dans les tissus digestifs (Triebskorn et Henderson, 1999). Ces effets répulsifs et toxiques varient selon les métaux et selon leur concentration. Ces métaux posent des problèmes de toxicité pour la santé humaine, la faune, et l'environnement. Leur potentiel comme agent de biocontrôle est donc très limité.

Le phosphate de fer chélaté est particulièrement étudié et commercialisé depuis quelques années. Ce produit, dans ses différentes formes commerciales, présente une efficacité vis-à-vis des limaces du même ordre que le métaldéhyde (Speiser *et al.* 2002). Ces deux produits entraînent, dans la majorité des cas, une réduction significative des dommages dus aux limaces.

3- Caractériser les spécificités des traits de vie de ce ravageur du point de vue de leur sensibilité au biocontrôle et selon les conditions de milieu (pédoclimatiques). (Action 1 .changement de l'ordre de présentation Action 1. 1 et Action 2.1 par rapport au dossier initial)

Tableau 3 : Stades de développement des limaces et sensibilité aux moyens de biocontrôle.

Facteurs agronomiques				Méthode de biocontrôle		
Stade des limaces	Travail du sol	Cultures	Cultures intermédiaires	Macro	Micro	Substances naturelles
Œufs	+++	++ variable en fonction des espèces	++ variable en fonction des espèces	Carabes +		- (?)
Éclosions	+++	+++	++	Carabes +		
Juveniles	+++	++	+++ (+ impact si destruction mécanique)	Nématodes Seuls les carabes de grandes tailles +	En lien avec des nématodes	Caféine Saponine +++
Adultes	+++	++	+++ (+ impact si destruction mécanique)	Nématodes ++	En lien avec des nématodes	Caféine Saponine +++
Reproduction	+++	++ variable en fonction des espèces	+++	-		

BIOCONTROLE +++ : FORTE SENSIBILITE ++ : SENSIBILITE MOYENNE + : FAIBLE SENSIBILITE - : SANS EFFET

Nous avons identifié les périodes où les différents produits de biocontrôle potentiels des limaces pourraient être les plus efficaces sur les populations de ce ravageur à partir des études entreprises dans le projet RESOLIM :

- i) lors de la conception de l'outil d'évaluation multicritères DEXi Limaces qui permet de caractériser les facteurs déterminants des systèmes de cultures sur les populations de limaces,
- ii) lors de la caractérisation des traits de vie de la limace grise en grandes cultures.

Ainsi, à partir de ces bases nous avons croisé les possibilités de mise en œuvre des moyens de biocontrôle identifiés dans l'action 1. Un résumé des possibilités d'usage des méthodes de biocontrôle est présenté dans le tableau 3 et leur potentielle intégration au système de culture dans le tableau 4.

Tableau 4 : Possibilités d'usage des méthodes de biocontrôle identifiées comme les plus efficaces dans le cadre de BIOLIM dans l'exemple d'une succession de type Colza Blé Maïs **En jaune période de nuisibilité sur les semis.**

Culture (Saison)	Stade indicatif des limaces	Usages possibles des méthodes de biocontrôle	Type d'action sur les limaces	Exemples de références bibliographiques
Interculture et semis colza (fin été)	Jeunes limaces	Introduction de plantes défavorables aux limaces. Mycorhizes, glucosinolates. Favoriser les carabes	Ralentissement du développement Action sur la fécondité et le développement des œufs	Novaes P., J. M. G.Molinillo, R. M. Varela & F. A. Macias 2013
Colza (automne)	Adultes puis œufs	Orthophosphate de fer au semis Plantes associées plus appétentes	Mortalité des jeunes et adultes de limaces. Évitement des attaques	Speiser B., 1999
Colza (hiver)	Jeunes limaces	Plantes riches en glucosinolates ou mycorhizées	Ralentissement du développement Action sur la fécondité et le développement des œufs	Shannon RWR, Félix A-E, Poppy GM, Newland PL, van Dam N. & Hanley ME (2016)
Colza (Printemps)	Adultes puis œufs	Favoriser les carabes	Favoriser la prédation des œufs et des jeunes limaces	McKemey, A R, Symondson, W O C, Glen, D M 2003 Byrne, J, Jones, P 1996
Interculture (Eté)	Jeunes limaces	Plantes riches en glucosinolates	Ralentissement du développement Action sur la fécondité et le développement des œufs	Arvalis 2011
Blé (Automne)	Adultes puis œufs	Plantes associées plus appétentes	Évitement des attaques	
Blé (Hiver)	Jeunes limaces	Orthophosphate de fer au semis Plantes associées plus appétentes	Mortalité des jeunes et adultes de limaces. Évitement des attaques	Griffin M., B. Hogan & O. Schmidt 2015
Blé (printemps)	Adultes puis œufs	Favoriser les carabes	Favoriser la prédation des œufs et des jeunes limaces	Mair, J., Port, G. R. 2001
Interculture (Eté)	Jeunes limaces	Plantes riches en glucosinolates ou mycorhizées	Ralentissement du développement Action sur la fécondité et le développement des œufs	Trouvé R., T. Drapela, T. Frank, F. Hadacek & J.G. Zaller 2014 Shannon R., 2016
Interculture (Automne)	Adultes puis œufs	Plantes riches en glucosinolates ou mycorhizées	Idem ci-dessus	Moshgani, M., Kolvoort, E., de Jong, T. J. 2014
Interculture (Hiver)	Jeunes limaces	Plantes riches en glucosinolates ou mycorhizées	Idem ci-dessus	
Maïs (Printemps)	Adultes puis œufs	Orthophosphate de fer au semis Plantes associées plus appétentes	Mortalité des jeunes et adultes de limaces. Évitement des attaques	
Maïs (Eté)	Jeunes limaces	Favoriser les carabes	Favoriser la prédation des œufs et des jeunes limaces	Symondson W.O.C., S. Cesarini, P.W. Dodd, G.L. Harper, M.W. Bruford, D.M. Glen, C.W. Wiltshire & J.D. Harwood 2006
Maïs (Automne)	Adultes puis œufs	Plantes riches en glucosinolates ou mycorhizées	Ralentissement du développement Action sur la fécondité et le développement des œufs	
Interculture (hiver)		Plantes riches en glucosinolates ou mycorhizées	Idem ci-dessus	

Remarques : une adaptation des mesures selon les conditions climatiques est nécessaire pour tenir compte des conditions d'installation des plantes de services et de l'activité des limaces et de leur potentiel de dégâts qui s'exprime surtout lorsque les conditions sont humides et fraîches.

Action 2 : Tester une gamme de solutions de biocontrôle identifiées ci-dessus en prenant en compte les spécificités des traits de vie des limaces : au laboratoire, en conditions semi-contrôlées et au champ.

1. Établir les méthodologies les plus adaptées à l'évaluation de ces moyens de biocontrôle.

Dans le cadre de ce projet, devant les faibles performances de nombreux produits de biocontrôle testés (hormis l'orthophosphate de fer) nous avons décidé de nous centrer sur l'effet des plantes sur les limaces. En effet, le coût de développement de nouveaux produits de biocontrôle est considérable. Par contre l'usage de plantes répulsives vis-à-vis des limaces pourrait s'envisager pendant les périodes d'interculture et sur de vastes surfaces des grandes cultures. Cette voie de recherche nous a semblé la plus prometteuse.

Ainsi, nous avons envisagé les trois voies d'études suivantes :

1) Les plantes répulsives pour intercultures défavorables aux populations de limaces.

Dans ce cas, l'objectif est d'identifier quelles sont les plantes les moins appétentes pour les limaces en vue de leur usage comme des plantes installées pendant l'interculture. L'hypothèse de base est qu'il y a une forte liaison entre les dégâts observés sur les plantes et le potentiel de développement des populations de limaces dans les champs. Ainsi, ces plantes installées pendant les intercultures ou en association avec les cultures permettraient de limiter le développement des limaces dans les parcelles cultivées.

Les plantes expérimentées sont la moutarde blanche, la moutarde brune, la phacélie, le sarrasin, le sorgho fourrager. Le choix des variétés à l'intérieur de ces espèces a été une question difficile à résoudre, nous n'avons guère pu utiliser que le critère variété la plus courante du fait du manque de connaissances effectives sur la composition chimique de ces plantes.

2) La recherche de plantes attractives afin de les associer au semis de culture dans le but de détourner les attaques de limaces vers ces plantes plus appétentes. L'objectif de cette étude a été d'identifier les plantes les plus appétentes pour les limaces en vue de les associer au semis des céréales et du colza.

3) La recherche de substances naturelles Anti-Limaces.

Etudes ACTA : caféine, Essai ARVALIS anti-limaces, extraits d'ail

Ces études ont été réalisées avec des méthodes reconnues et les méthodes CEB au laboratoire, en conditions semi-contrôlées et en plein champ. **Les produits sélectionnés ont été des** alcaloïdes, des extraits d'ail et du phosphate ferrique sous forme d'appâts. Nous avons suivi les mortalités de limaces et les dégâts occasionnés.

Tableau 5 : Thèmes travaillés par les partenaires de BIOLIM

Partenaires	Plantes	Substances naturelles	Remarques
ACTA	Plantes Répulsives pour Intercultures	Substances Naturelles Anti-Limaces	Substance naturelle : mise en évidence de l'effet des alcaloïdes en pulvérisation Plantes
Université de Rennes I	Interaction trophique entre le colza et la limace grise : facteurs stimulant la nutrition et réponses métaboliques interspécifiques	Glucosinolates et acides aminés issus du colza au stade cotylédon	Sensibilité de plantules de colza et interactions trophiques : effets isolés de glucosinolates (G) et acides aminés (A) et effets combinés G+A
ARVALIS	Plantes Répulsives pour Intercultures	Substances Naturelles Anti-Limaces	Gammes de crucifères type moutarde Plantes : étude en cours
De Sangosse	Plantes Répulsives pour Intercultures		Fourniture de limaces pour interaction trophique
Phyteurop	Plantes Répulsives pour Intercultures 2		Fourniture de limaces pour interaction trophique
Bayer *	Plantes Répulsives pour Intercultures	Substances Naturelles Anti-Limaces	Gammes de crucifères type moutarde

* la société Bayer s'est retirée du projet, n'ayant plus de projet de développement de produits à court terme, les études envisagées par cette société n'ont donc pas été réalisées.

Nous essayons de croiser au maximum des approches de laboratoire, en conditions semi-contrôlées et au champ et de les adapter aux différents stades des limaces. Du fait du caractère exploratoire de ces travaux, les essais ne seront pas conduits en BPE (Bonnes Pratiques de l'Expérimentation) du fait des coûts engendrés par cette démarche (3 à 5000 € par essai). Nous avons eu des sécheresses à répétitions durant la période 2016-2017, nous bloquant la collecte des limaces pour les études. Quelques essais n'ont pas pu être réalisés, mais le nombre global d'étude a été respecté.

2. Mise en place d'un réseau d'essai (pour des soucis de clarté dans ce cas nous présentons la méthodologie juste avant les résultats)

- Plantes Répulsives pour intercultures : Essais Arvalis moutardes

Objectif: tester en conditions contrôlées, des plantes de cultures intermédiaires, notamment des moutardes pour juger de leur niveau de consommation par les limaces grises.

Méthodologie

Trois espèces de Moutardes et quatre variétés ont été testées, les Moutardes blanches « Cargold » et « Lucida », la Moutarde brune « Vitamine » et la Moutarde d'Abyssinie « Carbon ».

Deux tests ont été réalisés au printemps 2017 dont la durée a été de 5 jours chacun.

Ce sont des barquettes de type GEVES (dimensions L 180mm x l 120 mm x h 160mm) avec un couvercle sans aération, qui sont utilisées pour semer les espèces de moutardes.

Test 1 : Evaluation de la consommation des limaces de chaque variété.

Pour chaque variété, une barquette de 30 plantules avec 5 limaces grises est observée chaque jour. La notation de consommation est répétée sur de nouvelles barquettes pendant 4 jours, soit au total 120 plantules observées par variété.

Test 2 : Consommation préférentielle des limaces en présence de 4 variétés de moutarde

Chaque jour 2 barquettes, avec chacune 20 plantules par variété et 4 variétés (80 plantules au total) et 3 limaces grises sont observées. La notation de consommation est répétée sur de nouvelles barquettes pendant 4 jours, soit au total 160 plantules observées par variété.

Pour chacun des tests il a été noté le nombre de plantules mangées par les limaces avec 2 notations distinctes:

- plantule goûtée : comprend au maximum 2 morsures de 1.5mm de diamètre
- plantule consommée : comprend une surface de végétation dévorée supérieure à 2 morsures.

Un test préalable de levée a été nécessaire afin de pouvoir réaliser des barquettes de plantules avec les 4 variétés de moutardes au même stade, notamment pour le test 2.

Le nombre de plantules goûtées et consommées est évalué au stade 1 à 2 feuilles.

Résultats/Discussion

Figure 3 : Etude de laboratoire de l'appétence de moutardes vis-à-vis des limaces grises.

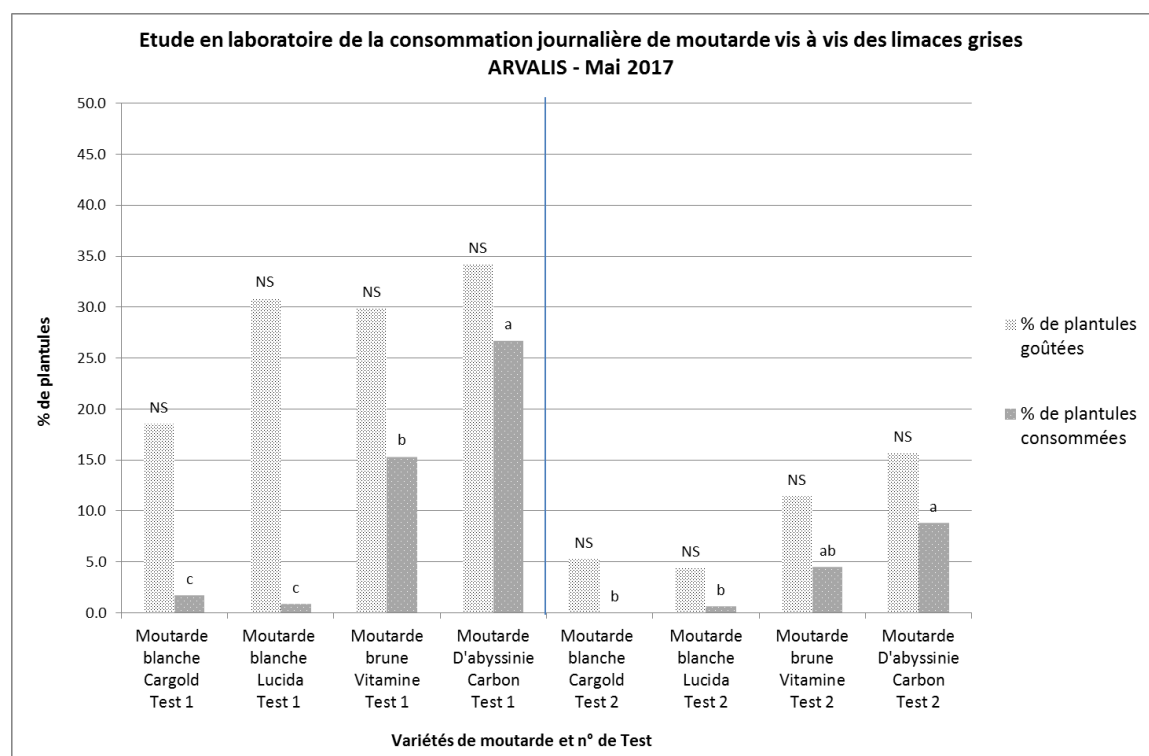


Tableau 6 : Pourcentages de plantules goûtées et consommées en fonction de la plante testée. Les lettres a, b et c indiquent des différences significatives entre les tests, NS = non significatif.

Analyses statistiques avec test de Tukey sur le nombre de plantules				
	Test 1		Test 2	
	Plantules goûtées	Plantules consommées	Plantules goûtées	Plantules consommées
Probabilité de l'essai	0,134	0,000	0,159	0,022
ETR	2,65	1,23	2,90	1,40

Analyse de variance et test de Tukey : Différence significative si probabilité < 0,05

Dans le test 1, avec une seule variété donnée comme nourriture à des limaces grises, les quatre variétés sont goûtées de 19 à 34% (sans distinction statistique). Par contre les moutardes brune et d'Abyssinie sont nettement consommées, se différenciant significativement entre elles par rapport aux deux moutardes blanches délaissées par les limaces. Une explication peut être donnée, les limaces goûtent les plantes indistinctement puis consomment celles qui sont les plus appétentes pour elles.

Dans le test 2, avec quatre variétés données ensemble comme nourriture à des limaces grises, la différence d'appétence entre les variétés est significative entre la moutarde d'Abyssinie, la plus consommée, et les deux moutardes blanches. La consommation suivie sur une seule journée ne pouvaient qu'être moyenne et peut-être en partie la cause des différences observées qui n'ont pas permis de discriminer la moutarde blanche Lucida de la moutarde brune. Comme dans le test 1, les pourcentages de plantules goûtées des quatre variétés ne se différencient pas statistiquement.

La présence de poils au niveau de la tige des plantules des moutardes blanches des variétés Cargold et Lucida, contrairement aux deux autres moutardes (brune et d'Abyssinie) pourrait être un élément explicatif de leur plus faible consommation.

Dans les deux tests, les quatre variétés, mises ou non en concurrence, sont goûtées indistinctement entre elles par les limaces grises, puis elles consomment plus ou moins selon l'appétence des variétés (test 2). Cet état de fait semble indiquer l'absence d'attractivité par olfaction car les odeurs des plantules sont mélangées dans ces barquettes confinées, ce qui pourrait être une perte de repères olfactifs pour les limaces.

Cet essai a bien mis en évidence des différences d'appétence entre les moutardes et conforte le choix des moutardes blanches qui sont actuellement les plus utilisées en interculture. Il faut préciser que les agriculteurs ont fait ce choix pour des raisons de coût moins élevé des graines, mais pas sur la base de leur degré d'appétence pour les limaces.

Les protocoles ont été élaborés avec l'ACTA et d'après l'expérience des essais ARVALIS en conditions contrôlées sur l'appétence des cultures depuis les années 2000.

La difficulté de cet essai a été de décider d'un nombre de plantules et de limaces ni trop peu ni trop élevé pour pouvoir discriminer la consommation entre les espèces végétales.

Les nombres de plantules et de limaces, différents entre le test 1 et le test 2, ont rendu l'interprétation des résultats plus délicate. Il aurait fallu réaliser des tests préalables pour pouvoir choisir un nombre de plantules et de limaces identiques dans les 2 tests, ce qui aurait pris un temps considérable.

Compte tenu des contraintes de temps et la nécessité d'obtenir des barquettes de plantules toujours au même stade au départ des expériences, il a été plus facile de noter chaque jour une seule fois la consommation des plantules et de renouveler l'observation pendant 4 jours.

Mais la consommation journalière des limaces ne peut être que moyenne et n'a sans doute pas permis une différenciation totale entre les espèces, d'après les résultats de plantules consommées entre le test 1 et 2 un peu différents. Il aurait été sans doute plus opportun de noter la consommation après 2 ou 3 jours de présence de limaces dans les barquettes.

Par contre, il reste indispensable de noter la consommation des plantules 1 seule fois plutôt que plusieurs fois car la notation est plus précise et beaucoup plus facile et rapide, il est très difficile de noter l'évolution d'une consommation dans le temps. Cette notation unique de plantules ~~Mais cela~~ demande d'avoir à disposition beaucoup plus de plantules.

Le test 1 a bien répondu à l'objectif, mais le test 2 plus particulièrement doit être amélioré pour augmenter la puissance de l'expérience en augmentant le nombre de répétitions quitte à réduire

sensiblement le nombre de plantules à observer afin que l'expérimentation demeure réalisable. Le nombre de plantules à observer dans une barquette pourraient être de 10 plantes x 4 espèces, soit 40 plantules au lieu de 80, mais 3 répétitions par jour au lieu de 2, pendant 4 jours, soit au total 10 plantules x 3 rep x 4 j = 120 plantules par espèce, comme pour le test 1. Le nombre de limaces pourrait être de 5 limaces par barquette dans les 2 tests.

Cette évolution méthodologique des tests pour comparer la consommation d'une seule espèce végétale avec plusieurs espèces en présence devra être réalisée avant d'allonger la durée de consommation et donc de l'expérience sans pour autant augmenter sa puissance si le nombre de répétitions reste le même.

Réponses gustatives des limaces aux métabolites du colza au stade cotylédon

Les limaces grises en phase de croissance (150 mg en moyenne) consomment davantage de colza que les limaces matures sexuellement (Tamine 2016). Si les jeunes limaces doivent jeûner lors d'un stress climatique, elles sont très voraces sur les premiers stades du colza, le stade cotylédon (1.0-1.1) et le stade des premières feuilles (1.2-1.3) selon la nomenclature de Sylvester-Bradley (1985). Ces résultats s'expliquent par le fait que les individus les plus jeunes sont en pleine croissance et allouent les bénéfices nutritionnels à la synthèse de leurs tissus corporels alors que les individus matures utilisent leurs stocks d'énergie à la reproduction. La plus faible attaque des plants de colza par les grosses limaces pourrait aussi venir d'un accroissement de leur sensibilité aux glucosinolates de colza. En effet, Aguiar et Wink (2005) ont observé chez *Arion lusitanicus* (i.e. *A. vulgaris*) une tolérance pour les alcaloïdes plus élevée chez les individus jeunes que chez les adultes. Quoi qu'il en soit, les dégâts sur le colza sont généralement très importants, ce qui a conduit à s'interroger sur les niveaux d'appétence des métabolites de cette plante. Pour ce faire, les métabolites des cotylédons de colza ont été identifiés et un protocole expérimental développé chez un escargot (Gadea 2017) a été utilisé chez la limace grise. Ce protocole a permis d'évaluer les réponses gustatives des limaces face à différents métabolites issus du colza et purifiés. La bibliographie est disponible auprès des auteurs de ce rapport.

Discrimination gustative des métabolites de colza par la Limace grise

La consommation moyenne de gel (en $\text{mm}^2 \pm$ l'erreur standard ES) par g de limace et par nuit a été comparable sur le témoin d'amidon ($140 \pm 21 \text{ mm}^2/\text{g}$) à la consommation sur les glucosinolates ($127 \pm 19 \text{ mm}^2/\text{g}$ sur la glucobrassicine et $121 \pm 20 \text{ mm}^2/\text{g}$ sur la progoïtrine) alors que sur la phénylalanine la consommation de gel a été amplifiée avec une valeur de $5\,202 \pm 23 \text{ mm}^2/\text{g}$ (Fig. 4). Les glucosinolates n'ont pas eu l'effet répulsif attendu, ce qui pourrait s'expliquer par les faibles concentrations utilisées. La sélection gustative par *D. reticulatum* d'une variété de colza ne dépendrait donc pas des concentrations en glucosinolates au stade cotylédon, suggestion en accord avec les expériences de Shannon et al (2016) sur l'Escargot petit-gris *Cornu aspersum*. Ces auteurs ont en revanche détecté dans les cotylédons de six variétés de colza des composés organiques volatils, dont des monoterpènes et ont conclu à leur effet répulsif sur l'escargot. Dans notre étude, le cocktail associant la phénylalanine à un glucosinolate, que ce soit la glucobrassicine ou la progoïtrine, a supprimé l'effet phagostimulant de la phénylalanine (Fig. 4). Les limaces grises sont donc capables de se nourrir sur colza même si les défenses naturelles de la plante sont mises en place. Les limaces doivent pour survivre « surmonter » la toxicité de métabolites spécialisés afin d'accéder aux molécules nécessaires à leur croissance et à leur reproduction, comme le sont les acides aminés et les sucres. Si les moyens de défense des plantes sont diversifiés contre les phytophages, il en est sans doute de même des moyens d'action des limaces pour contrer les plantes. Par exemple la présence d'acide salicylique, composé contrant la synthèse des glucosinolates, dans le mucus de *D. reticulatum* (Kästner et al. 2014) ainsi que son stockage dans la glande digestive (Tamine et al. en préparation) ouvrent des perspectives de recherche qu'il est grand temps de développer. Olfaction et gustation

sont très étroitement liées chez les gastéropodes terrestres car ils s'alimentent dans des environnements à forte hygrométrie.

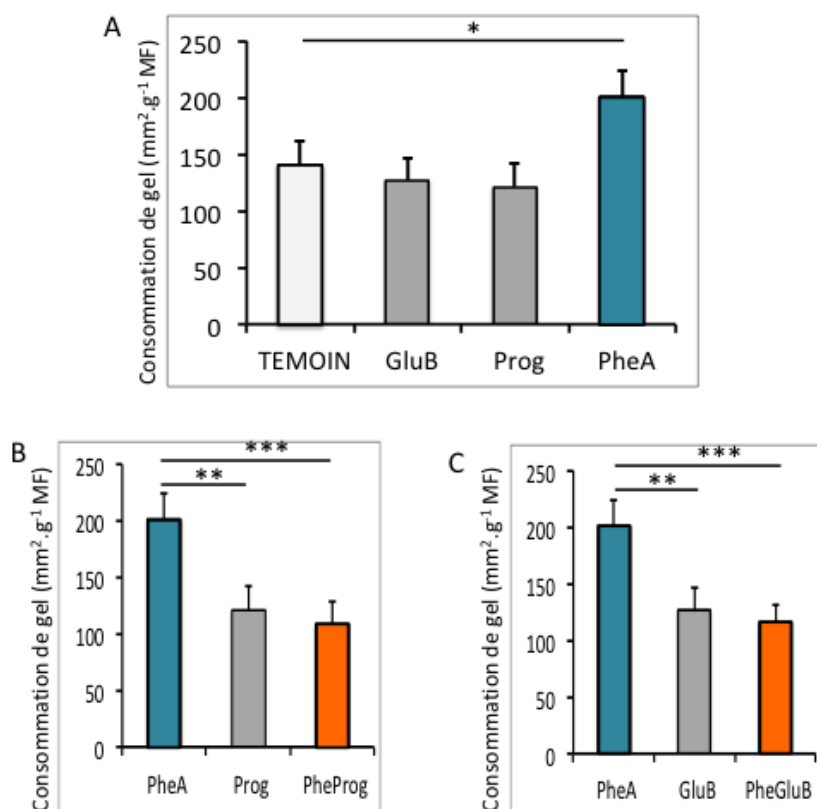


Figure 4 : Surfaces moyennes de consommation des gels en fonction de la masse pondérale fraîche (MF) des limaces (N=40 par test) selon (A) les modalités GluB, Prog, Phe comparées au témoin T ; (B) les métabolites isolés PheA, Prog comparés entre eux et avec le mélange PheProg ; (C) les métabolites isolés PheA, GluB comparés entre eux et avec le mélange PheGluB. Abréviations GluB = glucobrassicine, Prog = progoïtrine, PheA = phénylalanine, PheGluB = cocktail phénylalanine-glucobrassicine, PheProg = cocktail phénylalanine-progoïtrine. Les barres d'erreur représentent l'erreur-standard. Les astérisques indiquent des différences significatives entre le témoin et les métabolites testés (A) ou des différences significatives entre les modalités testées (B, C). Les tests utilisés sont non paramétriques, Kruskal-Wallis (A) et Wilcoxon (B et C) ; $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) et $p < 0,001$ (***).

Substances Naturelles Anti-Limaces : Etudes ACTA: caféine,

Objectif: tester, au laboratoire, une formulation à base de caféine vis-à-vis des limaces grises.

Méthodologie

Ce produit a été mis en solution aqueuse afin de pouvoir le pulvériser sur des feuilles de salade. Le test est réalisé en boîte de Pétri avec 10 répétitions par modalité. Les dégâts ont été notés quatre jours après l'application de la solution. (Figure 5).

Protection de feuilles de salades par une solution à base de caféine :
estimation des dégâts 4 jours après l'application en pourcentage de
feuilles consommées

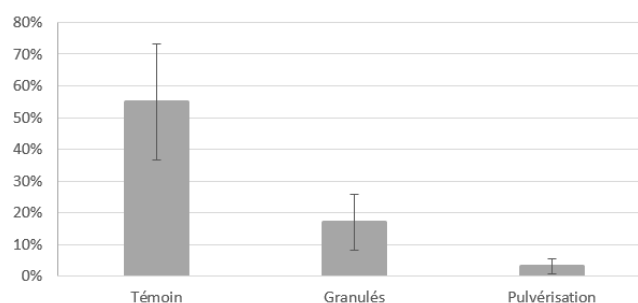


Figure 5 : Effet de granulés de farine et d'une solution aqueuse à base de caféine vis-à-vis des limaces

Les limaces ne consomment pas pendant quelques jours les plantes traitées avec cette solution. Par contre, lorsque la substance active est incluse dans des granulés à base de farine, elle n'est pas efficace de par sa répulsivité vis-à-vis des limaces. Nous avons également envisagé des traitements de semences qui se sont révélés efficaces, néanmoins avec ce produit formulé provoque une certaine phytotoxicité. Les principaux résultats d'une autre série d'essais indiquent que les limaces sont très rapidement tuées suite à des pulvérisations directement sur elles d'une solution aqueuse à base de caféine. Il est rappelé que ce produit n'est pas homologué et peut-être toxique vis-à-vis des Lombricidés. Les essais ont été mis en place au printemps 2016 et ont pu être confirmés plusieurs fois.

Substances Naturelles Anti-Limaces : Essais ARVALIS d'extrait d'ail

Objectif: Evaluer l'effet répulsif vis-à-vis des limaces grises d'une solution à base d'extrait d'ail. .

Méthodologie

Le produit testé, en conditions contrôlées, est le NEMGUARD, produit de biocontrôle commercialisé contre les nématodes en cultures légumières. Ce produit sous forme granulés a été mis en solution aqueuse afin de pouvoir le pulvériser sur des feuilles de colza prélevées au champ.

Le test est réalisé en novembre 2016 sur 40 boîtes test. Chaque boîte contient 1 limace grise et 1 feuille de colza pulvérisée « NEMGUARD ». La surface foliaire consommée est estimée en %, 1, 3, 6 et 8 jours après traitement en comparaison avec un témoin non traité, dont les feuilles de colza sont pulvérisées uniquement à l'eau.

Résultats/Discussion

Les résultats de cette première étude montrent un niveau de consommation de feuilles de colza similaire entre le témoin non traité et la solution aqueuse de NEMGUARD. L'effet répulsif n'a pas été mis en évidence. D'autres études plus simples réalisées par l'ACTA ont montré que l'effet répulsif était très fugace dans le temps dans le cas des limaces.

Limaces et carabes : Suivi ARVALIS

Objectif: Savoir si les populations de carabes peuvent réguler efficacement celles des limaces :

Méthodologie

Dans la continuité du projet Casdar RESOLIM, un suivi par piégeage des populations de limaces et de carabes a été réalisé dans une parcelle de blé. Au sein de cette parcelle, il y a eu deux zones, l'une avec un précédent colza et l'autre avec de l'orge de printemps. Ces deux précédents sont considérés comme favorables aux limaces d'autant que le blé est conduit en semis direct.

Dans chaque zone, sont installés six pièges à limaces (surface de 0,25 m²) et trois pots « barber » pour les carabes. Les piégeages hebdomadaires ont été réalisés d'avril à juin 2016.

Résultats/Discussion

**Tableau 7 : Suivi des populations de limaces et de carabes
ARVALIS - Printemps 2016**

Somme des individus sur l'ensemble de la période de piégeage	Limaces grises / m ²	<i>Poecilus cupreus</i>	<i>Pterostichus melanarius</i>
--	---------------------------------	-------------------------	--------------------------------

Précédent colza	129	240	38
Précédent orge de printemps	333	221	35

Le nombre total de carabes (*Poecilus cupreus* et *Pterostichus melanarius*) piégés dans les pots Barber est quasiment identique entre les deux précédents. Par contre, les piégeages de limaces sont nettement plus élevés derrière le précédent orge de printemps. Il ne paraît donc pas y avoir de relation entre la population de limaces et de carabes, le niveau de population de limaces semble être dû au précédent.

En 2014, les populations de limaces et carabes ont été suivies dans deux parcelles de Boigneville avec des conduites culturales très différentes (semis direct / travail du sol). Ce piégeage a été reconduit en 2015 dans deux autres parcelles avec également des conduites différentes ; sur les deux années, lorsque la population de limaces était élevée, la population de carabes était faible et réciproquement.

Ainsi, l'hypothèse d'un effet de la régulation naturelle des limaces par les carabes peut être émise, néanmoins il n'y a pas de réel moyen dans cette étude de la dissocier d'un effet indépendant des différentes pratiques culturales sur les populations de limaces et de carabes. Pour mieux avancer sur la question de la prédation des limaces par les carabes, il serait souhaitable de conduire en parallèles des études en laboratoire ; l'idéal serait de réaliser un élevage de carabes à partir de ponte et de suivre l'alimentation des larves puis des adultes.

Dans l'état actuel de nos travaux, nous ne pouvons donc pas identifier de manière certaine une régulation des populations de limaces par les carabes. Il est possible que le projet CasDAR ARENA en cours puisse apporter une contribution à ce sujet.

3. Synthèse des résultats

Pour rassembler les résultats, nous avons calculé des ratios permettant de comparer différents travaux issus de la bibliographie et nos travaux. Selon les conseils de Makowski et al. (2018), ces ratios présentant l'impact de différentes pratiques sur les limaces et leurs dégâts sont calculés à partir de données brutes issues de la bibliographie (Tableau 8).

Tableau 8 : Présentation de ratios calculant l'impact de différentes pratiques sur les limaces et leurs dégâts calculés à partir de l'analyse de la bibliographie et des travaux de **BIOLIM**

Nature de l'effet/auteur	Ratio calculé*	Effet sur les populations	Effet sur les dégâts
Effet des cultures			
Calame, 2001	Prairie/maïs	3	
Calame, 2001	Prairie/blé	2	
Calame, 2001	Prairie/pois	75	
Glen et al., 1996	Pour 20 % de perte Blé/et 20 % perte colza		16
Moens, 1989	Sans glucosinolate/avec glucosinolate		19
Effets des intercultures			
Chabert, 2000	Moutarde labour/labour	8	
Chabert, 2000	Moutarde déchaumage/déchaumage	5	
Arvalis, 2011b	Sol avec moutarde/sol nu		4
Arvalis, 2011b	Avoine détruite 15 mars/ 1 décembre		4
Calame, 2003	Moutarde/jachère florale	3	
Calame, 2000	Jachère florale/maïs	4	
Calame, 2005	Prairie /jachère florale	4	
Travaux ARVALIS, 2018	Moutarde d'Abysinnie/ moutarde blanche		3 à 5
Effets des cultures associées			
Brooks et al., 2003	Blé/blé + trèfle violet		4
Brooks et al., 2003	Blé/ blé + luzerne		2
Vernava et al., 2004	Trèfle violet/ray-grass		2
Effets des préparations de sol			
Chabert et al., 2016	Non labour/travail superficiel	3	
Chabert et al., 2016	Non labour /Labour	5	
Glen et al., 1996	Paille en surface/ pailles enfouies	2	
Effets préparation de sol au semis et profondeurs de semis			
Moens, 1983	Semis terre grossière/terre fine		3
Moens, 1983	Semis grossier/ semis en surface		2
Glen et al., 1994	Semis agrégats grossiers/fins		6
Glen et al., 1993	Profondeur de semis 1 à 2cm/5cm		3
Moens, 1989	Semis en surface/en profondeur		15
Glen et al., 1992	Anti-limaces semis superficiel/Semis profond		1
Effets Anti-limaces			
Cook et al., 1996	Blé / blé traité		19
Cook et al., 1996	Blé/ blé traité avec adventices		13
Glen et al., 2004	Sans anti-limaces/avec anti-limaces	7	
Travaux ACTA, 2017	Témoin/pulvérisation caféine		18
Travaux Arvalis 2017	Témoin/ extrait d'ail		1
Taupin, 2018	Témoin/ anti-limaces métaldéhyde à J+3	7	
Taupin, 2018	Témoin/ anti-limaces phosphate ferrique à J+3 (moyenne de deux préparations)	3	
Effet des auxiliaires			
Ayre et al., 2001	Prédation carabes 20°C/ T 4°C	4	

** ce ratio, dans le premier cas Calame (2001), correspond à l'effectif de limaces enregistré dans les prairies divisé par l'effectif enregistré dans la parcelle de maïs. Dans l'exemple de Moens (1983), le ratio correspond aux dégâts enregistrés en terre grossière divisé par les dégâts enregistrés en terre très fine (Ils sont donc 3 fois moins importants dans ce dernier cas)*

Efficacité relative des anti-limaces classiques et d'origine biologique par rapport au levier agronomique.

Les travaux de Glen et al. (1992) sur la profondeur de semis et les attaques de limaces ont mis en évidence qu'un semis plus profond de deux centimètres protège les levées de la culture de blé de la même manière qu'un anti-limaces appliqué sur semis plus superficiel. À l'instar de cette étude, la question posée portait sur des applications raisonnées d'anti-limaces, grâce à des mesures agronomiques, afin d'en faire baisser l'usage. Les ratios présentés dans le tableau ci-dessus, que ce soit sur les réductions de population ou sur les dommages enregistrés, permettent de comparer l'impact des mesures de protection et des mesures agronomiques prises.

Ainsi les impacts des mesures agronomiques sur les limaces se divisent en deux catégories :

- i) mesures défavorables aux limaces ou à leurs dégâts. Parmi celles identifiées, citons le labour, le travail du sol superficiel, les préparations de sol fines, l'enfouissement des pailles et les semis en profondeur, mais aussi la présence de cultures plutôt que des prairies ou des jachères.
- ii) mesures favorables aux limaces ou à leurs dégâts, l'usage de variétés de colza pauvres en glucosinolates, l'installation de cultures intermédiaires et leur destruction tardive.

Dans le cadre du projet BIOLIM, l'originalité a été de situer l'effet des mesures agronomiques prophylactiques par rapport aux méthodes de lutte contre les limaces, que ce soit des méthodes de biocontrôle ou classiques. L'examen des différents ratios permet de dire que si l'on veut remplacer un anti-limace classique, il faudra certainement mettre en œuvre plusieurs leviers agronomiques pour avoir le même effet sur les populations de limaces.

Pour que la démarche de type méta-analyse soit complète, il aurait fallu tenir compte de la variabilité de chaque résultat, mais devant la complexité et l'hétérogénéité de certains travaux nous n'avons pas pu le faire. Cela pourrait être une perspective du projet envisagée si davantage de collaborations nationales et internationales concertées se développaient.

• *Discussion et conclusion*

La figure 6 résume les différentes approches effectuées dans le cadre de RESOLIM.

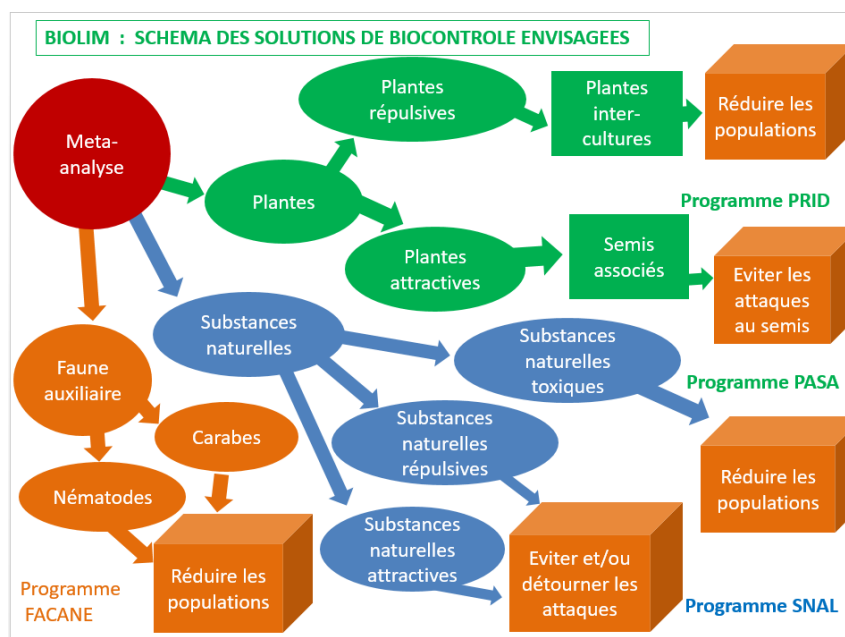


Figure 6 : Classification des méthodes de biocontrôle retenues dans les différents programmes de BIOLIM (présentés ci-après)

Cette revue des moyens de biocontrôle des limaces qui ont fait l'objet de publications scientifiques met en évidence de nombreux manques de connaissances dans ce domaine. Par exemple, peu d'études ont été réalisées sur les bactéries, champignons et virus alors que ces organismes sont des agents de biocontrôle actifs sur d'autres ravageurs.

La recherche concernant les médiateurs chimiques liés aux limaces reste rare. Or ces méthodes ont montré des résultats très efficaces pour d'autres taxons, comme les insectes. Il serait intéressant d'identifier précisément les phéromones propres aux différentes espèces de limaces et les allomones ou kairomones ayant une influence sur le comportement de ces ravageurs en relation avec les autres espèces végétales ou animales.

L'identification des sémiochimiques dans les interactions plantes-limaces reste à faire alors qu'ils pourraient être utilisés comme moyens de biocontrôle. Par exemple, l'identification de signaux chimiques provenant de prédateurs tels que les carabes, et détectés par la limace, peuvent constituer une voie de recherche pour de nouveaux répulsifs anti-limaces. Et inversement, une substance attractive pourrait être incluse à un appât anti-limaces et augmenter son attractivité.

Les travaux sur les fonctions sensorielles des limaces, olfaction et gustation, lors des dégâts aux plantes datent de cette décennie et un seul travail, à notre connaissance, aborde les deux fonctions conjointement (Shannon *et al.* 2016). Or, aux stades cotylédon et deux-trois feuilles du colza, les concentrations en glucosinolates sont faibles. Quand on donne ces glucosinolates purs sur un gel, la limace consomme ce gel comme s'il n'y avait que de l'amidon. Par contre, quand on lui donne deux variétés de colza au stade cotylédon ou jeune plantule qui contiennent ces glucosinolates aux mêmes concentrations, elle fait un choix. C'est donc qu'elle discrimine des composés autres que les glucosinolates. Parmi eux, la phénylalanine est phagostimulante sur gel. Shannon *et al.* (2016) ont analysé les VOC (Volatile Organic Compounds) des cotylédons et ont montré l'effet répulsif d'un cocktail précis sur le choix alimentaire de l'escargot *Cornu aspersum*. Des expériences plus anciennes ont été conduites par Arvalis. Des limaces avaient, soit 10 paquets de 10 espèces de plantes

mélangées (expérience de choix), soit une seule espèce avec 10 plantes par paquet et alors 10 paquets de chaque espèce (expérience de non-choix). Dans les deux types d'expérience (n=10 répétitions), les limaces ont consommé les mêmes plantes. Les limaces ont montré une capacité de différenciation des odeurs, dès le stade plantule. Ces travaux et réflexions nous conduisent à formuler l'hypothèse suivante: si des VOC répulsifs sont combinés à de la phénylalanine, la limace sera repoussée, si les VOC sont sans effet (ni attractifs, ni répulsifs), la limace pourra extraire les acides aminés et les sucres dont elle a besoin.

Suite à ces travaux de laboratoire, nous préconisons la prise en compte de plusieurs leviers biochimiques, tels les phéromones (exemple substances d'agrégation), les allomones (ex. composés organiques issus de prédateurs) et les kairomones (ex. enrobage des graines par le mucus locomoteur de limace en vue d'un processus d'habituation pour la plante). Les travaux de laboratoire devront être accompagnés de suivis en mésocosmes afin d'appréhender les effets combinés des mélanges chimiques perçus par les limaces. Ces effets combinés peuvent expliquer les résultats parfois contradictoires entre les échelles expérimentales (labo, mésocosme, champ). Les dégâts dus aux limaces se faisant aux jeunes stades de croissance des plantes, une analyse métabolique d'identification des composés volatils et non volatils solubles dans l'eau, sur deux ou trois espèces (ex. colza et deux moutardes contrastées) constituerait une charpente de connaissances. À partir de cette base chimique, il serait possible de concevoir des expérimentations comme suit :

- Au laboratoire, tests alimentaires sur métabolites purifiés, seuls et en cocktails, suivi en olfactomètre de l'appétence/ répulsion de métabolites volatils ;
- Sur le terrain, en mésocosmes contrôlés, suivi des dégâts dus aux limaces sur colza puis sur moutardes avec précédent colza ;
- Sur le terrain, en plein champ, suivi de populations de limaces par piégeages hebdomadaires, en fonction d'un seul facteur agronomique ciblé, sur colza puis sur moutardes avec précédent colza.

Du fait de la présence de plusieurs leviers agronomiques et biochimiques d'importance à étudier, la tendance est forte de proposer des modèles expérimentaux tous azimuts. Or, il faudra se limiter à quelques-uns de ces leviers pour espérer comprendre les mécanismes en jeu. Un nouveau challenge à relever portera sur la compréhension des interactions plante/phytophage : mécanismes de défense des plantes face au phytophage et réponses alimentaires olfactives et gustatives des limaces.

4. Contribution au plan Ecophyto (et à l'agroécologie)

Il s'agit de discuter des sorties opérationnelles du projet (par rapport à ce qui avait été annoncé), en distinguant :

- Ce qui a été effectivement produit et transféré (ex : un outil proposé avec un guide d'utilisation et ayant fait l'objet de formation avec des utilisateurs)

La lutte chimique vis-à-vis des limaces est actuellement réalisée de manière assez systématique et sur de vastes surfaces. Ainsi, ce projet, de par son objectif d'expertise vis-à-vis des solutions alternatives avait pour ambition de contribuer à développer des méthodes de biocontrôle et ainsi contribuer également à la réduction de l'usage des produits phytosanitaires.

Après une première information générale sur les produits de biocontrôle, leur mode d'application et leur efficacité relative par rapport aux leviers agronomiques, les principales contributions de ce projet ont été les suivantes :

- ✓ Rechercher et évaluer la performance de nouvelles méthodes et produits de biocontrôle vis-à-vis des limaces ;
- ✓ Définir leur emploi dans le cadre des systèmes de cultures pour réduire les populations de ce ravageur et limiter leurs dégâts par la conception de stratégies de protection intégrée ;
- ✓ Explorer de nouvelles voies d'étude via l'écologie chimique ;
- ✓ Créer une dynamique de recherche d'innovation en rassemblant un partenariat public privé.

Les méthodologies employées pour l'étude des limaces ont été diffusées aux réseaux d'expérimentation de l'équipe du projet BIOLIM permettant ainsi la transmission des idées de nouvelles études et de nouvelles voies de recherches aux principaux acteurs Français des études sur les limaces.

L'ACTA a piloté la formation d'un groupe d'agriculteurs à Bourges, sur la gestion des limaces et le biocontrôle, et pourra maintenant facilement en faire d'autres.

- Les sorties identifiées, produites à l'état de prototypes ayant fait l'objet de discussion avec des utilisateurs potentiels :

Le tableau 9 suivant synthétise les productions du projet

Tableau 9 : Synthèse des productions du projet.

Objectif	Préconisations	Expérimentation BIOLIM	Principaux résultats BIOLIM
Réduire les populations	Adapter la chimie de la plante aux réponses gustatives et olfactives des limaces	Essais caféine	Efficacité démontrée, mais à évaluer le bénéfice risque de ce produit
		Favoriser les populations de carabes	Difficulté pour démontrer la régulation effective du fait de l'interaction avec les facteurs agronomiques
	Couvert de moutardes blanches	Utiliser des plantes d'intercultures répulsives	Les plantes et les variétés n'ont pas la même attractivité vis-à-vis des limaces. Quelques déterminants et mécanismes biochimiques des crucifères ont été identifiés
Détourner les populations	Couverts de moutarde brune Phéromones d'agrégation de limaces pour les attirer vers des plantes refuges Mucus de limace favorable à la protection des plantes par habituation sur graines	Essais extraits d'ail	Pas assez efficace
Réduire les attaques	Lignées de plantes génétiquement contrôlées	Discrimination gustative des métabolites de colza par la Limace grise	Favoriser les défenses des plantes
Mise en œuvre du biocontrôle	Repenser sa stratégie de protection.	Approche de type méta-analyses de la bibliographie et de l'expertise	Le schéma d'un outil d'évaluation multicritères de gestion de lutte par biocontrôle des limaces est établi.

Un outil d'aide à la décision serait ensuite à construire à partir du schéma d'analyse multicritères des systèmes de culture vis-à-vis de la pression limaces. L'objet sera d'optimiser l'usage des leviers agronomiques combiné aux produits de biocontrôle décrits dans ce projet.

Sur un autre plan à la suite des résultats obtenus dans le cadre de BIOLIM, les sélectionneurs de végétaux peuvent développer des préconisations de couverts de moutarde blanche comme cultures intermédiaires défavorables aux limaces. Les méthodologies mises au point dans le cadre de ce projet sont maintenant opérationnelles pour tester des variétés non encore présentes sur le marché.

Selon un principe complémentaire, il est envisageable d'utiliser des couverts de moutarde brune comme cultures associées au blé pour détourner les attaques de limaces.

Pour réduire les dégâts aux jeunes stades des plantes de différentes espèces végétales, il peut maintenant être envisagé d'utiliser des lignées génétiquement contrôlées et définies sur le plan chimique (métabolites primaires, métabolites secondaires volatils et non volatils, solubles). Ces propriétés devront être utilisées pour la protection des cultures ou pour des plantes de service destinées à réduire les populations de limaces.

La pulvérisation de phéromone d'agrégation des limaces sur les plantes pièges augmenterait leur attractivité qui permettrait de détourner les attaques des limaces des cultures. Réciproquement, l'application sur des plantes de substances de type kairomones qui permettent aux limaces de détecter la présence des carabes, augmenterait leur répulsivité et ainsi les protégerait (Armsworth *et al.*, 2005).

Par ailleurs, un outil d'aide à la décision construit à partir du schéma d'analyse multicritère des systèmes de cultures vis-à-vis de la pression limaces serait utile pour mettre au point une gestion des limaces combinant produits de biocontrôle et les leviers agronomiques. .

- Sorties projetées ou envisageables en indiquant comment une finalisation pourrait intervenir :

A court terme, il est envisagé de faire des articles complets sur les méthodologies nécessaires à mettre en œuvre pour évaluer les différentes techniques de biocontrôle.

La plateforme de type E-phytia <http://ephytia.inra.fr/fr/Home/index> est un endroit identifié pour mettre en ligne les différents outils envisagés Une partie d'entre eux sera consacrée à une information générale sur les limaces, une deuxième à un outil d'aide à la décision du risque limaces et une troisième aux préconisations en termes de biocontrôle.

Concernant l'outil d'aide à la décision envisagé ci-dessus, via des approches de modélisation et multicritère, il peut servir à concevoir de nouvelles stratégies de protection « systèmes » vis-à-vis des limaces et à fournir des informations sur les risques locaux.

- Les connaissances, informations et/ou recommandations que des acteurs pourront exploiter, afin de contribuer au développement du biocontrôle, dans un cadre qu'on essaiera de préciser

Il faudrait trouver le moyen de maintenir une cellule experte sur le sujet afin de (i) valoriser les connaissances au travers d'approches collaboratives comme celle lancée dans le cadre de ce projet, (ii) contribuer à la pérennité des savoir-faire existants et (iii) développer des outils d'aide aux professionnels.

L'intégration des sociétés privées aux projets PSPE s'est avérée constructive. En effet, elles peuvent utiliser les connaissances et les valorisations issues de ce type de projet pour développer peut-être

plus rapidement de nouvelles technologies et/ou de nouveaux produits phytosanitaires de biocontrôle et en contrepartie elles apportent tout au long du projet également connaissances, savoir-faire, voire financement complémentaire.

Dans tous les cas, on suggérera comment « aller plus loin » et avec qui.

L'important est de mettre à disposition des informations scientifiques et techniques assez nombreuses pour que les agriculteurs se fassent leur propre opinion et construisent des stratégies adaptées à leur contexte. Il peut être également possible de valoriser les données « limaces » des différents observatoires existants dans le cadre de l'épidémiologie-surveillance afin de construire des conseils destinés à adapter la lutte à une présence « prévue » des limaces par différents types de modèles.

Développer une plateforme d'information sur les limaces et sur leur évolution en temps réel par le retour d'information d'observateurs bénévoles ou non représente certainement un besoin des professionnels et des non-professionnels.

Sur le plan scientifique, il serait utile de poursuivre la méta-analyse initiée avec des objectifs plus étendus et peut-être également sur d'autres bioagresseurs telluriques. Une difficulté à résoudre est de maintenir les connaissances dans la durée pour, entre autres, optimiser la construction des nouveaux projets.

Inclure dans cette partie :

- Une réflexion plus large, sur la promotion du biocontrôle dans la/les filière(s) concernée(s) par le projet et sur les possibilités de transposer à d'autres méthodes de biocontrôle ou à d'autres situations analogues les résultats du projet.

Concernant les limaces en grandes cultures et certainement pour les autres cultures, il n'est pas possible de dissocier les pratiques agronomiques et la mise en place du biocontrôle. Cela peut sembler une évidence, néanmoins les connaissances à mobiliser, pour répondre aux questions pratiques liées à la mise en œuvre des produits phytosanitaires de biocontrôle, sont nombreuses, complexes et donc souvent éludées faute d'expertises disponibles sur le sujet. Cela peut déboucher sur des préconisations assez simplistes et peu adaptées aux multitudes de situations locales et climatiques. C'est en cela que le travail en réseau est important. Néanmoins, de nombreuses questions scientifiques et techniques liées à l'évaluation des produits de biocontrôle ne peuvent être résolues que par des essais analytiques qui demandent des moyens importants pour être réalisés.

La difficulté de la tâche réside dans la mise en cohérence de jeux de données importants obtenus à différentes échelles (laboratoire, parcelle, champ), ce qui demandera une poursuite de la concertation de tous les partenaires aux comités de suivi et sans doute des collaborations concertées aux niveaux national et international.

Le travail à poursuivre devrait développer les deux points suivants :

- 1) Maintenir un réseau d'expérimentation afin de réaliser une évaluation des produits phytosanitaires de biocontrôle de manière indépendante et de maintenir un réseau d'experts. Il faudra aussi valoriser les connaissances actuelles en écologie chimique afin de trouver de nouvelles voies de biocontrôle des limaces.
- 2) Ce réseau devra également contribuer à l'amplification de la démarche de méta-analyse initiée et au développement d'outils d'évaluation multicritère destinés à évaluer le risque limaces.

Des extensions de ces deux approches pourraient être faites pour d'autres ravageurs des grandes cultures et aussi d'autres cultures.

5. Rapport financier